

る muscle-specific kinase (MuSK) の機能に注目した。我々は、2006 年に MuSK に対する自己抗体で筋萎縮が誘導されることを、ウサギを使って発見した。この動物モデルは重症筋無力症 (MG) の新しい原因の疾患モデルであることを明らかにした^{4) 5-6)}。この筋萎縮のメカニズムを解析している過程で、MuSK が発現している筋側だけでなく運動神経終末も縮退していることを発見した。最初のウサギモデルは自己抗体である MuSK 抗体による機能抑制と補体の活性化による組織破壊の両方が筋萎縮の発症メカニズムに関与することが考えられた。そこで、我々は新たに補体欠損マウスに MuSK 自己抗体を作らせて重症筋無力症による筋萎縮の発症メカニズムを解析した。このモデルを使って筋と運動神経終末による相互維持作用を明らかにした。

B. 研究方法

1. リコンビナント蛋白の作成と免疫

補体欠損マウスに、精製した MuSK 蛋白を免疫して MuSK 抗体によって発症する動物モデルの作成を試みた。歴史的に確立されたマウス系統を調べたところ約 39% (28/72) が補体欠損マウスであることが報告されている⁷⁾。我々はジャクソン研究所から高率に筋萎縮を発症する可能性が予想される 2 系統の補体欠損マウスを入手した。

抗原はラットの筋細胞 mRNA から細胞外ドメインの cDNA を PCR で増幅し発現ベクター内で His-tag とさせ、293T 細胞にトランスフェクションしてコンビナント蛋白を発現作成した。

リコンビナント蛋白は His-tag 結合レジンで精製した。リコンビナント蛋白を、補体欠損マウス一匹あたり 20 μ g をアジュバントと一緒に 2 週間おきに免疫して、体重変化を経時的に記録することで発症経過をモニターした。対照群として PBS とアジュバントを同様に免疫して実験を行った。動物実験計画は実験施設 (東京都健康長寿医療センター研究所) で承認された方法に従って行った。

2. 発症した筋萎縮モデルマウスの病態解析

(1) 筋力測定

前肢の筋力測定は室町機械の MK-380M を使って行った。マウス前肢を装置の網かごに捕まらせ、後肢は浮かせたまま尻尾を引っ張り前肢が網かごから離れるように条件を設定して測定を 7 回測定し、最高値と最低値を除いた 5 回の値で平均と偏差を計算した。

(2) 筋電図測定

発症したマウスとコントロールマウスから筋電図を測定するために、麻酔 (トリプロモエタノール) を腹腔に投与して行った。座骨神経 (retroauricular branch) に対して 3Hz の反復電気刺激を加え腓腹筋 (gastrocnemius muscle) 中央部から筋電図を測定した。

(3) 筋、シナプスの病理学的形態変化の解析

筋の HE 染色は、マウスから腓腹筋を採取後、液体窒素で急速凍結して、10 μ m の切片を作成

して行った。

シナプスの免疫染色は、マウスからヒラメ筋を採取して 1%パラフォルムアルデヒド-PBS 固定液に浸漬し室温で 10 分間インキュベーションした。固定後に筋を PBS, 0.1M glycine/PBS でリンスした。筋を実体顕微鏡下にて解剖用ハサミを使ってほぐした後、Alexa647-conjugated α -BTx (α -bungarotoxin) で、アセチルコリン受容体 (AChR) を染色した。同時に、一次抗体 (抗ニューロフィラメント抗体と抗シナプトフィジン抗体の 1 : 1 混合) で 4 度にて反応させ洗浄したのち、二次抗体 (Alexa488-抗ウサギ抗体) で蛍光染色した。共焦点顕微鏡 (Leica SP5) で神経筋シナプスの形態変化を観察記録した。シナプスの AChE とコラーゲン Q (ColQ) に対する一次抗体で染色した後、二次抗体 (Alexa488-あるいは Alexa555-抗ウサギ抗体) で染色した。

走査型および透過型電子顕微鏡でシナプスを観察するために、マウスを麻酔下でウサギの神経筋シナプスを観察するために、4%パラフォルムアルデヒド (0.1M リン酸バッファー, pH7.4) で環流固定した筋をグルタル溶液で固定して透過型電子顕微鏡の観察用切片を作成した。

(4) MuSK 抗体価測定

マウスから採取した血清を用いて抗体価を ELISA 法で測定した。抗原として用いたラット MuSK 蛋白を ELISA プレートにコートした。測定は HRP 標識抗マウス IgG 抗体 (GE Healthcare) を使って行った。

(5) MuSK 抗体の機能解析

MuSK 蛋白を免疫して発症したマウス血清に含まれる抗 MuSK 抗体がどのような機序により神経筋シナプスの AChR 凝集を抑制するか培養 C2C12 筋細胞を使って検討した。C2C12 細胞は筋芽細胞から筋管細胞へ分化誘導することができる。さらにリコンビナント agrin を培養細胞に添加すると 30 分以内に MuSK のチロシンリン酸化が誘導するとともに、数時間以内に細胞表面の AChR 凝集を誘導する。この解析システムを使うことにより agrin-Lrp4-MuSK を介した AChR 凝集シグナル伝達の生化学的解析と機能解析を統合的に行うことが可能である。我々はこのアッセイシステムを使って、agrin と抗 MuSK 抗体を同時に C2C12 に添加して AChR 凝集抑制に伴う MuSK 活性化シグナルの変化を解析した。血清中の MuSK 抗体の IgG サブクラスをプロテイン A で精製して解析に用いた。さらに精製した MuSK 抗体 IgG をパンピン処理して Fab 分画を精製して同様に抑制実験に用いた。

MuSK のリン酸化は agrin を分化した C2C12 培養筋細胞に添加して 30 分後に作成したライゼートに対して、抗リン酸化抗体 (4G10 と PY20 抗リン酸化モノクローナル抗体) によるウェスタン解析により検討した。C2C12 培養筋細胞のライゼートに対して MuSK 抗で免疫沈降サンプルを泳動し PVDF メンブレンに転写した。二次抗体は抗マウス peroxidase を使って発色した。同じメンブレンを洗浄し、ウサギの MuSK 抗体で MuSK 蛋白を検出した。

(6) 微量電極法による膜電位の測定

横隔膜標本を作製し、簡便型ガラス管微小電極法による膜電位を測定した。まず静止膜電位 (RMP) と微小終板電位 (mepp) を測定後、骨格筋特異的 Na チャンネル阻害剤である μ -conotoxin を作用させ、動きを止めた状態で電気神経刺激による終板電位 (epp) を測定した。各電位は、RMP による補正と、non-linear summation の補正を行った後に、直接法による Quantal content (QC) を算出した。

3. 老化マウスの神経筋シナプスの形態

生後 4 ヶ月の若年および 28 ヶ月の老齢マウスの神経筋シナプスの形態を共焦点顕微鏡で解析した。方法は 2-(3) と同じ方法で行った。

C. 研究結果

補体欠損マウスに MuSK 蛋白を免疫して筋萎縮を発症させることに成功した (論文投稿中)。驚くことに 100% の確率で同調して重篤な症状を示す (図 1A, B)。発症の経過は再現性が高く、体重減少を指標にして発病初期から病態を解析することが可能である (図 1B)。発症したマウスは易疲労性を示し、筋力低下のため顎を上

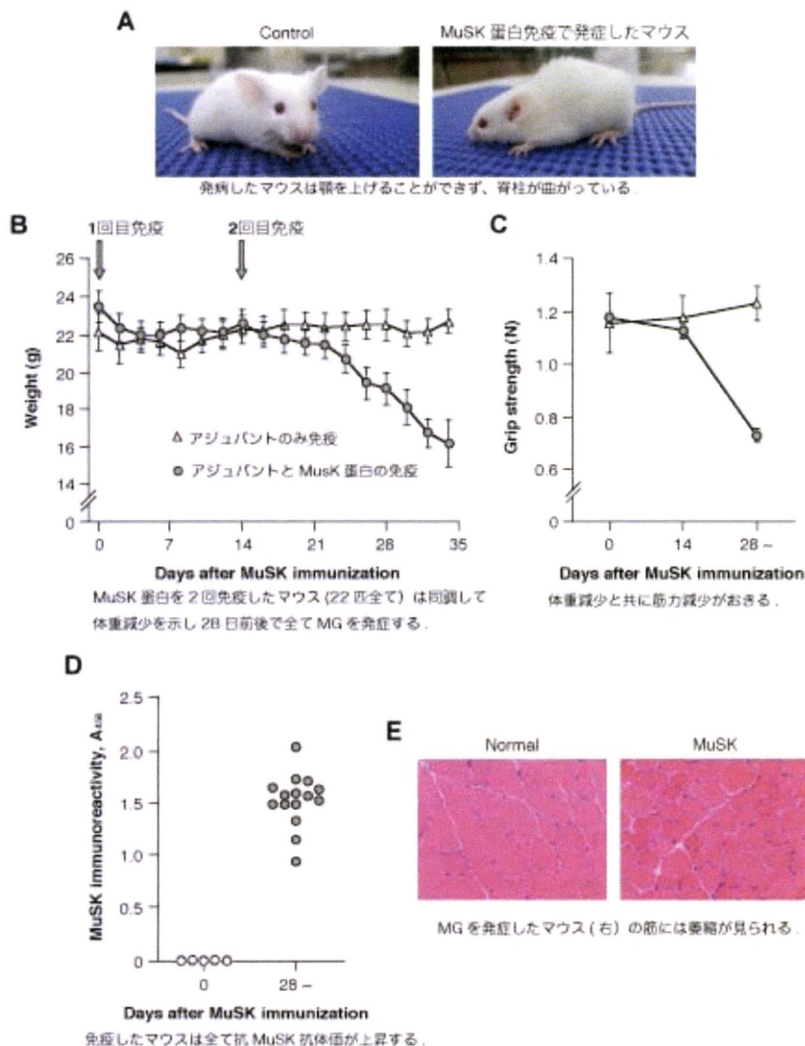


図 1 補体欠損マウスによる筋萎縮の発症モデルマウスの作成

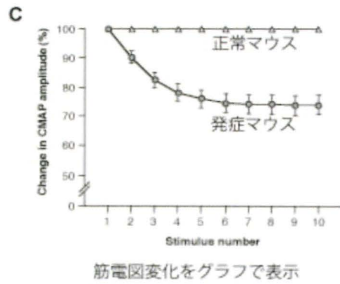
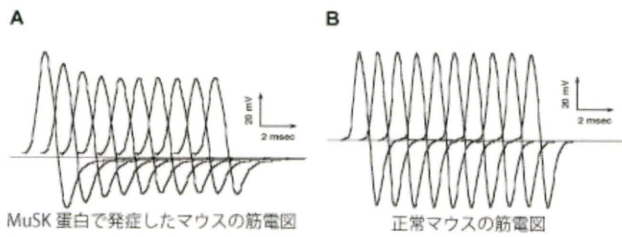


図2 疾患モデルマウスの筋電図変化の測定結果
3Hzで座骨神経を刺激して腓腹筋の筋電図を測定した。
患者と同じ漸減変化を示す。

げることができず、脊柱も曲がっている。マウス前肢の筋力低下は、体重減少に応じて測定することができた (図 1C)。血中の MuSK 抗体も発症したマウスで顕著に上昇していた (図 1D)。発症したマウスの体重減少は、筋萎縮によるものと予想されたため、発症したマウスの筋の横断面を HE 染色して観察したところ、正常に比べ筋の太さが均一でないことがわかった。一方、炎症細胞の進入や筋の核は筋線維の中央部には観察されなかった (図 1E)。これは、筋力低下が筋線維に対する炎症による変化や、筋ジストロフィーで観察されるような筋線維の顕著な再生像がないことを示している。

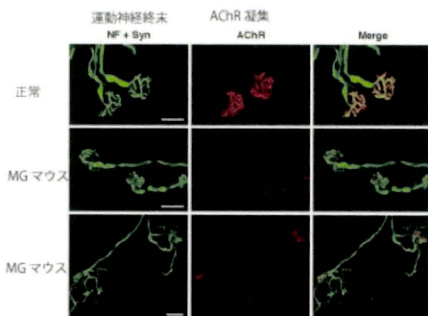
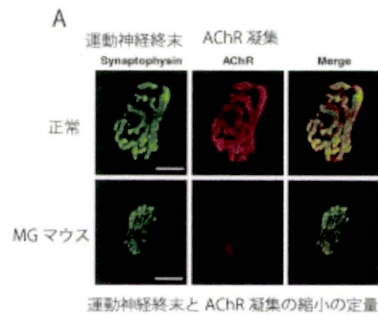


図3 発症した MG マウスの神経筋接合部の変化 (ひらめ筋)
運動神経終末の縮小、sprouting、さらに AChR 凝集の顕著な減少。



運動神経終末と AChR 凝集の縮小の定量

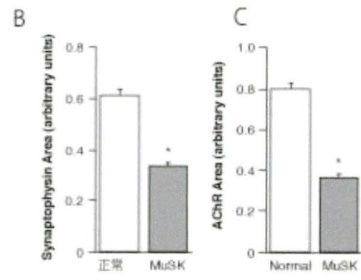


図4 発症したマウスの NMJ の形態変化
AChR 凝集だけでなく運動神経終末も縮小

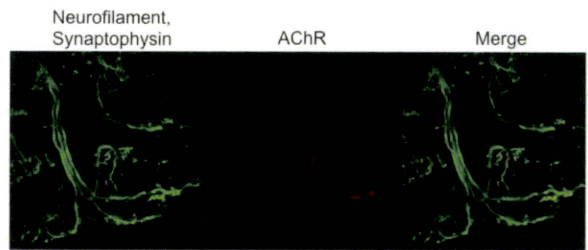


図5 MGを発症した補体欠損マウスの運動神経終末の sprouting と AChR凝集の減少

疾患マウスの筋電図変化 (漸減変化) は MG 患者と全く同じである。(図 2) 発病した神経筋接合部の形態を共焦点顕微鏡で調べたところ、運動神経終末の縮小と AChR 凝集の顕著な減少が観察された (図 3, 4, 5)。運動神経終末の sprouting も顕著である (図 3, 5)。老化動物のシナプスでも同様に運動神経終末の sprouting が顕著に観察される。

さらに走査型および透過型電子顕微鏡によるシナプス後膜の変化を観察したところシナプスの溝および襻の顕著な減少が観察された (図 6, 7)。高齢ラットの神経筋シナプスも同様な変化がおきていることが報告されている⁸⁾。

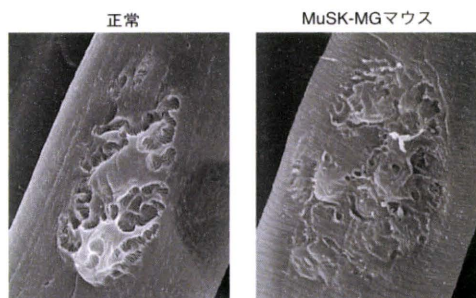


図6 発症した補体欠損マウスの神経筋シナプスの溝とひだの構造変化
走査型電子顕微鏡画像。溝とひだの顕著な縮退が見られる。

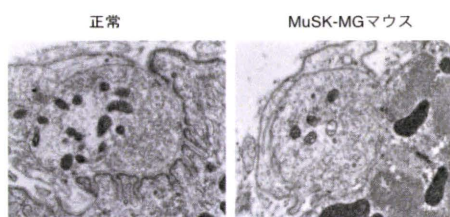


図7 発症した補体欠損マウスの神経筋シナプスのひだの構造変化
走査型電子顕微鏡画像。ひだの顕著な縮退が見られる。

ガラス微小電極法により筋萎縮を発症したマウスの横隔膜の膜電位を測定した。微小終板電位 (MEPP) と終板電位 (EPP) の有意な低下が測定された (図 8)。MEPP の低下はシナプス後膜に伝導障害が存在することを示す。計測した数値を使ってプレシナプスから放出される ACh の Quantal content (QC) を計算したところ有意な低下を認め、プレシナプスからの ACh の放出も障害されていることを明らかにした。

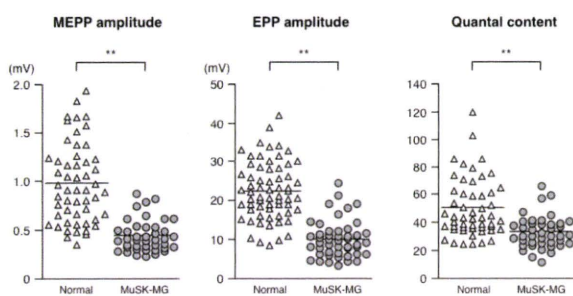


図8 神経筋シナプスの前膜と後膜の両方で伝導障害が存在する

最後に我々は、老化マウスの神経筋シナプスの形態変化を調べた (図 9)。老齢マウスのシナプスに神経終末の sprouting を伴う顕著な形態変化が観察される。

D. 考察

サルコペニアは遺伝因子と環境要因に加えて、エピジェネティックの変化など多様な老化促進因子が長時間重なっておきるため、その病態とメカニズムを解明することを困難にしている。サルコペニアは多様な原因により筋萎縮へ収束する病態の大きな集合群であり、まだ単一概念として捉えているだけである。サルコペニアの早期発見、運動機能障害者に対するリハビリの効果の判定を可能にする客観的かつ有効な指標は、介護予防対策に必要である。そして、筋力測定や日常生活を指標とした運動機能能力のスコアによるサルコペニアの判定は、すでに筋萎縮を伴うような顕著な筋力低下を検出することは容易であるが、早期発見と予防に対して必ずしも有効であるとは言えない。筋力や筋量とは異なる次元のバイオマーカーが求められている。

我々はサルコペニアのメカニズムに基づくバイオマーカーの探索を目的として筋の可塑性に注目している。健康な若年者において運

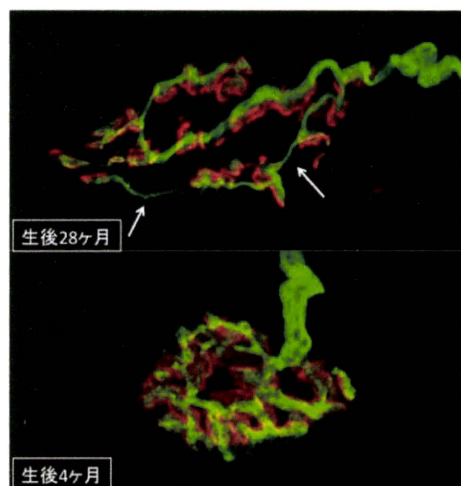


図9 老齢マウス(上)と若齢マウス(下)の神経筋シナプスの形態。AChR(赤)と神経終末(緑)を蛍光色素と抗体で染色する。Sprouting (矢印)が存在する。共焦点顕微鏡で観察。(ひらめ筋)

動神経終末を含む筋は、修復力が強く筋萎縮に対して抵抗性である。我々は、本研究において神経筋シナプスの筋側に限局して発現している MuSK が筋と運動神経終末を含むシナプスの機能維持に重要な役割を果たすことを明らかにした。この機構が障害されると筋とシナプスを維持することができず急速に筋萎縮が誘導される。本研究の結果から MuSK は筋と運動神経細胞の間の相互作用の中心的役割を果たすことがわかった。そのメカニズムは筋と運動神経側の両方にまたがっており、複雑で多様である。運動神経終末と筋との間で高齢者や老化動物においても、顕著なシナプスの形態変化が報告されている。

一方で我々は、老化により MuSK の機能が単純に減弱することでサルコペニアが発症するとは考えていない。その根拠は、この筋萎縮のモデルマウスは重症筋無力症を発症するが、全く同じ病態が高齢者や老化動物で観察されるわけではない。例えば、MG の特徴である筋電図(漸減反応)はサルコペニアでは計測されない。しかしシナプス形態の変化(シナプス襞の減少、運動神経終末の sprouting)はサルコペニアでも観察されるため、MuSK の支配下にある重要な維持機構(おそらく複数)がサルコペニアの成因と強く関係していると予想してい

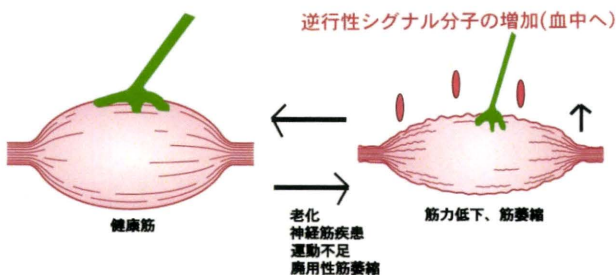


図10 逆行性シグナルとバイオマーカー

る。

E. 結論

我々の結果は、筋と運動神経の相互維持作用のメカニズムが筋の維持に重要な役割を果たしていることを示した。筋が運動神経終末に作用するためには、分泌性の因子が必要である。筋は体重の 40%を占める最大の組織である。我々の仮説は「筋から分泌される因子を同定すればバイオマーカーとして利用できる」としている(図 10)。本課題で、その理論的な裏付けの一つを示すことができたと考える。

我々は作業仮説に基づいてバイオマーカーのスクリーニングを進め有力な候補分子を見つけている。

文献

- 1) Baumgartner, R.N., Koehler, K.M., Gallagher, D., et al. Epidemiology of sarcopenia among the elderly in New Mexico. *Am J Epidemiol* 147:755-63. 1998.
- 2) Janssen, I. Influence of sarcopenia on the development of physical disability: the Cardiovascular Health Study. *J Am Geriatr Soc* 54:56-62. 2006.
- 3) Cruz-Jentoft, A.J., Baeyens, J.P., Bauer, J.M., et al. Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis: Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older

- People. *Age Ageing* 39:412-23. 2010.
- 4) Shigemoto, K., Kubo, S., Maruyama, N., et al. Induction of myasthenia by immunization against muscle-specific kinase. *J Clin Invest* 116:1016-24. 2006.
 - 5) Shigemoto, K., Kubo, S., Jie, C., et al. Myasthenia gravis experimentally induced with muscle-specific kinase. *Ann N Y Acad Sci* 1132:93-8. 2008.
 - 6) Shigemoto, K., Kubo, S., Mori, S., et al. Muscle weakness and neuromuscular junctions in aging and disease. *Geriatr Gerontol Int* 10 Suppl 1:S137-47. 2010.
 - 7) Cinader, B., Dubiski, S., and Wardlaw, A.C. Distribution, Inheritance, and Properties of an Antigen, Mub1, and Its Relation to Hemolytic Complement. *J Exp Med* 120:897-924. 1964.
 - 8) Ezaki, T., Oki, S., Matsuda, Y., et al. Age changes of neuromuscular junctions in the extensor digitorum longus muscle of spontaneous thymoma BUF/Mna rats. A scanning and transmission electron microscopic study. *Virchows Arch* 437:388-95. 2000.
- 1) Shigemoto, K. Kubo, S. Mori, S. Yamada, S. Miyazaki, T. Akiyoshi, T. Muscle weakness and neuromuscular junctions in aging and disease. *Geriatr Gerontol Int. Suppl. 1*:S137-S147. 2010
 - 2) 重本和宏, 森 秀一, 久保 幸穂, 山田 茂, 秋好 沢諭, 宮崎 剛. 神経筋接合部の異常と筋萎縮. メジカルビュー社. 書籍名: 老年医学 update 2010-2011 p135-p144, 2010.
 - 3) 重本和宏 シナプスを介したサルコペニアの発症メカニズムとバイオマーカー. 日本老年医学会雑誌. 48:p42-43. 2011.

2. 学会発表

- 1) 森秀一, 久保幸穂, 秋好沢諭, 山田茂, 宮崎剛, 重本和宏. 筋は逆行性シグナルにより筋・運動神経を維持する 第33回日本基礎老化学会大会. 2010, 6/18 名古屋.
- 2) Mori S, Kubo S, Akiyoshi T, Yamada S, Miyazaki T, Shigemoto K. New strategy to treatment of myasthenia gravis caused by MuSK antibodies using a synchronized experimental animal model. 第33回日本神経科学学会大会, 2010, 9/3 神戸.
- 3) Mori S, Kubo S, Akiyoshi T, Yamada S, Miyazaki T, Shigemoto K. Strategy to treatment of myasthenia gravis caused by MuSK antibodies using a synchronized experimental animal model. Society for Neuroscience 2010, 2010, 11/17 San Diego.

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

H. 知的財産権財産権の出願・登録状況
なし

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

分担研究報告書

サルコペニアの予防介入研究

研究分担者 金 憲経 東京都健康長寿医療センター研究所
鈴木隆雄 国立長寿医療研究センター

研究要旨

サルコペニア改善教室参加者希望者 186 名を RCT により 4 群に分け、運動群には週 2 回、筋力強化運動を、栄養群には茶カテキン 540mg を 1 日 1 缶飲料する指導を 3 カ月間実施した。その結果、運動群のみならずカテキン群においても移動能力の有意な改善が観察され、運動指導、栄養指導ともにサルコペニア予防に有効であることが示唆された。

A. 研究目的

地域高齢者におけるサルコペニアの有症率は、用いられたデータや定義によって異なる。Baumgartner らは、1993～1995 年に地域在住高齢男女 808 名のデータを分析し、骨格筋量(kg)/身長²(m²)が、健康な若者の平均より 2SD 以上の場合をサルコペニアと定義し、その有症率を調べたところ、70 歳以下の高齢者で 13.5～24.1%の範囲であるが、80 歳以上になると 43.2～60.0%に高まるとともに disability、mortality、転倒・骨折と密接に関わっていることを報告している。従って、サルコペニア予防策を早期に構築することは重要な課題と言える。

老化に伴う筋骨格筋量減少の原因としては、加齢、IGF-1 の分泌減少、慢性疾患、アンドロゲン・エストロゲン分泌の減少、炎症性サイトカインの増加、身体活動量の減少、栄養摂取量の不足が指摘されている

が、そのメカニズムはまだ完全には解明されていない。しかし、これらの要因が複合的に作用した結果、骨格筋量は徐々に減少するのである。高齢者においても、レジスタンス運動によって、筋肉量や筋力の増大効果が確認されている。さらに、カテキンの摂取によって総合的身体機能が改善されることも認められていることから、運動とカテキン摂取は有効なサルコペニア対策として注目されている。

これらの背景を踏まえて、本研究では地域在住サルコペニア高齢者における筋肉量の増大、筋力あるいは歩行機能の改善を目的とした複合介入プログラム（運動＋カテキン、運動、カテキン）を 3 か月適用した時に得られる効果を総合的に検証することを目的とした。

B. 研究方法

1) 対象者の選定：平成21年11月に72歳以上の高齢女性974名を対象に包括的健康診断を実施した。BI法より求めた筋骨格筋の減少と筋力あるいは歩行機能の低下の選定基準を当てはめたところ351 (36.0%) 名がサルコペニアと判定された。サルコペニア改善教室参加者希望者186名をRCTより4群に分け、「運動+栄養」に47名、運動に46名、栄養に47名、対照に46名割り付けた。

2) 調査方法および項目

調査は、介入前後2回行った。具体的調査項目は次の通りである。

①面接調査：健康度自己評価、痛み、転倒、TMIG指標、基本的な生活機能、尿失禁、既往歴、生活習慣等々について1:1の面接法により調査した。

②身体組成：BI法より、体脂肪率、脂肪量、筋肉量を求めた。

③体力測定：握力、膝伸展力、通常歩行速度、最大歩行速度、Timed Up & Go テスト、開眼片足立ち

3) 介入

①運動指導：運動群には週2回、1回当たり60分の筋力強化運動を3カ月指導した。

②栄養指導：栄養群には茶カテキン540mgを1日1缶飲料する指導を3カ月間実施した。飲んだ時間と量を「カテキン酸摂取記録カード」記録するように指導し、次回の2週間分のカテキン飲料配布前に記録カードとキャップを回収し、カテキン摂取 compliance を徹底的に管理した。

(倫理面への配慮)

本研究は、東京都健康長寿医療センター倫理委員会の承諾を得た上で実施した。さらに、群による不利益を解消するためにcross overモデルを採用した。

C. 研究結果

運動指導24回のなかで、60%以上教室参加者を試験完了者と、59.9%未満を脱落者とみなした。3カ月介入後の身体機能の変化について重点的に分析した。その結果、通常歩行速度は、運動+カテキン群で事前 1.24 ± 0.19 m/sec から事後 1.30 ± 0.18 m/sec ($P=0.021$)、最大歩行速度は運動+カテキン群で事前 1.65 ± 0.26 m/sec から事後 1.72 ± 0.23 m/sec ($P=0.024$)、運動群で事前 1.58 ± 0.28 m/sec から事後 1.73 ± 0.25 m/sec ($P<0.001$)、Timed Up & Go は運動群で事前 7.17 ± 1.44 秒から事後 6.53 ± 0.73 秒 ($P=0.038$)、カテキン群で事前 8.34 ± 3.84 秒から事後 7.59 ± 2.88 秒 ($P=0.027$) の有意な向上が観察されたが、対照群の変化は有意ではなかった。

D. 考察

骨格筋量の減少、筋力の低下を意味するサルコペニアは骨折、移動能力の障害、ADL障害、死亡率の上昇と強く関連していることからその予防策の早期樹立が急がれる。サルコペニアを予防するためには種々の危険因子の中で、骨格筋の不使用や底栄養など可変要因の改善に焦点を当てた介入が有効である。本研究では、骨格筋の不使用を

改善するために運動指導を、栄養改善のためにカテキン飲料を提供する包括的介入を行ったところ、サルコペニア高齢者の身体機能の改善には運動のみではなくてカテキンの提供も有効であることが示唆された。しかし、本研究で得られた短期間の効果をより客観的に評価するための追跡調査が今後の課題である。

E. 結論

地域在住サルコペニア高齢者の身体機能、とくに移動能力の改善のためには、運動のみならず栄養補充も重要であることが示唆された。

F. 健康危険情報

総括報告書参照

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 金 憲経、齋藤京子、吉田英世、加藤弘之、小林久峰、片山美和、鈴木隆雄: 地域在住高齢者におけるサルコペニア改善のための運動、アミノ酸補充の効果. アミノ酸研究 4: 55-57, 2010.
- 2) 金 憲経: 転倒は寝たきりの原因. 食べもの通信 470: 22-23, 2010.
- 3) 金 憲経: サルコペニアとロコモティブシンドローム. Prog Med 30: 53-57, 2010.
- 4) Hunkyung Kim, Hideyo Yoshida, Takao Suzuki: The effects of multidimensional exercise on functional decline, urinary incontinence, and fear of falling in

community-dwelling elderly women with multiple symptoms of geriatric syndrome: A randomized controlled and 6-month follow-up trial. Arch Gerontol Geriatr 52: 99-105, 2011.

- 5) 金 憲経: 筋肉を伸ばし身も心もリラックス. 食べもの通信 480: 24-25, 2011.
- 6) 金 憲経: 転倒予防のための運動介入の効果と課題. 日老医誌 48: 39-41, 2011.
- 7) 金 憲経: 地域高齢者の虚弱予防のための介入効果. Geriatr Med 49: 149-153, 2011.

2. 学会発表

- 1) Kim Hunkyung: Sarcopenia Prevention Strategy. 2nd Asian International Seminar for Geriatrics and Gerontology, Taipei, Taiwan, 8.4, 2010.
- 2) Kim Hunkyung, et al: Effects of exercise and amino acid supplementation on body composition and physical function in community-dwelling Japanese sarcopenic women: A randomized controlled trial. AGS Annual Meeting, Orlando, USA, 5.12-15, 2010.
- 3) Kobayashi H, Kato H, Inoue Y, Katayama M, Kim H, Saito K and Suzuki T: Small dose high leucine essential amino acids supplementation ameliorates sarcopenia in sarcopenic older Japanese women. Experimental Biology 2010 Annual Meeting, Anaheim, California, USA, 4.24-28, 2010.
- 4) 加藤弘之, 小林久峰, 井上佳子, 片山美和, 金憲経, 齋藤京子, 吉田英世, 鈴木

- 隆雄：ロイシン高配合必須アミノ酸摂取による後期高齢女性の除脂肪重量と運動機能の改善。第 64 回日本栄養・食糧学会大会，徳島，5.21-23，2010.
- 5) 金 憲経：転倒予防のための運動介入の効果と課題。第 52 回日本老年医学会学術集会総会，神戸，6.24-26，2010.
- 6) 金 憲経，齋藤京子，吉田英世，他 4 人：運動，アミノ酸摂取による介入が地域在住サルコペニア高齢者の身体組成及び体力に及ぼす影響。第 52 回日本老年医学会学術集会総会，神戸，6.24-26，2010.
- 7) 牧千亜紀，金憲経：特定高齢者介護予防事業参加者の 1 年後の要支援・要介護認定状況について。第 69 回日本公衆衛生学会総会，東京，10.27-29，2010.
- 8) 金 憲経，齋藤京子，吉田英世，他 3 人：地域在住サルコペニア高齢者の体組成と体力改善を目的とした運動，栄養介入の効果検証。第 69 回日本公衆衛生学会総会，東京，10.27-29，2010.
- 9) 金 憲経：高齢者転倒の特徴及び効果的予防戦略。訪問健康管理事業フォーラム，ソウル，韓国，11.26-27，2010.
3. その他
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

分担研究報告書

施設高齢者におけるサルコペニアの実態と予防対策

研究分担者 島田 裕之 独立行政法人国立長寿医療研究センター

研究要旨

本研究は、近赤外分光法（near infrared spectroscopy: NIRS）を用いた身体組成計測の信頼性と妥当性を検討した。NIRS 測定値は高い再現性を有し、皮下脂肪厚との有意な関連が認められた。NIRS 計測値および身長と体重を加えた重回帰モデルでは、筋量の 83%、四肢脂肪量の 92%が説明可能であった。

A. 研究目的

高齢期における筋量および筋力の低下（サルコペニア）は、高齢期における身体的虚弱発生の主要な原因となり、老年医学における重要な課題とされている（Morley, 2004）。この 20 年間にいくつかのサルコペニアの操作的定義が提唱されてきたが、加齢における理解や測定技術が進歩したにも関わらず、その操作的定義に対する国際的な合意は得られていない現状にある。

サルコペニアを把握するために筋量は中核的な評価項目であるが、要介護高齢者においては適切な評価指標が示されておらず、サルコペニアの有無や程度を把握する取り組みが遅れている。

本研究においては、施設入所高齢者を対象としたサルコペニアの実態調査と予防対策の確立を分担研究のテーマとし、平成 22

年度では、要介護高齢者でも測定可能な筋量の簡便な評価方法の検討を行った。

B. 研究方法

要介護高齢者の筋量測定のために NIRS（BFT-3000）を用いた分析を行った。

実験 1 では、健康な若年者 9 名（平均 26.6 歳、男性 7 名、女性 2 名）を対象として NIRS の再現性を検討した。測定は、前腕前面と大腿前面に近赤外光を当て、拡散反射した光量（NIRS 測定値）を 1 日間隔で 2 回測定し、測定値の級内相関係数を算出した。

実験 2 では、地域在住高齢者 90 名を対象とし、前腕前面および大腿前面の NIRS 測定値（OD1[脂肪吸収帯の波長]と OD2[水分吸収帯の波長]）と超音波による脂肪および筋厚との相関関係を検討した。

実験 3 では、入院患者 11 名（平均 72.1 歳、男性 4 名、女性 7 名）を対象とし、

二重 X 線エネルギー吸収法により測定した四肢筋量の指標 (skeletal muscle index: $SMI = \text{skeletal muscle mass} / \text{body mass} \times 100$) および脂肪量と NIRS 測定値 (上腕前面・後面、前腕前面、大腿前面、下腿前面・後面) との関係調べ、重回帰分析を用いて筋量および脂肪量の推定式を算出した。

(倫理面への配慮)

本研究は、国立長寿医療研究センター倫理・利益相反審査の承認を得て実施した。

C. 研究結果

実験 1【再現性の検討】

前腕前面における級内相関係数 (1, 2) は、OD1 が 0.952、OD2 が 0.957、大腿前面における級内相関係数 (1, 2) は、OD1 が 0.965、OD2 が 0.959 であった。

実験 2【筋厚との関係】

前腕前面の脂肪厚と NIRS 測定値との相関係数は、OD1 が -0.518 、OD2 が -0.437 といずれも統計学的に有意であった ($n = 90$ 、 $p < 0.01$)。また、大腿前面の脂肪厚と NIRS 測定値との相関係数も、OD1 が -0.506 、OD2 が -0.460 といずれも統計学的に有意であった ($n = 86$ 、 $p < 0.01$)。一方、前腕前面の筋厚と NIRS 測定値との相関係数は、OD1 が 0.193、OD2 が 0.200、大腿前面の筋厚と NIRS 測定値との相関係数は、OD1 が -0.074 、OD2 が -0.022 といずれも有意な相関係数を認めなかった。

実験 3【四肢筋量・脂肪量の推定】

SMI を従属変数とし、筋量との相関係数が高かった前腕前面の OD 値 1 および身長と体重を独立変数とした重回帰分析の結果、標準偏回帰係数は身長が -0.681 ($p = 0.211$)、体重が 1.452 ($p = 0.015$)、前腕前面の OD 値 1 が 0.375 ($p = 0.161$) であり、このモデルの決定係数は 0.83 であった。四肢脂肪量を従属変数としたモデルにおいては、標準偏回帰係数は身長が -0.467 ($p = 0.205$)、体重が 0.516 ($p = 0.135$)、前腕前面の OD 値 1 が -0.778 ($p = 0.002$) となり、決定係数は 0.92 であった。

D. 考察

NIRS を用いた身体組成の計測は、再現性の面から考えると、高い級内相関係数を示し、信頼性の高い方法であると考えられた。NIRS と筋および皮下脂肪厚との関連では、脂肪厚との相関係数は認められたものの筋厚とは有意な関係が認められず、皮下脂肪の下層にある筋の量を直接測定することは NIRS では難しいかもしれないと考えられた。二重 X 線エネルギー吸収法で測定した SMI と脂肪量の推定では、NIRS と身長と体重をあわせたモデルでは、それぞれ 83% と 92% が説明可能であり、NIRS 測定値によってある程度の筋量と脂肪量を推定することが可能であると考えられた。とくに脂肪量の推定では NIRS 測定値が最も高い標準偏回帰係数を示し、身体組成計測に有益である可能性が示された。

E. 結論

NIRS による身体組成計測は信頼性ある指標として用いることが可能であり、とくに皮下脂肪をよく反映した。NIRS 計測値および身長と体重を加えたモデルでは、筋量 (SMI) の 83%、四肢脂肪量の 92% が説明可能であった。今後対象者数を増加して推定式を確立する必要がある。

F. 健康危険情報

総括研究報告書参照

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

なし

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）
高齢者における加齢性筋肉減弱現象（サルコペニア）に関する
予防対策確立のための包括的研究（H22-長寿一般-002）

分担研究報告書

老年症候群（特に転倒）とサルコペニアについての分析

研究分担者 神崎恒一 杏林大学医学部高齢医学（教授）

研究要旨：【目的】サルコペニアは加齢に伴う筋肉量の減少および筋力の低下を指し、その結果、身体機能に問題が生じ、様々な老年症候群が発生する。中でも特に問題になるが歩行障害・転倒である。本研究では、既報に基づいた様々な方法を用いてサルコペニアを評価し、同時に歩行機能などの転倒関連検査を行い、それぞれの関連もしくは転倒そのものとの関係を横断的/縦断的に解析する。【方法】1月末までに計測した31名の患者（男性11名、女性20名、平均年齢 81 ± 5.5 歳）のうちサルコペニアにおいて筋肉量の指標として頻用されるDXA法とインピーダンス法による筋肉量を測定した9名について、両測定値の比較を行った結果、DXA法で測定したlean body mass (g)とインピーダンス法で測定した四肢、体幹の筋肉量 (kg) との間に $r > 0.9$ の高い相関が認められた。

【考察と結論】インピーダンス法による体組成計測は筋肉量測定のgolden standardとされるDXA法と比較して、十分相関が高かった。今後、体組成計を用いて筋肉量を測定していくとともに、サルコペニア/転倒関連検査を進めていく。これによって、どの検査が将来の転倒予測に有用か、どのようなサルコペニアの関連要因が転倒と関連が深いかについて検討を進めていく。

A. 研究目的

サルコペニアは加齢に伴う筋肉量の減少および筋力の低下を指し、最近 **European Working Group on Sarcopenia in Older People** から定義に関するコンセンサスが発表された。同報告では、サルコペニアを筋肉量、筋力、身体機能の3つの観点から判断するよう推奨している。ちなみに筋肉量はDXA, インピーダンス法, CT, MRIなどを用いて、筋力は握力, 膝屈伸力, 呼気流出速度で、身体機能は歩行速度, Up&Goテスト, 階段上り時間などで測定することが紹介されている。

サルコペニアが起こる結果、身体機能に

問題が生じ、そのため老年症候群（加齢に伴う諸臓器/器官の機能低下によっておこる多彩な症状/徴候で、放置しておくとう QOL, ADLが低下し、要介護状態や寝たきりの発生につながる）が発生する。老年症候群の中で特に問題になるが歩行障害・転倒である。

そこで本研究では、**European Working Group on Sarcopenia in Older People** で紹介されているサルコペニアの評価法その他と歩行機能など転倒関連検査を行い、それぞれの関連もしくは転倒そのものとの関係を初年度～2年目は横断的に、3年目には縦断的（経年変化と転倒との関連）に解析する。

B. 研究方法

対象：杏林大学病院もの忘れセンターまたは高齢診療科に通院中の65歳以上の高齢患者

方法：各患者について、以下の項目の測定を行った。

身体測定：下腿最大周囲径、上腕周囲長(AC)、上腕三頭筋圍長(AMC)

老年症候群：幻覚、妄想、不眠、めまい、麻痺、痺れ、歩行障害、つまずき、転倒、頻尿、尿失禁、便秘、食欲低下、体重減少、無気力、言語障害、嚥下機能障害、振戦、筋固縮

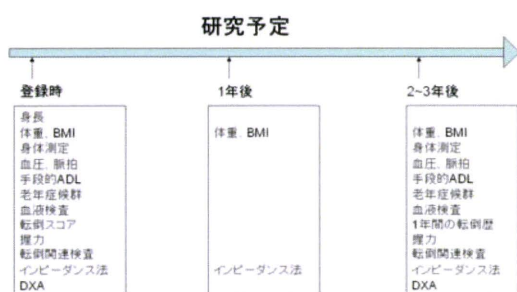
血液検査：alb, Hb, T-chol, 25(OH)VitD, テストステロン(男性のみ), IL-6, 高感度CRP

転倒関連検査：Up&Goテスト, 片足立ち時間, ファンクショナルリーチ, タンDEM歩行, 重心動揺検査

インピーダンス法：タニタ体組成計BC-118Eで脂肪量、筋肉量を四肢別に測定

DXA：体脂肪量、除脂肪量を体幹、四肢別に計測

なお、今年度～来年度は上記の項目をできるだけ多くの患者に対して行い、各指標の関係を統計的に解析する。3年目には同一患者に再度同じ検査を行い、各指標の経年変化を調査する予定である(下図)。

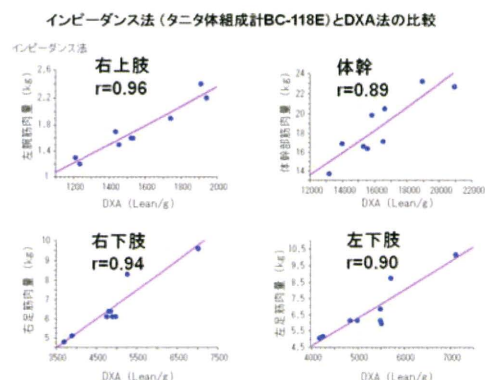


本研究は杏林大学医学部倫理審査委員会の承認を得て実施した。

C. 研究結果

1月末までに計測した31名の内訳は男性11名、女性20名、平均年齢 81 ± 5.5 歳であった。計測した項目のうちサルコペニアにおいて筋肉量の指標として頻用されるDXAとインピーダンス法の両方を測定した9名について、両者の比較をおこなった。

その結果、男女併せてもDXA法で測定したlean body mass (g)とインピーダンス法で測定した四肢、体幹の筋肉量 (kg) との間に高い相関が認められた(下図)。



このことから、筋肉量を測定するためのgolden standardとされるDXA法と比較して、本研究で使用した体組成計の数値は十分信頼性が高いものと考えられる。

D. 考察と結論

サルコペニアは加齢に伴う筋肉量の減少および筋力の低下を指し、最近 European Working Group on Sarcopenia in Older People から定義に関するコンセンサスが発表された(Cruz-Jentoft AJ, et al. Age Ageing. 2010 May 6.). 同報告では、サルコペニアを筋肉量、筋力、身体機能の3つの観点から判断するよう推奨している。ちなみに筋肉量はDXA、インピーダンス法、CT、MRIなどを用いて、筋力は握力、膝屈伸力、呼気流出速度で、身体機能は歩行速度、Up&Goテスト、階段上り時間などで測定することが紹介されている。我々の研究ではDXA、インピーダンス法、握力、歩行速度、Up&Goテスト、四肢周囲計測を行っている。まだデータの数が少ないためこの部分の解析は行えないが、今後登録患者数を増やして、

これらの検査の意味について考察する。

DXA 法は筋肉量を測定するための golden standard とされており、サルコペニアの研究に最も標準的に用いられている。CT や MRI による筋肉の断面積から計測した筋肉量ともよく相関し精度の高い方法であるが、高額な機器が必要であること、被曝の問題があり、必ずしもルーチンに行うことのできる検査ではない。そこで、より簡単に計測することのできるインピーダンス法による体組成測定計を用いて、同一患者の筋肉量を測定した。DXA 法も本体組成計も筋肉量を四肢、体幹に分けて出すことができるのが本研究の意義である。その結果、両上肢、両下肢、体幹いずれの部位においても測定値に高い相関が認められた。このことから、今後はインピーダンス法による計測のみでも十分筋肉量を推計することができると考えられる。

E. 結論

インピーダンス法による体組成計測は筋肉量測定の golden standard とされる DXA 法と比較して、十分相関が高かった。今後、体組成計を用いて筋肉量を測定していくとともに、サルコペニア/転倒関連検査を進めていく。これによって、どの検査が将来の転倒予測に有用か、どのようなサルコペニアの関連要因が転倒と関連が深いかについて検討を進めていく。

F. 健康危険情報 総括報告書参照

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Nagai K, Kozaki K, Sonohara K, Akishita M, Toba K: Relationship between interleukin-6 and cerebral deep white matter and periventricular hyperintensity in elderly women. *Geriatr Gerontol Int* 11: 2011.
2. Yamada S, Akishita M, Fukai S, Ogawa S, Yamaguchi K, Matsuyama J, Kozaki K, Toba K, Ouchi Y: Effects of dehydroepiandrosterone supplementation on cognitive function and activities of daily living in older women with mild to moderate cognitive impairment. *Geriatr Gerontol Int* 10: 280-287, 2010.
3. 町田綾子、山田如子、木村紗矢香、神崎恒一、鳥羽研二: 認知症の周辺症状と介護負担感に対する抑肝散長期投与の効果. *日老医誌* 47: 262-263, 2010.
4. 神崎恒一. 高齢者の転倒予防. *日老医誌* 47: 137-139, 2010.
5. 神崎恒一. 寝たきり. *日老医誌* 47: 393-395, 2010.

2. 学会発表

1. 望月諭、小川純人、秋下雅弘、大田秀隆、石井正紀、飯島勝矢、江頭正人、神崎恒一、鳥羽研二、大内尉義: 臨床治療薬の生存寿命への影響 パラコート障害モデルを用いた ARB による生存寿命延長効果の検討. 第 47 回日本臨床分子医学会, 東京, 2010 年 4 月.
2. 神崎恒一: 高齢者の転倒 その成因の解明とその予防対策 高齢者の転倒リスクの評価. 第 52 回日本老年医学会学術集会, 神戸, 2010 年 6 月.
3. 神崎恒一: 認知症診療の実践セミナー

認知症を理解するために必要な老年医学の知識. 第 52 回日本老年医学会学術集会, 神戸, 2010 年 6 月.

4. 山田如子、木村紗矢香、町田綾子、岩田安希子、守屋佑貴子、小林義雄、中居龍平、神崎恒一、鳥羽研二：デイサービス利用は介護負担を軽減しうるか：認知症の高齢者総合機能評価を用いた縦断解析. 第 52 回日本老年医学会学術集会, 神戸, 2010 年 6 月.

5. 町田綾子、山田如子、木村紗矢香、神崎恒一、鳥羽研二：前頭側頭葉変性症 (FTLD) の言語理解および表出についての検討—標準失語症検査 (SLTA) を用いて—. 第 52 回日本老年医学会学術集会, 神戸, 2010 年 6 月.

6. 町田綾子、山田如子、木村紗矢香、神崎恒一、鳥羽研二：重症認知症患者における残存コミュニケーション能力の検討, 2010 年 6 月.

7. 永井久美子、神崎恒一、小林義雄、鳥羽研二：軽度認知機能障害における脳委縮・脳血流と動脈硬化との関連. 第 52 回日本老年医学会学術集会, 神戸, 2010 年 6 月.

8. 小川純人、柴崎孝二、山口潔、山田思鶴、神崎恒一、鳥羽研二、秋下雅弘、大内尉義：高齢者食生活習慣と世帯構造および介護予防指標との関連性. 第 52 回日本老年医学会学術集会, 神戸, 2010 年 6 月.

9. 長谷川浩、永井久美子、神崎恒一、鳥羽研二：中高年女性における脊柱矯正・柔軟体操の経年的効果 (7 年次報告). 第 52 回日本老年医学会学術集会, 神戸, 2010 年 6 月.

10. 佐藤道子、長田正史、菊池令子、岩田安希子、木村紗矢香、山田如子、鳥羽研二、神崎恒一：転倒スコアと歩行機能検査との関連に関する検討. 第 52 回日本老年医学会

学術集会, 神戸, 2010 年 6 月.

11. 内田博子、須藤紀子、岩田安希子、佐藤道子、清水昌彦、木村紗矢香、山田如子、神崎恒一、鳥羽研二：認知症患者の塩酸ドネペジル服薬時の制酸剤併用に関する検討. 第 52 回日本老年医学会学術集会, 神戸, 2010 年 6 月.

12. 木村紗矢香、山田如子、町田綾子、岩田安希子、守屋佑貴子、小林義雄、中居龍平、神崎恒一、鳥羽研二：日本における Frontal Assessment Battery の有用性の検討. 第 52 回日本老年医学会学術集会, 神戸, 2010 年 6 月.

13. 宅美貴子、木村紗矢香、山田如子、町田綾子、神崎恒一、鳥羽研二：意味性認知症 (Semantic dementia) に対する言語リハビリテーションの治療効果. 第 52 回日本老年医学会学術集会, 神戸, 2010 年 6 月.

14. 佐藤道子、須藤紀子、清水昌彦、輪千安希子、八反丸美喜子、宮城島慶、長谷川浩、神崎恒一：NIPPV 管理中に胃壁内気腫を合併した認知症高齢者の一例. 第 52 回日本老年医学会関東甲信越地方会, 東京, 2010 年 9 月.

15. 八反丸美喜子、藤谷順子、長谷川浩、神崎恒一：頸部突出法 (neck protrusion) を施行することで良好な摂食が可能となった高齢者嚥下障害の一例. 第 52 回日本老年医学会関東甲信越地方会, 東京, 2010 年 9 月.

16. 山田如子、町田綾子、木村紗矢香、守屋佑貴子、輪千安希子、小林義雄、中居龍平、神崎恒一、鳥羽研二：介護負担軽減における在宅介護サービスの効果の検討—認知症の高齢者総合機能評価を用いた縦断解析—. 第 29 回認知症学会. 名古屋, 2010 年 11 月.

17. 町田綾子、木村紗矢香、山田如子、神崎

恒一、鳥羽研二：認知症症例に対する標準失語症検査（SLTA）の検討。第29回認知症学会。名古屋，2010年11月。

18. 木村紗矢香、町田綾子、山田如子、守屋祐貴子、輪千安希子、小林義雄、中居龍平、神崎恒一、鳥羽研二：アルツハイマー型認知症（AD）、前頭側頭型認知症（FTD）、脳血管性認知症（VD）の前頭葉機能の比較。第29回認知症学会。名古屋，2010年11月。

19. 小林義雄、岩畔哲也、田中政道、八反丸美喜子、長田正史、守屋祐貴子、輪千安希子、長谷川浩、中居龍平、神崎恒一、鳥羽研二：突発性正常圧水頭症診断のための定量的画像指標の検討。第29回認知症学会。名古屋，2010年11月。

20. 輪千安希子、長谷川浩、守屋祐貴子、小林義雄、杉山陽一、中居龍平、竹下実希、塚原大輔、宮城島慶、井上慎一郎、佐藤道子、長田正史、清水昌彦、八反丸美喜子、岩畔哲也、須藤紀子、木村紗矢香、山田如子、神崎恒一、鳥羽研二：釣藤散、抑肝散加陳皮半夏にて心不全を発症した脳血管性認知症の1例。第29回認知症学会。名古屋，2010年11月。

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし