

201115014A

平成23年度厚生労働科学研究費補助金  
長寿科学総合研究事業  
総括・分担研究報告書

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)

研究代表者	原田	敦
研究分担者	細井	孝之
	下方	浩史
	橋本	有弘
	江頭	正人
	重本	和宏
	金	憲経
	鈴木	隆雄
	島田	裕之
	神崎	恒一
	金	信敬

平成24年3月

## 目 次

### I. 総括研究報告書

- 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 ..... 1  
原田 敦

### II. 分担研究報告書

1. 運動器疾患とサルコペニアに関する臨床疫学的研究 ..... 31  
原田 敦
2. 栄養因子と体組成との関連に関する検討 ..... 39  
細井 孝之
3. サルコペニアに関する危険因子の解明と簡便な診断法の確立 ..... 43  
下方 浩史
4. 骨格筋幹細胞のSPにおける役割の解明 ..... 55  
橋本 有弘
5. 液性因子とサルコペニア ..... 59  
江頭 正人
6. サルコペニアのバイオマーカーの開発と実用化 ..... 63  
重本 和宏
7. 地域在住サルコペニア高齢者を対象とした  
運動・栄養補助効果に関する研究 ..... 71  
金 憲経  
鈴木 隆雄
8. 施設高齢者におけるサルコペニアの実態と予防対策 ..... 75  
島田 裕之

9. 外来通院高齢患者におけるサルコペニアの実態調査 神崎 恒一	81
10. 太極拳的「気らく運動」によるサルコペニアの予防 金 信敬	87
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	91
IV. 研究成果の刊行物・別刷	97

厚生労働科学研究補助金（長寿科学総合研究事業）

総括研究報告書

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

研究代表者 原田 敦

独立行政法人 国立長寿医療研究センター 副院長

研究要旨

高齢者に頻発する加齢性筋肉減弱現象（サルコペニア）は、筋量及び筋力の減少を特徴とし、生活機能低下や虚弱をもたらし、健康長寿を阻害する。その診断や予防の重要性は前より認識されていたが、大規模調査や予防に関する科学的対策確立は我が国では皆無であった。本研究では特に後期高齢者を対象として多領域研究課題を設定し、サルコペニア予防戦略に関する総合的研究を以下のように実施した。

(1) サルコペニアに関する基礎的研究のうち、骨格筋幹細胞による筋再生のメカニズムの研究では、加齢に伴うヒト筋幹細胞の性質変化を解明するために、高齢者由来筋幹細胞を不死化し、詳細な分子細胞生物学的解析に堪える実験系を樹立した。橋本らが開発したヒト筋幹細胞の不死化技術を適用して、後期高齢者の筋から分離した筋幹細胞の不死化に成功し、成長因子要求性を解析した結果、後期高齢者由来不死化筋細胞のなかに筋ジストロフィー由来筋細胞と類似した応答性を示す細胞が存在することが明らかになった。

また、診断に有効な特有のバイオマーカー探索の研究では、筋と運動神経細胞（中枢神経）の相互作用に着目して筋力と筋量とは全く別次元の計測可能パラメーターの発見とサルコペニアの新しい診断・予防・治療の開発を目的とした。前年度に抗 MuSK (Muscle-specific kinase) 抗体で発症する重症筋無力症動物モデルで筋と運動神経の相互維持作用の破綻で発症する筋萎縮メカニズムを明らかにした。高齢者と老化マウスにでもモデルマウスのシナプス形態変化（シナプス喪失減少、運動神経終末 sprouting）があることから、MuSK 支配下の重要維持機構（おそらく複数）がサルコペニア成因と強く関係していると予想している。本年度は、モデルマウスと電気生理学的手法にてシナプス伝導を顕著に改善することでモデルマウスに対して有効な薬物を見だし、さらに高齢者のリハビリテーションの促進補助薬（アジュバント治療）の可能性を提唱した。

(2) サルコペニアに関する疫学的調査に基づく診断方法の確立のための研究のうち、疫学的調査に基づく診断方法の確立のための研究では、生活習慣や既往歴など、サルコペニアのリスク要因について、無作為抽出された 40 歳以上地域在住男性 1,783 名、女性 1,825 名での 10 年間縦断的データで網羅的検討を行った。DXA での筋量から診断されたサルコペニアでは運動不足、エネルギー摂取量不足、たんぱく質・分岐鎖アミノ酸不足、低血圧、抑鬱、自覚的健康が良くないことが男女ともにリスクになっており、男性ではさらに喫煙と飲酒をしないことがリスクになっていた。身体機能から診断されたサルコペニアでは、65 歳以上のみが対象で、DXA での診断に比べてリスク要因ははっきりしなかったが、エネルギー摂取不

足が最も強いリスクであった。またたんぱく質・分岐鎖アミノ酸、ビタミンDの不足もリスクとなっていた。

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研究では、地域在住高齢者5,111名を対象とした疫学調査を実施し、その結果を基に日本人高齢者におけるサルコペニアの有症率を算出し、手段的ADLとの関連性を検討した。EWGSOPで提唱されたアルゴリズムに従うと、地域在住高齢者におけるサルコペニアの有症率は11.4%であった。この有症率は、握力と筋量のみによって判定するアルゴリズムの結果と完全に一致した。サルコペニアの有症率を性別あるいは年齢階級別に比較すると、とりわけ男性、高齢になるほどその有症率が高かった。また、サルコペニアは手段的ADLの低下と有意な関連性を示すことが明らかとなった。

(3) 高齢者専門病院受診高齢者におけるサルコペニアに関する臨床研究のうち、運動器疾患の研究では、サルコペニアが要介護の重要要因である高齢者の運動器疾患発症にどう関連するか、また、どのような介入が可能かを明らかにすることには非常に重要である。そこで、今年度は、まず、骨粗鬆症データベースから筋量と転倒の関連について転倒を確認できた431名で解析し、補正四肢筋量は、転倒なし群は、転倒あり骨折あり群より低値で、転倒あり骨折なし群とは差がなく、下肢補正筋量も同様だったが、上肢補正筋量は3群で差がなかった。サルコペニア該当者は、転倒なし群18%、転倒あり骨折なし群17%、転倒あり骨折あり群45%と、転倒あり骨折あり群で有意に多く、サルコペニアは、重度外傷を来す危険性の高い転倒と関連する可能性が示唆された。次に大腿骨近位部骨折でDXAと股関節CTを施行した19名(サルコペニア11名)で、CT軸写像による非骨折側大腿骨小転子下端レベルの筋断面積は、四肢補正筋量とよく相関( $r=0.640$ )した。さらに、活性型ビタミンD製剤の筋量増加効果を、骨粗鬆症データベースから、アルファカルシドール $1.0\mu\text{g}$ を1年投与した58例(サルコペニア15名)について検討し、四肢補正筋量と下肢補正筋量とともに投与前と1年後で有意な変化を示さなかったが、投与前にサルコペニア非該当者ではやはり差はなかったが、投与前にサルコペニアと判定された者では、四肢補正筋量変化率(1.0532)、下肢補正筋量変化率(1.0655)ともに有意な増加を認め、サルコペニア非該当者より四肢補正筋量で6.8%多く増加していた。アルファカルシドール $1.0\mu\text{g}$ がサルコペニア患者において筋量増加効果を有する可能性が示された。

栄養評価指標の研究では、筋肉量を含めた体組成に影響を及ぼす栄養因子の検討として、ビタミンKと体組成との関連を動物モデル(ラット)で検討した。その結果、ビタミンKは骨量の増加効果とともに、体脂肪の減少をもたらすことが示唆された。また、血清の中性脂肪を低下させる効果も観察された。今回の検討結果から、筋肉量やそのパフォーマンスに影響を与える栄養因子としてビタミンKについても検討していくべきであることが示された。

液性因子の研究では、中等度運動で筋アンドロゲン受容体のタンパクレベル発現は増加し、加齢に伴う骨格筋量の減少が、メタボリックシンドロームのリスク数、インスリン抵抗性にどのような影響を及ぼしているのかについて検討した。対象は、65歳以上でADLの自立した高齢女性90例(平均75歳)。DEXA法により四肢骨格筋量ならびにskeletal muscle mass index (SMI)を求め、ウエスト周囲径を除くメタボリックシンドロームのリスク数との関連について検討を行った。腹部CTもちいて内臓脂肪面積(VFA)の測定もおこなった。単相関にて、SMIは年齢と負、BMI・VFAと正の有意な相関が認められた。リスク数を目的変数とした重回

帰分析では、BMI 調整後、VFA は有意な正の相関、骨格筋量とは有意な負の相関がそれぞれ独立して認められた。高齢女性における骨格筋量減少は、内臓脂肪とは独立してリスク数を増加と関連していた。高齢者のメタボリックシンドロームの発症および進展には、骨格筋量の減少が関係していることが示唆された。

老年症候群（特に転倒）の研究では、杏林大学病院高齢診療科及びもの忘れセンター通院中の 65 歳以上患者のうち 61 名（男性 29 名、女性 32 名、平均年齢 81.4 歳）を対象に、European Working Group on Sarcopenia in Older People (EWGSOP) によるサルコペニア診断フローチャートに沿ってサルコペニア頻度を調査し、男性 20 名中 14 名（70%）、女性 30 名中 12 名（40%）がサルコペニア基準を満たした。地域高齢者と比較は必要だが、この数値はかなり高いと想定される。男性が高頻度である点からも日本人基準を設ける必要があると考えられる。また、サルコペニアと関連が深い転倒と、サルコペニアやその判断要因となっている筋肉量（インピーダンス法による補正四肢筋量）、筋力（握力）、身体機能（歩行速度）との関係を調べたところ、筋力のみが有意関連要因となっていた。今後、横断調査拡大ならびに縦断調査を行い、病院通院患者のサルコペニアの実態を明らかにしていく予定である。

(4) サルコペニアの予防方法の確立についての介入研究のうち、運動と栄養処方を用いた介入研究では、地域在住 75 歳以上の後期サルコペニア高齢者の体力や身体組成の改善に及ぼす運動、栄養補充の効果を検証するために、介入参加者 155 名を RCT により運動+栄養群 38 名、運動群 39 名、栄養群 39 名、健康教育群 39 名の 4 群に分け、運動群には週 2 回、1 回当たり 60 分の筋力強化運動を、栄養群はロイシン 42.0%含有の必須アミノ酸 3g を 1 日 2 回（一日総補充量 6g）補充する指導を 3 か月間行った。その結果、運動あるいは栄養補充による単独介入は不十分であり、「運動+栄養補充」の複合的介入が有効であることが明らかになった。

太極拳を用いた介入研究では、高齢者における SP 予防のための運動介入はとても重要である。特に高齢者の特徴に合った筋力の維持・増強のための運動介入には、持続できで簡単な運動の開発が課題である。本研究では、地域在住の 70 歳以上の高齢者 60 人（運動介入群 30 人、対照群 30 人）を対象に太極拳的「気らく運動」を長期（3 年）実施する追跡調査の 2 年目として、運動介入後の身体機能、転倒率、QOL、SP 関連指標などの測定を行い、運動介入前後の比較を行った。

以上のように、基礎的研究では、高齢者筋幹細胞解明のための筋細胞系樹立と筋からの血中分泌蛋白測定システムの開発が進んだ。疫学的調査に基づく研究では、大規模地域住民疫学調査が 2 つ実施され、サルコペニアリスクにエネルギー摂取量不足などが特定され、地域高齢者の有症率は 11.4%で、性差が大きいことが明らかになった。高齢者専門病院における臨床研究では、活性型ビタミン D 製剤が筋量増加に有効である可能性、栄養因子としてビタミン K の検討、筋量減少が高齢者メタボリックシンドローム発症と進展に関係する可能性、高齢診療科外来患者の男性 70%、女性 40%がサルコペニアと高頻度で、2 研究でサルコペニアが転倒と必ずしも関連しない可能性が示された。予防のための介入研究では地域住民にて「運動+栄養補充」の複合的介入がサルコペニア予防に有効であること、太極拳的「気らく運動」が筋量と筋力の維持や転倒率減少、身体能力と QOL 向上に有効である可能性が示された。

## A. 研究目的

### (1) サルコペニアに関する基礎的研究

#### 1-1) 骨格筋幹細胞による筋再生のメカニズムとサルコペニアとの関連性

後期高齢者骨格筋由来の筋幹細胞の性質を、分子・細胞生物学的および病理学的に解析し、サルコペニアにおける筋幹細胞の役割を明らかにする。さらに、成果をもとに「骨格筋幹細胞を標的としたサルコペニアに対する新たな予防法ならびに重度化防止法」を提案する。

#### 1-2) サルコペニア診断に有効な特有のバイオマーカー探索

筋の維持には、神経筋シナプスでの ACh による順行性シグナルが必要で、未知の逆行性シグナルを同定できれば、筋と運動神経細胞の相互維持のメカニズムとサルコペニアの因果関係を解明することが可能となる。この相互維持メカニズムを動物モデルで明らかにし、さらに、筋からの逆行性シグナルをバイオマーカーとして利用するための探索を行った。

### (2) サルコペニアに関する疫学的調査に基づく診断方法の確立のための研究

#### 2-1) 地域在宅高齢者を対象とした長期縦断疫学データに基づくサルコペニア危険因子の分析と簡便な診断方法の確立

サルコペニアは、高齢者の ADL を低下させ、健康長寿を実現の大きな障害となる。しかし、老化に伴う筋量減少の実態は明らかでなく、またサルコペニア自体の簡便な基準がない。臨床の現場や住民調査などで使用できる簡便なサルコペニアの基準が必要である。さらにサルコペニアを予防するためには、その危険因子を明らかにしていく必要がある。これらの検討を 10 年以上に

わたって継続されている一般住民のコホートのデータを使用して解明する。

#### 2-2) 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：介護高齢者スクリーニング機器で検討

高齢期の生活障害危険因子として注目されるのがサルコペニアで、その中核は骨格筋量や筋力の低下である。このような骨格筋の器質的や機能的変化は加齢に伴って加速し、基本的ならびに手段的日常生活活動 (ADL) の低下を引き起こすことが報告されている。

日本は世界一の長寿大国であり、サルコペニアは諸外国に比して重要となる。

また、人種による体格の違いを考慮すると、欧米の研究結果をそのまま日本人に当てはめることは適当ではない。サルコペニア研究は未だ緒についたばかりで、その実態や影響に関する知見は不足している。サルコペニアの予防戦略を確立するためには、まず日本人高齢者のサルコペニアの実態を把握し、スクリーニング法を確立したうえで、ADL 障害に対する影響について検証する必要がある。本研究では日本人高齢者を対象とした大規模調査の結果から、地域在住高齢者におけるサルコペニアの実態を把握するとともに、サルコペニア判定基準を検討した。また、サルコペニアと手段的 ADL との関連性を検討し、サルコペニアが日常生活機能に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

### (3) 高齢者専門病院受診高齢者におけるサルコペニアに関する臨床研究

#### 3-1) 病院受診者における運動器疾患とサルコペニアの関連性

高齢社会で著増する後期高齢者の生活機能を減弱させる虚弱の臨床的表現型として

サルコペニアが特筆され、それと要介護の重要要因である高齢者運動器疾患との関連性を明らかにすることの意義は大きい。今年度は、筋量と転倒の関連、大腿骨近位部骨折の筋量と筋面積との関連、さらに、治療法の開発のために、活性型ビタミン D 製剤アルファカルシドール  $1.0 \mu\text{g}$  の筋量増加効果を検討した。

### 3-2) 病院受診者における栄養評価指標とサルコペニアの関連性

ビタミン K は血液凝固システム以外にさまざまな生体機能に関わると注目されているが筋量等、体組成の検討はまだほとんどない。近年、ビタミン K1 やメナテロレノン以外のビタミン K2 がメナテロレノンに転換されることや、核内受容体への結合を介する作用が明らかにされ、2 部位の水酸化を経て核内受容体に作用するビタミン D とのアナロジーにおいて、「ホルモン」として認識すべきとの考えもある。ただ、哺乳類ではビタミン K の de novo 合成はされ得ないという点でビタミン D とは異なる。このため、哺乳類はビタミン K は食物からの摂取か、腸管細菌叢で産生されたものの吸収によって需要が満たされている。ビタミン K が欠乏すると血液凝固障害による出血のために生命は維持できないことを考えると、ビタミン K は哺乳類において、まさに「ビタミン」であり、微生物との共生進化の点からも興味深い対象である。今回の研究ではサルコペニア研究におけるビタミン K の位置付けを明らかにすることを目的に動物モデル(ラット)におけるビタミン K の体組成に対する影響を検討した。

### 3-3) サルコペニアに関与する液性因子の研究

加齢にともない体組成は変化することが知られており、骨格筋量は減少し、内臓脂肪量は増加する。一方、メタボリックシンドロームの有病率は加齢に伴って、上昇することが知られており、加齢にともなう内臓脂肪量の増加が関連していると考えられているが、骨格筋量減少との関連は明らかではない。そこで、高齢者における骨格筋量が、内臓脂肪量とは独立して、メタボリックシンドロームのリスク数と負に相関している可能性があると考え、横断研究を行った。

### 3-4) 外来通院高齢者における老年症候群(特に転倒)とサルコペニアに関する横断的/縦断的研究

高齢者の要介護招来の最大原因は虚弱、虚弱の最大要因はサルコペニアなので、サルコペニアの病態を理解し、適切対策を講ずることは要介護抑止に重要である。サルコペニアの定義を論じた 2010 年に European Working Group on Sarcopenia in Older People (EWGSOP) からの報告ではサルコペニアを歩行速度、筋力、身体機能を指標としてフローチャートに沿って判定するよう提案している。なお、身体機能は通常歩行速度など、筋力は握力など、筋肉量は DXA、生体インピーダンス法などで計測するとしている。サルコペニアの帰結事象として、日常生活活動度、QOL、転倒、死亡率などをあげている。本研究では杏林大学病院もの忘れセンターに通院中の患者を対象に EWGSOP 基準に照らし合わせて、どの程度の患者がサルコペニアに当てはまるか、また、帰結事象に転倒を選択した場合、転倒とサルコペニアもしくは転倒と歩行速度、筋力、身体機能との関係を調べることを目



的とした。

#### (4) サルコペニアの予防方法の確立についての介入研究

4-1) 地域在宅高齢者、特に後期高齢者におけるサルコペニア予防のための運動と栄養処方を用いた無作為割付け比較介入試験の実施

地域在住サルコペニア高齢者を対象に 3 か月間行った運動、栄養補充が体力や体組成の変化に及ぼす影響を検討する。

4-2) 太極拳のサルコペニア予防効果に関する無作為割付け比較介入試験の実施

日本では運動介入によるサルコペニアの予防に関する研究は始まったばかりである。特に対象が高齢者のため、その身体特徴を十分に考慮した運動内容を考えることが重要である。つまり、サルコペニア指標である筋量と筋力の維持増強効果があつて、運動の強度や運動のやり易さが高齢者に適合する介入法が求められる。近年、太極拳などが高齢者の身体機能や転倒予防に効果的であるとの研究があり、高齢者に適合する運動としても知られる。そこで、本研究は、地域在住高齢者に太極拳の特徴と経絡を取り入れた生活型運動「気らく運動」を実施することで、サルコペニアの予防効果を検討する。

## B. 方法

### (1) サルコペニアに関する基礎的研究

1-1) 骨格筋幹細胞による筋再生のメカニズムとサルコペニアとの関連性

#### ① ヒト筋幹細胞の分離と初代培養

国立長寿医療研究センターにおいて手術で本人同意が得られた場合に筋を 1g 程度摘出し、タンパク質分解酵素処理にて筋幹細胞を分離した。

骨格筋 30 -40mg に由来する細胞を、I 型コラーゲン塗布プラスチック培養皿に播き、培養液 Primary myocyte growth medium (pmGM) にて静置培養した。筋分化誘導には、 $1 \times 10^5$  細胞を 35-mm 培養皿に播き、2 日後に培地を pmDM に交換し、6-7 日間培養した。

#### ② 初代培養ヒト筋細胞の不死化

独自に開発した不死化法を用いて、後期高齢者由来不死化筋細胞を樹立した。初代培養ヒト筋細胞に、ヒトテロメラーゼ遺伝子、ヒト CDK4R24C 遺伝子およびヒト cyclin D1 遺伝子を導入・発現させることによって、ヒト筋細胞を、分化能を保持したまま不死化した (Shiomi et al, 2011)。

#### ③ 不死化ヒト筋細胞の純化およびクローニング

不死化後の細胞集団に含まれる筋細胞の割合を、抗ヒト NCAM 抗体を用いたフローサイトメトリーによって検討した。筋細胞を分画する場合は、抗ヒト NCAM 抗体を用いたフローサイトメトリーによって NCAM 陽性細胞を分離した。細胞クローニングは、低密度培養後に形成されたコロニーを分離することによって行った。

1-2) サルコペニア診断に有効な特有のバイオマーカー探索

#### ① リコンビナント蛋白の作成と免疫

補体欠損マウス (A/WySnJ) メスに MuSK 蛋白を免疫し抗 MuSK 抗体で動物発症モデルを作成した。抗原はラット筋細胞 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 と付加して、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あたり 20  $\mu$ g をアジュバントと免疫し体重を記録して発症モニターした。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。

## ② In vivo, ex vivo 電気生理学的解析

(1) 筋電図測定：発症マウスとコントロールから筋電図を測定した。刺激電極を座骨神経近傍の筋に刺入し、反復電気刺激を加え腓腹筋中央部に刺入した記録電極から筋電図を測定した。

(2) 微小電極法による膜電位の測定：マウスから横隔膜神経を含む半側横隔膜を摘出し、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(MEPPs)を測定後、骨格筋特異的 Naチャンネル阻害剤である  $\mu$ -conotoxin GIIIB を作用させ、電気神経刺激による EPPs を測定した。各電位は補正後に直接法による Quantal content(QC)を算出した。

### (3) 3, 4-DAP の効果判定

① 体重 20g の発症マウスに 1.6mg/ml の 3, 4-DAP を 100ml 腹腔へ注射し、20 分後に筋電図測定した。

② サンプルを含むタイロード溶液に 3, 4-DAP を 100  $\mu$ M になるように加え、20 分後に微小電極法で RMP, MEPPs, EPPs を測定して QC を算出した。

## (2) サルコペニアに関する疫学的調査に基づく診断方法の確立のための研究

2-1) 地域在宅高齢者を対象とした長期縦断疫学データに基づくサルコペニア危険因子の分析と簡便な診断方法の確立

### ① 対象

「国立長寿医療研究センター・老化に関する長期縦断疫学研究 (NILS-LSA)」第 1 次から第 6 次調査までに参加した地域在住

中高年者 3, 608 名(男性 1, 783 名、女性 1, 825 名)を対象とした。平均年齢は、男性 57.8  $\pm$  13.1 歳、女性 56.9  $\pm$  12.8 歳で、延べ 14, 010 回の測定を用いた。これらの参加者は愛知県大府市および東浦町の地域住民からの無作為抽出者である。

## ② 測定項目

(1) 身体計測値：BMI、下腿囲

(2) 体力：普通歩速度、握力(利き手)

(3) 栄養素摂取量：写真撮影併用の秤量法による 3 日間食事調査による、エネルギー摂取量、たんぱく質、ビタミン D、筋肉合成関連アミノ酸(イソロイシン、ロイシン、バリン、アルギニン) 摂取量

(4) 心理検査：抑鬱 (CES-D) カットオフ 15/16、認知機能 (MMSE) カットオフ 23/24

(5) 生活習慣調査：飲酒習慣、喫煙

(6) 体活動量：歩数(7 日間測定)、面接調査によるタイムスタディ及び運動習慣調査 (METS\*min/y) による余暇身体活動量、総身体活動量

(7) サルコペニア指標：Dual-energy X-ray Absorptiometry (DXA) (QDR 4500, Hologic) によって四肢除脂肪・除骨重量測定し、これを四肢筋量とした。Baumgartner ら(1998)の方法に準じ、四肢筋量を身長<sup>2</sup>で除した値を Skeletal Muscle Index (SMI) とし、サルコペニアの指標とした。その判定基準には同じ QDR 4500, Hologic で測定した Sanada ら(2010)による YAM (Young Adult Mean: 18-40 歳)の -2SD: 男性 6.87 kg/m<sup>2</sup>、女性 5.46kg/m<sup>2</sup> をサルコペニア有無の判定基準とした。また、昨年度成果に基づいて、65 歳以上の男女で、普通歩速度 1m/s 未満、もしくは握力が男性 25kg 未満、女性 20kg 未満の脆弱高齢者で、BMI 18.5 未満もしくは

は下腿囲 30cm 未満をサルコペニアとした場合の検討も行った。

### ③解析方法

10 年間の縦断的データ男女別に年齢調整して、飲酒、喫煙、既往歴、身体活動量、血圧、認知機能、抑鬱、栄養素摂取量とサルコペニア発症リスクを、一般化推定方程式 (GEE) を用いて推定した。

#### 2-2) 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：介護高齢者スクリーニング機器で検討

大府市在住の 65 歳以上高齢者にダイレクトメールを送付し、調査参加意思を示した計 5,111 名に身体組成、筋力、歩行機能を評価した。要介護認定されていた 250 名を除外し、最終的に計 4,590 名 (男性：2,297 名、女性：2,293 名) のデータからサルコペニア有症率を算出した。サルコペニア判定には the European Working Group on Sarcopenia in Older People (EWGSOP) で提唱されたアルゴリズムを用いた。このアルゴリズムでは歩行速度 (0.8 m/s) 以外のカットオフが明記されていないため、筋量 (skeletal muscle index: SMI) と握力については Baumgartner 報告を参考に、日本人若年者の平均 SMI または平均握力の 2 標準偏差以下を“筋量低下あり”あるいは“筋力低下あり”と判定した。日本人若年者参照値は真田ら (2010) の報告と新・日本人の体力標準値 2000 から算出した。また、サルコペニア判定のもう 1 つの方法として握力と筋量のみを用いた独自アルゴリズムを作成し、EWGSOP アルゴリズムの結果と比較した。

身体組成は多周波体組成計 (MC-980A、TANITA 社製) にて全身と部位別の筋量と脂

肪量を測定し、四肢筋量を身長<sup>2</sup>で補正した SMI (kg/m<sup>2</sup>) によって評価した。握力は、利き手の最大値を採用した。歩行速度は、前後に加速と減速路を設けた 7.5m の歩行路を通常速度で 5 回歩き、その平均速度を算出した。手段的 ADL は基本チェックリストの 3 項目 (公共交通機関利用、日用品買い物、預貯金管理) で評価し、1 項目以上で“いいえ”と回答した場合を“手段的 ADL 低下あり”と判定した。手段的 ADL 低下を従属変数、サルコペニアと潜在的な交絡因子 (年齢、性別、疾患の有無、視力・聴力障害、転倒恐怖感、職業、家族構成) を独立変数に投入した多重ロジスティック回帰分析を用いて、手段的 ADL 低下とサルコペニアの関連性を検討した。

#### (3) 高齢者専門病院受診高齢者におけるサルコペニアに関する臨床研究

##### 3-1) 病院受診者における運動器疾患とサルコペニアの関連性

筋量と転倒の関連性研究では、国立長寿医療研究センターにて 2002 年以降に骨粗鬆症の診断のために、二重エネルギーエックス線吸収測定法 (Dual energy x-ray absorptiometry: DXA) を施した 2,868 名のデータベースから、転倒と外傷を確認できた患者群を抽出し、転倒及び外傷と筋量と関係を補正四肢筋量などで解析した。

筋量と筋面積との関連性研究では、大腿骨近位部骨折で入院直後に DXA と股関節 CT が施行できた者に、CT 軸写像にて非骨折側大腿骨小転子下端レベルの筋断面積と測定して補正四肢筋量や身体活動性との関連性を検討した。

活性型ビタミン D 製剤の筋量効果研究では、上記データベースから、アルファカル

シドール $1.0\mu\text{g}$ を1年以上継続投与した症例で、投与前と投与後1年で補正四肢筋量などの筋量変化を測定できた者を抽出し、筋量増加効果をサルコペニア有無の影響を含めて解析した。

### 3-2) 病院受診者における栄養評価指標とサルコペニアの関連性

23匹のラットを対照群、ビタミンK1(PK)投与群、ビタミンK2(MK-4)投与群の3群にわけた。PK群にはビタミンK1を600mg/kg、MK-4群にビタミンK2(menatetrenone)を600mg/kgの割合で含む食餌を与え、3か月後に血液の生化学的パラメーター、骨密度、骨強度指標、体組成(とくに内臓脂肪と皮下脂肪)の測定を動物用CTに用いて行った。なお、動物実験にあたっては、倫理的規範に則って行われるべく十分な注意がはらわれた。

### 3-3) サルコペニアに関与する液性因子の研究

対象は、健診で都内診療所を受診したADLに障害のない高齢女性90例。悪性腫瘍治療中、消化管手術既往、内分泌疾患治療中、心不全・腎不全、糖尿病治療薬、 $\beta$ 遮断薬、 $\beta$ 刺激薬、 $\alpha$ 遮断薬内服中、のものを除外した。平均年齢は、 $75\pm 6$ 歳であった。

四肢骨格筋量としては、DEXA法により四肢骨格筋量を求め、さらに身長(m)の2乗で除したskeletal muscle mass index(SMI)を用いた。内臓脂肪量評価は臍レベル腹部CTから内臓脂肪面積(VFA)を測定した。メタボリックシンドロームのリスク評価としては、IDF基準を用い、腹囲以外のリスク数(0-4個)を求めた。2変量の相関関係にはPearson's correlation coefficientを用いた。多変量解析には重回帰分析を用いた。

### 3-4) 外来通院高齢者における老年症候群(特に転倒)とサルコペニアに関する横断的/縦断的研究

対象は杏林大学病院高齢診療科ともの忘れセンター通院中の65歳以上の患者61名(男性29名、女性32名、平均年齢81.4歳)。測定項目は、身長、体重、BMI、筋肉量(DXA法とインピーダンス法)、身体機能(歩行速度、3m Up&Goテスト、タンデム歩行、ファンクショナルリーチ)、握力、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、頻尿、尿失禁、便秘、食欲低下、体重減少)について調査、過去1年間の転倒歴。

以上から、EWGSOPのフローチャートにしたがってサルコペニアを判定し、過去1年間の転倒歴と筋力(握力)、身体機能(歩行速度)、筋肉量(身長補正した四肢筋量)との関係(t検定と多重ロジスティック解析)を解析した。

### (4) サルコペニアの予防方法の確立についての介入研究

#### 4-1) 地域在宅高齢者、特に後期高齢者におけるサルコペニア予防のための運動と栄養処方を用いた無作為割付け比較介入試験の実施

地域在住75歳以上の高齢者1,377名を調査し、筋肉量の減少、筋力低下、BMI減少、歩行機能の低下者をサルコペニアと操作的に定義し、該当者304名(22.1%)を選定した。304名を対象にサルコペニア改善教室参加者を募集したところ、155名が参加を希望し、149名が不参加であった。参加希望者155名をRCTにより、運動+栄養群38名、運動群39名、栄養群39名、健康教育群39名の4群に分けた。運動群には週2回、1回当

たり 60 分の筋力強化運動を 3 か月間指導した。栄養群にはロイシン 42.0%含有の必須アミノ酸 3 g を 1 日 2 回（一日総補充量 6g）補充する指導を 3 か月間行った。

#### 4-2) 太極拳のサルコペニア予防効果に関する無作為割付け比較介入試験の実施

対象者は、山梨県在住の 70 歳以上の高齢者で本研究参加に同意した 60 人（運動介入群 30 人、対照群 30 人）。両群に対して運動介入後第一回目の測定を行い比較した。測定項目は、身体形態（身長、体重、骨格筋量、体脂肪量、骨密度）、身体機能（握力、膝伸展力、股屈曲力、10m 歩行速度、体前屈、開眼片足立ち時間）、転倒歴と QOL (SF36) のアンケート調査。運動介入群には指導員の下で週 1 回、1 回 60 分の太極拳的「気らく運動」を行った。また、運動群には、毎日自宅で指定の自主運動を 30 分以上実施させた。

（倫理面への配慮）

1-1) 骨格筋幹細胞による筋再生のメカニズムとサルコペニアとの関連性：ヒト筋組織採取に関しては、国立長寿医療研究センター倫理委員会および大分大学 IRB での研究実施の承認を受けた上で実施し、本研究への参加について文書を用いて説明し、対象者本人から書面の同意を得た。

1-2) サルコペニア診断に有効な特有のバイオマーカー探索：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。

2-1) 地域在宅高齢者を対象とした長期縦断疫学データに基づくサルコペニア危険因子の分析と簡便な診断方法の確立：国立長寿医療研究センターにおける倫理委員会での研究実施の承認を受けた上で実施し、調査

の対象者全員からインフォームドコンセントを得ている。

2-2) 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：国立長寿医療研究センターにおける倫理委員会での研究実施の承認を受けた上で実施し、本研究への参加について文書を用いて説明し、対象者本人から書面の同意を得た。

3-1) 病院受診者における運動器疾患とサルコペニアの関連性：大腿骨近位部骨折に関しては、国立長寿医療研究センターにおける倫理委員会での研究実施の承認を受けた上で実施し、本研究への参加について文書を用いて説明し、対象者本人から書面の同意を得た。対照に関しては、過去の診療データベースを使用しており、倫理面の問題は生じないと考えられた。

3-2) 病院受診者における栄養評価指標とサルコペニアの関連性：今回の検討は患者を対象とする研究を立案するための機器のパフォーマンスを検討するものであり、倫理面の問題は生じないと考えられた。

3-3) サルコペニアに関与する液性因子の研究

実験動物の取り扱いは、東京大学の動物実験に関する倫理指針にそっておこなわれた。臨床研究は実施施設（医療法人秀行会）の倫理委員会の承認のもと、本試験への参加について本人から書面の同意を得て行った。

3-4) 外来通院高齢者における老年症候群（特に転倒）とサルコペニアに関する横断的/縦断的研究：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。

4-1) 地域在宅高齢者、特に後期高齢者におけるサルコペニア予防のための運動と栄養処方を用いた無作為割付け比較介入試験の

実施：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。

4-2) 太極拳のサルコペニア予防効果に関する無作為割付け比較介入試験の実施：太極拳の RCT 開始：本研究は健康科学大学倫理委員会の承諾を得た上で実施した。

## C. 研究結果

### (1) サルコペニアに関する基礎的研究

1-1) 骨格筋幹細胞による筋再生のメカニズムとサルコペニアとの関連性

①後期高齢者筋組織に含まれる筋幹細胞のコロニー解析

82 歳女性の筋から分離した初代培養細胞の筋分化能を検討した。筋 8-10 mg から分離した細胞を低密度で培養した。コロニー形成確認後、分化培地中で 6 日間培養し、筋分化を誘導した。分化マーカー myosin heavy chain に対する抗体で染色し、筋細胞コロニーを同定したところ、形成率は 1.3 コロニー/mg muscle であった。これは 63 歳男性の筋形成率 2.88 コロニー/mg の半分以下であった。また、82 歳女性の筋由来初代培養では、分化特異的 myosin heavy chain 遺伝子の発現は確認されるも、分化率は非常に低く、筋細胞割合は 1%程度と推定された。

②後期高齢者筋細胞の不死化

初代培養ヒト筋細胞は継代に伴い速やかに増殖分化能を失って詳細かつ再現性の担保された解析を行うことは困難であった。我々は、初代培養ヒト筋細胞の増殖停止機構を解析し、ヒトテロメラーゼ遺伝子、ヒト CDK4R24C 遺伝子およびヒト cyclin D1 遺伝子を導入してヒト筋細胞を分化能保持のまま不死化できることを明らかにした

(Shiomi, et al, 2011)。この不死化法を用いて、2 名の腹直筋から分離の初代培養筋細胞を不死化に成功した。得られた不死化筋細胞は、高い分化能を示し、成熟筋線維の特徴の横紋構造形成も認められた。

③後期高齢者不死化筋細胞の増殖特性

75 歳男性と 2 歳女性の筋から樹立した不死化筋細胞で、後期高齢者不死化筋細胞の増殖特性を検討し、後期高齢者不死化筋細胞のなかに basic FGF に対する高い応答性およびステロイドホルモンに対する低応答を示す細胞が含まれることが明らかになった。我々は類似の性質を持つ細胞がディシェンヌ型筋ジストロフィー由来筋細胞中に含まれていることを見つけている。

1-2) サルコペニア診断に有効な特有のバイオマーカー探索

3, 4-DAP は神経筋シナプス伝導を顕著に改善する。

補体欠損マウスに MuSK 蛋白の 2 回目免疫後に全マウスが筋力低下と筋萎縮を発症した。このマウスは 100%の確率で同調して重篤症状を示すだけでなく、神経筋シナプス形態異常を示すことを 2012 年に論文発表した。正常マウスでは座骨神経を 3Hz 刺激で得られた筋電図で compound muscle action potential (CMAP) 波形パターンにおいて漸減反応は全く観察されないが、発症マウスでは異常基準値 10%以上の典型的漸減反応がおきる発症マウスに 3, 4-DAP を腹腔投与すると漸減反応を示していた CMAP が顕著改善される。さらに、発症マウスで一番目の CMAP が 12mV から最大 34.7mV、正常マウスでも上昇することを明らかにした。

3, 4-DAP はプレシナプス機能を賦活する。

3, 4-DAP の作用機序を明らかにするため

に、ガラス微量電極法によりマウス横隔膜膜電位を測定した。発症マウスでは MEPPs と EPPs および QC の低下が測定された。MEPPs 低下はシナプス後膜に伝導障害が存在することを示す。QC 低下はプレシナプスからの ACh 放出も障害されていることを示す。次に、3,4-DAP を発症マウスからの摘出横隔膜に投与すると、EPPs は 136%、面積は 259% も増強した。さらに、QC 平均値は 3,4-DAP 処理後に 141% 増強した。また、正常コントロールでも増強作用があった。以上から、3,4-DAP は発症マウスにおいて、プレシナプス機能の賦活で CMAP 漸減反応を改善し、さらに CMAP を増強することがわかった。さらに、正常コントロールマウスの MEPPs も増強することから (36%)、3,4-DAP はポストシナプス機能も亢進する可能性を見いだした。

## (2) サルコペニアに関する疫学的調査に基づく診断方法の確立のための研究

### 2-1) 地域在宅高齢者を対象とした長期縦断疫学データに基づくサルコペニア危険因子の分析と簡便な診断方法の確立

#### ①DXA によるサルコペニア

DXA での筋量から診断されたサルコペニアでは、男性で飲酒しない、喫煙がリスクとなっていた。既往歴では高血圧症のみが有意であった。自覚的健康度は良くないとオッズ比は 1.2 倍に高く、健康との関連が示唆された。身体活動量は総身体活動量のみが関連し、エネルギー摂取量、血圧、抑鬱もサルコペニアリスクになっていた。女性では喫煙、飲酒、既往歴は関連せず、自覚的健康度は男性同様に良くないことがサルコペニアリスクを上げた。身体活動量は余暇身体活動量、総身体活動量ともにサル

コペニアに関連し、エネルギー摂取量、血圧高値もサルコペニアリスクだった。抑鬱や認知機能は関連しなかった。

栄養素では男女ともにビタミン D とサルコペニアとの関連は認めなかったが、たんぱく質摂取量、イソロイシン、ロイシン、バリン、アルギニンの筋肉合成関連アミノ酸摂取量が多いほど、サルコペニアリスクは下がっていた。

#### ②身体機能、体格によるサルコペニア

身体機能、体格と各危険因子との関連は DXA によるサルコペニアと危険因子の関連より弱かった。

男性で飲酒は関連せず、喫煙が関連し、オッズ比は 3.78 であった。既往歴、自覚的健康度との関連はなかった。身体活動量では余暇身体活動と歩数が関連した。エネルギー摂取量、血圧との関連はあったが、抑鬱、認知機能は関連しなかった。女性ではほとんどの項目でサルコペニアとの関連は検出されず、高血圧症既往、エネルギー摂取量のみが関連していた。一方、栄養素摂取量との関連は強く、男女ともにたんぱく質摂取量、イソロイシン、ロイシン、バリン、アルギニン摂取量が多いほど、サルコペニアリスクは下がっていた。ビタミン D とサルコペニアとの関連はなかった。

### 2-2) 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：介護高齢者スクリーニング機器で検討

非サルコペニアとサルコペニア高齢者の身体特性は分担報告書の表 1 に示した。多重ロジスティック回帰分析の結果、サルコペニアの有無は交絡因子による調整後も手段的 ADL の低下と有意な関連性を認めた。非サルコペニアに対してサルコペニア高齢

者は手段的 ADL 障害を有するオッズ比が 1.29 (95%CI : 1.02-1.64、 $p < 0.03$ ) となった。

EWGSOP が提唱するアルゴリズムに従うと、日本人高齢者におけるサルコペニアの有症率は 11.4% (521 名) であった。一方、握力と筋量によって判定されたサルコペニアの有症率も 11.4% で、両者の結果は完全に一致した。EWGSOP のアルゴリズムで歩行速度が 0.8m/s 以下の高齢者 121 名中、筋量の低下を認めてサルコペニアと判定されたのは 32 名 (26%) であった。

次に、サルコペニアの有症率を性別に比較すると男性が 15.0% (344 名)、女性が 7.7% (177 名) で、男性の方が高い有症率を示した。また、サルコペニアの有症率を年齢階級別に算出すると、男女とも高齢であるほど有症率が高く、80 歳以上におけるサルコペニア有症率は 30.4% に達した。

### (3) 高齢者専門病院受診高齢者におけるサルコペニアに関する臨床研究

#### 3-1) 病院受診者における運動器疾患とサルコペニアの関連性

筋量と転倒の関連性研究では、転倒と外傷の有無を確認できた 431 名で、転倒なし 100 名、転倒あり骨折なし 59 名、転倒あり骨折あり 272 名であった。補正四肢筋量は、転倒あり骨折あり群 (5.717kg/m<sup>2</sup>kg) は、転倒なし群 (6.094kg/m<sup>2</sup>kg)、転倒あり骨折なし群 (6.042kg/m<sup>2</sup>kg) より有意に低下していた ( $p < 0.05$ ) が、転倒なし群と転倒あり骨折なし群の間には差はなかった。下肢補正筋量も同様で、転倒あり骨折あり群は、転倒なし群、転倒あり骨折なし群より低下していた ( $p < 0.05$ ) が、後者 2 群間には差はなかった。上肢補正筋量は 3 群とも差がな

かった。

サルコペニア該当者は転倒なし群で 18%、転倒あり骨折なし群で 17%、転倒あり骨折あり群で 45% と転倒あり骨折あり群で有意に多かった ( $p < 0.05$ )。

筋量と筋面積との関連性研究では、19 名のうち、11 名がサルコペニアと診断され、筋断面積は 9375mm<sup>2</sup>、四肢補正筋量は 5.76kg/m<sup>2</sup> で、筋断面積と四肢補正筋量は、よく相関した ( $r = 0.640$ 、 $p = 0.003$ )。

活性型ビタミン D 製剤の筋量効果研究では、アルファカルシドール 1.0  $\mu$ g を 1 年以上投与した者は、58 名で、男性 3 名、女性 55 名、年齢 69.6 才であった。サルコペニア該当者 15 名であった。この 58 名のアルファカルシドール 1.0  $\mu$ g 投与前の全身筋量、上肢筋量、下肢筋量、四肢補正筋量、上肢補正筋量、下肢補正筋量は、順に 32106.0g、3108.7g、10168.4g、5.853kg/m<sup>2</sup>、0.646kg/m<sup>2</sup>、4.484kg/m<sup>2</sup> であった。これに対して、投与 1 年後の全身筋量、上肢筋量、下肢筋量、四肢補正筋量、上肢補正筋量、下肢補正筋量は、順に 32053.8g、3118.2g、10134.9g、5.848kg/m<sup>2</sup>、0.626kg/m<sup>2</sup>、4.474kg/m<sup>2</sup> で、1 年間で有意に変化したものはなかった。次に、投与前にサルコペニアに該当か非該当かで、効果を分けて検討すると、サルコペニア該当者では、全身筋量、上肢筋量、下肢筋量、四肢補正筋量、上肢補正筋量、下肢補正筋量の投与 1 年後の変化率は、順に 1.0155、1.0170、1.0638、1.0532、1.0505、1.0655 であった。これに対して、サルコペニア非該当者では、全身筋量、上肢筋量、下肢筋量、四肢補正筋量、上肢補正筋量、下肢補正筋量の投与 1 年後の変化率は、順に 0.9924、1.0125、0.9781、0.9854、0.9931、



0.9803 であった。両者で差が認められたのは、全身筋量変化率 ( $p=0.046$ )、下肢筋量変化率 ( $p=0.000$ )、四肢補正筋量変化率 ( $p=0.005$ )、下肢補正筋量変化率 ( $p=0.000$ ) であった。サルコペニアのある骨粗鬆症患者は、アルファカルシドール  $1.0\mu\text{g}$  投与によって、サルコペニアのない骨粗鬆症患者より四肢補正筋量で 6.8% 有意に多く増加していた。

### 3-2) 病院受診者における栄養評価指標とサルコペニアの関連性

3 か月の実験期間終了後、PK 群においては大腿骨の骨密度は対照群に比較して有意に上昇していたが、MK-4 群では骨密度の上昇は認められなかった。一方、骨強度指標である大腿骨の cross-sectional moment や polar moment は MK-4 群で有意な上昇が観察された。また、MK-4 群においては灰化カルシウム重量や皮質厚の上昇が認められた。PK 群、MK-4 群ともに CT によって測定された総脂肪量が対照群に比して低下していた (それぞれ  $p<0.01$ 、 $p<0.05$ )。また、血液の生化学パラメーターうち、中性脂肪値は、対照群に比して PK 群で 48%、MK-4 群で 29% 低下していた。一方、血清カルシウム、リン、アルカリフォスファターゼ、insulin-like growth factor-1、骨代謝回転関連マーカーについては各群間で統計的有意差はなかった。

### 3-3) サルコペニアに関与する液性因子の研究

単相関による解析にて、SMI は年齢と有意な負の相関 ( $\beta=-0.25$ ,  $P<0.01$ ) が、また BMI ( $\beta=0.79$ ,  $P<0.01$ ) と正の有意な相関が認められた。リスク数を目的変数とした重回帰分析では、BMI 調整後、四肢骨格筋量とは

有意な負の相関 ( $\beta=-0.26$ ,  $P=0.04$ )、VFA とは有意な正の相関 ( $\beta=0.37$ ,  $P=0.01$ ) がそれぞれ独立して認められた。

### 3-4) 外来通院高齢者における老年症候群 (特に転倒) とサルコペニアに関する横断的/縦断的研究

対象者の測定値は、BMI  $21.9\text{ kg/m}^2$ 、DXA による補正四肢筋量  $6.1\text{ kg/m}^2$ 、インピーダンス法による補正四肢筋量  $7.6\text{ kg/m}^2$ 、歩行速度  $0.82\text{ m/sec}$ 、TUG  $11.5\text{ sec}$ 、タンデム歩行  $4.4$  歩、ファンクショナルリーチ  $24.4\text{ cm}$ 、握力  $19.0\text{ kg}$ 、老年症候群の保有数  $2.4$  個、過去 1 年間の転倒経験者  $18$  人。性差があったのは DXA 補正四肢筋量、インピーダンス補正四肢筋量、握力であった。

昨年度 DXA とインピーダンス法による補正四肢筋量に高相関がみられることを報告し、これと DXA 補正四肢筋量の日本人でのサルコペニアのカットオフ値をもとに、インピーダンス補正四肢筋量の日本人でのサルコペニアのカットオフ値を求めたところ男性  $8.87\text{ kg/m}^2$ 、女性  $7.0\text{ kg/m}^2$  と算出された。これと EWGSOP で提唱されている歩行速度  $0.8\text{ m/sec}$ 、握力男性  $30\text{ kg}$ 、女性  $20\text{ kg}$  をそれぞれカットオフ値と定め、EWGSOP フローチャートで患者選定を行ったところ、男性  $20$  名中  $14$  名 ( $70\%$ )、女性  $30$  名中  $12$  名 ( $40\%$ ) がサルコペニア基準を満たした。次に、転倒とサルコペニアとの関係について解析し、サルコペニアとされた男性  $14$  名で転倒者は  $4$  名 ( $29\%$ )、サルコペニアとされなかった男性  $6$  名で転倒者は  $2$  名 ( $33\%$ ) で、サルコペニアとされた女性  $12$  名で転倒者は  $4$  名 ( $33\%$ )、サルコペニアとされなかった女性  $18$  名で転倒者は  $7$  名 ( $39\%$ ) であり、男女とも差はなかった。

さらに、転倒経験とサルコペニアの筋肉量、握力、歩行速度について解析し、男女とも転倒有無で握力に差が認められたものの、歩行速度と補正四肢筋量に差はなかった。

続いて、これら 3 要因に性、年齢を加えた 5 要因で多重ロジスティック回帰分析を行い、握力のみで転倒と関連を認めた。

#### (4) サルコペニアの予防方法の確立についての介入研究

4-1) 地域在宅高齢者、特に後期高齢者におけるサルコペニア予防のための運動と栄養処方を用いた無作為割付け比較介入試験の実施

4 群間の初期値を比較した。年齢、身長、体重、BMI、筋肉量、骨格筋量、歩行速度、膝伸展力、運動習慣、尿失禁、骨粗鬆症既往、糖尿病既往等々全項目で差はなかった。

3 か月間の変化を群間比較した。足の筋肉量 ( $F=4.253, P=0.007$ )、通常歩行速度 ( $F=4.213, P=0.007$ )、最大歩行速度 ( $F=9.374, P<0.001$ )、膝伸展力 ( $F=3.558, P=0.020$ ) で差が見られ、運動+アミノ酸補充群の変化が有意に大であった。介入前後の足筋肉変化量は、運動群と運動+アミノ酸補充群で、通常歩行速度変化量は、アミノ酸補充群、運動群、運動+アミノ酸補充群で、膝伸展力変化量は運動+アミノ酸補充群で有意な変化を示した。一方、「足の筋肉量+膝伸展力」の変化は「運動+アミノ酸補充群」で  $OR=4.89$ 、「足の筋肉量+通常歩行速度」の変化は「運動+アミノ酸補充群」で  $OR=4.11$  で有意に高かった。

4-2) 太極拳のサルコペニア予防効果に関する無作為割付け比較介入試験の実施：太極拳の RCT 開始

2011 年 7 月に運動介入後の第一回目測定を行い、運動介入後における身体形態、身体機能、QOL (sf36) は両群で差はなかった。介入群の運動介入前後の身体形態と身体機能は 10m 歩行速度で差 (介入前 7.2 秒、介入後 6.3 秒、 $p=0.001$ ) が見られたが、ほかはなかった。介入群の運動介入前後の QOL は、全体健康観 (介入前 57.3、介入後 66.8、 $p=0.05$ )、社会生活機能 (介入前 68.9、介入後 84.2、 $p=0.05$ )、心の健康 (介入前 63.4、介入後 77.5、 $p=0.05$ ) で向上が見られた。運動介入前後の転倒率は有意な減少 (介入前 36.6%、介入後 13.3%、 $p=0.05$ ) が見られた。

対照群の運動介入前後の身体形態と身体機能は筋量が増加 (介入前 32.2kg、介入後 33.1、 $p=0.01$ ) が見られたが、握力 (介入前 23.9kg、介入後 22.3kg、 $p=0.01$ )、膝伸展力 (介入前 21.9kg、介入後 19.8kg、 $p=0.05$ )、体前屈 (介入前 38.8、介入後 36.7cm、 $p=0.05$ ) で差が見られた。対照群の運動介入前後の QOL と転倒率は有意な変化が見られなかった。

#### D. 考察

##### (1) サルコペニアに関する基礎的研究

1-1) 骨格筋幹細胞による筋再生のメカニズムとサルコペニアとの関連性

高齢女性の筋から筋幹細胞を分離初代培養し、初代培養細胞を筋分化能を保ったまま不死化し、複数筋細胞クローンを樹立した。ヒト初代培養筋細胞増殖には制限があるため、その性質は未解明で、我々は世界にさきがけて分化能を保持したまま正常ヒト筋前駆細胞を不死化することに成功した。今回、加齢に伴うヒト筋幹細胞の性質を検

討するために後期高齢者筋組織からの分離筋細胞を不死化し解析した。増殖特性を解析し、ステロイドホルモンへの低応答性という、筋ジストロフィー筋細胞と似た性質を示すことが明らかになった。我々は、各年代の筋組織由来の不死化筋細胞を樹立している。筋幹細胞の加齢変化を検討し、サルコペニア発症との関連性を明らかにした。また、不死化ヒト筋細胞については、さらに整備を進め、ヒト筋幹細胞の加齢にともなう変化を解析するうえで有用な「不死化正常ヒト筋細胞パネル」を構築する予定である。

#### 1-2) サルコペニア診断に有効な特有のバイオマーカー探索

サルコペニアのメカニズムに基づく新しい診断・予防・治療法の開発を目的としている。若年者では運動神経終末を含む筋は修復力が強く筋萎縮に抵抗性である。そして、神経筋シナプス筋側に限局発現している MuSK が筋と運動神経終末を含むシナプス機能維持に重要な役割を果たしており、その機構が破綻すると筋力低下・萎縮を誘導することを、疾患モデルマウスを開発して 2012 年に成果として論文発表できた。このモデルマウスは神経筋シナプス機能を亢進する薬物探索に有用で、我々は 3,4-DAP を有効な治療薬候補として、その有効性と機序を本年度に解析を行った。3,4-DAP はカリウムチャンネル阻害剤としてプレシナプス機能を亢進するとされてきたが、加えてポストシナプスへも未知の機能があることを我々は示した。3,4-DAP は欧米では別疾患に認可されているが、我が国では未認可である。我々は抗 MuSK 抗体重症筋無力症に 3,4-DAP が有効である根拠を初めて示した。

我々は今回、3,4-DAP が高齢者リハビリテーションの促進補助薬としての可能性を見いだした。我々は、MuSK 機能の単純減弱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、抗 MuSK 抗体重症筋無力症のモデルマウスと全く同病態が高齢者や老化動物で観察されていない。例えば、MG の特徴の筋電図(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変化(シナプス喪失、運動神経終末 sprouting)はサルコペニアでも観察される。さらに高齢マウスの神経筋シナプス機能が低下していることを電気生理的に観察している。従って MuSK 支配下の重要維持機構がサルコペニア成因と強く関係していると予想している。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が、高齢者が何らかの疾患で運動障害を回復するためにリハビリで改善する群としない群に分かれることが経験的にわかっているが、その診断・予防法は全く確立されていない。高齢者リハビリテーションの促進補助薬という発想はこれまで無かった。これは、微小生体内神経筋シナプスを標的としたリハビリという新しい考え方で、欧米では 3,4-DAP が LEMS の治療薬として認可されていることから、他疾患への適応のハードルはかなり低い。今後、我々は老化マウスを使って 3,4-DAP がサルコペニア予防・治療に有効であるかどうか検討する。

#### (2) サルコペニアに関する疫学的調査に基づく診断方法の確立のための研究

2-1) 地域在宅高齢者を対象とした長期縦断疫学データに基づくサルコペニア危険因子の分析と簡便な診断方法の確立

これまでに報告されているサルコペニアの危険因子には遺伝素因、性、加齢、身長、体重、BMI、閉経、エストロゲン、テストステロン、総体脂肪量、身体活動、カロテノイド、ビタミンD、分岐鎖アミノ酸および蛋白摂取量などがある。遺伝素因としては、myostatin のLys153Arg多型、alpha-actinin 3 の R577X 多型が筋量や筋力に関連しているとの報告がある。しかし、廃用性症候群による筋萎縮は高齢者のサルコペニアの最大要因であろう。運動不足による筋量や筋力の低下はどの年代にも起きうる。しかし高齢者では筋の再生・増殖機能が低下しており、いったん減少した筋量は回復が難しい。筋量が低下し筋力が低下すれば、運動が困難になり、さらに筋量が低下するという悪循環に陥りやすい。

ビタミンD受容体は筋肉に存在し、ビタミンD低下で筋同化作用がさがることやビタミンD受容体遺伝子多型が高齢サルコペニアの要因のひとつであることとも報告され、ビタミンD低下が高齢者の転倒や身体機能障害の要因とする報告がある。アムステルダム縦断加齢研究ではベースラインの25OHビタミンDが低値の場合には、高値の場合に比べて3年後にサルコペニアとなるオッズ比は2.57であった。ビタミンD摂取不足が高齢者のサルコペニアを引き起こす可能性があると思われる。NILS-LSAでの検討ではビタミンD摂取量とサルコペニアとの関連は認められなかったが、血中の25-OHビタミンD濃度を含めてさらに検討を進める必要がある。

必須アミノ酸のうちロイシン、イソロイシン、バリンは分岐鎖アミノ酸と呼ばれ、筋肉をつくる主なたんぱく質であるアクチ

ンとミオシンの主成分である。十分な分岐鎖アミノ酸摂取で筋肉消耗を防げる可能性はある。分岐鎖アミノ酸は肉類、乳製品、レバーなどに多く含まれるが、高齢者ではこうした食品は敬遠されることが多いことも、高齢者のサルコペニア要因となっている可能性がある。NILS-LSAでの検討でもロイシン、イソロイシン、バリンの分岐鎖アミノ酸はサルコペニアのリスクを下げる作用が認められ、特に高齢者での摂取が勧められよう。

2-2) 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：介護高齢者スクリーニング機器で検討

サルコペニア有症率は、欧米では概ね10-30%と報告されている。アジアでは香港中国人高齢者で、男性12.3%、女性7.6%、台湾で男性23.6%、女性18.6%とされているように、アジアのサルコペニア有症率は欧米よりやや低い傾向を示している。本研究では、EWGSOPアルゴリズムと握力と筋量で判定するアルゴリズムの2つでサルコペニア判定したが、両者の有症率は完全に一致し、サルコペニア判定基準に歩行速度を含めること、あるいは基準値妥当性に再検討の必要性が示唆されている。

サルコペニア有症率の性差は、研究で結果が分かれるが、男性で高い有症率を認めるとした研究が多く、本研究も同様であった。しかし、高齢期の筋量低下率は女性より男性で大きく、若年者平均値を基準としたカットオフ設定では男性がサルコペニアと判定されやすく、成人を基準としたカットオフ値設定が妥当かどうか、検証の必要がある。

次に、サルコペニアと手段的ADLは交絡