

2012/7003A

平成24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25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	43
原田 敦	
2. 体組織に関連する栄養因子に関する検討	51
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	57
下方 浩史	
4. 骨格筋幹細胞のサルコペニアにおける役割の解明	69
橋本 有弘	
5. 液性因子とサルコペニア	73
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	75
重本 和宏	
7. サルコペニア高齢者を対象とした 介入プログラムの長期効果に関する研究	83
金 憲経 鈴木 隆雄	
8. 施設高齢者におけるサルコペニアとその予防対策	87
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	95
神崎 恒一	
10. 太極拳的「気らく運動」によるサルコペニアの予防効果	101
金 信敬	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	105
IV. 研究成果の刊行物・別刷	111

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・先端診療部長

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す、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。サルコペニアの定義や診断は、国際的合意のないままに推移し、いまだに国際的な合意には至っていないが、2010年に European Working Group on Sarcopenia in Older People (EWGSOP) から欧州のコンセンサスレポートが発表され、本格的な合意への大きな一歩が踏み出された。そこで、我が国におけるサルコペニアへの理解を深める一助となるべく、本論文の監訳を Q&A を付けて形で企画した。

(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、運動機能の低下したヒト（膝関節症などの患者）から摘出した下肢筋組織を、組織学的に検討した。その結果、著しい筋組織の脂肪化を認めた。加齢に伴うヒト筋幹細胞の性質変化を解明するために、高齢者の下肢骨格筋由来不死化筋幹細胞と、若齢者由来不死化筋細胞との遺伝子発現パターンの違いを検討した。遺伝子発現解析によって、高齢者筋細胞で発現の増大している分泌性因子を同定した。筋組織の加齢変化と筋幹細胞の加齢変化との関連性の解明が重要課題と考えられる。

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、サルコペニアによる運動機能の低下-寝たきり-認知症の悪循環は、高齢者の要介護増加に繋がっていくことから、超高齢社会の現在の日本にとって社会的要請の強い重要課題である。従って、そのメカニズム解明は科学的根拠に基づいた早期予防、リハビリの有効性および効果判定、新たな治療法の開発基盤のために必須である。本研究では、筋と運動神経の相互作用に着目し、筋量や筋力とは次元の異なる定量可能なサルコペニアのパラメーターの発見と、それを利用したサルコペニアの新たな診断・予防・治療法の開発を目的としている。前年度まで、抗 MuSK (muscle-specific kinase) 抗体で発症する動物モデルを用いて、筋と運動神経の相互維持メカニズムの破綻で発症する筋萎縮のメカニズムを明らかにしてきた。高齢者および老化動

物の神経筋シナプスにおいても、モデルマウスで観察されたシナプスの形態と共通点が多いことから、MuSK の支配下にある重要な維持機構（おそらく複数）の破綻がサルコペニアの成因にも関与していると予想している。従って、MuSK の機能を制御する分子の同定はサルコペニアの新たなバイオマーカーとして利用できる可能性があると考えている。本年度は、*in vitro* のアッセイシステムと重症筋無力症のモデル動物由来の抗 MuSK 抗体を用いて、MuSK の活性化・機能抑制に関与する分子メカニズムを解析したので報告する。

(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、今年度は、65 歳以上の地域住民を対象に、サルコペニアと 6 年後までの ADL 低下リスクについて検討した。サルコペニアは歩行速度が毎秒 1 m 未満あるいは握力が男性 25kg 未満、女性 20kg 未満で、DXA による判定で四肢筋量の低下が認められるものとした。サルコペニアを有する高齢者は男性では 4.6 パーセント、女性では 11.8 パーセントであった。6 年間の追跡での ADL 低下のオッズ比が 1.54 (95%CI: 1.16-2.06, $p=0.003$) と有意に高くなっていた。男性の握力の基準値を 30kg 未満とした場合にはサルコペニアの有病率は、男性で 13.5 パーセント、女性で 11.8 パーセントであり、6 年間の追跡での ADL 低下のオッズ比は 1.31 (95%CI: 1.03-1.67, $p=0.028$) であった。

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、近赤外分光法 (near infrared spectroscopy : NIRS) を用いた四肢筋量の推定方法の妥当性を検討した。従属変数に二重エネルギー X 線吸収法で測定した四肢筋量、独立変数に身長、体重、性別、NIRS 測定値を投入した重回帰モデルを採用し、高齢者の四肢筋量を推定する回帰式を作成した。その結果、上記の回帰モデルによって四肢筋量の 92% を説明できることが明らかとなった。作成した四肢筋量の推定式を大規模コホートの調査結果に適用し、日本人高齢者 4,806 名におけるサルコペニアの有症率を算出した。EWGSOP が提唱するアルゴリズムに従うと、地域におけるサルコペニアの有症率は 7.2% であった。筋力と筋量のみで判定する別のアルゴリズムを用いると、その有症率は 6.9% となり、333 名がサルコペニアと判定された。この 333 名は全員が EWGSOP のアルゴリズムでもサルコペニアと判定された。

(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、どのような介入があるのかを明らかにすることは非常に重要である。そこで、今年度は、既存の骨粗鬆症薬剤の筋量に対する効果を検討した。骨粗鬆症患者のデータベースによる後ろ向きコホートを用い、1 年間薬剤なしで観察した患者群に比較して、筋量の標準的指標である骨格筋指標 (SMI) は、アルファカルシドール単独で治療した群では、有意な差が見出せなかったが、ビスホスホネート単独で治療した群では、有意に増加していた。さらに、歩行機能に重要な下肢筋量の指標となる下肢 SMI も同様な結果であった。また、骨粗鬆症とサルコペニアの合併率は 45% と高いものであった。

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 D に注目し、ビタミン D の摂取量と血清 25 水酸化ビタミン D (25OHD) との関連、血

清 25OHD と血清 intact parathyroid hormone (iPTH) との関連、血清 25OHD と血清骨特異型アルカリフォスファターゼ (BAP) との関連を検討した。若年者の集団において、ビタミン D の摂取量が基準値を下回る者が多く、血清 25OHD の濃度からビタミン D 不足状態にある者が多かった。一方、ビタミン D 摂取が極めて少ない集団においても血清 25OHD はビタミン D 欠乏のレベルまでは低下せず、日光によるビタミン D の産生が寄与していることが示唆された。

慢性因子の研究では、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、マウスならびに培養マウス C2C12 細胞を用いて、骨格筋における VEGF の分泌が、軽度の運動負荷により増加、廃用性萎縮にともない低下することを明らかにした。骨格筋細胞における VEGF の発現は、グアニリルシクラーゼ-PGC-1 α が関与していることも明らかになった。骨格筋由来 VEGF が内皮細胞保護作用をもつマイオカインとして作用している可能性がある。

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ならびにもの忘れセンターの通院中の 65 歳以上の患者のうち 137 名（男性 52 名、女性 85 名、平均年齢 80.6 歳）を対象として、European Working Group on Sarcopenia in Older People (EWGSOP) が提唱するサルコペニア判定流れ図にしたがってサルコペニアの実態を調査した。その結果、男性では 52 名中 35 名（67%）が、女性では 85 名中 42 名（49%）がサルコペニアと判定された。これは同じ研究班内の報告である地域在住高齢者における数値（10%前後）と比べてかなり高い値である。また、サルコペニアのアウトカムとして重要と位置付けられる転倒（既往）と、サルコペニアもしくはその判定要因となっている身体機能（歩行速度）、筋力（握力）、筋肉量（補正四肢筋量）との関係を調べたところ、筋力のみが有意差が認められ、筋肉量には全く差が認められなかった。その他の測定項目の結果を鑑みて、転倒の差と関連する要因は男女で大きく異なることが判明した。今後、同じコホートについて縦断調査を行い、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を目的とした運動、栄養補充の介入参加者 155 人を対象に、介入終了 3 年後に追跡調査を実施した。その結果、追跡調査参加者は 73 人（47.1%）と低かった。介入前後、追跡における身体機能変化を検討したところ、筋力（握力、膝伸展力）の群間変化は有意ではなかった。しかし、通常歩行速度（F 値=3.230、P=0.030）、最大歩行速度（F 値=5.514、P=0.002）の群間変化は統計学的に有意であった。また、3 ヶ月運動・栄養介入によって、改善される身体機能の向上効果は 3 年後にはほぼ消失してしまう可能性が強く示唆された。

太極拳を用いた介入研究では、人間の老化に伴う重大な変化は、骨格筋量の進行的な低下、それも体力や機能の低下を導く大幅な低下である。高齢者における加齢性筋肉減弱現象 (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。本研究は、地域在住の

70 歳以上の高齢者 60 人を RCT による運動介入群 30 人と対照群 30 人に分け、運動介入群に太極拳的「気らく運動」を長期実施する追跡調査研究の 3 年目として、両群の運動介入後の SP 関連指標、身体能力、転倒率、QOL などの測定を行い、運動介入前と比較を行った。

以上のように、基礎的研究では、後期高齢者由来培養筋細胞は、筋細胞の加齢変化を解明するために有用で、同定した診断バイオマーカーの大規模臨床研究による評価を開始する客観的根拠を得た。疫学的調査に基づく研究では、高齢住民の DXA 判定によるサルコペニア頻度は男性 5%、女性 12% で、その指標、危険因子、予後を明らかにし、近赤外分光法判定による頻度は 7% で、筋量測定は簡便であり、要介護高齢者に有益と考えられた。高齢者専門病院における臨床研究では、サルコペニアは骨粗鬆症の 45% に合併し、ビスホスホネートが筋量増加効果を有する可能性を初めて報告し、栄養因子として脂溶性ビタミンの重要性が示唆され、病態に様々な液性因子が関与し、高齢外来患者のサルコペニア頻度は男性 67%、女性 49% と高く、性別考慮のわが国独自基準を模索すべきことが示された。予防のための介入研究では、地域住民にてサルコペニアの高齢地域女性に運動とアミノ酸やカテキン補充を併用した介入はサルコペニア改善に有用で、地域高齢者に対する 2 年の太極拳的「気らく運動」介入は筋力や歩行機能の改善と転倒減少をもたらした。

EWGSOP 論文は、サルコペニア：定義と診断に関する欧州関連学会のコンセンサス—高齢者のサルコペニアに関する欧州ワーキンググループの報告—の監訳という論文に、日本老年医学会理事長の総監修のもと、本研究班員が案を作成して日本老年医学会からアドバイザーと査読のご協力により完成し、日本老年医学会雑誌に掲載され、学会ホームページからダウンロードできる。

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。

また、サルコペニアの定義や診断は、国際的合意のないままで推移し、いまだに国際的な合意には至っていないが、2010 年に European Working Group on Sarcopenia in Older People (EWGSOP) から欧州のコンセンサスレポートが発表され、本格的な合意への大きな一歩が踏み出された。そこで、我が国におけるサルコペニアへの理解を深める一助となるべく、本論文の監訳を Q&A を付けて形で企画した。

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。

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

サルコペニアの主因である「筋と運動神経の相互維持メカニズムの破綻」において神経筋シナプス筋側に発現のレセプター型チロシンキナーゼ MuSK が重要な役割を果たすことを抗 MuSK 抗体で発症の重症筋無力症疾患モデルマウスで証明。重症筋無力症発症マウスは筋萎縮筋力低下を示し、神経筋シナプスでは AChR 凝集散乱やシナプス膜減少が認められ、ポストシナプス側変化だけでなく運動神経軸索の分岐伸展や神経終末縮退といったプレシナプス側変化も認めた。老化動物神経筋シナプスでも AChR 凝集断片化とシナプス全体構造単純化と見なされる形態変化が現れモデルマウス形態と共通点が多い。従って、MuSK 支配下にある重要維持機構破綻がサルコペニア成因にも関与の可能性が高いと考えられた。MuSK 活性化による AChR 凝集は運動神経終末分泌の agrin によって誘導される。Agrin はポストシナプス膜発現の LRP4 に結合し、細胞外領域複合体を形成し MuSK 活性化し、アダプタータンパク Dok-7 による細胞内刺激も MuSK 活性化に重要である。前述のように、サルコペニア成因に MuSK が強く関与することを考慮すると、機能制御分子同定はサルコペニアの新バイオマーカーとして利用できる可能性がある。本研究では、*in vitro* アッセイシステムと抗 MuSK 抗体を用いて、MuSK の活性化機能抑制に関与する分子メカニズムを解析。

(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、サルコペニア自体の簡便基準がない。臨床現場や住民調査などで使用できる簡便なサルコペニア基準が必要である。またサルコペニアを予防のためには、危険因子を明らかにしていく必要がある。さらにサルコペニアが ADL 低下を引き起こすかどうかを明らかにする縦断的検討も必要である。これらの検討を長期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。今年度は、65 歳以上の地域住民を対象にサルコペニアと 6 年後までの ADL 低下リスクについて検討した。

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

サルコペニアは加齢による筋量減少と定義されており (Evans WJ, et al. 1993)、筋力や有酸素性能力の低下と関連し、サルコペニアは高齢期の身体虚弱発生の主要因となるため、早期発見と予防対策は老年医学における重要課題である (Morley, 2004)。これまで定義がいくつか提唱されてきたが、筋加齢変化の理解や筋量測定技術が進歩したにも関わらず、国際合意は得られていない。また、サルコペニアは疾患単位として認められていないのが現状で、有効な予防や治療法も確立されていない (Cruz AJ, et al. 2010)。わが国では筋量加齢変化に関する実証報告が少なく、サルコペニアに関する研究報告もわずかで、サルコペニア判定には筋量評価が必須となるが、要介護高齢

者においては評価困難な場合も少なくない。過去に我々は近赤外分光法（near infrared spectroscopy：NIRS）を用いた身体組成計測が信頼性と妥当性を兼ね備え、NIRS 測定値に身長と体重を加えた回帰モデルによって、四肢筋量の 83%が説明可能であると報告した。測定姿勢に制約がなく非侵襲的かつ短時間に計測可能なNIRSは要介護高齢者の簡便筋量評価ツールとして有用である。しかし、四肢筋量推定式一般化のため、対象者数を増やし新回帰モデルを再構築する必要があった。本研究ではより多数の地域在住高齢者を対象としてNIRS測定値を用いた四肢筋量の回帰モデルを再検討した。また、新たに作成した四肢筋量推定式を大規模コホートの調査結果に適用し、日本人高齢者のサルコペニア有症率を算出した。

(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

サルコペニアが高齢者の運動器疾患の発症にどう関連するか、また、どのような介入法があるのかを明らかにすることには非常に大きな意義がある。サルコペニアの診断や介入についてのEWGSOPやその後に出された基準(Morley)でも、共通しているサルコペニアの第一の基本となっている筋量に注目して、今年度は、骨吸収抑制による強力な骨量増加作用による骨粗鬆症治療薬の筆頭であるビスホスホネートについて、筋量にも増加維持効果があるのかについて研究した。また、アルファカルシドールについての筋量効果検討も継続した。さらに、扱った臨床データベースにて骨粗鬆症とサルコペニアの合併状況を検討した。

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

さまざまな要因が高齢者に低栄養をもたらすとともに、低栄養状態が高齢者の機能障害の原因となる。低栄養状態は、「衰弱」のみならず、免疫力低下、骨脆弱性、そしてサルコペニアをもたらす。一方、サルコペニアの評価が低栄養状態の指標ともなるため、筋量の簡易評価は栄養管理の現場で活用されている。一方、筋量を規定する栄養因子に関する検討も積み重ねられ、蛋白質、とくにアミノ酸の重要性は確立されたもの考えられる。また、ビタミンではビタミンD不足状態が転倒リスクを上昇させることやビタミンD介入が転倒頻度を低下させることなどから、筋量やその機能に影響を与えるとして注目されている。ビタミンDは骨粗鬆症の予防に重要なビタミンであるのみならず、サルコペニア予防や転倒リスク軽減にも重要なビタミンと言える。平成24年度はビタミンDの摂取量と充足状況について検討した。

3-3) サルコペニアに関与する液性因子の研究

運動は、心血管疾患や認知症の予防効果を示す一方、身体活動の低下サルコペニアが、死亡率や心血管疾患発症のリスクになることが知られているが、その機序は必ずしも明らかではない。われわれは、骨格筋由来の液性因子が、内皮細胞保護効果をもつかどうかを検討した。

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

高齢者が要介護状態になる重要な原因のひとつにサルコペニアがある。その定義に

に関して 2010 年に EWGSOP からコンセンサスレポートが発表された。同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流れ図にしたがってスクリーニングするよう提唱している。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を用いて計測するよう紹介している。また、サルコペニアの結果、日常生活活動度（基本的 ADL、手段的 ADL）、生活の質（QOL）、代謝・炎症マーカー、転倒、施設や病院への入所・入院、社会的支援の必要性、死亡率などをアウトカムとすることが推奨されている。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 の基準に照らした場合、サルコペニアと判定される対象者がどのくらいいるのか、また、転倒をアウトカムとした場合、転倒とサルコペニアもしくは転倒と歩行速度、筋力、補正四肢筋量がどのような関係にあるか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実施した 3 ヶ月間の運動指導、栄養補充の介入終了、3 年後の追跡調査を行い、介入の長期効果を検証する。

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

国の介護予防事業の導入には、後期高齢者が単なる疾病予防と管理のみならず、生活機能の維持と虚弱予防が特に重要な課題

となる。サルコペニアは、加齢による進行性及び全身性の骨格筋量及び骨格筋力の低下を特徴とする症候群と定義され、生活体力、ADL、QOL の低下に関連し、要介護状態に陥る要因の一つと考えられる。介護予防事業における運動器の機能向上プログラムは、サルコペニア予防の介入方法の一つであると考えている。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、運動する対象が高齢者であるため、高齢者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、サルコペニアの指標である骨格筋量と骨格筋力の維持・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方法が求められている。近年、太極拳などが高齢者の身体能力や転倒予防に効果的であるとの研究があり、高齢者に適合である運動としても知られている。そこで、本研究は、地域在住高齢者に太極拳の特徴と気功や経絡疎通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 ヒト筋組織の組織病理学的解析

国立長寿医療センターで整形外科手術を受けられ、本人同意が可能な方を対象とした。なお、感染症罹患および主治医が不相当と認めた者は対象から除外した。同意取得者について、麻酔下での手術時に切開部近傍骨格筋を 0.1-0.4 g 程度摘出し、急速凍結後、-80°C超低温槽に保存した。クリオ

スタットを用いて薄切し、4%パラフォルムアルデヒドで固定後、ヘマトキシリン-エオシン染色を行った。

② 不死化ヒト筋細胞の培養

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、後期高齢者由来ヒト筋細胞を分化能保持したまま不死化した。不死化ヒト筋細胞は、I 型コラーゲンを塗布したプラスチック培養皿に播き、37°C、10%CO₂ の気相下で静置培養した。培養液は、Primary myocyte growth medium (pmGM) [20% FCS, 2% Ultrosor G (Biosepra, PALL) in high-glucose (4.5 g/ml) DMEM] を用いた。筋分化を誘導する場合は、1x10⁵ 細胞を 35-mm 培養皿に播き、2 日後に培地を Primary myocyte differentiation medium (pmDM) [2% FCS, 5 μg/ml holo-transferrin (bovine), 10 μg/ml insulin, 10 nM selenite in hDMEM] に交換し、4-6 日間培養した。定法にしたがって細胞抽出液を調製し、イムノプロット解析をおこない、筋分化マーカー-myosine heavy chain(MyHC)を検出した。

③ 不死化ヒト筋細胞の遺伝子発現解析

不死化ヒト筋細胞から RNeasy mini kit(QIAGEN) を用いて全 RNA を抽出した。この RNA を鋳型として cDNA を合成した。RT-profiler PCR array-Common cytokines (QIAGEN) を用いて分泌性因子の遺伝子発現を、リアルタイム PCR 法によって解析した。発現量は 23 歳女性から分離樹立した不死化筋細胞 Hu37KDpp を基準として変形性膝比較検討した。

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. リコンビナントタンパク作製

マウス脊髄由来 mRNA から神経型 agrincDNA 配列を PCR クローニングし、発現ベクターに挿入して COS-7 細胞にトランスフェクションした。数日後に細胞培養メディアウムを回収し、Sephadex G-200 カラムを用いてリコンビナント agrin を精製。

2. 抗 MuSK 抗体調製

MuSK タンパク免疫で重症筋無力症発症したウサギから血清回収し、ProteinG カラムで二価 IgG 抗体を精製、抗 MuSK IgG 抗体は MuSK 活性化作用を有するため、IgG 抗体をパパイン処理し、ProteinA カラムで MuSK 活性化能を有さない一価 Fab 抗体を作製。また、正常ウサギ血清からも IgG 画分と Fab 断片を精製、抗 MuSK 抗体に対するコントロールとした。

3. In vitro での AChR 凝集実験

C2C12 筋芽細胞を播種しコンフルエント後に培養メディアウムを 2.5% horse serum/DMEM に交換して筋管細胞形成を誘導し、分化誘導 3 日後、リコンビナント agrin による刺激 30 分前に抗 MuSK IgG 抗体または Fab 抗体 を培養系に添加し、AChR 凝集形成に及ぼす影響を検討。Agrin 刺激 15 時間後に Alexa594 標識 α-bungarotoxin を添加して AChR 凝集を染色し、固定後に蛍光顕微鏡下で観察。また、agrin 刺激 11 時間後に抗 MuSK Fab 抗体を添加し、すでに形成された AChR 凝集に及ぼす影響を検討。

4. 免疫沈降実験

分化誘導 3 日後、agrin 刺激 30 分前に抗 MuSK IgG 抗体または Fab 抗体を培養系に添加。Agrin 刺激 30 分後に細胞のライセートを回収し、抗 MuSK 抗体を用いた免疫沈降を行った。MuSK リン酸化は抗リン酸化チロシ

ン抗体を用いたウェスタンブロットで解析。
また、agrin 刺激 2 時間後と 8 時間後にもライセート回収し抗 Dok-7 抗体による免疫沈降も行い、Dok-7 リン酸化とタンパク発現レベルを解析。

(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 4 次調査から第 7 次調査までに参加した 65 歳以上の地域在住高齢者 1,413 人 (男性 694 人、女性 719 人) を対象とした。平均年齢は、男性 71.3 歳、女性 71.6 歳で、延べ 3,561 回の測定結果を用いた。これらの参加者は愛知県大府市および知多郡東浦町の地域住民からの無作為抽出者である。NILS-LSA は平成 9 年度に開始され、老化および老年病の実態と要因を明らかにするための疫学研究である。平成 11 年度に第 1 次調査を終了し、以後 2 年ごとに追跡調査を行っている。調査は無作為抽出された地域住民 (観察開始時年齢 40 歳から 79 歳まで) を対象に施設内に設けた検査センターで年間を通して毎日 7 名に対し、医学・心理学・運動生理学・栄養学・遺伝子解析などの千項目以上にも及ぶ学際的かつ詳細な検査・調査を行う。平成 24 年 7 月は第 7 次調査を終了。

②測定項目

今回の検討に用いた測定項目は以下の通り。

1. 体力

・普通歩速度 (m/sec)

・握力 (kg) 利き手

2. ADL 低下

SF36 Physical Performance Score について調査し、要支援・要介護となる場合に相当するが 75 点以下を ADL 低下ありとした。

3. 筋肉量指標

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 (kg) を身長 (m) の二乗で除した値を Skeletal Muscle Index (SMI) とし、筋肉量の指標とした。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/m²、女性 5.46kg/m² を判定基準とした。

③解析方法

サルコペニア判定は 2010 年のヨーロッパ老年学栄養学などの学会によるワーキンググループである EWGSOP による定義と診断についてのヨーロッパ・コンセンサスに基づいて行った。ただし、一般住民に適用できるように歩行速度 1m/秒未満、握力男性 25kg 未満、女性 20kg 未満を基準とした。また、握力男性基準値を 30kg とした検討も行った。6 年間縦断データによる一般化推定方程式 (GEE) での性別・年齢調整済みリスクを推定した。リスクはサルコペニア群と非サルコペニア群で比較し、オッズ比を求めた。統計学的検討は SAS (Ver. 9.3) を用いた。

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

【四肢筋量の推定式】：筋量評価には BFT-3000 (Kett 社製) を用い、地域在住高

齢者 225 名 (平均 72.9 歳、男性 124 名、女性 101 名) を対象に二重エネルギー X 線吸収法 (dual energy X-ray absorptiometry : DXA) により測定された四肢筋量と NIRS 測定値 (前腕前面の OD1 値)、身長、体重、性別、年齢との関係を調べ、重回帰分析を用いて四肢筋量を推定する回帰式を作成。

【サルコペニアの有症率】:2011 年 8 月～2012 年 2 月に実施した大規模コホート (Obu Study of Health Promotion for the Elderly: OSHPE) の参加者 5,104 名のうち、握力と歩行速度、NIRS 測定が実施できた 4,806 名 (平均 72.1 歳、男性 2,338 名、女性 2,468 名) を対象とした。握力は利き手の最大値 (kg) を採用。歩行速度は加速減速路を設けた全長 6.4 m の歩行路を通常速度で 5 回歩き、平均速度 (m/s) を算出。四肢筋量は、作成した推定式と NIRS 測定値を用いて算出し、身長 (m) の 2 乗で除した skeletal muscle index (SMI) に変換した。サルコペニア判定には、EWGSOP が提唱するアルゴリズムを用いた。このアルゴリズムでは筋力 (握力) と筋量 (SMI) 低下のカットオフ値が明記されていない。そこで、OSHPE 参加者から以下の者 (脳卒中、パーキンソン病、アルツハイマー病、うつ病の既往歴がある者、基本的日常生活動作が非自立あるいは要介護認定者、歩行速度 < 1.0 m/s、MMSE < 21 点、握力と歩行速度、NIRS 測定が不可能だった者) を除いた 3,807 名を normative sample として抽出し、握力と SMI の下位 20% をカットオフ値として、サルコペニア有症率を算出。サルコペニア判定の方法として、筋力と筋量のみで判定する別のアルゴリズムを適用し、同様のカットオフ値でサルコペニア有症率を算出。

(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

研究デザインは後ろ向きコホート研究で対象選定は次ぎのように行った。当院受診した骨粗鬆症患者で 2004 年 10 月から 2011 年 5 月までに DXA により骨密度と体組成を測定した延べ患者数は 5,999 名、一方、骨粗鬆症薬処方された延べ患者数は 33,734 名で、そのうち 1 年間のビスホスホネート単独投与と DXA 評価がなされた患者は 199 名で、ビスホスホネート (A) 群とした。また、1 年間のアルファカルシドール単独投与と DXA 評価がなされた患者は 156 名で、アルファカルシドール (D) 群とした。一方、1 年間骨粗鬆症薬なしで DXA 評価で経過観察がされた患者は 233 名で対照 (C) 群とした。

主要アウトカムは骨格筋量指標 SMI で C 群と比較した。また、骨粗鬆症とサルコペニアの合併率は、対象は、DXA で骨量と筋量を同時測定した患者 2,773 名データベースとし、サルコペニア診断は、四肢筋量を身長で体格補正する補正四肢筋量-SMI (Skeletal muscle mass index) = (上肢筋量 + 下肢筋量) / 身長² (kg/m²)-にて行った (Baumgartner の補正式)。その際のカットオフ値は、日本人基準値である男性 6.87 kg/m²、女性 5.46 kg/m² を用いた (Sanada K, 2010)。また、骨粗鬆症は大腿骨頸部骨密度が、若年成人平均の 70%未満を基準値として診断した。

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

健常若年者集団 (175 名) についてビタミン D 摂取量を 3 日間の食事記録から算定し

た。血清 25 水酸化ビタミン D(25OHD)濃度、血清副甲状腺ホルモン(iPTH)、骨特異的アルカリフォスファターゼ(BAP)を測定し、ビタミン D 摂取量との関連や、それぞれの想定値との関連を検討した。なお、血清 25 水酸化ビタミン D 濃度は RIA 法にて測定した。なお、本研究は日本女子大学家政学部の五関正江博士らとの共同研究として行われたものである。

3-3) サルコペニアに関与する液性因子の研究

培養骨格筋細胞(C2C12細胞)と大動脈内皮細胞(HAEC)の共培養をおこない、血清除去にともなうHAECのアポトーシスに対する共培養の抑制効果を検討した。また、8週齢のC57BL/6Lマウスに対し4週間の中程度のトレッドミル負荷をおこない、ヒラメ筋におけるVEGFを含む増殖因子の遺伝子発現をRT-PCRにて検討した。また、マウス血中ならびに培養上清中のVEGF濃度はELISAにて検討した。

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ならびにもの忘れセンターの通院中の65歳以上の患者137名(男性52名、女性85名、68~93歳:平均年齢80.6歳)。測定項目は、身体測定:身長、体重、BMI、筋肉量:インピーダンス法(タニタ体組成計BC-118E使用して四肢別に測定)、身体機能:歩行速度、3m Up&Goテスト(TUG)、タンデム歩行、ファンクショナルリーチ、筋力: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、体重減少の13項目につい

て有無を調査、過去1年間の転倒歴であった。以上の測定値をもとに、EWGSOPのサルコペニア診断フローチャートにしたがってサルコペニア患者を識別し、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肉量)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

2008年度10月に実施した包括的調査に参加した地域在住75歳以上の高齢者1,377人の中から、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人(22.1%)を選定した。2009年4月~7月に第1次指導、8月~10月にcrossover指導を行った。運動は週2回、1回当たり60分の筋力強化運動を指導し、栄養はロイシン42.0%含有の必須アミノ酸3gを1日2回(一日総補充量6g)補充する指導を行った。介入終了、3年後に該当する2012年10月に追跡調査を実施し、73人(47.1%)が参加した。調査項目は、聞き取り調査、体力測定、身体組成の計測であった。

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女性60人(運動介入群30人、79.4歳;対照群30人、74.5歳)。両群に対して運動介入後二年目の測定を行い、運動介入前と比較した。測定項目

は、身体形態（身長、体重、骨格筋量、体脂肪量、骨密度）、身体能力（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）、転倒暦と QOL（SF36）のスコアなど。骨格筋量や骨密度の測定は DXA 法、膝伸展力と股屈曲力の測定は筋力計（ミュータス F-1）を使用した。運動実施においては、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、運動群介入群には、毎日自宅で自主的に気らく運動を 30 分以上実施させた。長期介入運動として「気らく運動」の特徴は、①日常生活に密着した簡単で、場所と時間帯にとらわれず家でも一人で気軽にでき、高齢者に適合した毎日楽しく続けられる生活型運動である。②従来の高い負荷の運動による筋量の増加や筋力アップの発想に対して、日常生活の経絡疎通運動で筋肉の質を高めることによって、無理のない低中負荷でも骨格筋量や骨格筋力の維持・アップが可能な全身運動である。また、運動介入群には「気らく運動」貯金表を配布し、毎日運動時間をチェックして月末に提出させた。対照群には、定期的（年 2 回）に健康知識などのミニ講座を提供した。

（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：ヒト骨格筋組織の採取に関しては、国立長寿医療研究センターの倫理委員会の承認を受けた。臨床研究に関する倫理指針に則り、患者に対しては、文書を用いて説明し、患者本人より文書にて同意を得た。

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：本研究は「疫学研究における倫理指針」を遵守して行った。地域住民無作為抽出コホート（NILS-LSA）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ている。調査に参加する際には説明会を開催し、調査の目的や検査内容、個人情報の保護などについて半日をかけて十分に説明を行い、調査の対象者全員から検体の保存を含むインフォームドコンセントを得ている。また同一の人に繰り返し検査を行っており、その都度インフォームドコンセントにて本人への確認を行っている。分析においては、参加者のデータをすべて集団的に解析し、個々のデータの提示は行わず、個人のプライバシーの保護に努めている。

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：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。

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：過去の骨粗鬆症診療に関する DXA データベースと診療録調査によっており、倫理面の問題は生じないと考えられる。

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：研究の倫理的側面については日本女子大学における倫理委員会で審議され、研究参加からは書面による承諾を得た。

3-3) サルコペニアに関与する液性因子の研究：東京大学の動物実験に関する倫理指

針にそって本実験はおこなわれた。

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：本研究は杏林大学医学部医の倫理委員会の承認のもと実施した。

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：本研究のプロトコル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。また、介入参加者にはプログラムの内容、指導期間、指導効果などについて詳細に説明し、介入参加有無を自ら選択するように指導すると共に自筆の承諾書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：本研究は、健康科学大学倫理委員会の承諾を得た上で、研究参加者には研究の目的や運動実施内容、測定項目などの説明を行って同意を得た。

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 運動機能の低下した患者由来筋組織の病理学的解析

下肢変形性関節症などで人工関節手術時に微小筋組織を摘出した。変形性股関節症（2例）は大臀筋、変形性膝関節症（4例）と膝大腿骨内顆骨壊死（1例）は大腿四頭筋（内側広筋）を摘出した。内訳は、男性3名、女性4名、年齢は77歳から80歳であった。

凍結組織薄切で碎片化し作業がきわめて困難で、抗体染色（筋線維タイプ特異的抗

体など）は中止し、一般染色（ヘマトキシリン-エオシン染色）によって組織像を把握した。その結果、いずれの筋組織にも顕著な脂肪化を認めた。凍結組織薄切が困難の原因は、筋組織内脂肪蓄積のためと考えられた。脂肪化程度は標本ごとに差が認められた。女性患者大腿四頭筋4例を比較すると、筋組織内脂肪化の程度が著しい例ほど、骨格筋組織中筋線維数は減少し、膝伸展筋屈曲筋筋力は低下している傾向が見られた。これらの脂肪化は「骨格筋組織内」に見られる脂肪蓄積で、筋組織外脂肪組織の増加ではなかった。また、脂肪は筋線維中ではなく、筋線維間の間質に蓄積していた。ただし、中心核線維は認められず、筋再生は誘導されていない。炎症細胞浸潤も認められなかった。

② 後期高齢者由来不死化筋細胞の遺伝子発現解析

未分化筋細胞は様々な分泌性因子（サイトカイン、成長因子など）を発現していることが報告されている。これらの自己分泌性因子の未分化筋細胞における生理的意義については不明点が多いものの、筋細胞の増殖分化の制御に関わっている可能性がある。23歳女性、75歳男性および86歳女性の正常腹直筋から分離・樹立した不死化筋細胞Hu37KDpp（以下Hu37）、Hu20IIKD（以下Hu20）Hu27KD（以下Hu27）における成長因子、サイトカインおよびそれらの関連因子の発現をRT-PCR法によって比較検討した。その結果、Hu37に比べてHu20とHu27で共通に上昇傾向が見られた遺伝子として、Inhibin β B、BMP4、JAG2が、Hu20とHu27のどちらかで上昇が認められた遺伝子としてはInhibin β Aが同定された。Inhibin α は、明瞭な増

減を示さなかった。また、osteopontin 発現は、Hu20 と Hu27 で共通に低下傾向が見られた。この結果から、高齢者由来筋細胞では、TGF β スーパーファミリー分子の発現が増大している可能性が示唆された。

③ 後期高齢者由来不死化筋細胞の分化能の解析

Hu20、Hu27 および 82 歳女性の腹直筋由来の不死化筋細胞 Hu46ppKD (以下 Hu46) の筋分化能を、Hu37 と比較検討した。いずれの筋細胞も、分化培養で 4 日目以降、MyHC を発現し、細胞融合して筋管細胞を、形成した。後期高齢者由来不死化筋細胞は、Hu37 と同程度の分化能力を持つことが明らかになった。

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. 抗 MuSK 抗体は agrin による AChR の凝集形成を抑制

C2C12 筋管細胞培養系にリコンビナント agrin を添加すると蛍光標識 α -bungarotoxin で染色可能な AChR 凝集が筋管細胞表面上に形成。Agrin 刺激前に抗 MuSK IgG または Fab 抗体を培養系添加すると全発症ウサギ由来抗体で AChR 凝集形成が抑制。また、agrin 刺激により AChR 凝集誘導後に抗 MuSK Fab 抗体添加すると、凝集の数と大きさ減少が認められ、抗 MuSK 抗体はともに AChR 凝集形成と維持の抑制が *in vitro* で示された。

2. 抗 MuSK 抗体は MuSK を介したシグナル伝達を妨害

MuSK チロシンキナーゼ活性は agrin にて活性化されるが抗 MuSK IgG 抗体は agrin の非存在下で MuSK 活性化を誘導。agrin による AChR 凝集形成抑制にもかかわらず、MuSK

活性化は抑制されなかった。抗 MuSK Fab 抗体は MuSK 活性化を誘導せず、agrin による MuSK 活性化を抑制。一価と二価の抗 MuSK 抗体が異なる作用機序を介して agrin による AChR 凝集抑制を示しており、MuSK 機能制御には複数メカニズムが関与。

3. 抗 MuSK 抗体は MuSK と Dok-7 の相互作用を抑制

MuSK 活性化には細胞内アダプター分子 Dok-7 との相互作用も必要。抗 MuSK IgG 抗体は MuSK と同様に agrin の非存在下で Dok-7 活性化を誘導し、agrin による Dok-7 活性化を抑制しなかった。一方、抗 MuSK Fab 抗体は agrin による Dok-7 活性化を抑制。また、Dok-7 の経時的タンパク発現レベル減少が agrin 刺激によって誘導され、活性化 Dok-7 が何らかのダウンレギュレーションを起こすと考えられた。しかし、抗 MuSK IgG 抗体は agrin の非存在下で Dok-7 の発現レベル減少を誘導しており、ダウンレギュレーションを加速で Dok-7 の機能抑制していると考えられた。一方、抗 MuSK Fab 抗体は agrin による Dok-7 発現レベル減少を抑制し、agrin による刺激経路の上流に存在する MuSK 活性化が抑制されたことで Dok-7 活性化が誘導されなかったと考えられた。以上から、一価と二価の抗 MuSK 抗体が異なる作用機序を介して MuSK と Dok-7 の相互作用を抑制し、最終的に AChR 凝集が抑制されると考えられた。加えて、MuSK が支配する維持機構において、Dok-7 が重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

(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

サルコペニアは歩行速度毎秒1 m未満あるいは握力男性25kg未満、女性20kg未満、DXA判定で四肢筋量低下が認められるものとした場合、サルコペニアを有する高齢者は男性では32人(4.6パーセント)、女性では85人(11.8パーセント)であった。6年間の追跡でのADL低下リスクはサルコペニア群が非サルコペニア群に比べて高くなっていた。サルコペニア群と非サルコペニア群のあいだのADL低下のオッズ比は1.54(95%CI: 1.16-2.06, p=0.003)とサルコペニア群で有意に高くなっていた。男性の握力基準値を30kg未満とした場合にはサルコペニアは、男性で94人(13.5パーセント)、女性で85人(11.8パーセント)であり、6年間の追跡でのADL低下のオッズ比は1.31(95%CI: 1.03-1.67, p=0.028)であった。

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

【四肢筋量の推定式】：DXAで測定された四肢筋量と説明変数(OD値1、身長、体重、性別、年齢)の関係を重回帰分析で検討した結果、標準化係数(β)は身長が0.12($p < 0.001$)、体重が0.69($p < 0.001$)、OD値1が0.16($p < 0.001$)、性別が0.28($p < 0.001$)、年齢が-0.04($p=0.085$)となり、これらの変数をすべて投入した回帰モデルの決定係数は0.92であった。また、投入変数から年齢を除いた回帰モデルにおいても、決定係数は0.92となった。以上から、四肢筋量推定式は下記モデルを採用した。

$y = 0.06 \times (\text{身長}) + 0.25 \times (\text{体重}) + 4.79 \times (\text{OD値1}) + 1.99 \times (\text{性別}) - 11.44$
……(1)

投入変数の単位は、身長(cm)、体重(kg)、OD値1(前腕前面)、性別(男性=1、女性=0)

【サルコペニア有症率】：Normative sample(3,807名)における筋力(握力)と筋量(SMI)の下位20%をカットオフ値とすると、筋力低下の基準値は男性が $\leq 28.8\text{kg}$ 、女性が $\leq 18.2\text{kg}$ 、筋量低下は男性が $\leq 8.33\text{kg}/\text{m}^2$ 、女性が $\leq 7.25\text{kg}/\text{m}^2$ となった。上記のカットオフ値をEWGSOPが提唱するアルゴリズムに当てはめると、サルコペニアの有症率は7.2%、該当者は344名であった。筋力と筋量のみで判定する別のアルゴリズムについても、同様のカットオフ値を用いてサルコペニアの有症率を算出した結果、サルコペニア有症率は6.9%、該当者は333名であった。この333名は全員がEWGSOPのアルゴリズムでもサルコペニアと判定された。

(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

ビスホスホネート(A)群は、年齢平均72.4歳、女性の占める率91.5%、体重47.4kg、身長149.3cm、Lean Mass6217.0g、脂肪量13119.0g、骨量1486.0g、サルコペニアの割合38.7%で、アルファカルシドール(D)群は、年齢平均73.7歳、女性の占める率90.4%、体重48.7kg、身長150.1cm、Lean Mass31721.0g、脂肪量14187.0g、骨量1489.0g、サルコペニアの割合32.7%であった。対照(C)群は、年齢平均72.4歳、女性の占める率81.1%、体重50.1kg、身長151.4cm、Lean Mass34400.0g、脂肪量13161.0g、骨量1649.0g、サルコペニアの

割合 32.2%であった。対照(C)群における骨格筋指標(SMI)は、開始時 6.091 kg/m²、薬剤投与1年後が 5.990 kg/m²、その間の変化率は-1.11%で、下肢 SMI は、開始時 4.636 kg/m²、1年後が 4.548 kg/m² で、その間の変化率は-1.70%であった。ビスホスホネート(A)群における SMI は、開始時 5.702 kg/m²、薬剤投与1年後が 5.747 kg/m² で対照(C)群に比して有意に増加しており(p=.017)、変化率は 1.20%であった。下肢 SMI は、開始時 4.346 kg/m²、薬剤投与1年後が 4.366 kg/m² で対照(C)群に比して有意に増加しており(p=.008)、変化率は 0.94%であった。アルファカルシドール(D)群における SMI は、開始時 5.872 kg/m²、薬剤投与1年後が 5.882 kg/m² で対照(C)群に比して有意差なく、変化率は 0.51%で、下肢 SMI は、開始時 4.508 kg/m²、薬剤投与1年後が 4.486 kg/m² で対照(C)群に比して有意差なく、その間の変化率は-0.10%であった。骨粗鬆症とサルコペニア合併率の検討は、2,773名のうち、サルコペニア 976名、35.2%、非サルコペニア 1,797名、64.8%、骨粗鬆症 977名、35.2%、非骨粗鬆症 1,796名、64.8%であった。

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

男女合計 193名(平均年齢 22歳)の協力を得て研究が進められた。ビタミン D 摂取量は広く分布し、摂取基準の 1日 5.5 μ g を下回っている者も多く認められた。ビタミン D 充足状態を示す代表的な生物学的指標である血清 25OHD とビタミン D との関連をみると弱い正の相関が認められた。ビタミン D 摂取量が極めて少ない集団においても血清 25OHD が 10ng/ml を下回る例は認められな

かった。これは、今回の対象において血清 25OHD 濃度がビタミン D 欠乏の領域に達するものがいなかったことを示し、経口摂取以外の供給源から得られるビタミン D、すなわち皮膚における紫外線の影響下で産生されるビタミン D の寄与が示唆される。ビタミン D 充足状態をカルシウム代謝の観点からうかがう時に用いられるのが血清副甲状腺ホルモンであり、とくに intact parathyroid hormone (iPTH)が汎用される。ビタミン D 摂取量と血清 iPTH との関連をみると、負の相関をしめすサブグループが存在するかにも見えたが、今回の対象者全体で検討すると有意な関連は認められなかった。血清 25OHD と血清 iPTH との関連も同様であった。一方、骨形成を反映する生化学パラメーターである血清 BAP と血清 25OHD との関連には弱い正の相関が認められた。

3-3) サルコペニアに関与する液性因子の研究

血清除去にともなう HAEC のアポトーシスの程度は、C2C12 細胞との共培養により、有意に軽減した。マウスのヒラメ筋において運動負荷により上昇する内皮細胞の各種生存因子を検討したところ、VEGF mRNA レベルの有意な上昇が確認された。また、運動負荷により血中の VEGF レベルは上昇していた。一方で、マウス廃用性萎縮モデルにおけるヒラメ筋では、VEGF mRNA レベルは有意に低下していた。共培養における培養上清においても VEGF の分泌がみとめられた。VEGF 受容体 (VEGFR2) のアンタゴニストの存在下にて共培養による内皮細胞アポトーシス抑制効果は減弱した。PGC-1 α の siRNA によるノックダウンにより、C2C12 細胞にお

ける VEGF mRNA 発現、VEGF 分泌は低下した。グアニリルサイクラーゼ活性化薬である BAY41-2272 により、PGC-1 α の C2C12 細胞における発現は上昇し、VEGF mRNA 発現、VEGF 分泌は増加した。また、共培養系に BAY41-2272 を添加すると内皮細胞アポトーシス抑制効果はさらに増強した。

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

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た結果、男性 52 名のうち 35 名 (67%)、女性 85 名のうち 42 名 (49%) がサルコペニアと判定された。次に、転倒をアウトカムとした場合、転倒とサルコペニアもしくは転倒と歩行速度、筋力、補正四肢筋量との関連について検討した。転倒の有無とサルコペニアの有無を X² 検定で調べたところ有意差は認められなかった。次に、サルコペニアの 3 つの構成要因である歩行速度、握力、補正四肢筋量と転倒の有無に関して t 検定を行った結果、男性では握力のみが転倒の有無で有意差が認められたのに対して、女性では歩行速度、握力に関して転倒の有無で有意差が認められたが、補正四肢筋量については転倒の有無で差は認められなかった。その他、女性では Timed Up&Go テスト、老年症候群の保有数、開眼片脚立ち時間、ファンクショナルリーチ、虚弱指標においても転倒の有無で有意差が認められた。さらに、転倒の有無を目的変数としたロジスティック回帰分析を行った結果、年齢、性別、歩行速度、握力、補正四肢筋量のうち握力のみが転倒の有無と有意な関連要因として挙げられた。

(4) サルコペニアの予防方法の確立について

での介入研究

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

3 年後の追跡調査参加者は、運動+栄養群 15 人、運動群 22 人、栄養群 17 人、対照群 19 人、合計 73 人であり、82 人は不参加であった。追跡調査参加者と不参加者の介入前の初期値を比較したところ、握力、膝伸展力、歩行速度は両群間で有意差は見られなかったが、開眼片足立ちで有意差が見られ追跡調査参加者 32.7 \pm 22.8 秒、不参加者 21.9 \pm 21.4 秒 (P=0.003) と不参加者で有意に低い値を示した。一方、聞き取り調査項目では貧血既往のみで不参加者の割合が高かった (P=0.044)。

介入前後、3 年後の追跡調査における身体機能の変化を繰り返しのある分散分析より検討した (4 群 \times 3 回)。その結果、筋力 (握力、膝伸展力) の群間変化は有意ではなかった。しかし、通常歩行速度 (F 値=3.230、P=0.030)、最大歩行速度 (F 値=5.514、P=0.002) の群間変化は統計学的に有意であった。

具体的な値の変化をみると通常歩行速度は運動+栄養群 (事前=1.34 \pm 0.22 m/s、事後=1.56 \pm 0.19 m/s、追跡=1.22 \pm 0.23 m/s)、運動群 (事前=1.27 \pm 0.27 m/s、事後=1.52 \pm 0.24 m/s、追跡=1.18 \pm 0.25 m/s)、栄養群 (事前=1.26 \pm 0.15 m/s、事後=1.41 \pm 0.17 m/s、追跡=1.21 \pm 0.14 m/s)、対照群 (事前=1.18 \pm 0.24 m/s、事後=1.23 \pm 0.24 m/s、追跡=1.05 \pm 0.19 m/s) であり、最大歩行速度は運動+栄養群 (事前=1.85 \pm 0.27 m/s、事後=2.14 \pm 0.34 m/s、追跡=1.69 \pm 0.36