

令和 4 年 6 月 22 日現在

機関番号：34401

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K20025

研究課題名(和文) 運動はサルコペニアに先立って生じる神経筋シナプスの形態変化を抑制できるか

研究課題名(英文) Effect of exercise on alterations of neuromuscular junction

研究代表者

神谷 訓康(Kamiya, Kuniyasu)

大阪医科薬科大学・医学部・講師

研究者番号：90780073

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：加齢に伴う筋肉減少の原因の1つに、筋肉と神経との接続部分の異常があり、接続部分の異常が生じると、血中にアグリン分解産物(CAF)が増えると考えられている。本研究では、一般高齢者を2グループに分け、片方には筋肉量の維持・改善に効果的とされる運動を実施し、もう片方の運動を実施しないグループと比較することで、運動が血中CAF濃度低下に影響するか否かを検討した。その結果、運動を実施したグループでも、実施しなかったグループでも、運動期間の前後で測定した血中CAF濃度に明らかな変化を認めなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでに運動による血中CAF濃度の変化を検討した報告は、対象とする人数が少なかったり、運動の実施率が低い等の課題があり、一致した見解が得られていなかった。本研究では、対象とした男女計179名の内、体力や生活習慣病予防に効果的とされる運動を実施した割合が92%と高率であり、先行研究と比べて確度の高い結果を提示したものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：A possible reason of age-related muscle loss is thought to be an abnormality of neuromuscular junction (NMJ). A blood level of C-terminal agrin fragment (CAF) increases in those with an abnormality of NMJ. In the present study, we recruited community-dwelling older people and divided into two groups. Those in a group underwent exercise training which has been reported to be effective to improve or maintain muscle mass while those in the other group maintained their usual lifestyle. We aimed to examine the effect of exercise training on the change in blood level of CAF. As a result, the changes of CAF level in both group were insignificant.

研究分野：リハビリテーション

キーワード：サルコペニア 神経筋接合部 運動介入 地域在住高齢者

1. 研究開始当初の背景

サルコペニアの発生には、内分泌異常、慢性炎症など様々な要因が関連するが、共通する所見として、運動神経終末の退縮やアセチルコリン受容体凝集の断片化などの神経筋シナプスの形態変化が注目されるようになってきた¹。これらの変化は、サルコペニアの特徴である速筋割合の減少や筋萎縮より先に生じることが示されたことから²、神経筋シナプスの形態変化は、筋力や筋量の低下に先立って生じている可能性が考えられる。

神経筋シナプスの形態変化を反映するバイオマーカーとして、アグリンの分解産物 C-terminal agrin fragment (CAF) が注目されている。アグリンは神経筋シナプスの形態と機能の維持に不可欠で、分解酵素であるニューロトリプシンによって切断されると機能を失い、その断端である CAF が血中に移行する。

血中 CAF 濃度は年齢と正の相関を示し、地域在住高齢者、脳卒中・心不全患者集団で、サルコペニアを呈すると高値であると報告されている³⁻⁶。マウスの実験では、運動による神経筋シナプスの形態や機能の維持・改善が示され、その機序の1つとして、運動が分解酵素ニューロトリプシンの作用を抑制し、アグリン分解を防ぐ可能性が指摘されている⁷。しかし、ヒトを対象とする介入研究では、運動による血中 CAF 値低減効果に見解が一致していない。地域在住高齢者を対象とした12週間の介入研究では、運動による血中 CAF 値の低下傾向を認めただが、対象者数が対照群を合わせて70名弱と統計学的検出力が低く有意差はなかった⁸。一方、300名以上を対象とした介入研究では、12ヶ月の運動プログラムの完遂率が低く、運動介入群の血中 CAF 値の低下を認めなかった⁹。したがって、運動による血中 CAF 値低減効果の検証には、高い完遂率が実現できる運動介入を十分な対象者数で実施する必要がある。

2. 研究の目的

本研究の目的は、下記2点である。

- (1) 高い完遂率が期待できる運動介入を、十分な統計学的検出力となる数の対象者に実施し、運動による血中 CAF 値低減効果を明らかにする。
- (2) 運動の実施頻度・時間と、血中 CAF 値低下との関連を明らかにする。

3. 研究の方法

本研究は、2017年11月に開始し、インターバル速歩¹⁰による口腔衛生、動脈硬化指標などの改善効果検証を目的とする「口腔衛生をはじめとする健康増進に対する運動介入の有益性の検証」を本体研究とする。当初は、2017年11月開始の120名、2018年11月開始の130名、2019年11月開始の130名を対象とし、それぞれの時期で介入群と対照群とに割り付けて血中 CAF 値の変化を比較する予定としていた。しかし、2019年11月に開始したグループは、介入期間途中で新型コロナウイルス感染症が拡大したため、介入後の採血による評価は実施できなかった。

したがって、本研究では、2017年11月開始の120名、2018年11月開始の130名の内、介入前後で血液を採取することが出来、除外基準該当者を除外後の179名(介入群79名、対照群100名)を解析対象とした。

(1) 研究デザイン：非ランダム化比較試験

(2) 対象者：65歳以上の男女

除外基準：医師に運動を禁止されている者、自力での屋外歩行が不可の者、脳卒中既往者、虚血性心疾患既往者

(3) 介入プログラム：インターバル速歩

最大体力の70%の速歩3分間と、普通歩行3分間を繰り返す。設定したレベルの速歩に到達したか否かは、活動量計の鳴動音でフィードバックする。速歩が週合計60分以上になるように運動を実施するよう指導。既知の報告では、速歩が週合計50分未満の範囲では、速歩時間の増加が多いほど最大体力の向上や生活習慣病指標の改善度合いが大きくなるが、週合計50分以上の範囲では、速歩時間が増えてもそれらの効果の大きさに有意差を認めなかったと報告されている¹⁰。

指導方法：初回に歩行フォームや活動量計の操作方法などを指導した。その後は活動量計から専用PCに転送するデータを基に作成されるグラフ付きの集計表を用いてアドバイスを実施。指導頻度は、開始から2か月間は2週間に1回、以後は4週間に1回とした。

対照群には、普段通りの生活をしてもらうように依頼し、観察期間終了後に、介入群と同じインターバル速歩プログラムを5ヶ月間実践してもらった。

(4) 測定指標

最大体力 信州大学 能勢らが開発し、自転車エルゴメータによって測定した最高酸素摂取量との妥当性(相関係数 $R^2=0.83$) が確認された3段階ステップアップ歩行¹¹によって測定した。3段階ステップアップ歩行は、専用の活動量計を装着し、ゆっくり歩行、普通歩行、最大努力歩行の順に3分ずつ行い、最大努力歩行における消費エネ

ルギーから最大体力及び推定最高酸素摂取量を算出した。
 四肢骨格筋量、四肢筋力、歩行速度の測定
 四肢骨格筋量：マルチ周波数体組成計（タニタ社製 MC-190）で測定した。
 四肢筋力：握力はデジタル式握力計（竹井機器社製 TKK5101）で測定した。最大努力で左右各2回測定し、最大値を採用した。
 歩行速度：10m 普通歩行時間を、自動計測器（竹井機器社製 TKK11919）で測定した。
 血中 CAF 値：Human CAF-110KD ELISA Kit（Glory Science 社製）を使用して測定した。血中 CAF 値は、対数変換して解析に用いた。

4. 研究成果

(1) 介入群における運動実施状況

介入群における運動実施頻度の中央値 [四分位範囲] は、男性 5.55[4.86–6.50]日/週、女性 5.05[4.05–6.19]日/週であり、速歩実施時間の中央値[四分位範囲]は、男性 136[97.6–186.9]分/週、女性 109.0[76.4–146.3]分/週であった。介入群の内、速歩実施時間の平均が 50 分/週に到達していた者は、男性で 28 名中 28 名(100%)、女性で 51 名中 45 名(88%)であった。

(2) 対照群及び介入群における対象者特性の前後比較

男女別の対照群及び介入群における対象者特性の前後比較を表 1 に示す。男性において、対照群では、介入前と比較して介入後に、BMI 及び最大歩行速度の増加を認め、骨格筋指数、体脂肪率、握力、推定最高酸素摂取量には有意な変化を認めなかった。介入群では、介入前と比較して介入後に、BMI 及び体脂肪率の減少と、最大歩行速度及び推定最高酸素摂取量の増加を認め、骨格筋指数、握力には有意な変化を認めなかった。

女性において、対照群では、介入前と比較して介入後に、BMI、骨格筋指数、最大歩行速度の増加を認め、体脂肪率、握力、推定最高酸素摂取量には有意な変化を認めなかった。介入群では、介入前と比較して介入後に、体脂肪率の減少と、骨格筋指数、最大歩行速度、推定最高酸素摂取量の増加を認め、BMI と握力には有意な変化を認めなかった。

表 1：対象者特性の前後比較

	男性					
	介入群 (n=28)			対照群 (n=39)		
	前	後	p	前	後	p
年齢(歳)	76.1±4.6			75.5±5.5		
BMI (kg/m ²)	22.9±1.9	22.7±1.9	0.034	22.9±2.7	23.1±2.9	0.019
骨格筋指数 (kg/m ²)	7.60±0.75	7.56±0.68	0.559	7.53±1.05	7.59±0.94	0.561
体脂肪率(%)	21.0±4.7	19.7±5.4	0.004	21.4±5.2	21.2±5.6	0.678
最大歩行速度(m/秒)	1.88±0.20	2.02±0.20	<0.001	1.90±0.18	2.01±0.18	0.002
握力(kg)	33.5±5.1	33.3±5.1	0.664	31.7±4.7	31.4±4.7	0.417
推定最高酸素摂取量 (ml/min/kg)	20.0±4.4	21.6±3.9	0.009	20.4±3.8	20.4±3.6	0.878

	女性					
	介入群 (n=51)			対照群 (n=61)		
	前	後	p	前	後	p
年齢(歳)	74.7±4.4			74.4±4.9		
BMI (kg/m ²)	22.2±3.3	22.3±3.4	0.518	22.4±3.4	22.6±3.3	0.005
骨格筋指数 (kg/m ²)	6.05±0.62	6.17±0.64	0.006	6.07±0.72	6.18±0.76	0.001
体脂肪率(%)	29.9±7.4	29.0±7.7	0.015	29.3±8.0	29.4±7.6	0.796
最大歩行速度(m/秒)	1.80±0.23	1.91±0.23	0.002	1.80±0.23	1.89±0.23	<0.001
握力(kg)	22.3±3.3	22.2±3.3	0.622	22.1±4.0	22.2±4.0	0.670
推定最高酸素摂取量 (ml/min/kg)	21.6±4.5	23.1±4.1	0.008	21.9±4.4	22.2±3.9	0.502

(3) 対照群及び介入群における血中 CAF 濃度の前後比較

男女別の対照群及び介入群における介入前後の血中 CAF 濃度を図 1 に示す。介入前の血中 CAF 値の幾何平均[幾何標準偏差]は、男性では、介入群 164.5[1.4]pg/mL、対照群 190.7[1.3]pg/mL と、対照群で有意に高かった(p=0.028)。女性では、介入群 170.8[1.6]pg/mL、対照群 174.0[1.3]pg/mL であり、有意差を認めなかった(p=0.784)。

男女とも、介入群と対照群のいずれにおいても、介入前後の比較で血中 CAF 値の有意な変化を認めなかった。

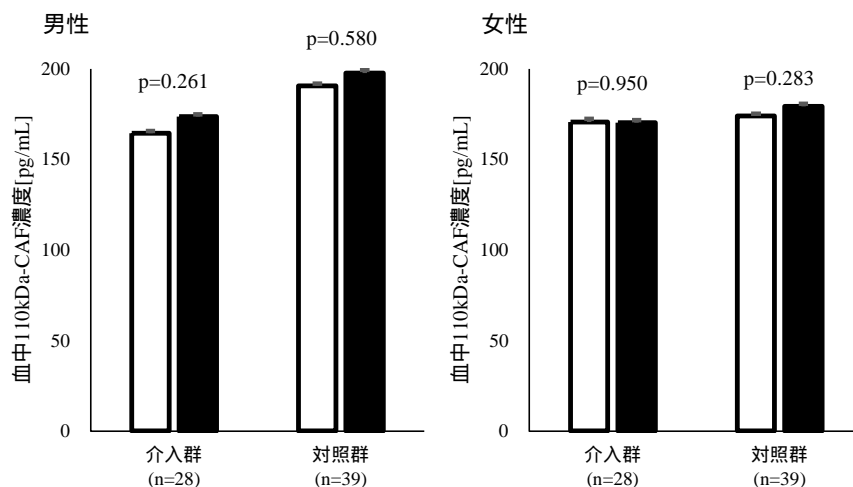


図 1 : 血中 CAF 濃度の前後比較

<引用文献>

1. Kwon YN, Yoon SS. Sarcopenia: Neurological Point of View. *J bone Metab.* 2017;24(2):83-89. doi:10.11005/jbm.2017.24.2.83
2. Deschenes MR, Roby MA, Eason MK, Harris MB. Remodeling of the neuromuscular junction precedes sarcopenia related alterations in myofibers. *Exp Gerontol.* 2010;45(5):389-393. doi:10.1016/j.exger.2010.03.007
3. Hettwer S, Dahinden P, Kucsera S, et al. Elevated levels of a C-terminal agrin fragment identifies a new subset of sarcopenia patients. *Exp Gerontol.* 2013;48(1):69-75. doi:10.1016/j.exger.2012.03.002
4. Landi F, Calvani R, Lorenzi M, et al. Serum levels of C-terminal agrin fragment (CAF) are associated with sarcopenia in older multimorbid community-dwellers: Results from the iSIRENTE study. *Exp Gerontol.* 2016;79:31-36. doi:10.1016/j.exger.2016.03.012
5. Scherbakov N, Knops M, Ebner N, et al. Evaluation of C-terminal Agrin Fragment as a marker of muscle wasting in patients after acute stroke during early rehabilitation. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2016;7(1):60-67. doi:10.1002/jcsm.12068
6. Steinbeck L, Ebner N, Valentova M, et al. Detection of muscle wasting in patients with chronic heart failure using C-terminal agrin fragment: results from the Studies Investigating Co-morbidities Aggravating Heart Failure (SICA-HF). *Eur J Heart Fail.* 2015;17(12):1283-1293. doi:10.1002/ejhf.400
7. Deschenes MR, Sherman EG, Roby MA, Glass EK, Harris MB. Effect of resistance training on neuromuscular junctions of young and aged muscles featuring different recruitment patterns. *J Neurosci Res.* 2015;93(3):504-513. doi:10.1002/jnr.23495
8. Drey M, Sieber CC, Bauer JM, et al. C-terminal Agrin Fragment as a potential marker for sarcopenia caused by degeneration of the neuromuscular junction. *Exp Gerontol.* 2013;48(1):76-80. doi:10.1016/j.exger.2012.05.021
9. Bondoc I, Cochrane SK, Church TS, et al. Effects of a One-Year Physical Activity Program on Serum C-Terminal Agrin Fragment (CAF) Concentrations among Mobility-Limited Older Adults. *J Nutr Health Aging.* 2015;19(9):922-927. doi:10.1007/s12603-015-0474-3
10. Masuki S, Morikawa M, Nose H. Internet of Things (IoT) System and Field Sensors for Exercise Intensity Measurements. *Compr Physiol.* 2020;10(3):1207-1240. doi:10.1002/cphy.c190010
11. Nemoto K, Gen-no H, Masuki S, Okazaki K, Nose H. Effects of high-intensity interval walking training on physical fitness and blood pressure in middle-aged and older people. *Mayo Clin Proc.* 2007;82(7):803-811. doi:10.4065/82.7.803

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 神谷訓康、林江美、伊藤ゆり、顧艶紅、久藤麻子、柿花宏信、齊藤昌久、植野高章、星賀正明、玉置淳子
2. 発表標題 地域在住高齢者における個別処方速歩トレーニングの血管内皮機能に対する影響の検討 健康寿命をのばす・たかつきモデル
3. 学会等名 第57回日本循環器病予防学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 神谷訓康、立木隆広、佐藤裕保、甲田勝康、梶田悦子、玉置淳子、鏡森定信、伊木雅之
2. 発表標題 血中アグリン分解産物と筋量および筋力との関連 Japanese Population-based Osteoporosis (JPOS)研究による縦断的検討
3. 学会等名 第22回日本骨粗鬆症学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	玉置 淳子 (Tamaki Junko)		
研究協力者	植野 高章 (Ueno Takaaki)		

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	星賀 正明 (Hoshiga Masaaki)		
研究協力者	齊藤 昌久 (Saito Masahisa)		
研究協力者	谷口 高平 (Taniguchi Kohei)		
研究協力者	小村 和正 (Komura Kazumasa)		
研究協力者	生出 林太郎 (Oide Rintaro)		
研究協力者	川上 由里子 (Kawakami Yuriko)		
研究協力者	林 江美 (Hayashi Emi)		
研究協力者	顧 艶紅 (Gu Yan-Hong)		

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	久藤 麻子 (Kudo Asako)		
研究協力者	柿花 宏信 (Kakihana Hironobu)		
研究協力者	中山 紳 (Nakayama Shin)		
研究協力者	貫井 裕次 (Nukui Yuji)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関