

令和 5 年 5 月 29 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K11207

研究課題名（和文）超音波トラッキングによるサルコペニアの横隔膜評価法開発：運動ニューロン減少の関与

研究課題名（英文）Motor neuron loss contribution in diaphragm function of sarcopenia evaluated by novel ultrasound tracking system

研究代表者

関口 兼司（Sekiguchi, Kenji）

神戸大学・医学研究科・准教授

研究者番号：70533793

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：サルコペニアの横隔膜機能を超音波で評価する方法を開発し、その技術を用いてサルコペニアと運動ニューロン疾患における横隔膜機能を比較した。側腹部から記録した超音波画像では横隔膜は呼吸に応じて頭尾方向に移動するため、スペckルトラッキング法でピクセルを追尾するアプリケーションを開発し移動量を計測した。安静時呼吸における移動量は健康者  $2.2 \pm 2.2$  mm、サルコペニア  $1.4 \pm 0.9$  mm、ALS  $0.6 \pm 1.4$  mmで、ALSは健康者に比して有意に小さく、サルコペニアはその中間であった。サルコペニアの病態には筋代謝異常だけでなく、ALSに類似した機能的脱神経が関与している可能性もあると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

サルコペニア高齢者の肺炎を防ぎ健康寿命を延伸するために、咳嗽力維持とそれにかかわる横隔膜機能の評価は不可欠である。今回、信頼性のある方法がこれまで存在しなかった横隔膜機能の非侵襲的な評価法を開発した。今後、大規模な検討でも今回のように横隔膜機能低下にALSに類似した機能的脱神経が関与している所見が得られたら、これまでのサルコペニア高齢者に対する一律のレジスタンストレーニング推奨を見直し、個別最適化した訓練方法を検討していく必要が出てくる可能性もある。

研究成果の概要（英文）：We developed a novel ultrasound method to evaluate diaphragm function in sarcopenia and used this technique to compare diaphragm function in sarcopenia and motor neuron disease. In ultrasound images recorded from the lateral aspect of abdomen, the diaphragm moves in a cephalocaudal direction in response to breathing, so an application was developed to track pixels using a speckle tracking method and the amount of movement was measured. The amount of movement during resting breathing was  $2.2 \pm 2.2$  mm in healthy subjects,  $1.4 \pm 0.9$  mm in sarcopenia, and  $0.6 \pm 1.4$  mm in ALS, with ALS being significantly smaller than healthy subjects and sarcopenia being in between. The pathogenesis of sarcopenia may involve not only abnormal muscle metabolism but also functional denervation similar to ALS.

研究分野：脳神経内科学

キーワード：サルコペニア 横隔膜 呼吸機能低下 トラッキング 超音波 ALS

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

サルコペニアの指標の一つである骨格筋量 (skeletal muscle mass index: SMI) は四肢で計測され、体幹部は評価対象から外れている。しかしながら体幹筋、とりわけヒトの呼吸機能の約8割を占める横隔膜の機能は重要である。サルコペニア高齢者の死因の第一位である肺炎には咳嗽力低下が関連しており、強い咳嗽の一要素である横隔膜機能の評価及び強化は健康寿命延伸に不可欠であるが、四肢筋と異なり横隔膜では筋量および筋力を評価する信頼性のある方法がこれまで存在しなかった。サルコペニア筋では、タイプ Ⅱ筋線維の萎縮と筋線維数の減少があり、単純な廃用性筋萎縮とは異なるメカニズムが想定されている。横隔膜においても、平静呼吸時は活動しないが、咳嗽時に大きく関わるタイプ Ⅱ筋線維が萎縮することが動物モデルで示されている。速筋萎縮の背景に神経筋シナプスの形態変化があること、trophic factor の減少の影響が推測されていることなどから、筋萎縮性側索硬化症 (ALS) などの運動ニューロン疾患との類似性が指摘されていた。これまでのサルコペニア筋の病態解析は栄養代謝学的な見地からの検討が主体であり、神経筋支配という見地からの検討は少なく、横隔膜においても、どの程度 ALS と同様の運動ニューロン減少があるのかわかっていなかった。ALS では近年横隔膜の電気刺激によるペーシング治療の有用性が否定され、機能障害のある運動ニューロンにさらに負荷を与えることは望ましくないと考えられている。一方で、一般にサルコペニアの四肢筋に対しては負荷を伴うレジスタンストレーニングが推奨されている。そのため今後の呼吸筋に対する治療介入を考えるうえで、一次性サルコペニアの横隔膜の神経筋シナプスの変化が、ALS 類似かどうかを明らかにすることは重要である。我々がこれまで行ってきた神経筋疾患における横隔膜の超音波評価を用いることで、ヒトにおけるサルコペニア横隔膜の機能的な評価が可能になる。サルコペニアと運動ニューロン疾患における横隔膜機能の類似点、相違点が明らかになれば、病態の違いを推測でき、適切な介入方法を検討することができる。

### 2. 研究の目的

一次性サルコペニアの横隔膜変性を客観的に評価するためにトラッキング法を用いたダイナミックな横隔膜機能の超音波による評価法を開発し、実際に一次性サルコペニアと健常者および ALS 患者の横隔膜障害様式を比較することで、背景に存在する病態を推測することを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) 横隔膜の頭尾方向の移動を解析するアプリケーションの開発

横隔膜は吸気時に尾側に下行し、これに伴い超音波画像では側面の胸壁附着部 (Zone of Apposition: ZOA) で胸壁直下の横隔膜が尾側に水平移動する (呼吸のたびに左右にスライドする)。ALS の横隔膜に関するこれまでの我々による検討では、この横隔膜の頭尾方向の移動量が、横隔膜機能を鋭敏に反映すると考えられた。従来の検査装置では探触子に平行な動きは捕捉できないため、画面上の任意の方向の移動量を解析するアプリケーションを開発する必要がある。心臓超音波検査でも用いられるスペックルトラッキング法を応用し、横隔膜検査専用のアプリケーションを開発する。

#### (2) 横隔膜トラッキングアプリケーションによる横隔膜超音波動画の解析

評価対象は健常者、ALS 患者、サルコペニアが疑われる被検者とし、一次評価項目として横隔膜の頭尾方向の移動距離 (横隔膜水平移動距離) を得られた超音波検査動画を解析し比較した。その他の評価項目は呼吸回数のほか、スパイロメトリーで得られた測定値 (一回換気量、努力肺活量、一秒量など)、横隔膜超音波検査で得られた他の測定値 (横隔膜ドームの移動量、深吸気時の横隔膜肥厚比率、呼気終末時横隔膜厚、横隔神経伝導検査における複合筋活動電位振幅及び潜時)、その他被検者特性 (身長、体重、性別、BMI、喫煙の有無、既往歴) とした。サルコペニアが疑われる被検者においては、他のサルコペニア指標 (下腿周囲長、SARC-F スコア、握力、6分間歩行速度、5回椅子立ち上がりテスト、SPPB、BIA) も記録し、嚥下機能スクリーニングアンケート (EAT-10) も行った。

### 4. 研究成果

#### (1) 横隔膜トラッキングアプリケーションと計測手法開発

Microsoft Visual C++を用いて、AVI コンテナで非圧縮のまま外部記憶装置に転送した超音波動画を解析するアプリケーションとして開発した。5 ピクセルの正方形のグリッド（カーネル）のピクセルパターンをフレーム毎に追跡するもので、グリッドの各頂点の動きベクトルは、オプティカルフローの差分法として広く用いられている Lucas-Kanade 法を用いて計算した。カーネルは画面上の任意の部位に設定でき、複数のカーネル間の距離を動的に測定できる仕様とした（図1）。

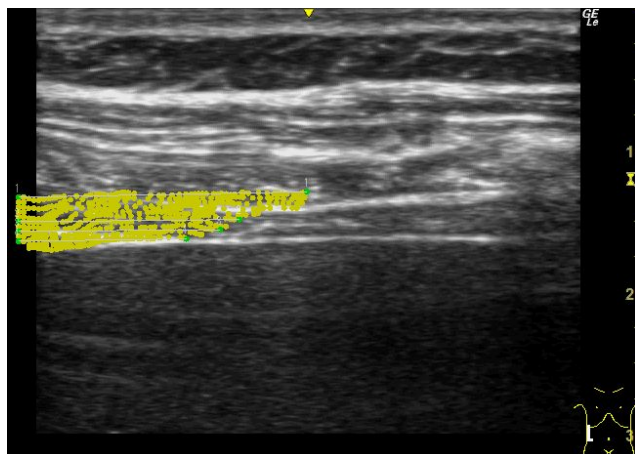


図1. 画面外に設置したアンカーと、任意のカーネル（緑点）の距離を動的に計測できる

探索的に複数症例の記録を行い、トラッキングに最適化した記録条件を確認した。超音波透過性を維持したゲル素材による横隔膜ファントムを作成し、画像上でのピクセルの移動距離の測定値が実際の膜成分の移動距離を正確に反映していることを確認した。安静臥位における複数回分の平静呼吸を記録対象とした。肋間筋、横隔膜層（表層と深層）、アンカーとして使用する画面外領域を含む画面上の固有の位置および横隔膜の中心、肝臓側、肋間筋側で、よく追従するカーネルを3つ選び、それぞれの部位で1呼吸分の移動量（吸気終了時のカーネルの位置 - 呼気終了時のカーネルの位置：mm）を計測した。3回の呼吸で同様の解析を行い、その平均値を安静呼吸時の横隔膜の頭尾方向の移動距離（横隔膜水平移動距離）とした。上記の方法で、記録したすべての超音波動画から横隔膜水平移動距離を算出することができた。統計解析は2群間の比較には Mann-Whitney U test を、母集団が正規分布に従うと仮定した場合には Student's t-test を使用した。横隔膜水平移動距離と各パラメーターの相関は、スピアマン相関分析を用いて算出した。すべての解析は、GraphPad Prism 8.0 software (GraphPad Software Inc: CA, USA) を用いて実施した。すべての統計検定において、両側 p 値が 0.05 未満を統計的有意差とみなした。

## (2) 対象と一般計測結果

健常者 21 名、サルコペニア疑い 21 名、ALS 患者 19 名を登録した。平均年齢は健常者  $54.6 \pm 17.4$  歳、サルコペニア疑い  $70.4 \pm 4.2$  歳、ALS 患者  $62.2 \pm 18.1$  歳であった。ALS 患者では、%FVC が健常対照者およびサルコペニア疑いより有意に低かった（%FVC、健常対照者： $103.4 \pm 13.1$  %；サルコペニア疑い： $105.3 \pm 12.0$  %；ALS： $86.7 \pm 21.4$  %、 $p=0.02$ ）。横隔神経伝導検査における複合筋活動電位振幅は各群間で差が見られた（健常者； $804.1 \pm 308.7$   $\mu\text{V}$ 、サルコペニア疑い； $612.3 \pm 234.2$   $\mu\text{V}$ 、ALS； $496.7 \pm 223.4$   $\mu\text{V}$ 、 $p < 0.01$ ）。呼気終了時の横隔膜厚は、健常者では  $1.60 \pm 0.30$  mm（ $1.1 \sim 2.2$  mm）サルコペニア疑いでは  $1.26 \pm 0.40$  mm（ $0.7 \sim 2.2$  mm）ALS 患者では  $1.58 \pm 0.60$  mm（ $0.4 \sim 2.8$  mm）で有意な差はなかった。

## (3) 超音波スペックルトラッキングを用いて計測した横隔膜水平移動距離およびその他の指標

健常対照者、ALS 患者ともに、横隔膜の各部位の移動距離は肝臓側で最も大きく、肋間筋側で最も小さい傾向にあったため、精度の観点から横隔膜の中心に配置したカーネルを測定値として使用した。健常者では  $2.2 \pm 2.2$  mm、AWGS の基準でサルコペニアに該当する被検者では  $1.4 \pm 0.9$  mm、ALS では  $0.6 \pm 1.4$  mm で、ALS が健常者に比して有意に低い値であった (図 2,  $p < 0.01$ )。

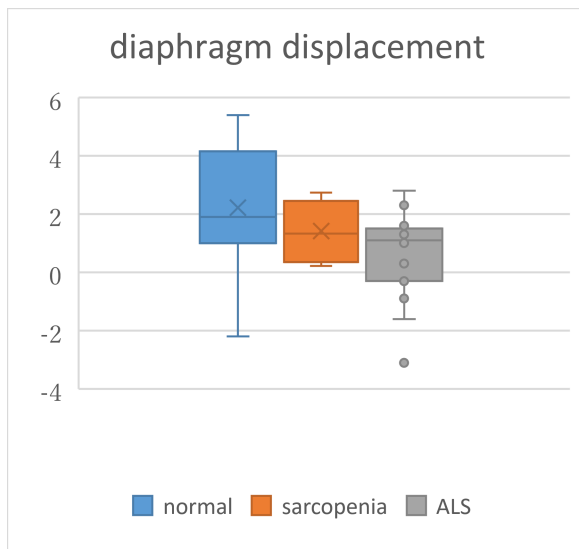


図 2 . 安静時呼吸における横隔膜水平移動距離 ( mm )

吸気時に横隔膜が頭側に移動する奇異性運動を示した症例は健常者では 3 例、サルコペニアでは 2 例、ALS では 6 例であった。呼吸数は ALS で有意に高かった ( 健常者;  $14.1 \pm 3.8$  /分、サルコペニア;  $14.8 \pm 3.2$  /分、ALS;  $17.7 \pm 3.6$  /分、 $p < 0.01$  )。ALS においては臨床的な疾患の進行速度を反映する ALSFRS-R-PR と横隔膜水平移動距離の間には有意な負の相関 ( $R = -0.61$ 、 $p = 0.02$ ) がみられた。

以上より、高齢者サルコペニアの横隔膜機能は健常者と ALS 患者の中間に位置する特徴を持っていることが示唆された。ALS 患者は横隔膜神経運動ニューロンの脱落により進行性に横隔膜機能が低下するため、純粋な脱神経による筋収縮力低下のモデルと考えられる。サルコペニアの横隔膜障害の病態には筋代謝異常だけでなく、ALS に類似した機能的脱神経が関与している可能性もあると考えられる。今後は交絡因子の少ない一次性サルコペニアのサンプル数を増やして検討し、サルコペニアの真の筋病態生理を明らかにしていく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Watanabe Shunsuke, Sekiguchi Kenji, Noda Yoshikatsu, Matsumoto Riki	4. 巻 23
2. 論文標題 Clinical Utility of Repetitive Nerve Stimulation Test in Differentiating Multifocal Motor Neuropathy From Progressive Muscular Atrophy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Neuromuscular Disease	6. 最初と最後の頁 175 ~ 182
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/CND.0000000000000401	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 7件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 関口兼司、渡部俊介、野田佳克、吉川正章、末廣大知、神山直久、松本理器
2. 発表標題 Speckle trackingによる筋萎縮性側索硬化症患者の横隔膜移動量評価に関する研究
3. 学会等名 第95回日本超音波医学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 関口 兼司
2. 発表標題 筋電図・超音波同時記録の意義と実際
3. 学会等名 第33回日本末梢神経学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Watanabe S, Sekiguchi K, Suehiro H, Yoshikawa M, Noda Y, Kamiyama N, Matsumoto R
2. 発表標題 Evaluating diaphragm displacement using ultrasound speckle tracking could detect early respiratory failure in ALS,
3. 学会等名 Pan-Asia Consortium for Treatment and Research in ALS 2021（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 関口兼司
2. 発表標題 neurogenic? or myogenic?
3. 学会等名 第62回日本神経学会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 関口兼司
2. 発表標題 神経伝導検査・針筋電図検査におけるアーチファクト
3. 学会等名 第51回日本臨床神経生理学会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 関口兼司
2. 発表標題 脊髄性筋萎縮症成人例の鑑別診断と治療評価について
3. 学会等名 第51回日本臨床神経生理学会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 関口兼司
2. 発表標題 しびれを呈する機能性神経症状症の神経伝導検査
3. 学会等名 第51回日本臨床神経生理学会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 末廣 大知, 渡部 俊介, 森本 耕平, 野田 佳克, 関口 兼司, 松本 理器
2. 発表標題 体幹筋の反復刺激試験における減衰現象が陽性の眼筋型重症筋無力症は全身型へ移行しやすいか
3. 学会等名 第62回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉川正章, 野田佳克, 末廣大知, 渡部俊介, 関口兼司, 松本理器
2. 発表標題 Typical CIDPとMultifocal CIDPにおける神経超音波所見の検討
3. 学会等名 第62回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 関口兼司
2. 発表標題 横隔膜超音波検査
3. 学会等名 第39回日本脳神経超音波学会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 関口兼司
2. 発表標題 「神経・筋超音波の臨床における進歩」筋電図と超音波の同時記録の実際
3. 学会等名 第31回末梢神経学会学術大会 (招待講演)
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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------