

平成30年6月22日現在

機関番号：82674

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K01743

研究課題名(和文) 神経筋シナプス活動を反映する血中新規バイオマーカーを用いた身体活動性の予後評価

研究課題名(英文) Blood concentration of postsynaptic membrane protein A reflects physical performance in aged people

研究代表者

周 赫英 (Zhou, Heying)

地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター(東京都健康長寿医療センター研究所)・東京都健康長寿医療センター研究所・研究員

研究者番号：50750080

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：サルコペニア・フレイルの予後予測への臨床応用を目指して、神経筋シナプス活動を反映する新規バイオマーカーとして期待される血中分泌型分子Aの機能的意義を明らかにする研究を実施した。高齢者サンプルを用いた解析では、骨格筋量、筋力、骨密度、フレイル予後、脊椎骨折などの指標との相関関係が、年齢補正すると消失することが分かった。ところで、血中分泌型分子Aは運動介入で有意に増加し、日常身体活動量、歩数、最大酸素消費量と有意に正相関することが明らかとなった。以上の研究によって、血清分泌型分子Aは何らかの骨格筋機能を反映する指標となりうる可能性は示された。

研究成果の概要(英文)：Our research aim is to develop a potential predictor for age-related muscle atrophy, also named as sarcopenia, which is one of the most important causes of functional decline and has been associated with reduced quality of life in older adults. We analyzed a membrane protein A of postsynapse in human subjects. The protein A is required for the maintenance of neuromuscular junctions and reflects neuromuscular synaptic activity. In our senior study, protein A concentrations were not affected by muscle mass, neither strength, nor mobility in the long-term. However, serum protein A levels are positively correlated with Maximum oxygen consumption, daily physical activity, and the number of steps. Furthermore, blood levels of protein A increased significantly after a three-month exercise intervention in community-dwelling older adults. Consistent with this result of our study, protein A has been shown to reflect at least in part physical performance in aged people.

研究分野：骨格筋

キーワード：サルコペニア

## 1. 研究開始当初の背景

### 研究の学術的背景

サルコペニア (sarcopenia) とは、加齢により骨格筋・筋肉が減少していることを指す。超高齢社会を迎え、骨格筋量の低下に伴う運動機能低下は、認知症と並んで高齢者の activity of daily living (ADL) と QOL を損なう主要な原因となる。健康長寿の達成には身体活動性の維持が重要であり、その主たる阻害要因であるサルコペニアの効果的な予防・治療方法の開発が求められている。

我々は、骨格筋において神経筋シナプス形成に必須の膜蛋白である「分子 A」(特許出願済: 特願 2014-077086) に注目して研究を進めてきた。マウスを用いた一連の基礎検討の結果、分泌型分子 A は、神経筋シナプス活動が低下する状況(高齢、除神経、ギプス固定)において、骨格筋での遺伝子発現が亢進することを明らかにした。また、血中分子 A の蛋白濃度も除神経によって上昇した。さらに、筋萎縮性側索硬化症 (ALS) モデルマウスにおいて、血中分泌型分子 A は、ALS の発症に先立って急激に濃度が増加することを発見した。

これらのことから立てた仮説: 神経筋シナプスの形成と維持のために必要な分泌型分子 A ですが、老化や、廃用性筋萎縮によって、神経筋シナプス活動が低下する状況では、発現が亢進し、逆行性シグナルとして代償的に産生が増加していると推察される。

## 2. 研究の目的

本研究は、健康長寿を全うするための有効な科学的介入方法を開発するため、神経筋シナプス活動を反映する新規バイオマーカーとして期待される血中分泌型分子 A の機能解析とともに、主要な ADL 阻害要因であるサルコペニアの早期発見・予後予測への臨床的有用性を検討することを目的としている。

分泌型分子 A は、神経終末側のポストシナプスへの逆行性シグナルを伝達し、それによってアクティブゾーンの機能が維持されている可能性が考えられる。そこで、血中分泌型分子 A は筋量、筋力を反映し、サルコペニアのバイオマーカーになるか、それを検証するため、人のサンプルを用いて解析してみた。

## 3. 研究の方法

血中分泌型分子 A はすでに確立している高感度測定系 AlphaLisa 法によって測定を行う。

本研究では、バイオバンク・ジャパンに保管されている血清サンプル(骨粗鬆症、循環器・代謝疾患)、当センターが保有する地域住民コホート血清サンプル(健常者)、病院患者コホート血清サンプル(主として廃用リハビリテーション患者)を用いて、分泌型分

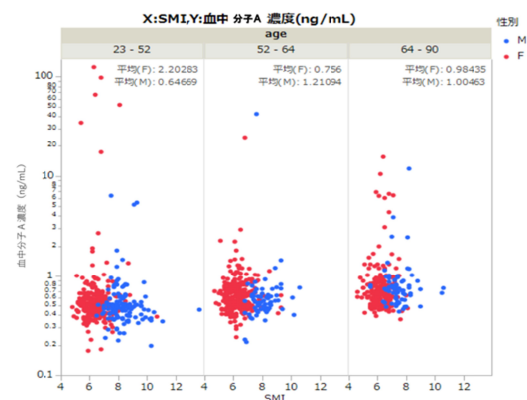
子 A ならびに各種マイオカイン(IL-6, irisin, 等)の測定を行う。得られたマイオカイン測定結果と、サンプルに付随する運動機能・体組成データを含む各種臨床データとの関連性を統合的に解析することにより、これらのマイオカインの血清バイオマーカーとしての臨床的意義を確立する。平行して、病院と地域コホートの拡充と追跡調査を進め、コホート追跡サンプルの測定も行い縦断データとして解析する。さらに、地域高齢女性 144 名を四群に分け、それぞれ運動、運動+栄養、栄養+健康教育、健康教育のみを三ヶ月間介入し、運動負荷による血中分子 A 濃度の変化を検証した。

## 4. 研究成果

測定の感度を上げるため、新たにモノクロー抗体を作成し、測定系を再構築した。改良された抗体により、AlphaLisa 法の測定感度を更に上げることができた。

65 歳以上の地域長期縦断コホートサンプルならびにバイオバンク・ジャパン閉経後女性骨粗鬆症サンプルを用いた解析では、骨格筋量、筋力、骨密度、フレイル予後、脊椎骨折、健康寿命(要介護認定または認定前死亡)などの指標との相関関係が、年齢補正すると消失することが明らかとなった。

一方、東京都住の健常者 1000 名の血清サンプルを用いて、血中分泌型分子 A と体組成、身体活動との関連性を検討した。血中分子 A 濃度と四肢骨格筋量との関連性を、骨格筋指数を用いて解析した。骨格筋指数 (SMI: skeletal muscle index) = 四肢骨格筋量/身長<sup>2</sup>。男女別で各年齢層に分けてみても、分子 A 濃度と筋肉指数との相関は見られなかった。血中分子 A 濃度は骨格筋量を反映しないことを示した(下図)。重回帰分析の結果も同様だった。



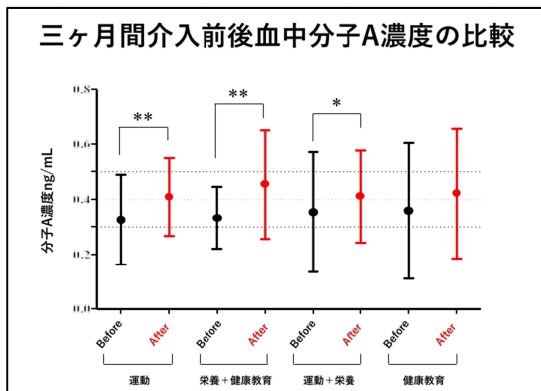
年齢別で血中分泌型分子 A 濃度と体力との関係を解析したところ、若年者においては男女とも有意な関連性は認められなかったが、60 歳以上においては、女性の血中分泌型分子 A 濃度が最大酸素消費量と有意に相関することが分かった(下図)。

60歳以上健常者において血中分泌型分子Aと体組成・筋力との関係

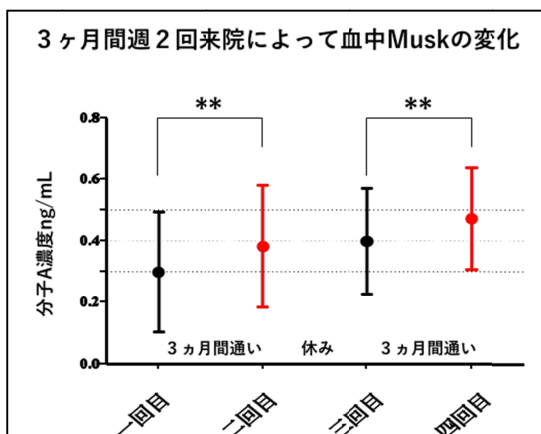
	All n=458		Male n=94		Female n=362	
	相関係数	有意確率	相関係数	有意確率	相関係数	有意確率
Height	-0.027	0.568	-0.180	0.083	0.026	0.623
Weight	-0.068	0.145	-0.049	0.640	-0.079	0.132
BMI	-0.057	0.228	0.051	0.624	-0.091	0.084
AppendicularFFM	-0.037	0.438	-0.128	0.219	0.015	0.784
RSMI	-0.015	0.757	-0.033	0.754	-0.001	0.990
WBOT_BMD	-0.071	0.132	-0.143	0.168	-0.057	0.285
Vo2Max/W	0.183	0.008	0.118	0.469	0.208	0.007*
LegPower/W	-0.035	0.474	-0.160	0.134	0.018	0.741
Jump	-0.086	0.189	-0.058	0.717	-0.094	0.197
HandGrip	-0.044	0.348	-0.028	0.788	-0.040	0.449
身体活動量	0.091	0.058	-0.075	0.487	0.148	0.006*
歩数	0.083	0.081	-0.045	0.674	0.128	0.017*

年齢・性別補正

運動負荷により骨格筋から分子Aの分泌量の変動を確認するため、健常な高齢者に三か月間運動・栄養介入を行った後、介入前後の血中分子A濃度を比較し、解析を行った。その結果、「運動」介入によって血中分子A濃度は増加したが、一方で「健康教育」のみでも血中分子Aは増加した(下図)。



すなわち「研究所に3ヶ月間、週2回来る」という「介入」で血中分子A濃度が増加したことになる(下図)。



おそらく今回の対象にとっては、普通の生活に比較すると、週2回研究所に来ることが大きな運動負荷となっていた可能性がある。また、血中分泌型分子A以外に、その他マイオカイン/サイトカインについても測定を

行った。血中 IL6、高感度 CRP、TGFB1、250HD、Irisin、どちらも分泌型分子 A との有義な相関関係が見られなかった。

さらに、分子 A の生理的役割を解明するため、神経筋シナプス活動が低下する重症筋無力症患者の血清を用いて、血中分泌型分子 A 濃度を測定したが、健常者と比べ有意な差は認めなかった。

以上全ての解析を終了し、データを統合的検討したところ、人において、血中分泌型分子 A 濃度は筋肉量との相関性は認められなかったため、現段階ではサルコペニアのバイオマーカーとして評価するのは難しい。一方、血中分泌型分子 A は何らかの骨格筋機能を反映する指標となりうる可能性は示された。また、高齢者と非高齢者においては血中分泌型分子 A 濃度変動の意義が異なり、更なる研究が必要と考える。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 3 件)

1. Femoral osteoporosis is more common than lumbar osteoporosis in patients with Werner syndrome.

Mori S, Zhou H, Yamaga M, Takemoto M, Yokote K.

Geriatr Gerontol Int. 2017 May;17(5):854-856. (査読有り)

2. Genetic risk score based on the prevalence of vertebral fracture in Japanese women with osteoporosis

Zhou H, Mori S, Ishizaki T, Takahashi A, Matsuda K, Koretsune Y, Minami S, Higashiyama M, Imai S, Yoshimori K, Doita M, Yamada A, Nagayama S, Kaneko K, Asai S, Shiono M, Kubo M, Ito H.

Bone Rep 5: 168-172, 2016 Dec (原著、査読あり)

3. Implementation of personalized medicine for fracture risk assessment in osteoporosis

Mori S, Zhou H.

Geriatr Gerontol Int. 2016 Mar;16 Suppl 1:57-65. doi: 10.1111/ggi.12721. Review.

[学会発表](計 6 件)

1. 周 赫英, 森 聖二郎, 山賀 政弥, 竹本 稔, 小寺 玲美, 田村 嘉章, 千葉 優子, 荒木 厚, 井藤 英喜, 横手 幸太郎

ウェルナー症候群に合併する骨粗鬆症の臨床的特徴に関する研究

第 59 回日本老年医学会、名古屋、2017.06.14-16

2. Heying Zhou, Seiji Mori, Michiaki Kubo, Hideki Ito  
GENETIC RISK SCORE BASED ON THE PREVALENCE OF VERTEBRAL FRACTURE IN JAPANESE WOMEN WITH OSTEOPOROSIS.  
IOF Regionals 6th Asia-Pacific Osteoporosis Meeting  
Singapore 2016.11.4-6.

3. 周赫英、森聖二郎、山岡巧弥、佐藤謙、坪井由紀、小寺玲美、田村嘉章、千葉優子、荒木厚、井藤英喜  
閉経後骨粗鬆症において脊椎骨折と関連する遺伝子多型について  
第 58 回日本老年医学会、金沢、2016.06.8-10

4. 沢辺元司、荻島創一、周赫英、森聖二郎、田中雅嗣、三重野牧子、新井富生、前田裕子、村松正明  
喫煙関連腹部大動脈瘤の遺伝子セットエンリッチメント解析  
第 58 回日本老年医学会、金沢、2016.06.8-10

5. Heying Zhou, Seiji Mori, Tatsuro Ishizaki, Masashi Tanaka, Kumpei Tanisawa, Makiko Naka Mieno, Motoji Sawabe, Tomio Arai, Masaaki Muramatsu, Yoshiji Yamada, Hideki Ito  
Genetic risk score based on the lifetime prevalence of femoral fracture in 924 consecutive autopsies of Japanese males.  
American Society for Bone and Mineral Research Annual Meeting 2015. Seattle, US.  
2015.10. 09-12

6. 周赫英、森聖二郎、石崎達郎、田中雅嗣、小寺玲美、金原嘉之、田村嘉章、千葉優子、荒木厚、井藤英喜  
連続剖検 1632 例の大腿骨骨折生涯罹患率に基づいた遺伝子多型リスクコアの開発  
第 57 回日本老年医学会総会、横浜、2015.06.12-14  
〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：

発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

6. 研究組織  
(1)研究代表者  
周 赫英 (Zhou Heying)  
地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター(東京都健康長寿医療センター研究所)・東京都健康長寿医療センター研究所・研究員  
研究者番号：50750080

(2)研究分担者  
森 聖二郎 (Mori Seijiro)  
地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター(東京都健康長寿医療センター研究所)・東京都健康長寿医療センター研究所・研究部長  
研究者番号：50270848

(3)連携研究者  
重本 和宏 (Shigemoto Kazuhiro)  
地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター(東京都健康長寿医療センター研究所)・東京都健康長寿医療センター研究所・研究部長  
研究者番号：40284400

新開 省二 (Shinkai shoji)  
地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター(東京都健康長寿医療センター研究所)・東京都健康長寿医療センター研究所・副所長  
研究者番号：60171063

(4)研究協力者 ( )