

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：84420

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2018～2021

課題番号：18H03164

研究課題名（和文）サルコペニアの早期発見バイオマーカーの探索と新しいトレーニング評価技術の確立

研究課題名（英文）Exploring biomarkers for early detection of sarcopenia and establishing new training evaluation techniques

研究代表者

山田 陽介（Yamada, Yosuke）

国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所・国立健康・栄養研究所 身体活動研究部・特別研究員

研究者番号：60550118

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 12,900,000円

研究成果の概要（和文）：研究代表者らが研究開発を進めている部位別生体電気インピーダンス分光（S-BIS）法は、サルコペニアに伴う骨格筋細胞量の低下や筋内組成の変化に加えて、MRIでは計測不可能である運動などによる筋細胞内外微小環境の変化や筋細胞膜の電気的性質の計測が可能であることがこれまでの研究で明らかになってきた。S-BISで測定された筋静電容量（Cm）や特徴周波数（fc）は表面筋電図と収縮特性に関連していた。S-BISから得られる骨格筋の電気特性は、サルコペニアの早期発見バイオマーカーになり、これを用いたトレーニングの新しい評価方法を開発することが可能になった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高齢者人口の急激な増加により、老化に伴う骨格筋量と骨格筋機能の低下が原因の寝たきりや要介護発生の人口も増加している。核磁気共鳴画像法（MRI）やX線CTあるいは二重X線エネルギー吸収法（DXA）などで筋量を評価することが行われているが、大型装置が必要で検査費用も高額なことから、一般的な介護施設や介護予防教室などの現場で汎用的に使用することは困難である。部位別生体電気インピーダンス分光（S-BIS）法は、サルコペニアに伴う骨格筋細胞量の低下や筋内組成の変化に加えて、MRIでは計測不可能である運動などによる筋細胞内外微小環境の変化や筋細胞膜の電気的性質の計測が可能で、臨床現場での応用可能性が高い。

研究成果の概要（英文）：The segmental bioelectrical impedance spectroscopy (S-BIS) method, which the principal investigators are developing, is capable of measuring not only the reduction in skeletal muscle cell mass and changes in intramuscular composition associated with sarcopenia, but also changes in the microenvironment inside and outside muscle cells and electrical properties of the muscle cell membrane due to exercise, which cannot be measured using MRI. S-BIS measured muscle capacitance (Cm) and characteristic frequency (fc) were related to surface EMG and contractile properties. This has made it possible to develop a new method of evaluation of training.

研究分野：応用健康科学

キーワード：サルコペニア フレイル 骨格筋 筋細胞量

1. 研究開始当初の背景

高齢者人口の急激な増加により、老化に伴う骨格筋量と骨格筋機能の低下が原因の寝たきりや要介護発生の人口も増加している。ヒトや動物の生体内の骨格筋の組成や筋細胞膜の性質は、発育発達・老化・運動・寝たきり・不活動・栄養摂取状況などを反映して、個体差が極めて大きい。現在、臨床現場では、サルコペニアを早期発見する計測技術、および、適切な運動・栄養・医療プログラムを用いた際の効果を適切に判定できる計測技術が必要とされている。核磁気共鳴画像法 (MRI) や X 線 CT あるいは二重 X 線エネルギー吸収法 (DXA) などで筋量を評価することが行われているが、大型装置が必要で検査費用も高額なことから、一般的な介護施設や介護予防教室などの現場で汎用的に使用することは困難である。

生体内の骨格筋は、姿勢保持や移動機能を担う重要な器官であるとともに、体水分の 70% を保持し、運動中および安静時の両方において、各種代謝反応の場としての働きを持つ。老化に伴う骨格筋の量と質の低下はサルコペニア (Sarcopenia) と定義され、2017 年 4 月に開催された国際サルコペニア・フレイル学会の冒頭宣言で、サルコペニアが世界保健機関 (WHO) の国際疾病分類第 10 版 (ICD10) の中に採録されることが発表された。実際、10 月に M62.84 のコードによって、独立した疾患として新たに採録され、今後の診断・治療の方針、科学的根拠の蓄積が一層求められることになった。サルコペニアは、高齢者の脆弱性 (フレイル) の中心的要素であり、将来の寝たきりや各種代謝疾患、脱水症、および死亡のリスクを高めることが知られている。そのため、可搬性を有し臨床現場や特定健診など広い汎用性を持って評価できる診断機器の開発が世界的に求められている。世界標準法としては、MRI や CT、DXA 法などの装置が推奨されているものの、サルコペニア診断が必要な人の多くは、施設入所高齢者であったり、市町村の特定健診事業参加者であったりすることが多く、上記のような大型診断装置では可搬性が無いことに加え、検査の費用や時間がかかりすぎることから、実質的に有用とはいえない。

さらに、近年では、MRI や CT で計測した筋量だけでは、サルコペニアに伴う骨格筋内組成や筋細胞膜の電気的性質の低下などを正確に評価することができず、サルコペニアの初期に起こる質的な変化を検出できないことが明らかになってきており、サルコペニアを「現場で」「簡便に」「早期発見」することが可能な、MRI や CT、DXA と異なる新しい計測技術の実現が求められている。

研究代表者らが研究開発を進めている部位別生体電気インピーダンス分光 (S-BIS) 法は、サルコペニアに伴う骨格筋細胞量の低下や筋内組成の変化に加えて、MRI では計測不可能である運動などによる筋細胞内外微小環境の変化や筋細胞膜の電気的性質の計測が可能であることがこれまでの研究で明らかになってきた。これらの一連の研究は、2010 年アメリカ老年学会 65 周年記念論文賞、2013 年国際 Sarcopenia 学会若手最優秀賞、2014 年国際骨粗鬆症・骨密度学会若手最優秀賞、2017 年 3 月号 Journal of Gerontology 生物学部門 Editor's Choice 受賞など、多様な学会でその独創性・創造性・進歩性が評価されている。

2. 研究の目的

老化とともに生体内の骨格筋組織の量と質が減少することはサルコペニアと定義され、近年その診断ガイドラインが各国で作られ始めている。診断には、サルコペニアを早期発見できる感度の高いバイオマーカーが必要であるが、ガイドラインで推奨されているものは MRI、CT、DXA など大型装置であり、可搬性や大規模調査に限界がある。研究代表者らは、老化に伴う骨格筋量と筋の質の低下を評価できる新しい技術である部位別生体電気インピーダンス分光法 (S-BIS) の研究を 10 年以上継続して実施してきた。本研究では、S-BIS のスペクトラムから得られる多数のパラメータから骨格筋組織のサルコペニアの早期発見のバイオマーカーとなる変数を抽出し、サルコペニア早期発見技術を確立させることを目的とする。

3. 研究の方法

60 名の参加者 (年齢層 21 ~ 83 歳) が研究に参加し、参加者の男女比は同じであった。女性 1 名は、研究プロトコルの遵守が不完全であったため、データ解析から除外された。また、採用時に整形外科的疾患や神経学的疾患、筋肉痛、疲労の既往がある参加者は除外された。選ばれた参加者は、実験の 1 時間前から食事、飲酒、入浴を控えるように指示された。また、S-BIS、トルク、神経活動の測定精度を高めるために、実験開始後 24 時間以内に激しい運動を中止させた。本研究はヘルシンキ宣言を遵守し、芝浦工業大学の機関倫理委員会の承認を得て実施した。参加者は、研究の目的とリスクを概説したインフォームドコンセントに署名した。

S-BIS 変数の測定には、生体電気インピーダンス分光法 (SFB7, ImpediMed, オーストラリア) を使用した。これは、運動に伴う筋浮腫と血管拡張を引き起こす体液シフトを防ぐため、筋力測定前に実現した。右足と手の甲には電流印可電極 (20 mm × 20 mm; Red Dot, 3 M, St. Paul, MN, USA) を取り付け、電圧検出電極 (20 mm × 20 mm; Red Dot) は右脚の外側大腿顆と脛骨顆の関節裂、および足首に取り付けた。S-BIS の変数を 256kHz 対数正規分布範囲 (4-1000kHz) の

周波数で測定した。下肢の特徴周波数 (f_c)、細胞膜キャパシタンス (C_m)、細胞内水分 (ICW) の測定は、標準的な方法論で行われた。

筋力測定中、足底屈筋の神経筋活動は、表面筋電図システム (Bagnoli 8 EMG System; Delsys Inc.) を用い、アクティブ表面電極で求めた。電極は、皮膚の前処理後、内側腓腹筋、外側腓腹筋、ヒラメ筋の腹側に配置した。電極は、内側筋と外側筋の測定では下腿長の 30% の位置に、ヒラメ筋の測定では LG の遠位筋腱接合部とヒラメ筋の中間の位置に設置した。電極は超音波診断装置 (ACUSON S2000®; Siemens Medical Solutions, Ann Arbor, MI, USA) を用いて各筋の筋膜の方向に注意深く位置合わせを行った。基準電極は左足外側踝に取り付けた。トルク信号と筋電図信号を同期させ、サンプリング周波数 2kHz で A/D 変換器 (PowerLab 16/35; ADInstruments, Sydney, Australia) を介して LabChart ソフトウェア (Ver.8; ADInstruments) でパソコンに保存し、それぞれ 500Hz ローパス、20-450Hz バンドパスデジタルフィルターを適用した。

4. 研究成果

図 1 は、 C_m が高い参加者と C_m が低い参加者の代表的なデータである。

図 2 は、筋収縮特性に関する C_m と f_c の相関を示したものである。 C_m は MVC トルク、推定最大トルク、および twitch トルクと正の相関があった。 f_c は、MVC トルク、推定最大トルク、および twitch トルクと負の相関があった。 f_c と MVC トルクの負の相関は、性および下腿の骨格筋細胞量の指標である下腿 ICW に基づいて調整した後でも有意であった ($r = -0.294$, $P < 0.05$)。

図 3 は、表面筋電図測定値に関する C_m と f_c の相関を示したものである。上腕三頭筋の C_m と EMG:M の nRMS の間には、統計的に有意な正の相関が観察された。さらに、 f_c と上腕三頭筋の EMG:M の nRMS の間には、統計的に有意な負の相関が観察された。VA も C_m および f_c と統計的に有意な相関があった ($P < 0.05$)。 C_m または f_c と EMG:M の nRMS との相関は、性および下腿の ICW (骨格筋細胞量指数) で調整した後でも統計的に有意だった (それぞれ $r = 0.337$ または $r = -0.294$, $P < 0.01$)。

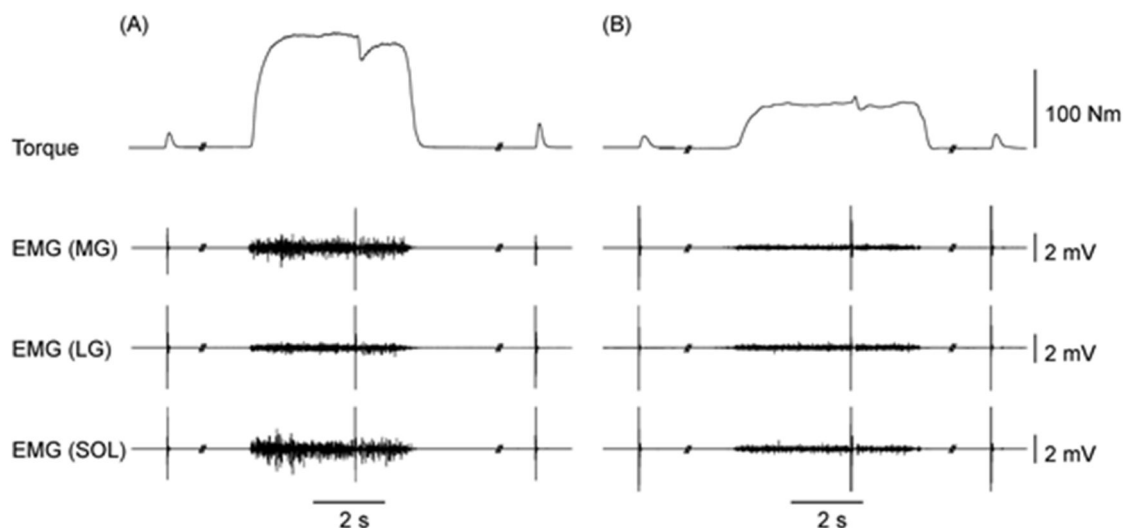


Figure 1

図 1. C_m が高く f_c が低い被験者 (A; $C_m = 7.8$ nF, $f_c = 35.7$ kHz) と C_m が低く f_c が高い被験者 (B; $C_m = 5.4$ nF, $f_c = 45.6$ kHz) の生データ。MVC トルク、痙攣トルク、推定最大トルク、VA (A では MVC 時の刺激によるトルク増分が少ないことに注目) およびピーク筋振幅正規化ピーク-ピーク M 波において、2 人の間で明らかに違いが観察される。

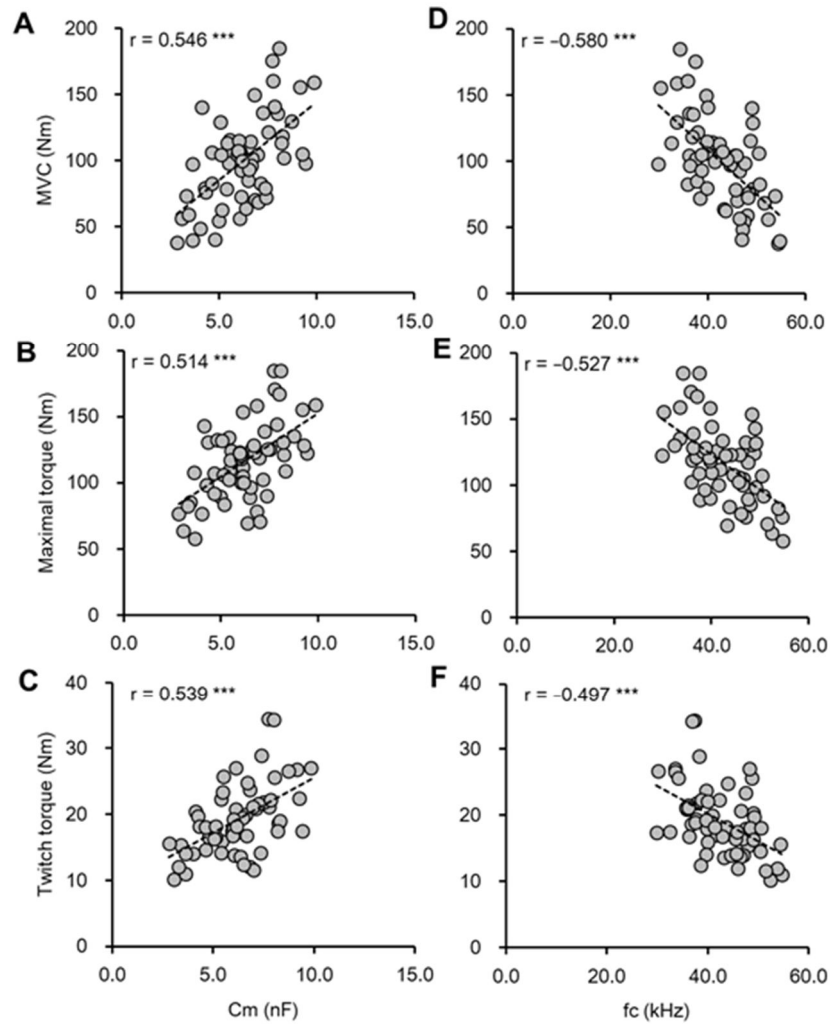


図2. 随意最大力発揮 (MVC) トルク、推定最大トルク、Twitch トルクと Cm、fc との関連性。Cm は、MVC トルク (A)、推定最大トルク (B)、twitch トルク (C) と正の相関があり、中程度であった。fc は MVC トルク (D)、推定最大トルク (E)、Twitch トルク (F) と負の相関があり、中程度であった。

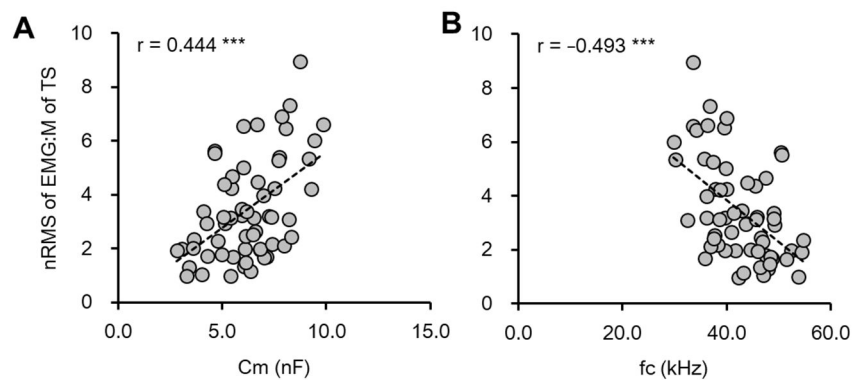


図3. TS の EMG:M の nRMS、Cm、fc の関連性。Cm は nRMS of EMG:M of TS と正の相関があり、中程度の相関があった (A)。fc は、TS の EMG:M の nRMS と負の相関があり、中程度の相関があった (B)。

横行小管 (T 管) を含む筋細胞膜は、電気刺激を機械的の反応に変換する生理的のプロセスである興奮-収縮カップリング (EC カップリング) において必須の役割を果たす。EC カップリングプロセスは、神経筋接合部における神経系からのシグナル伝達で始まり、筋収縮のためのカルシウム放出で終わる。神経筋接合部では、運動ニューロンの軸索末端からアセチルコリン (ACh) と呼ばれる化学伝達物質 (神経伝達物質) が放出される。ACh 分子はシナプス間隙を拡散し、運動終末板内にある ACh 受容体に結合する。ACh が結合すると、ACh 受容体のチャネルが開き、正電荷の

イオンが筋繊維の中を通過して、筋繊維が脱分極する。筋細胞膜に沿った活動電位の伝播は EC カップリングの励起部分であり、収縮のためのカルシウムイオンの放出と結合する。筋膜の興奮は T 管を介した筋小胞体のカルシウム放出と連動している。そのため、T 管を含む筋細胞膜の状態は、末梢神経筋系の収縮特性に関連している可能性がある。Cm と fc は、筋電図反応と統計的に有意な相関があることがわかった。その理由はまだ不明であるが、Cm と fc は膜の興奮性に関係すると思われる。

結論として、Cm と fc は表面筋電図と収縮特性に関連している。これは、T 管を持つ筋細胞膜の量と質によるものと思われる。S-BIS 記録は、骨格筋細胞膜の静電容量の変化を検出するために用いることができ、これにより T 管の総量に関する知見が得られる可能性がある。S-BIS で測定された筋静電容量は、筋力発生を予測することができる。

引用文献

Yamada Y, Hirata K, Iida N, Kanda A, Shoji M, Yoshida T, Miyachi M, Akagi R (2022) Membrane capacitance and characteristic frequency are associated with contractile properties of skeletal muscle. Medical Engineering and Physics. In Press

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 11件 / うち国際共著 5件 / うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Masashi Taniguchi, Yosuke Yamada, Noriaki Ichihashi	4. 巻 45
2. 論文標題 Acute effect of multiple sets of fatiguing resistance exercise on muscle thickness, echo intensity, and extracellular-to-intracellular water ratio	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Appl Physiol Nutr Metab	6. 最初と最後の頁 213-219
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1139/apnm-2018-0813.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yuya Watanabe, Yosuke Yamada, Tsukasa Yoshida, Keiichi Yokoyama, Motoko Miyake, Emi Yamagata, Minoru Yamada, Yasuko Yoshinaka, Misaka Kimura, for Kyoto-Kameoka Study Group	4. 巻 11
2. 論文標題 Comprehensive geriatric intervention in communitydwelling older adults: a cluster-randomized controlled trial	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Cachexia Sarcopenia Muscle.	6. 最初と最後の頁 26-37
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jcsm.12504.	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 -
1. 著者名 Yamada Yosuke	4. 巻 1088
2. 論文標題 Muscle Mass, Quality, and Composition Changes During Atrophy and Sarcopenia	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 In J. Xiao ed. "Muscle Atrophy" (Series of "Advances in Experimental Medicine and Biology") Springer Nature.	6. 最初と最後の頁 47 ~ 72
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-981-13-1435-3_3	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kuchnia Adam J., Yamada Yosuke, Teigen Levi, Krueger Diane, Binkley Neil, Schoeller Dale	4. 巻 13
2. 論文標題 Combination of DXA and BIS body composition measurements is highly correlated with physical function-an approach to improve muscle mass assessment	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Archives of Osteoporosis	6. 最初と最後の頁 In Press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11657-018-0508-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Siglinsky E., Buehring B., Krueger D., Binkley N., Yamada Y.	4. 巻 29
2. 論文標題 Could bioelectric impedance spectroscopy (BIS) measured appendicular intracellular water serve as a lean mass measurement in sarcopenia definitions? A pilot study	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Osteoporosis International	6. 最初と最後の頁 1653 ~ 1657
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00198-018-4475-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Fukumoto Yoshihiro, Yamada Yosuke, Ikezoe Tome, Watanabe Yuya, Taniguchi Masashi, Sawano Shinichiro, Minami Seigo, Asai Tsuyoshi, Kimura Misaka, Ichihashi Noriaki	4. 巻 125
2. 論文標題 Association of physical activity with age-related changes in muscle echo intensity in older adults: a 4-year longitudinal study	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Applied Physiology	6. 最初と最後の頁 1468 ~ 1474
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/jappphysiol.00317.2018	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Yoshida Tsukasa, Yamada Yosuke, Tanaka Fumiko, Yamagishi Takaki, Shibata Shigenobu, Kawakami Yasuo	4. 巻 113
2. 論文標題 Intracellular-to-total water ratio explains the variability of muscle strength dependence on the size of the lower leg in the elderly	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Experimental Gerontology	6. 最初と最後の頁 120 ~ 127
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.exger.2018.09.022	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Yamada Y, Hirata K, Iida N, Kanda A, Shoji M, Yoshida T, Miyachi M, Akagi R	4. 巻 In Press
2. 論文標題 Membrane capacitance and characteristic frequency are associated with contractile properties of skeletal muscle.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Medical Engineering and Physics	6. 最初と最後の頁 1-6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.medengphy.2022.103832	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 -

1. 著者名 Taani Murad H., Strath Scott J., Schiffman Rachel, Fendrich Michael, Harley Amy, Cho Chi C., Yamada Yosuke, Kovach Christine R.	4. 巻 22
2. 論文標題 Self-management processes, sedentary behavior, physical activity and dietary self-management behaviors: impact on muscle outcomes in continuing care retirement community residents	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 BMC Geriatrics	6. 最初と最後の頁 48
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12877-021-02691-z	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 該当する

1. 著者名 Taniguchi Masashi, Yamada Yosuke, Yagi Masahide, Nakai Ryusuke, Tateuchi Hiroshige, Ichihashi Noriaki	4. 巻 40
2. 論文標題 Estimating thigh skeletal muscle volume using multi-frequency segmental-bioelectrical impedance analysis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Physiological Anthropology	6. 最初と最後の頁 13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s40101-021-00263-z	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 -

1. 著者名 Yamada Yosuke, Itoi Aya, Yoshida Tsukasa, Nakagata Takashi, Yokoyama Keiichi, Fujita Hiroyuki, Kimura Misaka, Miyachi Motohiko	4. 巻 150
2. 論文標題 Association of bioelectrical phase angle with aerobic capacity, complex gait ability and total fitness score in older adults	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Experimental Gerontology	6. 最初と最後の頁 111350 ~ 111350
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.exger.2021.111350	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sagayama Hiroyuki, Yamada Yosuke, Tanabe Yoko, Kondo Emi, Ohnishi Takahiro, Takahashi Hideyuki	4. 巻 31
2. 論文標題 Validation of skeletal muscle mass estimation equations in active young adults: A preliminary study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports	6. 最初と最後の頁 1897 ~ 1907
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/sms.14017	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計0件

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 行動体力評価装置、行動体力評価装置の作動方法及びプログラム	発明者 山田陽介	権利者 国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所
産業財産権の種類、番号 特許、6709462	取得年 2020年	国内・外国の別 国内

〔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
研究分担者	吉田 司 (Yoshida Tsukasa) (20822175)	国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所・国立健康・栄養研究所 身体活動研究部・研究員 (84420)	
研究分担者	谷口 匡史 (Taniguchi Masashi) (00827701)	京都大学・医学研究科・助教 (14301)	
研究分担者	村木 重之 (Muraki Shigeyuki) (40401070)	東京大学・医学部附属病院・届出研究員 (12601)	
研究分担者	近藤 衣美 (Kondo Emi) (50515707)	独立行政法人日本スポーツ振興センター国立スポーツ科学センター・スポーツ科学研究部・契約研究員 (82632)	
研究分担者	横山 慶一 (Yokoyama Keiichi) (50774676)	京都先端科学大学・研究・連携支援センター・客員研究員 (34303)	
研究分担者	川上 泰雄 (Kawakami Yasuo) (60234027)	早稲田大学・スポーツ科学学術院・教授 (32689)	

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
研究分担者	吉村 典子 (Yoshimura Noriko) (60240355)	東京大学・医学部附属病院・特任教授 (12601)	
研究分担者	下山 寛之 (Sagayama Hiroyuki) (80760652)	筑波大学・体育系・助教 (12102)	
研究分担者	木村 みさか (Kimura Misaka) (90150573)	京都先端科学大学・バイオ環境学部・客員研究員 (34303)	

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		
米国	ウィスコンシン大学マディソン校	カルフォルニア大学バークレー	