

長寿医療研究開発費 2024年度 総括研究報告

超音波法によるサルコペニア診断の確立に向けた画像データベースの構築と
機械学習による筋量算出アルゴリズムの開発（24-28）

主任研究者 佐竹 昭介 国立長寿医療研究センター フレイル研究部（部長）

研究要旨

サルコペニア診断には、骨格筋量の測定が必須であるが、その正確な評価が簡便に行えない点に普及を妨げる要因がある。本研究の目的は、超音波法による筋肉量測定の手順を標準化し、有用な指標を見出すことにある。

本年度は、SARCUS ワーキンググループが定めたプロトコルを参考に、NCGG 内で利用可能な骨格筋超音波検査手順書（案）を作成し、大腿部の CT 画像検査と超音波検査を導入している東浦研究（地域コホート）において、超音波画像のデータベースの構築を開始した。また、国立長寿医療研究センターロコモ・フレイル外来において、広範囲描出型の超音波測定機器の有用性の検討を行った。さらに動物を用いた実験から、骨格筋量の低下に関わる機構の解明を行い、サルコペニアがもたらす機能的変化と形態的变化との関連性を解析した。

今後は、機械学習などの手法を用いて、大規模な超音波画像のデータベースから骨格筋を特定し、筋量を定量化するアルゴリズムを開発する予定である。

主任研究者

佐竹 昭介 国立長寿医療研究センター フレイル研究部（部長）

分担研究者

大須賀 洋祐 国立長寿医療研究センター フレイル研究部（副部長）

荒井 秀典 国立長寿医療研究センター （理事長）

松井 康素 国立長寿医療研究センター ロコモフレイルセンター（研究員）

細山 徹 国立長寿医療研究センター 運動器疾患研究部（副部長）

A. 研究目的

本研究の目的は、東浦研究とロコモフレイル外来のデータから、超音波画像の大規模データベースを構築することである。また、機械学習を用いて超音波画像データから関心領

域（骨格筋）を特定し、筋量を定量化するためのアルゴリズムを開発する。

具体的には、以下の4つの課題を検討する。

課題1 | 超音波測定・画像評価のマニュアル作成

課題2 | 超音波画像マーカーの臨床的妥当性および有用性の検証

課題3 | サルコペニア診断に向けた超音波画像マーカーの基準値の検討

課題4 | 機械学習による筋量算出アルゴリズムの開発

また、加齢に伴う骨格筋の形態学的変化を来す機構を解明することで、機能障害に関わる機序を明らかにすることを目的とする。本年度は、バランス感覚や歩行に関わる骨格筋内の固有感覚器である“筋紡錘”に着目し、形態学的・分子生物学的研究手法を用いて、「筋紡錘老化」の分子機構の解明を目指す。

B. 研究方法

【東浦研究】

1: 対象者

対象者は、2023年度の東浦研究（予備調査）に参加した91名の高齢者とした。

2: 評価項目

1) 超音波画像マーカーは、大腿直筋の筋横断面積・筋厚、羽状角、筋束長、エコー強度、エラストグラフィーを骨格筋超音波検査手順書（案）に基づいて測定・評価した。骨格筋関連のマーカーとして、生体電気インピーダンス法から四肢の軟部組織量を測定し、これらの総和を身長²で除した骨格筋指数を算出した。また、AWGSの診断基準に基づいて、重症サルコペニア、サルコペニア、非サルコペニアを判定した。さらに、老化関連バイオマーカーとして、25(OH)D、adiponectin、FGF21、CXCL9、GDF15、progranulin、apelinとの関連性を評価した。

【ロコモフレイル外来】

（1）測定再現性の検証

3人の検者が12名（女性7名、男性5名：平均年齢46.8歳）の被検者に対して5回計測にて級内相関係数を求めた。

（2）CT画像との比較検証

フレイル・ロコモ、レジストリ参加者123名（男性48名、女性75名、平均年齢78.2 ± 8.1歳）を対象に、臥位測定での大腿中央部でのCT画像と、同一断面の臥位で測定した超音波画像、さらには座位測定での画像との間の相互の相関係数、年齢を調整した偏相関係数、年齢と性を調整した偏相関係数を求めた。使用した超音波装置は、古野電気（株）社製の、広範囲に大腿四頭筋断面像の描出が可能である新しい超音波筋肉評価装置（図1，2，3）を用いた。

【基礎研究】

野生型老齢マウス（26 ヶ月齢：C57BL/6N 系統）、若齢マウス（3 か月齢）および壮年期マウス（12 ヶ月齢）を実験に供し、頸椎脱臼により安楽殺した適齢期のマウスの両後肢より前脛骨筋、ヒラメ筋および長趾伸筋（EDL）を切除し凍結保管した。それぞれの筋組織から薄切凍結筋切片を作製し、組織学的解析および免疫組織化学に供した。

薄切した筋縦断切片は、4%パラホルムアルデヒドによる固定後に、筋紡錘および感覚神経特異的な各種抗体による免疫組織化学染色に供した。それぞれの免疫蛍光染色画像の解析から、筋紡錘はヒラメ筋と EDL について筋紡錘長、細胞外マトリックス（カプセル）面積および筋紡錘面積について、感覚神経は筋紡錘への感覚神経の巻き付き度合と神経変性指標（blebbing rate）について評価した。さらに、若齢マウスと老齢マウスのヒラメ筋に対する空間トランスクリプトーム解析を行った。

（倫理面への配慮）

本研究は「ヘルシンキ宣言」及び「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」を遵守し、同指針に則り計画され、国立長寿医療研究センターの倫理・利益相反委員会の承認を得たうえで行われた。研究対象者個人の尊厳と人権の尊重、個人情報保護等倫理的観点から十分に配慮しながら研究を遂行すること、また研究参加者が試験参加中止を希望した場合は速やかに中止し、その結果対象者が不利益を被ることはないことを十分説明した。

動物実験に関しては国立研究開発法人国立長寿医療研究センター動物実験規則に従い行った（動 6-2 および 6-6）。特に動物実験時の苦痛軽減措置には十分な配慮をもって行った。

C. 研究結果

【東浦研究】

超音波画像から評価された筋横断面積・筋厚は、生体電気インピーダンス法から評価された骨格筋指数と中程度の相関がみられ、低筋量のスクリーニング・診断指標としての併存的妥当性が示された。また、超音波画像マーカー（筋横断面積・筋厚、羽状角、筋束長、エコー強度、エラストグラフィ）の評価値と AWGS 診断基準による重症度判定（非サルコペニア（73 名）、サルコペニア（14 名）、重症サルコペニア（3 名））との間に、量・反応関係がみられるか探索的に検証したところ、大腿直筋の筋横断面積・筋厚でのみ、サルコペニア重症度との間に有意な量・反応関係がみられた。血液指標との関連では、筋横断面積・筋厚は *apelin* と正の相関関係を示したが、その他の超音波画像マーカーと老化関連マーカーとの間に有意な相関関係はみられなかった。

【ロコモフレイル外来】

（1）再現性の検証において、級内相関係数 ICC(1, 1) は、検者 A では 0.993 [95% CI 0.985, 0.998]、検者 B では 0.996 [95% CI 0.990, 0.999]、検者 C では 0.997 [95% CI 0.992, 0.999]、ICC(2, 1) は、0.993 [95% CI 0.981, 0.998] という良好な結果を得た。

(2) 超音波画像(臥位)と超音波画像(座位)及びCT画像にて測定された四頭筋断面積3者の相互の相関係数、(偏相関係数)を調整なし、年齢で調整、年齢・性で調整の順に記すと、超音波画像(臥位) vs CT 画像では、それぞれ、0.949、0.940、0.894(全て $p < 0.01$)であり、超音波画像(座位) vs CT 画像では、それぞれ、0.958、0.953、0.912(全て $p < 0.01$)であり、超音波画像(臥位) vs 超音波画像(座位)では、それぞれ、0.952、0.945、0.904(全て $p < 0.01$)であった。

【老齢マウスモデルを用いた実験】

筋紡錘および感覚神経の各種分子マーカーによる免疫組織化学により、固有感覚器(筋紡錘+求心性神経)の形態学的な比較解析を行ったところ、筋紡錘そのものの形態学的変化(筋紡錘を構成する錘内線維の数と太さ、錘内線維を覆うマトリックス面積など)に加齢による影響は認めなかったが、老齢マウスにおいて、筋進展時の長さ変化と持続時間の感知に関わる求心性神経の編成と筋紡錘との間で接合不良が生じていた。

筋紡錘老化関連因子を同定するため、若齢マウスと老齢マウスの凍結筋切片(ヒラメ筋)を用いて空間トランスクリプトーム解析を実施した。既知の筋紡錘マーカー(6種類;*Myl4*、*Myl10*、*Padi2*、*Tnnt1*、*Tnni1*、*Eln*)の発現について、若齢マウスと老齢マウスとの間で遺伝子発現の比較を行ったところ、*Myl10*のみ老齢マウスで有意に発現低下していることを見出した。また、老齢マウス筋紡錘で有意に発現低下している他の因子として、*Myh6*、*Myh8*、*Pvalb*を同定した。

D. 考察と結論

サルコペニアの診断には、筋肉量の測定が必須となっているが、骨格筋量を正確かつ簡便に測定する方法は定まっていない。このことが、サルコペニアを診療として普及しない一因でもあると考えられる。

超音波測定は、一般診療で普及しており、被験者にも負担は少なく、簡便で測定機器もコンパクトであるため実施場所も固定する必要がない。この意味で、汎用性が高い測定方法であるが、これまでに、測定方法が標準化されておらず、超音波画像から得られる指標の臨床的な妥当性に関する知見が不足していることから、実用化はされていない。このため、本研究では、骨格筋量の評価として、超音波測定法の有用性や実用可能性について検討することを目的とした。

今年度は、東浦研究の会場調査が、2024年12月から2025年1月に行われたことから、対象者の解析が間に合わず($n=451$)、本報告では2024年度参加者の解析結果を提示した。その結果、筋横断面積および筋厚は、生体電気インピーダンス法(BIA)によって算出される骨格筋指数と中程度の相関(0.4~0.6)を示した。現在のサルコペニア診断基準に用いられているBIA法による評価も一定の課題を抱えている(水分貯留の状態が値に影響しうるなど)ため評価には限界があるが、測定原理の違いを反映しつつも、一定の関連性がある

ことを示しており、超音波法がサルコペニアのスクリーニングや初期評価に活用できる可能性はある。また、AWGS 診断基準に基づくサルコペニアの重症度分類と各種超音波画像マーカーとの量・反応関係を探索的に検討したところ、大腿直筋の筋横断面積および筋厚においてのみ、重症度が高まるにつれて評価値が有意に低下した。これは、筋横断面積や筋厚がサルコペニア進行に伴う筋量の減少を鋭敏に反映することを示しており、重症度の層別化にも寄与する可能性がある。なお、血液バイオマーカーとの関連性については、筋横断面積および筋厚が *apelin* と正の相関を示し、超音波による筋量評価が生理的指標と結びつく重要な情報源となることを示唆している。

一方、ロコモフレイル外来の受診者を対象とした、広範囲描出型の超音波測定機器を用いた解析では、(1) 良好な測定再現性、及び (2) CT 画像との四頭筋断面積の相関を同一測定肢位である臥位での測定により装置を検証し、(3) 測定肢位について、座位と臥位で差が無いことから、測定に容易な座位で臥位の CT と同等の評価ができることを示した。なお、CT 画像との相関についての検討では、同一測定肢位である臥位での筋断面積との相関により定量性に問題がないことが確認されたが、むしろ座位において若干相関がよりよい傾向であった。

高齢者のサルコペニアの問題は、二足歩行による移動を困難にし、転倒や骨折を契機として、ヒトの晩年期の健康障害を助長することである。このうち、バランス感覚の低下は、転倒の発生に寄与する一因と考えられ、転倒・骨折対策は健康長寿社会を標榜する我が国において重要な課題である。従って本研究では、身体のバランスに関わる骨格筋内の固有感覚器“筋紡錘”に焦点を当て、主に形態学的解析を軸として加齢に伴う筋紡錘の変化（筋紡錘老化）の機構を明らかにすることを目的とした基礎研究を行った。

筋紡錘は希少な器官であり、ヒト検体を用いた形態解析は困難である。そこで本研究では、モデル動物としてマウスを用いて、若齢マウス、壮年期マウス、老齢マウスの筋紡錘形態および感覚神経接合などについて詳細な経時的形態解析を行った。その結果、老齢マウスにおいて感覚神経と筋紡錘との接合に明らかな異常が出る（接合率の低下）、その接合異常が感覚神経の変性に伴って生じていることなどを明らかにした。筋紡錘に接合する運動神経には異常は認められず、加齢に伴う筋紡錘老化の本態が感覚神経接合不良である可能性を示唆している。

さらに、筋紡錘内で生じる加齢性変化が形態的なものだけであるとは限らないため、老齢マウス筋紡錘の網羅的遺伝子発現解析（空間トランスクリプトーム解析）も行った。本研究では、若齢マウスと老齢マウスの遅筋に対する解析を行い、6 種類の筋紡錘既知マーカーの中で *My110* の発現が老齢マウス筋紡錘で有意に発現低下しており、また加齢によって発現変動する遺伝子として、*Myh6*、*Myh8*、*Pvalb* を同定した。*My110*、*Myh6*、*Myh8* はいずれもミオシン重鎖のアイソフォームであり、形態学的な変化が認められなかった一方で、遺伝子発現レベルでは構造関連因子の加齢性変化が生じている可能性を示している。また *Pvalb* はカルシウムイオンと結合し筋収縮に関わるパルブアルブミンをコードする遺

伝子であり、老化に伴う筋紡錘収縮への影響を示唆している。

本年度は、筋紡錘の形態学的解析のみならず網羅的遺伝子発現解析を行い、加齢に伴う新しい形態変化（感覚神経の変性と接合不良）と筋収縮に関わる構造遺伝子群の発現変化という全く新しい発見につながった。筋紡錘は、希少性が高く研究対象としてハードルの高い器官であることから、その詳細な検証は見過ごされてきた感が否めない。しかし本研究により新たな知見が得られており、高齢者のバランス感覚の低下や寝たきりに対する新たな対策の構築に貢献することが期待される。

E. 健康危険情報

とくになし。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kinoshita K, Matsui Y, Hirano Y, Satake S, Osuka Y, Li J, Yoshiura K, Hori N, Arai H Association between the presence or absence of muscle mass assessment in sarcopenia diagnosis and poor health outcomes: A follow-up study of older outpatients at a frailty clinic *Geriatr Gerontol Int Online* 2025
- 2) Chen LK, Meng LC, Peng LN, Lee WJ, Zhang S, Nishita Y, Otsuka R, Yamada M, Pan WH, Kamaruzzaman SB, Woo J, Hsiao FY, Arai H Mapping Normative Muscle Health Metrics Across the Aging Continuum: A Multinational Study Pooling Data From Eight Cohorts in Japan, Malaysia and Taiwan *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 16(1):e13731 2025
- 3) Sampaio RAC, Nishita Y, Tange C, Zhang S, Shinohara M, Tateishi M, Furuya K, Kubota S, Sewo Sampaio PY, Sato N, Shimokata H, Arai H, Otsuka R Interactive Associations of Age, Apolipoprotein E ϵ 4 Gene, Physical Activity, and Physical Functioning on Processing Speed *J Am Med Dir Assoc* 10:105489 2025
- 4) Yamada M, Terao Y, Kojima I, Tanaka S, Saegusa H, Nanbu M, Soma S, Matsumoto H, Saito M, Okawa K, Haga N, Arai H Relationship between typical fall patterns and fall-related fractures in older Japanese adults *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* 101(2):98-106 2024
- 5) Makizako H, Shiratsuchi D, Akaida S, Tateishi M, Maeda K, Iijima K, Shimada H, Inoue T, Yamada M, Momosaki R, Wakabayashi H, Yamamoto K, Arai H Effects of digital-based interventions on the outcomes of the eligibility criteria for sarcopenia in healthy older adults: A systematic review and meta-analysis *Ageing Res Rev*

104:102663 2025

- 6) Miyahara S, Maeda K, Yasuda A, Satake S, Arai H The potential of body mass index-adjusted calf circumference as a proxy for low muscle mass in the global leadership initiative on malnutrition criteria Clin Nutr 43(12):225-230 2024
- 7) Izquierdo M, de Souto Barreto P, Arai H, Bischoff-Ferrari HA, Cadore EL, Cesari M, Chen LK, Coen PM, Courneya KS, Duque G, Ferrucci L, Fielding RA, García-Hermoso A, Gutiérrez-Robledo LM, Harridge SDR, Kirk B, Kritchevsky S, Landi F, Lazarus N, Liu-Ambrose T, Marzetti E, Merchant RA, Morley JE, Pitkälä KH, Ramírez-Vélez R, Rodríguez-Mañas L, Rolland Y, Ruiz JG, Sáez de Asteasu ML, Villareal DT, Waters DL, Won Won C, Vellas B, Fiatarone Singh MA Global consensus on optimal exercise recommendations for enhancing healthy longevity in older adults (ICFSR) J Nutr Health Aging 29(1):100401 2025
- 8) Huang ST, Otsuka R, Nishita Y, Meng LC, Hsiao FY, Shimokata H, Chen LK, Arai H Risk of Sarcopenia Following Long-Term Statin Use in Community-Dwelling Middle-Aged and Older Adults in Japan J Cachexia Sarcopenia Muscle 16(1):e13660 2024
- 9) Zhang S, Peng LN, Lee WJ, Nishita Y, Otsuka R, Arai H, Chen LK Muscle function outweighs appendicular lean mass in predicting adverse outcomes: Evidence from Asian longitudinal studies J Nutr Health Aging 28(12):100403 2024
- 10) Takagi S, Maeda K, Satake S, Kinoshita K, Iizuka Y, Matsui Y, Arai H. Association of food group with the changes in sarcopenia parameters over 1 year in older outpatients in a frailty clinic. Eur Geriatr Med Online 2024
- 11) Matsui Y, Takemura M, Suzuki Y, Watanabe T, Maeda K, Satake S, Arai H. Evaluation of quadriceps muscle cross-sectional area using an ultrasonic diagnostic equipment with a wide field of view. PLoS One, 19(9):e0311043 2024
- 12) Ishii K, Ogawa W, Kimura Y, Kusakabe T, Miyazaki R, Sanada K, Satoh-Asahara N, Someya Y, Tamura Y, Ueki K, Wakabayashi H, Watanabe Y, Yamada M, Arai H. Diagnosis of sarcopenic obesity in Japan: Consensus statement of the Japanese Working Group on Sarcopenic Obesity. Geriatr Gerontol Int, 24(10):997-1000 2024
- 13) Tanide A, Watanabe D, Yoshida T, Yamada Y, Watanabe Y, Yamada M, Fujita H, Nakaya T, Miyachi M, Watanabe M, Fujiwara Y, Arai H, Kimura M. Life-Space Mobility and Frailty in Older Japanese Adults: A Cross-Sectional Study. J Am Med Dir Assoc, 25(11):105232 2024
- 14) Weng SE, Huang YW, Tseng YC, Peng HR, Lai HY, Akishita M, Arai H, Hsiao FY, Chen LK. The Evolving Landscape of Sarcopenia in Asia: A Systematic review and meta-analysis following the 2019 Asian working group for sarcopenia (AWGS)

diagnostic criteria. Arch Gerontol Geriatr, 128:105596 2024

- 15) Miyahara S, Maeda K, Matsui Y, Satake S, Arai H. Association of body mass index-adjusted calf circumference with appendicular skeletal muscle mass and fall risk in older adults. Eur Geriatr Med Online, 2024
- 16) Kirk B, Cawthon PM, Arai H, Ávila-Funes JA, Barazzoni R, Bhasin S, Binder EF, Bruyère O, Cederholm T, Chen LK, Cooper C, Duque G, Fielding RA, Guralnik J, Kiel DP, Landi F, Reginster JY, Sayer AA, Visser M, von Haehling S, Woo J, Cruz-Jentoft AJ. Global Leadership Initiative in Sarcopenia (GLIS) Group An executive summary on the Global conceptual definition of Sarcopenia. Aging Clin Exp Res, 36(1):153 2024
- 17) Kawamura K, Maeda K, Miyahara S, Shimizu A, Ishida Y, Ueshima J, Nagano A, Kagaya H, Matsui Y, Arai H, Mori N. Association between oral frailty and sarcopenia among frailty clinic outpatients: A cross-sectional study. Nutrition, 124:112438 2024

2. 学会発表

- 1) 第 15 回日本腎臓リハビリテーション学会学術集会_筋肉増強の栄養学 筋肉を増やすカギはたんぱく質とビタミン D
- 2) 第 33 回日本リウマチ学会近畿支部学術集会_関節リウマチとサルコペニア
- 3) 第 3 回日本老年療法学会学術集会_サルコペニアの最新知見
- 4) 第 11 回 JADEK 年次学術集会_糖尿病で知っておくべき疾患⑦フレイル・サルコペニア
- 5) 第 70 回日本内科学会信越支部学術集会_フレイル・サルコペニアと介護予防
- 6) 第 121 回日本内科学会総会・講演会_高齢者診療におけるフレイル、サルコペニアの意義を考える

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし