

長寿医療研究開発費 平成 28 年度 総括研究報告

サルコペニアの本態を解明するための臨床・基礎連携研究（28-24）

主任研究者 橋本 有弘 国立長寿医療研究センター 再生再建医学研究部（部長）

研究要旨

骨粗鬆症とサルコペニアの罹患率を検討したところ、筋量・骨量は加齢と共に減少し、2群には相関が認められた。このような臨床的評価を骨格筋組織の病理解析の結果と統合的に検討するためには、臨床・基礎連携体制の構築が必須である。そのために、膝関節症患者の人工関節置換術時に摘出した内側広筋の解析を実例として、臨床・基礎連携研究の実施計画を立案した。また、膝関節症患者の内側広筋の解析の結果から、二次性サルコペニア骨格筋組織において、筋線維の減少と異所性の脂肪化が顕著であることが明らかになった。サルコペニアの本態を解明するためには、筋量のみならず、骨格筋の質的变化を明らかにすることが重要であると考えられる。

主任研究者

橋本 有弘 国立長寿医療研究センター 再生再建医学研究部（部長）

分担研究者

原田 敦 国立長寿医療研究センター 病院（病院長）

松井 康素 国立長寿医療研究センター 先端診療部（部長）

上住 円 国立長寿医療研究センター 再生再建医学研究部（室長）

A. 研究目的

本研究課題は、サルコペニアおよび骨粗鬆症患者に関する、非侵襲的臨床検査データ（運動能力、筋力、筋量など）と基礎的解析研究（筋生検試料の組織病理学、分子・細胞生物学解析）の結果を統合的に検討することによって、サルコペニア骨格筋の病態を明らかにすることを目的とする。

サルコペニアに関しては、臨床分野において非侵襲的調査研究が盛んに行われており、臨床および疫学データの蓄積が進んでいる。しかし、サルコペニア骨格筋組織の病態については、侵襲的解析に対する制約が大きいことが原因となって、未だ不明の点が多い。さらに、通常臨床研究で用いられている Dual Energy X-Ray Absorptiometry (DXA)法による筋量測定値 (SMI) については、筋力測定値との整合性が取れない場合があることが指摘されており、従来の非侵襲的測定法に基づいた筋量の臨床的評価については、再検討の余地

があるのではないかと考えられている。

サルコペニアの病態を正確に理解するためには、サルコペニア患者骨格筋を、直接（侵襲的に）解析し、臨床および疫学データとの対応関係を検討することによって、真にサルコペニア患者筋組織内で「何が起きているのか」を、明らかにする必要がある。その結果、非侵襲的データに新たな解釈が追加される可能性は、少なくない。

本研究は、臨床（病院）と基礎（研究所）との緊密な連携のもとに、サルコペニア患者に関する臨床データと骨格筋の基礎研究データを統合的に解析し、サルコペニアの本態を明らかにしようとするものである。世界的に見ても、サルコペニア患者の臨床データを基礎研究データと対応つけた系統的な研究は、知られていない。また、サルコペニアの診断基準値が、欧米人と日本人とでは大きく異なっていることから、日本人のサルコペニア患者について、臨床データと基礎研究データの対応を明らかにすることの意義は、臨床診断の基準値の意味を評価するうえで、非常に大きい。

本研究で解析可能な症例数は、膨大な臨床・疫学データに比して少数である。したがって、当該研究期間に得られた成果だけで、サルコペニア骨格筋の病態、および臨床データと基礎データとの対応について、最終的に結論づけるためには症例数は十分とは言えない。しかし、本研究によって得られる研究成果は、今後のサルコペニア研究に重要な知見を含んでおり、重要な指標（ランドマーク）となる。

本研究は、将来的に大規模なデータ（症例数）収集を目的としたプロジェクトを実施するための、パイロット研究（研究基盤作り）と位置づけられる。2年間の研究期間内に、サルコペニア骨格筋組織の本態（筋線維の萎縮、数的減少等の有無、および遺伝子・細胞レベルでの性質変化など）を明らかにし、対応する臨床検査データの生物学的意味について、科学的解釈を示すことが、当該研究期間（2年）内の目標である。さらに、その成果に基づいて、大規模なデータ収集を目的とした発展研究プロジェクトを提案したい。

B. 研究方法

（1）研究組織と役割分担

・主任研究者 橋本有弘（研究所・再生再建医学研究部）

研究統括、ヒト骨格筋の組織病理解析および分子・細胞生物学的解析。

・分担研究者

原田敦（病院長） 骨粗鬆症患者の臨床的評価。

松井康素（病院・整形外科）サルコペニア患者骨格筋の臨床的評価。

上住円（研究所・再生再建医学研究部）ヒト骨格筋の組織病理解析。

（2）解析内容

解析対象：当センター病院整形外科で手術を受ける、骨折、変形性関節症などの患者で、筋生検の実施に同意の得られた方。

研究項目：

1. 骨格筋に関する検査：運動能力（歩行速度）、筋力（握力）、筋量（DXAによる定量）などの測定、およびCT, MRIによる画像診断。
2. サルコペニア診断、薬剤などの電子カルテ情報の収集
3. 骨折、変形性関節症などの手術時に、臀筋、大腿筋などから、術野で生じる余剰骨格筋組織の一部（1-3g程度）を切除。
4. 骨格筋組織凍結による、一般組織病理解析。

（倫理面への配慮）

本研究はヘルシンキ宣言および文部科学省・厚生労働省人を対象とする医学系研究に関する倫理指針に示される倫理規範に則り計画され、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。

C. 研究結果

1) サルコペニア筋組織を解析するための臨床・基礎連携基盤の構築（橋本の報告参照）
骨折、変形性関節症などの手術時に、余剰骨格筋組織の一部を切除し、組織病理解析を実施した。その結果をもとに、サルコペニア骨格筋の病態を解析する生検筋組織（臀筋、大腿筋など）について、摘出から保存に到る操作手法および工程を検討した。対象とする疾患、解析対象とする筋組織の種類、摘出部位、切除の方法、筋組織片の大きさや形状などについて、実施計画を立案した。特に、対象とする疾患、解析対象とする筋組織の種類については、変形性股関節症に対する人工股関節置換術の際に得られる中臀筋（前方線維）を解析対象として今後の解析を進めることとした。

2) 不活動による二次性サルコペニア骨格筋の解析（上住の報告参照）

人工関節置換術を受ける膝関節症患者から、手術時に内側広筋を摘出し、組織病理解析を実施した。その結果、不活動による筋線維数の著しい減少と筋組織内の顕著な脂肪化を認めた。二次性サルコペニア骨格筋組織において、組織の大きさ（体積）には反映しない、著しい質的変化が起こっていることが示された。

3) 骨粗鬆症およびサルコペニア患者の臨床的評価（原田の報告参照）

骨粗鬆症およびサルコペニア患者の臨床的評価に関しては、DXA法を用いて **skeletal muscle mass index (SKI)** および大腿頸部骨密度を測定し、性別・年代別の骨粗鬆症とサルコペニアの罹患率とその相関関係を調査した。その結果、筋量・骨量は加齢と共に減少し、2群には相関が認められた（原田）。また、筋量は加齢と共に男性の方が早く減少し、骨量は女性の方が早く減少する傾向が明らかになった。

4) サルコペニア患者の臨床的評価（松井の報告参照）

サルコペニアの新しい臨床評価の手法として、CT画像による大腿四頭筋の質的評価を検討した。その結果、高齢者のCT値は若年者に比べ13%減少し、筋断面積の減少に伴

いCT値の減少が認められた。膝関節症患者については、対照例に比べ長期間の活動性の低下が示唆された。

D. 考察と結論

臨床研究においては、サルコペニアの診断基準の確立、発症機序の解明、および予防法の開発等を目的として、非侵襲的データの蓄積が進んでいる。一方、組織病理学的解析をはじめとして、サルコペニア患者の骨格筋の病態に関する基礎的研究データの蓄積は、世界的に見てもきわめて乏しいと言わざるを得ない。すなわち、サルコペニアの予防法および治療法を開発するために必要な科学的な基盤情報は、未だ圧倒的に不足している状況にある。

本研究課題は、サルコペニアおよび骨粗鬆症患者に関する、非侵襲的臨床検査データ（運動能力、筋力、筋量など）と基礎的解析研究（筋生検試料の組織病理学、分子・細胞生物学解析）の結果を統合的に検討することによって、サルコペニア骨格筋の病態を明らかにすることを目的とする。そのためには、臨床と基礎のシームレスな連携を可能とする研究方法（手順）と研究体制を整備・構築する必要がある。

本研究課題においては、当センター病院整形外科で施行される、骨折、変形性関節症などの手術時に、臀筋、大腿筋などから、術野で生じる余剰骨格筋組織の一部を切除し、当センター再生再建医学研究部において、基礎的解析研究を実施する。初年度の検討の結果、サルコペニア骨格筋の病態を解明するための、臨床・基礎連携に関する研究実施計画を立案した。すなわち、筋生検の対象疾患と筋組織については、変形性股関節症に対する人工関節置換手術に際して、中臀筋（前方線維）を解析するのが妥当であると考えられた。ただし、今後は、さらに筋組織の違いおよび筋組織内の部域差（前方線維と後方線維の違い）について考慮しつつ検討を進める必要がある。したがって、中臀筋（前方線維）以外の筋組織についても、引き続きサルコペニアに関する臨床診断およびデータと比較しつつ、慎重に協議・検討していく予定である。

また、変形性膝関節症患者由来の内側広筋について解析し、二次性サルコペニアを反映していると思われる特徴的な組織変化を見いだした。内側広筋は、部位的に、筋電図、エコーなどの臨床的な指標との対比が行い易いという利点がある。そのため、今後は、他の骨格筋組織における解析結果と比較検討しつつ、内側広筋を対象として、サルコペニアと診断された患者の臨床指標と組織病理解析の結果の対応を検討したい。

対象とする疾患、手術の方法、解析対象とする筋組織については、近い将来、可能な限り統一することを目標に、実施例を蓄積していく計画である。

ヒト疾患の病態解析においては、個人差が大きいことに配慮して、膨大な症例数の検討に基づいた結果が求められている。申請者等は、本研究をサルコペニアの病態解明のための「パイオニア研究」と位置づけている。本研究において解析可能な例数には限りがあるものの、臨床データの示す生物学的な意味を、基礎的解析データによって明らか

にすることによって、臨床および疫学研究データに科学的な裏付けを付与し、新たな解釈を提示することが期待できる。

将来的には、規模を拡大した研究プロジェクトに発展させるための基盤となるデータを得ることが、2年目（最終年度）における本研究の目標である。本研究が、解析データ・ライブラリーの構築に発展すれば、サルコペニアの予防・診断・治療法開発のための基盤となる知見を蓄積し、その成果を社会に向けて発信することができる。

また、分担研究者上住の転出（平成29年1月）にともない、一部、研究体制の手直しが必要になった。上住との共同研究を継続するとともに、当センター病院臨床検査部病理科（長谷川医長）の協力のもと、研究体制を整備する予定である。

E. 健康危険情報

なし。

F. 研究発表

1. 論文発表

橋本有弘

- 1) Y. Iwata, N. Suzuki, H. Ohtake, S. Kamauchi, N. Hashimoto, T. Kiyono & S. Wakabayashi. Cancer cachexia causes skeletal muscle damage via transient receptor potential vanilloid 2-independent mechanisms, unlike muscular dystrophy. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 7(3), 366-76, 2016
doi:10.1002/jcsm.12067.
- 2) Atsushi Nishida, Ayaka Oda, Atsuko Takeuchi, Tomoko Lee, Hiroyuki Awano, Naohiro Hashimoto, Yasuhiro Takeshima, Masafumi Matsuo
Staurosporine allows dystrophin expression by skipping of nonsense-encoding Exon
Brain & Development, 38(8), 738-45, 2016. doi:10.1016/j.braindev.2016.03.003.
- 3) Masashi Naito, Masaki Mori, Masayo Inagawa, Kohei Miyata, Naohiro Hashimoto, Sakae Tanaka, Hiroshi Asahara
Dnmt3a Regulates Proliferation of Muscle Satellite Cells via p57Kip2
PLOS Genetics, 12(7), e1006167, 2016. doi:10.1371/journal.pgen.1006167.
- 4) Weihua Zeng, Shan Jiang, Xiangduo Kong, Nicole El-Ali, Alexander R. Ball, Jr, Christopher I-Hsing Ma, Naohiro Hashimoto, Kyoko Yokomori, and Ali Mortazavi
Single-nucleus RNA-seq of differentiating human myoblasts reveals the extent of fate heterogeneity.
Nucleic Acids Research, 2016. (on line) doi: 10.1093/nar/gkw739

- 5) Yoshitaka Ohno, Yusuke Matsuba, Naohiro Hashimoto, Takao Sugiura, Yoshinobu Ohira, Toshitada Yoshioka, Katsumasa Goto
Suppression of myostatin stimulates regenerative potential of injured antigravitational soleus muscle in mice under unloading condition.
International Journal of Medical Sciences, **13**(9), 680-5, 2016.

原田 敦

- 1) 原田敦. サルコペニアの概念・定義. 最新医学別冊 診断と治療のABC 112 サルコペニア 小川純人編集 大阪 12-16, 2016.
- 2) 原田敦. サルコペニアと frailty. 今日の整形外科治療指針 2016.5.15 第7版 編集土屋弘行、紺野慎一、田中康仁、田中栄、松田秀一 医学書院 東京 283, 2016.
- 3) 原田敦. ロコモティブシンドロームとフレイル・認知機能. Medical Practice 東京 33(8): 1263-1265, 2016.
- 4) 原田敦. 特集：サルコペニアとロコモ Overview (序). Loco Cure 東京 2(3): 201, 2016.
- 5) 原田敦. Q13 転倒と骨折の関連性について教えてください。Q14 転倒予防の方法について教えてください。骨粗鬆症治療薬 クリカルクエスチョン 100. 監修 折茂肇 編集 小川純人. 診断と治療社 東京 P20-22, 2016.
- 6) 原田敦. 転倒・骨折予防の動向. 転倒予防白書 2016. 監修 日本転倒予防学会 編集 武藤芳照、鈴木みずえ、原田敦. 日本医事新報社 東京 93-98, 2016.
- 7) Hida T, Sakai Y, Ito K, Ito S, Imagama S, Ishiguro N, Harada A. Collar Fixation is not Mandatory after Cervical Laminoplasty: A Randomized Controlled Trial. Spine, 2016.
- 8) Sakai Y, Ito S, Hida T, Ito K, Harada A, Watanabe K. Clinical outcome of lumbar spinal stenosis based on new classification according to hypertrophied ligamentum flavum. J Orthop Sci. Aug 28. pii: S0949-2658(16)30135, 2016. doi: 10.1016/j.jos.2016.08.007, 2016.

松井 康素

- 1) 松井康素. 高齢期に特有の疾病・障害 -ロコモサルコペニア-. 月刊保団連. 1220:10-18, 2016.
- 2) 松井康素. サルコペニアとロコモの概念、定義の異同. Loco Cure. 2(3):202-207, 2016.
- 3) Sugimoto T, Ono R, Murata S, Sajia N, Matsui Y, Niida S, Toba K, Sakurai T. Prevalence and Associated Factors of Sarcopenia in Elderly Subjects with Mild Cognitive Impairment or Alzheimer Disease. Current Alzheimer Research.

- 13:718-726, 2016.
- 4) Sugimoto T, Ono R, Murata S, Sajia N, Matsui Y, Niida S, Toba K, Sakurai T. Sarcopenia is associated with impairment of activity of daily living in Japanese patients with early-stage Alzheimer disease. *Alzheimer Disease & Associated Disorders*. (in press), 2016.
 - 5) Fujita R, Matsui Y, Ota S, Harada A, Takemura M, Kondo I, Nemoto T, Sakai T, Hiraiwa H. Does the Q – H Index Show a Stronger Relationship than the H:Q Ratio in regards to Knee Pain during Daily Activities in Patients with Knee Osteoarthritis? *J Phys Ther Sci*. (in press), 2016
 - 6) 松井康素. サルコペニアの病態、成因. *Clinical Calcium*. 27(1): 45-53, 2017
 - 7) 松井康素、藤田玲美、鈴木康雄、太田 進. 筋電図と加速度センサーを兼ね備えた運動時筋肉活動量の経時的測定記録装置の開発. 中谷医工計測技術振興財団年報.30:133-141,2016
 - 8) 松井康素、原田敦. 筋肉の加齢（サルコペニア）と画像診断. *臨床画像*.33(5):546-556,2017
 - 9) 鈴木康雄、松井康素、藤田玲美. 等尺性膝関節運動時における筋電図周波数と時間応答の解析手法. *日本福祉大学健康科学論集* 20:1-8. 2017

上住 円

- 1) Uezumi A, Nakatani M, Ikemoto-Uezumi M, Yamamoto N, Morita M, Yamaguchi A, Yamada H, Kasai T, Masuda S, Narita A, Miyagoe-Suzuki Y, Takeda S, Fukada S, Nishino I, Tsuchida K. Cell surface protein profiling identifies distinctive markers of progenitor cells in human skeletal muscle. *Stem Cell Reports*. 7(2): 263-78, 2016

2. 学会発表

橋本有弘

- 1) 橋本有弘
ヒト筋サテライト細胞の性質解明をめざして-不死化ヒト筋前駆細胞を用いた解析
日本筋学会第2回学術集会、シンポジウム、2016年8月6日 東京
- 2) 上住円、上住聡芳、土田邦博、深田宗一朗、橋本有弘
サルコペニアの発症または進行に関与する因子の探索
日本筋学会第2回学術集会、2016年8月5-6日 東京
- 3) 龍 訥、橋本有弘
不死化ヒト膀胱平滑筋細胞の樹立および平滑筋分化誘導系の確立
第39回日本分子生物学会年会

2016年11月30日-12月2日、パシフィコ横浜、横浜

4) 大久保咲、橋本有弘

不死化ヒト膀胱平滑筋細胞の可逆的な分化

第39回日本分子生物学会年会

2016年11月30日-12月2日、パシフィコ横浜、横浜

- 5) Ikemoto-Uezumi M, Uezumi A, Hashimoto N. MFG-E8 aberrantly accumulates at the arteries and the neuromuscular junction with age. FASEB Science Research Conference: Skeletal Muscle Satellite Cells and Regeneration, July 24-29, 2016, Keystone, Colorado

原田 敦

- 1) 原田敦. 超高齢化社会におけるサルコペニア研究. JST-CRDS ワークショップ健康長寿日本を目指すバイオメカニクス研究. 2016年5月11日. 東京.
- 2) 原田敦、松井康素、酒井義人、竹村真里枝、伊藤定之. サルコペニアの評価法。シンポジウム23 ロコモからみたサルコペニアの現状、治療、予防。第89回日本整形外科学会学術総会、2016年5月15日、横浜。
- 3) 原田敦. サルコペニアについて～骨粗鬆症との関連も含めて～. 第6回骨粗鬆症治療研究会、2016年5月21日、東京。
- 4) 原田敦. 転倒と骨粗鬆症. 薬剤師の為の骨粗鬆症学術講演会. 2016年5月28日。名古屋。
- 5) 原田敦. 加齢に伴う筋肉と骨の減少. 第183静岡県整形外科医会集談会、2016年7月9日。浜松。
- 6) 原田敦. チームで取り組む転倒予防—転倒予防と転倒による外傷軽減化—平成28年度国公立私立大学付属病院医療安全セミナー、2016年7月14日。大阪。
- 7) 原田敦. フレイルの概念とその予防. 豊川市医師会・総合青山病院教育講演会. 2016年8月20日、豊川。

松井 康素

学会発表

- 1) Matsui Y, Fujita R, Harada A, Sakurai T, Nemoto T, Noda N, Toba K. Associations of IADL with grip strength and related indices of agility, depending on sex and age. - Investigation by a newly-developed grip strength measuring device. International Conference on Frailty & Sarcopenia Research (ICFSR). 2016.4 Philadelphia, PA, USA.
- 2) Suzuki Y, Matsui Y, Fujita R, Harada A. Frequency analysis of electromyograms of the muscles around the knee in knee osteoarthritis patients. International

Conference on Frailty & Sarcopenia Research (ICFSR). 2016.4
Philadelphia, PA, USA.

- 3) Matsui Y. New assessment for sarcopenia. 2nd ICAH-NCGG. 2016.4. 台北,台湾.
- 4) 松井康素, 藤田玲美, 原田 敦, 櫻井孝, 根本哲也, 野田信雄, 鳥羽研二. 時間軸を考慮した新型握力計を用いた瞬発力に関する詳細な指標—ADL 自立との関連についての性・年代別比較検討—. 第 89 回日本整形外科学会学術総会. 2016.5. 横浜.
- 5) 原田 敦, 松井康素, 酒井義人, 竹村真里枝, 伊藤定之. ロコモからみたサルコペニアの現状,治療,予防 サルコペニアの評価法. 第 89 回日本整形外科学会学術総会. 2016.5. 横浜.
- 6) 飯田浩貴, 酒井義人, 伊藤定之, 松井康素, 竹村真里枝, 飛田哲朗, 伊藤研悠, 原田敦. 骨粗鬆症性椎体骨折保存治療におけるサルコペニアと骨粗鬆症治療の重要性. 第 89 回日本整形外科学会学術総会. 2016.5. 横浜.
- 7) 松井康素, 藤田玲美, 原田 敦, 櫻井 孝, 根本哲也, 鳥羽研二. 認知機能障害の程度による握力発揮状態の検討—開発中の新型握力計測定による女性患者の利き手と非利き手の比較—. 第 58 回日本老年医学会学術集. 2016.6. 金沢.
- 8) 鈴木 康雄, 松井康素, 飯田浩貴, 山村政隆, 原田 敦. CT 断面像を用いた高齢者の大腿四頭筋断面積と CT 値の検討. 第 58 回日本老年医学会学術集. 2016.6. 金沢.
- 9) 松井康素, 鈴木康雄, 藤田玲美, 原田 敦. 筋電計を用いた筋収縮の量ならびに質の評価. 第 3 回日本サルコペニアフレイル研究会 2016.11. 名古屋
- 10) Matsui Y. Implementation of Integrated Healthy Aging Clinic to investigate frailty and sarcopenia in the clinical setting. 第 12 回長寿医療研究センター国際シンポジウム 2017.3 大府

上住 円

- 1) 上住 円, 上住聡芳, 橋本有弘 「サルコペニアの発症または進行に関与する因子の探索」 第 2 回 日本筋学会学術集会、2016 年 8 月 5-6 日、東京
- 2) Ikemoto-Uezumi M, Uezumi A, Hashimoto N. MFG-E8 aberrantly accumulates at The arteries and the neuromuscular junction with age. 第 4 回若手による骨格筋細胞研究会 名古屋 2016 年 11 月
- 3) Ikemoto-Uezumi M. Two aspects of skeletal muscle aging –primary sarcopenia and aged muscle regeneration-. Cardiac and Skeletal Muscle Stem Cells for Regeneration Symposium in University of Minnesota, August 1, 2016, Minneapolis, Minnesota.
- 4) Ikemoto-Uezumi M, Uezumi A, Hashimoto N. MFG-E8 aberrantly accumulates at the arteries and the neuromuscular junction with age. FASEB Science Research Conference: Skeletal Muscle Satellite Cells and Regeneration, July 24-29, 2016,

Keystone, Colorado.

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。