

表 題 高齢者におけるサルコペニアの新たな診断指標としての
全血スペルミン/スペルミジン比の検討

論文の区分 博士課程

著 者 名 眞山 英徳

担当指導教員氏名 菅原 斉 教授

所 属 自治医科大学大学院医学研究科
専攻 地域医療学系
専攻分野 総合医学
専攻科 内科系総合医学

2023年1月10日申請の学位論文

(背表紙)

高齢者におけるサルコペニアの新たな診断指標としての
全血スペルミン／スペルミジン比の検討

注：冊子にした時に下 5 センチ必ず空けてください。

目次

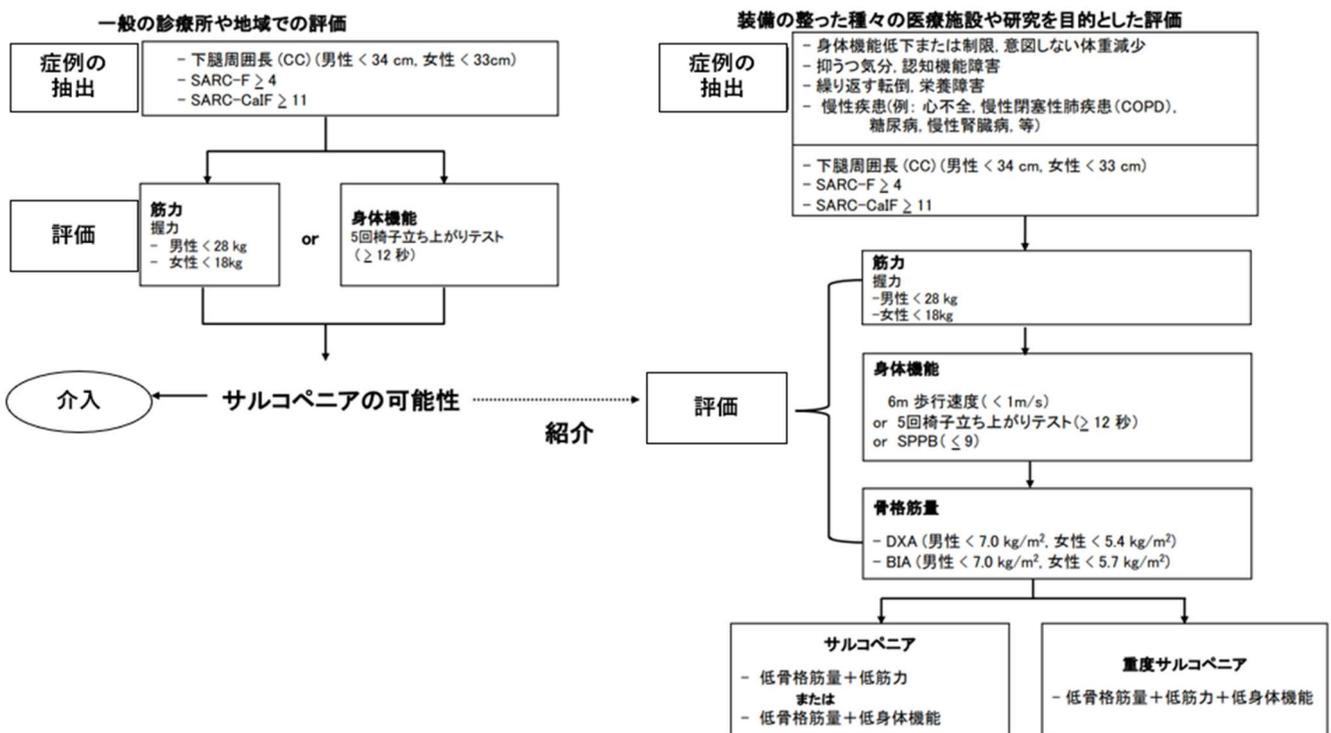
1.	研究の背景と目的	p 1-4
2.	研究方法	p 4-9
	研究デザインおよび研究対象者	
	データおよびサンプルの収集方法	
	サルコペニアの定義	
	血液・生化学検査	
	全血中ポリアミン濃度の測定	
	統計解析	
3.	結果	p 9-25
	研究参加者の選定	
	研究参加者の背景	
	血中ポリアミン値の測定結果	
	サルコペニアの関連要因の検討	
	サルコペニア進行に関連する因子の検討	
4.	考察	p 25-31
5.	結論	p 31
6.	謝辞	p 32
7.	参考文献	p 32-38

1. 研究の背景と目的

研究の背景

サルコペニアは、転倒、骨折、運動障害などの有害事象のリスク上昇と関連する進行性の全身性筋骨格系障害である[1]。また、心臓、呼吸器、神経変性疾患、認知機能障害などを伴い、高齢者の施設入居の必要性を高め、高齢者の寿命に悪影響を及ぼすこともある[2-5]。サルコペニアは老化を反映していると考えられ、予防だけでなく、サルコペニアの早期診断と治療介入は、高齢者の QOL 向上と予後改善に寄与すると考えられる。しかし、サルコペニアの診断は、1) 筋量、筋力、身体機能など複数の要素を評価する必要があること、2) 男性と女性で異なる基準値が存在する、というように診断が複雑である (図 1)。

図 1：サルコペニアの診断基準 (AWGS2019：文献 1 より改変)



将来、多くの高齢者が介護を必要とすることが想定され、運動能力の低い高齢者は運動能力の高い成人と比較してフレイルの発生が早いと言われている[6]。したがって、サルコペニアの進行を簡単かつ正確に予測する方法が重要である。

近年、血中ポリアミンと様々な健康状態との関係が指摘されている[7-11]。天然のポリアミン（スペルミン[SPM: Spermine]、スペルミジン[SPD: Spermidine]）およびその前駆体であるプトレシン（PUT: putrescine）は、複数のアミノ基を持つ身近なあらゆるところに存在する低分子脂肪族アミンである。ポリアミンは微生物からヒトまで共通して存在し、抗酸化作用や抗炎症作用、細胞や遺伝子の保護、オートファジーの活性化など、多くの生理活性に関与している[12]。細胞内のポリアミン濃度は、細胞内のポリアミン合成酵素と異化酵素の活性、および細胞外からのポリアミンの供給によって変化する。一般に、ポリアミン合成の酵素活性は加齢とともに低下し[12]、最近のデータでは、下等生物において組織内 SPD 濃度が加齢とともに低下することが報告されている[13]。しかし、加齢に伴うポリアミン濃度の低下は、幼少期（胎児期、発育期）にのみ観察されるものであり[14]、成人では、ポリアミン濃度の有意な低下は観察されていない。むしろ、ヒトにおけるいくつかの報告では、加齢に伴い SPM 濃度が減少し、SPD 濃度が増加するため、血中 SPM/SPD 比は減少する傾向にあることが示されている[15-18]。

血中ポリアミン濃度は、細胞外からのポリアミン供給量に影響される。我々は過去の検討で、ポリアミンを多く含む食事が、SPD よりもはるかに強い生物活性を持つ SPM の血中濃度を高め、マウスやヒトの老化に伴う炎症性状態を改善すること[15、19]、ポリアミン摂取

量を長期間増やすとマウスの寿命が延びることを明らかにした [20]。そして、SPM が DNA メチル化酵素を活性化し、ポリアミン欠乏によって誘発される、あるいは老化に伴う DNA メチル化異常の進行を抑制することも報告した [21, 22]。これらの検討より、血中 SPM 濃度の上昇とそれに伴う SPM/SPD 比の上昇は、健康状態の好転と関連し、健康寿命の延伸に寄与すると考えられた。

一方で、認知機能障害 [7, 9] やアルツハイマー型認知症 [10]、パーキンソン病 [11] などの神経変性疾患などの罹患者では、血中 SPD 濃度が上昇することが報告されている。SPM/SPD 比の加齢による減少が、これらの疾患で加速することも報告されている [8]。

血中 SPD の増加と SPM/SPD 比の減少のメカニズムはよく分かっていないが、SPD の増加は脳内のオートファジーの活性化を促すことで病態を改善しようとする補完的なメカニズムであるという考え方は再考する必要がある [23]。その理由の一つは、SPD によるオートファジー活性化を検討する実験において、ポリアミンの基本的な性質が理解されていないために、SPD 自体の生理活性ではなく、アーティファクトが観察されていることである [24]。むしろ、SPD の増加や SPM/SPD 比の減少は、加齢とともに増加する生活習慣病の発症や進行のメカニズムに関係していると考えられる。

研究の目的

これまでの研究で、血中ポリアミンがいくつかの健康状態と関連していることが示されているが、サルコペニアと関連しているかどうかを検討した研究はない。また、現時点では、

サルコペニアの進展を予測する簡単な方法もない。本研究では、血中ポリアミン濃度（特にSPM/SPD比）がサルコペニアと関連するかどうか、またポリアミン濃度がサルコペニアの早期発見のマーカーとなり得るかどうかを検討した。

2. 研究方法

研究デザインおよび研究対象者

本調査は横断的研究である。ヘルシンキ宣言（2004年、東京改訂版）に従って考案されたこの研究は、自治医科大学附属さいたま医療センター（S19-037）、南魚沼市立病院（R-10）の施設審査委員会の承認を受けた。患者選択の流れを図2に示す。本研究の対象者は、南魚沼市立病院（新潟県南魚沼市）の外来診療に通院している70歳以上の高齢者、または特別養護老人ホームみなみ園、まいこ園（新潟県南魚沼市）に入所している70歳以上の高齢者である。本研究の対象者は、研究内容について十分に説明を受け、同意書に署名し、研究に参加した。ペースメーカーを装着している研究対象者は、生体電気インピーダンス分析（BIA：bioelectrical impedance analysis）で筋肉量を測定することができないため、除外した。悪性腫瘍の存在は血中ポリアミンレベルに大きな影響を与えるため、がん患者および3ヶ月以内のがん治療の既往がある者は、研究から除外した。

データおよびサンプルの収集方法

年齢、心血管疾患、脳血管疾患、認知症、骨折既往などの病歴と臨床情報を診療記録、健

康診断結果および質問票により収集した。BMI (body mass index) は、体重 (Kg) ÷身長² (m²) で算出した。体組成と筋肉量を測定するために、InBody S10 (InBody Japan、東京、日本) を用い、多周波生体電気インピーダンス分析 (MF-BIA: multi-frequency bioelectrical impedance analysis) を実施した。骨格筋量指数 (SMI: skeletal muscle mass index) は、四肢骨格筋量 (kg) を身長 (m²) で割ることにより算出した。手指握力 (HGS: hand grip strength) は、座位で手指握力計 (Smedley's Hand Dynamo Meter、松宮医科精器製作所、東京、日本) により測定し、左手と右手の握力検査で数値の高い方を採用した。歩行速度 (WS: walking speed) は、通常の WS で 10m 歩くのに必要な時間として算出した。最大 WS は転倒の危険が高い参加者が含まれていたため、測定しなかった。

サルコペニアの定義

サルコペニアのアジアワーキンググループが定めた診断基準 2019 によると、サルコペニアとは、筋肉量が減少し、筋力や身体能力が低下した状態であるとされている [1]。そこで、本研究では、SMI が男性 7.0kg/m² 未満、女性 5.7kg/m² 未満で、さらに HGS が男性 28kg 未満、女性 18kg 未満、WS が 1.0m/sec 未満のいずれかの場合にサルコペニアの診断とした。また、サルコペニアの基準を満たさない参加者のグループを非サルコペニア群と定義した。さらに、非サルコペニア群のうち、SMI の低下、HGS や WS の低下を示すがサルコペニアと診断されない患者を準サルコペニア群として細分化し、解析した。また、非サルコペニア群から準サルコペニア群を除いたものを健常群とした。

血液・生化学検査

血液サンプルは、試験参加者から 25 度の環境温度で採取した。ポリアミン濃度測定のための全血試料は、測定まで直ちに -20°C で保存した。ポリアミンを除くすべての血液サンプルの測定は、南魚沼市立病院の臨床検査室で行われた。ヘモグロビン (Hb : hemoglobin) (g/dL) 濃度は、自動血球測定器 (XN-2000、SYSMEX CORPORATION、神戸、日本) を用いてラウリル硫酸ナトリウムヘモグロビン検出法で測定した。生化学検査は、生化学自動分析装置 (BM6070、日本電子株式会社、昭島、日本) を用いて実施した。血清アルブミン (Alb: albumin) (g/dL) 濃度は、bromocresol purple (BCP) 修正法で測定した。クレアチニン (Cre: creatinine) は酵素法で測定した。推算糸球体濾過値 (eGFR: estimated glomerular filtration rate) ($\text{ml}/\text{min}/1.73\text{m}^2$) は、男性 : $\text{eGFR} (\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2) = 194 \times \text{Creatinine} - 1.094 \times \text{Age} - 0.287$ 、女性 : $\text{eGFR} (\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2) = 194 \times \text{Creatinine} - 1.094 \times \text{Age} - 0.287 \times 0.739$ 、の式を用いて算出した。low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) (mg/dL) と high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) (mg/dL) は直接測定法により測定した。中性脂肪 (TG : triglyceride) (mg/dL) は、酵素法で測定した。ヘモグロビン A1c (HbA1c) (%) は、高速液体クロマトグラフィー (HPLC: high-performance liquid chromatography) (AH8290、ARCRA Y Inc、京都、日本) により測定した。

全血中ポリアミン濃度の測定

全血試料は、ヘパリン採血管に採血し、 -20°C 以下で保存した。ポリアミン濃度は、自治医

科大学附属さいたま医療センター循環器研究所において、HPLCで測定した [25]。ポリアミン測定時は、全血を解凍し、超音波処理と凍結融解サイクルで分解して測定した。ポリアミンの抽出は、全血を 5%トリクロロ酢酸 (TCA: trichloroacetic acid) で 5 倍に希釈し、95°Cで 45 分間インキュベートした。13000×g、4°Cで 20 分間遠心分離した。その後、上清を回収し、TCA 濃度を 10%に上げて 95°Cで 45 分間インキュベートし、さらに 13,000×g、4°Cで 20 分間遠心分離し、脱タンパクを行った。TCA 上清 20 μL 中のポリアミンを、TSKgel Polyaminepak culum (カラムサイズ 4.6mmID×50mm 長、粒子径 7 μm、東ソー・バイオサイエンス、東京、日本) を用いた島津製作所製 HPLC システム (京都、日本) を用いて 50°Cで分離し、分離緩衝液を用いて、ポリアミン上清を得た。

分離用緩衝液 (0.09 M クエン酸 [NACALAI TESQUE、INC.、京都、日本]、2 M NaCl [NACALAI TESQUE、INC.、京都、日本]、0.64 mM n-capric acid [NACALAI TESQUE、INC.、京都、日本]、0.1% Brij-35 [Sigma-Aldrich、東京、日本]、20%メタノール [富士フイルム株式会社、大阪、日本]) は pH 5.10 に調整し、0.42 mL/min で使用した。得られたポリアミン上清は、オルトフタルアルデヒド溶液 (0.06% オルトフタルアルデヒド [NACALAI TESQUE、INC.、京都、日本]、0.4 M ホウ酸 [NACALAI TESQUE、INC.、京都、日本]、0.1% Brij-35 [Sigma-Aldrich Japan、東京、日本]、2.0 mL/L 2-メルカプトエタノール [NACALAI TESQUE、INC.、京都、日本]) と 50°Cで反応後の蛍光強度により検知した。オルトフタルアルデヒド溶液の流速は 0.42 mL/min とし、励起波長 340 nm、発光波長 455 nm で蛍光を測定した。SPD の保持時間は 12 分、SPM の保持時間は 23 分

であった。全血の検体中の濃度はマイクロモル (μM) 単位で表示した。

統計解析

データはすべて中央値（四分位範囲）として示した。サルコペニア群と非サルコペニア群間の変数の差を、Mann-Whitney U 検定を用いて評価した。

3群間の比較は以下のように行った。比率の多重比較には z 検定を用い、有意性の判定には Bonferroni 法を用いた。具体的には、ボンフェローニ法により「修正有意水準 (p')」を求め、各比較対の有意差検定 (z 検定) 結果の確率値を $p' = 0.017$ で判定を行った。 p' で有意差があると判定された群間比較の結果は、 $p < 0.05$ と表 4 に示した。変数の多重比較には、Kruskal-Wallis 検定を用いた。分散の均質性を評価するために Levene の検定を用い、分散の等しい変数については Tukey 法を、分散の等しくない変数については Games-Howell 法を用いて群間差の判定を行った。

年齢と SPD、SPM および SPM/SPD 比の相関は、Spearman の順位相関係数 (ρ) を用いて評価した。サルコペニアと関連する因子の検討のため、従属変数にサルコペニアの有無を、独立変数に各因子を用い多変量ロジスティック回帰分析を行った。解析の基準には非サルコペニア群を用い、各因子のオッズ比 (95%信頼区間) を示した。さらに、サルコペニアの進展と関連する因子の検討のため、従属変数に準サルコペニア/サルコペニアの有無、独立変数に各因子を用い多変量ロジスティック回帰分析を行った。解析の基準には健常群を用い、各因子のオッズ比 (95%信頼区間) を示した。

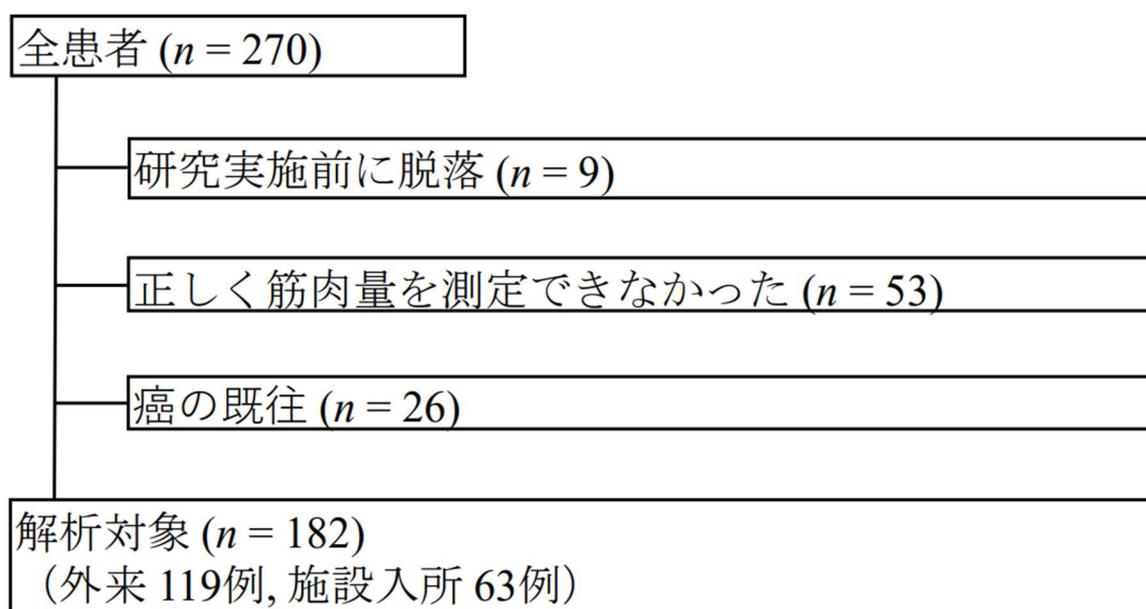
すべての解析は、IBM SPSS Statistics for Windows version 28.0 (IBM、Armonk、NY、USA)を用いて行った。両側 p 値 < 0.05 を統計的に有意とした。

3. 結果

研究参加者の選定

9名は死亡または研究開始前に転院したため除外した。また、53名は適切な姿勢を維持することができないなどの理由で、正確な筋肉量を測定することができなかったため除外された。さらに、がんの既往が確認された26名を除外し、182名の患者を解析対象とした。外来患者が119名、施設入居者が63名であった（図2）。

図2：患者選定プロセス



研究参加者の背景

研究参加者の特徴を表 1 にまとめた。182 名（男性 68 名、女性 114 名）のうち、サルコペニアの診断基準を満たさない人（非サルコペニア群）は 111 名（男性 52 名、女性 59 名）、サルコペニアの診断基準を満たした人（サルコペニア群）は 71 名（男性 16 名、女性 55 名）であった。サルコペニア群は非サルコペニア群に比べ、女性の割合が高く（女性の割合：77 vs. 53; $p < 0.001$ ）、高齢であった（中央値：90 vs. 78; $p < 0.001$ ）。サルコペニア群は非サルコペニア群に比べ、施設入居率が高かった（施設入居者割合：80 vs. 5; $p < 0.001$ ）。サルコペニア群は非サルコペニア群に比べて脳血管疾患既往歴（%）（38 vs. 11; $p < 0.001$ ）、認知症既往歴（%）（77 vs. 14; $p < 0.001$ ）、骨折既往歴（%）（21 vs. 7; $p = 0.006$ ）が多かったが、心血管疾患既往歴率に差はなかった。また、サルコペニア群では非サルコペニア群に比べ、BMI（中央値：19.5 vs. 23.7; $p < 0.001$ ）とサルコペニアの診断要素である SMI（中央値：4.6 vs. 7.7; $p < 0.001$ ）、WS（中央値：0.0 vs. 1.1; $p < 0.001$ ）、HGS（中央値：6.4 vs. 22.7; $p < 0.001$ ）は、いずれも低値であった。

サルコペニア群では非サルコペニア群に比べ SPD が高く（中央値：7.02 vs. 5.63; $p = 0.002$ ）、SPM は差がなく（中央値：3.04 vs. 3.19; $p = 0.701$ ）、SPM/SPD 比は低かった（中央値：0.49 vs. 0.57; $p < 0.001$ ）。ヘモグロビン（中央値：12.0 vs. 13.5; $p < 0.001$ ）、Alb（中央値：3.5 vs. 4.2; $p < 0.001$ ）、TG（中央値：100 vs. 128; $p < 0.001$ ）、HbA1c（中央値：5.6 vs. 6.0; $p < 0.001$ ）はいずれもサルコペニア群が非サルコペニア群より低かったが、eGFR はサルコペニア群が高かった（中央値：60.0 vs. 57.0; $p = 0.046$ ）。

表1：研究参加者背景

	全患者	非サルコペニア	サルコペニア	<i>p</i> value
研究参加者 (M/F)	182 (68/114)	111 (52/59)	71 (16/55)	<0.001
年齢 (歳)	83 (76–90)	78 (73–84)	90 (84–95)	<0.001
施設入所者数 (%)	63 (35)	6 (5)	57 (80)	<0.001
既往歴 (%)				
心血管障害	8 (4)	6 (5)	2 (3)	0.407
脳血管障害	39 (21)	12 (11)	27 (38)	<0.001
認知症	71 (39)	16 (14)	55 (77)	<0.001
骨折	23 (13)	8 (7)	15 (21)	0.006
BMI (kg/m²)	22.3 (19.7–24.8)	23.7 (22.0–25.5)	19.5 (17.3–22.0)	<0.001
SMI (kg/m²)	6.5 (4.9–8.0)	7.7 (6.5–8.5)	4.6 (3.6–5.3)	<0.001
WS (m/sec)	0.87 (0–1.16)	1.1 (0.87–1.28)	0 (0–0)	<0.001
HGS (kg)	15.8 (7.4–25.6)	22.7 (16.5–31.5)	6.4 (0–11.0)	<0.001
Laboratory data				
SPD (μM)	5.93 (4.60–7.68)	5.63 (4.36–7.05)	7.02(5.18–8.69)	0.002
SPM (μM)	3.15 (2.67–3.98)	3.19 (2.62–4.07)	3.04 (2.72–3.91)	0.701
SPM/SPD	0.54 (0.43–0.70)	0.57 (0.46–0.75)	0.49 (0.39–0.60)	<0.001
Hb (g/dL)	12.9 (11.6–13.9)	13.5 (12.0–14.3)	12.0 (11.3–13.2)	<0.001
Alb (g/dL)	4.0 (3.6–4.3)	4.2 (4.0–4.4) [#]	3.5 (3.3–3.8)	<0.001
eGFR				
(mL/min/1.73m²)	58.0 (47.5–69.7)	57.0 (45.9–66.8)	60.0 (48.1–80.2)	0.046
LDL-C (mg/dL)	111 (95–129)	111 (94–128)	106 (97–131)	0.661
HDL-C (mg/dL)	60 (47–72)	61 (47–74)	57 (46–69)	0.179
TG (mg/dL)	113 (84–160)	128 (90–184)	100 (76–131)	<0.001
HbA1c (%)	5.8 (5.6–6.2)	6.0 (5.7–6.4) [#]	5.6 (5.4–5.8)	<0.001

数値は中央値（四分位範囲）で示した。各 variables において非サルコペニア群とサルコペニア群間で Mann–Whitney *U* 検定を実施し、結果を *p* value を示した。

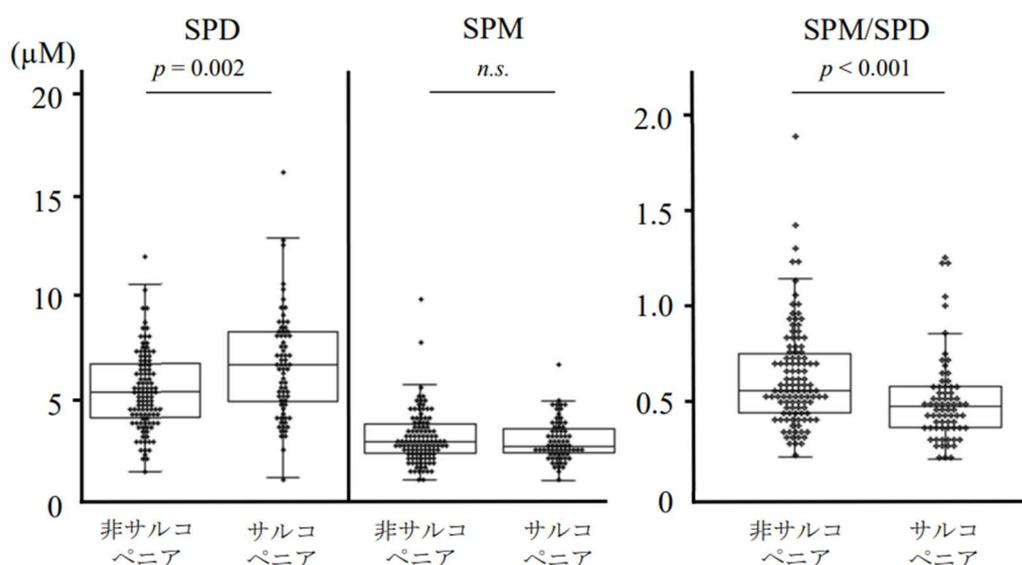
略語：CVDs、cardiovascular diseases; CeVDs、cerebrovascular diseases; BMI、body mass index; SD、standard deviation; SMI、skeletal muscle mass index; WS、walking speed; HGS、hand grip strength; SPD、spermidine; SPM、spermine; Hb、hemoglobin; Alb、albumin; eGFR、estimated glomerular filtration rate; LDL-C、low-density lipoprotein cholesterol; HDL-C、high-density lipoprotein cholesterol; TG、Triglyceride.

n=110：測定値欠損のため数値が異なっている。

血中ポリアミン値の測定結果

サルコペニア群と非サルコペニア群で SPD、SPM 濃度および SPM/SPD 比を比較した (図 3)。SPD 濃度はサルコペニア群で非サルコペニア群より有意に高く (中央値 : 7.02 vs. 5.63; $p = 0.002$)、SPM/SPD 比はサルコペニア群で非サルコペニア群より有意に低かった (中央値 : 0.49 vs. 0.57; $p < 0.001$)。しかし、SPM 濃度はサルコペニア群と非サルコペニア群の間で有意な差は認められなかった (中央値 : 3.04 vs. 3.19; $p = 0.701$)。

図 3 : サルコペニア有無による血中ポリアミン濃度の比較



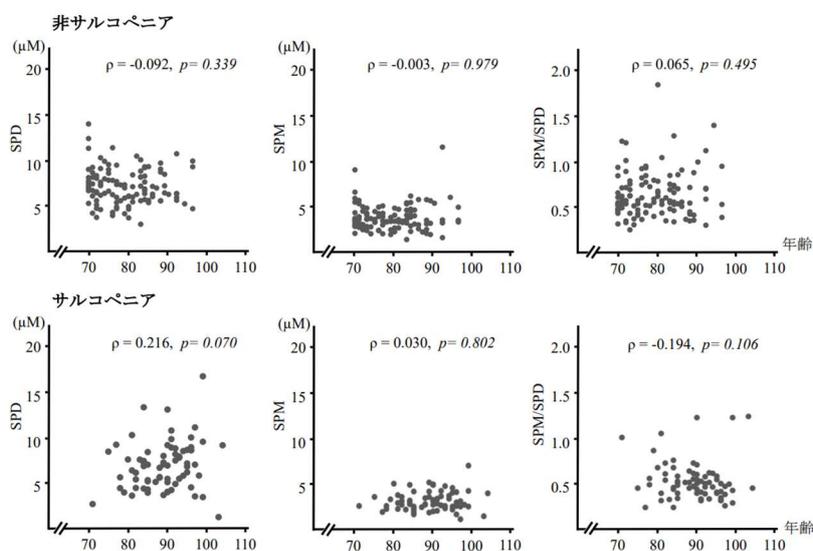
非サルコペニア群とサルコペニア群における全血 SPD 濃度、SPM 濃度、SPM/SPD 比の箱ひげ図と散布図。各ボックスについて、内側の線は中央値を示し、ボックスの端は第 1 および第 3 四分位を推定したものである。ひげは、異常値とみなされない点まで伸びている。黒い点は、各参加者の値を示している。全血ポリアミン濃度は高速液体クロマトグラフィーで測定した。

略語 : SPD、スペルミジン ; SPM、スペルミン

図 4 は、サルコペニア群と非サルコペニア群における年齢と SPD、SPM 濃度および

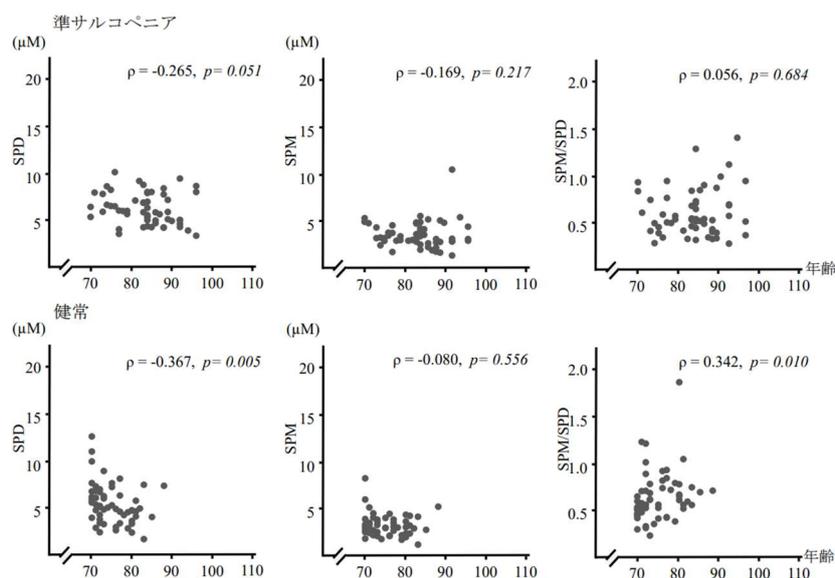
SPM/SPD 比の相関を示したものである。年齢と SPD 濃度は非サルコペニア群とサルコペニア群の両者で関係はなかった ($\rho = -0.092$; $p = 0.339$ vs. $\rho = 0.216$; $p = 0.070$)。SPM 濃度も両群で年齢との関係を示さなかった ($\rho = -0.003$; $p = 0.979$ vs. $\rho = 0.030$; $p = 0.802$)。同様に年齢と SPM/SPD 比も差はなかった ($\rho = 0.065$; $p = 0.495$ vs. $\rho = -0.194$; $p = 0.106$)。図 5 は、準サルコペニア群と健常群における年齢と SPD、SPM 濃度および SPM/SPD 比の相関を示したものである。健常群では年齢とともに SPD 濃度が有意に低下し ($\rho = -0.367$; $p = 0.005$)、準サルコペニア群では関係はなかった ($\rho = -0.265$; $p = 0.051$)。SPM 濃度は準サルコペニア群、健常群のいずれでも年齢との関係を示さなかった ($\rho = -0.169$; $p = 0.217$ vs. $\rho = -0.080$; $p = 0.556$)。SPM/SPD 比は、準サルコペニア群では年齢と相関はしなかったが ($\rho = 0.056$; $p = 0.684$)、健常群では SPM/SPD 比と年齢は有意な正の相関を示した ($\rho = 0.342$; $p = 0.010$)。

図 4：血中ポリアミン濃度、SPM/SPD 比と年齢の相関（非サルコペニア群とサルコペニア群の比較）



非サルコペニア群（上図）とサルコペニア群（下図）における SPD、SPM 濃度および SPM/SPD 比の加齢に伴う変化を示す。両群で年齢と、SPD、SPM 濃度、SPM/SPD 比に差はなかった。Spearman の順位相関係数 (ρ) を併記した。
略語：SPD、スベルミジン；SPM、スベルミン

図 5：血中ポリアミン濃度、SPM/SPD 比と年齢の相関（準サルコペニア群と健常群の比較）



準サルコペニア群（上図）と健常群（下図）の SPD、SPM 濃度および SPM/SPD 比の加齢に伴う変化を示す。健常群では、年齢と SPD 濃度間に負の相関が、年齢と SPM/SPD 比間に正の相関が、有意差をもって認められた。Spearman の順位相関係数 (ρ) を併記した。Spearman の順位相関係数 (ρ) を併記した。
略語：SPD、スベルミジン；SPM、スベルミン

サルコペニアの関連要因の検討

SMI、HGS、WS はサルコペニアの診断基準であり、老人ホーム入居はサルコペニアの結果を反映したものと考えられるため、これらの項目を解析から除外した上で、非サルコペニア群を基準とした多変量ロジスティック回帰分析を行った。

表 2 に、SPD と SPM を含む各変数のサルコペニアとの関連性を OR で示す。SPD と SPM はそれぞれ adjusted OR=1.481 (95%CI : 1.073–2.044)、adjusted OR=0.502 (95% CI : 0.299–0.842) とサルコペニアと関連していた。サルコペニアと正に関連するその他の

因子は、年齢 (adjusted OR = 1.115 [95% CI: 1.020–1.217])、認知症罹患 (adjusted OR = 5.427 [95% CI: 1.089–27.044])、eGFR (adjusted OR = 1.050 [95% CI: 1.011–1.089]) であった。サルコペニアと負に関連する因子は、BMI (adjusted OR = 0.730 [95% CI: 0.573–0.930])、Alb (adjusted OR = 0.115 [95% CI: 0.019–0.704])、HbA1c (adjusted OR = 0.241 [95% CI: 0.078–0.744]) であった。

表 3 に SPM/SPD 比を含む各変数のサルコペニアに関連する adjusted ORs を示す。SPM/SPD 比は OR=0.033 (95%CI:0.002–0.557) でサルコペニアと関連していた。サルコペニアと正に関連するその他の因子は、年齢 (adjusted OR = 1.114 [95% CI: 1.024-1.211])、eGFR (adjusted OR = 1.048 [95% CI: 1.011-1.086]) であった。サルコペニアと負に関連する因子は、BMI (adjusted OR = 0.720 [95% CI: 0.566-0.917])、Alb (adjusted OR = 0.120[95% CI: 0.020-0.710])、HbA1c (adjusted OR = 0.240 [95% CI: 0.083-0.697]) であった。

表 2 : SPD・SPM とサルコペニアと関連：多変量ロジスティック回帰分析

Variables	crude OR	adjusted OR	95%CI	p value
性別 (M:1/F:0)	0.330	1.677	0.455–6.181	0.437
年齢	1.201	1.115	1.020–1.217	0.016
心血管障害歴	0.507	0.631	0.028–14.13	0.772
脳血管障害歴	5.062	0.910	0.188–4.415	0.907
認知症罹患	20.41	5.427	1.089–27.04	0.039
骨折歴	3.449	0.321	0.054–1.900	0.210
BMI	0.613	0.730	0.573–0.930	0.011
SPD	1.273	1.481	1.073–2.044	0.017
SPM	0.922	0.502	0.299–0.842	0.009
Hb	0.641	0.842	0.598–1.185	0.323
Alb	0.023	0.115	0.019–0.704	0.019
eGFR	1.020	1.050	1.011–1.089	0.010
LDL-C	1.007	0.984	0.959–1.010	0.219
HDL-C	0.987	0.994	0.953–1.036	0.768
TG	0.993	0.998	0.989–1.007	0.690
HbA1c	0.190	0.241	0.078–0.744	0.013

従属変数にサルコペニアの有無、独立変数に各説明変数を用い多変量ロジスティック回帰分析を行った。解析の基準には非サルコペニア群を用い、各説明変数の ORs (95%信頼区間) を示した。adjusted ORs の算出には表 2 に記載した説明変数をすべて用いた。各値の単位は本文中、および表 1 に記載した。非サルコペニア、サルコペニアの診断基準は本文に記載した。

略語：BMI、body mass index; SPD、spermidine; SPM、spermine; Hb、hemoglobin; Alb、albumin; eGFR、estimated glomerular filtration rate; LDL-C、low-density lipoprotein cholesterol; HDL-C、high-density lipoprotein cholesterol; TG、triglyceride; OR、odds ratio; 95% CI、95% confidence interval.

表 3 : SPD/SPM 比とサルコペニアの関連 : 多変量ロジスティック回帰分析

Variables	crude OR	adjusted OR	95% CI	p value
性別 (M:1/F:0)	0.330	1.759	0.487–6.355	0.389
年齢	1.201	1.114	1.024–1.211	0.012
心血管障害歴	0.507	0.615	0.030–12.81	0.754
脳血管障害歴	5.062	1.059	0.230–4.870	0.941
認知症罹患	20.41	4.213	0.998–17.79	0.050
骨折歴	3.449	0.356	0.064–1.969	0.237
BMI	0.613	0.720	0.566–0.917	0.008
SPM/SPD	0.112	0.033	0.002–0.557	0.018
Hb	0.641	0.829	0.574–1.198	0.318
Alb	0.023	0.120	0.020–0.710	0.019
eGFR	1.020	1.048	1.011–1.086	0.011
LDL-C	1.007	0.985	0.961–1.009	0.221
HDL-C	0.987	0.996	0.956–1.037	0.830
TG	0.993	0.998	0.990–1.007	0.693
HbA1c	0.190	0.240	0.083–0.697	0.009

従属変数にサルコペニアの有無、独立変数に各説明変数を用い多変量ロジスティック回帰分析を行った。解析の基準には非サルコペニア群を用い、各説明変数の ORs (95%信頼区間) を示した。adjusted ORs の算出には表 3 に記載した説明変数をすべて用いた。各値の単位は本文中、および表 1 に記載した。非サルコペニア、サルコペニアの診断基準は本文に記載した。

略語 : BMI、body mass index; SPD、spermidine; SPM、spermine; Hb、hemoglobin; Alb、albumin; eGFR、estimated glomerular filtration rate; LDL-C、low-density lipoprotein cholesterol; HDL-C、high-density lipoprotein cholesterol; TG、triglyceride; OR、odds ratio; 95% CI、95% confidence interval.

サルコペニア進行に関連する因子の検討

健常群、準サルコペニア群、サルコペニア群のデータを表 4 に示す。健常群に比べ、準サルコペニア群 (女性の割合 : 73 vs. 34 ; $p < 0.05$) とサルコペニア群 (女性の割合 : 77 vs. 34 ; $p < 0.05$) とでは、女性の割合が有意に高かった。年齢は、健常群に比べ、準サルコペニア

群（中央値：73 vs. 84； $p < 0.001$ ）、サルコペニア群（中央値：73 vs. 90； $p < 0.001$ ）の順に高齢であった。準サルコペニア群に比べても、サルコペニア群は高齢であった（中央値：84 vs. 90； $p < 0.001$ ）。施設入所者は、健常群に比べ、準サルコペニア群（施設入居者割合：0 vs. 11； $p < 0.05$ ）とサルコペニア群（施設入居者割合：0 vs. 80； $p < 0.05$ ）とで増加していた。準サルコペニア群に比べても、サルコペニア群では施設入居者が多かった（施設入居者割合 11 vs. 80； $p < 0.05$ ）。脳血管障害既往者は、健常群に比べ、準サルコペニア群（既往率：4 vs. 18； $p < 0.05$ ）とサルコペニア群（施設入居者割合：4 vs. 38； $p < 0.05$ ）とで増加していた。準サルコペニア群と比べても、サルコペニア群は脳血管障害既往率が高かった（既往率：18 vs. 38； $p < 0.05$ ）。認知症既往率は、健常群に比べ、準サルコペニア群（既往率：2 vs. 27； $p < 0.05$ ）とサルコペニア群（既往率：2 vs. 77； $p < 0.05$ ）とで増加していた。骨折既往率は、健常群に比べ、サルコペニア群（既往率：4 vs. 21； $p < 0.05$ ）で増加していた。準サルコペニア群に比べても、サルコペニア群は認知症既往率が高かった（既往率：27 vs. 77； $p < 0.05$ ）。BMI は、健常群とサルコペニア群（中央値：23.7 vs. 19.5； $p < 0.001$ ）および準サルコペニア群とサルコペニア群とで（中央値：23.9 vs. 19.5； $p < 0.001$ ）比較すると、有意にサルコペニア群で低値だった。SMI は、健常群に比べ、準サルコペニア群（中央値：8.3 vs. 6.9； $p < 0.001$ ）とサルコペニア群（中央値：8.3 vs. 4.6； $p < 0.001$ ）とで低値であった。準サルコペニア群に比べても、サルコペニア群では SMI は低値だった（中央値：6.9 vs. 4.6； $p < 0.001$ ）。HGS は、健常群に比べ、準サルコペニア群（中央値：30.0 vs. 16.7； $p < 0.001$ ）とサルコペニア群（中央値：30.0 vs. 4.6； $p < 0.001$ ）とで低値であった。準サ

ルコペニア群に比べても、サルコペニア群では HGS は低値だった (中央値 : 16.7 vs. 6.4 ; $p < 0.001$)。WS は、健常群に比べ、準サルコペニア群 (中央値 : 1.25 vs. 0.87 ; $p < 0.001$) とサルコペニア群 (中央値 : 1.25 vs. 0 ; $p < 0.001$) とで低値であった。準サルコペニア群に比べても、サルコペニア群では WS は低値だった (中央値 : 0.87 vs. 0 ; $p < 0.001$)。SPD は、健常群に比べ、サルコペニア群で有意に高かったが (中央値 : 5.07 vs. 7.02 ; $p < 0.001$)、健常群と準サルコペニア群 (中央値 : 5.07 vs. 5.95 ; $p = 0.087$)、準サルコペニア群とサルコペニア群 (中央値 : 5.95 vs. 7.02 ; $p = 0.087$) の間に有意差はなかった。SPM/SPD 比は、健常群に比べサルコペニア群で有意に低かったが (中央値 : 0.60 vs. 0.49 ; $p = 0.010$)、健常群と準サルコペニア群 (中央値 : 0.60 vs. 0.55 ; $p = 0.722$)、準サルコペニア群とサルコペニア群 (中央値 : 0.55 vs. 0.49 ; $p = 0.079$) の間に有意差はなかった。Hb は、健常群に比べ、準サルコペニア群 (中央値 : 13.9 vs. 12.7 ; $p = 0.008$) とサルコペニア群 (中央値 : 13.9 vs. 12.0 ; $p < 0.001$) で低値であった。Alb は、健常群に比べ、準サルコペニア群 (中央値 : 4.2 vs. 4.1 ; $p = 0.010$) とサルコペニア群 (中央値 : 4.2 vs. 3.5 ; $p < 0.001$) で低値であった。準サルコペニア群に比べても、サルコペニア群では Alb は低値だった (中央値 : 4.1 vs. 3.5 ; $p < 0.001$)。eGFR は、健常群に比べ準サルコペニア群で低下していたが (中央値 : 60.5 vs. 54.4 ; $p = 0.023$)、準サルコペニア群に比べサルコペニア群では上昇していた (中央値 : 54.4 vs. 60.0 ; $p = 0.003$)。TG は、健常群 (中央値 : 128 vs. 100 ; $p = 0.046$) および準サルコペニア群に比べ (中央値 : 128 vs. 100 ; $p = 0.035$)、サルコペニア群で低値だった。HbA1c は、健常群 (中央値 : 6.1 vs. 5.6 ; $p < 0.001$) および準サルコペニア群に比べ (中央値 : 6.0 vs.

5.6 ; $p = 0.002$)、サルコペニア群で低値だった。

表 4 : 健常群、準サルコペニア群、サルコペニア群の背景

	健常	準サルコペニア	サルコペニア
研究参加者 (M/F)	56 (37/19)	55 (15/40) [†]	71 (16/55) [†]
年齢 (歳)	73 (71–79)	84 (77–88) [†]	90 (84–95) ^{†‡}
施設入所者数 (%)	0 (0)	6 (11) [†]	57 (80) ^{†‡}
既往歴 (%)			
心血管障害	2 (4)	4 (7)	2 (3)
脳血管障害	2 (4)	10 (18) [†]	27 (38) ^{†‡}
認知症	1 (2)	15 (27) [†]	55 (77) ^{†‡}
骨折	2 (4)	6 (11)	15 (21) [†]
BMI (kg/m ²)	23.7 (22.2–26.0)	23.9 (21.4–25.5)	19.5 (17.3–22.0) ^{†‡}
SMI (kg/m ²)	8.3 (7.6–8.9)	6.9 (6.2–8.0) [†]	4.6 (3.6–5.3) ^{†‡}
WS (m/sec)	1.25(1.14–1.35)	0.87(0.69–0.98) [†]	0 (0–0) ^{†‡}
HGS (kg)	30.0 (23.2–34.2)	16.7(12.1–20.3) [†]	6.4 (0–11.0) ^{†‡}
Laboratory findings			
SPD (μM)	5.07 (3.96–6.74)	5.95 (4.97–7.74)	7.02 (5.18–8.69) [†]
SPM (μM)	3.05 (2.43–3.85)	3.29 (2.92–4.49)	3.04 (2.72–3.91)
SPM/SPD	0.60 (0.49–0.75)	0.55 (0.43–0.75)	0.49 (0.39–0.60) [†]
Hb (g/dL)	13.9 (13.0–14.6)	12.7 (11.5–13.8) [†]	12.0 (11.3–13.2) [†]
Alb (g/dL)	4.2 (4.1–4.4) ^a	4.1 (3.8–4.4) [†]	3.5 (3.3–3.8) ^{†‡}
eGFR (mL/min/1.73m ²)	60.5 (49.7–70.9)	54.4 (42.4–60.2) [†]	60.0 (48.1–80.2) [‡]
LDL-C (mg/dL)	111 (94–129)	111 (94–128)	106 (97–131)
HDL-C (mg/dL)	63 (50–76)	60 (46–74)	57 (46–69)
TG (mg/dL)	128 (85–193)	128 (93–179)	100 (76–131) ^{†‡}
HbA1c (%)	6.1 (5.7–6.6)	6.0 (5.6–6.3) ^b	5.6 (5.4–5.8) ^{†‡}

数値は中央値（四分位範囲）で示した。比率の多重比較には z 検定を用い、有意性の判定には Bonferroni 法を用いた。変数の多重比較には、Kruskal–Wallis 検定を用いた。分散の均質性を評価するために Levene の検定を用い、分散の等しい変数については Tukey 法を、分散の等しくない変数については Games–Howell 法を用いて群間差の判定を行った。

非サルコペニア、準サルコペニア、サルコペニアの診断基準は本文に記載した。

略語： BMI、body mass index; SD、standard deviation; SMI、skeletal muscle mass index; WS、walking speed; HGS、hand grip strength; SPD、spermidine; SPM、spermine; Hb、hemoglobin; Alb、albumin; eGFR、estimated glomerular filtration

rate; LDL-C、low-density lipoprotein cholesterol; HDL-C、high-density lipoprotein cholesterol; TG、triglyceride.

a n=55 と b n=54 : 測定値欠損のため数値が異なっている。

† 健常群と比較して有意差あり ($p < 0.05$)

‡ 準サルコペニア群と比較して有意差あり ($p < 0.05$)

SMI、HGS、WS はサルコペニアの診断基準であり、老人ホーム入居はサルコペニアの結果を反映したものと考えられるため、これらの項目を解析から除外した上で、非サルコペニア群を基準とした多変量ロジスティック回帰分析を行った。

表 5 に、血中 SPD と SPM 濃度を含む各変数について、健常群を基準とした準サルコペニアに関連する ORs を示した。表 6 には血中 SPD と SPM 濃度を含む各変数について、健常群を基準としたサルコペニアに関連する ORs を示した。全血 SPD 濃度の上昇は、準サルコペニア (OR = 1.625 [95% CI: 1.110–2.379]) およびサルコペニア (OR = 2.218 [95% CI: 1.393–3.533]) と正の関連があった。準サルコペニアとは、性別 (adjusted OR = 0.090 [95% CI: 0.021–0.378])、年齢 (adjusted OR = 1.329 [95% CI: 1.159–1.524]) と脳血管障害歴 (adjusted OR = 18.94 [95% CI: 1.813–197.9]) も関連していた。サルコペニアとは、年齢 (adjusted OR = 0.259 [95% CI: 1.203–1.636])、Alb (adjusted OR = 0.040 [95% CI: 0.003–0.617])、eGFR (adjusted OR = 1.066 [95% CI: 1.006–1.129])、LDL-C (adjusted OR = 0.964 [95% CI: 0.930–0.999])、HbA1c (adjusted OR = 0.087 [95% CI: 0.019–0.389]) もそれぞれ関連していた。しかし、準サルコペニアとサルコペニアの両方に関連する有意な変数は、年齢と SPD のみであった。いずれの変数も、準サルコペニア群に比べ、サルコペニア群でオッズ比が上昇していた。

表 5 : SPD・SPM と準サルコペニアの関連：多変量ロジスティック回帰分析

Variables	準サルコペニア (n=54) ^a			
	crude OR	adjusted OR	95% CI	p value
性別 (M:1/F:0)	0.193	0.090	0.021–0.378	0.001
年齢	1.252	1.329	1.159–1.524	<0.001
心血管障害歴	2.118	6.635	0.274–160.6	0.245
脳血管障害歴	6.000	18.94	1.813–197.9	0.014
認知症罹患	20.63	3.092	0.224–42.66	0.399
骨折歴	3.306	0.696	0.039–12.29	0.805
BMI	0.973	1.068	0.795–1.435	0.662
SPD	1.214	1.625	1.110–2.379	0.013
SPM	1.347	1.024	0.528–1.986	0.944
Hb	0.673	1.033	0.732–1.456	0.854
Alb	0.184	0.411	0.042–4.068	0.447
eGFR	0.978	1.004	0.959–1.052	0.852
LDL-C	1.001	0.981	0.954–1.008	0.171
HDL-C	0.983	1.006	0.963–1.051	0.794
TG	1.001	1.008	1.000–1.016	0.065
HbA1c	0.592	0.389	0.137–1.110	0.078

従属変数に準サルコペニアの有無、独立変数に各説明変数を用い多変量ロジスティック回帰分析を行った。解析の基準には健常群を用い、各説明変数の ORs (95%信頼区間) を示した。adjusted ORs の算出には表 5 に記載した説明変数をすべて用いた。各値の単位は本文および表 1 に記載した。準サルコペニア、健常の診断基準は本文に記載した。

略語：BMI、body mass index; SPD、spermidine; SPM、spermine; Hb、hemoglobin; Alb、albumin; eGFR、estimated glomerular filtration rate; LDL-C、low-density lipoprotein cholesterol; HDL-C、high-density lipoprotein cholesterol; TG、triglyceride; OR、odds ratio; 95% CI、95% confidence interval.

^a n=54 : HbA1c 測定欠損値のため数値が異なっている

表 6：SPD・SPM とサルコペニアの関連：多変量ロジスティック回帰分析

Variables	サルコペニア (n=71)			
	crude OR	adjusted OR	95% CI	p value
性別 (M:1/F:0)	0.783	0.259	0.044–1.533	0.136
年齢	1.416	1.403	1.203–1.636	<0.001
心血管障害歴	0.149	4.637	0.068–315.6	0.476
脳血管障害歴	16.57	12.63	0.855–186.6	0.065
認知症罹患	189.1	14.80	0.792–276.8	0.071
骨折歴	7.232	0.188	0.007–4.988	0.317
BMI	0.604	0.750	0.523–1.076	0.118
SPD	1.418	2.218	1.393–3.533	0.001
SPM	1.087	0.487	0.214–1.105	0.085
Hb	0.514	0.811	0.540–1.217	0.311
Alb	0.008	0.040	0.003–0.617	0.021
eGFR	1.010	1.066	1.006–1.129	0.030
LDL-C	1.007	0.964	0.930–0.999	0.042
HDL-C	0.990	1.003	0.948–1.060	0.930
TG	0.994	1.006	0.995–1.018	0.265
HbA1c	0.145	0.087	0.019–0.389	0.001

従属変数にサルコペニアの有無、独立変数に各説明変数を用い多変量ロジスティック回帰分析を行った。解析の基準には健常群を用い、各説明変数の ORs (95%信頼区間) を示した。adjusted ORs の算出には表 6 に記載した説明変数をすべて用いた。各値の単位は本文および表 1 に記載した。サルコペニア、健常の診断基準は本文に記載した。

略語：BMI、body mass index; SPD、spermidine; SPM、spermine; Hb、hemoglobin; Alb、albumin; eGFR、estimated glomerular filtration rate; LDL-C、low-density lipoprotein cholesterol; HDL-C、high-density lipoprotein cholesterol; TG、triglyceride; OR、odds ratio; 95% CI、95% confidence interval.

表 7 は血中 SPD/SPM 比を含む各変数について、健常群を基準とした準サルコペニアに関連する ORs を示した。表 8 には、血中 SPD/SPM 比を含む各変数について、健常群を基準としたサルコペニアに関連する ORs を示した。SPM/SPD 比は、準サルコペニア (adjusted OR = 0.057 [95%CI: 0.004–0.796]) およびサルコペニア (adjusted OR = 0.002 [95% CI: <0.001–0.091]) と、それぞれ関連していた。準サルコペニアとは、性別 (adjusted OR = 0.104

[95%CI: 0.026–0.422])、年齢 (adjusted OR = 1.281 [95%CI: 1.132–1.450])、脳血管障害歴 (adjusted OR = 26.54 [95%CI: 2.065–341.1])、TG (adjusted OR = 1.010 [95%CI: 1.002–1.018]) もそれぞれ関連していた。サルコペニアとは年齢 (adjusted OR = 1.358 [95%CI: 1.178–1.565])、脳血管障害歴 (adjusted OR = 21.12 [95%CI: 1.176–379.3])、認知症罹患 (adjusted OR = 24.28 [95%CI: 1.328–443.7])、Alb (adjusted OR = 0.043 [95%CI: 0.003–0.628])、HbA1c (adjusted OR = 0.110 [95%CI: 0.026–0.459]) もそれぞれ関連していた。

表 7 : SPD/SPM 比と準サルコペニアの関連 : 多変量ロジスティック回帰分析

Variables	準サルコペニア (n=54) ^a			
	crude OR	adjusted OR	95% CI	p value
性別 (M:1/F:0)	0.193	0.104	0.026–0.422	0.002
年齢	1.252	1.281	1.132–1.450	<0.001
心血管障害歴	2.118	7.036	0.267–185.4	0.242
脳血管障害歴	6.000	26.54	2.065–341.1	0.012
認知症罹患	20.63	7.408	0.491–111.8	0.148
骨折歴	3.306	0.953	0.053–17.04	0.974
BMI	0.973	1.081	0.804–1.453	0.608
SPM/SPD	0.614	0.057	0.004–0.796	0.033
Hb	0.673	1.017	0.688–1.502	0.934
Alb	0.184	0.392	0.042–3.695	0.413
eGFR	0.978	0.999	0.957–1.043	0.958
LDL-C	1.001	0.981	0.955–1.007	0.156
HDL-C	0.983	1.006	0.965–1.050	0.769
TG	1.001	1.010	1.002–1.018	0.016
HbA1c	0.592	0.486	0.177–1.337	0.162

従属変数に準サルコペニアの有無、独立変数に各説明変数を用い多変量ロジスティック回帰分析を行った。解析の基準には健常群を用い、各説明変数の ORs (95%信頼区間) を示した。adjusted ORs の算出には表 7 に記載した説明変数をすべて用いた。各値の単位は本文および表 1 に記載した。準サルコペニア、健常の診断基準は本文に記載した。

略語：BMI、body mass index; SPD、spermidine; SPM、spermine; Hb、hemoglobin; Alb、albumin; eGFR、estimated glomerular filtration rate; LDL-C、low-density lipoprotein cholesterol; HDL-C、high-density lipoprotein cholesterol; TG、triglyceride; OR、odds ratio; 95% CI、95% confidence interval.

^a n=54：HbA1c 測定欠損値のため数値が異なっている

表 8：SPD/SPM 比とサルコペニアの関連：多変量ロジスティック回帰分析

Variables	サルコペニア (n=71)			
	crude OR	adjusted OR	95%CI	p value
性別 (M:1/F:0)	0.783	0.298	0.052–1.703	0.173
年齢	1.416	1.358	1.178–1.565	<0.001
心血管障害歴	0.149	5.703	0.085–384.3	0.418
脳血管障害歴	16.568	21.12	1.176–379.3	0.038
認知症罹患	189	24.28	1.328–443.7	0.031
骨折歴	7.232	0.29	0.012–7.302	0.452
BMI	0.604	0.753	0.522–1.085	0.128
SPM/SPD	0.088	0.002	<0.001–0.091	0.001
Hb	0.514	0.779	0.488–1.244	0.295
Alb	0.008	0.043	0.003–0.628	0.021
eGFR	1.01	1.054	0.999–1.111	0.055
LDL-C	1.007	0.967	0.934–1.000	0.051
HDL-C	0.99	1.006	0.953–1.062	0.822
TG	0.994	1.008	0.998–1.019	0.125
HbA1c	0.145	0.110	0.026–0.459	0.002

従属変数にサルコペニアの有無、独立変数に各説明変数を用い多変量ロジスティック回帰分析を行った。解析の基準には健常群を用い、各説明変数の ORs (95%信頼区間) を示した。adjusted ORs の算出には表 8 に記載した説明変数をすべて用いた。各値の単位は本文および表 1 に記載した。サルコペニア、健常の診断基準は本文に記載した。

略語：BMI、body mass index; SPD、spermidine; SPM、spermine; Hb、hemoglobin; Alb、albumin; eGFR、estimated glomerular filtration rate; LDL-C、low-density lipoprotein cholesterol; HDL-C、high-density lipoprotein cholesterol; TG、triglyceride; OR、odds ratio; 95% CI、95% confidence interval.

4. 考察

本研究では、サルコペニア患者では、サルコペニアでない患者に比べ、SPD 濃度が有意

に高く、SPM/SPD 比が有意に低いというデータが得られた。その結果、特に SPM/SPD 比がサルコペニアと関連し、また、全血中 SPD 濃度がサルコペニアの早期発見のマーカーとなり得る可能性が示された。

血中 SPD 濃度の上昇は、認知機能低下や[7、9]、いくつかの神経変性疾患で報告されており[10、11]、SPM/SPD 比の低下は、アルツハイマー病やパーキンソン病などの神経変性疾患でも報告されている[8]。本研究では、パーキンソン病の診断がなされている症例は外来患者、施設入所者のいずれにもいなかった。一方で、認知症はサルコペニア群に多く存在していた。多変量ロジスティック回帰分析で認知症罹患歴を説明変数に投入して調整を行っても、SPD と SPM/SPD 比は、サルコペニア、準サルコペニアに有意に関連しており、認知症とは独立する関連因子と考えられる。

80 歳未満のヒトの血中ポリアミン濃度の加齢変化に関するこれまでの報告では、SPM/SPD 比の有意な減少を示している[15-18]。本研究では、サルコペニア群と非サルコペニア群の両群で年齢と SPD、SPM、SPM/SPD 比は関連しなかった。しかし、健常群では加齢に伴い血中 SPD は低下し、SPM/SPD 比は有意に上昇していた。このことは、血中 SPD と SPM/SPD 比の経時的变化がサルコペニアのスクリーニングツールに用いることができる可能性があることを示している。

血中ポリアミン濃度は、全身のポリアミン濃度を反映している。SPD は哺乳類の多くの臓器や組織で SPM より高濃度で存在し、それは血中の SPM/SPD 比が低いことに反映されている。しかし、いくつかの臓器では、SPM の濃度が SPD の濃度と同程度である。脳と筋

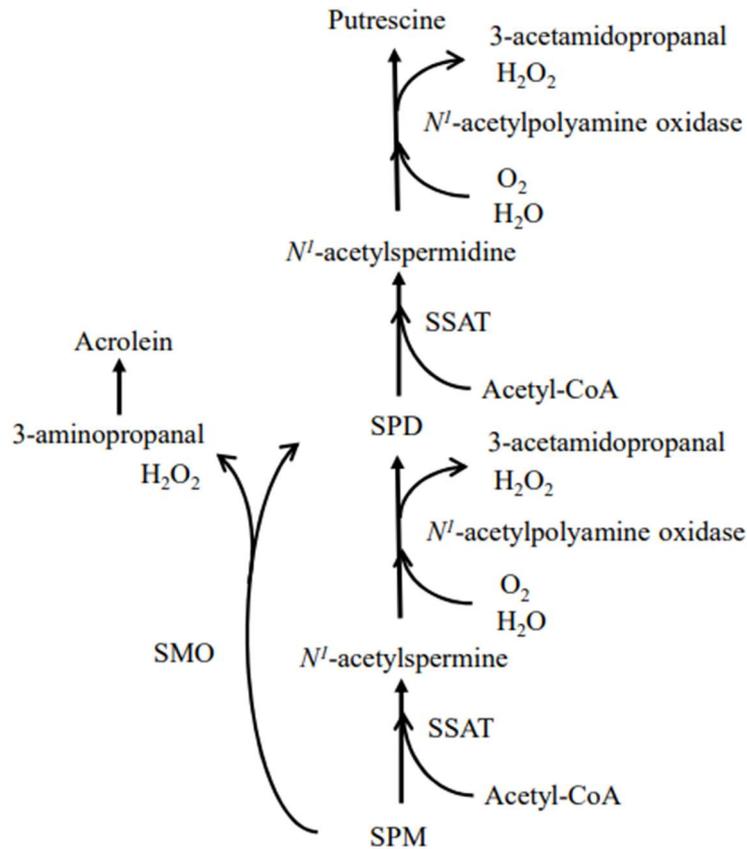
肉は、他の臓器よりも SPM/SPD 比が高い[26]。ポリアミンは血液脳関門を通過しないため [12]、脳外のポリアミンが脳内のポリアミン濃度に影響を与えることはない。しかし、脳内のポリアミン濃度の変化は、髄液を経由して血中濃度に反映されると考えられている。サルコペニアは筋肉量と脳体積の減少に関連していることが報告されているが[27]、これらの臓器で細胞破壊が起こり、細胞からポリアミンが漏出すると、血中ポリアミン濃度の上昇として反映されるはずである。脳や筋肉の細胞からポリアミンが漏れ出すと SPM/SPD 比は上昇するはずであるが、我々のデータでは健常者、準サルコペニア、サルコペニアの順に SPM/SPD 比が徐々に低くなっていくことが示された。この結果は、サルコペニア患者におけるポリアミンレベルの変化は、細胞破壊に起因するものではないことを示唆している。

老化や老化関連病態の発症・進行に関与する炎症は、スペルミジン／スペルミン-*N*¹-アセチルトランスフェラーゼ (SSAT : spermidine/spermine-*N*¹-acetyltransferase)、スペルミン酸化酵素 (SMO : spermine oxidase) などの酵素を活性化する [28、29]。SSAT はアセチルポリアミンオキシダーゼ (AcPAO : acetylpolyamine oxidase) と共に、SPM を SPD に変換し、同時に SPD を PUT に変換する。一方、SMO は主に SPM を SPD に変換するが、SPD には作用しない (図 6)。全体として、炎症が誘発されると、より多くの SPM が異化されることになる。つまり、炎症がない状態とは対照的に、炎症がある状態では、SPM がより多く異化される。これが、本研究のサルコペニア群における SPD の増加と SPM/SPD 比の減少の機序である可能性がある。また、慢性炎症と神経変性疾患などの加齢に伴う衰弱との間には密接な関係があることを示す報告もある [30-33]。サルコペニアの進行による SPD 濃度

の上昇と SPM/SPD 比の低下は、疾患背景に存在する慢性炎症の影響を反映していると考えられる。

AcPAO は SSAT で変換されたアセチル化ポリアミンを酸化し、副産物として H_2O_2 と 3-アセトアミドプロパナール (3-AAP : 3-acetoamidopropanal) を生成する。SMO は SPM を直接 SPD に変換し、 H_2O_2 とアルデヒドである 3-アミノプロパナール (3-AP : 3-aminopropanal) を生成する。生成した 3-AP は自発的に脱アミノ化され、毒性の高いアルデヒドであるアクロレインを生成するが[34]、3-AAP からは少量のアクロレインしか生成されない[35]。アクロレインと 3-AP は細胞毒性が高いが、3-AAP は細胞毒性がないことが報告されている[36]。炎症による SMO による SPM の異化を示唆する知見として、腎不全[37]、脳血管障害[38]、その他老化に伴う病態でアクロレイン濃度が上昇し、健康に悪影響を与えることが報告されている[39]。炎症による酸化ストレスに加え、SMO が産生する 3-AP やアクロレインの細胞毒性は、サルコペニアや他の多くの老化関連疾患の進行に重要な役割を果たす可能性があると考えられる。

図 6: 炎症によるポリアミン異化のための酵素の活性化と副産物の生成の代謝経路



炎症を誘発する物質は、SSAT と SMO を活性化する。SMO はスペルミジンには作用せず、スペルミンを分解してアクロレインのような強い細胞毒性を持つ物質を生成する。

略語：SMO、spermine oxidase; Acetyl-CoA, acetyl coenzyme A; SSAT、spermidine/spermine-*N*¹-acetyltransferase; SPD、spermidine; SPM、spermine

今回の検討で血清や血漿ではなく、全血のポリアミン濃度を測定したのにはいくつかの理由がある。第一に、血清や血漿中のポリアミン、特に SPM 濃度を正確に検出することは非常に困難であることである。これは、血中のポリアミンのほとんどが血球内に存在するためである[40]。特に SPM 濃度が低い場合、HPLC では SPM のピークとベースラインの変動として発生するノイズを区別できないため、濃度、特に SPM の濃度を正確に測定することが非常に困難である[41]。我々の予備的な検討では、コントロールによる SPD と SPM の

検出限界はそれぞれ 0.5 nM と 5 nM であった。しかし、実際の血清を用いた測定では、血清 SPD のピークは 5nM の濃度まで識別可能であったが、血清 SPM のピークは識別が困難であった。第二に、溶血が血清や血漿中のポリアミン濃度に影響を与えないようにすることである。血液サンプルにわずかな溶血が起こると、細胞内に存在するポリアミンが漏れ出し、ポリアミン濃度に大きな影響を与える。全血ポリアミン濃度の測定には特殊な技術が必要だが、その濃度を正確に検出するために、標準化された手順 [25]で測定した。

ポリアミン濃度の個人差が大きいため[12]、1回の測定でサルコペニアの進行を把握できるカットオフ値を特定することは難しいと考えられる。しかし、SPM/SPD比は1回のHPLC測定で相対値として測定することが可能である。そのため、測定方法の違いによりポリアミン濃度の絶対値にばらつきがあっても、個人比較や経時的なデータとして信頼性がある。その結果、SPM/SPD比の時間依存的変化を追うことで、サルコペニアの進行を判断することができると思う。

この研究には3つの限界がある。第1に、参加者はすべて単一の施設の患者である。したがって、この知見を他の地域や他の人種集団に一般化することはできない。第2に、この横断的研究は、ポリアミンの変化とサルコペニアとの因果関係を証明することはできない。第3に、本研究のサルコペニア群には施設入所者が多数含まれる一方で、非サルコペニア患者には施設入所者が少なかった。施設入所の有無は多くの交絡を生じるため、血中ポリアミン値の差がサルコペニアの有無以外の要因を反映した結果である可能性には留意する必要がある。例えば、施設患者においては、身体の拘縮が進行しておりパーキンソニズムの有無の

評価が極めて困難であったため、未診断のパーキンソン病が交絡となる可能性がある。

本研究では、健常な個人において、経時的に SPM/SPD 比が上昇することは確認できていない。サルコペニアの程度と SPM/SPD 比を経時的に確認することで、サルコペニアの有益なマーカーとなりうるかを確認することができる。またサルコペニアの治療として推奨されている運動療法や栄養療法を実施した際に[1]、SPM/SPD 比が低下することを確認できれば、治療のモニタリングにも用いることができると考える。

サルコペニア患者では、サルコペニアでない患者に比べて、SPD 濃度が有意に高く、SPM/SPD 比が有意に低いことが示された。ポリアミン濃度の個人差が大きいため、サルコペニアの進行を把握するカットオフ値を特定することは困難である。しかし、血中 SPM/SPD 比の時間変化を観察することで、サルコペニア発症の進行を判断することができる。また、早期の評価により、サルコペニア予防の対策を講じることができ、健康寿命延長に寄与できる。

5. 結論

サルコペニア患者では、サルコペニアでない患者に比べて、SPD 濃度が有意に高く、SPM/SPD 比が有意に低い。血中 SPM/SPD 比の経時的变化を観察することで、サルコペニアの進行を判断すること、また、早期のサルコペニア予防の対策を講じることが可能となり、健康寿命延長を延長することを期待できる。

6. 謝辞

本研究を遂行するにあたり、全般にわたってご指導いただきました、自治医科大学客員教授の早田邦康先生に深く感謝いたします。さらに研究指導に助言・指導を賜りました、自治医科大学附属さいたま医療センター総合診療科教授菅原斉先生、同腎臓内科教授大河原晋先生、同腎臓内科講師伊藤聖学先生、同脳神経内科講師崎山快夫先生、南魚沼市民病院透析センター長田部井薫先生に感謝いたします。また、ポリアミン測定のご指導を賜りました城西大学薬学部薬学科准教授植村武史先生、千葉大学名誉教授五十嵐一衛先生に感謝申し上げます。

研究実施にあたり御協力いただきました南魚沼市民病院外来と検査科のコメディカルスタッフ、特別養護老人ホームみなみ園とまいこ園の職員の皆様に厚く御礼を申し上げます。

7. 参考文献

1. Chen LK, Woo J, Assantachai P, Auyeung TW, Chou MY, Iijima K, Jang HC, Kang L, Kim M, Kim S, Kojima T, Kuzuya M, Lee JSW, Lee SY, Lee WJ, Lee Y, Liang CK, Lim JY, Lim WS, Peng LN, Sugimoto K, Tanaka T, Won CW, Yamada M, Zhang T, Akishita M, Arai H. Asian Working Group for Sarcopenia: 2019 Consensus Update on Sarcopenia Diagnosis and Treatment. *J Am Med Dir Assoc.* 21:300–7.e2, 2020.
2. Topinková E. Aging, disability and frailty. *Ann Nutr Metab.* 52: Suppl 1:6–11, 2008.
3. Rolland Y, Czerwinski S, Abellan Van Kan G, Morley JE, Cesari M, Onder G, Woo J,

- Baumgartner R, Pillard F, Boirie Y, Chumlea WM, Vellas B. Sarcopenia: its assessment, etiology, pathogenesis, consequences and future perspectives. *J Nutr Health Aging*. 12:433–50, 2008.
4. Hartman MJ, Fields DA, Byrne NM, Hunter GR. Resistance training improves metabolic economy during functional tasks in older adults. *J Strength Cond Res*. 21:91–5, 2007.
 5. Cawthon PM, Marshall LM, Michael Y, Dam TT, Ensrud KE, Barrett-Connor E, Orwoll ES; Osteoporotic Fractures in Men Research Group. Frailty in older men: prevalence, progression, and relationship with mortality. *J Am Geriatr Soc*. 55:1216–23, 2007.
 6. Fallah N, Mitnitski A, Searle SD, Gahbauer EA, Gill TM, Rockwood K. Transitions in frailty status in older adults in relation to mobility: a multistate modeling approach employing a deficit count. *J Am Geriatr Soc*. 59:524–9, 2011.
 7. Sternberg Z, Podolsky R, Nir A, Yu J, Nir R, Halvorsen SW, Quinn JF, Kaye J, Kolb C. Elevated spermidine serum levels in mild cognitive impairment, a potential biomarker of progression to Alzheimer dementia, a pilot study. *J Clin Neurosci*. 100:169–74, 2022.
 8. Saiki S, Sasazawa Y, Fujimaki M, Kamagata K, Kaga N, Taka H, Li Y, Souma S, Hatano T, Imamichi Y, Furuya N, Mori A, Oji Y, Ueno SI, Nojiri S, Miura Y, Ueno T, Funayama M, Aoki S, Hattori N. A metabolic profile of polyamines in parkinson disease: A promising biomarker. *Ann Neurol*. 86:251–63, 2019.
 9. Graham SF, Chevallier OP, Elliott CT, Hölscher C, Johnston J, McGuinness B, Kehoe PG,

- Passmore AP, Green BD. Untargeted metabolomic analysis of human plasma indicates differentially affected polyamine and L-arginine metabolism in mild cognitive impairment subjects converting to Alzheimer's disease. *PLoS One*. 10:e0119452,2015.
10. Inoue K, Tsutsui H, Akatsu H, Hashizume Y, Matsukawa N, Yamamoto T, Toyooka T. Metabolic profiling of Alzheimer's disease brains. *Sci Rep*. 3:2364,2013.
 11. Gomes-Trolin C, Nygren I, Aquilonius SM, Askmark H. Increased red blood cell polyamines in ALS and Parkinson's disease. *Exp Neurol*. 177:515–20,2002.
 12. Soda K. Overview of Polyamines as Nutrients for Human Healthy Long Life and Effect of Increased Polyamine Intake on DNA Methylation. *Cells*. 11:164,2022.
 13. Madeo F, Bauer MA, Carmona-Gutierrez D, Kroemer G. Spermidine: a physiological autophagy inducer acting as an anti-aging vitamin in humans? *Autophagy*.15:165–8, 2019.
 14. Jaenne J, Raina A, Siimes M. Spermidine and spermine in rat tissue at different ages. *Acta Physiol Scand*. 62:352–8,1964.
 15. Soda K, Uemura T, Sanayama H, Igarashi K, Fukui T. Polyamine-Rich Diet Elevates Blood Spermine Levels and Inhibits Pro-Inflammatory Status: An Interventional Study. *Med Sci (Basel)*. 9(2):22,2021.
 16. Soda K, Kano Y, Nakamura T, Kasono K, Kawakami M, Konishi F. Spermine, a natural polyamine, suppresses LFA-1 expression on human lymphocyte. *J Immunol*. 175:237–45,

2005.

17. Elworthy P, Hitchcock E. Polyamine levels in red blood cells from patient groups of different sex and age. *Biochim Biophys Acta*. 993:212-6,1989.
18. Chaisiri P, Harper ME, Blamey RW, Peeling WB, Griffiths K. Plasma spermidine concentrations in patients with tumours of the breast or prostate or testis. *Clin Chim Acta*. 104:367-75,1980.
19. Soda K, Kano Y, Sakuragi M, Takao K, Lefor A, Konishi F. Long-term oral polyamine intake increases blood polyamine concentrations. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 55:361-6,2009.
20. Soda K, Dobashi Y, Kano Y, Tsujinaka S, Konishi F. Polyamine-rich food decreases age-associated pathology and mortality in aged mice. *Exp Gerontol*. 44:727-32,2009.
21. Soda K, Kano Y, Chiba F, Koizumi K, Miyaki Y. Increased polyamine intake inhibits age-associated alteration in global DNA methylation and 1,2-dimethylhydrazine-induced tumorigenesis. *PLoS One*. 8:e64357,2013.
22. Kano Y, Soda K, Konishi F. Suppression of LFA-1 expression by spermine is associated with enhanced methylation of ITGAL, the LFA-1 promoter area. *PLoS One*. 8:e56056, 2013.
23. Madeo F, Eisenberg T, Pietrocola F, Kroemer G. Spermidine in health and disease. *Science*. 359:eaan2788,2018.

24. Holbert CE, Dunworth M, Foley JR, Dunston TT, Stewart TM, Casero RA, Jr. Autophagy induction by exogenous polyamines is an artifact of bovine serum amine oxidase activity in culture serum. *J Biol Chem.* 295:9061–8,2020.
25. Igarashi K, Kashiwagi K, Hamasaki H, Miura A, Kakegawa T, Hirose S, Matsuzaki S. Formation of a compensatory polyamine by *Escherichia coli* polyamine-requiring mutants during growth in the absence of polyamines. *J Bacteriol.* 166:128–34,1986.
26. Nishimura K, Shiina R, Kashiwagi K, Igarashi K. Decrease in polyamines with aging and their ingestion from food and drink. *J Biochem.* 139:81–90,2006.
27. Yu JH, Kim REY, Jung JM, Park SY, Lee DY, Cho HJ, Kim NH, Yoo HJ, Seo JA, Kim SG, Choi KM, Baik SH, Shin C, Kim NH. Sarcopenia is associated with decreased gray matter volume in the parietal lobe: a longitudinal cohort study. *BMC Geriatr.* 21:622,2021.
28. Devereux W, Wang Y, Stewart TM, Hacker A, Smith R, Frydman B, Valasinas AL, Reddy VK, Marton LJ, Ward TD, Woster PM, Casero RA. Induction of the PAOh1/SMO polyamine oxidase by polyamine analogues in human lung carcinoma cells. *Cancer Chemother Pharmacol.* 52:383–90,2003.
29. Wang Y, Devereux W, Woster PM, Stewart TM, Hacker A, Casero RA, Jr. Cloning and characterization of a human polyamine oxidase that is inducible by polyamine analogue exposure. *Cancer Res.* 61:5370–3,2001.
30. Tao Q, Ang TFA, DeCarli C, Auerbach SH, Devine S, Stein TD, Zhang X, Massaro J, Au

- R, Qiu WQ. Association of Chronic Low-grade Inflammation With Risk of Alzheimer Disease in ApoE4 Carriers. *JAMA Netw Open*. 1:e183597,2018.
31. Holmes C, Butchart J. Systemic inflammation and Alzheimer's disease. *Biochem Soc Trans*. 39:898–901,2011.
32. Lee YJ, Han SB, Nam SY, Oh KW, Hong JT. Inflammation and Alzheimer's disease. *Arch Pharm Res*. 33:1539–56,2010.
33. Akiyama H, Barger S, Barnum S, Bradt B, Bauer J, Cole GM, Cooper NR, Eikelenboom P, Emmerling M, Fiebich BL, Finch CE, Frautschy S, Griffin WS, Hampel H, Hull M, Landreth G, Lue L, Mrazek R, Mackenzie IR, McGeer PL, O'Banion MK, Pachter J, Pasinetti G, Plata-Salman C, Rogers J, Rydel R, Shen Y, Streit W, Strohmeyer R, Tooyoma I, Van Muiswinkel FL, Veerhuis R, Walker D, Webster S, Wegrzyniak B, Wenk G, Wyss-Coray T. Inflammation and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 21:383–421, 2000.
34. Pegg AE. Toxicity of polyamines and their metabolic products. *Chem Res Toxicol*. 26:1782–800,2013.
35. Sharmin S, Sakata K, Kashiwagi K, Ueda S, Iwasaki S, Shirahata A, Igarashi K. Polyamine cytotoxicity in the presence of bovine serum amine oxidase. *Biochem Biophys Res Commun*. 282:228–35,2001.
36. Wood PL, Khan MA, Moskal JR. The concept of "aldehyde load" in neurodegenerative

mechanisms: cytotoxicity of the polyamine degradation products hydrogen peroxide, acrolein, 3-aminopropanal, 3-acetamidopropanal and 4-aminobutanal in a retinal ganglion cell line. *Brain Res.* 1145:150–6,2007.

37. Sakata K, Kashiwagi K, Sharmin S, Ueda S, Irie Y, Murotani N, Igarashi K. Increase in putrescine, amine oxidase, and acrolein in plasma of renal failure patients. *Biochem Biophys Res Commun.* 305:143–9,2003.
38. Igarashi K, Kashiwagi K. Protein-conjugated acrolein as a biochemical marker of brain infarction. *Mol Nutr Food Res.* 55:1332–41,2011.
39. Igarashi K, Uemura T, Kashiwagi K. Assessing acrolein for determination of the severity of brain stroke, dementia, renal failure, and Sjögren's syndrome. *Amino Acids.* 52:119–27,2020.
40. Cooper KD, Shukla JB, Rennert OM. Polyamine distribution in cellular compartments of blood and in aging erythrocytes. *Clin Chim Acta.* 73:71–88,1976.
41. Matsumoto M, Kitada Y, Naito Y. Endothelial Function is improved by Inducing Microbial Polyamine Production in the Gut: A Randomized Placebo-Controlled Trial. *Nutrients.* 11:1181,2019.