

総説 (第45回徳島医学会賞受賞論文)

重症患者における筋萎縮と尿中タイチン濃度測定の意義

原 加奈子¹⁾, 堤 理 恵¹⁾, 中 西 信 人²⁾, 三 島 優 奈¹⁾, 待 田 京 香¹⁾,
黒 田 雅 士¹⁾, 大 藤 純²⁾, 阪 上 浩¹⁾

¹⁾徳島大学大学院医歯薬学研究部代謝栄養学分野

²⁾徳島大学病院救急集中治療部

(令和2年11月2日受付) (令和2年12月16日受理)

はじめに

近年, 救命率の向上と共に, 集中治療室 (ICU) の入室患者に生じる筋萎縮の対策が重要視されている。骨格筋は, 体の40%を占める人体最大の組織であり, 人が生活するうえで姿勢保持やエネルギー代謝の関与などさまざまな重要な役割を担う臓器である¹⁾。この骨格筋の萎縮は, サルコペニアに加えて疾病や廃用, 低栄養などによって引き起こされることが知られており, ICU入室患者においても顕著にみられる。筋肉量の減少は, 社会復帰の遅延を招くとともに予後の悪化につながるため, 筋萎縮を評価し萎縮の予防を行うことは, ICUでの治療の1つとして必要である。しかしながら, 重症病態で生じる筋萎縮を明確に評価できるバイオマーカーは確立されていない。

本稿では, 重症病態の筋萎縮とその評価方法としての尿中タイチン濃度測定の有用性に焦点を当て解説する。

I. 重症患者の筋萎縮と診断方法

集中治療室でみられる重症病態は, 熱傷や多発外傷, 敗血症といった過大な侵襲下にある状態であり, このような状況では身体の内部環境は健常時と著しく変化する。例えば, 身体を作っている生体内の体タンパクは絶えず異化・同化を繰り返しており, 健常時ではそのバランスは均等に保たれているが, 過大な侵襲を受けると異化が亢進し, バランスの乱れが生じることで筋肉の萎縮が進行する²⁾。筋萎縮は重症患者に共通して生じ, 多くの患者がICU入室後3日以内に筋肉が萎縮することが報告されている³⁾。また, 重症患者のICU入室後7日以内に

13-21%の上肢及び下肢の筋肉量の減少が生じていることも明らかとなっている⁴⁾。さらに, 筋萎縮だけでなく集中治療で生じる感覚神経, 筋肉の機能不全はICU-AW (intensive care unite-acquired weakness) と呼ばれ, 重度の脱力感・感覚障害を発症することが臨床の現場で問題視されている⁵⁻⁷⁾。ICU-AWは多臓器不全, 不動化, 高血糖, ステロイド薬などさまざまな要因により引き起こされ^{8,9)}, 人工呼吸器の離脱の長期化や死亡率の上昇につながることを報告されている^{10,11)}。現在ICU-AWの評価方法にはMRC (Medical Research Council) スコアが利用される^{6,12,13)}。MRCスコアとは, 上肢の肩の外転, 膝の屈曲, 手首の伸展, 下肢の股関節の屈曲, 膝の伸展, 足首の屈曲を含む6つの関節の動きについて, 全く筋収縮が得られない場合を0点, 最大の抵抗に対し抗することができる場合を最大の5点とし, 各関節筋力を0-5点で評価したのちすべての合計点で判断する。ICU-AWはMRCスコアが48点未満の場合判定される。このMRCスコアを使用して筋力を測定するためには患者の意識と協力が必要である。しかしながらICUに入室する患者は鎮静治療を行うことやせん妄や脳症を発症している場合が多いため, ICU入室患者におけるMRCスコアによるICU-AWの診断は実際の筋機能低下評価が遅れることが懸念されている^{6,13)}。そこで最近では, コンピューター断層撮影 (CT) を用いた評価方法が有用であるという報告もある。Mitobeらは, CTを用いて算出した骨格筋指数 (SMI) がICU-AWを予測する因子として有用であることを示している¹⁴⁾。しかしながらCTは実際に筋断面積を測定することができ, 正確に筋萎縮の減少を測定するツールとしては有用であるが, 測定のためには正確に測定できる技術の習得が必須とな

る。早期に予防の介入を行うためにも、筋萎縮の進行、筋機能の低下を非侵襲的で簡易的に早期評価ができる方法の確立が必要とされている。

II. タイチンとは

骨格筋は、筋線維が束状に集まって構成されている人体において最大の組織である。また、骨格筋の収縮には筋原線維の最小単位である筋節（サルコメア）が関与している。サルコメアは2つの隣接しているZ帯間のセグメントとして存在し、太いミオシンフィラメントや細いアクチンフィラメントのような長く繊維状のタンパク質で構成されている（図1）。このアクチンとミオシンが互いにスライドし、サルコメアの両端を引っ張ることで筋肉の収縮を調整する。さらに、筋肉の収縮にはミオシンとアクチンを相互接続しているタイチンが関与していることが知られている。タイチンは、サルコメアのZ帯からM線までの約半分にまたがる巨大な弾性繊維タンパク質であり、分子量は3.0~3.7MDaと言われている。特にタイチンのN末端領域は多くのタンパク質と相互作用し、機能感受性・構造整合性・力の伝達に貢献することも分かっている^{15,16}。この骨格筋の分解には、主にユビキチンプロテアソーム経路やオートファジー経路、カルパイン分解経路などが関与する。その中でもタイチンは、カルパイン経路やMMP（Matrix Metalloproteinase）といったタンパク質分解酵素により分解さ

れることが報告されている^{17,18}。先行研究より筋原線維タンパク質の代謝回転は、タイチンやネブリンなどのサルコメア構成タンパク質のカルパイン依存性分解によって開始されている可能性¹⁹や、廃用性筋萎縮ラットモデルにおいて他の骨格筋構造タンパク質と比べてタイチンが優先的に損失していることが示唆されていることから²⁰、骨格筋において最初に壊されるタンパク質としてタイチンへの注目が高まっている。

III. 尿中タイチン濃度測定の意義

近年、尿中のタイチンN末端断片濃度を測定できるELISAが開発され、筋疾患による尿中タイチン濃度の上昇が注目されている。進行性に筋損失をおこす筋ジストロフィーにおいて尿中にタイチンのN末端の断片が健常人の100~700倍検出されることが報告されており、尿中タイチンの筋ジストロフィーの診断における有用性が認められている^{21,22}。

われわれは、重症患者においても筋萎縮のバイオマーカーとして尿中タイチン濃度が有用かどうかを経時的に検討した結果²³、健常人では1-3 pmol/mg Crである尿中タイチン濃度が、ICU入室1日目から、27pmol/mg Cr（中央値、IQR：16.8-59.6）と10-30倍以上の尿中タイチン濃度が検出されたことを明らかにした（n=56）（図2）。また、筋萎縮が顕著である人ほど有意に尿中タイチン濃度が高値であり、さらにICU-AWと判定さ

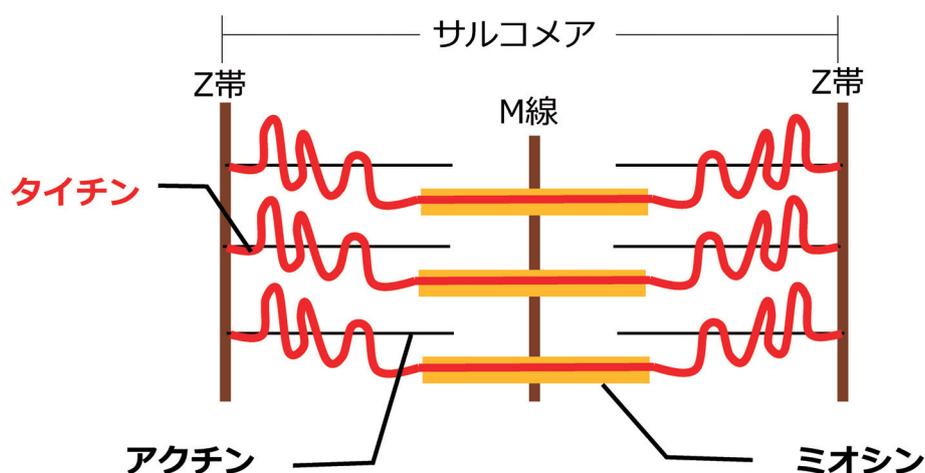
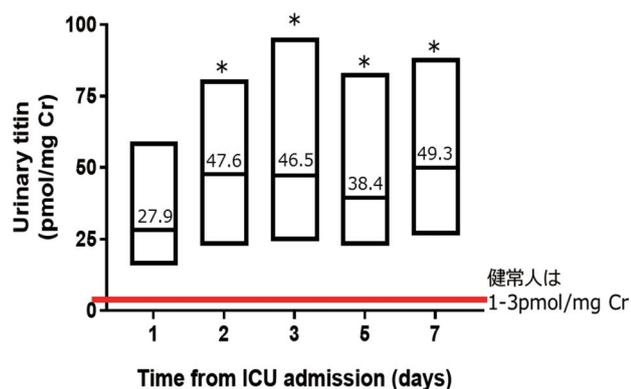


図1 筋原繊維の構造
筋原線維の最小単位の筋節（サルコメア）はアクチンやミオシンなどの繊維状のタンパク質から構成されている。Z帯からM線までのサルコメアの約半分にまたがるタンパク質がタイチンである。（文献15をもとに作成）



(測定人数) day1-day3:56人、day5:40人、day7:24人

図2 ICU入室後の経時的な尿中タイチン濃度の変化
ICU入室後から12時間以内を day1とし、day1-7の経時的な尿中タイチン濃度を測定した結果、健常人と比較してICU入室後1日目から高値を示した。
さらに入室後2日目以降は1日目よりも有意に上昇した。
* $p < 0.05$: day 1 vs day 2-7
(文献23より一部改変して転載)

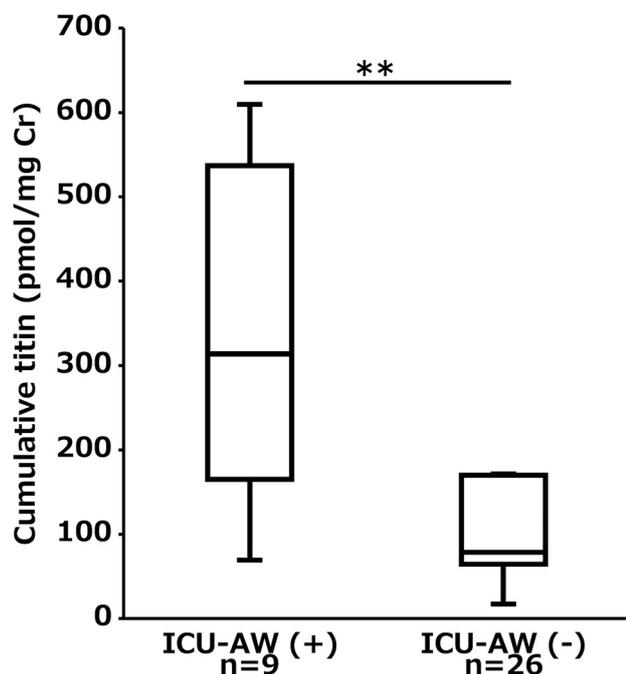


図3 尿中タイチン濃度とICU-AWとの関係
MRC (Medical Research Council) スコアを用いてICU-AWと判定された患者を(+)群、ICU-AWと判定されなかった患者を(-)群とし、累積尿中タイチン濃度を比較した結果、ICU-AW(+)群において有意に上昇していることが示された。
** $p < 0.01$: ICU-AW(+) vs (-)
(文献23より一部改変して転載)

れた患者ほど尿中タイチン濃度は高値を示していた(図3)。以上から、重症患者においても尿中タイチン濃度を測定することで非侵襲的に筋萎縮を評価できる可能性が示唆された。また、ICU-AWの患者で高値であったことから、筋機能の指標としても有効である可能性が期待された。敗血症モデル動物においても早期から尿中タイチンの上昇がみられることもわれわれは確認しており(未発表)、重症病態における非侵襲的な筋萎縮と筋機能低下の早期に評価できるバイオマーカーとして尿中タイチン濃度測定が有用であると考えられた。

最近の報告では、尿中タイチンがICU入室患者だけでなくさまざまな病態が惹起する筋萎縮の評価方法として有用である可能性が明らかとなっている。Osidaらは非アルコール性脂肪性肝疾患患者において、尿中タイチン濃度が骨格筋萎縮を反映している可能性を示した²⁴⁾。また、Miyoshiらは消化器癌患者において尿中タイチン濃度と栄養状態が負の相関を示したことを明らかにしている²⁵⁾。どのような病態やメカニズムで尿中タイチンが高値を示しているかは今後さらなる解明が必要となるが、尿中タイチンが筋疾患だけでなくさまざまな疾患が引き起こす筋萎縮や栄養状態などを評価ができるバイオマーカーとなり得る可能性が期待されている。

おわりに

われわれの研究データを中心に尿中タイチン濃度測定の意義を概説したが、今後さらなるタイチン分解の意義を見出すことができれば、筋萎縮の非侵襲的で簡易な早期評価の実現が可能となると考えられる。筋萎縮の早期評価ができれば、予防の介入もより早く行うことができる。例えば、電気刺激が筋萎縮に効果的であるという報告²⁶⁾などさまざまな予防策が研究されており、これらの予防策を適切なタイミングで実施できるようバイオマーカーとしての尿中タイチン濃度測定の有用性をさらに研究していきたい。

謝 辞

本稿を終えるにあたり、多大なる研究のご協力、ご助言を賜りました神戸大学医学部松尾雅文名誉教授をはじめとした神戸学院大学の先生方、日頃より有益なご助言をいただきました徳島大学大学院代謝栄養学分野の皆様へ深謝いたします。また、研究にご協力賜りまし

た徳島大学病院救急集中治療室の先生方，看護師の皆様，ならびに研究にご協力いただきました対象者の皆様にごこの場をお借りして心より御礼申し上げます。

文 献

- 1) Egan, B., Zierath, J. R. : Exercise Metabolism and the Molecular Regulation of Skeletal Muscle Adaptation. *Cell Metab.*, **17** : 162-184, 2013
- 2) Wray, C. J., Mammen, J. M. V., Hasselgren, P. O. : Catabolic response to stress and potential benefits of nutrition support. *Nutrition.*, **18** : 971-977, 2002
- 3) Nakanishi, N., Takashima, T., Oto, J. : Muscle atrophy in critically ill patients : a review of its cause, evaluation, and prevention. *J Med Invest.*, **67** : 1-10, 2020
- 4) Nakanishi, N., Oto, J., Tsutsumi, R., Iuchi, M. : Upper and lower limb muscle atrophy in critically ill patients : an observational ultrasonography study. *Intensive Care Med.*, **44** : 263-264, 2018
- 5) Witteveen, E., Wieske, L., Verhamme, C., Schultz, M. J., *et al.* : Muscle and nerve inflammation in intensive care unit-acquired weakness : A systematic translational review. *J Neurol Sci.*, **345** : 15-25, 2014
- 6) Wieske, L., Chan Pin Yin, D. R. P. P., Verhamme, C., Schultz, M. J., *et al.* : Autonomic dysfunction in ICU-acquired weakness : a prospective observational pilot study. *Intensive Care Med.*, **39** : 1610-1617, 2013
- 7) Hermans, G., Van den Berghe, G. : Clinical review : intensive care unit acquired weakness. *Crit Care.*, **19** : 274, 2015
- 8) Barreiro, E. : Models of disuse muscle atrophy : therapeutic implications in critically ill patients. *Ann Transl Med.*, **6** : 29, 2018
- 9) Puthuchery, Z., Rawal, J., Ratnayake, G., Harridge, S., *et al.* : Neuromuscular blockade and skeletal muscle weakness in critically ill patients time to rethink the evidence? *Am J Respir Crit Care Med.*, **185** : 911-917, 2012
- 10) Garnacho-Montero, J., Amaya-Villar, R., Garcia-Garmendia, J. L., Madrazo-Osuna, J., *et al.* : Effect of critical illness polyneuropathy on the withdrawal from mechanical ventilation and the length of stay in septic patients. *Crit Care Med.*, **33**(2) : 349-354, 2005
- 11) van Wagenberg, L., Witteveen, E., Wieske, L., Horn, J. : Causes of mortality in ICU-Acquired weakness. *J Intensive Care Med.*, **35** : 293-296, 2020
- 12) Stevens, R. D., Marshall, S. A., Cornblath, D. R., Hoke, A., *et al.* : A framework for diagnosing and classifying intensive care unit-acquired weakness. *Crit Care Med.*, **37** : S299-308, 2009
- 13) Hough, C. L., Lieu, B. K., Caldwell, E. S. : Manual muscle strength testing of critically ill patients : feasibility and interobserver agreement. *Crit Care.*, **15** : R43, 2011
- 14) Mitobe, Y., Morishita, S., Ohashi, K., Sakai, S., *et al.* : Skeletal muscle index at intensive care unit admission is a predictor of intensive care unit-acquired weakness in patients with sepsis. *J Clin Med Res.*, **11**(12) : 834-841, 2019
- 15) Matsuo, M., Awano, H., Maruyama, N., Nishino, H. : Titin fragment in urine : A noninvasive biomarker of muscle degradation. *Adv Clin Chem.*, **90** : 0065-2423, 2019
- 16) Zou, P., Pinotsis, N., Lange, S., Song, Y. H., *et al.* : Palindromic assembly of the giant muscle protein titin in the sarcomeric Z-disk. *Nature.*, **439** : 12, 2006
- 17) Kontroginni-Konstantopoulos, A., Ackermann, M. A., Bowman, A. L., Yap, S. V., *et al.* : Muscle giants : molecular scaffolds in sarcomerogenesis. *Physiol Rev.*, **89** : 1217-1267, 2009
- 18) Beckmann, J. S., Spencer, M. : Calpain 3, the "gatekeeper" of proper sarcomere assembly, turnover and maintenance. *Neuromuscul Disord.*, **18** : 913-921, 2008
- 19) Neti, G., Novak, S. M., Thompson, V. F., Goll, D. E., *et al.* : Properties of releasable myofilaments : are they the first step in myofibrillar protein turnover? *Am J Physiol Cell Physiol.*, **296** : C1383-C1390, 2009
- 20) Udaka, J., Ohmori, S., Terui, T., Ohtsuki, I., *et al.* : Disuse-induced preferential loss of the giant protein titin depresses muscle performance via abnormal sarcomeric organization. *J Gen Physiol.*, **131** : 33-41, 2008
- 21) Maruyama, N., Asai, T., Abe, C., Inada, A., *et al.* : Establishment of a highly sensitive sandwich ELISA

- for the N-terminal fragment of titin in urine. *Sci Rep.*, **6** : 39375, 2016
- 22) Awano, H., Matsumoto, M., Nagai, M., Shirakawa, T., *et al.* : Diagnostic and clinical significance of the titin fragment in urine of Duchenne muscular dystrophy patients. *Clin Chim Acta.*, **476** : 111-116, 2018
- 23) Nakanishi, N., Tsutsumi, R., Hara, K., Takashima, T., *et al.* : Urinary Titin Is a Novel Biomarker for Muscle Atrophy in Nonsurgical Critically Ill Patients : A Two-Center, Prospective Observational Study. *Crit Care Med.*, **48** : 1327-1333, 2020
- 24) Oshida, N., Shida, T., Oh, S., Kim, T., *et al.* : Urinary Levels of Titin-N Fragment, a Skeletal Muscle Damage Marker, are Increased in Subjects with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Sci Rep.*, **9** : 19498, 2019
- 25) Miyoshi, K., Shimoda, M., Udo, R., Oshiro, Y., *et al.* : Urinary titin N-terminal fragment concentration is an indicator of preoperative sarcopenia and nutritional status in patients with gastrointestinal tract and hepatobiliary pancreatic malignancies. *Nutrition.*, **79-80** : 110957, 2020
- 26) Nakanishi, N., Oto, J., Tsutsumi, R., Yamamoto, T., *et al.* : Effect of Electrical Muscle Stimulation on Upper and Lower Limb Muscles in Critically Ill Patients : A Two-Center Randomized Controlled Trial. *Crit Care Med.*, **48** : 997-1003, 2020

Urinary titin reflects muscle atrophy in critical ill patients

Kanako Hara¹⁾, Rie Tsutsumi¹⁾, Nobuto Nakanishi²⁾, Yuna Mishima¹⁾, Kyoka Machida¹⁾, Masashi Kuroda¹⁾, Jun Oto²⁾, and Hiroshi Sakaue¹⁾

¹⁾*Department of Nutrition and Metabolism, Tokushima University Graduate School of Biomedical Sciences, Tokushima, Japan*

²⁾*Emergency and Critical Care Medicine, Tokushima University Hospital, Tokushima, Japan*

SUMMARY

Skeletal muscle atrophy is a serious problem in critically ill patients. After intensive care unit (ICU) admission, muscle atrophy starts within 3 days and progressively worsens thereafter. We have previously reported that upper and lower limb muscle mass of critically ill patients decreased by 13%-21% within 7 days of admission. Muscle atrophy in the ICU is associated with long-term functional impairment and weakness in ICU survivors. Although monitoring of muscle mass is important, there have been no reliable biomarkers associated with muscle atrophy in critically ill patients. In this study, we have focused on urinary titin, which is the biggest giant sarcomere protein and functions as a spring for muscle extension and viscoelasticity. We have clarified that urinary titin level reflected muscle breakdown correlated with limb muscle atrophy in non-surgical critically ill patients. The cumulative urinary titin level associated with the incidence of ICU-AW and ICU mortality. Our study indicates urinary titin can be the noble biomarker to evaluate the catabolism and muscle atrophy in critically ill patients.

Key words : Muscle atrophy, ICU-AW, urinary titin, biomarker