

平成 21 年 6 月 3 日現在

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2005～2008

課題番号：17200040

研究課題名（和文）

<sup>1</sup>H-MRS 法による骨格筋の細胞内・外脂肪量と加齢、体組成、体力、運動と脂質代謝

研究課題名（英文）

Skeletal muscle lipid content and their relation to body fat, physical fitness, exercise and lipid metabolism by <sup>1</sup>H-MRS

研究代表者

中川 喜直 (NAKAGAWA YOSHINAO)

小樽商科大学・商学部・教授

研究者番号：80201664

研究成果の概要：筋細胞内脂肪はエアロビクスやクロスカントリースキーのような長時間種目のスポーツ競技をしている選手では脂肪を運動のエネルギーとして有利に活用するため骨格筋細胞内に脂肪を豊富に蓄積している。しかし、短時間の競技の選手では筋細胞内の脂肪量は少ない。本研究により筋細胞内脂肪量は加齢、食事、運動習慣による影響を受けていることが解明され、健康保持やスポーツにおいて適量を維持する必要性が示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2005 年度	10,000,000	3,000,000	13,000,000
2006 年度	3,200,000	960,000	4,160,000
2007 年度	3,700,000	1,110,000	4,810,000
2008 年度	3,300,000	990,000	4,290,000
年度			
総計	20,200,000	6,060,000	26,260,000

研究分野：

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学／応用健康科学

キーワード：筋細胞内脂肪・加齢・体力・持久力・スポーツ

## 1. 研究開始当初の背景

申請者らは、脳領域の研究で発展した<sup>1</sup>H-MRS法(磁気共鳴分光法)を骨格筋に応用して、methylene proton 由来のプロトンのピークを同定することに成功した。この方法では、これまでの筋バイオプシー法で難しかったヒト骨格筋の細胞内・外の中性脂肪(triglyceride)を分離し、筋の深層部までの中性脂肪を直接定量化することができる。このことにより、筋の脂質代謝や肥満、あるいは筋機能に関連する研究の発展と解明が期待されている。

筋細胞内脂肪(IMCL; intramyocellular triglyceride)は、ミトコンドリア内で直接エネルギー源として利用され、脂質代謝に関わる重要な

脂質となっている。筋細胞外脂肪(EMCL; extramyocellular triglyceride)は筋線維間に貯蔵されて、視覚的に霜降り肉にみられる脂肪である。体脂肪の増加に伴い筋内で消費できない過剰なエネルギーはEMCL(霜降り肉)や皮下脂肪あるいは内臓脂肪として蓄積されると考えられている。EMCLの増加は肥満や体力低下の原因となり、我々は、筋線維間に蓄積されるEMCLが最大酸素摂取量との間に負の相関関係にあることや、BMIと%FATとの間に正の相関関係を認めている。一般的に肥満に伴いIMCLとEMCLの両者は増加し、IMCLはインスリン感受性との間に負の相関関係がある。しかしながら、IMCLはエネルギー基質になることから、習慣的

に運動トレーニングを積んでいる持久性陸上選手では一般人に比較してIMCLが高く体脂肪率は極めて低い。また、IMCLは最大酸素摂取量との間に正の相関関係が認められることを報告してきた。

## 2. 研究の目的

本研究では、これまでの成果に加えてプロトン-MRS法を用いヒト骨格筋における細胞内・外脂肪と加齢、体組成、体力、運動と脂質代謝との関係について検討し、国民の健康の維持増進に役立てようとした。さらに、加齢に伴う筋細胞内・外脂肪量の蓄積のメカニズムを探り、肥満・糖尿病予防を念頭に体脂肪の減少を目的とした運動療法を確立し、栄養との関係などを明らかにしようとした。

(1)大豆タンパク質に脂質代謝改善作用があることは古くから知られている。本研究では大豆タンパク質の長期摂取が運動選手の筋内脂肪量、体組成、筋力、全身持久力へ与える影響について検討した。

(2)加圧トレーニングは上肢や下肢の付け根を適度に血流制限することにより、低負荷のレジスタンス運動でも高負荷のレジスタンス運動と同様の効果が短期間で得られることが知られている。また、歩行運動のような有酸素運動についても加圧歩行を実施することによって筋断面積の増加が認められることが報告されており、運動の種類に関わらずその著しい効果が認められている。本研究では加圧歩行が筋内脂肪量、体組成、筋力、全身持久力へ与える影響について検討した。

(3)持久トレーニングを積んだ競技選手の筋細胞内脂肪(IMCL)は一般健常者より高いことが報告されている。本研究では有酸素運動を積んでいる女性のIMCLについて調査検討した。

(4)筋細胞内脂肪(IMCL)は持久ランナーにおいて高い値が認められ、持久運動の重要なエネルギーとなっていることが知られている。本研究では冬季スキー選手のIMCLを定量しその競技特性について検討した。

## 3. 研究の方法

(1)規則的な運動習慣を有し、日常的にプロテインを摂取していない健康な男子大学生を被験者とし、無作為に大豆タンパク群(D群)とカゼイン群(C群)の2群にそれぞれ被験者を分け、2ヶ月間のタンパク質摂取前後の筋内脂肪量、体組成、筋力、全身持久力の値について比較検討した。D群の平均年齢は $21 \pm 1.2$ 才( $n=8$ )、身長:174cm、体重:69kg、体脂肪率が $11.9 \pm 4.6\%$ で、C群の平均年齢は $20.4 \pm 0.7$ 才( $n=8$ )、身長:171cm、体重:68kg、体脂肪率が $12.3 \pm 5.6\%$ であった。

(2)健康な30代女性( $34.1 \pm 2.6$ 才( $n=9$ ))、身長: $158 \pm 5.2$ cm、体重: $52.5 \pm 6$ kg、体

脂肪率: $24 \pm 3.8\%$ )を対象に、加圧による血流制限を伴う歩行トレーニングを実施した(以下加圧歩行)。被験者には加圧マスターミニ((株)サトウスポーツプラザ)を用い、大腿部基部に特性の加圧ベルトを巻き(装着圧:20mmHg 加圧圧:130mmHg)血流制限し、水平のトレッドミルを用いて、 $3.5$  km/hの歩行速度で3分間の歩行を1分の休憩を挟み、5セット合計15分間の加圧歩行を週6日2週間実施した。

(3)被験者にはエアロビクスインストラクター(エアロ群)( $32.5 \pm 6.6$ 才( $n=12$ ))、身長: $158 \pm 5.1$ cm、体重: $50.2 \pm 3.2$ kg、BMI: $20.2 \pm 1.3$  m/kg<sup>2</sup>、体脂肪率: $17.1 \pm 2.1\%$ )と健康な女性( $34.1 \pm 2.6$ 才( $n=9$ ))、身長: $158 \pm 5.2$ cm、体重: $52.5 \pm 6$ kg、BMI: $21 \pm 2.3$  m/kg<sup>2</sup>、体脂肪率: $24 \pm 3.8\%$ )を対象群に用いた。

(4)被験者には持久系種目としてバイアスロン種目を含む距離スキー選手(XC群;身長: $170 \pm 7.9$ cm、体重: $64.4 \pm 0.7$ kg、%FAT: $10.2 \pm 0.6$ ,  $n=8$ 名)とアルペン選手(AL群;身長: $172 \pm 1.4$ cm、体重: $73.1 \pm 2.5$ kg、%FAT: $14 \pm 1.5$ ,  $n=10$ 名)を用いた。また、健康な一般男子7名を対照群(CON群;身長: $170 \pm 2.5$ cm、体重: $58.3 \pm 2.4$ kg、%FAT: $15.5 \pm 0.9$ )として用いた。

## <sup>1</sup>H-MR spectroscopyによる筋細胞内外脂肪の測定

MRSの測定では超伝導MR装置(GE社製,signa Horizon Hispeed LX1.5T)を使用し、PRESS法を基本にしたprobe-pを用い、シグナスの条件は、TR:2000 msec、TE:30 msec、Ave:128、Time:296 secに設定し、Shimmingとtuningは自動に行った。被験筋は右足の足関節の背屈筋に前脛骨筋(TA)と、足底筋のヒラメ筋(SOL)、内側腓腹筋(MG)を用いた。測定に際し、均一性磁場が得られるようにMRS専用のHead coilを被験者の右足膝下から足関節の間に装着した。測定部位は膝関節の脛骨外顆と足関節との間、近位40%とした。測定に用いた横断像はTI強調画像(TR:300ms、TE:8.5ms、スライス厚:5mm、FOV:28cm)によって撮影し、脂肪、血管、神経などを避けるように関心領域(VOI:1cm<sup>3</sup>(1cm×1cm×1cm))を設定した(Fig.1)。その関心領域について、水の信号を抑制した筋細胞内外脂肪のデータ及び、水抑制を行わずに組織水のデータを取得した。そのデータより筋細胞内外脂肪および組織水の信号強度から定量の算出に導いた。尚、定量法は実質の組織水を利用した内部標準法で<sup>12,13)</sup>、脳領域で用いられている手法を応用したものである。IMCL、EMCL濃度は以下の計算式を利用して算出し、中性脂肪のメチル基(CH<sub>2</sub>)のproton数とした。

定量値 =  $C_{\text{water}} \times (2/n) \times (S_{\text{metabolite}} / S_{\text{water}}) \times \{ \exp(TE / \text{Metabolite} T_2) \times (1 - \exp(-TR / \text{Water} T_1)) \} / \{ \exp(TE / \text{water} T_2) \times (1 - \exp(-TR / \text{Metabolite} T_1)) \}$

$C_{\text{water}}$  は組織水濃度,  $S_{\text{water}}$  は組織水の信号強度を,  $S_{\text{metabolite}}$  は IMCL と EMCL の信号強度を示している. Metabolite T1 と T2 はそれぞれの T1 と T2 緩和時間 (IMCL, EMCL) を示し, Water T1 と T2 は組織水の T1 と T2 緩和時間をそれぞれ示している. それぞれの緩和時間補正 T1 は 280 msec (IMCL), 270 msec (EMCL), 900 msec (水分) で, T2 は 85 msec (IMCL), 75 msec (EMCL), 30 msec (水分) のそれぞれの値を用いた<sup>14,15)</sup>. 組織水濃度は, 蒸留水を 55.5 mM/cc とし, 骨格筋と蒸留水を含む脂肪抑制 proton 密度強調 (TR/TE; 150/1.6 msec, FA; 5 deg, NEX; 1, Thickness; 10 mm, Time: 20 sec) を撮影し, この信号強度比より算出した.

得られたスペクトルは, line broadning, filtering, zero filling, フーリエ変換, phase correction, baseline correction の作業を自動処理し, シグナルのピークを得た. Fig. 1 に骨格筋の IMCL, EMCL, 及び TCr のシグナルピークを示した. ケミカルシフトに基づくシグナルは EMCL; 1.5 ppm, IMCL; 1.28 ppm の methylene proton のピークを示している. これらのピークについて, Lorentzian/Gaussian 混合関数によって線形処理を施した後, その積分値を定量の計算に供した. これらの波形解析には Nuts-1D ソフトウェアパッケージ (AcornNMR inc., Calif., USA) を用いた. 尚, 本研究の脂肪の定量は TA については同一横断画像 4 箇所平均値とし, SOL と MG は筋中央部 1 箇所とした.

#### 最大酸素摂取量 (peak $\dot{V}O_2$ ) と身体組成の測定

運動負荷試験にはトレッドミル (AR-200, ミト医科学社製) を使用した. 運動のプロトコルには Buruce の漸増負荷法を用いて, 被験者は疲労困憊まで運動を行った. 呼吸ガスは呼吸代謝装置 (Aeromonitor, ミト医科学社製) を用いて, 酸素摂取量 ( $\dot{V}O_2$ ), 二酸化炭素排出量 ( $\dot{V}CO_2$ ), 呼吸ガス交換比 (RER) 及び毎分換気量 (VE) を Breath-by Breath 法により測定し,  $\dot{V}O_2$  の最大値を peak  $\dot{V}O_2$  とした.

身体組成の測定には空気置換法を用いた BODPOD (LMI 社製) を使用した.

#### 4. 研究成果

(1) 食事調査の結果, 両群ともに調査前後における食事によるタンパク質と総カロリー

一の摂取量に変化はなかった. 体組成と身体特性に変化は認められなかった. 両群のそれぞれの筋における IMCL 量に変化は認められなかった. また, 細胞外脂肪量についても摂取前後の値において有意な差は認められなかった. 最大酸素摂取量は両群ともに増加を示したが, 最大筋力においては変化が認められなかった. 以上のことから, 二ヶ月間のタンパク質摂取において全身持久力の向上が認められ, 有酸素能力改善の可能性が示唆された.

(2) 体重・BMI・体脂肪率・除脂肪体重などの身体特性について比較してみると, 加圧歩行前後の値において有意な差は認められなかった. 最大酸素摂取量についても有意な差は認められなかった. それぞれの筋の IMCL 量は, 加圧歩行前後の値において有意な差が認められなかった. しかしながら, SOL の EMCL については, 加圧歩行後の値が加圧歩行前の値と比較して有意に低い値を示した. 総クレアチニン量については加圧歩行後の SOL の値が加圧歩行前の値と比較して有意な増加を示した. 皮下脂肪量は加圧後に有意に低い値を示した.

以上のことから, 2 週間の加圧歩行によって体脂肪率には有意な変化が認められないものの, 下腿における皮下脂肪と細胞外脂肪量の低下が認められ, 局所的に筋の脂肪を消費する可能性が示唆された.

(3) エアロ群の最大酸素摂取量は対象群に比し有意に高い値を示し, エアロ群の高い持久性能力が認められた. しかしながら, それぞれの筋の IMCL 量はエアロ群と対照群との間に有意な差は認められなかった. 先行研究によると肥満により IMCL は増加することが知られているが, 対照群の体脂肪率はエアロ群のそれより著しく高いため明らかな差が認められなかったのだろう. 一方, EMCL については, SOL においてエアロ群の値が対照群のそれと比較して有意に低い値を示した. TA 及び MG の EMCL は両群間に差は認められなかった. 霜降り状の脂肪とされるエアロ群の EMCL に低い値が認められた.

(4) 本研究の被験者の IMCL 量と  $\dot{V}O_{2\text{max}}$  との間には有意な相関関係が認められことに加え, XC 群の IMCL 量は AL 群と CON 群より有意に高い値を示したことから, 筋細胞内脂肪量と全身持久力との間の密接な関係が示された. EMCL には, 各群の間に有意な差は認められなかった. また, TA における筋断面積と TCr 及び MW については, 各群の間に有意な差は認められなかった. XC 群の体脂肪率と体重及び BMI は AL 群のそれより低い値を示し, XC 群の下腿の皮下脂肪断面積は CON 群のそれよりも有意に低い値を示した. XC 群の  $\dot{V}O_{2\text{max}}$  は CON 群のそれと比較して有意に高い値を示したが, XC 群と AL 群の間には有意な差が認

められなかった。AL 群の VO<sub>2</sub>max は CON 群より高い値を示した。以上のことから、男子距離スキー選手は骨格筋内の細胞に脂肪を豊富に蓄えている可能性が示唆された。

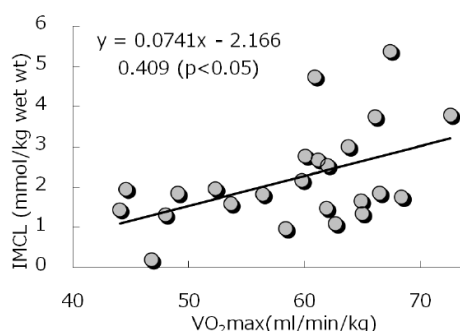


図 前脛骨筋における筋細胞内脂肪 (IMCL) と最大酸素摂取量の関係

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

- 1) Intramuscular lipid content in female endurance-trained elderly by in vivo <sup>1</sup>H-MR spectroscopy. Y. Nakagawa, M. Hattori, K. Harada, R. Shirase, M. Bando, G. Okano, *Jpn J Phys Fitness Sports Med* 55, (Suppl) S59-S64, 2006
- 2) Characteristics of intramyocellular lipid content in skeletal muscles of overweight men and endurance-trained athletes. M. Hattori, Y. Nakagawa, K. Harada, M. Bando, G. Okano, *Jpn J Phys Fitness Sports Med* 55, (Suppl) S43-S48, 2006
- 3) Age-Related Changes in Intramyocellular Lipid in Humans by in vivo <sup>1</sup>H-MR Spectroscopy. Y. Nakagawa, M. Hattori, K. Harada, R. Shirase, M. Bando, G. Okano, *Gerontology*, 53, 218-223, 2007
- 4) Intramyocellular lipids in elite female cross-country skiers and biathletes. Y. Nakagawa, M. Hattori, K. Harada, R. Shirase, J. SuzukiI, M. Bando, G. Okano, International Symposium on Winter Sports Sciences Commemorating the 2008 Nordic Ski WC proceedings, 66-70, 2008

[学会発表] (計 6 件)

- 1) Intramuscular lipid content in female endurance-trained elderly by in vivo

<sup>1</sup>H-MR spectroscopy. Y. Nakagawa, M. Hattori, K. Harada, R. Shirase, M. Bando, G. Okano, Asian Federation of Sports Medicine Congress 2005 Tokyo

- 2) Characteristics of intramyocellular lipid content in skeletal muscles of overweight men and endurance-trained athletes M. Hattori, Y. Nakagawa, K. Harada, M. Bando, G. Okano, Asian Federation of Sports Medicine Congress 2005 Tokyo
- 3) <sup>1</sup>H-MRS 法による高齢男性ランナーの骨格筋における細胞内・外の脂肪量 中川喜直, 服部正明, 原田邦明, 白勢竜二, 大元秀近, 板東道夫, 岡野五郎 日本体力医学会 岡山 2005 年 9 月【日本体力医学会マスカット賞 受賞】
- 4) Intramyocellular lipids in elite female cross-country skiers and biathletes. Y. Nakagawa, M. HattoriI, K. Harada R. Shirase, J. SuzukiI, M. Bando, G. Okano, International Symposium on Winter Sports Sciences Commemorating the 2007 Nordic Ski WC in Sapporo
- 5) <sup>1</sup>H-MRS 法による骨格筋の細胞内・外脂肪量へ与える加圧歩行の影響 中川喜直, 服部正明, 鎌倉一, 岡野五郎 日本体力医学会 岡山 2007 年 9 月
- 6) 筋細胞内脂肪量における持久系とパワー系のスキー競技特性 中川喜直, 服部正明・相原博之, 岡野五郎 日本体力医学会 別府 2008 年 9 月

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

中川 喜直 (NAKAGAWA YOSHINAO)  
小樽商科大学・商学部・教授  
研究者番号：80201664

### (2) 研究分担者

服部 正明 (HATTORI MASAOKI)  
北海道東海大学・国際文化部・教授  
研究者番号：70208544

岡野 五郎 (OKANO GORO)  
札幌医科大学・医学部・准教授  
研究者番号：50117610

原田 邦明 (HARADA KUNIYUKI)  
札幌医科大学・附属病院・技師  
研究者番号：50423760