

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 6 日現在

機関番号：34315

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25282201

研究課題名(和文) 局所筋活動にともなう筋内外脂質リクルートメントの解明とその応用性

研究課題名(英文) metabolic regulatory system in terms of inter- or extra- cellular lipid recruitment in working muscle

研究代表者

田口 貞善 (Taguchi, Sadayoshi)

立命館大学・総合科学技術研究機構・客員研究員

研究者番号：90086819

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,400,000円

研究成果の概要(和文)：本課題は、「骨格筋収縮時の筋内外脂質リクルートメント」に着目して活動筋中の代謝調節システムを解明することを目的とした。特に、MRIを用いたヒト非侵襲的な手法と分子生物学的な解析データを相互に関連させて筋がどのようにエネルギーを利用しながら収縮し続けているかを明らかにしていくことが狙いであった。現代の肥満や脂質代謝異常の基盤である「骨格筋代謝機能」のさらなる解明のきっかけとして、特に二足歩行への「進化」という観点を踏まえた上肢・下肢の代謝特性の相違、四肢の活動筋への脂肪供給源および脂肪貯蔵、エネルギー源としての糖質の関与との多様性に焦点を当てることで、新たな知見を獲得することができたと考える。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to elucidate metabolic regulatory system in terms of “inter- or extra- cellular lipid recruitment in working muscle”. In particular, based on the data obtained in non-invasive MRI measurements and molecular biologic study, we tried to investigate the energy metabolism during muscle contraction. As a clue to advance our understanding of metabolic function of the skeletal muscle, which is significantly related to obesity and disorder of fat metabolism in today, we have focused on the difference of energy metabolism in upper and lower limbs, especially in the aspect of “evolution” (e.g., The morphological characters of the upper and lower limbs in humans could adapt differently over years after becoming bipedal), and fat metabolism in upper and lower limbs. As a result, we could obtain new findings in terms of “inter- or extra- cellular lipid recruitment in working muscle”.

研究分野：環境生理学

キーワード：脂質代謝 体組成 骨格筋 局所運動 筋内外脂肪 核磁気共鳴画像法 生活習慣

1. 研究開始当初の背景

ヒトが進化の過程で、下肢を移動のために専ら的に発達させ、上肢を巧妙で機能的な動きのできる肢として、大きくその役割を分け、適応、発達させてきたことは明らかである。ヒトが立位を保ち、二足で移動することは荷重の観点からみれば、下肢に大きな負荷がかかり、上肢への負荷はるかに少ない。この負荷に対する上肢・下肢の生体反応の現れは、筋重量の違いとして容易に観察できる。四足動物のヒラメ筋では筋重量にして、腓腹筋の 1/10 であるが(Taguchi 1991)、ヒトでは、おおよそ同重量である(Fukunaga 1995)。すなわち、筋活動の違いが筋重量に反映し、終局には筋代謝の調整は筋活動量によると推測される。その時代を超えた適応と変化は骨、筋、脂肪の持つ可塑性から暗示され、また腕・脚の持つ急性の生理機能の応答と運動療法の可能性を明示しているのではないかと考えられた。

2. 研究の目的

「骨格筋収縮時の筋細胞内外脂質リクルートメント」に着目して活動筋中の代謝調節システムを解明することを目的とした。

具体的な目的としては: (1) ヒト四肢の脂肪組織量および脂質代謝特性の比較と定量化、(2) 活動筋が利用する脂質としての筋内外脂肪と循環血中代謝産物の生理学的・生化学的分析、(3) ヒトと四足歩行(動物)における四肢の局所脂肪分布および活動筋脂質代謝を制御する遺伝的(人種的)・環境的(運動・食習慣的)要因の探索である。特に、MRI を用いたヒト非侵襲的な手法と生化学的な解析データを相互に関連させて筋がどのようにエネルギーを利用しながら収縮し続けているかを明らかにしていくことが狙いであった。この背景には、現代の肥満や脂質代謝異常の基盤である「骨格筋代謝機能」のさらなる解明のきっかけとして、特に二足歩行への「進化」という観点を踏まえた上肢・下肢の代謝特性の相違、四肢の活動筋への脂肪供給源および脂肪貯蔵に焦点を当てることで、新たな知見を獲得することにある。

3. 研究の方法

(1) 哺乳類サル目ヒト科に属するオランウータン(Pongo)の前肢は後肢と同様もしくはそれ以上に大きいことが報告されている(Morbeck and Zihlman 1988)。このように、ヒトの腕と脚の役割

は、二足動作になる過程で変わってきたと考えられる。人間の筋活動の進化は走距離を上げることであった(Bramble and Lieberman 2004)にも関わらず、現代の不活動は肥満などの生活習慣病を引き起こしている。したがって、筋代謝の水準は、最終的には、筋重量に反映されるがその代謝を調整する根源は筋活動の高低であり、予防医学的に考えると、筋活動が生活習慣病の予防の鍵を担っていると仮説する。しかしながら、これまで上肢と下肢の形態・機能的な違いについての詳細な検討はなされていない。そこで MRI 法で得られた画像と Bioelectrical impedance(BI)法で得られたデータから老若男女の四肢の体脂肪率や除脂肪量を定量化し、上肢と下肢の形態と代謝機能的違いについて明らかにした。

(2) これまで運動生理学の分野では、四肢や体幹の体脂肪を減少させるには、全身の有酸素運動を長時間実施することが奨励されている。確かに長時間の有酸素運動では全身の脂肪が分解され、血中に遊離脂肪酸が放出され、持続的な筋収縮のエネルギーとして利用されている。かなり低強度の運動でも十分な脂肪分解が引き起こされ、脂肪酸が筋内で酸化されている(Horowitz 2003)。このような運動中の自発的な筋収縮の繰り返しに必要なエネルギーは、活動筋周辺の糖と脂質が優先的に使われていると考えられる。そこで、自発的な筋収縮の繰り返しに必要なエネルギーは活動筋周辺のエネルギー基質が優先的に使用され、収縮筋では糖だけでなく脂質代謝亢進によるエネルギー消費が大きな割合で起きていると仮説をたて、MRI を用いた筋収縮時の筋細胞内外脂肪動員の解析から、筋細胞内外脂肪の機能的役割を明らかにした。

(3) 遺伝的な筋組成を含め、性差は四肢の身体組成と運動時のエネルギー利用に異なった影響を与えている。先行研究において、有酸素運動中に利用される脂肪酸は、女性では血中脂肪酸が主であるのに対し、男性では筋内脂肪の利用が高く、また運動中の糖利用の割合は女性の方が高いことが報告されている(Mittendorfer et al. 2002)。男性ホルモンが結合するアンドロゲン受容体の感受性が男性の僧帽筋で他の筋肉より高いことから(Kadi et al. 2000)、男性の肩や腕周辺の筋が発達しやすいなどの上腕の筋 / 脂肪量の男女差が局所運動による基質利用に影響する可能性がある。さらに、ヒトが四足歩行をしていた時代の腕は、体幹

と足を繋ぐ脚と同様に体幹からの大きな力を伝達する役割をしていたと考えられる。そこで、四肢の身体組成と局所的な運動の代謝反応を遺伝的な要因と四足動物の行動環境的な影響と関連付けて検討していくこととした。

(4) 環境と児童の体脂肪の関係

児童の健全な発育・発達は自然環境と密接な関係があり、また急激な経済発展などの由来による栄養学的負調整な食物摂取は、成人後に引き起こされる生活習慣病の潜在的な誘因にもなり得ると仮説し、予防医学的にもその原因発見を探る。この20年間で急速な経済発展をした中国の大都市(上海)の児童と経済的にすでに安定した日本の児童(大阪、岐阜)の形態・身体組成を測定・比較することで、食事性由来と思われる肥満とその要因を解析していく。特に思春期前(Tanner, stage1)の児童(8歳から11歳総数で、中国、男子127名及び女子146名、日本、男子176名及び女子138名)を対象に測定を進めた。

4. 研究成果

(1) 本研究では、BI法をもちいた全身の推定脂肪率と、MRI法で求めた筋/脂肪比の結果を比較検討した。MRI法の脂肪断面積比率とBI法の脂肪率の間には、大腿・上腕のどちらも有意な相関関係が認められた(上腕部: $p < 0.01$, 大腿部: $p < 0.01$)。MRI法とBI法によって求めた上腕脂肪断面積比率と体脂肪率の比較において、上腕部および大腿部ともに、男女ともにBI法はMRI法の値よりも有意な低値が認められた(男性: $p < 0.01$, 女性: $p < 0.01$)。このことから、MRI法とBI法は定性的には相関しているといえるが、MRI法での測定部位は、BI法の体脂肪率よりも上腕脂肪断面積比率は高くなっていることが示唆された。BI法によって推定された女性の upper limb の%FATは、下肢の%FATと全身脂肪率より有意に高い値が認められた。また、MRI法・BI法どちらも女性が顕著に高い値を示しており、若年健常者においても女性の脂肪率の高さが再認識できる知見であった。また、男性のBI法では上・下肢の%FATおよび全身脂肪率に有意な差は見られていなかったが、MRI法の上肢と下肢の間に有意な差がみられた。これは、MRI法で測定した局所の特徴が現れていると考えられる(Yamauchi et al. 2015)。

筋と脂肪の比率に関しては、上腕における筋断面積が大きい者ほど皮下脂肪断面積が有意に小さいという関係性が認められた($p < 0.01$)。一

方、上腕における皮下脂肪断面積や筋断面積と筋内脂肪量の関係、ならびに上腕三頭筋の筋内脂肪の含有量においても検討したが、これら一連の筋内脂肪の定量に関しては、再現性も含めて方法論的に慎重に取り扱うこととし、現時点での公表は差し控える判断を下した。一方、上腕の皮下脂肪断面積は、男性よりも女性が有意な高値を示していた($p < 0.05$)。また筋断面積は、女性は男性より有意な低値が認められた($p < 0.01$)。以上のことから、上腕の筋断面積が少ない者ほど筋周辺の皮下脂肪量は多く筋内脂肪の蓄積も多い、つまり、筋活動レベルが低いと余剰エネルギーは筋内外の脂肪として蓄積する可能性が示唆された(Yamauchi et al., 2015)。

(2) 健常成人男女に対して、上腕の極めて低強度の局所運動であっても、男女ともにエネルギー代謝(酸素消費量)が有意に増加した(男性: $p < 0.05$, 女性: $p < 0.05$)。この時、運動前後で、血中グルコース濃度は男女ともに有意に低下した(男性: $p < 0.05$, 女性: $p < 0.05$)。一方、血中乳酸濃度は、男性では運動によって有意に増加したが($p < 0.01$)、女性では変化が認められなかった。こうした低強度の局所運動であっても、ウォーキングなどと組み合わせることにより、エネルギー消費を促し、代謝疾患の改善などに寄与する可能性が示唆された(Hashimoto et al. paper in preparation)。

(3) 本研究では、MRI法により取得した若年男性、若年女性、女子長距離選手、女子短距離選手、中年女性の大腿部の筋断面積及び皮下脂肪面積との関係について、比較検討を行った。その結果、女子長距離を除いた4群間での筋断面積と皮下脂肪断面積との間には有意な負の相関関係が認められた。このことから、大腿部の筋活動レベルが低いと、余ったエネルギーは体内の脂肪として蓄積する可能性があることが示唆された。女子長距離に関しては、日々相当量の走運動トレーニングを実施しているにも関わらず、筋断面積が顕著に小さいという結果は、筋タンパク質の分解を促す長時間の筋収縮に対して、分解を抑制し得る十分な栄養摂取が遂行できていない可能性が示唆された。

一方、体重あたりの皮下脂肪断面積で一般若年女性や短距離選手より低い値を示していた女子長距離選手だが、%FATについては一般若年女性と女子短距離選手より高い値を示した。

その原因として、持久性運動アスリートでは、筋グリコーゲンの消費を抑える為に、優先的に脂肪が使用出来るよう、骨格筋内にある程度の脂肪を合成・蓄積していることが考えられた。女子長距離選手の大腿部は、筋断面積は少なく、皮下脂肪面積も少ないものの、相対的に高い脂肪量を有して、運動中の脂質エネルギー代謝を円滑にするとともに、走りの経済性を高めることで、持久性パフォーマンスを担保していると推察される。

一方、陸上短距離では、女性群においては顕著に筋横断面積が大きく、皮下脂肪断面積が小さかった。陸上短距離群における高強度の大腿部筋収縮活動を継続的にトレーニングで行うことが、結果として大腿部の皮下脂肪の動員を促し、皮下脂肪の減少を引き起こしたと考えられた。この知見は、陸上長距離群での筋/脂肪比とともに、大腿部の筋活動に伴う筋内外脂質リクルートメントについて考察することを目的とした本研究の根幹を成すものであった(Hashimoto et al. paper in preparation)。

(4) 中国と日本の8歳から11歳の児童において、身長、体重は、いずれの年齢においても、また男女において中国の児童が統計的に有意に高い値を示した。いずれの年齢において、男子で8-10 cmの高値を示し、女子で6-7 cmの高値を示した。また、体重においては、いずれの年齢においても、中国男子は日本男子に比べ、体重は7-11 kg高く、女子では4-7 kg高い値を示した。上海ではこの30年間で工業化が著しく進み、伴って人口の爆発的増加を生み、格差もたしたが、市民の収入が増した(Leung et al. 2015)。これらの経済的变化は食生活を変え、過剰な、しかも不適正な栄養摂取の状態になり、糖尿病や心疾患の誘因になる肥満化を児童早期に発症していると指摘している。本研究の結果においても、日本人の児童と比較して、中国人(上海)児童が大きく体重において高値を示し、また、男子児童の体脂肪率は日本人児童に比し、8歳、9歳、10歳及び女子8歳において統計的に有意に高値を示した。両国の比較では、中国の児童男子が肥満化していると言える。Dong et al. (2013)によれば、上海市内の就学前の幼児が過体重になったり、肥満化していることを指摘し、その原因が摂取栄養、食べ方、家族要因と密接に関係していると述べている。また、Cui and Dibley (2012)や Cheng (2007)によれば、中国人

の食生活が変貌し、エネルギーの消費量が増加し、しかも脂肪を多く含んだ、炭水化物の比較的少ない食事に内容が変わってきたためと説いている。さらに、年齢によって、体脂肪率がどのように変化するかをみると、日本人児童男子は、8歳で体脂肪率が平均16.2%であり、11歳で17%と僅かに上昇するが、中国人児童では8歳で19.9%であり、11歳で18.8%と逆に僅かに減少していた。また、女子児童についてみると、日本人児童女子は、8歳で平均20.0%であり、11歳で23.7%と増加をしているが、中国人児童女子は、平均24.0%(8歳)から18.7%と減少している。この変化の差異が人種や生活習慣の違いに起因するかどうか一層の解析が必要である(Taguchi et al. 2015)。現在論文執筆中である(Taguchi et al. paper in preparation)。

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8件)

1) Taguchi S, Ogoh S, Hashimoto T, Yamasaki S, Okamoto H, Yamori Y, Hatton DC, and McCarron DA. Spaceflight and biohistochemical alterations of antigravity soleus muscle in spontaneously hypertensive rats (SHR) to dietary low- and high-calcium intake. *Journal of Bioanalysis & Biomedicine*, 8(3):41-47, 2016. (査読有り)

2) Morita N, Yamauchi J, Kurihara T, Fukuoka R, Otsuka M, Okuda T, Ishizawa N, Nakajima T, Nakamichi R, Matsuno S, Kamiie S, Shide N, Kambayashi I and Shinkaiya H. Toe flexor strength and foot arch height in children. *Medicine & Science in Sports & Exercise*. 47: 350-356, 2015. (査読有り)

3) Otsuka M, Yamauchi J, Kurihara T, Morita N and Isaka T. Toe flexor strength and lower-limb physical performance in adolescent. *Gazzetta Medica Italiana Archivio per le Scienze Mediche*. 174: 307-313, 2015. (査読有り)

4) Yamauchi J, Kurihara T, Yoshikawa M, Taguchi S, and Hashimoto T. Specific characterization of regional storage fat in upper and lower limbs of young healthy adults. *SpringerPlus* 4: 402, 2015. (査読有り)

5) 松生香里、岡崎和伸、杉田正明・長距離・

マラソン選手の腸内環境とコンディションの関連 -意識調査と外環境の変化に伴う影響について- . 陸上競技研究紀要 . Vol.10, p71-86, 2014. (査読有り)

6) Masuda S, Tanaka T, Masuzaki H, Nakao K, and Taguchi S. Overexpression of leptin reduces the ratio of glycolytic to oxidative enzymatic activities without changing muscle fiber types in mouse skeletal muscle. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 37(1): 169-173, 2014. (査読有り)

7) Kurihara T, Yamauchi J, Otsuka M, Tottori N, Hashimoto T, and Isaka T. Maximum toe flexor muscle strength and quantitative analysis of human plantar intrinsic and extrinsic muscles by a magnetic resonance imaging technique. *Journal of Foot and Ankle Research*, 7:26, 2014. (査読有り)

8) Hashimoto T, Yokokawa T, Endo Y, Iwanaka N, Higashida K, and Taguchi S. Modest hypoxia significantly reduces triglyceride content and lipid droplet size in 3T3-L1 adipocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 440(1):43-49, 2013. (査読有り)

[学会発表] (計 12 件)

1) 小池英晃, 森田憲輝, 小山桂史, 橋本健志, 田口貞善, 山内潤一郎. 高所 4000m 酸素環境下における活動筋の発汗特性. 第 70 回日本体力医学会大会, September 18, 2015 (体力科学 64(6): 644, 2015). 和歌山県民文化会館 (和歌山県)

2) 山内潤一郎, 小池英晃, 清水麻由子, 湯浅健人, 小山桂史, 橋本健志, 田口貞善. 歩動作時の上肢と下肢: ヒトが 4 足で歩くと? 第 70 回日本体力医学会大会, September 18, 2015 (体力科学 64(6): 562, 2015). 和歌山県民文化会館 (和歌山県)

3) 小池英晃, 森田憲輝, 小山桂史, 橋本健志, 田口貞善, 山内潤一郎. 高所 4000m 酸素環境曝露における低強度運動時のエネルギー利用と血中乳酸濃度. 第 164 回日本体力医学会関東地方会, July 11, 2015. 桐蔭横浜大学 (神奈川県)

4) Taguchi S, Otsuka M, Suzuki K, Yamasaki S, Kitagawa K, Yin X-J, Ji L, Zhou Y-R, Liu X, and Hashimoto T. Ambient Particular Matter (pm)

Exposure Deteriorates Pulmonary Function in Early Childhood in Shanghai, China. *62th American College of Sport Medicine*, May 29, 2015. San Diego (USA)

5) 小池英晃, Kimi Kobayashi, 小山桂史, 田口貞善, 山内潤一郎. 吸湿式発汗計によるヒト運動時の部位別発汗と筋活動. NSCA ジャパン ストレングス&コンディショニングカンファレンス 2014, December 6, 2014. 国土館大学 (東京都)

6) 山内潤一郎, 小山桂史, Kimi Kobayashi, 小池英晃, 田口貞善. ヒトはなぜ二足で歩くのだろうか? 第 69 回日本体力医学会大会, September 21, 2014 (体力科学 63(6): 611, 2014). 長崎大学 (長崎県)

7) Yoshikawa M, Kurihara T, Taguchi S, Yamauchi J, and Hashimoto T. The relationship between subcutaneous fat and intramuscular lipid in human limb. *19th European College of Sport Science*, July 3, 2014. Amsterdam (Netherland)

8) 小池英晃, Kimi Kobayashi, 小山桂史, 田口貞善, 山内潤一郎. ダイナミック運動時の活動筋の発汗特性について. 第 69 回日本体力医学会大会, September 20, 2014 (体力科学 63(6): 594, 2014). 長崎大学 (長崎県)

9) 吉川万紀, 栗原俊之, 田口貞善, 山内潤一郎, 橋本健志. ヒト上腕部における皮下脂肪と筋内脂肪の関係. 第 68 回日本体力医学会, September 22, 2013. 日本教育会館 (東京都)

10) Yoshikawa M, Kurihara T, Taguchi S, Yamauchi J, and Hashimoto T. Body composition of human limbs by using BIA and MRI. *18th European College of Sport Science*, June 28, 2013. Barcelona (Spain)

11) Yin X-J, Ji C-Y, Ji L, Guo Q, Li S-C, Taguchi S, Tanaka T. Relationship between Waist Circumference and Body Mass Index in Chinese Children and Adolescents. *60th American College of Sport Medicine*, May 30, 2013. Indianapolis (USA)

12) Taguchi S, Masuda S, Egawa T, Hayashi T. Aging, not Inactivity, Alters Lactate Metabolic Properties to Facilitate Lactate Oxidation In Fast-type Skeletal Muscle. *60th American College of Sport Medicine*, May 29, 2013. Indianapolis (USA)

(1)研究代表者

田口 貞善 (TAGUCHI, Sadayoshi)

立命館大学・総合科学技術研究機構・客員研究員

研究者番号: 90086819

(2)研究分担者

山内 潤一郎 (YAMAUCHI, Junichiro)

首都大学東京・人間健康科学研究科・准教授

研究者番号: 70552321

橋本 健志 (HASHIMOTO, Takeshi)

立命館大学・スポーツ健康科学部・准教授

研究者番号: 70511608

森田 憲輝 (MORITA, Noriteru)

北海道教育大学・教育学部・准教授

研究者番号: 10382540

栗原 俊之 (KURIHARA, Toshiyuki)

立命館大学・スポーツ健康科学部・助教

研究者番号: 10454076

大塚 光雄 (OTSUKA, Mitsuo)

立命館大学・スポーツ健康科学部・助教

研究者番号: 20611312

松生 香里 (MATSUO, Kaori)

東北大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号: 60513570