

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年6月17日現在

機関番号：82632

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2012

課題番号：21300241

研究課題名（和文）核磁気共鳴法による客観的尺度を用いた新しい筋コンディション評価方法の開発と応用

研究課題名（英文）Development and application of a novel method for evaluating the muscle condition by nuclear magnetic resonance

研究代表者

高橋 英幸（TAKAHASHI HIDEYUKI）

日本スポーツ振興センター・国立スポーツ科学センター・スポーツ科学研究部・

副主任研究員

研究者番号：00292540

研究成果の概要（和文）：核磁気共鳴法を用いた骨格筋のグリコーゲン(Gly)および筋細胞脂質含有量の非侵襲的測定方法を確立させ、ヒトの筋 Gly の日内変動は小さいこと、マラソンレースにより筋 Gly が大きく減少することを実証した。さらに、筋エネルギー代謝および酸素化動態を同時に測定することにより、筋の有酸素的および無酸素的代謝能力の評価を可能とした。これらにより、エネルギー含有量とエネルギー再合成能力の両方の視点から、客観的データに基づく筋コンディショニングが可能であることが示された。

研究成果の概要（英文）：The noninvasive evaluation of muscle glycogen and intra- and extracellular lipid contents in human skeletal muscle was established by magnetic resonance spectroscopy. Using it, we demonstrated that the diurnal variation in muscle glycogen is small and that the glycogen content markedly decreases after a marathon race. Moreover, we could evaluate the aerobic and anaerobic capacities of muscle through the simultaneous measurements of muscle energy metabolism and oxygenation dynamics. Therefore, it was suggested that evaluation of the muscle condition based on objective data from both viewpoints of energy content and energy supply was possible by employing the nuclear magnetic resonance method.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,600,000	780,000	3,380,000
2010年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2011年度	2,900,000	870,000	3,770,000
2012年度	2,100,000	630,000	2,730,000
年度			
総計	9,600,000	2,880,000	12,480,000

研究分野：運動生理学

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学、スポーツ科学

キーワード：磁気共鳴分光法、骨格筋、コンディショニング、筋グリコーゲン、筋エネルギー代謝

1. 研究開始当初の背景

スポーツの競技会等において競技者が最高のパフォーマンスを発揮するためには、競技者のコンディショニングを最良の状態に調整する、いわゆる、コンディショニングが重要

となる。コンディショニングの対象となる要素は競技種目より、そして、個人により多岐に渡るが、その中で、運動を引き起こす源である骨格筋のコンディショニングは、競技パフォーマンスに直接的に影響するため、全て

の競技において重要となることは間違いない。しかしながら、骨格筋自体がどのような状態にあるのかは、方法論上の問題から、トレーニングを行う中で競技者自身が主観的に把握しているのが実情であり、その状態を数値化して、客観的なデータとして評価することは困難であった。

先端画像診断機器として主に医学分野で応用されている核磁気共鳴 (nuclear magnetic resonance: NMR) 法は、磁気と電磁波を用いるだけで様々な生体情報を得ることができる方法である。NMR 法は大きく二つ、磁気共鳴映像法 (magnetic resonance imaging: MRI) と磁気共鳴分光法 (magnetic resonance spectroscopy: MRS) に分けられる。これらによって、骨格筋そのものの量的および質的状态とその変化を客観的に評価することが可能になりつつある。MRI では、骨格筋の形態情報を得ることができるとともに、MRI 特有の緩和時間といった指標を用いて機能評価も行うことが可能である。一方、MRS では、運動に関与する筋内の化学化合物を半定量的に測定することができる。リンの MRS (^{31}P -MRS) では、クレアチンリン酸 (PCr) やアデノシン三リン酸 (ATP) といったリン酸代謝化合物、プロトンの MRS (^1H -MRS) では、筋細胞内および細胞外脂肪の含有量を測定することができる。さらに、これまでの我々の研究により、炭素の MRS (^{13}C -MRS) を用いることにより、筋グリコーゲン (Gly) 含有量を評価することのできる可能性も示されている。MRI や MRS は全て非侵襲的であり、これらによる骨格筋そのもののコンディション評価方法が確立されれば、それを用いて導き出される客観的科学データに基づいたトレーニング計画や食事計画の立案が可能となり、その結果、競技パフォーマンスの向上、そして、日本の国際競技力向上に大きく貢献すると考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、NMR を用いて骨格筋の状態・能力を客観的に評価するための方法を確立させるとともに、それらを競技者に応用して、実際の筋コンディショニングにおける有用性を検証することを目的とした。

3. 研究の方法

上記の目的を達成するために以下の実験を実施した。

(1) 実験 1 : ^{13}C -MRS による筋 Gly 濃度定量方法の確立と応用

① 3T-MR 装置を用いた ^{13}C -MRS による筋 Gly 濃度定量方法の確立と妥当性の検証

3T-MR 装置における ^{13}C -MRS を可能とするために、専用の ^1H - ^{13}C サーフェイスコイルを作成するとともに、異なる Gly 濃度の基準溶

液とヒト骨格筋を対象とした基礎実験を実施して、 ^{13}C -MRS を用いた筋 Gly 濃度定量の最適条件の検討と定量妥当性の検証を行った。
② ^{13}C -MRS を用いた筋 Gly の日内変動および年内変動の検証

ヒト骨格筋における筋 Gly 濃度の日内変動を明らかにするために、健康成人を対象とした 24 時間の通常生活において、経時的に 6 回、 ^{13}C -MRS を用いた外側広筋 Gly と血糖値を測定するとともに、その間の食事摂取量を評価した。さらに、14 か月にわたり経時的に筋 Gly の測定を実施して、その年内変動を検討した。

③ ^{13}C -MRS を用いた長時間・高強度運動による筋 Gly 低下の検出

^{13}C -MRS を用いて、疲労困憊に至る長時間・高強度自転車運動前後の外側広筋、および、20km 走前後の下腿三頭筋を対象として、 ^{13}C -MRS を用いた筋 Gly 濃度測定の応用性を検証した。

④ 競技者における実際の Gly ローディングとマラソンへの ^{13}C -MRS の応用

マラソン大会に参加した競技者を対象として、事前に短期間 (24 時間) および 3 日間の Gly ローディングを実施し、そのローディング前後、マラソン前後に、 ^{13}C -MRS を用いた下腿三頭筋の Gly 濃度の測定を行った。

(2) 実験 2 : ^{31}P -MRS と近赤外分光法 (near infrared spectroscopy: NIRS) の同時測定を用いた筋エネルギー代謝能力の評価

MR 装置内で、最大発揮筋力 (maximum voluntary contraction: MVC) の 30% および 40% 強度の等尺性膝伸展運動を行わせ、外側広筋を対象として、 ^{31}P -MRS によるリン酸化合物と筋細胞内 pH の測定、および、NIRS による筋酸素化動態の同時測定を実施し、筋代謝能を評価する上での有用性を検討した。

(3) 実験 3 : ^1H -MRS を用いた筋細胞内・外脂肪含有量の定量と緩和時間への影響

ヒト骨格筋を対象として、3T-MR 装置を用いた ^1H -MRS による筋細胞内および筋細胞外脂肪濃度の定量方法を確立させるとともに、筋特性や筋活性の評価として利用されている緩和時間に及ぼす脂肪濃度の影響を検討した。

4. 研究成果

(1) 実験 1-①における基礎的検討では、Gly 濃度の異なる 4 種類の基準溶液 (40, 80, 120, 160mM) を対象として定量性の検討を行った結果、Gly 濃度と ^{13}C -MRS により得られた Gly ピーク面積との間には、有意な高い相関関係が認められた ($r=0.998$, $P<0.001$)。さらに、ヒト骨格筋の Gly 濃度の定量評価に最適な測定条件を明らかにするために、積算回数を 1, 800, 3, 000, 4, 500, 9, 000 回と変化させて測定を行った結果、積算回数の増加とともに

信号/雑音比は増加し、3,000回と4,500回の間で特に上昇することが示された。以上の結果から、 ^{13}C -MRSによる筋Gly濃度定量の妥当性が示されたとともに、ヒト骨格筋を対象として、被検者への負担を軽減させて、十分な定量性のある筋Gly濃度の測定を実施するためには、繰り返し時間200msで4,500回の積算(データ収集時間15分)の条件が最適であることが明らかとなった。

(2)実験1-②における ^{13}C -MRSを用いた筋Gly濃度の日内変動に関する検討では、1日間の炭水化物摂取量は $6.8 \pm 2.4\text{g/kg/日}$ であり、測定1回目の外側広筋Gly濃度は $90.6 \pm 27.6\text{mM}$ であった。筋Gly濃度の個人内変動は $11.6 \pm 4.4\%$ であったが、全体として、測定時間の違いによる濃度の差は認められなかった(図1)。これらのことから、運動などを行わない通常生活では、動物の筋とは異なり、ヒトの筋Gly濃度に対する食事や睡眠の影響はほとんど認められず、その日内変動は小さいことが明らかとなった。また、14か月にわたり経時的に筋Glyの測定を行った結果、その変動幅は 42.3mM 、 46.8% であり、日内変動と比較してより大きく変動することが示された。これらの知見は、筋Glyの視点から筋コンディションを評価する際の基礎的データとして有用になるとともに、筋Gly動態の評価を行う場合には、測定前の運動や食事状況も考慮する必要があることを示唆している。

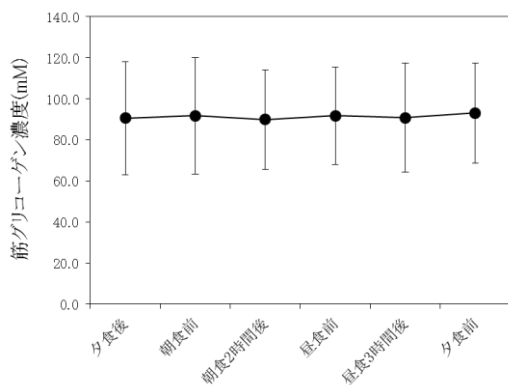


図1. ^{13}C -MRSにより評価されたヒト外側広筋グリコーゲン濃度の日内変動

(3)実験1-③において、1時間以上にわたる、疲労困憊に至る長時間・高強度自転車運動前後で測定した ^{13}C -MRSの結果を図2に示した。運動により、外側広筋のGly濃度は運動前値の17%にまで低下した。回復過程では、運動45分後まで比較的速く回復したが、その後2時間後まではほぼ一定の値を示した。その後、 $7\sim 9\text{g/kg/日}$ の炭水化物を摂取することによ

り、筋Gly濃度は36時間後までに運動前値まで回復し、さらに、48時間後には運動前値よりも高値を示す、いわゆる超回復が生じる傾向が認められた。一方、20km走を行わせた実験では、運動により下腿三頭筋のGly濃度は運動前値の46%にまで減少した。運動後60分までの回復は僅かであったが、その後徐々に回復し、24時間後までに運動前値まで回復した。以上の結果から、大腿よりも体積の小さな下腿の筋においても、 ^{13}C -MRSを用いて、十分な定量性のある筋Gly測定を実施可能なこと、そして、15分間の時間分解能を可能にすることにより、運動後回復初期のインスリン非依存性の速い回復と、その後のインスリン依存性の遅い回復を分けて評価できることが明らかとなった。

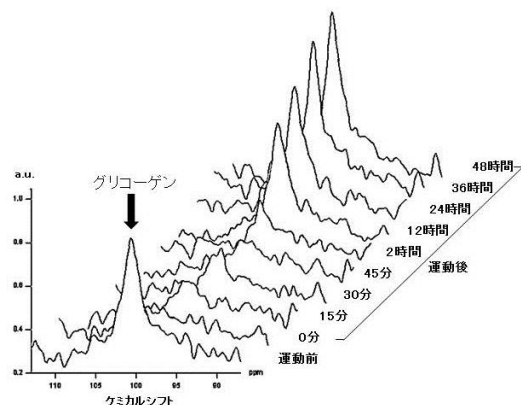


図2. 長時間・高強度自転車運動前後の外側広筋の ^{13}C -MRSスペクトルにおけるグリコーゲンピークの変化

(4) ^{13}C -MRSによる筋Gly定量を用いた、より応用的な実験として、実験1-④において実施した短期間(24時間)のGlyローディングでは、 10.3g/kg/日 の炭水化物を摂取させることにより、下腿三頭筋の筋Gly濃度が25%増加した(図3)。マラソン後の測定では、マラソン終了3時間後においても運動前値の27%までにしか回復していなかったが、その後、36時間後までに、Glyローディング前値まで回復した(図3)。一方、より長期間のGlyローディングとして、マラソン前に、 8.1g/kg/日 の炭水化物を3日間摂取した結果、下腿三頭筋のGly濃度は17.6%増加した。マラソン20時間後の筋Glyはマラソン前値の60.4%であり、その後回復傾向が認められたが、54時間後でもローディング前値まで回復しなかった。これらのことは、実際の競技者におけるトレーニングや競技大会、Glyローディングにおいて、 ^{13}C -MRSを用いた筋Gly濃度の定量が可能であること、そして、実際のマラソンにより筋Glyが大きく低下することを示唆している。

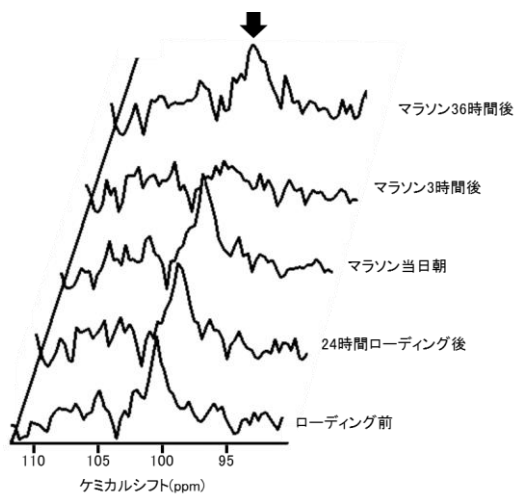


図 3. 24 時間のグリコーゲンローディングおよびマラソン前後の下腿三頭筋の ^{13}C -MRS スペクトルにおけるグリコーゲンピーク (矢印) の変化

(5) 実験 2 では、非磁性体の NIRS 用検出器を作製して、MR 装置内で ^{31}P -MRS によるリン酸化合物や筋細胞内 pH の測定と、NIRS による筋酸素化測定を同時に実施できる測定系を確立させた。この測定方法を用いて、MR 装置内で 30%MVC と 40%MVC の強度での等尺性収縮中に、外側広筋を対象として測定を行った結果、PCr および筋細胞内 pH レベルと脱酸素化ヘモグロビン (deoxyHb) の割合との間に個人毎に異なる相関が認められるとともに、同じ PCr、筋細胞内 pH レベルに対する deoxyHb レベルにおいて個人間で大きな差が観察された (範囲 31%~91%)。これらのことは、個人間の酸素利用能と無酸素的エネルギー供給能力の相対的貢献度の違いを、 ^{31}P -MRS と NIRS の同時測定によって評価できることを示している。以上のような、 ^{31}P -MRS と NIRS の同時測定を用いた筋代謝能力測定と、これまで我々が報告した、運動後の PCr 回復速度を利用した筋の有酸素的能力の測定を組み合わせることにより、総合的な筋エネルギー代謝能力の評価が可能になることが示唆された。

(6) 実験 3 における基礎的実験として、3T-MR 装置を用いた ^1H -MRS によるヒト骨格筋の筋細胞内脂肪 (intramyocellular lipid: IMCL) および筋細胞外脂肪 (extramyocellular lipid: EMCL) 濃度定量法の確立のために、種々の筋、コイルを用いた検討を行った。その結果、ボリュームコイルを用いた下腿の前脛骨筋およびヒラメ筋の IMCL・EMCL 濃度は比較的良好な感度、そして、より高い精度で測定することが可能であるが、他の大腿部や下腿部の筋では、筋の構造の違いやコイル感度の違いが原因となり、同じデータ収集時間

で、定量に十分な信号/雑音比のスペクトルを得ることができなかった。確立させた ^1H -MRS 方法で前脛骨筋とヒラメ筋の IMCL および EMCL の測定を行うとともに、MRI を用いた緩和時間の測定を行った結果、特に、より高い脂肪濃度が観察されたヒラメ筋で、脂肪濃度と緩和時間との間に有意な相関が認められた (図 4&5)。これらの結果は、筋と異なる緩和時間を有する脂肪含有量が、ヒト骨格筋の緩和時間の測定で影響を及ぼすことを示しており、筋活動・動員に対する一過性の運動、あるいは、一定期間のトレーニングの影響を緩和時間で評価する際には、IMCL・EMCL 含有量や筋の違いの影響も考慮する必要があることを提起している。

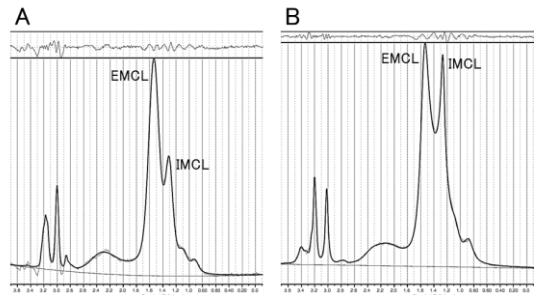


図 4. 前脛骨筋 (A) とヒラメ筋 (B) の典型的な ^1H -MRS スペクトル
IMCL: 筋細胞内脂肪 EMCL: 筋細胞外脂肪

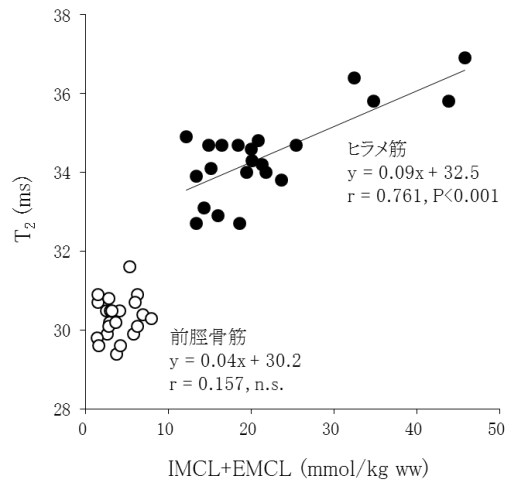


図 5. 前脛骨筋とヒラメ筋における緩和時間 (T_2) と筋細胞内 (IMCL) と筋細胞外脂肪 (EMCL) 濃度との関係

以上の (1)~(6) の結果から、骨格筋の有するエネルギー含有量とエネルギー再合成能力を評価することのできる NMR 手法が確立できたこと、そして、これらを活用することにより、客観的データに基づく新たな視点からの筋コンディショニングが可能になることが示唆された。

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高橋英幸、俵紀行、スポーツ科学におけるMRI—MR Spectroscopyを中心に—、ROUTINE CLINICAL MRI 2011 BOOK, 映像情報 Medical 増刊号、査読無、42(14)、2011、81-89
- ②高橋英幸、MRI・MRS, II. コンディショニングの評価とその活用—具体的な評価手法とその応用—、日本臨床スポーツ医学会(編)、スポーツ損傷予防と競技復帰のためのコンディショニング技術ガイド、臨床スポーツ医学、査読無、28、2011、178-185
- ③高橋英幸、瀧澤修、¹H MRS を用いた筋温評価とスポーツ医・科学への応用、映像情報 Medical、査読無、43(6)、2011、532-536

[学会発表] (計12件)

- ①高橋英幸、本間俊行、鈴木康弘、大岩奈青、川中健太郎、和田正信、磁気共鳴分光法を用いた骨格筋特性評価法の検討—筋線維組成と筋グリコーゲンの視点から—、第64回日本体力医学会大会、2009年9月、新潟
- ②高橋英幸、本間俊行、鈴木康弘、大岩奈青、俵紀行、奥脇透、川中健太郎、瀧澤修、丸山克也、³¹P MRS、¹³C MRS および MRI を用いた骨格筋特性評価法の検討、第37回日本磁気共鳴医学会大会、2009年10月、神奈川
- ③Hideyuki Takahashi、Toshiyuki Homma、Yasuhiro Suzuki、Nao Ohiwa、Noriyuki Tawara、Toru Okuwaki、Kentaro Kawanaka、Masanobu Wada、Osamu Takizawa and Katsuya Maruyama、Evaluation of muscle properties by ³¹P-MRS, ¹³C-MRS and MRI with a general clinical MR device、57th Annual Meeting of the American College of Sports Medicine、2010年6月、Baltimore、USA
- ④高橋英幸、俵紀行、瀧澤修、丸山克也、¹H MRS と LCMoel を用いたヒト骨格筋脂肪定量と緩和時間との関係、第39回日本磁気共鳴医学会大会 2011年9月、福岡
- ⑤Hideyuki Takahashi、Recovery strategies for elite athlete: application of ¹³C MRS for dietary strategies after exercise、Singapore Sports Institute (SSI) Sports Science & Medicine Symposium、2012年5月、Singapore
- ⑥高橋英幸、川原貴、MR による筋コンディショニングの評価、シンポジウム：スポーツと疲労・コンディショニング、第8回日本疲労学会、2012年6月、東京
- ⑦高橋英幸、亀井明子、大岩奈青、奥脇透、川原貴、川中健太郎、瀧澤修、丸山克也、¹³C MRS を用いた筋グリコーゲン含有量評価法の確立—運動による変化の描出—、第40

回日本磁気共鳴医学会大会、2012年9月、京都

[図書] (計2件)

- ①高橋英幸、化学同人、スポーツとエネルギー供給機構、富樫健二(編)、スポーツ生理学、2013、13-24

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋 英幸 (TAKAHASHI HIDEYUKI)
日本スポーツ振興センター・国立スポーツ科学センター・スポーツ科学研究部・副主任研究員
研究者番号：00292540

(2) 研究分担者

川原 貴 (KAWAHARA TAKASHI)
日本スポーツ振興センター・国立スポーツ科学センター・メディカルセンター・統括研究部長
研究者番号：60169753
奥脇 透 (OKUWAKI TORU)
日本スポーツ振興センター・国立スポーツ科学センター・メディカルセンター・副主任研究員
研究者番号：20274871
大岩 奈青 (OHIWA NAO)
日本スポーツ振興センター・国立スポーツ科学センター・スポーツ科学研究部・研究員
研究者番号：50443247
亀井 明子 (KAMEI AKIKO)
日本スポーツ振興センター・国立スポーツ科学センター・スポーツ科学研究部・研究員
研究者番号：10276636
本間 俊行 (HOMMA TOSHIYUKI)
日本スポーツ振興センター・チーム「ニッポン」マルチサポート事業・契約職員
研究者番号：90392703
川中 健太郎 (KAWANAKA KENTARO)
新潟医療福祉大学・健康科学部・准教授
研究者番号：80339960

(3) 研究協力者

瀧澤 修 (TAKIZAWA OSAMU)
シーメンス・ジャパン株式会社・リサーチ & コラボレーション部・研究員
丸山 克也 (MARUYAMA KATSUYA)
シーメンス・ジャパン株式会社・リサーチ & コラボレーション部・研究員