

令和元年6月10日現在

機関番号：34315

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K13059

研究課題名(和文) 運動による心血管疾患リスクの軽減に関するアディポカイン産生部位の同定

研究課題名(英文) Identification of local sites of adipokine production involved in the reduction of cardiovascular disease risk by exercise training

研究代表者

家光 素行 (Iemitsu, Motoyuki)

立命館大学・スポーツ健康科学部・教授

研究者番号：90375460

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、中高齢者の有酸素性トレーニングによりアディポカインの分泌が動脈硬化度の低下に關与するか否かについて検討した。中高齢者男女を対象に、60-70% V_{O2peak} 運動強度の自転車運動(週3日、45分間)を8週間実施した。運動トレーニングにより動脈硬化度は有意に低下し、アディポカインである adiponectin, CTRP3, CTRP5の血中濃度は有意に増加した。これらのアディポカインと動脈硬化度の変化率との間には負の相関関係が認められた。以上の結果から、中高齢者の有酸素性トレーニングによる動脈硬化度改善の機序に adiponectin, CTRP3, CTRP5が關与する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、血液中に存在する血管内皮細胞由来の拡張・収縮因子に加えて、新たに脂肪細胞由来の血管調節性因子の關与を提示することができ、脂肪組織と動脈血管との「臓器間のネットワーク」による新たな運動効果の機序を提案することができる。また、アディポカインを標的とした運動療法への応用が期待できる。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to clarify whether the association with regular aerobic exercise-induced reduction of arterial stiffness to circulating levels of adipokines in middle-aged and older adults. Fifty-two healthy middle-aged and older subjects were divided into two groups: exercise intervention and sedentary controls. Subjects in the training group completed 8-week of aerobic exercise (60-70% peak oxygen uptake for 45 min, 3 days/week). In the training group, arterial stiffness indexes were significantly decreased, and circulating levels of adiponectin, CTRP3 and CTRP5 were significantly increased after the intervention. Additionally, significant negative correlations between the training effects of circulating adiponectin, CTRP3, and CTRP5 levels and arterial stiffness indexes were seen. These results suggest that the increased in these adipokines secretion may be associated with exercise training-induced alternation of arterial stiffness in middle-aged and older adults.

研究分野：運動生理・生化学

キーワード：アディポカイン 動脈硬化 脂肪 有酸素性運動

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、高齢化社会が進む中、国内では虚血性心疾患、脳血管疾患などの動脈硬化を起因とする死亡原因が26%程度占めており、早期から心血管疾患リスクを軽減させるかが国内外ともに重要な課題となっている。その背景には体内の脂肪の過剰な蓄積(肥満)が大きな原因である。体内の脂肪は、内臓や皮下脂肪がイメージされるが、それだけでなく、各末梢組織内・外においても蓄積され、心臓や肝臓の他、骨格筋では、筋細胞内脂肪(Intramyocellular lipid: IMCL)と筋細胞外脂肪(Extramyocellular lipid: EMCL)の2種類などが存在する。内臓や皮下脂肪の蓄積は心血管疾患リスクになることは多く検討されてきたが、現在までに、心外膜脂肪(Choi TY et al. Atherosclerosis, 2013)や肝細胞内脂肪(Chen JY et al. J Am Soc Hypertens, 2012)の蓄積、骨格筋のIMCLやEMCL含有量(Hasegawa et al. Am J Hypertens, 2015)の蓄積は心血管疾患リスクに関与することが報告されている。このように、全身の中でも局所的な部位での脂肪蓄積が動脈硬化リスクにとってより重要である可能性が考えられる。

習慣的な有酸素性運動は、脂肪を減少させ、動脈硬化リスクを軽減させる効果がある(Hasegawa et al. J Hum Hypertens, 2016)。このような運動による動脈硬化リスクの改善効果の機序の1つとして、脂肪が減少することにより脂肪細胞から産生されるアディポカインと総称される生理活性物質が血液を介して動脈血管に作用することが関与する可能性が報告されている(Lee S et al. Am J Physiol 2011)。しかしながら、習慣的な有酸素性運動による脂肪減少がどのようなアディポカインを産生させ、動脈血管に作用しているか明らかにされていない。

2. 研究の目的

動脈硬化に対する運動効果のメカニズムに関与するアディポカインを探索することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 被験者:

健康な中高齢男女52名(男性26名、女性26名:年齢:66.9±1.1歳)を対象とし、それぞれランダムに2群に分割した:運動トレーニング群26名(男性13名、女性13名)、安静コントロール群26名(男性13名、女性13名)。すべての被験者は慢性疾患がなく、被験者の中には運動習慣のない被験者および活動的な被験者が含まれているが、スポーツ競技者は含まれていなかった。本研究は、立命館大学の倫理審査委員会の承諾を受け、ヘルシンキ宣言の精神に則り行われた。被験者には、研究の目的および測定方法の説明をした後に実験参加の承諾を得て、測定を実施した。

(2) 実験手順:

被験者は、有酸素性トレーニング介入に先立ち、12時間以上の絶食後、早朝より測定を開始した。身長、体重を測定の後、座位安静状態にて採血を実施した。その後、安静時の血圧、心拍数、動脈硬化度を測定した。最後に、最高酸素摂取量(peak oxygen uptake: VO₂peak)の測定を実施した。トレーニング群は、8週間のトレーニングが終了した48時間後にトレーニング前と同様の項目の測定を実施した。また、コントロール群も同様の測定を実施した。

(3) 有酸素性トレーニング介入:

有酸素性トレーニングには、自転車エルゴメーター(828E: Monark社製)を使用した。自転車エルゴメーターのペダルの回転数を60回転/分に設定し、60-70% VO₂peakの運動負荷を1日45分、週3回、8週間実施した。実験開始1週目は、50% VO₂peakの運動強度で45分間の運動を行った。ウォームアップとクーリングダウンは、40% VO₂peakの運動強度でそれぞれ5分間行った。有酸素性トレーニングはすべて監視下で実施した。

(4) 測定項目:

体組成の測定

体脂肪率、上肢および下肢脂肪量は、二重エネルギーX線吸収測定法(DXA, Lunnar iDXA, GEヘルスケアジャパン社製)により測定した。さらに、腹部内臓脂肪面積および腹部皮下脂肪面積は、磁気共鳴画像法(MRI, Signa HDxt, 1.5T, GEヘルスケアジャパン社製)と画像分析ソフトSliceOmatic Ver.4.3(Image labo社)を用いて、腹部の皮下脂肪および内臓脂肪の面積を求めた。

VO₂peakの測定

VO₂peakの測定は、自転車エルゴメーター(828E: Monark社製)を使用し、多段階漸増負荷法で呼気ガスを採取し、測定した。

動脈硬化指標の測定

すべての被験者は、動脈硬化の指標として、脈波伝播速度(PWV)測定をform PWV/ABI(オムロンコーリン社製)および頸動脈・大腿動脈トノメトリーセンサーを用いて、頸動脈 - 大腿動

脈間脈波伝播速度(cfPWV)および上腕血圧を測定した。

血中 NOx 濃度および adiponectin , CTRP3 , CTRP5 , CTRP9 濃度測定 :

血漿 NOx 濃度は , Griess 法により測定した。吸光度値は , マイクロプレートリーダー (Bio-Rad Laboratories 社製)を用いて 540nm の波長で測定し , 標準曲線から各被験者の血漿 NOx 濃度を算出した。また , 血清 CTRPs 濃度は , それぞれ R&D Systems 社(adiponectin) , Cloud-Clone 社(CTRP3 , CTRP9) , Aviscera Bioscience 社(CTRP5)製の実験プロトコルに従って , 酵素免疫測定(ELISA)法により測定した。吸光度値は , マイクロプレートリーダー (Bio-Rad Laboratories 社製)を用いて 450nm の波長で測定し , 標準曲線から各被験者の血清 CTRPs 濃度を算出した。

(5) 統計解析

本研究結果は , すべて平均値±標準誤差で表した。介入前後における 2 群間の各測定項目の比較は繰り返しのある二元配置共分散分析法により検定し , 交互作用が認められた項目において Fisher の PLSD 法を用いて post-hoc テストを実施した。介入期間前後の各変数の変化量における両群間の比較は , 対応のない t 検定にて解析した。介入期間前後の血中 CTRPs 濃度の変化量と cfPWV および血中 NOx 濃度の変化量との関係をピアソンの相関係数によって検討するとともに , 単回帰により回帰直線を求めた。危険率(P)は 5%未満を有意水準とした。すべての統計解析は , StatView 5.0(SAS 社製)を使用した。

4 . 研究成果

介入前において , どの測定項目においてもトレーニング群とコントロール群との間に有意な差は認められなかった。また , 有酸素性トレーニング介入により , トレーニング群の BMI , 体脂肪率 , 内臓脂肪面積 , cfPWV , SBP は有意に低下し , 血中 NOx 濃度および VO2peak は有意に増加した。

介入前において , 血中 adiponectin , CTRP3 , CTRP5 , CTRP9 濃度はトレーニング群とコントロール群との間に有意な差は認められなかった。有酸素性トレーニング介入により , トレーニング群の血中 adiponectin , CTRP3 , CTRP5 濃度の変化量はコントロール群と比較して有意に高値を示した(Figure 1-A, B, C)。さらに , 内臓脂肪面積の変化量は血中 adiponectin , CTRP5 濃度の変化量と有意な関連性が認められた(vs. adiponectin, $r = -0.44$, $p < 0.05$, vs. CTRP5, $r = -0.33$, $p < 0.05$)。しかしながら , 皮下脂肪面積 , 上肢および下肢脂肪量の変化量と血中 CTRPs 濃度の変化量との間に有意な関連性は認められなかった。一方 , 血中 CTRP9 濃度はトレーニング群とコントロール群との間に有意な差は認められなかった(Figure 1-D)。

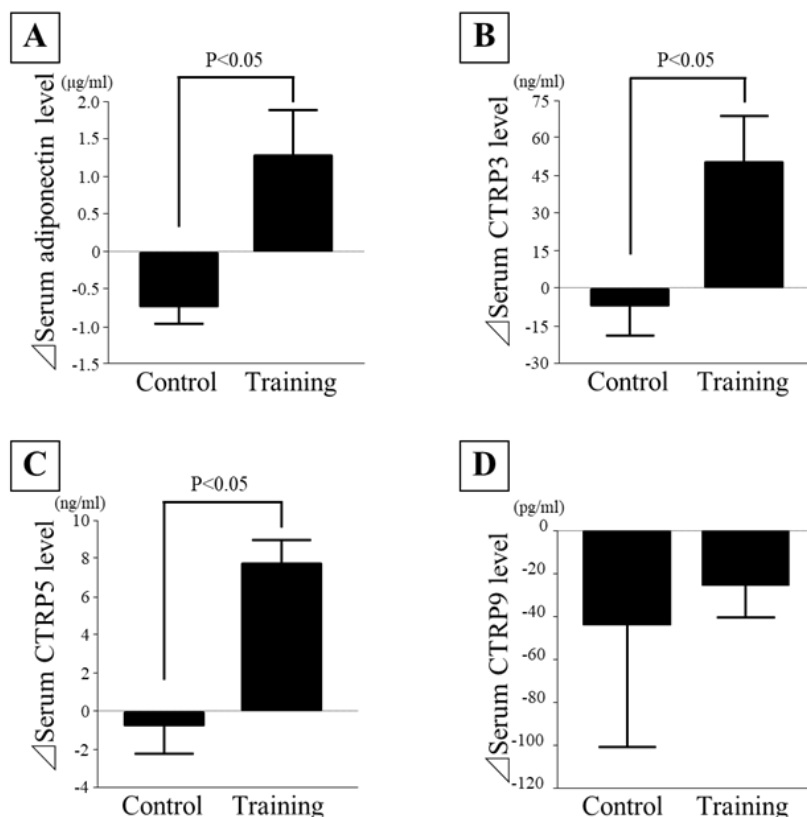


図 1 : 有酸素性運動介入前後の血中 adiponectin , CTRP3 , CTRP5 , CTRP9 濃度変化量

トレーニング群において、血中 adiponectin , CTRP3 , CTRP5 濃度の変化量と cfPWV の変化量との間には有意な負の相関関係が認められた(vs. adiponectin, $r = -0.51$, $p < 0.05$, vs. CTRP3, $r = -0.48$, $p < 0.05$, vs. CTRP5, $r = -0.42$, $p < 0.05$) (Figure 2-A, B, C)。また、これらの関連性は、性別、収縮および拡張血圧、総コレステロール、中性脂肪、HDL コレステロール、空腹時血糖で補正した場合でも有意な関連性が認められた(vs. adiponectin, $\beta = -0.41$, $p < 0.05$, vs. CTRP3, $\beta = -0.49$, $p < 0.05$, vs. CTRP5, $\beta = -0.38$, $p < 0.05$)。一方、血中 CTRP9 濃度の変化量と cfPWV の変化量との間に有意な相関関係は認められなかった(Figure 2-D)。さらに、血中 adiponectin 濃度の変化量は血中 NO_x 濃度の変化量と有意な正の相関関係が認められた($r = 0.41$, $p < 0.05$)。しかしながら、血中 CTRP3 , CTRP5 , CTRP9 濃度の変化量と血中 NO_x 濃度との間に有意な相関関係は認められなかった。コントロール群において、血中 adiponectin , CTRP3 , CTRP5 , CTRP9 濃度と cfPWV および血中 NO_x 濃度との間に有意な相関関係は認められなかった。

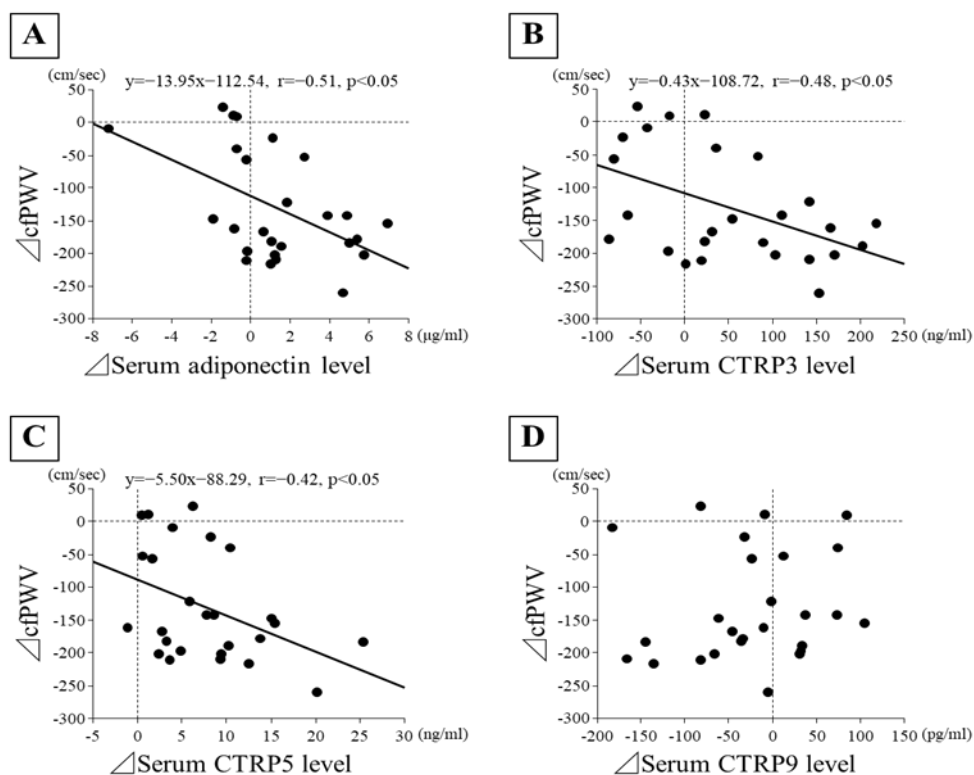


図 2 : cfPWV と血中 adiponectin , CTRP3 , CTRP5 , CTRP9 濃度の変化量の相関関係

これらの結果は、中高齢者における有酸素性トレーニングによる血中 adiponectin , CTRP3 , CTRP5 濃度の増加が動脈硬化度の低下に関係している可能性があることを示唆している。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 17 件)

Horii N, Hasegawa N, Fujie S, Uchida M, Iemitsu K, Inoue K, **Iemitsu M**. Effect of combination of chlorella intake and aerobic exercise training on glycemic control in type 2 diabetic rats. *Nutrition* 63-64: 45-50, 2019, doi: 10.1016/j.nut.2019.01.008, 査読有.

Miyamoto-Mikami E, Tsuji K, Horii N, Hasegawa N, Fujie S, Homma T, Uchida M, Hamaoka T, Kanehisa H, Tabata I, **Iemitsu M**. Gene expression profile of muscle adaptation to high-intensity intermittent exercise training in young men. *Sci Rep* 8: 16811, 2018, doi: 10.1038/s41598-018-35115-x, 査読有.

Morishima T, Tsuchiya Y, **Iemitsu M**, Ochi E. High-intensity resistance exercise with low repetitions maintains endothelial function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 315: H681-H686, 2018, doi: 10.1152/ajpheart.00281.2018, 査読有.

Horii N, Uchida M, Hasegawa N, Fujie S, Oyanagi E, Yano H, **Hashimoto T**, **Iemitsu M**. Resistance training prevents muscle fibrosis and atrophy via down-regulation of C1q-induced Wnt signaling in senescent mice. *FASEB J* 32: 3547-3559, 2018, doi: 10.1096/fj.201700772RRR, 査読有.

Hasegawa N, Fujie S, Horii N, Miyamoto-Mikami E, Tsuji K, Uchida M, Hamaoka T, Tabata I, **Iemitsu M**. Effects of Different Exercise Modes on Arterial Stiffness and Nitric Oxide Synthesis. *Med Sci Sports Exerc* 50: 1177-1185, 2018, doi:

10.1249/MSS.0000000000001567, 査読有.

Hasegawa N, Fujie S, Horii N, Uchida M, Kurihara T, Sanada K, Hamaoka T, Iemitsu M. Aerobic exercise training-induced changes in serum C1q/TNF-related protein levels are associated with reduced arterial stiffness in middle-aged and older adults. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 314: R94-R101, 2018, doi: 10.1152/ajpregu.00212.2017, 査読有.

Furushima T, Miyachi M, Iemitsu M, Murakami H, Kawano H, Gando Y, Kawakami R, Sanada K. Development of prediction equations for estimating appendicular skeletal muscle mass in Japanese men and women. *J Physiol Anthropol* 36: 34, 2017, doi: 10.1186/s40101-017-0150-x, 査読有.

Hamaguchi K, Kurihara T, Fujimoto M, Iemitsu M, Sato K, Hamaoka T, Sanada K. The effects of low-repetition and light-load power training on bone mineral density in postmenopausal women with sarcopenia: a pilot study. *BMC Geriatr* 17: 102, 2017, doi: 10.1186/s12877-017-0490-8, 査読有.

Matsuo K, Sato K, Suemoto K, Miyamoto-Mikami E, Fuku N, Higashida K, Tsuji K, Xu Y, Liu X, Iemitsu M, Hamaoka T, Tabata I. A Mechanism Underlying Preventive Effect of High-Intensity Training on Colon Cancer. *Med Sci Sports Exerc* 49: 1805-1816, 2017, doi: 10.1249/MSS.0000000000001312, 査読有.

Yamato Y, Hasegawa N, Fujie S, Ogoh S, Iemitsu M. Acute effect of stretching one leg on regional arterial stiffness in young men. *Eur J Appl Physiol* 117: 1227-1232, 2017, doi: 10.1007/s00421-017-3609-x, 査読有.

Furushima T, Miyachi M, Iemitsu M, Murakami H, Kawano H, Gando Y, Kawakami R, Sanada K. Comparison between clinical significance of height-adjusted and weight-adjusted appendicular skeletal muscle mass. *J Physiol Anthropol* 36: 15, 2017, doi: 10.1186/s40101-017-0130-1, 査読有.

Horii N, Hasegawa N, Fujie S, Uchida M, Miyamoto-Mikami E, Hashimoto T, Tabata I, Iemitsu M. High-intensity intermittent exercise training with chlorella intake accelerates exercise performance and muscle glycolytic and oxidative capacity in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 312: R520-R528, 2017, doi: 10.1152/ajpregu.00383.2016, 査読有.

Fujie S, Hasegawa N, Kurihara T, Sanada K, Hamaoka T, Iemitsu M. Association between aerobic exercise training effects of serum adiponectin level, arterial stiffness, and adiposity in obese elderly adults. *Appl Physiol Nutr Metab* 42: 8-14, 2017, doi: 10.1139/apnm-2016-0310, 査読有.

Sato K, Fujita S, Iemitsu M. Dioscorea esculenta-induced increase in muscle sex steroid hormones is associated with enhanced insulin sensitivity in a type 2 diabetes rat model. *FASEB J* 31: 793-801, 2017, doi: 10.1096/fj.201600874R, 査読有.

Horii N, Sato K, Mesaki N, Iemitsu M. Increased Muscular 5 α -Dihydrotestosterone in Response to Resistance Training Relates to Skeletal Muscle Mass and Glucose Metabolism in Type 2 Diabetic Rats. *PLoS One* 11: e0165689, 2016, doi: 10.1371/journal.pone.0165689, 査読有.

Hasegawa N, Fujie S, Kurihara T, Homma T, Sanada K, Sato K, Hamaoka T, Iemitsu M. Effects of habitual aerobic exercise on the relationship between intramyocellular or extramyocellular lipid content and arterial stiffness. *J Hum Hypertens* 30: 606-612, 2016, doi: 10.1038/jhh.2016.28, 査読有.

Yamato Y, Hasegawa N, Sato K, Hamaoka T, Ogoh S, Iemitsu M. Acute Effect of Static Stretching Exercise on Arterial Stiffness in Healthy Young Adults. *Am J Phys Med Rehabil* 95: 764-770, 2016, doi: 10.1097/PHM.0000000000000498, 査読有.

〔学会発表〕(計 17 件)

Hasegawa N, Horii N, Fujie S, Uchida M, Sanada K, Hamaoka T, Iemitsu M. Habitual aerobic exercise-induced decrease in circulating C1q level is associated with reduction of cardiovascular diseases risks in the elderly. 2019, Epidemiology and Prevention and Lifestyle and Cardiometabolic Health 2019 Scientific Sessions.

Hasegawa N, Fujie S, Horii N, Uchida M, Iemitsu K, Sanada K, Hamaoka T, Iemitsu M. Aerobic exercise training-induced changes in anti-inflammatory adipokines secretion from local source are related to reduction of arterial stiffness in elderly. 2018, American Heart Association scientific sessions 2018.

長谷川夏輝, 藤江隼平, 堀居直希, 内田昌孝, 家光恵子, 浜岡隆文, 家光素行. 老齡マウスの有酸素性トレーニングは脂肪組織のCTRP3 遺伝子発現を増大させる. 第 73 回日本体力医学会大会 . 2018 年.

外山雄大, 長谷川夏輝, 内田昌孝, 堀居直希, 真田樹義, 浜岡隆文, 家光素行. 下肢脂肪量および下肢筋量が心血管疾患の発症リスクに及ぼす影響. 第 73 回日本体力医学会大会 .

2018 年.

Hasegawa N, Fujie S, Horii N, Uchida M, Sanada K, Hamaoka T, Iemitsu M. Effect of aerobic training-induced acceleration of adiponectin secretion from local fat cells on arterial stiffness in elderly. 2018, 23rd annual congress of the European College of Sport Science.

Horii N, Hasegawa N, Fujie S, Uchida M, Inoue K, Iemitsu M. Activation of protein synthesis signaling via increase in muscle 5 α -dihydrotestosterone by acute resistance exercise affects muscle hypertrophy in type 2 diabetic rats. 2018, 23rd annual congress of the European College of Sport Science.

Inoue K, Fujie S, Hasegawa N, Horii N, Sanada K, Hamaoka T, Iemitsu M. Increased serum irisin level by aerobic training is involved in NO production in obese rats. 2018, American College of Sports Medicine 65th Annual Meeting.

Hasegawa N, Fujie S, Uchida M, Horii N, Kurihara T, Sanada K, Hamaoka T, Iemitsu M. Serum CTRPs levels are associated with exercise training-induced reduction of arterial stiffness in the elderly. 2017, 64nd American College of Sports Medicine Annual Meeting 2017.

井上健一郎, 藤江隼平, 長谷川夏輝, 堀居直希, 真田樹義, 浜岡隆文, 家光素行. 肥満者の有酸素性トレーニングによる血中 irisin 濃度の増大は動脈硬化度の低下に關与する. 第 72 回日本体力医学会大会. 2017 年.

Fujie S, Hasegawa N, Sanada K, Hamaoka T, Iemitsu M. Change in salusin- α is related to aerobic exercise training-induced blood pressure reduction in middle-aged and older adults. 2017, American Heart Association Scientific Sessions 2017.

Inoue K, Fujie S, Hasegawa N, Horii N, Sanada K, Hamaoka T, Iemitsu M. Aerobic exercise training-induced increase in circulating irisin level is associated with reduced arterial stiffness in obesity. 2017, American Heart Association scientific sessions 2017.

Hasegawa N, Fujie S, Horii N, Sanada K, Hamaoka T, Iemitsu M. Ageing-induced elevation in circulating C1q level is associated with arterial stiffness. 2016, American Heart Association scientific sessions 2016.

Hasegawa N, Sato K, Fujie S, Watanabe S, Fujita S, Sanada K, Hamaoka T, Iemitsu M. Effects of different types of exercise training on arterial stiffness and endothelial nitric oxide synthase. 2016, 63nd American College of Sports Medicine Annual Meeting 2016.

長谷川夏輝, 藤江隼平, 栗原俊之, 堀居直希, 真田樹義, 浜岡隆文, 家光素行. 有酸素性トレーニングによる血中アディポカイン濃度の変化は動脈硬化度の低下に關与する. 第 71 回日本体力医学会大会, 2016 年.

長谷川夏輝, 藤江隼平, 堀居直希, 内田昌孝, 家光素行. 運動による脂肪組織のアディポネクチン遺伝子発現は局所的に変動する. 第 24 回日本運動生理学会大会, 2016 年.

長谷川夏輝, 栗原俊之, 藤江隼平, 本間俊行, 真田樹義, 浜岡隆文, 家光素行. 中高齡者の体力レベルが筋細胞外脂肪含有量と動脈硬化度の關連性に及ぼす影響. 第 16 回日本抗加齡医学会, 2016 年.

〔図書〕(計 1 件)

Sato K, Iemitsu M. The Role of Dehydroepiandrosterone (DHEA) in Skeletal Muscle. Vitam Horm 108: 205-221, 2018.

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名: 真田 樹義

ローマ字氏名: (SANADA, Kiyoshi)

所属研究機関名: 立命館大学

部局名: スポーツ健康科学部

職名: 教授

研究者番号 (8 桁): 50421227

(2) 研究分担者

研究分担者氏名: 橋本 健志

ローマ字氏名: (HASHIMOTO, Takeshi)

所属研究機関名: 立命館大学

部局名: スポーツ健康科学部

職名: 教授

研究者番号 (8 桁): 70511608