

令和 6 年 9 月 4 日現在

機関番号：34518

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K19331

研究課題名(和文) 糖尿病由来のミトコンドリア機能障害に対する交流磁気刺激の予防効果

研究課題名(英文) Preventive effect of Alternating current electromagnetic field exposure on diabetes-induced mitochondrial dysfunction

研究代表者

中西 亮介 (Nakanishi, Ryosuke)

神戸国際大学・リハビリテーション学部・講師

研究者番号：60807238

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、高脂肪食由来の2型糖尿病モデルマウスに対して60Hz交流磁場照射が筋内脂肪蓄積を低減させインスリン抵抗性を改善することで血糖値の上昇を抑制するかを明らかにすることである。16週間の高脂肪食摂取により遊離脂肪酸値の上昇と筋内脂肪の蓄積が認められた。その結果、インスリン抵抗性ならびに血糖値が上昇した。一方で交流磁場照射を行うことで骨格筋内のミトコンドリア代謝の活性化とともに、それらに関連するタンパク質発現量が増加した。以上の結果から60Hz交流磁場照射は高脂肪食由来の筋内脂肪蓄積を予防することでインスリン抵抗性を改善し、血糖値の増加を抑制する可能性を示唆している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

骨格筋内の脂肪蓄積はインスリン抵抗性を増加させ、血糖値を上昇させる。その結果、更なる疾患を誘発する。一方で継続的な運動は筋内脂肪蓄積の改善に効果的であるが、肥満や糖尿病患者は身体的、精神的要因により運動継続が困難であることが報告されている。本研究では交流磁場の照射が運動を伴わずミトコンドリア代謝を上昇させ、筋内脂肪蓄積を予防することが明らかになった。その結果、インスリン抵抗性を改善し、血糖の上昇を抑制させる。これらの結果から交流磁場を照射することで運動と同様に筋内脂肪蓄積の予防を介してインスリン抵抗性の改善ならびに血糖値の上昇を抑制することができる有益な治療戦略となることが期待できる。

研究成果の概要(英文)：This study examined the effects of an alternating current electromagnetic field on high-fat feeding-induced intramyocellular lipid accumulation in the tibial anterior muscle. Electromagnetic field exposure was administered 8 hrs/day for 16 weeks using an alternating current electromagnetic field device (max.180 mT, Hoken, Utatsu, Japan). Alternating current electromagnetic field exposure enhanced mitochondrial metabolism. In addition, electromagnetic field exposure increased the protein expression of UCP-3 (uncoupling mitochondrial respiration, which controls energy consumption) and AMPK phosphorylation. These results indicated electromagnetic field exposure might be an effective countermeasure to insulin resistance by preventing intracellular lipid accumulation associated with high-fat feeding. These mechanisms suggest due to the increased transport of fatty acids into the mitochondria, mitochondria metabolism, and mitochondria uncoupling induced by AMPK phosphorylation.

研究分野：リハビリテーション科学、健康科学

キーワード：インスリン抵抗性 肥満 骨格筋 ミトコンドリア 筋内脂肪 交流磁気刺激

## 様式 C-19、F-19-1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

過食は肥満を引き起こし、血糖値を上昇させる。血糖値の上昇はさらなる疾患を誘引することから社会問題となっている。血糖値上昇の原因の一つとして骨格筋でのインスリン抵抗性が知られている。インスリン抵抗性は骨格筋内に脂質（筋内脂肪）が蓄積することで引き起こされるため筋内脂肪の蓄積を予防することがインスリン抵抗性を抑制し、血糖値の上昇の予防に有効であると考えた。

筋内脂肪の蓄積は過剰な脂質摂取と骨格筋における脂質消費の不均衡により血中の遊離脂肪酸が増加することが原因である。そのため、筋内脂肪の蓄積の予防には運動など脂質消費を増加させることが有効な手段である。一方で、肥満者は身体的、精神的要因により運動が継続できないことが問題視されている。そこで本研究では運動を必要としないで代謝活性効果を有する交流磁場に着目し、その効果を解析することを目的とした。

### 2. 研究の目的

本研究では筋収縮など運動を行わず代謝活性効果を有する交流磁場に着目し、その効果を解析することを目的とした。

### 3. 研究の方法

4週齢の C57BL/6J マウスを通常飼料摂取群 (ND)、通常飼料摂取に交流磁場を照射する群 (ND+EMF)、高脂肪食摂取群 (HFD)、高脂肪食摂取に交流磁場を照射する群 (HFD+EMF) の 4 群に区分した。交流磁場の照射は図 1 のように照射し、1 日 8 時間を 16 週間実施した。交流磁場は交流磁場装置 (最大磁束密度 180mT, ホーコーエン) を用いた。15 週目に経口糖負荷試験とインスリン抵抗性試験を行い、インスリン抵抗性を検証した。実験終了後に体重、脂肪量、前脛骨筋重量を測定した。前脛骨筋は Oil red O 染色を施すととも筋内脂肪量を定量化した。また、脂質消費に重要なミトコンドリア代謝の指標として SDH 活性、CS 活性の測定を行った。さらに 機序の解明のために AMPK のリン酸化、FAT/CD36、CPT1b、UCP-3 のタンパク質発現量の解析を行なった。

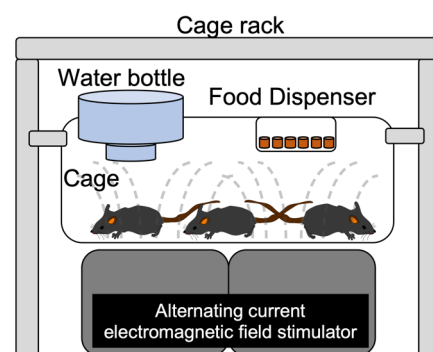


図 1. 照射図

### 4. 研究成果

#### 1) 経口糖負荷試験ならびにインスリン抵抗性試験

それぞれのモデル動物に対してカテーテルを用いてブドウ糖を摂取させ 0 分、30 分、60 分、90 分、120 分、150 分、180 分時点での血糖値を測定した。高脂肪食摂取によって経口糖負荷試験の曲線下面積は高値を示し、交流磁場照射によって低下した ( $p < 0.05$ ) (図 2A, B)。また、インスリン抵抗性試験は腹腔内にインスリンを注射し、0 分、15 分、30 分、45 分後の血糖値を測定した。高脂肪食摂取によってインスリン抵抗性試験の曲線下面積は高値を示し、交流磁場照射によって低下した ( $p < 0.05$ ) (図 2C, D)。

#### 2) 筋内脂肪蓄積

前脛骨筋に対して Oil red O 染色を施し (図 3A; 通常飼料摂取群, B; 通常飼料摂取に交流磁場を照射する群, C; 高脂肪食摂取

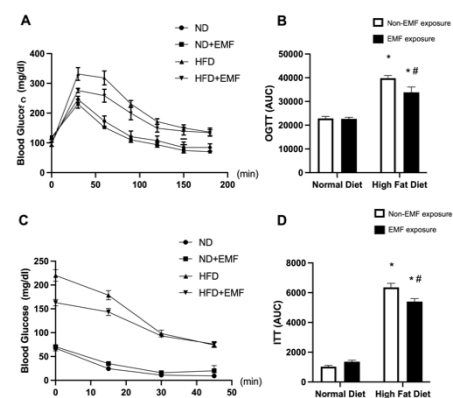


図 2. 経口糖負荷試験とインスリン抵抗性試験

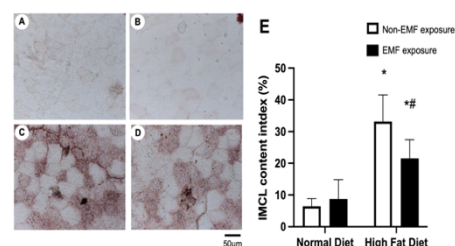


図 3. Oil redO 染色図と筋内脂

取群, D; 高脂肪食摂取に交流磁場を照射する群), 総筋線維あたりの脂肪含有線維の割合を算出した (図 3 E). 脂肪含有筋線維の割合は 16 週間の高脂肪食摂取によって高値を示し, 交流磁場照射によって低下した ( $p < 0.05$ ).

### 3) FAT/CD36 筋細胞膜上発現量

免疫組織化学染色により脂肪酸のトランスポーターである FAT/CD36 の筋細胞膜上発現量を測定した (図 4). FAT/CD36 の細胞膜上発現量は 16 週間の高脂肪食摂取によって高値を示し, 交流磁場照射によってさらに高値を示した ( $p < 0.05$ ).

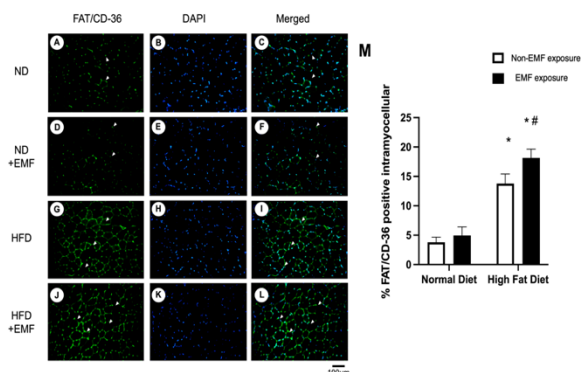


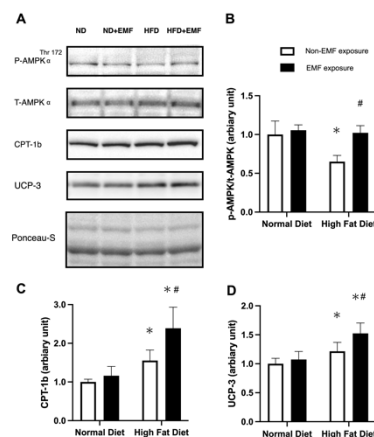
図 4. FAT/CD36 発現量と

### 4) タンパク質発現量

ウエスタンブロット法により CPT-1b, UCP-3, AMPK のリン酸化を測定した. CPT-1b, UCP-3 タンパク質発現量は 16 週間の高脂肪食摂取によって高値を示し, 交流磁場刺激照射によってさらに高値を示した ( $p < 0.05$ ) (図 5 C, D). 一方で AMPK のリン酸は 16 週間の高脂肪食摂取によって低値を示し, 交流磁場照射によって高値を示した ( $p < 0.05$ ) (図 5 B).

### 5) 成果のまとめ

交流磁場刺激照射はエネルギーセンサーとしての役割を担う AMPK のリン酸を促進し, 脂質代謝において重要なミトコンドリア代謝を活性化させる. その結果, 筋内脂肪の蓄積が低下した. これらの結果から交流磁場照射は高脂肪食摂取に起因するインスリン抵抗性を改善させ, 血糖値上昇を抑制することが明らかになった.



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計19件（うち査読付論文 19件 / うち国際共著 4件 / うちオープンアクセス 12件）

1. 著者名 Nakanishi Ryosuke, Hashimoto Nagisa, Takuwa Miho, Xing Jihao, Uemura Mikiko, un Nisa Badur, Tanaka Masayuki, Hirabayashi Takumi, Tanaka Minoru, Fujino Hidemi	4. 巻 56
2. 論文標題 High Concentrations of Nucleotides Prevent Capillary Regression during Hindlimb Unloading by Inhibiting Oxidative Stress and Enhancing Mitochondrial Metabolism of Soleus Muscles in Rats	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 ACTA HISTOCHEMICA ET CYTOCHEMICA	6. 最初と最後の頁 95 ~ 104
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1267/ahc.23-00029	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Nisa Badur Un, Nakanishi Ryosuke, Tanaka Minoru, Lin Hao, Hirabayashi Takumi, Maeshige Noriaki, Kondo Hiroyo, Fujino Hidemi	4. 巻 13
2. 論文標題 Mild Hyperbaric Oxygen Exposure Enhances Peripheral Circulatory Natural Killer Cells in Healthy Young Women	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Life	6. 最初と最後の頁 408 ~ 408
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/life13020408	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kanazashi Miho, Iida Tadayuki, Nakanishi Ryosuke, Tanaka Masayuki, Ikeda Hiromi, Takamiya Naomi, Maeshige Noriaki, Kondo Hiroyo, Nishigami Tomohiko, Harada Toshihide, Fujino Hidemi	4. 巻 15
2. 論文標題 Brazilian Propolis Intake Decreases Body Fat Mass and Oxidative Stress in Community-Dwelling Elderly Females: A Randomized Placebo-Controlled Trial	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 364 ~ 364
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/nu15020364	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Nakanishi Ryosuke, Tanaka Masayuki, Nisa Badur un, Shimizu Sayaka, Hirabayashi Takumi, Tanaka Minoru, Maeshige Noriaki, Roy Roland R., Fujino Hidemi	4. 巻 18
2. 論文標題 Alternating current electromagnetic field exposure lessens intramyocellular lipid accumulation due to high-fat feeding via enhanced lipid metabolism in mice	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0289086
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0289086	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nisa Badur Un, Nakanishi Ryosuke, Tanaka Minoru, Lin Hao, Hirabayashi Takumi, Maeshige Noriaki, Kondo Hiroyo, Fujino Hidemi	4. 巻 13
2. 論文標題 Mild Hyperbaric Oxygen Exposure Enhances Peripheral Circulatory Natural Killer Cells in Healthy Young Women	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Life	6. 最初と最後の頁 408 ~ 408
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/life13020408	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kanazashi Miho, Iida Tadayuki, Nakanishi Ryosuke, Tanaka Masayuki, Ikeda Hiromi, Takamiya Naomi, Maeshige Noriaki, Kondo Hiroyo, Nishigami Tomohiko, Harada Toshihide, Fujino Hidemi	4. 巻 15
2. 論文標題 Brazilian Propolis Intake Decreases Body Fat Mass and Oxidative Stress in Community-Dwelling Elderly Females: A Randomized Placebo-Controlled Trial	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 364 ~ 364
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/nu15020364	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nakanishi Ryosuke, Kanazashi Miho, Tanaka Masayuki, Tanaka Minoru, Fujino Hidemi	4. 巻 19
2. 論文標題 Impacts of Astaxanthin Supplementation on Walking Capacity by Reducing Oxidative Stress in Nursing Home Residents	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Environmental Research and Public Health	6. 最初と最後の頁 13492 ~ 13492
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijerph192013492	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 中西 亮介, 田中 稔, 田中 雅侑, 藤野 英己	4. 巻 13
2. 論文標題 不活動に伴う骨格筋のミトコンドリア機能障害および毛細血管退行に対するヌクレオプロテインの予防効果	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 神戸国際大学リハビリテーション学研究	6. 最初と最後の頁 13-21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tanaka Minoru, Morifuji Takeshi, Sugimoto Ken, Akasaka Hiroshi, Fujimoto Taku, Yoshikawa Madoka, Nakanishi Ryosuke, Kondo Hiroyo, Fujino Hidemi	4. 巻 131
2. 論文標題 Effects of combined treatment with blood flow restriction and low-current electrical stimulation on capillary regression in the soleus muscle of diabetic rats	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Applied Physiology	6. 最初と最後の頁 1219 ~ 1229
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/jappphysiol.00366.2021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Tanaka Minoru, Ikeji Takuya, Nakanishi Ryosuke, Hirabayashi Takumi, Ono Kohei, Hirayama Yusuke, Tategaki Airo, Kondo Hiroyo, Ishihara Akihiko, Fujino Hidemi	4. 巻 106
2. 論文標題 Protective effects of Enterococcus faecium strain R30 supplementation on decreased muscle endurance under disuse in rats	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Experimental Physiology	6. 最初と最後の頁 1961 ~ 1970
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1113/EP089677	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 XING Jihao, PAN Han, LIN Hao, NAKANISHI Ryosuke, HIRABAYASHI Takumi, NAKAYAMA Emi, MA Xiaoqi, MAESHIGE Noriaki, KONDO Hiroyo, FUJINO Hidemi	4. 巻 42
2. 論文標題 Protective effects of chlorogenic acid on capillary regression caused by disuse muscle atrophy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biomedical Research	6. 最初と最後の頁 257 ~ 264
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2220/biomedres.42.257	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Nakanishi Ryosuke, Tanaka Minoru, Maeshige Noriaki, Kondo Hiroyo, Roy Roland R., Fujino Hidemi	4. 巻 106
2. 論文標題 Nucleoprotein enriched diet enhances protein synthesis pathway and satellite cell activation via ERK1/2 phosphorylation in unloaded rat muscles	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Experimental Physiology	6. 最初と最後の頁 1587 ~ 1596
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1113/EP089337	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 武内 孝祐, 秋月 千典, 中西 亮介	4. 巻 12
2. 論文標題 高齢者の足関節背屈可動域に影響を及ぼす因子の検討	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 神戸国際大学リハビリテーション研究	6. 最初と最後の頁 11-15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 秋月 千典, 山口 和人, 矢吹 惇, 中西 亮介, 武内 孝祐, 山本 良平	4. 巻 12
2. 論文標題 不安定板を用いたバランストレーニングの運動学習効果	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 神戸国際大学リハビリテーション研究	6. 最初と最後の頁 3-9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hirabayashi Takumi, Nakanishi Ryosuke, Tanaka Minoru, Nisa Badur un, Maeshige Noriaki, Kondo Hiroyo, Fujino Hidemi	4. 巻 9(5)
2. 論文標題 Reduced metabolic capacity in fast and slow skeletal muscle via oxidative stress and the energy sensing of AMPK/SIRT1 in malnutrition	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Physiological Reports	6. 最初と最後の頁 1-6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14814/phy2.14763	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ryosuke Nakanishi, Kosuke Takeuchi, Kazunori Akizuki, Ryoma Nakagoshi, Hironobu Kakihana	4. 巻 -
2. 論文標題 Short-duration neuromuscular electrical stimulation increases range of motion following an increased tolerance for muscle extensibility in healthy subjects	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of the Japanese Society of Balneology, Climatology and Physical Medicine	6. 最初と最後の頁 1-6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Morifuji Takeshi, Tanaka Minoru, Nakanishi Ryosuke, Hirabayashi Takumi, Kondo Hiroyo, Fujino Hidemi	4. 巻 9
2. 論文標題 Preventive effects of low intensity endurance exercise for severe hyperglycemia induced capillary regression in non obese type 2 diabetes rat skeletal muscle	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Physiological Reports	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14814/phy2.14712	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ryosuke Nakanishi, Kosuke Takeuchi, Kazunori Akizuki, Ryoma Nakagoshi, Hironobu Kakihana	4. 巻 23
2. 論文標題 The effect of neuromuscular electrical stimulation on muscle EMG activity and the initial phase rate of force development during tetanic contractions in the knee extensor muscles of healthy adult males	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Physical Therapy Research	6. 最初と最後の頁 195-201
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1298/ptr.E10030	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 中西 亮介, 平山 佑介, 上野 瑞季, 前重 伯壮, 藤野 英己	4. 巻 27
2. 論文標題 悪液質由来の骨格筋萎縮に対するパルス超音波療法の予防効果	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 物理療法科学	6. 最初と最後の頁 55-
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 中西 亮介, 田中雅侑, 藤野英己
2. 発表標題 高脂肪食摂取に起因する筋内脂肪蓄積に対する交流磁場刺激の予防効果
3. 学会等名 第87回日本温泉気候物理医学会総会・学術集会
4. 発表年 2022年



1. 発表者名 中西亮介, Badur un Nisa, 志水沙耶香, 田中雅侑, 平林卓己, 田中稔, 藤野英己
2. 発表標題 高脂肪食由来の筋内脂肪蓄積に対する交流磁気刺激の効果
3. 学会等名 第76回日本体力医学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中西亮介, 平林卓己, 田中稔, 前重伯壮, 藤野英己
2. 発表標題 廃用性筋萎縮に伴う酸化ストレスの過剰発現に対する磁気刺激の予防効果.
3. 学会等名 第75回日本体力医学会(鹿児島)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 藤澤秋子, 天野英紀, 中西亮介, 津毛駿吾, 近藤浩代, 石原昭彦, 藤野英己
2. 発表標題 軽度高気圧高酸素暴露が骨格筋の酸素動態に与える効果.
3. 学会等名 第75回日本体力医学会(鹿児島)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------