第37回（2020年度）

若手研究者のための
健康科学研究助成

成果報告書 No.37 2023/7

公益財団法人 明治安田厚生事業団

ご　挨　拶

事業団創立20周年を記念して1984年に発足したこの研究助成制度は、単に寿命の延長だけを追求するのではなく、広く健康の維持増進に活用できる科学的な課題に対し、若手研究者の育成をめざして助成を行っています。

制度の創設以来、第37回までの助成件数は680件、助成総額は 6 億3300万円に達しました。若手研究者の斬新で独創的なテーマの応募を数多くいただき、昨今では健康科学研究の登竜門としての評価を関係各位より賜っております。

このたび、第37回の助成対象として選ばれた研究の成果を、研究助成成果報告書にまとめ、ここに発刊の運びとなりました。ご高覧いただければ幸いです。

本誌発刊にあたり、選考委員の諸先生のご尽力はもちろん、ご後援いただいた日本体力医学会ならびに明治安田生命保険相互会社、公募に際しご協力いただいたご関係各位に心からお礼を申しあげるとともに、今後とも一層のご指導とご支援をお願い申しあげる次第でございます。

2023年 7 月

公益財団法人 明治安田厚生事業団

理事長　生　井　俊　夫

選　考　委　員

委員長	東京大学名誉教授	福　永　哲　夫
委　員	公益財団法人 明治安田厚生事業団 体力医学研究所副所長	荒　尾　　孝
委　員	同志社大学大学院 スポーツ健康科学研究科教授	井　澤　鉄　也
委　員	慶應義塾大学 スポーツ医学研究センター准教授	小　熊　祐　子
委　員	日本女子体育大学名誉教授	定　本　朋　子
委　員	女子栄養大学栄養学部教授	新　開　省　二
委　員	山野美容芸術短期大学 美容総合学科教授	永　松　俊　哉

（敬称略・五十音順）

＊職務は公募時

目　　次

優　秀　賞 ―――― 指定課題 ――――

地域在住高齢者における活動的移動の許容距離は、認知症発症、要介護化の予測因子となり得るか？― 一市の悉皆調査に基づく長期追跡研究―
角　田　憲　治　他 …… 1

―――― 指定課題 ――――

メンタルコンディションとフィットネスパフォーマンスを繋ぐ脳科学的機序の解明
赤　澤　暢　彦 …… 9

脳－筋連関の観点からとらえた運動による認知症発症予防効果にかかわる分子メカニズムの同定
伊　藤　祐　規　他 …… 15

運動機能と認知・記憶機能の向上を目指したうま味受容体を基軸とする脳－腸－骨格筋連環の解明
井　上　愛沙子　他 …… 22

身体活動量低下がうつ状態を介して、心血管死亡を引き起こす因果メカニズムの解明―因果推論における機械学習の応用―
井　上　浩　輔 …… 27

運動によるメンタルヘルス増進効果は「目」から予測できるか？
桑　水　隆　多　他 …… 33

コロナ禍における都内在住高齢者の運動・栄養・社会参加の変化と認知機能低下の関連―2019～2022年の4時点データを用いた縦断研究―
笹　井　浩　行　他 …… 38

気分と認知機能を改善する就寝前ストレッチ運動プログラムの開発
諏訪部　和　也　他 …… 44

脳老廃物除去システムに対する加齢および一過性有酸素運動の影響
樽　味　　孝　他 …… 51

軽度認知障害の運動介入による改善メカニズムの解明
―脳内 Exosome 解析を切り口とした新たなアプローチ―
山　下　琢　矢　他 …… 60

一般課題

地域在住フレイル高齢者における社会参加と要介護認定、死亡との関連―6年間の縦断研究―
阿　部　紀　之　他 …… 65

膝関節機能評価のためのマルチモーダル歩行評価システムの開発と地域在住高齢者を対象とした実証研究
安　在　絵　美 …… 70

スポーツによる相対的エネルギー不足（RED-S）による骨髄間葉系幹細胞機能変容の解明
池　戸　　葵 …… 75

加齢によって変化する運動関連脳内ネットワークの特定と強化
佐々木　亮　樹 …… 81

小児と母親の身体活動度および座位行動と骨密度との関連についての疫学研究
谷　川　果菜美　他 …… 87

エネルギー代謝における「脂肪酸レスポンダー・ノンレスポンダー」の存在明確化と特徴解明
矢　島　克　彦 …… 94

運動・スポーツのライフコースと認知症の関連―高齢者を対象とした大規模地域コホート研究―
山　北　満　哉　他 …… 101

サルコペニア発症の性差を紐解く骨格筋受容体発現制御
吉　原　利　典 …… 111

選考委員奨励枠

オンラインセルフケア教室を通じた妊産婦の心の健康支援―With，After コロナでの健幸社会構築を目指して―
松　島　みどり　他 …… 117

新型コロナウイルス感染症の流行が未就学児の身体活動とメンタルヘルスに及ぼす影響―流行前後にわたる前向きコホート研究―
村　上　慶　子 …… 127

バーチャルリアリティ（VR）と近赤外分光法（NIRS）による客観的ストレス評価技術の研究開発
守　屋　正　道　他 …… 135

第36回一般課題

自己申告データに基づく食事摂取量のバイアスとバイアス除去手法の定量的評価
江　島　啓　介　他 …… 141

第 37 回若手研究者のための健康科学研究助成成果報告書
2020 年度 *pp*.1〜8（2023.7）

〔優　秀　賞〕

地域在住高齢者における活動的移動の許容距離は、認知症発症、要介護化の予測因子となり得るか？
― 一市の悉皆調査に基づく長期追跡研究―

角　田　憲　治*　　大　藏　倫　博**

ACCEPTABLE WALKING AND CYCLING DISTANCES AND INCIDENCES OF DEMENTIA AND FUNCTIONAL DISABILITY IN COMMUNITY-DWELLING OLDER ADULTS: A LONGITUDINAL STUDY BASED ON AN INVENTORY SURVEY

Kenji Tsunoda and Tomohiro Okura

Key words: walkability, bikeability, active travel, physical activity, cognitive function.

緒　　言

高齢者における身体活動は、心身の健康維持に不可欠である。高水準な身体活動を維持するうえで、歩行や自転車などの活動的移動（active travel; AT）が推奨されており、AT そのものの健康効果も幅広く報告されている[6]。しかし、余暇活動など他の活動とは対照的に、AT は加齢とともに一貫して減少する[2]。したがって、高齢期において高水準の身体活動量を維持するためには AT の減少を防ぐ必要がある。AT による移動距離は、その活動量を決定する重要な要素である。近年、我々は、高齢者における AT の許容距離（どのくらいの距離であれば歩行や自転車で移動しようと思うか）を調査し、AT の許容距離が短い者は、外出頻度や社会交流が少なく、抑うつ傾向が強い等の認知症や要介護化につながりやすい特徴を有することを報告した[10]。

AT は、自家用車などの機械的な移動手段を利用できない高齢者にとっては、日常生活（買い物，通院，親戚・友人宅への訪問等）を支える唯一の移動手段である。また、現在、機械的な移動手段が利用可能な者であっても、身体機能や認知機能の低下や、これらに伴う運転免許証の返納、公共交通機関の被災や廃線など、さまざまな内外の理由によって、将来的に、機械的な移動手段を利用できなくなる可能性がある。そして、この場合、AT による移動をどの程度許容できるかがライフラインへのアクセスを左右する 1 つの因子になると推察される。実際に、先行研究では、運転の中止は高齢者の要介護化リスクを上昇させる一方で、運転中止後の公共交通機関や自転車の利用は、リスクを緩和することを報告している[5]。AT の許容距離は、AT が求められるとき（駅まで歩く，

*　山口県立大学社会福祉学部　Faculty of Social Welfare, Yamaguchi Prefectural University, Yamaguchi, Japan.
**　筑波大学体育系　Faculty of Health and Sport Sciences, University of Tsukuba, Ibaraki, Japan.

目的地まで自転車で行く等）に、これらの移動の意思決定と、その先の行動（買い物をする，友人と会う等）の成否を左右する要因となり、長期的には認知症や要介護化にも影響する可能性がある。もし、ATの許容距離が、重大なアウトカムと関連することが明らかになれば、高齢者や、公私の支援者にATおよび、その許容距離の重要性を強調することになり、過疎高齢化が著しく進む本邦において、効果的な介護予防戦略を打ち出すうえで重要な資料になり得ることが期待される。

そこで、本研究では、地域在住高齢者を対象とした8年間の追跡調査に基づき、ATの許容距離が、認知症、要介護化の発生との縦断的関連性を明らかにすることを目的とした。

方　　法

A．対象者

茨城県笠間市の要支援・要介護認定を受けていない65歳以上の全高齢者（16870名）に対し、2013年6月に郵送アンケート調査を行い、10339名（61.3%）より回答を得た。このうち、使用変数の半数以上の回答があり（10309名）、追跡開始前に要支援1以上の認定を受けた経歴がない者（10141名）を追跡調査の対象とした。欠損値は、多重代入法（20のデータセットを出力後に統合）を用いて補完した。本研究は、筑波大学体育系倫理審査委員会の承認を得て実施した（承認番号：26-31，020-142）。

B．認知症、要介護化の追跡

笠間市のデータベースを用い、認知症（介護認定調査における認知症高齢者の日常生活自立度Ⅱ以上）と要介護化（要介護度1以上）の発生状況を2021年7月末まで調査した（最長追跡8.16年）。追跡は、エンドポイントの発生、転出、死亡のいずれかの観測時点で打ち切った。

C．歩行・自転車移動の許容距離の評価

歩行移動許容距離の評価として、「行きたい場所（知人宅，スーパー，飲食店，病院，バス停・駅など）が自宅から、どのくらいの距離であれば、歩いて行こうと思いますか（快適な日，平坦な道を想定してください）」を問い、「300 m以内、500 m以内、1 km以内、2 km以内、3 km以内、3 kmより遠い距離」の選択肢で回答を求めた。自転車移動許容距離についても同様に問い、選択肢として「自転車に乗れない（健康面・技術面を含む）、500 m以内、1 km以内、2 km以内、3 km以内、5 km以内、5 kmより遠い距離」を設けた。なお、現在は自転車に乗っていない者や所持していない者であっても、乗れる場合は、乗ることを想定して回答を求めた。分析にあたり、歩行移動許容距離は「300 m以内、500 m以内、1 km以内、1 kmより遠く」の4カテゴリーに、自転車移動許容距離は「乗れない、500 m以内、1 km以内、2 km以内、2 kmより遠く」の5カテゴリーに集計し、比較の際には、最長距離の選択者を基準とするように設定した。交互作用項の算出過程においては、距離に関する全6選択肢を具体的な距離（例：1 km以内は1 km，2 km以内は2 km，3 kmより遠い距離は4 km）に換算し、連続変数として取り扱った。なお、自転車移動許容距離に関する交互作用項の算出に際しては、自転車に乗れない者は除外した。

D．交互作用項1：近隣環境の充実度×ATの許容距離

Geographic information system（GIS）を用いて、対象者宅から1 km以内の人口、商店数、医療施設数、コミュニティ施設数、公園数、文化施設数、バス停数を算出した。これらの環境変数間には、高い相関があるため、近隣環境の充実度を表す指標（主成分得点）として統合し、この近隣環境の充実度と、ATの許容距離との交互作用項を作成した。なお、鉄道駅については、市内に数が少なく、主成分負荷量が低かったため、環境評価の変数としては使用しなかった。環境変数の評価の詳細および主成分得点の作成過程は、我々の先行研究で示しているとおりである[10]。土地傾斜については、調整変数として取り扱うこととした。すべての環境変数の評価にはArcGIS 10.3.0（ESRI, Redlands, CA, USA）を用いた。

E．交互作用項2：歩行時間、自転車乗車時間×ATの許容距離

歩行時間と自転車乗車時間の評価として、平均的な1週間における「週当たりの実施日数」と「1日当たりの実施時間」を尋ねた。各活動時間は週

当たりの実施時間（分/週）として集計した。自転車乗車時間については「乗れない」と回答した者（1370名）については除外したため、有効回答者数が大幅に減った。なお、歩行時間（32.9%）と自転車乗車時間（50.4%）については欠損者が多かったため、これらの変数とATの許容距離との交互作用項の作成においては、各交互作用項の組み合わせにおける実際の回答数を用いた（歩行移動許容距離[n = 6216]，自転車移動許容距離[n = 4748]）。交互作用項の作成過程においては、多重共線性が生じる可能性を回避するために、各項目は、中心化（各対象者の値から平均値を減じる）処理を行った後に投入した。

F．その他の項目

年齢（連続）、性、学歴（中卒，高卒，短大・大卒）、経済状況（苦しい，普通，余裕がある）、独居有無、body mass index（連続）、癌既往、脳血管疾患既往、心疾患既往、関節痛・神経痛既往、心理的ストレス度（[基本チェックリストの下位尺度]連続）、外出頻度（連続）、主な外出手段（自分で運転，他者が運転，自転車，歩行）を評価した。

G．統計解析

ATの許容距離と認知症および要介護化との縦断的関連性の検討には、Cox比例ハザード分析を用い、hazard ratios（HR）および95% confidence intervals（CI）を算出した。多変量調整モデルでは、年齢、性、学歴、経済状況、独居有無、body mass index、癌既往、脳血管疾患既往、心疾患既往、関節痛・神経痛既往、心理的ストレス度、外出頻度、主な外出手段、土地傾斜、近隣環境の充実度（主成分得点）を共変量として投入した。また、交互作用を検討するモデルでは交互作用項として「近隣環境の充実度× ATの許容距離」、「歩行もしくは自転車乗車時間× ATの許容距離」を投入し、後者を投入する際には、歩行もしくは自転車乗車時間も共変量として投入した。すべての統計処理にはSPSS 29.0J for Windowsを使用し、有意水準はいずれも5 %とした。

結　　果

A．ベースライン時における対象者の基本属性

表1に本研究におけるベースライン時の記述統計量を示した。平均年齢（標準偏差）は74.5（6.5）歳であり、男性比は46.5%であった。基本属性にかかわる項目では学歴において欠損が多くみられたが6.6%に留まった。

B．歩行移動許容距離と認知症リスク

表2に認知症に関する追跡データとハザード比をATの許容距離ごとに示した。10141名を平均で7.01年（71040人年）の追跡した結果、1860名（18.3%）が認知症の判定を受けていた。多変量調整モデルにおいて、歩行移動許容距離として300 m以内（HR = 1.27, 95%CI = 1.07−1.50）を選んだ者は、1 kmより長距離を選んだ者に比べて認知症の発生リスクが有意に高かった。また、有意性を確認するには至らなかったが（P = 0.063）、500 m以内（HR = 1.17, 95%CI = 0.99−1.38）を選択した者も同リスクが高まる傾向にあった。交互作用に関する分析において、歩行移動許容距離と近隣環境の充実度（P = 0.873）、歩行時間（P = 0.086）の交互作用項は有意性を示さず、これらを考慮したモデルにおいても同様の関連性がみられた。

C．自転車移動許容距離と認知症リスク

自転車移動許容距離では、1 km以内（HR = 1.32, 95%CI = 1.11−1.56）や500 m以内（HR = 1.29, 95%CI = 1.04−1.60）を選択した者は、2 kmより長距離を選択した者と比較して、認知症のリスクが有意に高かった。また、自転車に乗れない者は、高い認知症リスクを有していた（HR = 1.48, 95%CI = 1.25−1.76）。交互作用に関する分析において、自転車移動許容距離と近隣環境の充実度（P = 0.889）、自転車乗車時間（P = 0.493）の交互作用項は有意性を示さず、これらを考慮したモデルにおいても同様の関連性がみられた。

D．歩行移動許容距離と要介護化リスク

表3に要介護化に関する追跡データとハザード比をATの許容距離ごとに示した。10141名を平均で6.81年（69058人年）の追跡した結果、2702名（26.6%）が要介護度1以上の判定を受けていた。

表 1．対象者の特徴
Table 1. Baseline characteristics.

	n（%）	Missing n（%）
M（SD）age, years	74.5（6.5）	0（0.0）
Male sex	4718（46.5）	0（0.0）
Education		674（6.6）
Compulsory education	3390（35.8）	
High school	4562（48.2）	
College/Junior college	1515（16.0）	
Subjective economic status		128（1.3）
Very poor/Poor	1744（17.4）	
Normal	7345（73.4）	
Very good/Good	924（9.2）	
Living alone	1222（12.2）	161（1.6）
M（SD）body mass index, kg/m^2	23.0（3.2）	254（2.5）
Cancer	974（9.8）	192（1.9）
Stroke	422（4.2）	192（1.9）
Heart disease	1329（13.4）	192（1.9）
Arthralgia/Neuralgia	2205（22.2）	192（1.9）
M（SD）depressive mood, points	0.84（1.31）	166（1.6）
M（SD）frequency of going out, d/wk	4.98（2.28）	118（1.2）
Main mode of travel		366（3.6）
Car（driving）	5788（59.2）	
Car（passenger）	1796（18.4）	
Cycling	1470（15.0）	
Walking	721（7.4）	
M（SD）terrain slope, degree	2.82（2.76）	107（1.1）
Neighborhood environment（Buffer of 1 km）		
M（SD）population	3340（2189）	107（1.1）
M（SD）grocery stores	3.76（3.89）	107（1.1）
M（SD）medical facilities	2.24（2.50）	107（1.1）
M（SD）community centers	0.65（0.97）	107（1.1）
M（SD）parks	0.90（1.38）	107（1.1）
M（SD）cultural facilities	0.48（0.79）	107（1.1）
M（SD）bus stops	4.22（5.43）	107（1.1）
M（SD）walking time, min/wk	315.2（327.5）	3340（32.9）
M（SD）cycling time, min/wk†	75.0（149.8）	5115（50.4）

M; mean, SD; standard deviation.Values are numbers（percentages）.
†Analysis among individuals who are able to ride a bicycle.

多変量調整モデルにおいて、歩行移動許容距離として500 m 以内（HR = 1.18, 95%CI = 1.03−1.35）や300 m 以内（HR = 1.25, 95%CI = 1.09−1.43）を選んだ者は、1 km より長距離を選んだ者に比べて要介護化リスクが有意に高かった。交互作用に関する分析において、歩行移動許容距離と近隣環境の充実度（P = 0.837）、歩行時間（P = 0.616）の交互作用項は有意性を示さず、これらを考慮したモデルにおいても同様の関連性がみられた。

E．自転車移動許容距離と要介護化リスク

自転車移動許容距離では、1 km 以内（HR = 1.32, 95%CI = 1.15−1.51）や 500 m 以内（HR = 1.23, 95%CI = 1.02−1.48）を選択した者は、2 km より長距離を選択した者と比較して、要介護化リスクが有意に高かった。また、自転車に乗れない者は、高い要介護化リスクを有していた（HR = 1.52,

表２．歩行および自転車移動の許容距離に基づく認知症発生のハザード比

Table 2. Hazard ratios of incident dementia by acceptable travel distances for walking and cycling.

Acceptable walking distance (AWD)	Total[#] / *P* for interaction	Hazard ratio (95% confidence interval)			
		> 1 km	≤ 1 km	≤ 500 m	≤ 300 m
n (%) based on responses	7875	2028 (25.8)	2657 (33.7)	1726 (21.9)	1464 (18.6)
n (%) based on multiple imputations	10141	2521 (24.9)	3336 (32.9)	2244 (22.1)	2040 (20.1)
Person-years	71040	18203	23979	15598	13260
Incidence	1860	366	534	440	520
Incidence rate per 1000 person-years	26	20	22	28	39
Age-sex adjusted model		1.00	1.09 (0.94, 1.27)	1.14 (0.96, 1.34)	**1.35 (1.16, 1.58)**
Multivariate-adjusted model		1.00	1.11 (0.95, 1.30)	1.17 (0.99, 1.38)	**1.27 (1.07, 1.50)**
Interaction Model 1 (ASVD*AWD)	0.873	1.00	1.11 (0.95, 1.30)	1.17 (0.99, 1.38)	**1.27 (1.07, 1.50)**
Interaction Model 2 (WT*AWD)[†]	0.086	1.00	1.18 (0.98, 1.42)	1.10 (0.90, 1.35)	**1.25 (1.01, 1.55)**
Interaction Model 3 (Model 1 and 2)[†]	Both int. ns ¶	1.00	1.19 (0.98, 1.44)	1.11 (0.91, 1.37)	**1.26 (1.02, 1.56)**

Acceptable cycling distance (ACD)	Total[#] / *P* for interaction	Hazard ratio (95% confidence interval)				
		> 2 km	≤ 2 km	≤ 1 km	≤ 500 m	Cannot ride
n (%) based on responses	8058	2749 (34.1)	1684 (20.9)	1603 (19.9)	652 (8.1)	1370 (17.0)
n (%) based on multiple imputations	10141	3353 (33.1)	2072 (20.4)	1999 (19.7)	841 (8.3)	1877 (18.5)
Person-years	71040	24704	15086	14078	5779	11392
Incidence	1860	413	286	334	162	666
Incidence rate per 1000 person-years	26	17	19	24	28	58
Age-sex adjusted model		1.00	1.10 (0.94, 1.29)	**1.30 (1.10, 1.53)**	**1.32 (1.07, 1.62)**	**1.74 (1.50, 2.01)**
Multivariate-adjusted model		1.00	1.11 (0.94, 1.31)	**1.32 (1.11, 1.56)**	**1.29 (1.04, 1.60)**	**1.48 (1.25, 1.76)**
Interaction Model 1 (ASVD*ACD)[‡]	0.889	1.00	1.09 (0.93, 1.29)	**1.28 (1.08, 1.52)**	1.22 (0.99, 1.52)	
Interaction Model 2 (CT*ACD)[†‡]	0.493	1.00	1.17 (0.94, 1.46)	**1.36 (1.09, 1.70)**	1.23 (0.92, 1.64)	
Interaction Model 3 (Model 2 plus 1)[†‡]	Both int. ns ¶	1.00	1.18 (0.94, 1.47)	**1.36 (1.09, 1.70)**	1.23 (0.92, 1.64)	

ASVD; accessibility score for various destinations, AWD; acceptable walking distance, WT; walking time, ACD; acceptable cycling distance, CT; cycling time. Values are based on multiple imputations unless stated otherwise. The multivariate-adjusted model is adjusted for age, sex, education, subjective economic status, living alone, body mass index, diagnosis histories (cancer, stroke, heart disease, and arthralgia/neuralgia), depressive mood, frequency of going out, the main mode of travel, terrain slope, and ASVD based on the principal component analysis. Interaction Model 1 is entered for the interaction of ASVD*AWD or ASVD*ACD in addition to the multivariate-adjusted model. Model 2 is entered for WT or CT and the interaction of WT*AWD or CT*ACD in the multivariate-adjusted model. Model 3 is entered for the interaction in Model 1 in addition to Model 2. [#]Total may not add up due to significant digits as the values are pooled data. [†]Analysis based on the responded number for the interaction of WT*AWD (n = 6216) or CT*ACD (n = 4748). [‡]Analysis among individuals who are able to ride a bicycle. ¶ Both interactions ([ASVD*AWD and WT*AWD] or [ASVD*ACD and CT*ACD]) are not significant. Boldface indicates statistical significance ($P < 0.05$).

表3．歩行および自転車移動の許容距離に基づく要介護化発生のハザード比

Table 3. Hazard ratios of incident functional disability by acceptable travel distances for walking and cycling.

Acceptable walking distance (AWD)	Total[#] / *P* for interaction	Hazard ratio (95% confidence interval)			
		> 1 km	≤ 1 km	≤ 500 m	≤ 300 m
n (%) based on responses	7875	2028 (25.8)	2657 (33.7)	1726 (21.9)	1464 (18.6)
n (%) based on multiple imputations	10141	2521 (24.9)	3336 (32.9)	2244 (22.1)	2040 (20.1)
Person-years	69058	17876	23430	15110	12643
Incidence	2702	527	778	658	738
Incidence rate per 1000 person-years	39	29	33	44	58
Age-sex adjusted model		1.00	1.12 (0.99, 1.26)	**1.22 (1.07, 1.40)**	**1.44 (1.26, 1.64)**
Multivariate-adjusted model		1.00	1.11 (0.98, 1.25)	**1.18 (1.03, 1.35)**	**1.25 (1.09, 1.43)**
Interaction Model 1 (ASVD*AWD)	0.837	1.00	1.11 (0.98, 1.25)	**1.18 (1.03, 1.35)**	**1.25 (1.08, 1.43)**
Interaction Model 2 (WT*AWD)[†]	0.616	1.00	1.10 (0.94, 1.28)	1.14 (0.96, 1.34)	**1.28 (1.08, 1.52)**
Interaction Model 3 (Model 1 and 2)[†]	Both int. ns ¶	1.00	1.10 (0.94, 1.29)	1.14 (0.97, 1.34)	**1.28 (1.08, 1.52)**

Acceptable cycling distance (ACD)	Total[#] / *P* for interaction	Hazard ratio (95% confidence interval)				
		> 2 km	≤ 2 km	≤ 1 km	≤ 500 m	Cannot ride
n (%) based on responses	8058	2749 (34.1)	1684 (20.9)	1603 (19.9)	652 (8.1)	1370 (17.0)
n (%) based on multiple imputations	10141	3353 (33.1)	2072 (20.4)	1999 (19.7)	841 (8.3)	1877 (18.5)
Person-years	69058	24289	14791	13724	5612	10641
Incidence	2702	617	434	506	236	909
Incidence rate per 1000 person-years	39	25	29	37	42	85
Age-sex adjusted model		1.00	**1.14 (1.001, 1.30)**	**1.35 (1.18, 1.54)**	**1.32 (1.10, 1.58)**	**1.84 (1.63, 2.08)**
Multivariate-adjusted model		1.00	1.13 (0.99, 1.29)	**1.32 (1.15, 1.51)**	**1.23 (1.02, 1.48)**	**1.52 (1.32, 1.74)**
Interaction Model 1 (ASVD*ACD)[‡]	0.842	1.00	1.12 (0.98, 1.28)	**1.30 (1.13, 1.49)**	1.20 (0.99, 1.44)	
Interaction Model 2 (CT*ACD)[†‡]	0.216	1.00	1.13 (0.94, 1.35)	**1.40 (1.17, 1.67)**	1.16 (0.91, 1.47)	
Interaction Model 3 (Model 2 plus 1)[†‡]	Both int. ns ¶	1.00	1.13 (0.94, 1.35)	**1.40 (1.17, 1.67)**	1.16 (0.91, 1.47)	

ASVD; accessibility score for various destinations, AWD; acceptable walking distance, WT; walking time, ACD; acceptable cycling distance, CT; cycling time. Values are based on multiple imputations unless stated otherwise. The multivariate-adjusted model is adjusted for age, sex, education, subjective economic status, living alone, body mass index, diagnosis histories (cancer, stroke, heart disease, and arthralgia/neuralgia), depressive mood, frequency of going out, the main mode of travel, terrain slope, and ASVD based on the principal component analysis. Interaction Model 1 is entered for the interaction of ASVD*AWD or ASVD*ACD in addition to the multivariate-adjusted model. Model 2 is entered for WT or CT and the interaction of WT*AWD or CT*ACD in the multivariate-adjusted model. Model 3 is entered for the interaction in Model 1 in addition to Model 2. [#]Total may not add up due to significant digits as the values are pooled data. [†]Analysis based on the responded number for the interaction of WT*AWD (n = 6216) or CT*ACD (n = 4748). [‡]Analysis among individuals who are able to ride a bicycle. ¶ Both interactions ([ASVD*AWD and WT*AWD] or [ASVD*ACD and CT*ACD]) are not significant. Boldface indicates statistical significance ($P < 0.05$).

95%CI = 1.32−1.74)。交互作用に関する分析において、自転車移動許容距離と近隣環境の充実度（P = 0.842)、自転車乗車時間（P = 0.216）の交互作用項は有意性を示さず、これらを考慮したモデルにおいても同様の関連性がみられた。

考　　察

ATそのものの健康効果は幅広く知られているが[6]、本研究では、歩行移動許容距離が短くなるにつれて、認知症や要介護化リスクが徐々に増加し、500 m以内では要介護化リスクが有意に上昇し、300 m以内では、いずれのアウトカムについても約25%の有意なリスク増になることを明らかにした。更に、この量依存的関連は、ベースライン時の近隣環境や歩行時間や、これらの変数と許容距離との交互作用を考慮してもなお関連することを見いだした。歩行移動許容距離は、各高齢者における過去から現在に至る多様な内的・外的因子の集積によって形成され、ある一時点の環境や行動には影響を受けにくく、かつ、その後の行動（買い物をする，友人に会う等）に影響することが推察される。本結果は、こうした事象を反映していると考えられ、歩行移動許容距離は、将来の認知症や要介護化の予測因子となることが示唆された。

本邦は、高齢者であっても、そのほとんどが自転車に乗車可能な技術をもっている希少な国であり、身体機能が低下した高齢者においても利用されている[8]。本研究では、自転車移動許容距離は、認知症および要介護化のリスクと関連したが、歩行移動許容距離のような量依存的関連にはなかった。具体的には、認知症および要介護化の両リスクは、1 km以内を選択した場合に有意に増加し、最も短い距離（500 m以内）を選択しても、更なるリスクの増加は観察されなかった。高齢者のATの移動距離をglobal positioning systemにより評価したオランダの研究では自転車による平均移動距離は2.0 kmであることが示されており[7]、GISを用いた中国の研究では、伝統的な地域において、食品市場への自転車による平均移動距離は1.4 kmであったことが報告されている[3]。また、本邦の研究において、食料品店へのアクセスの悪さは、特に車を利用しない高齢者の要介護化のリスクとなることが報告されている[9]。これらの先行研究の知見を踏まえると、自転車移動許容距離が1 km以内では、食料品店を含む目的地まで自転車で到達することが困難であり（これらの行動につながらず)、認知症や要介護化のリスクの増加につながると推察される。

複数の先行研究において、目的地へのアクセス性に関する主観的評価は、客観的評価よりも各健康アウトカムとより強く関連することが報告されている[4,9]。本研究では、ATの許容距離と認知症や要介護化のリスクとの関連性は、GISによって客観的に評価した近隣環境の充実度を調整後も頑健であり、また、この変数とATの許容距離との交互作用項も有意ではなかった。先行研究では、目的地のアクセス性に関する客観的評価は、対象者の住居から半径500 mや1 km範囲内にある目的地（商店，駅，バス停，レクリエーション施設，公園など）数を算出する方法が多く用いられてきた[1]。しかし、本研究における高齢者のATの許容距離は対象者間で大きく異なったことから、近隣環境の客観的評価は必ずしも高齢者のATに強く結びつかず、主観的評価に比べて健康アウトカムとの関連性が弱いと考えられる。例えば、近隣環境が客観的には充実した地域に住んでいる高齢者であっても、ATの許容距離が短ければ、自分が不便な地域に住んでいると感じ、実際にはATを伴う行動（買い物に行く，友人と会う等）に消極的である可能性がある。本研究において、ATの許容距離と認知症および要介護化リスクとが近隣環境とは独立して関連した1つの理由として、前述したATの許容距離に基づく近隣環境の客観的評価と主観的評価のギャップが介在している可能性がある。

本研究では、補足情報として、自転車に乗れないことと、認知症、要介護化との関連性についても検討し、自転車に乗れないことは、認知症および要介護化のリスクを約50%増加させることがわかった。先行研究では、公共交通機関や自転車の利用が、運転中止後の要介護化のリスク上昇を緩和することを報告している[5]。本研究は、当先行研究を支持し、自転車に乗車できることの重要性

に加え、自転車移動許容距離という観点から新たな知見を追加した。

本研究は、大規模な追跡調査によって知見が得られたことに強みがあるが、いくつかの限界を有する。本研究の主要尺度である AT の許容距離は、オリジナルの質問であり、その信頼性と妥当性は検討されていない。また、本研究は中山間地域在住の高齢者を対象としており、約 8 割が主な移動手段として自動車を選択している。したがって、この調査結果が他の地域（特に交通網が発達している都市部）に当てはまるか（一般化可能性）は不明である。

総　　括

約 1 万名の地域在住高齢者を 8 年間の追跡研究の結果、AT の許容距離は、認知症および要介護化の予測因子となり得ることがわかった。歩行移動許容距離は、量依存的に認知症および要介護化の高いリスクと関連し、自転車移動許容距離は、1 km 以内を選択した場合に認知症および要介護化の両リスクが上昇した。地域在住高齢者において、歩行で 1 km、自転車で 2 km の移動を許容できることは、認知症予防、要介護化予防における 1 つの重要な目安となることが示唆された。

謝　　辞

本研究へ助成くださいました公益財団法人明治安田厚生事業団に御礼申し上げます。また、本研究にご協力いただきました市民の皆さま、市職員の方々に厚く御礼を申し上げます。

参 考 文 献

1）Barnett DW, et al.（2017）: Built environmental correlates of older adults' total physical activity and walking: a systematic review and meta-analysis. Int J Behav Nutr Phys Act, **14**, 103.

2）Brainard J, et al.（2019）: Age, sex and other correlates with active travel walking and cycling in England: analysis of responses to the Active Lives Survey 2016/17. Prev Med, **123**, 225-231.

3）Chen Y（2019）: Neighborhood form and residents' walking and biking distance to food markets: evidence from Beijing, China. Transp Policy, **81**, 340-349.

4）Harada K, et al.（2014）: Perceived and objectively measured access to strength-training facilities and strength-training behavior. Ann Behav Med, **48**, 120-124.

5）Hirai H, et al.（2020）: The risk of functional limitations after driving cessation among older Japanese adults: the JAGES cohort study. J Epidemiol, **30**, 332-337.

6）Mueller N, et al.（2015）: Health impact assessment of active transportation: a systematic review. Prev Med, **76**, 103-114.

7）Prins RG, et al.（2014）: How many walking and cycling trips made by elderly are beyond commonly used buffer sizes: results from a GPS study. Health Place, **27**, 127-133.

8）Sakurai R, et al.（2016）: Can you ride a bicycle? The ability to ride a bicycle prevents reduced social function in older adults with mobility limitation. J Epidemiol, **26**, 307-314.

9）Tani Y, et al.（2018）: Neighborhood food environment and mortality among older Japanese adults: results from the JAGES cohort study. Int J Behav Nutr Phys Act, **15**, 101.

10）Tsunoda K, et al.（2021）: Acceptable walking and cycling distances and their correlates among older Japanese adults. J Popul Ageing, **14**, 183-200.

第 37 回若手研究者のための健康科学研究助成成果報告書
2020 年度 *pp.*9〜14（2023.7）

メンタルコンディションとフィットネスパフォーマンスを繋ぐ脳科学的機序の解明

赤　澤　暢　彦*, **

RELATIONSHIP BETWEEN MENTAL CONDITION AND FITNESS PERFORMANCE: INSIGHT FROM FMRI STUDY

Nobuhiko Akazawa

Key words: force steadiness, brain activation, mental exertion, handgrip.

緒　　言

身体パフォーマンスを向上させるためには、筋力や持久力のような運動を起こす力や運動を持続する力だけでなく、動きを調整する力などのフィットネスも必要となる。身体各部における運動の巧みな調節には、脳からの指令による運動を制御する機能が関与する。力調節安定性（Steadiness）は、末梢性の骨格筋機能より中枢性の神経系に大きく依存されており、一定の力を持続するような運動の調節や制御の指標となる。Steadiness はスポーツのスキルとも関連し、アスリートの Steadiness は一般健常者に比べて高いことが報告されている[5)]。これらのことから、Steadiness は身体パフォーマンスを発揮するのに重要な役割を果たしていると考えられている。

身体機能や脳機能の発揮には最適なコンディショニングを実施しなければならない。モチベーション低下や疲労感などのネガティブな精神状態、いわゆるメンタルコンディションが低下すると、身体活動が低下したり、本来のパフォーマンスを発揮できなくなったりする。また、実験的にメンタルに負荷をかけて精神的な疲労を惹起すると、筋持久力や全身持久力が低下することが報告されている[1)]。

これらのことからメンタルコンディション低下による筋力発揮制御の低下を抑制することがパフォーマンス発揮に重要になると考えられる。近年、機能的核磁気共鳴画像法（functional magnetic resonance imaging; fMRI）を用いた研究によると、運動時における主観的運動強度やモチベーションは、骨格筋を動かす指令を司る運動野だけでなく、集中・情報処理・判断などを司る実行機能にかかわる前帯状回や情動と関連する大脳基底核といった辺縁系の脳活動と関連することが報告されている[4)]。しかし、精神的な疲労がどのように力発揮の制御に関係しているのか脳科学的知見は乏しく、メンタルコンディション低下時における Steadiness と脳活動の関係については明らかにされていない。

本研究では、fMRI を用いた脳機能イメージングに着目し、精神負荷課題が Steadiness と力調節発揮時における脳活動賦活動態に及ぼす影響を検討することを目的とした。

*　早稲田大学スポーツ科学学術院　Faculty of Sport Sciences, Waseda University, Saitama, Japan.
**　国立スポーツ科学センター　Japan Institute of Sports Sciences, Tokyo, Japan.

方　　法

A．対象者

健康な成人若年者11名を対象に実験を実施した（22 ± 3 歳，171 ± 6 cm，66 ± 8 kg）。対象者に明らかな脳血管疾患および精神疾患を有する者、投薬治療中の者は含まれていなかった。研究に先立ち、対象者に研究の目的、内容、および手順を説明し、書面にて本人から参加の同意を得た。なお、本研究は、早稲田大学倫理委員会の承認（承認番号：2022-202）を得て実施された。

B．プロトコル

本研究では、MRI 装置内で精神疲労を惹起する精神課題条件と精神疲労を惹起しない対照課題条件の 2 つの条件の試行を実施した。それぞれの課題前および課題直後にて、Steadiness とその力調節発揮時の脳活動を fMRI により評価した。なお、各条件の施行は、72時間以上の間隔を空けて順番をランダムに実施された。また、実験前日からアルコール摂取および激しい運動と、実験開始前 2 時間の飲食を控えるようにした。

C．課題条件

精神課題条件では、精神疲労を惹起するストループテストの不一致課題の改訂版を実施した[7)]。対象者は、モニター上に書かれた意味と色が異なる文字の色を赤色、青色、緑色、黄色の 4 つのボタンから回答するように指示された。例えば、緑色で「あお」と書かれているときには、緑色のボタンを押すことになる。更に、赤色で書かれている場合には、色ではなくて、文字の意味のボタンを回答するように指示された。例えば、赤色で「あお」と書かれている場合には、青色のボタンを押すことになる。対照課題条件では、精神疲労を惹起しないストループテストの一致課題を実施した。一致課題では、意味と色が一致する文字の色を回答する。例えば、赤色で「あか」と書かれているので、赤色のボタンを押すことになる。各条件ともに、課題時間を 5 分間と設定した。

D．メンタルコンディション

心理プロフィール検査（profile of mood states 2; POMS2）を用いて、各条件課題前後におけるメンタルコンディションを測定した。本検査は35の質問項目からなり、得られた回答から怒り－敵意（Anger–Hostility: AH）、混乱－当惑（Confusion–Bewilderment: CB）、抑うつ－落込み（Depression–Dejection: DD）、疲労－無気力（Fatigue–Inertia: FI）、緊張－不安（Tension–Anxiety: TA）、活気－活力（Vigor–Activity: VA）、友好（Friendliness: F）の下位尺度と、総合的気分状態（Total mood disturbance; TMD）のスコアを標準化して評価した。

E．Steadiness

各条件の課題前後に、低強度の10％最大筋力（maximal voluntary contraction; MVC）と中強度の50% MVC における力調節発揮テストを実施した。各条件の施行前に、実験当日における左手の MVC を、非磁性体握力計 FG1002（Uchida Denshi Inc, Tokyo, Japan）を用いて 1 分間の休憩を挟んで 2 回実施し、最大値を MVC として採用した。対象者は、モニターに映し出された10% MVC と 50% MVC のターゲットラインに20秒間維持するように指示され、それぞれの強度における左手の力調節発揮を交互に20秒間の休憩を挟んで 3 セット実施した。トルクのアナログ信号は、AD 変換器（PawerLab/16SP, AD Instruments Inc, Castle Hill, Australia）に接続され、サンプリング周波数1000 Hz にて PC に取り込まれた。20秒間の力調節発揮のうち、安定した15秒間の平均値および標準偏差を算出し、変動係数（coefficient variance; CV）を求め、それぞれの強度で 3 セットの平均を Steadiness の評価として採用した。

F．脳活動

3T MRI（SIGNA PREMIER, GE HealthCare Inc, Waukesha, USA）により、64 ch のヘッドコイルを用いて、頭部の構造画像および機能画像を撮像し、脳活動動態を測定した。構造画像は、安静時における T1 強調画像を MPRAGE（magnetization prepared rapid gradient echo）法により撮像した（TR = 8.1 ms，TE = 3.4 ms，FOV = 218 mm ×218 mm, Flip angle = 90˚，Thickness = 0.7 mm）。機能画像は、力調節発揮時における T2* 強調画像を GE-EPI（gradient-echo planar imaging）法により撮像された（TR = 2000 ms，TE = 30 ms，FOV = 218 mm × 218 mm，Flip angle = 90˚，Thickness = 3 mm, 31 slices）。得られた脳画像データは SPM12（Well-

come Department of Cognitive Neurology, London, UK）および MatLab（Math Works Inc, Massachusetts, USA）を用いて、動き補正の realignment、時間補正の slice timing、構造画像と機能画像の位置合わせの coregister、標準脳へ変換する normalization、空間的平滑化を行う smoothing の順に前処理し、BOLD（blood oxygen level-dependent）信号のコントラスト統計量について解析し、力発揮時における脳活動賦活動態を評価した。

G．統計

本研究における測定値は平均値±標準偏差で示した。POMS2の各項目に対する各課題条件の影響を検討するために、Wilcoxon の符号付順位検定を用いた。また、Steadiness に対する各課題条件の影響を検討するためには、繰り返しのある二元配置分散分析（repeated measure-two way ANOVA）を用いた。交互作用もしくは主効果が有意であった場合、その後の検定として Bonferroni 法を用いた。本研究における統計処理には、統計解析ソフト SPSS24（IBM Inc, Chicago, USA）を用いた。なお、有意水準を 5 %とした。脳活動の解析は SPM12および MatLab を用いて、前処理された fMRI データを個人ごとに各条件の脳活動賦活を算出後、それぞれの課題条件での集団解析を one-sample t-test にて行い、力調節発揮時における賦活した脳部位を同定した。更に、Paired t-test の集団解析を行い、課題前に比べて課題後に脳活動賦活が増加している脳部位を同定した。これらの集団解析では、閾値をクラスターレベルで補正なしの $P < 0.001$に設定した。なお本研究では、Steadiness を測定している力調節発揮中に 2 mm 以上頭部が動いた対象者 2 名を含まずに解析した。

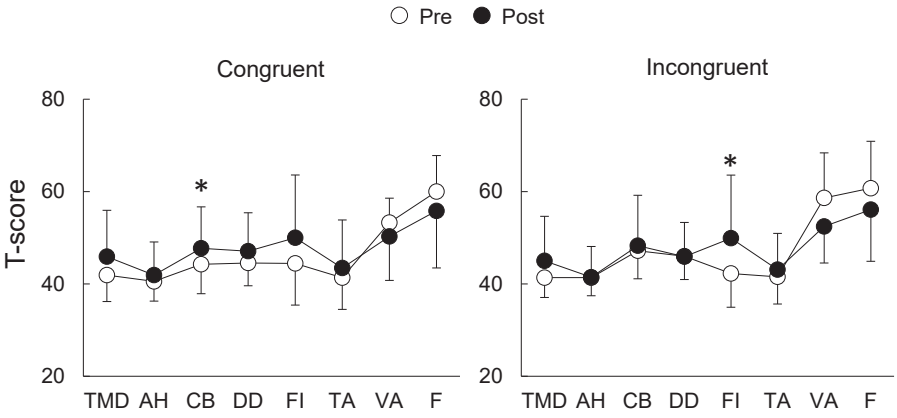


図 1．各条件課題前後における POMS スコア

Fig.1. POMS（profile of mood status）score in each congruent and incongruent conditions.
TMD: Total mood disturbance, AH: Anger–Hostility, CB: Confusion–Bewilderment, DD: Depression–Dejection, FI: Fatigue–Inertia, TA: Tension–Anxiety, VA: Vigor–Activity, F: Friendliness.
* $P < 0.05$ vs pre.

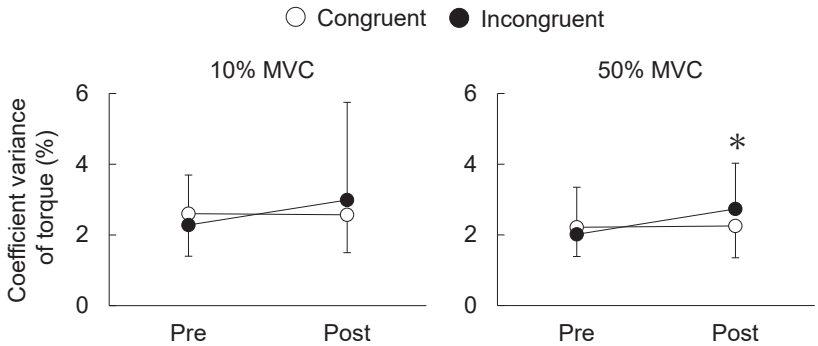


図 2．各条件課題前後の力調節発揮変動係数

Fig.2. Coefficient of variance（CV）of torque in each congruent and incongruent conditions.
* $P < 0.05$ vs pre.

表 1．各課題条件前後における10%MVC および50%MVC 力調節発揮時の脳活動賦活
Table 1. Brain activation area during left handgrip steadiness task pre and post stoop test each congruent and incongruent task conditions.

Pre						Post					
Area	Cluster size	Coordinates			Z score	Area	Cluster size	Coordinates			Z score
		x	y	z				x	y	z	
10% Congruent											
L. Inferior occipital gyrus	269	−44	−68	4	5.06	L. Inferior occipital gyrus	250	−44	−66	8	4.91
R. Insula	228	42	8	−4	4.09	L. Middle temporal gyrus					
50% Congruent											
R. Precentral gyrus	270	36	−22	44	4.23	L. Precentral gyrus	206	−36	−10	54	3.85
L. Superior parietal loblue	198	−24	−62	58	3.67						
10% Incongruent											
R. Supermarginal lobule	656	34	−34	44	4.46						
R. Precenral gyrus	574	52	8	20	4.16						
50% Incongruent											
R. Postcentral gyrus	288	32	−32	46	4.24	L. Ventricle	1109	−20	−2	28	5.40
L. Precentral gyrus	260	−28	−14	46	4.45	L. Caudate					
						R. Ventricle	399	18	20	18	5.00
						R. Caudate					
						L. Superior parietal lobule	248	−30	−46	30	4.73
						L. Anterior cingulate cortex	283	−10	28	4	4.29
						L. Cerebellum	193	0	−66	−20	4.11
						L. Superior frontal gyrus	323	22	−4	50	3.92

結　　果

図 1 に各条件の課題前後における POMS2のスコアの変化を示す。対照課題条件において、CB スコアが有意に増加した。精神課題条件では、FI スコアが有意に増加した。なお、TMD、AH、DD、TA、VA、F スコアの有意な変化は認められなかった。

図 2 に各条件の課題前後における Steadiness の変化を示す。10% MVC の CV は、精神課題条件および対照課題条件ともに課題前後の有意な変化は認められなかった。50% MVC の CV は、対照課題条件では有意な変化がなかったが、精神課題条件では課題後に有意に増加した（$P < 0.05$）。

各条件における課題前後の脳活動賦活を表 1 に示す。対照課題条件において、10% MVC 力調節発揮時の脳活動は、課題前に下後頭回および島の賦活が認められ、課題後で下後頭回および中側頭回の賦活が認められた。また、50% MVC 力調節発揮時の脳活動は、課題前に前中心回および上頭頂小葉の賦活が認められ、課題後で前中心回の賦活が認められた。精神課題条件において、10% MVC 力調節発揮時の脳活動は、課題前に前中心回および縁上回の賦活が認められ、課題後では脳活動の有意な賦活は認められなかった。また、50% MVC 力調節発揮時の脳活動は、課題前に前中心回および後中心回の賦活が認められ、課題後には、尾状核、上頭頂小葉、前帯状回、小脳、上前頭回の賦活が認められた。更に、精神課題条件のみ課題前に比べて課題後の前帯状回、中前頭回、尾状核において有意に脳活動賦活が増加した（図 3，表 2）。

考　　察

筋力発揮には、運動野、大脳基底核、小脳などの運動関連領域の脳活動が賦活する。また、Steadiness などの力調節機能には、強度やエフォートに比例して帯状回、島、前頭前野、後頭回などの運動非関連領域の脳活動も賦活する[8]。本研究でも同様に、力調節発揮時において運動野、

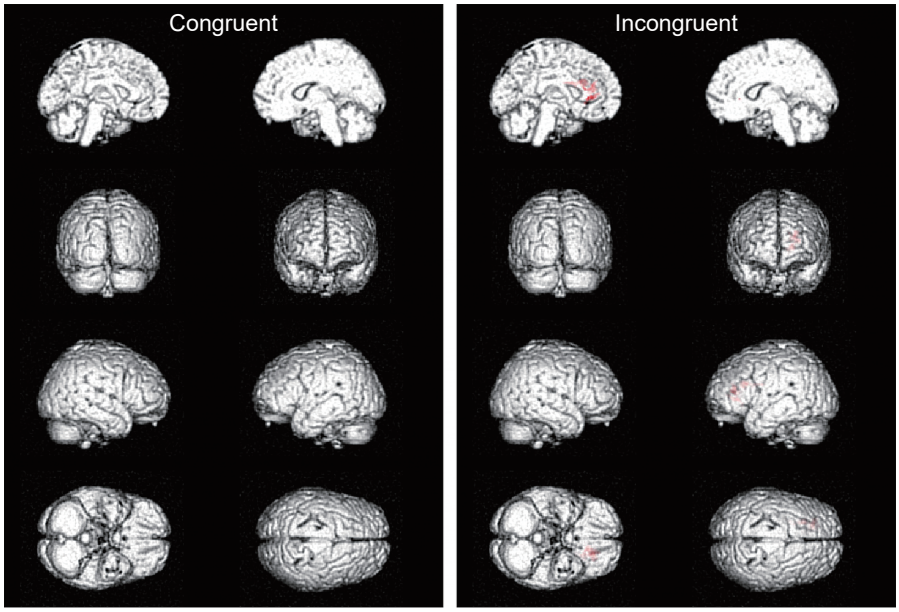


図 3．各条件の課題後に脳活動賦活が増加した脳部位
Fig.3. Brain activation volume showing significant differences pre and post incongruent task condition.
Pre < Post. The activation regions were thresholded with uncorrected $P < 0.001$ for each voxel and an activation cluster minimum of 433 voxels.

表 2．精神課題後に脳活動賦活が増加した脳部位
Table 2. Brain area showing significantly different level of activation from pre and post incongruent task condition.

	Area	Coordinates			Z score
		x	y	z	
Pre < Post	L. Angular cingulate cortex	−16	34	18	4.75
	L. Middle cingulate cortex	−20	18	26	4.49
	L. Caudate	−22	6	22	4.01
	L. Ventrricle				

島、後頭回の脳活動が賦活し、更に縁上回や上頭頂小葉などの賦活も認められていた（表 1 ）。ただし、先行研究でみられたような、10% MVC と 50% MVC の力調節発揮時の脳活動賦活に運動強度による差は認められなかった。Steadiness は、一般的に強度が低いほど CV が高くなるが、本研究では、10% MVC の CV と50% MVC の CV にも差がなかったことから、脳活動にも大きな差はなかったかもしれない。これらのことから、力調節発揮時の脳活動には、対象者の運動能力などの特性も関係する可能性が示唆された。

精神課題条件の課題後には、課題前に認められなかった小脳、尾状核、前帯状回の脳活動の賦活が認められた（表 1 ）。小脳は、感覚運動の制御にかかわっており、発揮筋力が増加するほど、小脳の脳活動も大きくなるとされている。また、痛みの感覚、情動、認知行動にも関連するとの報告もあり、運動野とともに動きの制御や感覚の統合に重要な役割を担っている[3)]。更に、自転車エルゴメータによる全身の疲労困憊運動は、掌握運動時における尾状核や大脳基底核の一部の脳活動を変化させることが示されている[2)]。本研究では、ストループテスト不一致課題の後に小脳や尾状核の活動賦活が認められたことから、精神課題は力調節発揮時の小脳や大脳基底核の脳活動に影響することが示唆された。

本研究では、精神課題条件後において POMS2 で評価した FI（疲労－無力感）のスコアが有意に増加することが認められた（図 1 ）。本研究で用いたストループテストの不一致課題は、実験的

に精神疲労を惹起する代表的な課題の 1 つであり、実行機能を評価している認知課題である。実行機能の抑制や情報処理などの能力は前頭前野と前帯状回が支配している。また、前帯状回は感情の処理、自己制御、努力/報酬の処理、および運動中の労力感知などのメンタルコンディションとも関連している。更に、アスリートは精神疲労による前帯状回の脳活動賦活が抑制されていることも報告されている[6)]。本研究では、精神疲労が惹起されたストループ不一致課題後において、前帯状回の脳活動増加と Steadiness の低下が認められた。これらのことから、精神疲労によりメンタルコンディションが低下すると、同じ運動でも努力感や労力感が増加することで前帯状回が賦活し、このことが力調節機能の低下に関与していることが示唆された。

総　　括

本研究により、精神課題条件では、50% MVC 力調節発揮時の CV が有意に増加し、前帯状回や尾状核の脳活動賦活が有意に増加することが認められた。すなわち、メンタルコンディション低下に伴う発揮制御能力低下には、大脳辺縁系の脳活動が関与していることが示された。これらの知見により、力発揮時における脳活動動態の評価はメンタルコンディションのスクリーニングに応用できることが期待される。

謝　　辞

本研究を遂行するにあたり、多大なる助成を賜りました公益財団法人明治安田厚生事業団に深く感謝申し上げます。

参 考 文 献

1）Bray SR, et al.（2008）: Effects of self-regulatory strength depletion on muscular performance and EMG activation. Psychophysiology, **45**, 337-343.

2）Hou LJ, et al.（2016）: Decreased activation of subcortical brain areas in the motor fatigue state: an fMRI study. Front Psychol, **7**, 1154.

3）Martin K, et al.（2018）: Mental fatigue impairs endurance performance: a physiologcal explanation. Sport Med, **48**, 2041-2051.

4）Pageaux B, et al.（2015）: Mental fatigue induced by prolonged self-regulation does not exacerbate central fatigue during subsequent whole-body endurance exercise. Front Hum Neurosci, **9**, 67.

5）Salonikidis K, et al.（2009）: Force variability during isometric wrist flexion in highly skilled and sedentary individuals. Eur J Appl Physiol, **107**, 715-722.

6）Stoodley CJ, et al.（2010）: Evidence for topographic organization in the cerebellum of motor control versus cognitive and affective processing. Cortex, **46**, 831-844.

7）Wallace HM, et al.（2002）: The effects of success versus failure feedback on further self-control. Self and Identity, **1**, 35-41.

8）Yoon T, et al.（2014）: Brain areas associated with force steadiness and intensity during isometric ankle dorsiflexion in men and women. Exp Brain Res, **232**, 3133-3145.

第 37 回若手研究者のための健康科学研究助成成果報告書
2020 年度 *pp*.15〜21（2023.7）

脳－筋連関の観点からとらえた運動による認知症発症予防効果にかかわる分子メカニズムの同定

伊 藤 祐 規[*,**] 武 田 朱 公[*,**] 樂 木 宏 実[***]
森 下 竜 一[*]

IDENTIFICATION OF MOLECULAR MECHANISMS INVOLVED IN THE PREVENTIVE EFFECT OF EXERCISE ON THE ONSET OF DEMENTIA IN TERMS OF BRAIN-MUSCLE INTERACTIONS

Yuki Ito, Shuko Takeda, Hiromi Rakugi, and Ryuichi Morishita

Key words: dementia, brain-muscle interactions, microfluidic device, Alzheimer's disease, tau.

緒　　言

超高齢社会である本邦においては、高齢者人口の増加に伴う認知症患者の増加が生じており、2040年には認知症患者数が800万人を超えると推定されている。Livingston ら[6] の報告では、認知症発症のリスク因子の約35〜40％は糖尿病などの生活習慣病を始めとする回避可能な要因であること、運動が認知症発症の抑制に効果的な介入手法の 1 つであることが示されている。これは、運動や糖尿病など全身のエネルギー代謝に関与する因子が認知症発症に強く関与することを示唆しており、動物モデルでは運動によるエネルギー代謝の変化が認知機能の低下を抑制することも報告されている[7]。

一方で、運動はエネルギー代謝以外の因子（筋活動や神経活動，血液循環，等）にも影響を及ぼすため、多面的な構成因子を含む運動という行為が認知機能に及ぼす影響を司る主要な因子は現時点で不明なままである。近年、各組織由来の液性因子を介して離れた臓器が相互調節を行う現象（臓器連関）が明らかとなり[5]、この観点からみると運動により生じた筋組織の変化が液性因子を介して、認知機能（神経機能）の調節を行う可能性が考えられる。ヒトにおいても運動により神経保護因子である BDNF（brain-derived neurotrophic factor）[1] の血中濃度が増加することが報告されており、全身に存在する筋由来の液性因子が神経細胞へ直接影響を及ぼす可能性が考えられる。

認知症の約60％はアルツハイマー病（Alzheimer's disease; AD）が原因疾患であるが、AD の根本的治療法は確立されていない[2]。AD 患者の脳内では過剰なリン酸化修飾を受けた病的なタウタンパクが蓄積した神経原線維変化という脳内病理像がみられ、その蓄積量は神経変性や認知機能障害の程度と相関する[3]。以上から、運動のもつ認

*　大阪大学大学院医学系研究科臨床遺伝子治療学　Department of Clinical Gene Therapy, Graduate School of Medicine, Osaka University, Osaka, Japan.
**　大阪精神医療センターこころの科学リサーチセンター　Osaka Psychiatric Research Center, Osaka Psychiatric Medical Center, Osaka, Japan.
***　大阪大学大学院医学系研究科老年・総合内科学　Department of Geriatric and General Medicine, Graduate School of Medicine, Osaka University, Osaka, Japan.

知症発症予防効果の分子メカニズムとして、筋組織由来の液性因子が神経細胞および AD などの認知症疾患の脳内病理の形成に影響を与える可能性が考えられる。

しかしながら、筋細胞由来の液性因子が神経細胞および認知症疾患の脳内病理へ与える影響の分子メカニズムは未知である。その理由の 1 つとして、互いに離れた位置にある神経細胞と筋細胞間で生じる液性因子を介した相互調節を評価可能な系が存在しないことが挙げられる。培養細胞を用いた既存の神経－筋共培養モデルは、神経細胞と筋細胞が同一空間内に混在しているため各細胞由来の液性因子を独立して評価することが困難である。

そこで本研究では、マイクロ流路チップを用いた神経－筋共培養モデルを樹立することで、神経細胞と筋細胞を互いに独立した区画で共培養することを可能とし、筋組織由来の液性因子が神経細胞へ与える影響を担う主要な液性因子を同定することを目指した。また、神経細胞、特に AD 発症に関与するタウタンパクに着目し、同定した筋細胞由来の液性因子が認知機能へ及ぼす影響を AD マウスモデルおよびヒト検体を用いた解析によって明らかにすることを試みた。

方　　法

A．マイクロ流路チップの作成

微細かつ任意の形状に加工可能な polydimethylsiloxane（PDMS）製のマイクロ流路チップを用いて、神経細胞と筋細胞を別区画かつ培養液の連続性を保った状態で共培養することができる特殊培養チャンバーを作製する。

1．SU-8製のマイクロ流路の鋳型作成

SU-8は光照射により硬化するエポキシ樹脂であり、照射部をマスクにより制限することで目的とする形状の鋳型を作成することが可能である。鋳型の作成は SU-8が感光しない（500 nm 以下の波長をカットした）長波長の蛍光灯が設置された暗室にて実施した。エタノール洗浄後のガラス基板に対してフォトレジスト（AZ 5206-E Photoresist, Hoechst Celanese）を塗布し、作図した任意の流路パターンを LED 描画システム（PLS-1010, PMT）によりフォトレジストに反映させた後、現像液を用いて余分なフォトレジストを取り除いた（フォトマスクの作成）。

原液、およびシクロロペンタンで 2 倍希釈した SU-8（SU-8 50, Kayaku Advanced Materials）をガラスウエハに塗布し、スピンコーター上で回転させることで、SU-8を 2 種類の均一な厚さをもつ層に成形した（厚い層：原液の SU-8を500 rpm で 3 秒間回転した後，1200 rpm で30秒間回転；薄い層： 2 倍希釈した SU-8を500 rpm で 3 秒間回転した後，3500 rpm で30秒間回転）。その後、ホットプレート上で10分間加熱（65℃で 5 分間加熱した後に95℃で 5 分間加熱）し、硬化させた。

フォトマスクを薄い SU-8層の表面に重ねた状態で、350～400 nm の波長をもつ UV ランプを用いて一定時間感光させた。ホットプレート上で 8 分間加熱（65℃で 2 分間加熱した後に95℃で 6 分間加熱）した後、現像液（SU-8 Developer, Y020100, Kayaku Advanced Materials）を用いて余分な SU-8を取り除いた。その後、フォトマスクを厚い SU-8層に重ねた状態で、薄い SU-8層の適切な位置に重ね合わせ、再度、感光・加熱・洗浄を実施した。ガラスウエハ上に残った SU-8製のマイクロ流路の鋳型はホットプレート上で150℃、30分間加熱し、硬化させた（図 1 A）。

2．PDMS 製のマイクロ流路チップの作成

マイクロ流路チップは SU-8により作成した流路の鋳型に対して、PDMS 液を流し込み固化することで作成した。SYLGARD 184 Silicone Elastomer Kit（3097358-1004，ダウコーニング）の主剤の A 液と、架橋剤である B 液を10： 1 で混合した後、30分間脱気をしたものを PDMS 原液とした。PDMS 原液は用時調整し、75℃で30分間加熱して硬化させた（図 1 B）。

3．スライドガラスへのマイクロ流路チップの貼り付け

PDMS 製マイクロ流路チップは、PDL コート後のスライドガラスへ貼り付けて使用した。培養チャンバーの inlet および outlet 部分に穴を空けた後、プラズマ照射処理したマイクロ流路チップの流路側の面をスライドガラスの PDL コート処理側の面と密着させ、ホットプレート上で105℃、

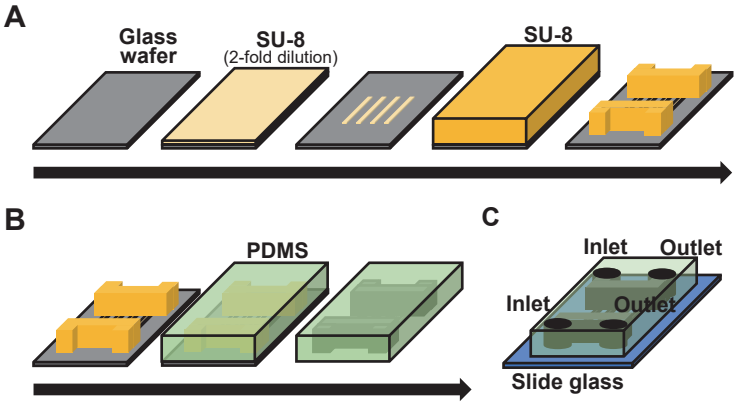


図１．神経細胞−筋細胞共培養系に用いる特殊培養チャンバー作成の模式図

Fig.1. Schematics diagram of the procedure for the creation of microfluidic device for culturing neuron and myoblast.

(A) The procedure for the creation of SU-8 mold for PDMS microfluidic chip. SU-8 of different concentrations (light yellow and dark yellow) is placed on the glass wafer (gray) to the desired shape.

(B) The procedure for the creation of PDMS microfluidic chip. PDMS (green) is poured onto SU-8 to make microfluidic channels in the mold.

(C) Schematic of the microfluidic device for culturing neuron and myoblast. The PDMS with microfluidic channels was mounted on slide glass (blue) and punctured at the inlet and outlet.

PDMS; polydimethylsiloxane.

６分間加熱することで特殊培養チャンバーを作成した（図１C）。チャンバー間の連結（マイクロ流路内の液体の移動）は、緑色および赤色の蛍光色素を一方のチャンバーにアプライすることで生じる蛍光の変化を観察することで確認した。

B．各チャンバーでの細胞培養方法の確立

マイクロ流路チップを用いた特殊培養チャンバー内で細胞培養を行う際には、乾燥を防ぐ目的でマイクロ流路チップを10 cm dish 内に設置した。また、マイクロ流路チップはセーフティーキャビネット内で紫外線を１時間照射することで滅菌した後、各細胞の培養に用いた。

１．Tau-biosensor 細胞の培養

Tau-biosensor 細胞は HEK293細胞を基に作成された病的タウの凝集体形成が評価可能な細胞である[4)]。Tau-biosensor 細胞は CFP および YFP がタグ付けされたヒトタウタンパクを過剰発現しており、蛍光顕微鏡下において細胞の形態および細胞内タウ凝集が観察可能である。10 cm dish で継代培養を行った Tau-biosensor 細胞を80％コンフルエントの時点でトリプシン処理により dish から剥離・回収した後、10％ FBS（26140079, Gibco）＋１％ PC/SM（26253-84，ナカライテスク）＋２ mM GlutaMAX（35050061, Thermo Fisher Scientific）を含む DMEM 培地（043-30085，富士フイルム和光純薬）を加え、濃度を1.2×10^6 cells/ml に調製した。調整後の細胞懸濁液はマイクロ流路チップの inlet を介して培養チャンバー部分にピペットマンを用いてアプライした。培地はピペットマンを用いてマイクロ流路チップの outlet から古い DMEM 培地を回収し、その後、新たな DMEM 培地を inlet からアプライすることで交換（１回/日）した。培養細胞の増殖および形態学的変化はスライドガラス側からの観察が可能な倒立型蛍光位相差顕微鏡（BZ-900, KEYENCE）を用いて評価した。

２．マウス初代運動神経細胞の培養

市販のマウス初代運動神経細胞（Primary Mouse Cortical Neurons, A15585, Gibco）を、B-27 Supplement（50X）、serum free（17504044, Gibco）と GlutaMAX を含む Neurobasa Medium（21103049, Gibco）を用いて特殊培養チャンバー内に、1.0×10^6 cells/ml の濃度でアプライした。その後、37℃の CO_2 インキュベーター内で培養を行い、細胞の形態学的変化は倒立顕微鏡（Primovert photo, ZEISS）を用いて観察した。

３．マウス筋芽細胞の培養

市販のマウス筋芽細胞（C2C12, CRL-1772, Gibco）を、10% FBS を含む DMEM 培地（30-2002, ATCC）を用いて特殊培養チャンバー内に、1.0×10^6 cells/ml の濃度でアプライした。その後、37℃の CO_2インキュベーター内で培養を行い、細胞の形態学的変化は倒立顕微鏡を用いて観察した。

C．神経細胞へ影響を与える筋細胞由来の液性因子の同定

特殊培養チャンバーを用いた神経細胞と筋細胞の共培養系を用いて筋細胞側に電気刺激を加えることで筋収縮を筋細胞に促し、培養液中に筋細胞由来の液性因子を放出させる。静水圧を利用して一定期間、筋細胞由来の液性因子が神経細胞に一方向性に作用可能な状態とした後、細胞や細胞培養液をチャンバーごとに独立して回収し、刺激により変動した液性因子をプロテオーム解析または抗体アレイを用いて網羅的に解析する。各細胞の形態学的変化は各細胞マーカーを用いた免疫染色により評価する。以上により、神経細胞に対して生化学的・形態学的な変化を引き起こす筋細胞由来の液性因子群およびその主要な因子の同定を試みる。これらの実験の実施条件は現在検討中である。

D．同定した液性因子が細胞内タウタンパクやマウス脳へ与える影響の解析

同定した筋細胞由来の液性因子を病的タウの凝集体形成が評価可能な Tau-biosensor 細胞に添加し、病的タウの凝集体形成に与える影響を解析する。病的タウの凝集体数はハイコンテントイメージング装置による画像処理を用いて実施する。また、病的なタウは過剰なリン酸化修飾を受けていることが報告されているため、同定した筋細胞由来の液性因子が細胞内のリン酸化タウ量へ及ぼす影響については各リン酸化タウ抗体を用いた western blotting により評価する。また、脳内にタウ病理を呈する AD マウスモデル（タウ Tg, PS19マウス）に対して同定した液性因子を投与することで、その薬効評価を行う。脳内のタウ病理が少ない若齢（3〜4 か月齢）時点で投与を開始し、3 か月間程度の反復投与を行うことで習慣的な運動を模した投与モデルを樹立する。脳内に病的なタウタンパクが蓄積し始める月齢（6 〜 7 か月齢）で認知機能評価（open-field test, 概日リズム測定）と脳内タウ量の解析（WB, ELISA）を行う。これにより、同定した液性因子が生体内でタウタンパクや認知機能へ及ぼす影響を明らかにする。

E．同定した液性因子の血中・髄液中濃度と高齢者の認知機能との相関関係の解析

研究への同意が得られた大阪大学医学部附属病院老年・総合内科に入院、およびもの忘れ外来に通院している高齢者に対して、認知機能検査（Mini-Mental State Examination; MMSE）と血液・脳脊髄液検体採取を実施した。同定した筋細胞由来の液性因子の血中および脳脊髄液中濃度と、認知機能検査結果や血中・脳脊髄液中の AD バイオマーカー濃度との相関関係を解析することで、同定した筋細胞由来の液性因子がヒトの認知機能や AD の脳内病理へ与える影響の検証を行う。

F．倫理的配慮

ヒトを対象とした研究は、大阪大学医学部附属病院（承認番号：807-3）および大阪大学大学院医学系研究科（承認番号：16478）の倫理審査委員会の承認のもと、全対象者に対して研究の内容と目的を十分に説明し、書面によるインフォームドコンセントを得たうえで実施した。また、すべての処置・測定はヘルシンキ宣言、および人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針を遵守して実施した。

G．統計解析

ヒトを対象とした研究に関しては、被験者の年齢、および MMSE スコア、脳脊髄液中の AD バイオマーカー値の群間差は Kruskal-Wallis test の後に Steel-Dwass multiple comparison tests を用いて検討した。各群における男女比は両側カイ二乗検定を用いて比較した。統計解析には、Statcel 4 ソフトウェア（OMS 出版）を使用した。結果は平均値 ± 標準偏差（standard deviation; SD）で表し、$P < 0.05$を有意とした。

結　　果

A．マイクロ流路チップの作成

マイクロ流路チップとして、外径は縦1.5 cm × 横1.0 cm の長方形、各細胞を培養するチャンバー部分は高さ94 μm、各チャンバー間をつなぐマイ

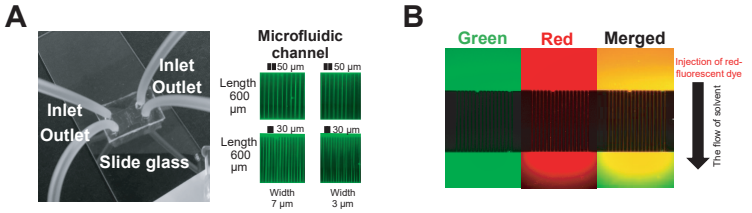


図２．神経細胞と筋芽細胞の培養用のマイクロ流路デバイスのイメージ図
Fig.2.　Images of a microfluidic device for culturing neuron and myoblast.
（A）The images show the outside of a home-made microfluidic device（left）and the pattern of microfluidic channels（right）.
（B）Fluorescent images of microfluidic channel show the distribution of red-fluorescent dye in the upper compartment after green fluorescent dye was applied to both compartments.

クロ流路は、高さ2.4 μm、長さ600 μm、流路幅が3 μm もしくは 7 μm、流路間隔が30 μm もしくは50 μm の形状のチップを作製した（図２A）。また、蛍光色素を用いた肉眼的な観察の結果、各チャンバー間および各マイクロ流路間が互いに独立していること、色素をアプライしたチャンバーから反対側のチャンバー方向へ一方向的な水流が生じることが確認できた（図２B）。

B．各チャンバーでの細胞培養方法の確立

Tau-biosensor 細胞を用いたマイクロ流路チップのチャンバー内での細胞培養に関しては、アプライ後の Tau-biosensor 細胞がスライドガラス上に接着し、その後チャンバー内で増殖する様子が観察された。一方で同じ細胞濃度かつ同量の細胞懸濁液をアプライした場合であっても、培地交換の頻度を２日ごとに減少させた場合では、培養開始から３日目の時点で細胞の増殖が認められなかった（データ非表示）。以上から、マイクロ流路チップのチャンバー内という微小空間においても Tau-biosensor 細胞は生着・増殖が可能であること、およびマイクロ流路チップのチャンバー内での細胞培養においては培地交換の頻度が細胞の生存率へ影響を及ぼすことが示唆された。

マウス初代運動神経細胞の培養に関しては、0.25×10^{6} cells/ml 以上の濃度において96 well plate への細胞の接着、および軸索の伸長がみられた。一方で、マイクロ流路チップのチャンバー内での細胞培養に関しては、1.0×10^{6} cells/ml の濃度でチャンバー内へアプライしたマウス初代運動神経細胞であっても、培養開始から２日目の時点においてスライドガラス上への細胞の接着が確認できなかった（データ非表示）。以上から、自作したマイクロ流路チップのチャンバー内でマウス初代運動神経細胞を培養する場合は、細胞濃度および培地交換の条件を更に高濃度・高頻度へと変更する必要があることが示唆された。また、マウス筋芽細胞の細胞培養に関しては、96 well plate 内での培養条件の検討を現在実施中である。

C．神経細胞へ影響を与える筋細胞由来の液性因子の同定

前述の結果から、特殊培養チャンバーを用いたマウス初代運動神経細胞とマウス筋芽細胞の共培養系を樹立するための細胞濃度、および培地交換頻度の必要条件を確認することができた。今後これをマウス初代運動神経細胞とマウス筋芽細胞それぞれにおいて最適化し、神経細胞へ影響を与える筋細胞由来の液性因子の同定を実施する予定である。

D．同定した液性因子が細胞内タウタンパクやマウス脳へ与える影響の解析

Tau-biosensor 細胞を用いた病的タウの凝集体形成評価のプロトコールは既に確立しており、解析に必要な AD マウスモデルは既に必要数確保できている。そのため今後は、神経細胞へ影響を与える筋細胞由来の因子の絞り込みを上記の神経－筋細胞共培養系を用いて実施した後に、同定した筋細胞由来の因子が細胞内タウタンパクや AD マウス脳へ及ぼす影響を検討予定である。

E．同定した液性因子の血中・髄液中濃度と高齢者の認知機能との相関関係の解析

2021年４月から2022年12月の間で、同意が得られた高齢者118名の血液・脳脊髄液検体の採取と

表 1．参加者の特徴
Table 1. Participant characteristics.

Clinical diagnosis	HC	MCI	Dementia	*P* value
No.	7	76	35	
Age, years, mean（SD）	74.1（8.5）	76.4（7.0）	79.6（7.6）	0.05
Sex, male, n（%）	6（85.7）	35（46.1）	8（22.2）	< 0.0001
MMSE	28.9（1.1）	23.7（4.4）[a]	17.8（5.9）[a,b]	< 0.0001
CSF biomarkers for AD diagnosis				
Aβ42, pg/ml, mean（SD）	1212.9（370.9）	717.1（301.5）[a]	582.0（208.7）[a]	< 0.0001
Phosphorylated tau, pg/ml, mean（SD）	49.3（23.7）	74.7（36.2）	76.2（41.4）	0.21
p-tau/Aβ42, mean（SD）	0.043（0.020）	0.125（0.090）[a]	0.144（0.087）[a]	< 0.05

Age was compared by the Tukey-Kramer test followed by ANOVA. MMSE and, CSF biomarkers for AD diagnosis were compared by the Kruskal-Wallis test followed by Steel-Dwass multiple comparison tests. The sex ratio was analyzed using the Chi-square independence test. [a] $P < 0.01$ compared to control, [b] $P<0.01$ compared to MCI. ANOVA; analysis of variance, CSF; cerebrospinal fluid, AD; Alzheimer's disease, HC; healthy controls, MCI; mild cognitive impairment, MMSE; Mini-Mental State Examination, SD; standard deviation.

認知機能検査を実施した。また、専門医による認知症の臨床診断、および脳脊髄液中の AD バイオマーカー（Aβ42，リン酸化タウ）量の測定も全被験者を対象に実施した（表 1 ）。その結果、軽度認知機能低下（mild cognitive impairment; MCI）の方、および認知症患者が全被験者の90％以上を占め、そのなかには、AD バイオマーカーが陽性となる（AD の脳内病理の存在が強く疑われる）患者が含まれていることが確認できた。この結果から、各臨床診断区分間の筋由来の液性因子量の比較や、認知機能や AD バイオマーカーと筋由来の液性因子量の関係の検討に必要な検体は既に十分量確保できていると考えられる。

考　　察

本研究により、特殊培養チャンバーを用いたマウス初代運動神経細胞とマウス筋芽細胞の共培養系を樹立するための細胞濃度、および培地の交換頻度の必要条件を確認することができた。今後、微小空間におけるマウス初代運動神経細胞、およびマウス筋芽細胞における培養方法の最適化を行うために、細胞濃度や培地交換頻度の追加検討が必要であると考える。特にマウス初代運動神経細胞においては、同じ細胞濃度であっても96 well plate を用いた場合では細胞培養が可能であるが、マイクロ流路チップを用いた場合では細胞の生着がみられなかった。この結果は、マイクロ流路チップを用いた培養では細胞の生存に十分な量の栄養や水分が確保できていないことを示唆していると考えられる。そのため今後は、最適な培地の交換頻度の検討を中心としたマウス初代運動神経細胞の培養条件の検討を実施し、神経－筋細胞の共培養系の樹立、および各培養チャンバー内の液性因子の解析を行う予定である。現時点で既に十分量のマウスおよびヒト検体が確保できているため、上記の細胞系を樹立し、標的となる筋細胞由来の液性因子を絞り込むことができれば、本研究課題は飛躍的に進展すると考えられる。

総　　括

特殊培養チャンバーを用いたマウス初代運動神経細胞とマウス筋芽細胞の共培養系を樹立するための細胞濃度、および培地の交換頻度の必要条件が確認できた。今後は、最適な培地の交換頻度の検討を中心としたマウス初代運動神経細胞の培養条件の検討を実施し、マイクロ流路チップを用いた神経－筋共培養系の樹立、および各培養チャンバー内の液性因子の解析を行う。

運動による認知症発症予防効果の分子生物学的な根拠を得ることができれば、運動習慣や生活内容の改善による健康寿命延伸を目指すための重要な科学的裏付けとなる。

謝　　辞

本研究は、公益財団法人明治安田厚生事業団による第37 回若手研究者のための健康科学研究助成のご支援により実施いたしました。本研究課題をご採択・ご支援いた

だいた関係者の皆様に厚く御礼申し上げます。

参 考 文 献

1）Erickson KI, et al.（2011）: Exercise training increases size of hippocampus and improves memory. Proc Natl Acad Sci U S A, **108**（7）, 3017-3022.

2）Ferri CP, et al.（2005）: Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. Lancet, **366**（9503）, 2112-2117.

3）Gómez-Isla T, et al.（1997）: Neuronal loss correlates with but exceeds neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. Ann Neurol, **41**（1）, 17-24.

4）Holmes BB, et al.（2014）: Proteopathic tau seeding predicts tauopathy in vivo. Proc Natl Acad Sci U S A, **111**（41）, E4376-4385.

5）Imai J, et al.（2008）: Regulation of pancreatic beta cell mass by neuronal signals from the liver. Science, **322**（5905）, 1250-1254.

6）Livingston G, et al.（2017）: Dementia prevention, intervention, and care. Lancet, **390**（10113）, 2673-2734.

7）Shima T, et al.（2017）: Moderate exercise ameliorates dysregulated hippocampal glycometabolism and memory function in a rat model of type 2 diabetes. Diabetologia, **60**（3）, 597-606.

第 37 回若手研究者のための健康科学研究助成成果報告書
2020 年度 *pp*.22～26（2023.7）

運動機能と認知・記憶機能の向上を目指したうま味受容体を基軸とする脳－腸－骨格筋連環の解明

井　上　愛沙子*　　古　株　彰一郎*

ELUCIDATION OF THE BRAIN-INTESTINE-SKELETAL MUSCLE LINKAGE CENTERED ON THE UMAMI TASTE RECEPTOR FOR THE IMPROVEMENT OF MOTOR FUNCTION AND COGNITIVE/MEMORY FUNCTION

Asako Inoue and Shoichiro Kokabu

Key words: taste receptor, brain, intestine, skeletal muscle.

緒　　言

我が国は世界一の長寿国であるが、「平均寿命」と「健康寿命」の間には約10年の乖離がある。これは生活の質が低下したり、介護が必要な状態で人生の最後を過ごしたりしなければならないことを意味する。サルコペニア（筋の衰弱）や骨粗しょう症（骨の衰弱）などでみられる運動機能の低下と認知症に代表される認知・記憶機能の低下、更に糖尿病などの生活習慣病の基礎となる肥満症は健康寿命、すなわち、心身ともに自立し健康的に生活できる期間を短縮させる大きな要因である。そのため超高齢社会の我が国では、健康寿命を延伸するため運動と認知・記憶機能の向上、ならびに肥満の解消を目指した取り組みが必要である。更に、この取り組みを広く普及させるために、運動と認知・記憶機能の向上を担う手法は高価な薬剤などではなく、食生活や日常の活動など、生活習慣に根ざしたものが望ましい。

Tas1R ファミリー（Tas1r1, Tas1r2, Tas1r3）（図1）はGタンパク質共役型受容体で味覚受容器として Tas1r2/Tas1r3 の複合体で甘味、Tas1r1/Tas1r3の複合体でアミノ酸や核酸などのうま味を感知する。

食物中のうま味物質は口腔粘膜の味蕾に存在するうま味受容体で受容され、“おいしい”という味感覚として認知し、積極的に摂取され、消化されたアミノ酸は小腸粘膜で吸収され骨格筋に筋線維タンパク質として貯蔵される。そして飢餓時などでは、筋線維を分解しアミノ酸を血中に放出する。サルコペニアでは、このアミノ酸ネットワークが破綻し、骨格筋タンパクが分解しアミノ酸を放出する量が取り込み量を上回ることで骨格筋量の減少と機能低下をもたらす（図２）。

舌に存在するうま味受容体は、うま味という豊かな味わいを脳に伝え幸福感をもたらし、運動器（骨・骨格筋）の構成材料となるうま味物質（アミノ酸・核酸）の摂取を促進することで、メンタルヘルスと運動機能の向上に必須である。近年、このうま味受容体が舌以外のさまざまな組織に存

* 九州歯科大学歯学部分子情報生化学分野　Division of Molecular Signaling and Biochemistry, Kyushu Dental University, Fukuoka, Japan.

在し、その機能を制御するなど、うま味感覚の受け取り手だけにとどまらない役割に注目が集まっている（図３）。

例えば、小腸のうま味受容体を介したグルタミン酸刺激は、小腸上皮細胞の正常なターンオーバーに不可欠であり[9]、うまみ刺激がなければ小腸からのアミノ酸吸収が低下することが示唆される。骨格筋のうま味受容体はアミノ酸を受容してオートファジー系によるタンパク分解を抑制する[8]。骨においてもその存在が知られ、うま味受容体の全身性ノックアウトマウス（KO）[7]や機能喪失マウス[3]に高エネルギー食を摂取させ肥満を起こさせると、野生型に比べ骨量が維持される。しかし、これらのマウスにおいて骨吸収の低下による骨量維持の可能性が示唆されているものの[3]、破骨細胞におけるうま味受容体の機能は全く検討されていない。更に、グルタミン酸は中枢神経では主要な興奮性神経伝達物質であるが、うま味受容体を介したグルタミン酸の機能は全くわかっていない。すなわち全身に存在するうま味受容体の機能や意義についてまだまだ不明な点が多い。

そこで本研究では運動器や中枢神経系に発現するうま味受容体の機能を解析し、うま味受容体の制御による運動機能と認知・記憶機能の向上を目

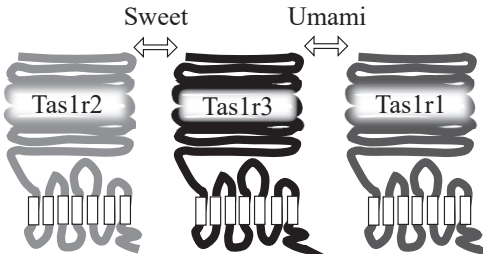


図１．Tas1rR ファミリー
Fig.1.　Taste 1 receptors.
Taste 1 receptors（Tas1r1, Tas1r2, Tas1r3）is a G protein-coupled receptor that senses sweet taste through the Tas1r2/Tas1r3 complex and umami taste through the Tas1r1/Tas1r3 complex.

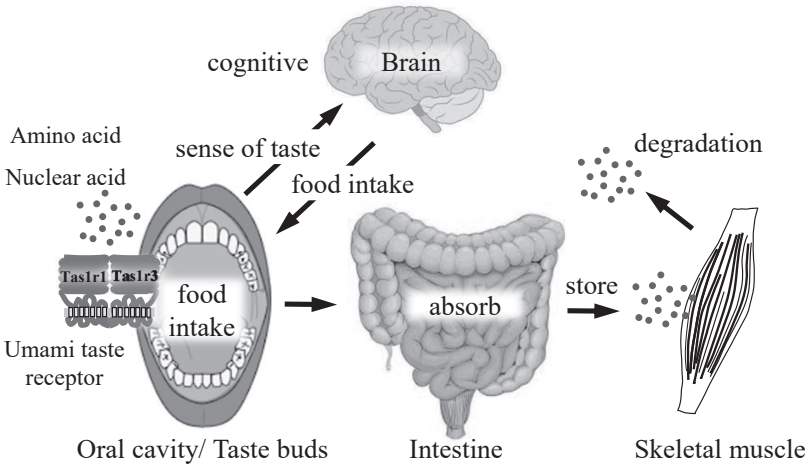


図２．摂取後のうま味物質（アミノ酸・核酸）の動態
Fig.2.　The kinetics of Umami substance（amino acid / nuclear acid）after ingestion.

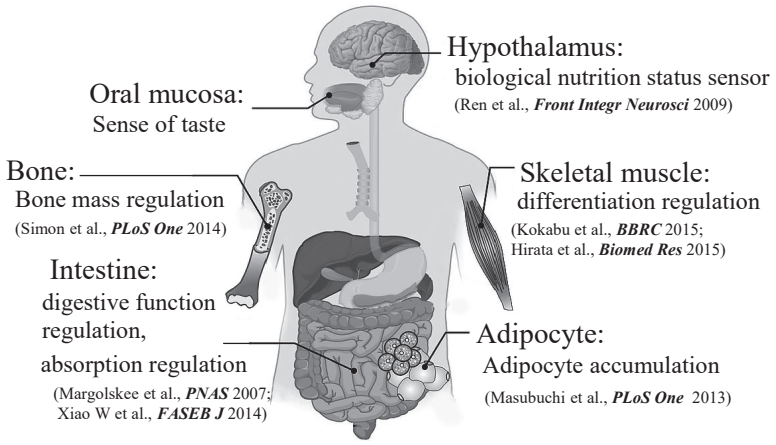


図３．うま味受容体はさまざまな組織に存在する
Fig.3.　Taste receptors expresses by various tissues.

指した健康増進法確立のための分子基盤形成を目的とした。

方　　法

A．遺伝子改変マウスの作製

Tas1r1 null マウスは株式会社セツロテックに委託し、エレクトロポレーション法を用いて受精卵へ Cas 9 protein とガイドシークエンスを導入し、マウス Tas1r1の第 6 エクソンを欠失させることで作製した。Tas1r3 null マウス[2] および Tas1r3 eGFP マウス[1] は岡山大学の吉田竜介教授より提供していただいた。

B．RNA の抽出とリアルタイム PCR

FastGene^{TM}RNA Basic Kit（日本ジェネティク，東京，日本）を用いて mRNA を抽出し、High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit（Thermo Fisher Scientific，東京，日本）を使用して cDNA に逆転写した。リアルタイム定量的（q）PCR は、Quantstudio 3 システム（Thermo Fisher Scientific）で評価した。遺伝子発現レベルは、ΔΔCT 法で計算し、mRNA 標的遺伝子をハウスキーピング遺伝子である β-actin で標準化した。

C．骨格筋の再生

10週齢の雄マウスの前脛骨筋に10 μM カルディオトキシンを50 μl を注射し骨格筋再生を誘導した。

D．サテライト細胞の採取

6 週齢雄マウスの前脛骨筋を採取し、コラゲナーゼ処理後 MACS システムを用いてサテライト細胞を単離した。プラスチックディッシュに播種後 5 %ウマ血清含有分化培地で培養し、筋分化を誘導した。

E．破骨細胞分化および TRAP 染色

RAW 264.7細胞およびマウス骨髄細胞は10％ FBS、100 ng/ml sRANKL を添加した αMEM で 4 日間培養し、2 日ごとに培地交換を行った。分化した細胞は10%ホルムアルデヒドで10分間、エタノール - アセトン（1 ： 1）混合液で 1 分間固定した後、蒸留水で洗浄した。固定した細胞を50 mM 酢酸緩衝液に Fast Red violet LB salt、Naphthol-MX phosphate、N,N-dimethylformamide を加えた TRAP 溶液を用いて染色した。

F．細胞の免疫染色

細胞を 4 % PFA で固定後、0.3% Triton X100と 5 %ヤギ血清含有 PBS で室温30分間透過処理およびブロッキングした後、一次抗体を 1 時間作用させた。抗 Myhc マウスモノクローナル抗体（MF20, R & D Systems, Minneapolis, MN）もしくは抗 Ki-67ウサギポリクローナル抗体（ab15580, Abcam）を用いた。二次抗体として Alexa 488-conjugated secondary antibody（Invitrogen, Carlsbad, CA）を用い、ABZ-9000（Keyence，東京，日本）を用いて観察した。

G．細胞の免疫染色

標本は安楽死後に採取して、液体窒素を用いてイソペンタンで急速凍結し、−80℃で保存した。組織切片はヘマトキシリン・エオジン染色を行った。組織切片の画像は BZ-II Analyzer（KEYENCE, 大阪，日本）を用いて記録した。筋線維の外周を ImageJ software（National Institute for Health）で記録し、筋線維の断面積（CSA）を求めた。CSA を求める際の組織選択基準としては、著明な彎曲や歪みがないものとした。また斜めに切られた切片も除外した。

H．運動機能試験

Tas1r1および Tas1r3 null マウスに対して、ホイール試験およびローターロッド試験を実施した。ホイール試験ではホイールを設置した特殊ケージを用い、マウスが自発的にホイール上にいる時間と走行距離、走行スピードを計測した。ローターロッド試験では回転させていないロッドにマウスを 5 分間乗せたときの落下回数を測定した。

I．認知機能試験

Tas1r1および Tas1r3 null マウスに対して、Y 字型迷路試験および Morris 水迷路試験を実施した。マウスを Y 字迷路のいずれかのアームの先端に置き、5 〜 8 分間にわたって迷路内を自由に探索させ進入したアームを順に記録した。Morris 水迷路試験では、マウスから見えないように水面下10 〜15 mm に退避用プラットホームを設置した大型の円形プールを用意し、プラットホームへの到達時間ならびに遊泳距離を計測した。

J．統計解析

2 群間の比較には Wilcoxon 検定を用いた。3

群以上の比較には一元配置分散分析の後、Tukey-Kramer の事後検定を行った。$P < 0.05$は統計的に有意であるとみなした。

結　　果

A．Tas1r1と Tas1r3は脳および運動器に発現する

野生型マウス各組織に発現する Tas1r1と Tas1r3の mRNA レベルを比較した。Tas1r1は特に骨格筋組織でその発現量が高く、Tas1r3は特に発現量が高かった。脳では Tas1r1、Tas1r3ともに発現した。また骨形成を担う骨芽細胞、骨吸収を担う破骨細胞ともに Tas1r3の発現があったものの、Tas1r1の発現はほとんどなかった。これらの発現は Tas1r3GFP マウスから採取した組織に対して GFP の抗体を用いた免疫染色においても確認することができた。発現のポジティブコントロールとして舌の味蕾細胞を染色した。以上より、うま味受容体は味蕾だけでなく脳や骨、骨格筋にも発現することが確認できた。

B．Tas1r1と Tas1r3の発現は骨格筋分化とともに発現量が増加する

野生型のマウス骨格筋より採取した初代培養サテライト細胞を筋分化条件で培養したところ、筋分化マーカーすなわち Myogenin や Myosin heavy chain 1 などとともに、Tas1r1、Tas1r3の mRNA 量が上昇した。これまで我々はマウスサテライト細胞の細胞株 C2C12を用いて Tas1r1と Tas1r3の発現制御メカニズムを報告してきたが[4,5]、今回の初代培養サテライト細胞を用いた結果と一致することとなった。

C．Tas1r1と Tas1r3の欠失で骨格筋の再生能が低下する

Tas1r1および Tas1r3 null マウス null 由来サテライト細胞を用いて実験を行った。いずれの細胞も野生型に比べて細胞増殖能や分化能が低下した。カルディオトキシンの注入で誘導した前脛骨筋の再生を観察したところ、Tas1r1 null マウスではほぼ変化はなかったが、Tas1r3 null マウスでは再生筋の面積が有意に小さかった。

D．Tas1r3シグナルの過剰で筋再生が亢進するわけではない

C2C12細胞にマウス Tas1r3の cDNA を遺伝子導入し、Tas1r3を過剰発現した細胞を作製し観察した。しかしながら、Tas1r3が過剰にあった状態でも、細胞の増殖や分化能などに変化はなかった。

E．Tas1r3の欠失では破骨細胞および骨芽細胞分化能も低下する

破骨細胞には Tas1r3の発現はあったが、Tas1r1も Tas1r2の発現もほとんどなかった。骨芽細胞には Tas1r1、Tas1r2、Tas1r3がいずれも発現していた。破骨細胞および骨芽細胞の分化とともに Tas1r3の mRNA 量は増加した。また、Tas1r3 null 細胞から採取した破骨細胞前駆細胞ならびに骨芽細胞前駆細胞を分化誘導したところ、野生型コントロールに比べてそれぞれの分化能が有意に低下していた。

F．Tas1r3シグナルの過剰で破骨細胞分化は亢進するが骨芽細胞分化は亢進しない

破骨細胞前駆細胞株 RAW 264.7細胞と前骨芽細胞株 MC3T3-E1細胞にマウス Tas1r3の cDNA を遺伝子導入し、Tas1r3を過剰発現した細胞をそれぞれ作製し観察した。すると RAW264.7細胞の破骨細胞分化は著明に亢進したが、MC3T3-E1細胞の分化能にはほとんど影響を与えなかった。

G．Tas1r1と Tas1r3は直接的に運動・認知機能に影響を与えなかった

Tas1r1および Tas1r3 null マウスはいずれも野生型と比較して、ホイール試験、ローターロッド試験、Y 字型迷路試験、および Morris 水迷路試験において有意な差を得ることはできなかった。

考　　察

うま味感受性が低下しているヒトは、他の味覚（甘味，塩味，酸味，苦味）障害と比べ著しい体重の減少や全身状態の悪化を認めると報告された[6]。この報告では、「うま味がわからず食事が美味しいと感じないため、摂食量が低下したからであろう」と解釈されていた。しかし、もしゲノムレベルでうま味受容体の発現量や感受性の低下が生じていれば、単に味としての感覚低下だけでなく、アミノ酸ネットワークを構成する小腸粘膜や骨格筋、その他臓器のうま味受容体も同様に機

能低下が起きているはずである。すなわち体重の減少や全身状態の悪化は消化吸収の低下による栄養状態の不良、骨格筋代謝異常による骨格筋量の減少が体重減少として表出しているとの説明が可能であり、褐色脂肪細胞によるエネルギー代謝の変化も関与しているかもしれない。更に、うま味感受性が低下しているヒトでは、うま味受容体の発現量が高い脳・骨組織などにおいても、うま味受容体および発現する臓器そのものの機能低下が起きている可能性も十分に考えられる。

サルコペニア、骨粗しょう症、認知症は健康寿命を短縮させる代表的な疾患である。将来的に得られた研究成果から、食事（食品成分）によりうま味受容体の活性を制御する手法を確立することで、これら疾患の予防への実利用が大いに期待できる。例えば、ゲノム情報やうま味感受性と種々の疾患や身体的特徴との相関が明らかになれば、簡便かつ低コストのうま味感受性検査から種々の疾患のリスクを予見することが可能となり、そのリスクに応じてうま味受容体を活性化する食事や食事成分を提供することなどである。

これまで日本社会は、「生命科学」により生み出された医療技術を駆使し、生の消滅をでき得る限り回避することに邁進してきた。その結果、一個人として自立して社会生活を営むことができる「健康寿命」と、生が尽きる「生命寿命」のギャップが10年も生じている。また、現代の生命科学とテクノロジーが創出した超高額医薬品により、我が国の医療制度の崩壊と経済格差による生命の選別が現実のものとなりつつある。すなわち食に基づくことで安価に健康寿命の延伸を提唱する本提案研究は、これら諸問題を解決し、超高齢社会の我が国の「社会」を持続可能なものへと大きく転換させる破壊的ポテンシャルをもつシーズであると考えている。

総　　括

本研究により特に運動器に発現するうま味受容体の機能の一端を明らかにすることができた。本研究を発展させ、将来的に食事成分中のうま味刺激物質で効率的にうま味受容体を活性化させ、運動機能とメンタルヘルスを向上させる方法が確立できれば、本研究課題は広く国民一般の「健康増進」・「健康な長寿」の実現に貢献できる。

謝　　辞

本研究を助成対象として採択しサポートいただきました公益財団法人明治安田厚生事業団に御礼申し上げます。また、共同研究者として本研究に参画し、貴重なご意見やご協力を賜りました九州歯科大学講師 William N. Addison 氏、日本大学講師人見涼露氏、岡山大学教授吉田竜介氏、更に貴重な御助言をいただいた九州歯科大学分子情報生化学分野研究室メンバーに感謝を申し上げます。

本報告書におきましては、論文投稿前であるため具体的なデータの掲載を控えさせていただきました。

参 考 文 献

1）Clapp TR, et al.（2006）: Mouse taste cells with G protein-coupled taste receptors lack voltage-gated calcium channels and SNAP-25. BMC Biol, **4**, 7.

2）Damak S, et al.（2003）: Detection of sweet and umami taste in the absence of taste receptor T1r3. Science, **301**, 850-853.

3）Eaton MS, et al.（2018）: Loss of the nutrient sensor TAS1R3 leads to reduced bone resorption. J Physiol Biochem, **74**, 3-8.

4）Hirata Y, et al.（2019）: Krüppel-like factor 5（Klf5）regulates expression of mouse T1R1 amino acid receptor gene（Tas1r1）in C2C12 myoblast cells. Biomed Res, **40**, 67-78.

5）Kokabu S, et al.（2015）: Muscle regulatory factors regulate T1R3 taste receptor expression. Biochem Biophys Res Commun, **468**, 568-573.

6）Sasano T, et al.（2014）: Important role of umami taste sensitivity in oral and overall health. Curr Paharm Des, **20**, 2750-2754.

7）Simon BR, et al.（2014）: Sweet taste receptor deficient mice have decreased adiposity and increased bone mass. PLoS One, **9**, e86454.

8）Wauson EM, et al.（2012）: The G protein-coupled taste receptor T1R1/T1R3 regulates mTORC1 and autophagy. Mol Cell, **47**, 851-862.

9）Xiao W, et al.（2014）: Glutamate prevents intestinal atrophy via luminal nutrient sensing in a mouse model of total parenteral nutrition. FASEB J, **28**, 2073-2087.

第 37 回若手研究者のための健康科学研究助成成果報告書
2020 年度 *pp*.27～32（2023.7）

身体活動量低下がうつ状態を介して、心血管死亡を引き起こす因果メカニズムの解明―因果推論における機械学習の応用―

井　上　浩　輔*

ESTIMATING THE EFFECT OF LOW PHYSICAL ACTIVITY ON CARDIOVASCULAR DEATH THROUGH DEPRESSIVE SYMPTOMS: AN APPLICATION OF MACHINE LEARNING AND CAUSAL INFERENCE

Kosuke Inoue

Key words: daily step, depressive symptoms, cardiovascular disease, mortality, causal mediation analysis.

緒　　言

運動不足は、日本のみならず世界的に重要な公衆衛生の課題であり、年間推定320万人の死亡を引き起こし、540億ドルの直接医療費を課している[3)]。今まで多くの先行研究では、身体活動の簡便かつ有効な尺度として日々の平均歩数を用い心血管疾患や認知症を含む健康アウトカムとの関係が示されてきた[6)]。しかしながら、スマートフォンの加速度センサーをもとにした最近の報告によると、米国居住者の 1 日の平均歩数はわずか4800歩であり、健康を維持するために一般的に推奨されている10000歩という数字を大きく下回っており[1)]、エビデンスに基づく早急な対応が必要である。

抑うつ症状などのメンタルヘルスは心血管病と密接に関連する因子である[4)]。過去の大規模ケースコントロール研究では、うつ病を含む心理社会的ストレスが急性心筋梗塞のリスク（約30%）に寄与する、脂質・喫煙に次ぐ第 3 の因子であることが明らかとなっている[10)]。身体活動とメンタルヘルスが密接に関係していることから、身体活動量の簡便な客観的指標である平均歩数と、心血管病や死亡などの長期予後の関連において、抑うつ症状がどれだけ寄与しているかを明らかにすることは極めて重要である。

本研究では、米国成人の全国代表サンプルを用いて加速度計による 1 日の平均歩数と抑うつ症状、全死亡・心血管死亡の用量反応関係を調べた。更に、1 日の歩数不足（10000歩/日未満 vs 10000歩/日以上）と死亡率の関連における抑うつ症状の媒介効果を、因果媒介解析を用いて定量化した（図 1 ）。

方　　法

A．研究デザイン

本研究では米国健康栄養調査（National Health and Nutrition Examination Survey; NHANES）2005～2006年のデータを2019年までの死亡記録とリンケージして使用した。NHANES は米国疾病対策

* 京都大学大学院医学研究科社会疫学分野　Department of Social Epidemiology, Graduate School of Medicine and School of Public Health, Kyoto University, Kyoto, Japan.

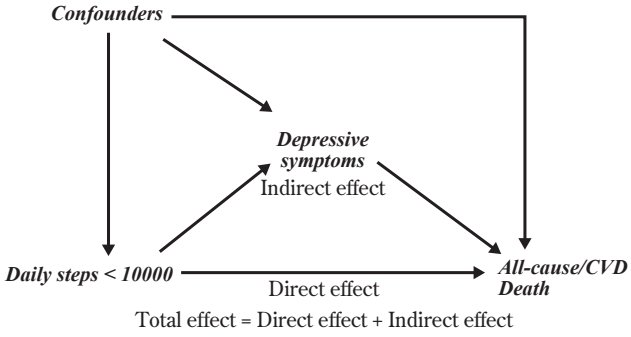


図１．因果ダイアグラム
Fig.1.　Causal diagram under investigation.

予防センターの国立健康統計センターにより行われている調査である[5]。NHANES では複雑なサンプリングデザインにより対象者を選定したうえで、質問紙によるアンケート・身体診察・血液尿データ採取を行っている。該当年のアンケート回答率は80.5％であった。加速度計データに基づき１日当たりの歩数が入手できた20歳以上の成人4372人のうち、不適切なデータであった対象者・下記の共変量のデータがない対象者は除外し、最終的な解析対象者は3466人であった。本研究は京都大学大学院医学研究科の倫理審査委員会の承諾を得て行った（承認番号：R3044）。

Ｂ．曝露因子：１日の平均歩数

参加者は連続で７日間、起床時に腰部に加速度計（ActiGraph model 7164）を装着するよう指示された[8]。加速度センサーの装着時間が10時間以上の日が１日以上ある人を対象としたうえで、期間中の１日の歩数を合計し、各参加者の測定時間が十分であった日数で割ることで、１日の平均歩数を算出した。

Ｃ．中間因子：抑うつ症状

うつ病症状の評価には、９つの項目からなる患者健康質問票（PHQ-9）を使用した[7]。５点以上の参加者は、少なくとも軽度の抑うつ症状を有すると判断した。

Ｄ．アウトカム：全死亡・心血管死亡

主要アウトカムは、全死亡であり、社会保障番号、氏名、生年月日、人種/民族、性別、出生州、居住州を含めたマッチングにより National Death Index に基づく死亡証明情報を用いた。副次アウトカムとして、国際疾病分類第10版のコード（I00-09，I11，I13，I20-51，I60-69）による死因の基礎疾患により定義した心血管死亡を用いた。

Ｅ．共変量

年齢、性別（男性，女性）、人種/民族（Hispanic, Non-Hispanic White, Non-Hispanic Black, Others）、教育状況（高校未満，高校または一般教育程度，それ以上）、保険の有無（民間保険，公的保険，保険なし）、婚姻状況（独身，既婚）、喫煙（Never, Former, Current）の情報は質問紙から収集した。併存疾患としては、糖尿病、高血圧、心血管疾患、がん、肺気腫それぞれについて医師から診断された既往があるかを変数として用いた。body mass index（BMI）は、体重と身長の測定値から算出し、慢性腎臓病は血液データから算出される eGFR によって定義した。

Ｆ．統計解析

まず、平均歩数とうつ病の関連を調べるため、10000歩/日未満の対象者（vs 10000歩/日以上の対象者）の抑うつ症状に対するオッズ比を、多変量ロジスティックモデルを用いて算出した。次に多変量 COX 回帰モデルを用いて、10000歩/日未満の対象者（vs 10000歩/日以上の対象者）の全死亡・心血管死亡ハザード比を算出した。いずれのモデルにおいても交絡因子として上記の年齢、性別、人種/民族、保険の有無、配偶者の有無、喫煙、BMI、慢性腎臓病、糖尿病、高血圧、心血管疾患、がん、肺気腫の既往を調整した。更に、平均歩数と抑うつ症状、全死亡・心血管死亡との間の用量反応関係を評価するために、制限付き三次スプライン曲線を求めた。また、アンサンブル学習による targeted maximum likelihood estimation（TMLE）を用いることで、10000歩/日未満の対象者（vs 10000歩/日以上の対象者）の抑うつ症状および10年後死亡に対する二重ロバスト推定量、抑うつ症状の10年後死亡に対する二重ロバスト推定量を計算した。

因果媒介分析[9] では上記の交絡因子を調整したうえで、不十分な平均歩数（10000歩/日未満 vs 10000歩/日以上）が抑うつ症状を介して全死亡・心血管死亡リスクを増大させるリスクを定量化することを目的とした。周辺構造モデルにおいて、中間因子を予測する機械学習モデル（ランダムフォレスト）を構築し、重みづけを算出すること

で、不十分な平均歩数と死亡の関連（総合効果）を抑うつ症状を介する場合（間接効果）と介さない場合（直接効果）でそれぞれ算出した。媒介される割合は、間接効果の対数を総合効果の対数で割り算出した。200回ブートストラップしたサンプルで分析を繰り返すことで、バイアス補正された95％信頼区間（CI）を推定した。最後に男女差の有無を評価するために性別によるサブグループ解析を施行した。すべての統計解析は、Stata version 17（StataCorp）およびR version 4.2.2を用いて実施された。

結　　果

参加者の平均年齢（標準偏差）は49（18）歳で、52％が女性であった。平均歩数が10000歩/日未満である対象者は、10000歩/日以上の対象者と比較して、高齢・女性・多くの併存疾患を有していた（表1）。

A．平均歩数と抑うつ症状の関連

3466人の成人のうち、711人（重み付けなし：21％，重み付けあり：20％）が抑うつ症状を示した。10000歩/日未満の平均歩数は、10000歩/日以上の平均歩数と比較して抑うつ症状が高いオッズを示した（調整後オッズ比［95％信頼区間］＝1.80［1.26 to 2.56］）。制限付き三次スプライン曲線において、歩数と抑うつ症状の用量反応性の関係を認めた（図2）。TMLEによって推定されたオッズ比（95％信頼区間）は1.65（1.30 to 2.00）であった。

表1．対象者の属性
Table 1.　Demographic characteristics of study participants.

	Adults with ≥ 10000 steps/day	Adults with < 10000 steps/day
Number of participants	906	2560
Age（mean（SD））	45.46（14.71）	49.79（19.42）
Women（%）	354（39.1）	1448（56.6）
Race（%）		
Non-Hispanic White	460（50.8）	1305（51.0）
Non-Hispanic Black	145（16.0）	624（24.4）
Hispanic	267（29.5）	534（20.9）
Others	34（ 3.8）	97（ 3.8）
Insurance（%）		
Uninsured	229（25.3）	527（20.6）
Private	570（62.9）	1375（53.7）
Public	107（11.8）	658（25.7）
Married（%）	590（65.1）	1373（53.6）
Smoking（%）		
Never	473（52.2）	1324（51.7）
Current	182（20.1）	550（21.5）
Former	251（27.7）	686（26.8）
Obesity（%）		
BMI < 25	323（35.7）	720（28.1）
BMI 25 < 30	350（38.6）	855（33.4）
BMI ≥ 30	233（25.7）	985（38.5）
Diabetes（%）	53（ 5.8）	305（11.9）
Hypertension（%）	193（21.3）	935（36.5）
Chronic kidney disease（%）	906（100.0）	2560（100.0）
eGFR ≥ 90	39（ 4.3）	320（12.5）
eGFR 60 < 90	49（ 5.4）	243（ 9.5）
eGFR < 60	6（ 0.7）	66（ 2.6）

BMI; body mass index.

B．平均歩数と全死亡・心血管死亡の関連

中間観察期間13.5年において、全死亡は666人（重み付けなし：19%，重み付けあり：14%）、心血管死亡は216人（重み付けなし：７%，重み付けあり：５%）に認められた。10000歩/日未満の平均歩数は、10000歩/日以上の平均歩数と比較して高い全死亡・心血管死亡リスクを示したがいずれも統計的有意差は認めなかった（全死亡：調整後ハザード比［95%信頼区間］＝1.56［0.88 to 2.78］，心血管死亡：調整後ハザード比［95%信頼区間］＝1.41［0.80 to 2.51］）。制限付き三次スプライン曲線では特に10000歩/日未満で強い歩数と死亡の用量反応性の関係を認めた（図３）。TMLE によって推定された10000歩/日未満の平均歩数と抑うつ症状の10年後死亡リスク比（95%信頼区間）はそれぞれ1.34（1.06 to 1.70）、1.34（1.12 to 1.61）であった。

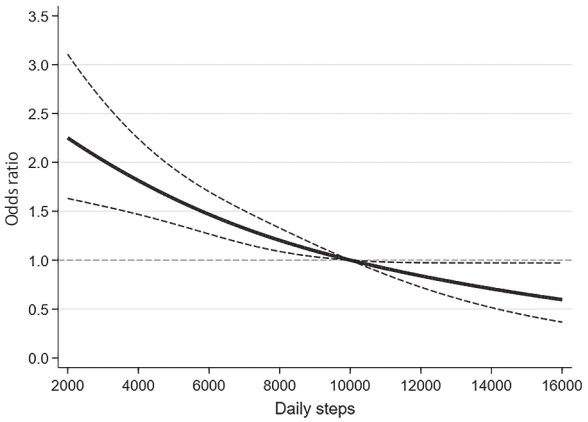


図２．歩数と抑うつ症状の関係

Fig.2. Association between daily steps and elevated depressive symptoms.

Solid lines indicate odds ratios, dotted lines indicate 95% confidence intervals.

C．平均歩数と全死亡・心血管死亡の関連における抑うつ症状の寄与度

抑うつ症状は、不十分な平均歩数（10000歩/日未満 vs 10000歩/日以上）と全死亡の関連の8.5%

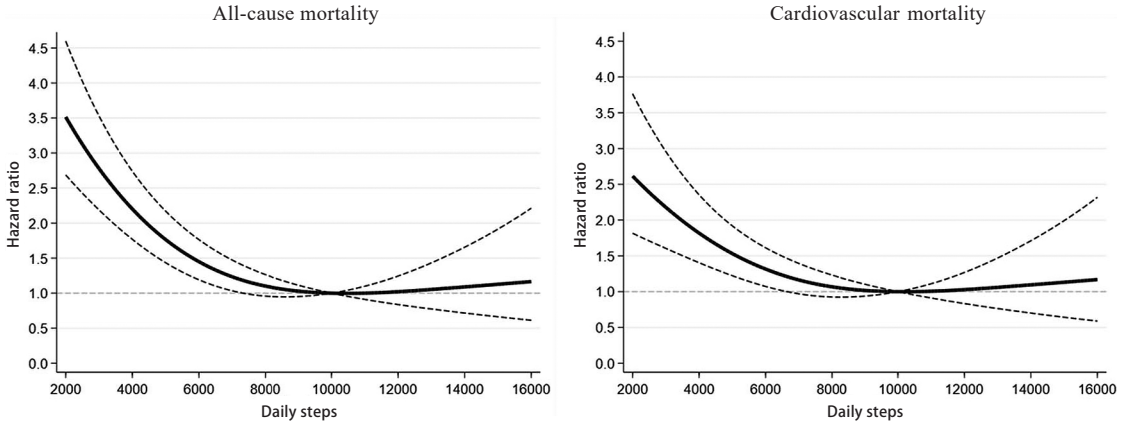


図３．歩数と死亡の関係

Fig.3. Association between daily steps and mortality.

Solid lines indicate odds ratios, dotted lines indicate 95% confidence intervals.

表２．歩数＜10000/日が抑うつ症状を介して死亡に与える影響

Table 2. Association between daily steps（< 10000 vs ≥ 10000）and mortality through elevated depressive symptoms.

Population	Total effect HR（95% CI）	Direct effect HR（95% CI）	Indirect effect HR（95% CI）	%mediated
All-cause mortality				
Entire study sample	1.55（1.18 to 1.93）	1.50（1.12 to 1.84）	1.04（1.02 to 1.06）	8.5
Male	1.91（1.26 to 2.60）	1.82（1.19 to 2.52）	1.05（1.04 to 1.08）	7.6
Female	1.30（0.92 to 2.01）	1.27（0.88 to 1.98）	1.03（1.01 to 1.08）	9.5
Cardiovascular mortality				
Entire study sample	1.39（0.89 to 2.03）	1.25（0.78 to 1.86）	1.11（1.08 to 1.18）	31.7
Male	2.43（1.52 to 6.19）	2.21（1.33 to 5.25）	1.10（1.06 to 1.21）	10.8
Female	0.94（0.55 to 2.11）	0.86（0.51 to 2.00）	1.09（1.04 to 1.18）	NA

HR; hazard ratio, 95%CI; 95% confidence interval, NA; not applicable.

を媒介すると推定された（表２）。抑うつ症状を媒介した間接効果は性別によらず認められた（全体：調整後ハザード比[95％信頼区間]＝1.04[1.02 to 1.06], 男性：調整後ハザード比[95％信頼区間]＝1.05［1.04 to 1.08], 女性：調整後ハザード比[95％信頼区間]＝1.03［1.01 to 1.08]）。心血管死亡については、イベント数が少なく統計的な評価は一部困難であったものの、性別によらず、全死亡よりも大きな間接効果が推定された（全体：調整後ハザード比［95％信頼区間］＝1.11［1.08 to 1.18], 男性：調整後ハザード比［95％信頼区間］＝1.10［1.06 to 1.21], 女性：調整後ハザード比[95％信頼区間］＝1.09［1.04 to 1.18]）。

考　　察

全米の代表サンプル3466人を用いて、不十分な平均歩数が抑うつ症状、全死亡・心血管死亡のリスクを用量依存的に増大していることが示された。また、因果媒介分析に機械学習を応用することで、10000歩/日未満の平均歩数と全死亡の関連において抑うつ症状が10％程度媒介していることが明らかになり、その媒介度は心血管死亡に対する関連では30％にまで増大した。

本研究結果は、特に身体活動量を増やすことが難しい集団（基礎疾患により運動制限がある患者, 高齢者など）に対して、抑うつ状態を予防・治療するための社会的介入・臨床介入を行うことが、歩数低下による全死亡リスクを10％程度、心血管死亡リスクを30％程度低下させることが示唆された。性別ごとに検討した結果、不十分な平均歩数と死亡の関連自体は女性よりも男性で強い傾向であったにもかかわらず、抑うつ症状を介した間接効果は性別にかかわらず全死亡ハザード比＝1.03-1.05、心血管死亡ハザード比＝1.09-1.11と一貫して認めており、男女いずれもメンタルヘルス管理が長期予後改善に重要な役割を担うことが示された。

先行研究において、平均歩数や抑うつ症状それぞれの因子と全死亡・心血管死亡の関連は示されてきたものの[4,6]、身体活動量低下が心血管イベントをきたすリスクのうち、どの程度抑うつ症状が寄与しているか、という点については明らかでなかった。また、これらの因子は社会経済的因子（貧困や孤独など）や生活習慣（喫煙・食事など)、併存疾患などのさまざまな要因と複雑にかかわりあっており[2]、古典的な統計手法では因果関係を適切に推定できない限界があった。機械学習の柔軟かつ高次元なモデリングを因果媒介解析の枠組みに応用することで、それらの限界点を打破した本研究結果は、身体活動量・抑うつ症状・長期予後の因果関係に関する今までの知見を一歩前進させることが期待される。一方で、観察データに基づく本研究結果を解釈する際には、①未測定交絡因子の存在（特に因果媒介分析の場合)、②測定バイアス（特に加速度計を着用しているときに日常とは異なる運動習慣を示す Reactivity という現象によるバイアス)、③平均歩数と抑うつ症状の逆因果の可能性（抑うつ症状による身体活動量の変化）などの限界点には注意する必要がある。また、本研究結果で得られた米国の一般成人における知見を今後、国内でのデータ収集・解析を通して日本の一般成人におけるエビデンスへと拡張していくことが求められる。

総　　括

不十分な平均歩数はうつ症状および全死亡・心血管死亡のリスク増大に関連していた。更にうつ症状は不十分な平均歩数と死亡の関連の一部を媒介しており、本研究結果は、うつ状態を予防・治療するための社会的介入・臨床介入を行うことが、身体活動量低下による心血管死亡リスクを軽減する可能性を示唆する。

謝　　辞

本研究は、公益財団法人明治安田厚生事業団による第37回若手研究者のための健康科学研究助成のご支援を賜り実施いたしました。関係者の皆さまに厚く御礼申し上げます。

参 考 文 献

1）Althoff T, et al.（2017）: Large-scale physical activity data reveal worldwide activity inequality. Nature, **547**（7663）, 336-339.
2）Carney RM, et al.（2017）: Depression and coronary heart disease. Nat Rev Cardiol, **14**（3）, 145-155.
3）Ding D, et al.（2016）: The economic burden of physical

inactivity: a global analysis of major non-communicable diseases. Lancet, **388**（10051）, 1311-1324.

4）Harshfield EL, et al.（2020）: Association between depressive symptoms and incident cardiovascular diseases. JAMA, **324**（23）, 2396-2405.

5）National Center for Health Statistics, Centers for Disease Control and Prevention National Health and Nutrition Examination Survey（2019）. Accessed February 11, 2019. www.cdc.gov/nchs/nhanes.htm

6）Saint-Maurice PF, et al.（2020）: Association of daily step count and step intensity with mortality among US adults. JAMA, **323**（12）, 1151-1160.

7）Spitzer RL, et al.（1999）: Validation and utility of a self-report version of PRIME-MD: the PHQ primary care study. Primary Care Evaluation of Mental Disorders. Patient Health Questionnaire. JAMA, **282**（18）, 1737-1744.

8）Troiano RP, et al.（2008）: Physical activity in the United States measured by accelerometer. Med Sci Sports Exerc, **40**（1）, 181-188.

9）VanderWeele TJ（2016）: Mediation analysis: a practitioner's guide. Annu Rev Public Health, **37**, 17-32.

10）Yusuf S, et al.（2004）: Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries（the INTERHEART study）: case-control study. Lancet, **364**（9438）, 937-952.

第 37 回若手研究者のための健康科学研究助成成果報告書
2020 年度 *pp*.33〜37（2023.7）

運動によるメンタルヘルス増進効果は「目」から予測できるか？

桑水隆多[*,**,****] 山崎雄大[**,***,****] 青池直樹[**,***]
征矢英昭[**,***]

DO EYE-RELATED MEASURES PREDICT THE BENEFICIAL EFFECTS OF EXERCISE ON MENTAL HEALTH?

Ryuta Kuwamizu, Yudai Yamazaki, Naoki Aoike, and Hideaki Soya

Key words: pupil diameter, spontaneous eye blink rate, executive function, mood.

緒　　言

適度な運動にはメンタルヘルス増進効果があるとされるが、その効果には個人差が存在する。メンタルヘルスに対する運動効果をより正確かつ簡単に予測できれば、より効果的なオーダーメイド運動処方が可能になるかもしれない。これまでメカニズム解明を目的として、採血を伴う血中バイオマーカー探索や大型脳イメージング機器による脳活動計測を用いた研究が推進されてきたが[8]、侵襲性、拘束性、接触性が伴い、これらの研究手法を老若男女問わず日常生活で活用するのは難しい。それゆえ、運動によるメンタルヘルス増進効果を評価できる非侵襲的な予測手法の開発が待たれる。

最近、目の動きにかかわる生理学的指標（動眼系指標）のうち、瞳孔や瞬目の動態がメンタルヘルスの維持・改善に重要とされる脳内機構と関与することが示されている。具体的には、瞳孔の拡大・縮小は脳内ノルアドレナリン作動性神経系の起始核である青斑核の活動を基盤とした覚醒状態を反映すること[5,7]、瞬きの頻度である瞬目率は脳内ドーパミン作動性神経系の活動を反映する可能性があることが報告されている[4]。これらの脳幹を基盤とした覚醒調節機構は運動により活性化しメンタルヘルス増進に関与しうることから、運動によるメンタルヘルス増進効果の予測指標として瞳孔・瞬目が有用となるかもしれない。瞳孔・瞬目は、非侵襲・非拘束・非接触に計測可能であることから、その有用性が明らかとなれば個人にあった運動処方を開発するうえで朗報である。既に、筆者らは横断的な有酸素能力と前頭前野が司る実行機能との正相関は安静時の瞬目率から説明されることを明らかにしており[6]、運動による脳への有益効果を瞳孔・瞬目動態から予測できる可能性を仄めかしている。そこで本研究では、運動の直接効果を確認するために有酸素運動、とりわけ誰もが取り組みやすい超低強度運動の効果に着

*　筑波大学大学院人間総合科学学術院人間総合科学研究群体育科学学位プログラム
Doctoral Program in Physical Education, Health and Sport Sciences, Graduate School of Comprehensive Human Science, University of Tsukuba, Ibaraki, Japan.
**　筑波大学体育系運動生化学研究室
Laboratory of Exercise Biochemistry and Neuroendocrinology, Faculty of Health and Sport Sciences, University of Tsukuba, Ibaraki, Japan.
***　筑波大学体育系ヒューマン・ハイ・パフォーマンス先端研究センター（ARIHHP）スポーツ神経科学部門
Department of Sports Neuroscience, Advanced Research Initiative for Human High Performance（ARIHHP）, Faculty of Health and Sport Sciences, University of Tsukuba, Ibaraki, Japan.
****　日本学術振興会
Japan Society for the Promotion of Science, Tokyo, Japan.

目し、単発の運動で惹起される一過的なメンタルヘルス増進（気分変化・認知機能増強）に対する瞳孔・瞬目動態の関与を解明することを目的とした。

方　　法

A．実験１：運動強度依存的な瞳孔動態は気分変化を予測するか―漸増負荷運動による検討―

１．実験概要

リカンベント式自転車エルゴメータによる漸増負荷運動を行った。座位安静状態を保った後（４分間）、運動負荷を漸増させ（20 W/分）、疲労困憊に至るまで運動させた。この間、呼気ガスマスクおよび心拍計を装着し、呼吸循環器にかかわる生理応答を計測した。運動強度は、%$\dot{V}O_{2peak}$ に基づいた米国スポーツ医学会（The American College of Sports Medicine; ACSM）の基準によって、超低強度（very light：< 37％）、低強度（light：37～45％）、中強度（moderate：46～63％）、高強度（vigorous：64～90％）、最大/最大付近強度（near maximal to maximal：> 91％）に区分した。研究対象者として健常若齢男性29名が参加した。対象者のうち、服薬があった者、%$\dot{V}O_{2peak}$ の基準に達さなかった者、運動開始後に超低強度運動にあたる < 37%$\dot{V}O_{2peak}$ の運動強度区間が観察できなかった者は解析から除外した。26名が最終的な解析に用いられた。

２．瞳孔計測

研究対象者の前に置かれたスクリーンにアイトラッカーを取り付け、瞳孔径を計測した。実験は、明るさが安定した部屋で実施した（1440～1530 lx）。

３．気分

気分の聴取には、その時点の気分を数秒で繰り返し測定できる二次元気分尺度（two-dimensional mood scale; TDMS）２項目版を用いた[3,9]。運動前安静時から運動中にかけて１分ごとに測定した。活性度（イキイキした，元気がいっぱいな状態）、安定度（リラックスした，とても落ち着いた状態）をそれぞれ－５から５の11件法で計測した。

B．実験２：超低強度運動による認知機能促進効果に瞳孔・瞬目動態の変化はかかわるか

１．実験概要

安静条件、超低強度運動条件（30%$\dot{V}O_{2peak}$，自転車漕ぎ運動10分間）の２条件を実施した。研究対象者として健常若齢成人34名が参加した。対象者のうち、服薬や認知課題遂行等に関してスクリーニングを行い、24名が最終的な解析に用いられた。

２．瞳孔・瞬目計測

運動前、運動中、運動後において研究対象者の前に＋印の画面を表示し（各３分間）、その際の瞳孔径を計測した。測定機器は、実験１と同様である。瞬目率については、運動前後の＋印の画面を見ている際の３分間の瞬目数を記録したビデオ映像から測定した。

３．Stroop 課題

Stroop 課題は、上段の文字や記号の色と下段の文字の意味（色の名前）が一致か不一致かを答える課題である。難しい課題である Incongruent 課題から簡単な課題である Neutral 課題を差し引いた認知的葛藤成分である Stroop 干渉を算出し、実行機能の指標として用いた。反応時間を正答率で補正した inverse efficiency score（IES）を評価した。

４．機能的近赤外分光分析法（fNIRS）

多チャンネル型 fNIRS を用いて Stroop 課題中の前頭前野活動を測定した。仮想レジストレーション法に基づきプローブを頭部に装着した[10]。Event-related デザインを用い、酸素化ヘモグロビン変化について Incongruent 課題の変化から Neutral 課題の変化を差し引いた値を、Stroop 干渉に関連した前頭前野の活動として評価した。関心領域（ROI）は左背外側前頭前野（l-DLPFC）、右背外側前頭前野（r-DLPFC）、左腹外側前頭前野（l-VLPFC）、右腹外側前頭前野（r-VLPFC）、左前頭極（l-FPA）、右前頭極（r-FPA）の計６部位とした。

C．倫理的配慮

実験１、２ともに筑波大学体育系倫理委員会の承認に基づいて実施した（承認番号：体020-120）。あらかじめ研究対象者には研究の目的、方法、予想されうる危険性を書面にて十分説明したうえで

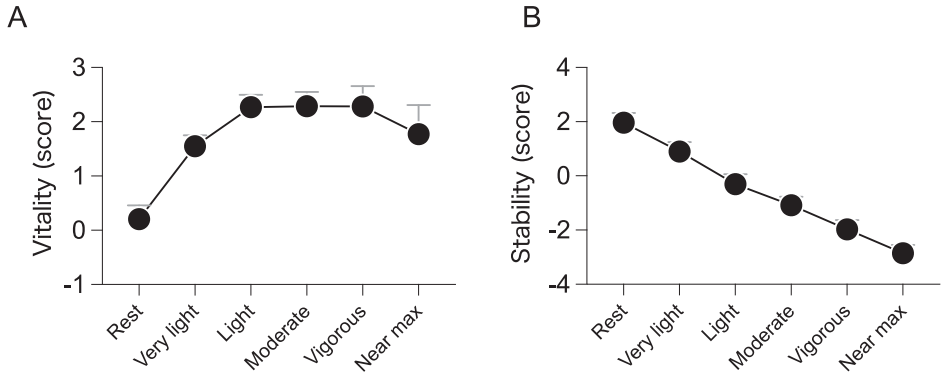


図 1．漸増負荷運動中の気分動態
Fig.1. Mood change during graded exercise.
（A）Vitality at rest and each intensity,（B）Stability at rest and each intensity.
Error bars indicate standard error, although some are too small to clearly visualize.

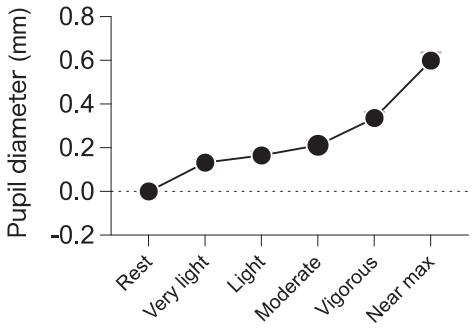


図 2．漸増負荷運動中の瞳孔動態
Fig.2. Change of pupil diameter from rest to each intensity.
Error bars indicate standard error, although some are too small to clearly visualize.

参加の同意を得た。

結　　果

A．実験 1

活性度については、安静から超低強度運動、低強度運動にかけて上昇し、それ以上の強度では頭打ちとなった（図 1 A）。安定度については、安静から運動強度依存的に直線的に低下した（図 1 B）。

瞳孔については、強度依存的な拡大がみられた。特に安静時から超低強度運動（< 37%$\dot{V}O_{2peak}$）において拡大し、その後、負荷の変化に対して緩やかとなったのち、中強度付近以降から疲労困憊に至るまで再び急拡大した（図 2 ）。この特徴的な瞳孔拡大パターンは、運動強度依存的な活性度および安定度変化パターンを正確に追従するものではなかった。

次に個人差に着目して、強度変化に対する瞳孔拡大と気分変化の関係性についてみると、安静から超低強度運動に対する瞳孔拡大は活性度の上昇、安定度の低下と相関した（図 3 A，B）。その他の隣接強度間の変化については、瞳孔と気分の間に有意な相関はみられなかった（all $-0.18 < r < 0.27$, $P > 0.05$）。

B．実験 2

運動条件において安静条件に比較して、Stroop 干渉処理能の向上がみられた（$P < 0.01$）。そのうえで、Stroop 干渉に対する前頭前野活動を評価したところ、l-DLPFC において運動条件で安静条件と比較して有意な活動増加がみられた（$P < 0.05$, multiple comparison correction）。瞳孔については、実験 1 同様に運動中に有意な拡大がみられた（$P < 0.001$）。瞬目率については、運動前後の変化について安静条件と運動条件で有意な差はみられなかった（$P > 0.05$）。実行機能向上効果に対する瞳孔・瞬目動態の関与を調べるために、運動による Stroop 干渉処理能の変化（運動前後の変化－安静前後の変化）を従属変数、瞳孔変化（運動前に対する運動時の変化－安静前に対する安静時の変化）、瞬目率変化（運動前後の変化－安静前後の変化）を独立変数として重回帰分析を行ったところ、両指標ともに運動による Stroop 干渉処理能変化に対する有意な説明効果が認められた（瞳孔変化 :$\beta = -0.44$, $P < 0.05$，瞬目率変化 :$\beta = -0.43$, $P < 0.05$）。

考　　察

本研究では、一過性の運動による気分変化および実行機能促進効果に瞳孔・瞬目動態の変化が関

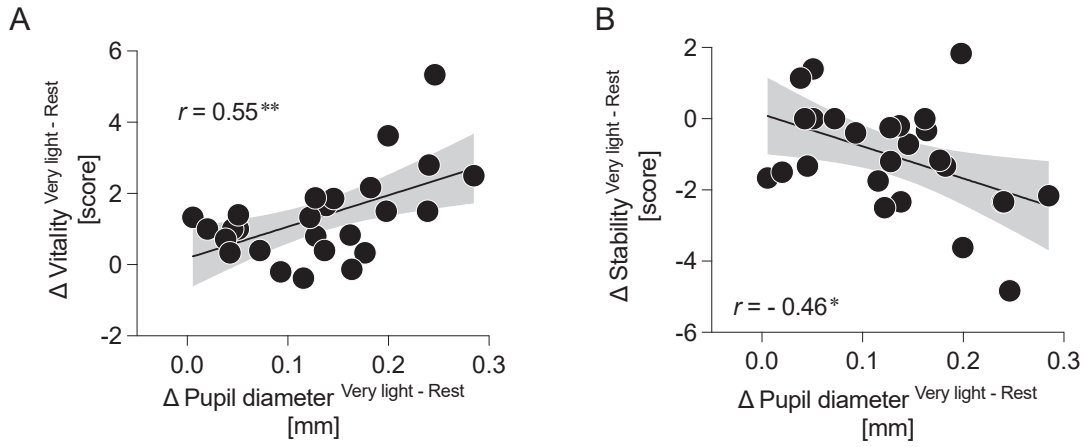


図 3．超低強度運動による瞳孔変化と気分変化の関係

Fig.3. Association between pupil change and mood change with very light-intensity exercise.
（A）Δ pupil diameter（very light – rest）and Δ vitality（very light – rest），（B）Δ pupil diameter（very light – rest）and Δ stability（very light – rest）.
The black line represents linear regression, and the gray band represents 95% CI. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

係するか解明することを目的に 2 つの実験を行った。まず実験 1 では、運動強度依存的な瞳孔拡大パターンは、運動強度に応じた気分変化のパターンとは異なるものであった。ただし、超低強度運動における瞳孔拡大は気分変化（活性度の上昇，安定度の低下）を予測した。実験 2 では、超低強度運動による瞳孔拡大および瞬目率変化が、実行機能向上と相関することが明らかとなった。これらの結果は、超低強度に相当する軽運動による気分変化・実行機能促進効果は瞳孔・瞬目動態変化に伴って起こることを示唆しており、運動によるメンタルヘルス増進効果の予測ツールとして目から得られる指標の有用性を初めて示すものである。

まず、実験 1 では漸増負荷運動に伴う瞳孔拡大のうち、超低強度運動による瞳孔変化は気分変化を予測することが示唆された。近年の動物研究によれば、瞳孔拡大は脳内ノルアドレナリン作動性神経系の起始核である青斑核を中心とした脳幹の覚醒調節機構の動態を予測するとされている[5,7]。超低強度運動中の瞳孔拡大は、覚醒系活性化を介して活性度の増加および安定度の低下を予測したと考えられる。ただし、中強度以降の指数関数様の瞳孔の急拡大は運動強度依存的な活性度や安定度の変化とは乖離していた。中強度以上の強度では、乳酸増加、過換気、ストレス反応や疲労など複雑な要因が合わさり、瞳孔拡大効果のみでは気分変化を説明できなくなると考えられる。

実験 2 では超低強度運動に焦点を定め、運動後にみられる実行機能向上に対する予測効果を検証した。先行研究と同様に[1]、運動による Stroop 干渉処理能向上およびその神経基盤として l-DLPFC 活動亢進を確認したうえで、瞳孔・瞬目動態の変化との関与をみた。その結果、運動中に瞳孔が拡大した人ほど実行機能向上効果がみられること、瞬目率については運動による変化は認められないものの上昇した人ほど実行機能促進がより顕著であることが示された。瞳孔・瞬目動態にかかわるノルアドレナリン作動性神経系やドーパミン作動性神経系は、DLPFC に投射し実行機能を制御することから[2]、これらの脳内機構を介して超低強度運動効果を予測した可能性がある。

瞳孔・瞬目動態計測は、誰もが取り組みやすい軽運動（超低強度運動）による一過性の気分変化や実行機能促進効果を予測することが初めて見いだされた。メンタルヘルスに関連する脳内機構を反映しかつ非接触・非侵襲な信頼できるスポーツ神経科学の新規ツールとして、オーダーメイドの運動処方開発に貢献することが期待される。今後は、他の母集団（子どもや高齢者）にも一般化できるかどうかや長期的な運動介入の効果についても検証していく必要がある。加えて、測定においては照度など環境や視覚情報の統制が欠かせない点は留意が必要であり、実践応用に繋げるための今後の課題となる。

総　　括

一過性の超低強度運動による気分変化および実行機能向上効果は、瞳孔・瞬目動態から予測されることが初めて明らかとなり、運動によるメンタルヘルス増進効果の一部は、「目」から予測できることが見いだされた。測定条件の制約の範囲内であれば、非接触かつ非侵襲ながら有用な効果予測ツールとして、運動処方開発の一助となることが期待される。

謝　　辞

本研究の実施にあたり助成を賜りました公益財団法人明治安田厚生事業団に深く感謝を申し上げます。また、実験にご協力いただいた筑波大学運動生化学研究室の皆さまに感謝いたします。

参 考 文 献

1）Byun K, et al.（2014）: Positive effect of acute mild exercise on executive function via arousal-related prefrontal activations: an fNIRS study. Neuroimage, **98**, 336-345.

2）Cools R, et al.（2022）: Neuromodulation of prefrontal cortex cognitive function in primates: the powerful roles of monoamines and acetylcholine. Neuropsychopharmacology, **47**, 309-328.

3）稲垣和希ら（2017）: 自律訓練法標準練習と消去動作による生理・心理状態の変化動態：二次元気分尺度・2 項目版を用いた検討. 自律訓練研究, **37**, 3-16.

4）Jongkees B, et al.（2016）: Spontaneous eye blink rate as predictor of dopamine-related cognitive function - a review. Neurosci Biobehav Rev, **71**, 58-82.

5）Joshi S, et al.（2020）: Pupil size as a window on neural substrates of cognition. Trends Cogn Sci, **24**, 466-480.

6）Kuwamizu R, et al.（2021）: Spontaneous eye blink rate connects missing link between aerobic fitness and cognition. Med Sci Sport Exerc, **53**, 1425-1433.

7）McGinley MJ, et al.（2015）: Cortical membrane potential signature of optimal states for sensory signal detection. Neuron, **87**, 179-192.

8）McMorris T（2015）: Exercise-cognition interaction: neuroscience perspectives. Academic Press, London.

9）Sakairi Y, et al.（2013）: Development of the Two-Dimensional Mood Scale for self-monitoring and self-regulation of momentary mood states. Jpn Psychol Res, **55**, 338-349.

10）Tsuzuki D, et al.（2007）: Virtual spatial registration of stand-alone fNIRS data to MNI space. Neuroimage, **34**, 1506-1518.

第 37 回若手研究者のための健康科学研究助成成果報告書
2020 年度 *pp*.38～43（2023.7）

コロナ禍における都内在住高齢者の運動・栄養・社会参加の変化と認知機能低下の関連―2019～2022年の 4 時点データを用いた縦断研究―

笹井浩行* 大須賀洋祐* 小島成実*
安藤貴史** 金憲経*

CHANGES IN EXERCISE, NUTRITION, AND SOCIAL ACTIVITY DURING THE COVID-19 PANDEMIC AND SUBSEQUENT COGNITIVE DECLINE IN OLDER ADULTS IN TOKYO: A LONGITUDINAL STUDY WITH ANNUAL REPEATED CHECKUPS FROM 2019 TO 2022

Hiroyuki Sasai, Yosuke Osuka, Narumi Kojima, Takafumi Ando, and Hunkyung Kim

Key words: exercise, nutrition, social activity, the COVID-19, cognitive decline.

緒　　言

新型コロナウイルス感染症の感染拡大とそれに伴った緊急事態宣言等の発出により高齢者の生活が様変わりした。感染拡大期間中は、外出自粛要請と感染不安から生活空間が縮小し、屋外で身体を動かす機会や、趣味グループ・老人会等の会合、ボランティア活動など社会参加の機会が著しく減少した[6)]。また、買い物控えから食品摂取の多様性が損なわれ、低栄養リスクが高まっていることも容易に想像できる。このように、高齢者の健康長寿を支える重要な三要素である運動・栄養・社会参加は、ことごとく好ましくない影響を受けている。しかし、コロナ禍にてこれら運動・栄養・社会参加が損なわれやすい集団の把握はできていない。また、運動・栄養・社会参加はそれぞれ認知機能低下に関連すると考えられるが、その影響の有無と程度を定量した研究は皆無といえる。

運動・栄養・社会参加の変化の関連要因が明らかになることで、新たな感染症の蔓延や変異ウイルスの猛威による新たな脅威が生じた際に、優先的な配慮が必要な高齢者集団の特徴が明らかとなり、限られた医療・福祉資源の効率的な配分の一助となる。運動・栄養・社会参加それぞれと認知機能低下との関連の有無と程度が明らかとなれば、感染症危機や外出制限が推奨される状況において、有効性の高い認知症予防介入プログラムの立案に資する知見となる。認知機能の低下予防には運動・栄養・社会参加のそれぞれが寄与していると思われるが、重要性の有無や重みがわかることで、より自己防衛策や保健医療にかかわる組織による対策樹立に寄与すると考えられる。

以上より、本研究ではコロナ禍における運動・栄養・社会参加の変化に関連する要因と、それら

* 東京都健康長寿医療センター研究所自立促進と精神保健研究チーム
Research Team for Promoting Independence and Mental Health, Tokyo Metropolitan Institute for Geriatrics and Gerontology, Tokyo, Japan.
** 産業技術総合研究所ヒューマンモビリティ研究センター
Human-Centered Mobility Research Center, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Ibaraki, Japan.

の変化と認知機能低下との関連を縦断的に検証した。

方　　法

A．研究デザイン・対象者

本研究は、同一の高齢者集団をコロナ流行前の2019年と2020年、2021年、2022年の3年間、各年10月の4時点にわたって追跡した縦断研究である（図1）。対象者の包含基準は、2019年10月および2020年10月に筆者らが自施設で実施した包括的老年医学健診に参加した、都内に在住する65歳以上の高齢男女であった。除外基準は2019年時点で認知症（アルツハイマー型，脳血管性，その他）の既往を有する者、認知機能の顕著な低下（mini-mental state examination; MMSE 得点が21点未満）が疑われる者[2]、パーキンソン病の既往を有する者とした。

B．認知機能検査

認知機能は MMSE で評価した。MMSE は2019年、2020年、2021年、2022年に熟練した検査員により対面にて調査された[5]。MMSE 得点が2点減少したことで、認知機能低下の発生と定義した。

C．運動・栄養・社会参加

運動・栄養・社会参加は2019年および2020年にそれぞれの頻度を質問票により把握した。運動については、運動・スポーツの実践頻度（選択肢：毎日，週5〜6日，週2〜4日，週1日，していない）を尋ねた[4]。週1日以上を「運動習慣あり」、それ未満を「運動習慣なし」と定義した。

栄養は食品多様性スコアから判定した[3]。食品多様性スコアは、魚介類、肉類、卵、牛乳、大豆製品、緑黄色野菜、海藻、いも類、果物、油脂類の10品目のそれぞれの摂取頻度について、「ほとんど毎日」と答えた個数から食品多様性スコアを算出し、このスコアが5点以上を「食品多様性が高い」、5点未満を「食品多様性が低い」と定義した。

社会参加は、「老人クラブなどの高齢者のグループ活動や奉仕活動・町内会の役員などの地域ボランティア活動に参加していますか」という質問に、「参加している」と答えた場合に「社会参加あり」、「参加していない」と答えた場合に「社会参加なし」と定義した。

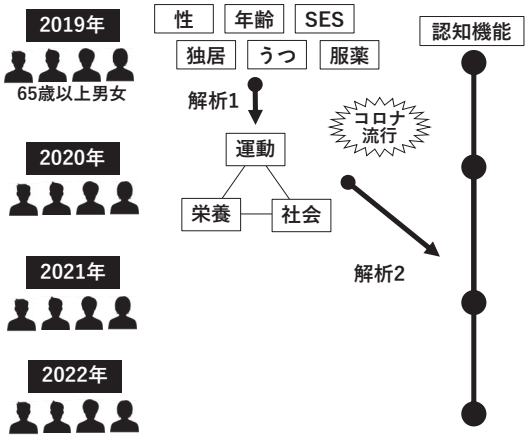


図1．本研究の概略図
Fig.1. Schematic representation of this study.
SES; socioeconomic status.

D．関連要因・交絡要因

運動・栄養・社会参加の変化に関連しうる要因として、性、年齢、body mass index（BMI）、独居の有無、教育年数（12年以上，未満）、慢性疾患（高血圧，脂質異常症，糖尿病，脳卒中，心臓病）の有無、うつ状態（Geriatric Depression Scale 得点が5点以上）、服薬数（6剤以上）を質問票で、歩行速度低下（1.0 m/ 秒未満）、筋力低下（握力が男性で28 kg 未満，女性で18 kg 未満）を実測[4]により2019年に調査した。

E．統計解析

本研究では以下の2つの解析を実施した。解析1ではコロナ前からコロナ禍での運動・栄養・社会参加の変化に関連する要因を探索した。運動・栄養・社会参加の2019〜2020年の好ましくない変化を目的変数、2019年に把握した上述の関連要因を説明変数としたロジスティック回帰分析を施した。目的変数である運動・栄養・社会参加の好ましくない変化については、例えば運動であれば、継続して運動習慣なしまたは2020年に運動習慣なしとなった場合を好ましくない変化ととらえた。栄養や社会参加も同様に好ましくない変化を定義した。

解析2では、運動・栄養・社会参加の変化と認知機能低下の関連を明らかにする。2019〜2020年、2019〜2021年、2019〜2022年のそれぞれのデータセットを作成し、新規の認知機能低下の発生を目的変数、運動・栄養・社会参加の2019〜2020年の

表1．コロナ禍の運動・栄養・社会参加の変化別にみた2019年時点の対象者の特徴

Table 1. Participant baseline characteristics according to changes in exercise, dietary variety, and social participation during the COVID-19 pandemic.

	Exercise habit		Dietary variety score		Social participation	
	Persistent active/ Became active (n = 373)	Became inactive/ Persistent inactive (n = 290)	Persistent high/ Became high (n = 298)	Became low/ Persistent low (n = 365)	Persistent active/ Became active (n = 187)	Became inactive/ Persistent inactive (n = 476)
Sociodemographics						
Sex (male), n (%)	46 (12.3)	39 (13.4)	31 (10.4)	54 (14.8)	16 (8.6)	69 (14.5)
Aged ≥ 75 years, n (%)	204 (54.7)	157 (54.1)	161 (54.0)	200 (54.8)	103 (55.1)	258 (54.2)
BMI category, n (%)						
< 18.5 kg/m^2	30 (8.0)	21 (7.2)	25 (8.4)	26 (7.1)	21 (11.2)	30 (6.3)
18.5–25.0 kg/m^2	278 (74.5)	201 (69.3)	225 (75.5)	254 (69.6)	118 (63.1)	361 (75.8)
≥ 25.0 kg/m^2	65 (17.4)	68 (23.4)	48 (16.1)	85 (23.3)	48 (25.7)	85 (17.9)
Living alone, n (%)	110 (29.5)	73 (25.2)	85 (28.5)	98 (26.8)	57 (30.5)	126 (26.5)
Education (≥ 12 years), n (%)	317 (85.0)	230 (79.3)	258 (86.6)	289 (79.2)	163 (87.2)	384 (80.7)
Working full-time, n (%)	20 (5.4)	27 (9.3)	22 (7.4)	25 (6.8)	8 (4.3)	39 (8.2)
Medical conditions						
Hypertension, n (%)	144 (38.6)	137 (47.2)	117 (39.3)	164 (44.9)	86 (46.0)	195 (41.0)
Dyslipidemia, n (%)	134 (35.9)	103 (35.5)	102 (34.2)	135 (37.0)	66 (35.3)	171 (35.9)
Diabetes, n (%)	56 (15.0)	32 (11.0)	40 (13.4)	48 (13.2)	33 (17.6)	55 (11.6)
Stroke, n (%)	16 (4.3)	11 (3.8)	14 (4.7)	13 (3.6)	8 (4.3)	19 (4.0)
Heart disease, n (%)	51 (13.7)	49 (16.9)	47 (15.8)	53 (14.5)	37 (19.8)	63 (13.2)
Depressive moods (GDS ≥ 5pt), n (%)	49 (13.1)	64 (22.1)	41 (13.8)	72 (19.7)	24 (12.8)	89 (18.7)
Prescribed drugs (≥ 6 meds), n (%)	37 (9.9)	44 (15.2)	26 (8.7)	55 (15.1)	27 (14.4)	54 (11.3)
Physical function						
Slow usual gait (< 1.0 m/sec), n (%)	17 (4.6)	36 (12.4)	17 (5.7)	36 (9.9)	8 (4.3)	45 (9.5)
Low grip strength (< 28 kg for men, < 18 kg for women), n (%)	69 (18.5)	65 (22.4)	45 (15.1)	89 (24.4)	31 (16.6)	103 (21.6)

BMI; body mass index, GDS; Geriatric Depression Scale.

変化を説明変数としたロジスティック回帰分析を行った。解析 2 では、運動・栄養・社会参加の変化と認知機能低下の関係をより詳しく調べるため、例えば運動であれば、「継続して運動習慣あり」、「2020年に運動習慣ありとなった」、「2020年に運動習慣がなくなった」、「継続して運動習慣なし」の 4 つに分類し、「継続して運動習慣あり」を参照群としてそれ以外のカテゴリのオッズ比と95％信頼区間を算出した。

結　　果

2019年と2020年の両方の包括的老年医学健診に参加し、かつ除外基準に該当せず、解析する項目に欠測がない者は663人（男性85人）であった。この663人が解析 1 および解析 2 における2019～2020年の対象者となった。運動・栄養・社会参加の変化ごとに対象者の特徴を示した（表 1 ）。この663人のうち、2021年の健診に参加した者は469人、2022年の健診に参加した者は446人だった。これら高齢者がそれぞれ、解析 2 における2019～2021年、2019～2022年の対象者となった。

A．コロナ禍の運動・栄養・社会参加の変化に関連する要因

コロナ前からコロナ禍にかけての運動・栄養・社会参加の好ましくない変化に関連する要因を分析した（表 2 ）ところ、糖尿病を有する人で運動の好ましくない変化が生じにくいことが示された。逆にうつ症状をもつ者や歩行速度が低下している者で運動の好ましくない変化が生じやすかった。栄養については、筋力が低下した者で特に食品摂取多様性が低くなる傾向が示された。社会参加については、男性であること、BMI が正常である

表 2 ．コロナ禍における運動・栄養・社会参加の好ましくない変化に関連する要因
Table 2. Factors associated with unfavorable changes in exercise, dietary variety, and social participation during the COVID-19 pandemic.

	Exercise habit		Dietary variety score		Social participation	
	Odds ratio（95% CI）	*P*	Odds ratio（95% CI）	*P*	Odds ratio（95% CI）	*P*
Sociodemographics						
Sex（male）	1.05（0.61, 1.79）	0.86	1.71（1.00, 2.97）	0.05	**2.18（1.15, 4.32）**	**0.02**
Aged ≥ 75 years	0.80（0.56, 1.15）	0.23	0.76（0.53, 1.09）	0.13	0.78（0.53, 1.15）	0.21
BMI category						
< 18.5 kg/m^2	1.00（ref）	－	1.00（ref）	－	1.00（ref）	－
18.5−25.0 kg/m^2	1.09（0.59, 2.06）	0.79	1.19（0.64, 2.20）	0.58	**2.33（1.22, 4.38）**	**0.009**
≥ 25.0 kg/m^2	1.35（0.67, 2.76）	0.41	1.67（0.83, 3.39）	0.15	1.23（0.60, 2.53）	0.57
Living alone	0.82（0.57, 1.18）	0.28	0.99（0.69, 1.42）	0.96	0.90（0.61, 1.35）	0.62
Education（≥ 12 years）	0.77（0.50, 1.19）	0.24	0.65（0.41, 1.00）	0.05	0.60（0.35, 1.00）	0.05
Working full-time	1.79（0.96, 3.36）	0.07	0.80（0.43, 1.50）	0.48	1.94（0.91, 4.67）	0.11
Medical conditions						
Hypertension	1.37（0.97, 1.93）	0.07	1.15（0.82, 1.62）	0.42	0.83（0.57, 1.22）	0.34
Dyslipidemia	0.93（0.66, 1.31）	0.69	1.09（0.78, 1.54）	0.60	1.16（0.80, 1.71）	0.44
Diabetes	**0.54（0.32, 0.90）**	**0.02**	0.70（0.42, 1.15）	0.15	0.61（0.36, 1.05）	0.07
Stroke	1.22（0.77, 1.93）	0.39	0.81（0.51, 1.28）	0.37	0.64（0.40, 1.05）	0.07
Heart disease	0.68（0.28, 1.57）	0.38	0.53（0.23, 1.23）	0.14	0.92（0.38, 2.43）	0.87
Depressive moods（GDS ≥ 5pt）	**1.69（1.10, 2.60）**	**0.02**	1.35（0.88, 2.10）	0.18	1.56（0.94, 2.66）	0.09
Prescribed drugs（≥ 6 meds）	1.29（0.74, 2.27）	0.37	1.65（0.93, 2.97）	0.09	0.82（0.45, 1.52）	0.53
Physical function						
Slow usual gait（< 1.0 m/sec）	**2.45（1.30, 4.75）**	**0.006**	1.18（0.62, 2.30）	0.62	**2.67（1.21, 6.56）**	**0.02**
Low grip strength（< 28 kg for men, < 18 kg for women）	1.11（0.73, 1.69）	0.62	**1.62（1.06, 2.49）**	**0.03**	1.35（0.84, 2.22）	0.22

CI; confidence intervals, BMI; body mass index, GDS; Geriatric Depression Scale.
Boldface indicates statistical significance.

表 3．コロナ禍の運動・栄養・社会参加の変化と後の認知機能低下の関連
Table 3. Changes in exercise, dietary variety, and social participation and subsequent cognitive decline during the COVID-19 pandemic.

	Followed up at 2020 (n = 663)		Followed up at 2021 (n = 469)		Followed up at 2022 (n = 446)	
	Odds ratio (95% CI)	*P*	Odds ratio (95% CI)	*P*	Odds ratio (95% CI)	*P*
Exercise habit						
Persistent active	1.00 (ref)	−	1.00 (ref)	−	1.00 (ref)	−
Became active	1.15 (0.45, 2.66)	0.75	0.74 (0.20, 2.24)	0.63	1.44 (0.47, 3.93)	0.50
Became inactive	0.81 (0.28, 1.99)	0.66	0.72 (0.16, 2.33)	0.62	0.37 (0.05, 1.51)	0.23
Persistent inactive	0.88 (0.47, 1.63)	0.69	1.13 (0.50, 2.47)	0.76	0.66 (0.27, 1.52)	0.35
Dietary variety score						
Persistent high	1.00 (ref)	−	1.00 (ref)	−	1.00 (ref)	−
Became high	0.28 (0.04, 1.02)	0.10	0.33 (0.02, 1.79)	0.30	0.82 (0.16, 3.11)	0.79
Became low	0.79 (0.39, 1.54)	0.49	1.75 (0.76, 4.02)	0.18	1.90 (0.79, 4.56)	0.15
Persistent low	0.66 (0.34, 1.23)	0.19	1.00 (0.42, 2.31)	0.99	0.91 (0.38, 2.14)	0.82
Social participation						
Persistent active	1.00 (ref)	−	1.00 (ref)	−	1.00 (ref)	−
Became active	0.41 (0.06, 1.62)	0.27	1.91 (0.37, 8.04)	0.40	1.06 (0.20, 4.26)	0.94
Became inactive	0.47 (0.15, 1.25)	0.15	1.55 (0.45, 5.27)	0.48	0.62 (0.15, 2.09)	0.47
Persistent inactive	0.84 (0.45, 1.63)	0.60	1.63 (0.66, 4.47)	0.31	0.76 (0.33, 1.79)	0.51

All models were adjusted by the participant characteristics listed in Table 1, and baseline MMSE score.
CI; confidence intervals, MMSE; mini-mental state examination.

こと、歩行速度低下がある人ほど社会参加が好ましくない変化を起こしやすいことが示された。

B．コロナ禍の運動・栄養・社会参加の変化と認知機能低下

コロナ前からコロナ禍にかけての運動・栄養・社会参加の変化と後の認知機能低下の発生の関連を、2019～2020年、2019～2021年、2019～2022年の 3 つの時間枠で調べた（表 3 ）。その結果、運動・栄養・社会参加のいずれも、またどの時間枠においても認知機能低下の発生との関連は認められなかった。

考　　察

本研究では、コロナ前（2019年10月）からコロナ禍（2020年10月）にかけての運動・栄養・社会参加の変化に関連する要因と、それらの変化と最長で2022年まで追跡した認知機能低下との関連を縦断的に検証した。解析の結果、糖尿病を有する者で運動の好ましくない変化が生じにくいこと、逆にうつ症状をもつ者や歩行速度が低下している者で運動の好ましくない変化が生じやすいこと、筋力が低下した者で特に食品摂取多様性が低くなること、男性であること、BMI が正常であること、歩行速度が低下している者で社会参加が好ましくない変化が生じやすいことが示された。また、運動・栄養・社会参加のいずれも認知機能低下の発生との関連は認められなかった。

コロナ禍での運動習慣の好ましくない変化に糖尿病が関連した理由として、自粛生活において病状悪化の可能性を懸念し、できるだけ運動習慣を絶やさないようにしようと心がけた結果かもしれない。うつ症状を有していると意欲低下が生じ、ただでさえ外出を控える社会情勢であったことから運動する機会を得にくくなったのかもしれない。歩行速度が低下していることが運動習慣の好ましくない変化と関連した理由として、移動能力の低下により、感染不安が大きい人込みや密な空間からの逃避行動がとりにくいと見込んだためかもしれない。筋力が低下している者で食品摂取多様性が低下しがちであることの理由は不明である。男性であることが社会参加の好ましくない変化が生じやすかったのは、コロナ禍か否かにかかわらず

社会参加の頻度が女性に比べて男性で低いことが反映されているのかもしれない。なお、コロナ禍におけるこれら運動・栄養・社会参加の変化の関連要因については、群馬県草津町において同時期に実施されたAbeら[1]の報告とおおむね軌を一にしている。

本研究では、運動・栄養・社会参加の変化と認知機能低下の関連は認められなかった。関連がみられなかった理由は不明であるが、2021年や2022年には、運動・栄養・社会参加のあり方がコロナ前の状況に戻りつつあり、その影響により、認知機能への影響が見えにくくなったのかもしれない。より長期の生活習慣の変化を考慮した解析が必要かもしれない。

本研究の強みは、都内在住高齢者を対象に、縦断的に、認知機能を対面にて調査していることである。都内は国内で感染拡大が最も深刻であるとともに、密になりやすい電車やバス等の公共交通機関を利用する高齢者が多い。そのため運動・栄養・社会参加への影響が生じやすい環境と推察される。2020年頃のコロナ禍初期においてはコロナ関連の調査研究の大半が横断調査であり、コロナ前からコロナ禍にかけての行動変化は思い出しにより把握されている。更に感染リスクを考慮し、オンライン調査がほとんどで、知見が高齢者全体を反映しているとはいい難い。一方で、筆者らは確立したコホートを管理しており、コロナ前、コロナ禍における行動を思い出しバイアスのない状態で把握できた。特に認知機能の正確な把握には対面での調査が欠かせないが、本研究ではそれが実現できている。これらが本研究の強みといえる。一方で、コロナ禍での対面健診に参加する意欲がある対象者に絞られることになり、選択バイアスが生じている可能性は否定できない。その点は研究の限界といえる。

総　　括

本研究では、コロナ前（2019年10月）からコロナ禍（2020年10月）にかけての運動・栄養・社会参加の変化に関連する要因と、それらの変化と最長で2022年まで追跡した認知機能低下との関連を縦断的に検証した。解析の結果、糖尿病を有する者で運動の好ましくない変化が生じにくいこと、逆にうつ症状をもつ者や歩行速度が低下している者で運動の好ましくない変化が生じやすいことが示された。また、筋力が低下した者で特に食品摂取多様性が低くなること、男性であること、BMIが正常であること、歩行速度が低下している者で社会参加が好ましくない変化が生じやすいことが示された。なお、運動・栄養・社会参加のいずれも認知機能低下の発生との関連は認められなかった。本研究の結果、新たな感染症の蔓延や変異ウイルスの猛威による新たな脅威が生じた際に、優先的な配慮が必要な高齢者集団の特徴が明らかとなり、限られた医療・福祉資源の効率的な配分の一助となることが期待される。

謝　　辞

本研究をご支援いただいた公益財団法人明治安田厚生事業団およびその関係者の皆様に心より感謝申し上げます。また、包括的老年医学健診に参加いただいた対象者の皆様、検査員の皆様、研究グループの補助員等スタッフの皆様に感謝申し上げます。

参 考 文 献

1）Abe T, et al.（2022）: Physical, social, and dietary behavioral changes during the COVID-19 crisis and their effects on functional capacity in older adults. Arch Gerontol Geriatr, **101**, 104708.
2）Ashizawa T, et al.（2021）: Impact of the severity of Alzheimer's disease on the quality of life, activities of daily living, and caregiving costs for institutionalized patients on anti-alzheimer medications in Japan. J Alzheimers Dis, **81**（1）, 367-374.
3）熊谷　修ら（2003）: 地域在宅高齢者における食品摂取の多様性と高次生活機能低下の関連．日本公衆衛生雑誌，**50**, 1117-1124.
4）Satake S, et al.（2020）: The revised Japanese version of the cardiovascular health study criteria（revised J-CHS criteria）. Geriatr Gerontol Int, **20**（10）, 992-993.
5）杉下守弘ら（2016）: 精神状態短時間検査―日本版（MMSE-J）の妥当性と信頼性に関する再検討．認知神経科学，**18**（3・4）, 168-183.
6）Tison GH, et al.（2020）: Worldwide effect of COVID-19 on physical activity: a descriptive study. Ann Intern Med, **173**（9）, 767-770.

第 37 回若手研究者のための健康科学研究助成成果報告書
2020 年度 *pp*.44～50（2023.7）

気分と認知機能を改善する就寝前ストレッチ運動プログラムの開発

諏訪部　和　也*,** 大　槻　　毅* 膳　法　亜沙子*
吉　川　　徹*

DEVELOPMENT OF BEDTIME STRETCHING EXERCISE PROGRAM ENHANCING MOOD AND COGNITIVE FUNCTION

Kazuya Suwabe, Takeshi Otsuki, Asako Zempo-Miyaki, and Toru Yoshikawa

Key words: sleep, electroencephalography（EEG）, Stroop task, mnemonic discrimination, POMS.

緒　　言

青年期は特有の心理的不安定さに加えて、生活環境の変化からメンタルヘルス（気分や認知機能）の悪化を招きやすい。更に、新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の流行により大学での授業や課外活動の機会が大きく制限され、より深刻な事態が懸念されており、この解決は社会課題である。我々は、大学生1218名を対象に、2020年４～12月、生活習慣（運動，食事，睡眠）および気分に関する質問紙調査を実施した。その結果、調査期間を通じて睡眠質は低い傾向にあり、回答者の約10％は睡眠障害やうつ病患者と同程度まで低下していた[8)]。更に、睡眠質の低下は抑うつ・疲労の増大や活力低下のようなネガティブな気分と相関した。このことから、メンタルヘルス改善には睡眠の質向上をねらった方策が有用である可能性が示された。

そこで、睡眠の質を高める方策として就寝前に行うストレッチングに着目した。永松らは、就寝前に行う10分間のストレッチ運動プログラムが深部体温を緩やかに上昇させ、ストレス反応を軽減し、レム睡眠の出現頻度を増加させるなど、睡眠の質を変化させることを一連の研究から報告している[3-5)]。しかし、これらの研究はいずれも中高齢女性を対象とし、睡眠時脳波計測は昼間睡眠で検討されており、科学的根拠は限定的である。また、徐波睡眠（深い睡眠）の割合が多いことは、実行機能や記憶能などの認知機能に好影響を与えることが報告されており[1,2)]、もし就寝前ストレッチングによってより深い睡眠を誘導できれば認知機能向上につながる可能性があるが、未検討である。

本研究の目的は、若齢成人を対象に就寝前ストレッチ運動プログラムを考案し、その効果を睡眠時脳波、気分、認知機能の観点から検証することとした。就寝前に行うストレッチ運動プログラムは睡眠質改善、特に深い睡眠ステージの増大を介して気分や認知機能を向上させると仮説を立てた。

*　流通経済大学スポーツ健康科学部スポーツ健康科学科　Faculty of Health and Sport Sciences, Ryutsu Keizai University, Ibaraki, Japan.
**　筑波大学体育系ヒューマン・ハイ・パフォーマンス先端研究センター（ARIHHP）スポーツ神経科学部門　Sport Neuroscience Division, Advanced Research Initiative for Human High Performance（ARIHHP）, Faculty of Health and Sport Sciences, University of Tsukuba, Ibaraki, Japan.

方　　法

A．実験参加者

健常な若齢成人12名が実験に参加し、実験を完遂した10名のデータを分析対象とした。年齢は21.6±1.0歳、body mass index（BMI）は20.8±2.4 kg/m^2、事前にピッツバーグ睡眠質問票（pittsburgh sleep quality index; PSQI）を用いて評価した睡眠状態は5.3±2.1であった（平均値±標準偏差）。すべての被験者に中枢神経系疾患の既往歴、視覚・色覚の異常がないこと、睡眠薬等使用していないことを確認した。予め被験者には研究の目的、方法、予想されうる危険性を書面にて十分説明したうえで参加の同意を得た。実験はすべて流通経済大学研究倫理審査委員会の承認を得て実施した（承認番号：第33号）。

B．実験手順

同一参加者がストレッチ条件と対照条件の2条件を無作為な順序で実施するクロスオーバー試験を実施した。5日間のストレッチング（または安静）と睡眠時脳波計測を行い、その翌日（6日目）の午前中に実験室にて認知機能測定・気分・柔軟性の測定を行った。両条件ともに同じ曜日に開始し、条件間を2週間以上空けて実施した。ストレッチ条件では、就寝直前に自宅にて約10分間のストレッチ運動プログラムを実施した。対照条件では、同様の時間、ストレッチ条件と同じ姿勢で安静を保った。ストレッチ運動プログラムは、上肢および下肢の静的ストレッチングを中心に構成し、座位から徐々に仰臥位に移行するように配置した。ストレッチングおよび安静は、動画を視聴しながら実施し、極力画面は見ずに音声ガイドに従って行うように指示した。ストレッチングおよび安静の様子は映像に記録し後日確認した（図1）。

実験期間中、普段どおりの生活を心がけ、高強度・長時間の運動、飲酒および14時以降カフェインの摂取を控えるように参加者に指示した。また、寝室の環境（室温・光・音）はできる限り一定に保つようにさせた。認知機能測定の当日は運動を禁止し、食事は実験開始2時間前までに完了させた。

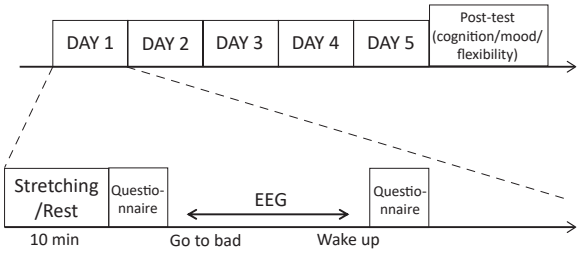


図1．実験手順

Fig.1. Experimental procedure.
Participants performed 10 minutes stretching program or resting control on just before going to bed, then measured sleep electroencephalogram（EEG）during five days. On the sixth day, participants performed cognitive tasks in the experimental room.

C．認知課題

前頭前野の実行機能評価課題としてストループ課題（Color-word Stroop task）、海馬の類似記憶弁別能の評価課題として類似物体を用いた再認課題を用いた。

1．ストループ課題

上段の文字の色と下段の文字の意味が一致しているかについてできるだけ素早く回答させた。単純に色について回答するNeutral課題とインクの色とその意味が一致しない色名単語の色について回答するIncongruent課題を各30問提示した（図2A）。画像提示時間は2秒間とした。Incongruent課題の反応時間からNeutral課題の反応時間を差し引くことでストループ干渉時間を算出し、実行機能の評価指標とした。更に、ストループ課題の担当脳部位である左背外側前頭前野（dorsolateral prefrontal cortex; DLPFC）の活動を機能的近赤外

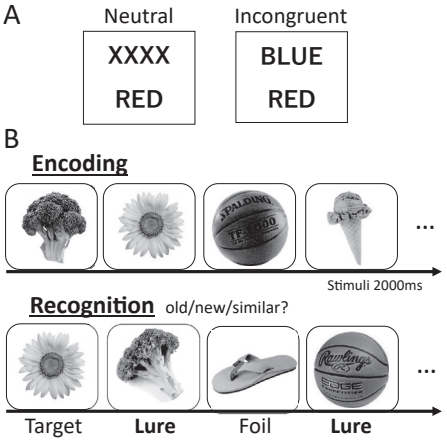


図2．認知課題の例

Fig.2. Examples of cognitive task.
（A）Color-word Stroop task.（B）Mnemonic discrimination task.

光分光分析法（functional near-infrared spectroscopy; fNIRS）を用いて計測し、ストループ干渉に伴う活動（Incongruent – Neutral）を分析した[10]。

2．記憶課題

記銘課題（Encoding）では、日常生活で目にする物体の写真196枚をスクリーンに提示し、注視させた。再認課題（Recognition）では、同一刺激（Target）64枚、類似刺激（Lure）128枚、無関連刺激（Foil）64枚の計256枚の画像を提示し、それが記銘課題で提示された画像と全く同じか、似ているが少し違うか、初めて出てきた新しい画像かの三択で回答させた（図2 B）。画像提示時間は2秒間とした。類似刺激は、先行研究[7]を参考に5段階の類似度に分類した。類似刺激に対して正しく「似ている」と回答できた割合（正答率）から、無関連刺激に対して誤って「似ている」と回答してしまった割合（誤答率）を差し引いた値を類似刺激弁別指数（lure discrimination index; LDI）とし、類似度ごとに算出した。

D．睡眠時脳波計測

睡眠評価のゴールドスタンダードは睡眠ポリグラフ（polysomnography; PSG）であるが、専用の実験施設と高額な費用がかかる。本研究では、自宅で簡便に繰り返し測定可能である InSomnograf（株式会社 S’UIMIN）を用いて睡眠時脳波を計測した。この測定方法は、PSG とほぼ同等の精度であることが確認されている[6]。前額部と両耳の後ろに計5箇所電極を貼付し、入床とともに測定を開始、起床後直ちに測定を終了した。総記録時間、入眠潜時（sleep latency）、総睡眠時間、入眠後覚醒時間、睡眠効率、各睡眠ステージ（N1：浅いノンレム睡眠，N2：中程度の深さのノンレム睡眠，N3：深いノンレム睡眠，REM：レム睡眠）の出現率を評価した。

E．気分・疲労度・主観的睡眠質・柔軟性

介入期間中毎日、就寝時および起床時の気分（元気度・リラックス度）を−5から5の11段階で測定した。また、就寝時の疲労度および主観的な睡眠の質（起床時に記録）をそれぞれ0から10の11段階で測定した。高値は、各度数および睡眠質が高いことを示す。

ストレッチングまたは安静を5日間実施した翌日、認知機能に加えて気分と柔軟性を測定した。気分（怒り，抑うつ，疲労，緊張，活気，不安）は、気分プロフィール検査（Profile of Mood States; POMS）により測定した。柔軟性は、長座体前屈により測定し、2回実施した平均値を算出した。

F．データ解析

睡眠時脳波および毎日測定した気分・疲労度・主観的睡眠質のデータは、5日間のうち3日間の平均値を各個人の代表値として分析した。原則、最後の3日間（3日目から5日目）を分析対象とし、データ収集の不備が認められた場合には代わりに1日目、2日目のデータを分析に用いた。平均値および標準誤差、効果量（Cohen’s d）を算出し、対応のあるt検定を用いて有意性を検定した。有意水準は0.05とし、$0.05 \leqq P < 0.1$を有意に近い水準とした。

結　　果

A．睡眠への効果

まず、総記録時間（time in bed）において条件による差は認められなかった。各指標への効果を確認したところ、有意水準で差は認められなかったものの、入眠潜時はストレッチ条件で短い方向に大きな効果量があり、*P* 値は有意に近い水準であった。主観的な睡眠の質はストレッチ条件で良い方向に中程度の効果量があり、*P* 値は有意に近い水準であった（表1）。

B．気分・疲労度・柔軟性への効果

入床時の疲労度、入床時および起床時の気分（元気度・リラックス度）とその変化にはいずれも有意な差は認められなかった（表1）。POMS で測定した5日間の介入後の気分でも、有意な差は認められなかった（表1）。柔軟性においても、ストレッチングの効果は認められなかった（表1）。

C．認知機能への効果

ストループ課題について、Neutral 課題と Incongruent 課題の正答率、反応時間は表2に示すとおりである。実行機能の指標であるストループ干渉時間は、有意水準で差は認められなかったものの、ストレッチ条件で短い（優れている）方向に大きな効果があり、*P* 値は有意に近い水準で

表 1．睡眠・気分・柔軟性に対する効果
Table 1. Effects of stretching on sleep parameters, mood and flexibility.

	Control	Stretching	d	*P*
Sleep parameters				
Time in bed, min	340.5(19.0)	339.7(16.4)	0.01	0.95
Sleep latency, min	14.6(3.0)	7.9(1.1)	**0.93**	**0.07**
Total sleep time, min	314.4(16.4)	318.7(14.0)	0.09	0.63
WASO, min	11.5(2.0)	13.1(3.7)	0.16	0.50
Sleep efficiency, %	92.3(0.7)	93.9(0.9)	**0.60**	0.19
N1, %	5.9(1.2)	5.8(0.8)	0.04	0.87
N2, %	44.7(1.4)	45.6(1.0)	**0.23**	0.58
N3, %	23.2(2.2)	24.7(1.3)	**0.25**	0.40
REM, %	24.1(2.4)	23.5(1.3)	0.11	0.74
Subjective sleep quality	4.5(0.5)	5.4(0.5)	**0.60**	**0.09**
Mood				
Fatigue at go to bed	4.9(0.6)	5.1(0.3)	0.09	0.84
Vitality at go to bed	0.1(0.5)	−0.4(0.3)	**0.35**	0.44
Vitality at wake up	1.8(0.4)	1.6(0.4)	0.14	0.63
ΔVitality	1.7(0.5)	2.0(0.5)	0.19	0.66
Stability at go to bed	1.5(0.4)	1.3(0.5)	0.15	0.65
Stability at wake up	1.8(0.5)	1.5(0.6)	0.19	0.48
ΔStability	0.3(0.5)	0.2(0.7)	0.06	0.85
POMS				
Tension	5.2(1.3)	5.6(1.3)	0.10	0.70
Depression	2.5(0.7)	2.6(1.0)	0.04	0.85
Anger	0.9(0.5)	2.4(0.9)	**0.63**	0.11
Vigor	10.8(1.6)	10.2(1.8)	0.11	0.57
Fatigue at go to bed	4.8(1.2)	5.6(1.4)	0.20	0.58
Confusion	4.0(0.9)	5.7(1.7)	**0.40**	0.20
Total Mood Disturbance	6.6(4.2)	11.7(5.6)	**0.33**	0.28
Flexibility				
Sit-and-reach, cm	45.1(3.3)	46.8(3.0)	0.17	0.15

Values are mean(standard error), WASO=wake after sleep onset, REM= rapid eye movement, POMS= Profile of Mood States.

あった（図 3 A)。また、ストループ干渉に伴う左 DLPFC の活動は、有意水準で差は認められなかったものの、ストレッチ条件で高い方向に大きな効果があり、*P* 値は有意に近い水準であった(図 3 B)。

記憶課題について、各刺激条件（Target, Lure, Foil）に対する各反応（old, similar, new）の回答率は表 2 に示すとおりである。5 段階の類似度別に算出した LDI では、類似度 3 においてストレッチ条件で高い方向に中程度の効果があり、*P* 値は有意に近い水準であった（図 3 C)。他の類似度では差は認められなかった。

D．睡眠質と認知機能の関係

対照条件における N 3 ステージの出現率と各認知課題成績の関係を調べたところ、有意水準での関係性は認められなかったものの、N 3 出現率とストループ干渉時間は負に相関（図 4 A)、N 3 出現率と類似度 3 における LDI は正の相関関係（図 4 B）の方向に大きな効果があった。また、ストレッチングによる N 3 ステージの出現率の変化（ストレッチ条件－対照条件）と各認知課題成績の変化（ストレッチ条件－対照条件）の関係においても有意水準での関係性は認められなかったものの、N 3 出現率の変化とストループ干渉時間の

表２．各認知課題の成績
Table 2. Cognitive performance in each task.

	Control	Stretching
Stroop task		
Accuracy, %		
Neutral	98.5（1.1）	98.5（0.8）
Incongruent	96.5（0.8）	97.0（1.1）
Response time, ms		
Neutral	871.4（30.8）	889.6（32.1）
Incongruent	967.5（47.7）	940.3（33.9）
Mnemonic discrimination task		
Target_old, %	82.6（3.2）	85.2（2.2）
Target_similar, %	11.6（2.5）	11.7（2.2）
Target_new, %	5.8（0.9）	3.1（0.6）
Lure_old, %	31.7（3.4）	34.2（4.7）
Lure_similar, %	53.1（4.1）	57.7（5.1）
Lure_new, %	15.0（1.9）	8.1（2.7）
Foil_old, %	1.4（0.4）	1.7（0.8）
Foil_similar, %	13.3（2.1）	12.3（3.4）
Foil_new, %	85.2（2.2）	85.9（3.3）

Values are mean（standard error）.

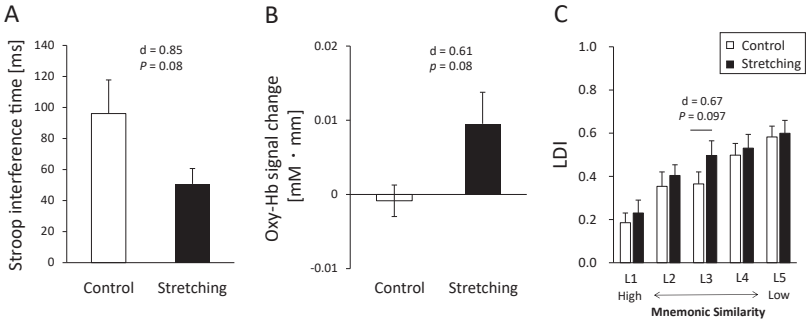


図３．認知パフォーマンスに対するストレッチングの効果
Fig.3. The effects of stretching on cognitive performance and prefrontal activation. Stretching had a positive large effect on Stroop interference time（A）and cortical activation in the DLPFC（B）compared to resting control condition. Stretching had a positive moderate effect the LDI in middle similarity bins compared to resting control condition（C）. Values are mean ± standard error.
DLPFC; dorsolateral prefrontal cortex, LDI; lure discrimination index.

変化との間に負の相関関係（図４C）、N３出現率と類似度５における LDI の変化との間に正の相関関係（図４D）の方向に大きな効果がみられた。

考　　察

本研究は、10分間の就寝前ストレッチ運動プログラムの５日間の実践が睡眠、気分および認知機能に及ぼす影響を明らかにすることを目的に実験を行った。就寝前ストレッチングは、睡眠潜時を短縮させ、主観的な睡眠の質を高める傾向があった。気分改善効果は認められなかったものの、実行機能の指標であるストループ干渉時間および課題遂行中の左 DLFPC の活動、海馬の記憶能の指標である類似記憶弁別能を向上させる傾向がみられた。横断的検討から、対照条件において深い睡眠ステージ（N３）の出現率が高い者ほどストループ課題および記憶課題の成績が優れている傾向がみられ、就寝前ストレッチングによる認知機能の

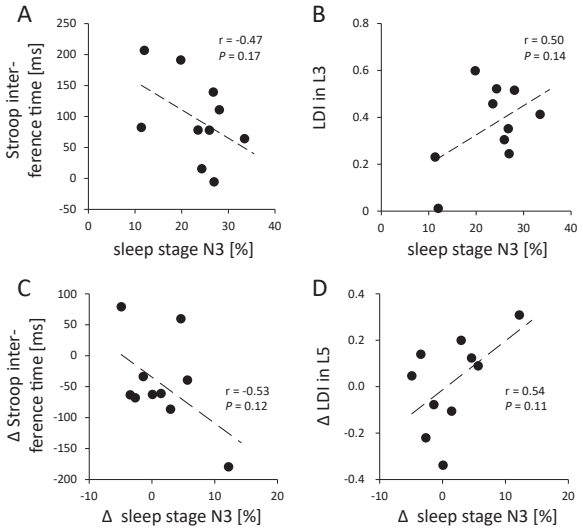


図４．N3出現率と認知機能の関係

Fig.4. The relationship between sleep stage change and cognitive performance change.

The ratio of sleep stage N3 in control condition are（A）negatively correlated with Stroop interference time and（B）positively correlated with LDI in L3 in control condition. The ratio of sleep stage N3 changes are（C）negatively correlated with Stroop interference time and（D）positively correlated with LDI in L5.

変化は、N３出現率の変化と関係していた。これらは、就寝前ストレッチングの実践がより深い睡眠を誘導することで実行機能や記憶能に好影響を与えるとする仮説を支持する結果であり、若齢成人のメンタルヘルスを維持向上するための方策として、誰でも簡単に実践できる就寝前ストレッチングの可能性を示すものである。

ストレッチングは、主観的な睡眠質および脳波から客観的に評価した入眠潜時に好影響を与えた。両者は負の相関関係にあり（r = −0.60）、入眠がスムーズだったことで、主観的な睡眠質の向上に結びついた可能性が考えられる。中高年女性を対象にした先行研究においても、３週間の就寝前ストレッチング介入が通常生活対照群に比べて睡眠潜時を短縮させる効果が報告されており、本研究の結果と一致する[5)]。ただし、本研究でみられた入眠潜時の短縮効果は、入床時刻の影響を受けていた可能性があり、結果の解釈には注意が必要である。本実験では、両条件でできるだけ普段どおりの生活リズムを保つように指示し、対照条件でもストレッチ条件と同様の時間安静を保たせたところ、入床時刻の平均値は対照条件24時55分、ストレッチ条件25時13分であった。各条件の入床時刻の差と入眠潜時の差の間には負の相関関係があり（r = −0.43）、ストレッチ条件において入床が遅かった参加者において入眠潜時が短縮した傾向がみられた。

就寝前ストレッチングを５日間継続することで、認知機能が向上する傾向がみられた。前頭前野が担う実行機能を評価するストループ課題のストループ干渉時間に対して、ストレッチングは大きな効果（d = 0.85）を有した。また、中程度の類似度における類似記憶弁別能に対して中程度の効果（d = 0.67）がみられた。中程度の類似度で効果が顕著であった理由は、他の類似度に比べて難易度が適切だったため検出力が高かったと考えられる[9)]。興味深いことに、対照条件において深い睡眠ステージ（N３）の出現率が高い者ほど認知パフォーマンスが高く、ストレッチングによるN３出現率の変化は認知パフォーマンスの変化と相関性がみられた（図４）。本研究では、ストレッチングがN３出現率を増大させるかどうかは明らかにならなかったが、増大させる方向に小さな効果が確認された（d = 0.25）。先行研究では、徐波睡眠の増大が実行機能[1)]や類似記憶弁別能[2)]における高いパフォーマンスと関連することが報告されており、一部の参加者ではストレッチングが徐波睡眠を増大させることで認知機能を向上させた可能性がある。

仮説に反し、ストレッチングは気分に影響しなかった。気分に対する就寝前ストレッチングのポジティブな効果を報告した研究も存在するが[3)]、対象者や実施期間の違いが結果に影響した可能性がある。また、本研究では介入前後での気分の変化を検討できておらず、介入前の気分による影響も考えられる。

本研究は、十分な検定力を得るためのサンプルサイズを得ることができなかった。今後、更なる検証が必要である。

総　　括

就寝前ストレッチ運動プログラムは、実行機能や課題中の前頭前野活動、記憶機能を高める傾向がみられ、認知パフォーマンスの変化の背景に徐波睡眠の増大がかかわる可能性が示された。今後

の研究から就寝前ストレッチングのメンタルヘルスに対する効果が明らかとなれば、日常生活で実践可能なセルフマネジメントの手段として若者のみならず広く一般市民の健康増進に役立てることができる。

謝　　辞

本研究は、公益財団法人明治安田厚生事業団第 37 回若手研究者のための健康科学研究助成を受けて遂行されました。

参 考 文 献

1）Ferrarelli F, et al.（2019）: An increase in sleep slow waves predicts better working memory performance in healthy individuals. Neuroimage, **191**, 1-9.

2）Hanert A, et al.（2017）: Sleep in humans stabilizes pattern separation performance. J Neurosci, **37**, 12238-12246.

3）Kai Y, et al.（2016）: Effects of stretching on menopausal and depressive symptoms in middle-aged women: a randomized controlled trial. Menopause, **23**, 827-832.

4）永松俊哉ら（2008）：ストレッチを用いた低強度運動プログラムの実施が中高年女性勤労者の睡眠に及ぼす影響．体力研究，**106**, 1-8.

5）永松俊哉ら（2014）：低強度のストレッチ運動が軽度睡眠障害者の睡眠およびストレス反応に及ぼす影響. 体力研究，**112**, 1-7.

6）Seol J, et al.（2022）: Bidirectional associations between physical activity and sleep in older adults: a multilevel analysis using polysomnography. Sci Rep, **12**, 15399.

7）Stark SM, et al.（2013）: A task to assess behavioral pattern separation（BPS）in humans: data from healthy aging and mild cognitive impairment. Neuropsychologia, **51**, 2442-2449.

8）諏訪部和也ら（2021）：スポーツを学ぶ大学生を対象としたコロナ禍におけるクラウド型教育支援サービスを利用した健康教育の試みとその成果．流通経済大学スポーツ健康科学部紀要，**14**, 123-131.

9）Suwabe K, et al.（2017）: Aerobic fitness associates with mnemonic discrimination as a mediator of physical activity effects: evidence for memory flexibility in young adults. Sci Rep, **7**, 5140.

10）Suwabe K, et al.（2021）: Positive mood while exercising influences beneficial effects of exercise with music on prefrontal executive function: a functional NIRS study. Neuroscience, **454**, 61-71.

第 37 回若手研究者のための健康科学研究助成成果報告書
2020 年度 *pp*.51～59（2023.7）

脳老廃物除去システムに対する加齢および一過性有酸素運動の影響

樽味　孝*　菅原　順*　浅原亮太*

EFFECTS OF AGE AND ACUTE AEROBIC EXERCISE ON THE BRAIN WASTE CLEARANCE

Takashi Tarumi, Jun Sugawara, and Ryota Asahara

Key words: cerebrospinal fluid, brain waste clearance, age, exercise, executive function.

緒　言

脳機能は加齢とともに低下し、高齢期において認知症や脳卒中などの脳疾患リスクを高める。一方、習慣的な有酸素運動は認知機能の向上や脳血管疾患リスクの低下と関連する。しかし、運動が脳機能を改善する生理機序は明らかにされておらず、より効果的な運動プログラムの構築、更には、運動療法の普及に向け障壁となっている。

運動が脳機能を改善する機序の 1 つに脳循環の役割が考えられる。脳は体重の 2 %ほどの臓器だが、そのエネルギー代謝量は全身の約15%を占め、そのほとんどが血流から供給されている。更に近年、脳脊髄液（cerebrospinal fluid; CSF）が神経細胞から排出された老廃物を除去する働きがわかってきた[6]。例えば Glymphatic system（GS）は、心臓や呼吸から脳へ伝わる拍動性が駆動力として働き、アミロイドベータやタウタンパクなどを脳外へ除去することが動物実験から示されている[3]。したがって、有酸素運動は心臓や呼吸へ強い影響を及ぼすため、脳の老廃物除去機能を亢進する可能性が考えられる。

そこで本研究の目的は、脳循環および認知機能に対する有酸素運動の急性的な影響を検証することとした。我々は、単回の中強度有酸素運動が CSF 循環と脳血流を亢進し認知機能を高めると仮説を立てた。また、その効果は若年者に比べ高齢者でより顕著であると予想した。

方　法

A．被験者

被験者は、健康な若年者11名（女性 8 名）と中高齢者 9 名（女性 7 名）とした。除外条件は、循環・呼吸器の既往歴、高血圧、肥満、糖尿病、不整脈、喫煙歴、認知症などの精神疾患、脳震盪などの頭部外傷、トレッドミル運動および核磁気共鳴画像（magnetic resonance imaging; MRI）計測を行えない者とした。本実験は、産業技術総合研究所人間工学実験委員会の承認を受けた（承認番号：人2018-873N）。被験者には口頭および書面にて研究の趣旨、測定内容、実験に伴うリスクを十分に説明したうえで、書面にて研究協力への同意を得た。

* 国立研究開発法人産業技術総合研究所 人間情報インタラクション研究部門　Human Informatics and Interaction Research Institute, National Institutes of Advanced Industrial Science and Technology, Ibaraki, Japan.

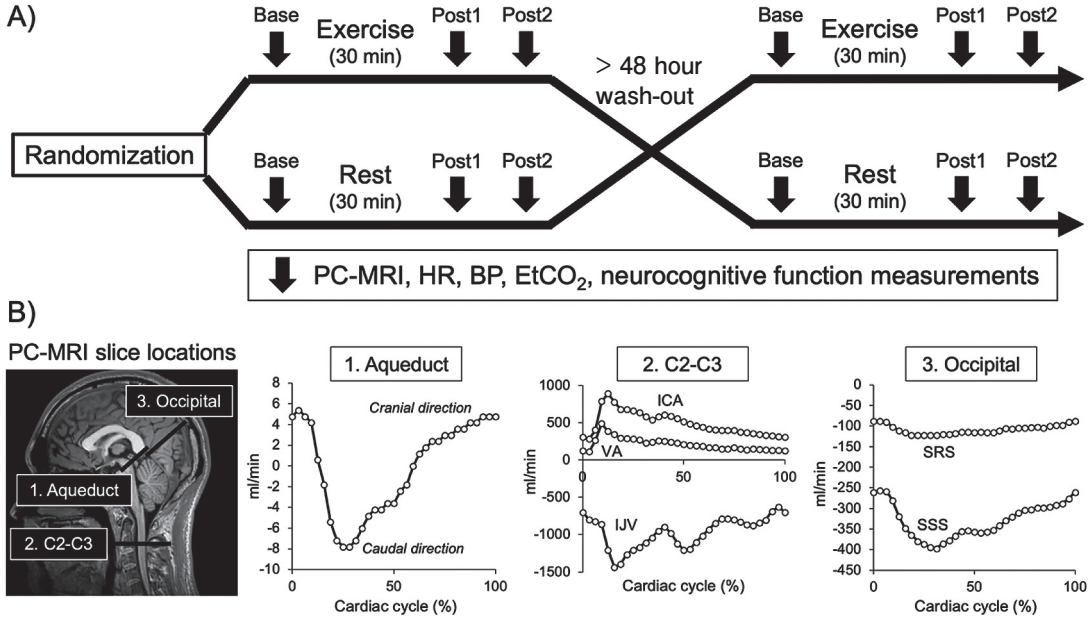


図 1．A）本研究の実験プロトコルと B）Phase-Contrast MRI（PC-MRI）測定の撮像部位（左）と代表的な流量波形

Fig.1. A）Study protocol for this study. A randomized cross-over design was used to investigate the acute effects of 30-minute moderate aerobic exercise and rest on cerebrospinal fluid（CSF）and cerebral blood flows and neurocognitive function in healthy young and older adults. B）Phase-contrast magnetic resonance imaging（PC-MRI）measurements. The left panel shows slice locations of PC-MRI measurements（black lines）; the right three panels show the representative CSF and cerebral blood flow waveforms in a single participant.

BP; blood pressure, HR; heart rate, $EtCO_2$; end-tidal CO_2, ICA; internal carotid artery, VA; vertebral artery, IJV; internal jugular vein, SSS; superior sagittal sinus, SRS; straight sinus.

B．実験プロトコル

ランダム化クロスオーバーデザイン法により、脳循環指標と認知パフォーマンスに対する運動条件と安静条件の影響を比較した（図 1 A）。被験者には同時刻に 2 日間研究室へ訪問してもらい、各条件の計測を実施した。各条件の間には最低48時間のウオッシュアウト（washed-out）期間を設けた。また、測定 2 時間前の飲食（水は除く）、測定12時間前以内のカフェイン摂取、測定24時間前以内の高強度運動を控えるよう指示し、測定は室温23～25℃に調整された実験室と MRI 室で実施した。

実験室において身体特性（身長，体重，BMI［body mass index］）、安静時座位血圧（blood pressure; BP）、および心拍数（heart rate; HR）を測定した。次に被験者を MRI 検査テーブルに仰臥位の状態で設置し、上腕カフ、鼻カニューラ、呼吸センサー、パルスオキシメーターを取り付け、32チャンネルヘッドコイルを装着した後、頭部をパッドで固定した。ベースラインデータ（Base）の測定後、被験者を MRI 室外へ移し30分間の運動条件または安静条件を行い、各条件後にベースラインと同様の測定を行った。経時的な変化を調べるために条件後の測定は 2 回実施（Post1と Post2）した（各被験者から計 6 回の測定を実施）。

運動条件では、トレッドミル装置を使用し、約 5 分間のウォームアップを行った後、年齢予測最大心拍数（208 − 0.7 × 年齢）の60～70％でウォーキング運動を行ってもらった。運動中は心拍数をモニターし運動後に自覚的運動強度（rate of perceived exertion; RPE）を測定した。安静条件では、30分間静かに椅子に着席してもらった。

C．測定項目

1．脳循環および脳容積の測定と解析

3 テスラ MRI 装置（Philips, Ingenia）を使用し、2D CINE Phase-Contrast MRI（PC-MRI）撮像法により CSF 循環と脳血流量を測定した。図 1 B に撮像部位と代表的な波形データを示す。撮像部位は、1）中脳水道（cerebral aqueduct）、2）頚椎 C2-C3 間、3）後頭部（occipital）とした。頚椎 C2-C3間では内頚動脈（internal carotid artery; ICA）、椎骨動脈（vertebral artery; VA）、内頚静脈（internal

jugular vein; IJV）の血流量、後頭部では上矢状静脈洞（superior sagittal sinus; SSS）と直静脈洞（straight sinus; SRS）の血流量を測定した。パルスオキシメーターから得られた指先脈波を使用しRetrospective Triggering 法により一心周期内の流量波形を収集した。一心周期内のデータポイント数は32とした。PC-MRI の撮像には下記のパラメータを使用した。

○中脳水道：有効視野（FOV）= 150 × 150 mm、マトリックス = 256 × 179、スライス厚 = 5 mm、エコー時間（TE）= 7 ms、繰り返し時間（TR）= 11 ms、速度エンコード（VENC）= 12 cm/sec、フリップ角度（FA）= 15º、撮像時間 = 約 8 分

○頚椎 C2-C3間および後頭部：FOV = 150 × 150 mm、マトリックス = 132 × 130、スライス厚 = 5 mm、TE = 5 ms、TR = 9 ms、VENC = 100 cm/sec（頚椎 C2-C3間）& VENC = 60 cm/sec（後頭部）、FA = 10º、撮像時間 = 約 5 分

PC-MRI データは QFlow ソフト（Philips 社製）により解析した。強度画像を使用し血管または中脳水道の内腔に Region-of-Interest（ROI）を描き、ROI を位相画像へコピーした後、内腔面積と流速の積から流量（flow rate; FR）を算出した。中脳水道では平均流量がほぼゼロになるため、頭側方向（cranial flow volume; FV）と尾側方向（caudal FV）の流量をそれぞれ算出し、更にそれらの絶対値の和（絶対値流量：absolute FV）を算出した。上記指標の算出法は先行研究に準じた[7]。脳容積は、T 1 強調画像を FreeSurfer ソフトにより解析し計測した。

2．認知パフォーマンスの測定と解析

実行機能の一翼を担う認知的柔軟性を評価するタスクスイッチング課題を用いた[10]。課題は、単一ルール A（Non-switch 条件）・単一ルール B（Non-switch 条件）・ルール A&B 混在（Switch 条件）の 3 条件によって構成された。単一ルール A は、「かたち」の識別で、画面に「かたち」という手がかりが与えられた後、被験者は、刺激が「円」または「四角形」かを判断した。単一ルール B は、「いろ」の識別で、画面に「いろ」という手がかりが与えられた後、被験者は、刺激が「赤色」または「青色」かを判断した。ルール A&B 混在は、画面に「かたち」または「いろ」どちらかの手がかりが与えられた後、被験者は、手がかりに沿って、刺激を判断した。被験者には、できるだけ速く、かつ正確な判断を求めた。Non-switch 条件・Switch 条件それぞれで正答率（error rate）と反応時間（reaction time; RT）を取得し、Switch 条件と Non-switch 条件の正答率と反応時間の差（cost）を算出した。

3．体循環および呼吸指標の測定と解析

血圧測定用カフを MRI 室内へ引き込み、左腕から収縮期血圧（systolic BP; SBP）、拡張期血圧（diastolic BP; DBP）、HR を測定した（SphygmoCor EXEL）。また、MRI 室外に設置したカプノグラフ（CapnoTrue ASP, bluepoint MEDICAL）から鼻カニューラを MRI 室内へ引き込み呼気終末二酸化炭素ガス分圧（end-tidal carbon dioxide; $EtCO_2$）を計測した。これらの測定は我々の先行研究に準じて実施した[7]。

D．統計処理

線形混合モデル（linear mixed model; LMM）を使用し、計測指標に対する条件の影響（条件 × 時間）、更に条件と年齢の影響（条件 × 時間 × 年齢群）を検証した。多重比較（事後検定）は Bonferroni 法により補正した。若年者と中高齢者の特性は対応のない t- 検定により比較し、指標間の関係はピアソン相関係数により調べた。被験者特性は平均値 ± 標準偏差、LMM の結果は推定周辺平均（estimated marginal mean; EMM）と95% 信頼区間（confidence interval; CI）によりデータを示し、統計学的有意水準は 5 %未満とした。すべての統計解析には SPSS29（IBM Corporation）を用いた。

結　　果

表 1 に被験者特性を示す。中高齢者群は若年者群と比較して脳容積が有意に小さかったが、身長、体重、BMI に有意な差はなかった。また、安静座位の BP と HR に有意な差はみられなかった。運動中の RPE は両年齢群で有意な差はなかった。

A．体循環・呼吸指標への影響

表 2 に各条件の HR、SBP、DBP、$EtCO_2$データを示す。HR と SBP に有意な条件 × 時間の交互

表 1．被験者特性
Table 1. Characteristics of young and older participant groups.

Measurements	Young（n = 11） Mean ± SD	Older（n = 9） Mean ± SD	*P*-values （t-test）
Age（years）	25 ± 2	62 ± 5	< 0.001
Height（cm）	164 ± 9	160 ± 8	0.236
Body mass（kg）	60 ± 10	53 ± 9	0.125
Body mass index（kg/m^2）	22 ± 3	21 ± 3	0.280
Brain volume（cm^3）	1128 ± 106	1010 ± 72	0.011
Seated heart rate（bpm）	71 ± 14	72 ± 8	0.787
Seated systolic BP（mmHg）	115 ± 11	119 ± 12	0.475
Seated diastolic BP（mmHg）	76 ± 10	76 ± 7	0.900
Exercise RPE	12 ± 2	13 ± 2	0.362

Data are means ± standard deviations（SD）. Brain volume does not include ventricular volumes. BP; blood pressure, RPE; rate of perceived exertion.

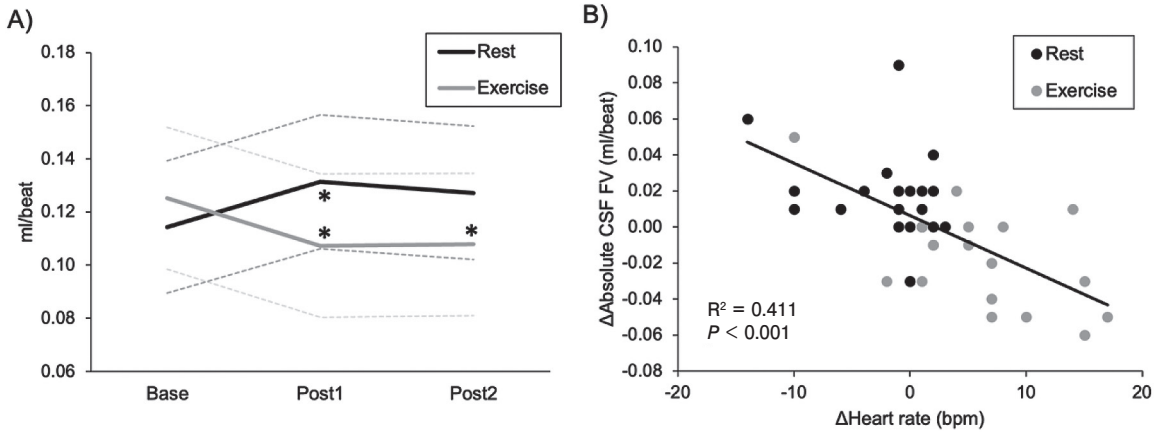


図 2．A）安静条件および運動条件における脳脊髄液（CSF）絶対値流量の変化。* 同条件の Base と比較し有意差（$P < 0.05$）。B）Base から Post1における CSF 絶対値流量と心拍数の変化量の関係
Fig.2. A）Cerebrospinal fluid（CSF）absolute flow volume during the rest and exercise conditions. *$P < 0.05$ vs Base within the same condition. B）Correlation between changes in heart rate and CSF absolute flow volume over the Base to Post1 time-points.

作用が示された。事後検定の結果、HR は運動条件において Base から Post1の間で有意に増加、安静条件では、Baseから Post2の間で有意に低下した。SBP は運動条件において Base から Post2の間で有意に低下した。DBP と $EtCO_2$に有意な交互作用はなかった。

B．脳循環指標への影響

表 3 に各条件の脳循環データを示す。中脳水道の流量指標に対し有意な条件 × 時間の交互作用が示された。事後検定の結果、Absolute FV は安静条件において Base から Post1の間で有意に増加、運動条件では Base から Post1および Post2の間で有意に低下した（図 2 A）。同様に Cranial FV は、安静条件において Base から Post1の間で有意に増加、運動条件では Base から Post1および Post2の間で有意に低下した。Caudal FV は運動条件において Base から Post1および Post2の間で有意に低下した。中脳水道の流量指標に有意な条件 × 時間 × 年齢群の交互作用はなかった。ピアソン相関解析により、中脳水道の Absolute FV の変化量と心拍数の変化量の間に有意な負の相関関係がみられた（Base-to-Post1: r =−0.641, $P < 0.001$（図 2 B）; Base-to-Post2: r =−0.482, $P = 0.003$; Post1-to-Post2: r =−0.520, $P = 0.001$）。

ICA と IJV の FR に有意な条件 × 時間 × 年齢群の交互作用が示された。事後検定の結果、運動条件において若年者の ICA FR は Base から Post1の間で有意に増加した。また運動後の Post1と Post2において、中高齢者群の ICA FR は若年者の同指標よりも有意に低い値を示した。中高齢者群の

表２．安静条件および運動条件における心拍数、血圧、呼気終末二酸化炭素ガス分圧の変化

Table 2. Heart rate, blood pressure, and end-tidal CO_2 measurements during the rest and exercise conditions in young and older participant groups.

		Young group (n = 11)		Older group (n = 9)			
		Rest condition	Exercise condition	Rest condition	Exercise condition	*P*-values (LMM)	
Measurements	Time	EMM (95%CI)	EMM (95%CI)	EMM (95%CI)	EMM (95%CI)	Time*Condition	Time*Condition*Group
Heart rate (bpm)	Base	59 (53 to 65)	62 (56 to 68)	65 (58 to 71)	68 (61 to 76)	< 0.001	0.437
	Post1	56 (50 to 61)	75 (69 to 80)	63 (57 to 70)	77 (70 to 84)		
	Post2	54 (48 to 60)	64 (58 to 69)	62 (55 to 68)	68 (60 to 75)		
Systolic BP (mmHg)	Base	117 (111 to 122)	116 (110 to 121)	122 (115 to 128)	118 (111 to 125)	< 0.001	0.069
	Post1	117 (113 to 122)	120 (115 to 124)	123 (118 to 128)	114 (109 to 120)		
	Post2	113 (108 to 118)	110 (105 to 115)	119 (113 to 124)	113 (107 to 119)		
Diastolic BP (mmHg)	Base	68 (63 to 73)	71 (66 to 76)	75 (69 to 80)	71 (65 to 77)	0.055	0.722
	Post1	71 (67 to 75)	72 (68 to 76)	74 (70 to 79)	73 (68 to 78)		
	Post2	71 (67 to 75)	69 (65 to 73)	73 (68 to 77)	70 (65 to 75)		
End-tidal CO_2 (mmHg)	Base	38 (36 to 41)	39 (36 to 41)	37 (35 to 40)	39 (36 to 42)	0.303	0.705
	Post1	39 (37 to 41)	38 (36 to 41)	37 (35 to 40)	37 (35 to 40)		
	Post2	38 (36 to 40)	38 (36 to 41)	37 (35 to 39)	38 (35 to 40)		

Data are estimated marginal means (EMM) and 95% confidence intervals (CI) calculated from linear mixed model (LMM).

表３．安静条件および運動条件における脳脊髄液（CSF）循環と脳血流の変化

Table 3. Cerebrospinal fluid（CSF）and cerebral blood flow measurements during the rest and exercise conditions in young and older participant groups.

		Young group（n = 11）		Older group（n = 9）			
		Rest condition	Exercise condition	Rest condition	Exercise condition	*P*-values（LMM）	
Measurements	Time	EMM（95%CI）	EMM（95%CI）	EMM（95%CI）	EMM（95%CI）	Time*Condition	Time*Condition*Group
Aqueduct cerebrospinal fluid flow measurements							
Absolute FV（ml/beat）	Base	0.111（0.078 to 0.144）	0.109（0.076 to 0.142）	0.118（0.081 to 0.155）	0.141（0.1 to 0.183）	0.005	0.871
	Post1	0.133（0.099 to 0.166）	0.095（0.061 to 0.128）	0.130（0.093 to 0.167）	0.120（0.078 to 0.162）		
	Post2	0.124（0.091 to 0.158）	0.093（0.059 to 0.126）	0.130（0.093 to 0.167）	0.123（0.081 to 0.165）		
Forward FV（ml/beat）	Base	0.053（0.036 to 0.07）	0.050（0.033 to 0.067）	0.058（0.039 to 0.077）	0.071（0.05 to 0.093）	0.003	0.605
	Post1	0.064（0.046 to 0.081）	0.045（0.027 to 0.062）	0.063（0.044 to 0.083）	0.059（0.036 to 0.081）		
	Post2	0.057（0.039 to 0.075）	0.042（0.024 to 0.059）	0.063（0.044 to 0.083）	0.06（0.038 to 0.082）		
Backward FV（ml/beat）	Base	0.055（0.039 to 0.072）	0.055（0.039 to 0.072）	0.058（0.039 to 0.076）	0.070（0.049 to 0.091）	0.006	0.837
	Post1	0.065（0.048 to 0.083）	0.046（0.029 to 0.064）	0.061（0.042 to 0.08）	0.057（0.035 to 0.079）		
	Post2	0.061（0.044 to 0.079）	0.047（0.03 to 0.064）	0.064（0.046 to 0.083）	0.060（0.039 to 0.081）		
Regurgitant fraction（%）	Base	93.7（89.5 to 97.8）	86.9（82.7 to 91）	97.8（93.2 to 102.4）	94.9（89.7 to 100.1）	0.107	0.106
	Post1	91.3（86.9 to 95.7）	90.6（86.2 to 95）	94.6（89.7 to 99.5）	93.1（87.6 to 98.6）		
	Post2	89.8（85.4 to 94.2）	86.5（82.2 to 90.8）	95.3（90.6 to 100.1）	93.9（88.6 to 99.3）		
Cerebral blood flow measurements（ml/min）							
Internal carotid artery	Base	557（503 to 610）	566（513 to 619）	506（447 to 565）	505（438 to 572）	0.172	0.043
	Post1	586（535 to 638）	638（586 to 689）[a]	518（461 to 575）	510（445 to 575）[d]		
	Post2	532（479 to 586）	607（555 to 659）	505（447 to 563）	502（437 to 568）[d]		
Vertebral artery	Base	220（180 to 261）	202（162 to 243）	218（173 to 263）	232（181 to 282）	0.943	0.322
	Post1	209（176 to 243）	228（195 to 262）	221（184 to 258）	213（171 to 255）		
	Post2	245（187 to 303）	219（163 to 276）	217（155 to 279）	214（144 to 285）		
Internal jugular vein	Base	−640（−751 to −529）	−676（−786 to −565）	−536（−658 to −413）	−553（−692 to −414）	0.137	0.029
	Post1	−691（−798 to −583）	−701（−809 to −593）	−513（−634 to −393）[d]	−497（−633 to −362）[d]		
	Post2	−662（−767 to −556）	−656（−761 to −552）	−478（−593 to −362）[d]	−481（−612 to −350）[d]		
Superior sagittal sinus	Base	−378（−428 to −327）	−377（−428 to −327）	−346（−402 to −290）	−356（−420 to −293）	0.816	0.924
	Post1	−365（−422 to −308）	−347（−404 to −290）	−354（−417 to −291）	−361（−432 to −289）		
	Post2	−356（−403 to −309）	−368（−415 to −322）	−341（−393 to −290）	−359（−417 to −301）		
Straight sinus	Base	−108（−127 to −90）	−109（−127 to −91）	−89（−109 to −69）	−91（−114 to −68）	0.508	0.502
	Post1	−107（−144 to −71）	−143（−180 to −107）	−92（−132 to −52）	−95（−141 to −49）		
	Post2	−111（−129 to −92）	−114（−133 to −95）	−92（−112 to −71）	−94（−117 to −70）		

Data are estimated marginal means（EMM）and 95% confidence intervals（CI）calculated from linear mixed model（LMM）. [a]$P < 0.05$ vs Base within the same condition and group. [d]$P < 0.05$ vs Young group within the same condition and time. FV; flow volume per cardiac cycle.

表４．安静条件および運動条件におけるタスクスイッチング課題パフォーマンスの変化

Table 4. Task switching performance during the rest and exercise conditions in young and older participant groups.

		Young group（n = 11）		Older group（n = 9）			
		Rest condition	Exercise condition	Rest condition	Exercise condition	*P*-values（LMM）	
Measurements	Time	EMM（95%CI）	EMM（95%CI）	EMM（95%CI）	EMM（95%CI）	Time*Condition	Time*Condition*Group
Non-switch error rate（%）	Base	3.9（2.2 to 5.5）	2.4（0.7 to 4）	3.3（1.5 to 5）	2.4（0.3 to 4.5）	0.160	0.975
	Post1	2.3（1 to 3.7）	2.0（0.6 to 3.3）	2.1（0.7 to 3.4）	1.0（−0.6 to 2.7）		
	Post2	2.6（1.2 to 4）	2.4（1.1 to 3.8）	2.3（0.9 to 3.7）	1.9（0.2 to 3.6）		
Non-switch RT（ms）	Base	577（511 to 642）	586（520 to 651）	709（641 to 778）[d]	718（633 to 802）[d]	0.006	0.001
	Post1	539（477 to 601）	541（479 to 603）[a]	710（646 to 775）[d]	696（617 to 776）[d]		
	Post2	534（471 to 596）[a]	535（473 to 598）[a]	716（650 to 781）[d]	662（582 to 742）[a,d]		
Switch error rate（%）	Base	4.8（0.4 to 9.2）	4.5（0.1 to 8.9）	6.0（1.4 to 10.6）	4.6（−1.1 to 10.2）	0.615	0.655
	Post1	2.8（−0.7 to 6.3）	2.3（−1.2 to 5.8）	5.1（1.5 to 8.8）	5.6（1.2 to 10.1）		
	Post2	4.3（0.7 to 8）	3.0（−0.7 to 6.7）	5.9（2 to 9.7）	4.4（−0.3 to 9.1）		
Switch RT（ms）	Base	692（598 to 786）	709（615 to 803）	809（710 to 908）	803（682 to 924）	0.083	0.048
	Post1	644（556 to 731）	647（560 to 735）[a]	798（706 to 890）[d]	791（679 to 904）[d]		
	Post2	660（568 to 751）	646（554 to 738）[a]	792（695 to 888）	768（650 to 886）		
Switch cost error rate（%）	Base	0.9（−2.9 to 4.7）	2.1（−1.6 to 5.9）	2.7（−1.3 to 6.7）	2.2（−2.7 to 7.1）	0.612	0.397
	Post1	0.4（−2.8 to 3.6）	0.3（−2.9 to 3.4）	3.1（−0.2 to 6.3）	4.6（0.6 to 8.6）		
	Post2	1.8（−1.2 to 4.7）	0.6（−2.4 to 3.5）	3.6（0.5 to 6.7）	2.5（−1.3 to 6.3）		
Switch cost RT（ms）	Base	115（60 to 170）	123（68 to 179）	100（42 to 158）	85（14 to 157）	0.901	0.552
	Post1	104（54 to 155）	105（54 to 156）	88（35 to 141）	95（30 to 160）		
	Post2	125（73 to 178）	111（58 to 164）	76（21 to 131）	106（39 to 174）		

Data are estimated marginal means（EMM）and 95% confidence intervals（CI）calculated from linear mixed model（LMM）. [a]$P < 0.05$ vs Base within the same condition and group. [d]$P < 0.05$ vs Young group within the same condition and time. RT; reaction time.

IJV FR は、両条件の Post1と Post2において、若年者の同指標よりも有意に低い値を示した。VA、SSS、SRS の FR に対し有意な交互作用は示されなかった。

C．認知パフォーマンスへの影響

表 4 に認知パフォーマンスの結果を示す。Non-switch 条件と Switch 条件の RT に有意な交互作用がみられた。Non-switch 条件では、運動後 Post1と Post2において、若年者の RT が有意に短くなり、中高齢者では運動後 Post2で RT が有意に短くなった。若年者に比べ中高齢者の RT は有意に長かった。Switch 条件では、若年者において運動後 Post1と Post2の RT が有意に短かった。Switch 条件と Non-switch 条件の正答率と RT の差（cost）に有意な交互作用はみられなかった。また、認知パフォーマンスと循環指標の間に有意な相関関係は示されなかった。

考　　察

本研究の主な結果は次のとおりである。1）CSF 循環、特に頭側・尾側方向における流量とそれらの絶対値の和（Absolute FV）は安静後に増加し、運動後には低下することが示された。更に、安静後および運動後における心拍数の変動は CSF 流量と強い負の相関関係を示した。2）若年者における内頚動脈の流量は運動後に増加するが、中高齢者では同様の変化が生じなかった。3）実行機能課題中の反応時間は運動後に両年齢群で改善することが示された。総じて本実験の結果により、若年者および中高齢者の CSF 循環ならびに脳血流は中強度有酸素運動後に有意に変動し認知パフォーマンスは改善することが示された。

本実験は、ヒトの CSF 循環を有酸素運動の前後に計測した初めての研究である。CSF は神経細胞から排出される老廃物の除去に重要な役割を果たし、その機能低下は認知症発症リスクと関係することが示唆されている[6]。一方、習慣的な有酸素運動の実践は、認知症発症リスクの低下と関連するが、その背景にある生理的メカニズムは明らかにされていない。これらの背景を踏まえ、我々は、一過性の有酸素運動が CSF 循環を亢進し、脳老廃物除去機能を高めるという仮説を立てた。しかし、実際の結果はこの仮説に反し、CSF 循環は安静後に増加、運動後には低下し、更に、運動後における心拍数と CSF 流量の変化の間には強い負の相関関係があることが示された。したがって、この結果は、CSF 循環を介した脳老廃物除去機能は、運動後ではなく、安静後に高まることが示唆された。

本実験の結果は、我々の先行研究、ならびに実験動物を対象とした基礎生理学研究の結果により説明することができる。まず、若年健常者を対象に中強度ハンドグリップ運動中に CSF 循環を測定した我々の先行研究においても、CSF 流量は運動中に低下し、更に、心拍数の変化と負の相関を示した[3]。また動物実験からは、運動中の交感神経活動の賦活[8] やノルアドレナリン投与[9] が CSF 循環を低下させ脳老廃物除去機能を低下することが示されている。その一方で、交感神経活動が減弱する睡眠中は、CSF 循環を亢進し除去機能が高まることが示されている[9]。したがって、CSF 循環ならびに CSF 循環を介した脳老廃物除去機能は、運動や睡眠、すなわち生理的・心理的な覚醒度から影響を受け、その機序には交感神経活動が関与していると考えられる。

若年者の ICA 流量は、運動後 Post1で一時的に上昇し、Post2ではベースラインの値に戻っていた。その一方で、運動後の VA、IJV、SSS、SRS 流量には有意な変化がみられなかった。Arterial Spin Labeling MRI 法により脳血流を測定した先行研究では、有酸素運動後に脳全体の血流が上昇することが示されており、この結果は我々の知見と一致している[5]。一方、超音波ドップラーを使用し、有酸素運動中とその回復時間中（3 分間）に脳血流を測った研究では、ICA と VA の流量は運動直後に低下することが示されている[4]。しかし「なぜ ICA（前方脳循環）と VA（後方脳循環）、動脈と静脈、若年者と中高齢者では運動後の脳血流の応答が異なるのか？」は今後更なる検討が必要である。

本実験では、若年者および中高齢者において、運動後 Post1もしくは Post2においてタスクスイッチング課題の RT が短くなる傾向が示された。この知見はフランカー課題を使用し、RT が運動後

に短くなり、その一方で、正答率には影響を及ぼさないことを示した先行研究の結果と類似している[1)]。更にメタ解析によると、中強度有酸素運動は実行機能課題の時間依存性指標を改善し、その効果は特に高齢者で大きいことが報告されており[2)]、これらの先行研究の結果は我々の実験結果と一致している。

本研究にはいくつかの限界点がある。まず被験者サンプルが小さいため、効果量の小さい指標においては、その影響を検出しきれていない可能性が考えられる。次に、本研究で観察された運動の急性的な影響が、トレーニングによる慢性的効果へつながるかは不明である。急性的 vs 慢性的な運動の効果は生理学的に異なるメカニズムによって説明される可能性があり、今後の研究ではトレーニング中の経時的変化を検証する必要がある。

総　　括

本研究により、単回の中強度有酸素運動は、若年者および中高齢者の CSF 循環を急性的に変化させることが初めて明らかとなった。また運動後は、実行機能課題の反応時間が改善し、脳血流に対しても影響を及ぼすことが明らかとなった。これらの結果は、運動と脳機能の関連の解明、更には、運動療法による加齢性脳疾患の発症予防に向け重要な生理学的エビデンスとなりえる。

謝　　辞

本研究課題に対して、多大な助成を賜りました公益財団法人明治安田厚生事業団に深く感謝申し上げます。

参 考 文 献

1）Kamijo K, et al.（2009）: Acute effects of aerobic exercise on cognitive function in older adults. J Gerontol B Psychol Sci Soc Sci, **64**, 356-363.
2）Ludyga S, et al.（2016）: Acute effects of moderate aerobic exercise on specific aspects of executive function in different age and fitness groups: a meta-analysis. Psychophysiology, **53**, 1611-1626.
3）Nedergaard M, et al.（2020）: Glymphatic failure as a final common pathway to dementia. Science, **370**, 50-56.
4）Sato K, et al.（2010）: Different blood flow responses to dynamic exercise between internal carotid and vertebral arteries in women. J Appl Physiol, **109**, 864-869.
5）Smith JC, et al.（2010）: Detecting changes in human cerebral blood flow after acute exercise using arterial spin labeling: implications for fMRI. J Neurosci Methods, **191**, 258-262.
6）Tarasoff-Conway JM, et al.（2015）: Clearance systems in the brain-implications for Alzheimer disease. Nat Rev Neurol, **11**, 457-470.
7）Tarumi T, et al.（2021）: Brain blood and cerebrospinal fluid flow dynamics during rhythmic handgrip exercise in young healthy men and women. J Physiol, **599**, 1799-1813.
8）von Holstein-Rathlou S, et al.（2018）: Voluntary running enhances glymphatic influx in awake behaving, young mice. Neurosci Lett, **662**, 253-258.
9）Xie L, et al.（2013）: Sleep drives metabolite clearance from the adult brain. Science, **342**, 373-377.
10）Zhu Z, et al.（2015）: Reduced frontal cortex efficiency is associated with lower white matter integrity in aging. Cereb Cortex, **25**, 138-146.

第 37 回若手研究者のための健康科学研究助成成果報告書
2020 年度 *pp*.60～64（2023.7）

軽度認知障害の運動介入による改善メカニズムの解明
―脳内 Exosome 解析を切り口とした新たなアプローチ―

山　下　琢　矢*　　長　野　一　也*

ELUCIDATION OF THE MECHANISMS OF IMPROVEMENT OF MILD COGNITIVE IMPAIRMENT BY EXERCISE INTERVENTION

Takuya Yamashita and Kazuya Nagano

Key words: exosome, extracellular vesicles, senescence, SASP, PC12.

緒　　言

現在、認知症の予備群である軽度認知障害（mild cognitive impairment; MCI）への積極的な運動介入が実施され、一部の患者で改善効果が認められている[2)]。これは運動によって、脳内血流量が増加することで、神経新生が亢進することや神経炎症が抑制されることが大きな要因と考えられている。しかしながら、その詳細な分子メカニズムは、いまだ明らかになっていない。

MCI の発症には複合的な要因が絡んでいると考えられるが、特に MCI 患者のほとんどは高齢者であることから、体内に蓄積した老化神経細胞の関与は疑う余地がない。老化細胞は生体内で「細胞老化」を起こして不可逆的に細胞増殖を停止した細胞であり、さまざまな炎症性タンパク質を分泌することが知られている。このような細胞老化の表現型は SASP（senescence-associated secretory phenotype）と呼ばれ、老化細胞から分泌された SASP 因子は周囲の組織に慢性的な炎症を引き起こすことから、あらゆる加齢性疾患の要因となっていることが示唆されている[9)]。運動介入による MCI の改善メカニズムを詳細に解析するためには、この SASP 因子を考慮した神経細胞老化と運動量/筋肉量の連関性を評価する必要があるものの、血液脳関門の存在が障壁となり、基礎研究が進んでいない。そこで我々は、この点を打破できる強力なツールとして、Exosome に注目した。

Exosome は細胞間コミュニケーションを担う分子輸送担体として、体内のあらゆる場所に存在し、血液脳関門をも透過することができる[4,5)]。更に普段の生命活動のみならず、がんやアルツハイマー病など疾患の発症・悪化を制御する[3,6)]。特に最近、老化細胞から分泌された Exosome がレシピエント細胞のテロメア調節に寄与していることが示唆されるなど、Exosome が細胞老化の伝播についても、極めて重要な働きをすることが明らかになりつつある[10)]。そこで、本研究では神経細胞－骨格筋芽細胞の MCI に関する情報伝達メカニズム解析を目的に、強制的に老化させた L6ラット骨格筋芽細胞由来の Exosome が PC12ラット神経細胞モデルに及ぼす影響と Exosome の構成分子を分

* 和歌山県立医科大学薬学部病態解析学研究室　Department of Pathological and Health Science, School of Pharmaceutical Sciences, Wakayama Medical University, Wakayama, Japan.

析した。

方　　法

A．TGF-β（transforming growth factor β）を活用した老化骨格筋芽細胞モデルの作成

L6ラット骨格筋芽細胞はあらかじめ Exosome を除去した10％ウシ胎児血清を含有した Dulbecco's modified Eagle's medium（L6培養液）で継代培養した。2 ng/ml の TGF-β を含む L6培養液で L6を72時間培養し、細胞増殖抑制作用が確認できたものを老化骨格筋芽細胞モデル（老化 L6）とした。

B．老化 L6由来 Exosome の精製と基礎物性評価

老化 L6の培養上清を3000 × g で15分間遠心分離してデブリスを除去した後、ポリマー沈殿法で汎用される ExoQuick-TC を添加し 4 ℃で12時間静置した。更に1500 × g で30分間遠心分離して Exosome のペレットを回収した。そして、精製した各 Exosome のタンパク質量を micro BCA 法により定量比較した。更に、各 Exosome の粒子径とゼータ電位をゼータサイザーにて解析し、比較評価した。

C．老化 L6由来 Exosome が PC12ラット神経細胞モデルの神経突起伸長に及ぼす影響

コラーゲン処理した培養 dish に PC12を 5×10^4 cells/well で播種し、24時間後に nerve growth factor（NGF）を含有した分化用 medium へ置換した。更に、同時に老化 L6由来 Exosome（SASP-Exo）、ならびに通常の L6由来 Exosome（L6-Exo）を添加し、24時間培養した。神経突起の長さは Motic analyzer により計測した。

D．各種 Exosome を作用させた PC12に含まれる脂肪酸分子種の LC-MS/MS 比較解析

Exosome 溶液に10 mM 酢酸アンモニウム溶液とメタノール・クロロホルム溶液（メタノール：クロロホルム = 1 : 2（v/v））を 1 ml ずつ等量加えて、ボルテックスミキサーで撹拌した。その後、3000 × g で30分間遠心分離し、水層とクロロホルム層の分離を確認して、クロロホルム層を回収した。更に、水層も除去し、残ったペレットに10 mM 酢酸アンモニウム溶液とメタノール・クロロホルム溶液（メタノール：クロロホルム = 1 : 2（v/v））を再度、1 ml ずつ等量加えて、上述の抽出操作を繰り返した。すべてのクロロホルム層を試験管にまとめて、窒素乾固し、メタノールで再溶解した後、10000 × g で15分間遠心分離した上清を LC-MS/MS サンプルとした。LC-MS/MS は ABSCIEX 社製 QTRAP5500システムを用いた。プレカラムは大阪ソーダ社製 CAPCELL PAK C18UG120 ガードカットリッジ（2.0 mm I.D. × 10 mm）、分析カラムは同社の CAPCELL PAK C18UG120（2.0 mm I.D. × 150 mm）を使用した。解析対象とした脂肪酸分子種は C16:0/C18:0/C18:1/C18:2/C20:4/C20:5/C22:6の 7 種とし、それぞれ MRM モード（ESI ネガティブ）で解析した。その他、LC グラジエントや MRM トランジションなど詳細な分析条件は筆者らがこれまで報告してきた論文に準拠した[1)]。

E．統計解析

図 2 B に示す PC12の神経突起長の比較評価において、NGF+ 群と他群（NGF-, NGF+/SASP-Exo, NGF+/SASP-Exo/L6-Exo）の有意差は Dunnett's test により多重検定した。また、図 4 に示す PC12の遊離脂肪酸分子種プロファイル解析においても、NGF+/SASP-Exo 群と他群（NGF-, NGF+, NGF+/SASP-Exo/L6-Exo）の有意差は Dunnett's test により多重検定した。

結　　果

A．SASP-Exo と L6-Exo の基礎物性解析

精製した Exosome がこれまでに報告のある性状を維持していることを確認するために、SASP-Exo と L6-Exo の粒子径とゼータ電位を測定した（図 1 ）。その結果、100〜300 nm の粒子径であり、

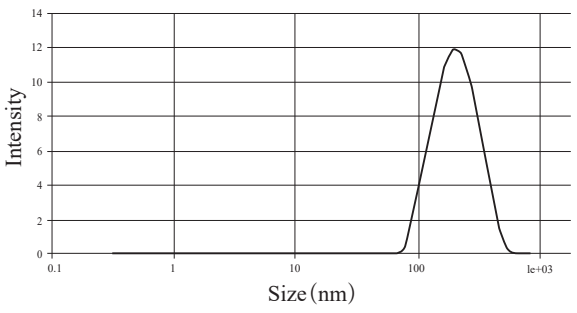


図 1．SASP-Exo の粒子径
Fig.1.　Particle size of SASP-Exo.

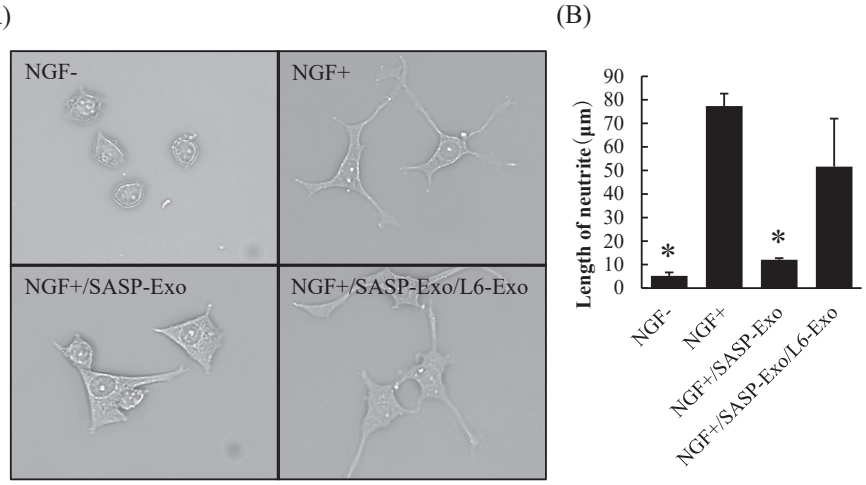


図 2．SASP-Exo と L6-Exo による PC12神経突起伸長への影響

Fig.2. Effects of SASP-Exo/L6-Exo on NGF induced neurite outgrouth of PC12 cells.

（A）PC12 cells treated with 50 ng/ml NGF together with SASP-Exo/L6-Exo.（B）The length of neurite extending from the cell was measured with Motic images plus.

Data are shown as means and standard deviations（n = 3）. Differences between the NGF+ and target groups were compared using Dunnett's test. $*P < 0.05$（NGF+ vs NGF+/SASP-Exo）.

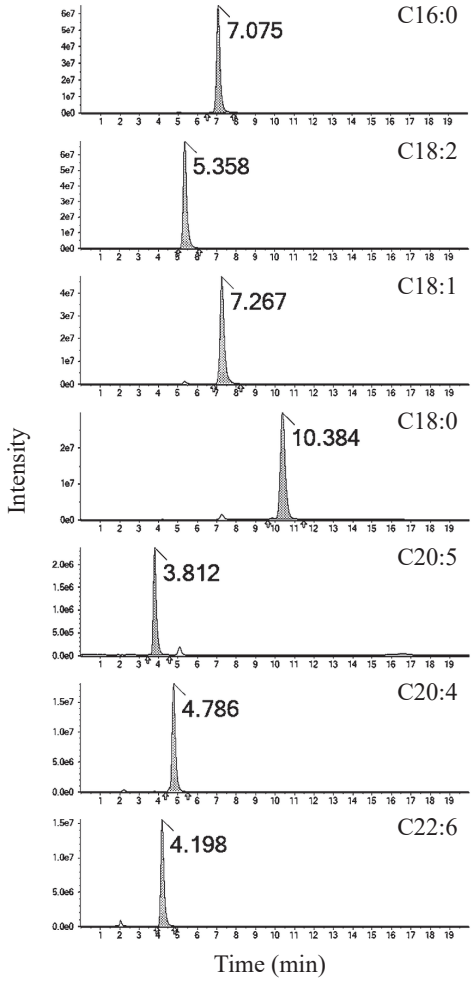


図 3．PC12の遊離脂肪酸 MRM クロマトグラム

Fig.3. MRM chromatogram of free fatty acids in PC12 cells.

ゼータ電位は負電荷であった。

B．SASP-Exo が PC12ラット神経細胞モデルの神経突起伸長に及ぼす影響

老化した骨格筋芽細胞の細胞内情報を搭載した Exosome が、神経分化へどのような影響を及ぼすか明らかにする目的で、分化誘導時に SASP-Exo のみを添加した NGF+/SASP-Exo 群、SASP-Exo と L6-Exo を共添加した NGF+/SASP-Exo/L6-Exo 群における PC12の神経突起伸長距離を比較評価した（図 2）。その結果、NGF+/SASP-Exo 群は NGF 添加で誘導される神経突起伸長を著しく阻害すること（Dunnett's test : $P < 0.05$）が明らかになった。一方、NGF+/SASP-Exo/L6-Exo 群はこの神経突起伸長を阻害しなかった（Dunnett's test : $P > 0.05$）。

C．各種 Exosome を作用させた PC12に含まれる脂肪酸分子種プロファイルの解析

遊離脂肪酸は多くの細胞シグナルを惹起するアゴニストになり、生体応答に大きな影響を与える。そこで、本検討では SASP-Exo が誘導した PC12の神経分化阻害作用はどのようなメカニズムで引き起こされたのかを推定するための基礎情報収集を目的に、各種 Exosome を作用させた PC12に含まれる脂肪酸分子種プロファイルを LC-MS/MS により同定・解析した。その結果、良好な MRM クロマトグラムが得られ、精度高く分析すること

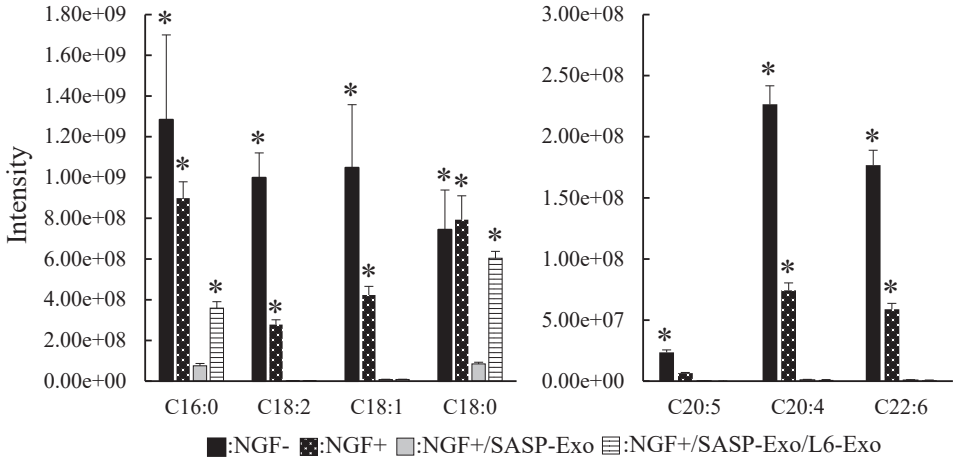


図４．SASP-Exo と L6-Exo を作用させた PC12の遊離脂肪酸分子種プロファイル
Fig.4. Free fatty acid profile of PC12 cells treated SASP-Exo and L6-Exo.
Free fatty acids extracted from exosomes were analyzed by LC-MS/MS.
Data are shown as means and standard deviations（n = 3）. Differences between the NGF+/SASP-Exo and target groups were compared using Dunnett's test. *$P < 0.05$（NGF+/SASP-Exo vs NGF-, NGF+/SASP-Exo vs NGF+, NGF+/SASP-Exo vs NGF+/SASP-Exo/L6-Exo）.

ができた（図３）。

更に、各種脂肪酸分子種の存在比率を比較解析した結果を図４に示す。SASP-Exo を作用させた PC12ではすべての脂肪酸種の存在量が減少していた（Dunnett's test : $P < 0.05$）。一方で、SASP-Exo と L6-Exo を同時に作用させた PC12では C16: 0 と C18: 0 量の回復が認められた（Dunnett's test : $P < 0.05$）。

考　　察

かつては、成体の脳で神経細胞は再生しないとされてきた。しかし、ヒトの成体脳でも神経幹細胞による神経新生が確認され、現在は、脳に何らかの損傷が起こったときの代償機構として神経新生機構が存在していると考えられている[8]。更に、アルツハイマー病やパーキンソン病等の神経変性疾患、もしくはうつ病や統合失調症等の精神疾患では、神経幹細胞の機能や神経新生が低下していることが報告され、これらの疾患の病態への関与が示唆されている[7]。それゆえ、神経変性疾患や精神疾患における神経新生障害が新たな治療標的として注目されている。

本検討では、老化した骨格筋芽細胞由来の Exosome が神経細胞の突起伸長を阻害することを明らかにした。特に、老化していない骨格筋芽細胞由来の Exosome を共添加することで、この作用が認められなかったことから、神経新生障害に骨格筋芽細胞由来の Exosome が大きく関与していることが示唆された。これまで、骨格筋由来の Exosome は神経新生の促進を誘導するという知見は散見されていたが、その骨格筋芽細胞が老化することで、神経新生に対する Exosome が真逆になるという報告例は皆無である。更に、我々は上記の作用が神経細胞内の遊離脂肪酸量の増減を伴って起こることを示し、特に老化していない骨格筋芽細胞の Exosome は主要な飽和脂肪酸である C16: 0 と C18: 0 量を回復させることが判明した。C16: 0 と C18: 0 は脳内の最も主要な構成脂肪酸であり、細胞膜構成成分として、細胞増殖時に必須である。特に今回は *in vitro* で24時間という短時間作用における脂肪酸種変動しか追えていないため、不飽和脂肪酸の変動をとらえきれなかった可能性がある。ただ、少なくとも多くの脂肪酸種が変動したということは骨格筋芽細胞由来の Exosome が脂肪酸合成酵素をはじめとした脂質関連酵素群の発現を調節したことが推察される。本検討では今後、これらの酵素群の変動実態を明らかにし、本メカニズムの解明につなげたい。

『第36回若手研究者のための健康科学研究助成成果報告書』pp.21～26においても川西範明博士らが、レジスタンス運動は神経細胞の増殖に関連する microRNA の循環 Exosome 内の発現量を増

加させることを報告し、運動トレーニングによるうつ病の予防あるいは改善に循環 Exosome が重要な役割を担う可能性が示されたことを考慮すると、骨格筋由来 Exosome が MCI の原因となる脳内の軽微な神経損傷を修復する指令を神経細胞に伝達し、その結果、神経新生を伴って、脳機能を改善している可能性が考えられる。将来的に骨格筋由来 Exosome がどのようなシグナルをどこに、どれだけ伝えたのかを詳細に明らかにすることができれば、MCI のみならず、アルツハイマー型認知症を含めた神経脱落が関連する神経変性疾患や神経疾患の画期的な治療法開発につながることが期待できる。

総　　括

本研究により、老化した骨格筋芽細胞由来の Exosome は神経細胞分化を抑制し、その神経細胞内のすべての脂肪酸種を減少させることが明らかになった。更に、老化していない骨格筋芽細胞由来の Exosome はその神経細胞分化抑制を解消し、一部の脂肪酸種量を回復させた。したがって、MCI の発症・改善には、骨格筋芽細胞由来の Exosome が一部関与し、更に、その老化状態が影響する可能性が示された。

謝　　辞

本研究は、公益財団法人明治安田厚生事業団による第 37 回若手研究者のための健康科学研究助成のご支援を賜り実施いたしました。関係者の皆様に厚く御礼申し上げます。

参 考 文 献

1）Aizawa F, et al.（2019）: N-3 fatty acids modulate repeated stress-evoked pain chronicity. Brain Res, **1714**, 218-226.
2）Erickson KI, et al.（2011）: Exercise training increases size of hippocampus and improves memory. Proc Natl Acad Sci U S A, **108**（7）, 3017-3022.
3）Hood JL, et al.（2009）: Paracrine induction of endothelium by tumor exosomes. Lab Invest, **89**（11）, 1317-1328.
4）McDonald MK, et al.（2014）: Functional significance of macrophage-derived exosomes in inflammation and pain. Pain, **155**（8）, 1527-1539.
5）Mustapic M, et al.（2017）: Plasma extracellular vesicles enriched for neuronal origin: a potential window into brain pathologic processes. Front Neurosci, **11**, 278.
6）Rajendran L, et al.（2006）: Alzheimer's disease β-amyloid peptides are released in association with exosomes. Proc Natl Acad Sci U S A, **103**（30）, 11172-11177.
7）Reif A, et al.（2006）: Neural stem cell proliferation is decreased in schizophrenia, but not in depression. Mol Psychiatry, **11**（5）, 514-522.
8）Richards LJ, et al.（1992）: De novo generation of neuronal cells from the adult mouse brain. Proc Natl Acad Sci USA, **89**（18）, 8591- 8595.
9）Rodier F, et al.（2011）: Four faces of cellular senescence. J Cell Biol, **192**（4）, 547-556.
10）Wang Z, et al.（2016）: The crosstalk of telomere dysfunction and inflammation through cell-free TERRA containing exosomes. RNA Biol, **13**（8）, 690-695.

第 37 回若手研究者のための健康科学研究助成成果報告書
2020 年度 *pp*.65〜69（2023.7）

地域在住フレイル高齢者における社会参加と要介護認定、死亡との関連―6 年間の縦断研究―

阿部紀之[*,**]　井手一茂[*,***]　渡邉良太[*,****,*****]
林　尊弘[******]　飯塚玄明[*,**,*******]　近藤克則[*,********]

SOCIAL PARTICIPATION AND INCIDENT DISABILITY AND MORTALITY AMONG FRAIL OLDER ADULTS: A JAGES LONGITUDINAL STUDY

Noriyuki Abe, Kazushige Ide, Ryota Watanabe, Takahiro Hayashi, Genmei Iizuka, and Katsunori Kondo

Key words: frailty, social participation, long-term care, mortality.

緒　言

フレイルは、健康な状態と機能障害や能力低下などの要介護状態の中間に位置しており、将来的な要介護認定[8] だけでなく死亡[7] のリスク因子であり、フレイル状態から要介護認定や死亡などの負の健康アウトカムへの進行を予防することは公衆衛生上、重要な課題である。

地域在住の高齢者において、社会参加をしている者は要介護認定[6] や死亡[4] のリスクが低いことが明らかになっている。しかし、先行研究では主に地域住民を対象としており、必ずしもフレイル状態である者が含まれている必要はない。特にフレイル高齢者が社会参加をするうえで、物理的環境を含む建造環境の影響を受けることが明らかになっているが[2]、先行研究では物理的環境を含めた大規模データによる検証は行われていない。

本研究では、先行研究で考慮されていなかった物理的環境から生じる交絡を制御するために、大規模縦断データを用いて、さまざまな社会参加と要介護認定および死亡率の関連を検討した。

方　法

A．研究デザインと使用データ

本研究は日本老年学的評価研究機構（Japan Gerontological Evaluation Study; JAGES）の縦断コホートデータを使用した 6 年間の縦断研究である。参加者は13市町村に住む要介護認定を受けていな

*　千葉大学予防医学センター社会予防医学研究部門　Department of Social Preventive Medical Sciences, Center for Preventive Medical Sciences, Chiba University, Chiba, Japan.
**　千葉大学大学院先進予防医学共同専攻　Department of Public Health, Graduate School of Medicine, Chiba University, Chiba, Japan.
***　長谷川病院地域包括支援課　Department of Community General Support, Hasegawa Hospital, Chiba, Japan.
****　日本福祉大学健康社会研究センター　Center for Well-being and Society, Nihon Fukushi University, Nagoya, Japan.
*****　国立長寿医療研究センター老年学・社会科学研究センターフレイル研究部　Department of Frailty Research, Research Institute, Center for Gerontology and Social Science, National Center for Geriatrics and Gerontology, Aichi, Japan.
******　星城大学リハビリテーション学部　Department of Rehabilitation and Care, Seijoh University, Aichi, Japan.
*******　聖母病院総合診療専門研修プログラム　Seibo International Catholic Hospital Family Medicine Residency, Tokyo, Japan.
********　国立長寿医療研究センター老年学・社会科学研究センター老年学評価研究部門　Department of Geriatric Evaluation, Center for Gerontology and Social Science, Research Institute, National Center for Geriatrics and Gerontology, Aichi, Japan.

い65歳以上の高齢者95827人であり、最長 6 年間の追跡が可能であったフレイル高齢者9090人（女性5012人）を分析対象とした。なお、フレイルの判定には基本チェックリスト[5] を用いた。

B．測定項目

目的変数は追跡期間中の要介護認定（要介護 2 以上）または死亡とした。説明変数は社会参加とした。社会参加は先行研究[3] に基づき、ベースライン時点で趣味、スポーツ、ボランティア、業界団体、老人クラブ、町内会、有償労働の 7 種類いずれかのグループに年数回以上参加している者を「参加あり」と操作的に定義した。

共変量は、ベースライン調査から人口統計学的要因、健康状態、社会環境、物理的環境からなる各要因を使用した（表 1 ）。

C．統計学的分析

まず、ベースライン特性を特徴づけるために記述的分析を行った。次に、死亡をアウトカムとした分析では Cox 比例ハザードモデルを用いた生存時間分析を行い、6 年間の死亡ハザード比

表 1．ベースライン時点（n = 9090）における対象者の基本属性
Table 1. Basic characteristics of participants at the baseline survey（n = 9090）.

Baseline characteristics	n（%）	Baseline characteristics	n（%）
Age（years）		Stroke	164（ 2.1）
65–69	1747（19.2）	Diabetes	1380（17.6）
70–74	2264（24.9）	Cancer	558（ 7.1）
75–79	2300（25.3）	Respiratory disease	557（ 7.1）
80–84	1749（19.2）	Arthritis	1756（22.5）
≥ 85	1030（11.3）	Social support, available	
Sex, women	5012（55.1）	Emotional support	8011（90.3）
Annual equivalent income（million yen）		Instrumental support	8255（92.4）
Low（< 2.0）	4252（46.8）	Frequency of meeting friends	
Middle（2.0–3.9）	2493（27.4）	Almost daily	767（ 8.7）
High（≥ 4.0）	2345（25.8）	2–3 times/week	1562（17.8）
Educational attainment（years）		About once/week	1378（15.7）
Low（< 10）	5131（57.6）	1–2 times/month	1863（21.3）
Middle（10–12）	2653（29.8）	A few times a year or less	3197（36.5）
High（≥ 13）	1126（12.6）	Parks or foot paths suitable for exercise or walking	
Marital status, single	3078（34.6）	Exists	5705（63.9）
Living arrangement, living alone	1287（14.4）	Does not exist	2795（31.3）
Current alcohol drinking		Unknown	435（ 4.9）
Current	2501（28.0）	Shops or facilities that sell fresh fruits and vegetables	
Past	470（ 5.3）	Exists	6034（67.5）
Never	5976（66.8）	Does not exist	2725（30.5）
Current smoking		Unknown	185（ 2.1）
Current	1073（12.6）	Houses or facilities you can easily visit	
Past	2495（29.2）	Exists	2603（29.1）
Never	4972（58.2）	Does not exist	5402（60.5）
Self-rated health, not good	3814（42.4）	Unknown	925（10.4）
Body mass index		Locations that make walking difficult, such as hills or steps	
Low（< 18.5）	1100（12.1）	Exists	3672（41.0）
Middle（18.5–24.9）	5899（64.9）	Does not exist	4930（55.1）
High（≥ 25）	2091（23.0）	Unknown	351（ 3.9）
IADL disability, yes	5358（59.4）	Roads or crossroads with a great risk of traffic accidents	
Chronic diseases		Exists	6170（69.0）
Hypertension	3928（50.2）	Does not exist	2402（26.9）
Heart disease	1539（19.7）	Unknown	365（ 4.1）

（hazard ratio; HR）および95％信頼区間（confidence interval; CI）を算出した。また、要介護認定をアウトカムとした分析では競合リスクモデルを用いた生存時間分析を行い、死亡を競合リスクとして考慮したFine and Grayモデルを使用した。

各社会参加は3カテゴリに分類した。例えば趣味のグループの場合、いずれのグループにも参加していない者（参照カテゴリ）、趣味のグループに参加している者、趣味のグループには参加しないが他の地域活動に参加している者を評価した。また、多重比較を考慮し、ボンフェローニ補正を用いた。欠損データに対しては潜在的なバイアスに対処するため、多重代入法による欠測値補完を行った。すべての分析は、STATA MP 16.1（Stata Corp, College Station, TX, USA）を用いて行った。本研究は千葉大学（承認番号：2493）、国立長寿医療研究センター（承認番号：992）、日本福祉大学（承認番号：10-05）の倫理審査委員会の承認を得て実施した。

結　　果

A．記述的分析の結果

女性の割合は55.1％で、平均年齢（標準偏差）は76.0（6.6）歳であった。要介護認定と死亡の平均追跡期間（最大）は、それぞれ5.0（6.4）年と5.4（6.6）年であった。参加者のうち、死亡は1770人（19.5％）に、要介護認定は1753人（19.3％）に発生した。参加者の約半数は低所得・低学歴層であった。物理的環境については、「公園や歩道が運動や歩行に適している」「新鮮な野菜や果物を売っている店や施設がある」「交通事故の危険が大きい道路や十字路がある」という回答が約半数を占めた。

図1は、各社会組織の参加比率を示したものである。最も参加比率が高いのは町内会（28.7％）であった。次いで趣味（25.8％）、老人クラブ（19.7％）、有償労働（17.0％）、スポーツ（11.5％）、業界団体（9.5％）、ボランティア（7.3％）であった。

B．社会参加と要介護認定および死亡との関連

社会参加と要介護認定および死亡の発生との関連性を示した（表2）。どのグループにも参加していない場合と比較して、趣味（HR = 0.74, 95％ CI = 0.61-0.90）、スポーツ（HR = 0.72, 95％ CI = 0.58-0.88）への参加は要介護認定発生と有意な負の関連を認めた。更に、趣味（HR = 0.68, 95％ CI = 0.56-0.83）、スポーツ（HR = 0.71, 95％ CI = 0.57-0.88）、老人クラブ（HR = 0.75, 95％ CI = 0.61-0.90）、ボランティア（HR = 0.69, 95％ CI = 0.54-0.88）も死亡発生と有意な負の関連を認めた。

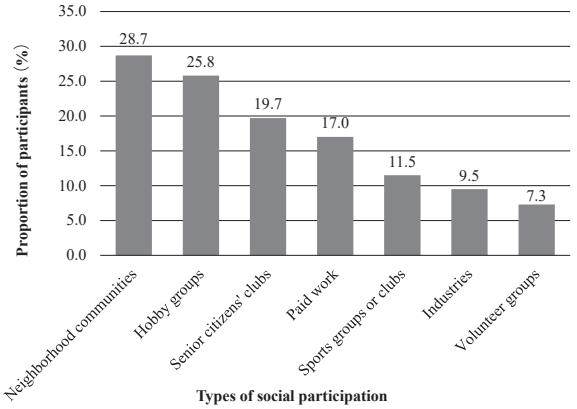


図1．社会参加種類ごとの参加者割合
（年数回以上の参加）

Fig.1. Bar graph showing the proportions of participants who participate in each organization as a few times a year or more.

考　　察

本研究の結果から、フレイル高齢者において、社会参加をしていない者と比べて、社会参加をすることが将来的な要介護認定や死亡の発生リスクと有意な負の関連があることを見いだした。地域活動や他者とのつながりが外出を促し、それが日常生活機能の維持につながる可能性が示唆された。

フレイル高齢者は健康な高齢者と比較して医療費が増加することが示されているが[1]、急速に進む高齢化社会のニーズに応えるため、健康状態で切り分けずに幅広く高齢者に対し平等な社会参加を奨励し、社会参加の機会を定期的に提供する必要がある。これは、フレイルから要介護認定や死亡への更なる進行を防ぐとともに、社会保障費の最適化に役立つと考えられる。

総　　括

社会参加による要介護認定および死亡の発生リスクの低下は、健康な高齢者だけでなく、フレイ

表 2．Cox 比例ハザードモデルによる要介護認定および死亡と社会参加の関連
Table 2. Hazard ratios and 95% confidence intervals of Cox regression analysis for the risks of incident disability and mortality.

Types of social participation	Category[a]	HR[b]（95% CI）Disability	HR[b]（95% CI）Mortality
Hobby groups	Participation	0.74***（0.61, 0.90）	0.68***（0.56, 0.83）
	Another groups or clubs	0.91（0.77, 1.08）	0.85（0.71, 1.01）
Sports groups or clubs	Participation	0.72***（0.58, 0.88）	0.71***（0.57, 0.88）
	Another groups or clubs	0.89（0.75, 1.06）	0.82*（0.68, 0.98）
Industries	Participation	0.84（0.67, 1.06）	0.74**（0.59, 0.93）
	Another groups or clubs	0.87（0.73, 1.03）	0.81*（0.68, 0.97）
Senior citizens' clubs	Participation	0.83*（0.69, 0.99）	0.75***（0.61, 0.90）
	Another groups or clubs	0.88（0.74, 1.05）	0.83*（0.69, 1.00）
Neighborhood communities	Participation	0.83（0.68, 1.00）	0.77**（0.63, 0.93）
	Another groups or clubs	0.88（0.74, 1.04）	0.81*（0.68, 0.97）
Volunteer groups	Participation	0.79*（0.63, 0.99）	0.69***（0.54, 0.88）
	Another groups or clubs	0.87（0.74, 1.03）	0.81*（0.68, 0.97）
Paid work	Participation	0.88（0.74, 1.04）	0.79**（0.66, 0.94）
	Another groups or clubs	0.81*（0.65, 1.00）	0.81（0.68, 1.08）

[a] Reference non participation.
[b] All models adjusted for age, sex, income, education, marital status, living arrangement, alcohol, smoking, self-rated health, body mass index, instrumental activity of daily living, chronic diseases, social support, frequency of meeting friends, and existence of parks, shops, houses, locations that make walking difficult, and roads.
* $P < 0.05$ before Bonferroni correction; ** $P < 0.01$ before Bonferroni correction; *** $P < 0.05$ after Bonferroni correction（the P-value cutoff for Bonferroni correction is $P = 0.05/7$ outcomes $= P < 0.0071$）.

ル高齢者にも起こることが示唆された。健康な高齢者とフレイル高齢者の両方にとって、社会参加は将来の障害と死亡を予防するための健康政策において重要である。

謝　　辞

本研究に対して助成を賜りました公益財団法人明治安田厚生事業団に御礼申し上げます。また、本研究にご参加いただいた地域住民の皆様方に心より感謝申し上げます。

参 考 文 献

1）Chi J, et al.（2021）: Impacts of frailty on health care costs among community-dwelling older adults: a meta-analysis of cohort studies. Arch Gerontol Geriatr, **94**, 104344.
2）Duppen D, et al.（2020）: Social participation in the daily lives of frail older adults: types of participation and influencing factors. J Gerontol B Psychol Sci Soc Sci, **75**, 2062-2071.
3）Ide K, et al.（2020）: Social participation and functional decline: a comparative study of rural and urban older people, using Japan gerontological evaluation study

longitudinal data. Int J Environ Res Public Health, **17**, 617.
4）Okura M, et al.（2018）: Community activities predict disability and mortality in community-dwelling older adults. Geriatr Gerontol Int, **18**, 1114-1124.
5）Satake S, et al.（2016）: Validity of the Kihon Checklist for assessing frailty status. Geriatr Gerontol Int, **16**, 709-715.
6）Takahashi S, et al.（2019）: Social participation and the combination of future needs for long-term care and mortality among older Japanese people: a prospective cohort study from the Aichi Gerontological Evaluation Study（AGES）. BMJ Open, **9**, e030500.
7）Vermeiren S, et al.（2016）: Frailty and the prediction of negative health outcomes: a meta-analysis. J Am Med Dir Assoc, **17**, 1163.
8）Yamada M, et al.（2015）: Predictive value of frailty scores for healthy life expectancy in community-dwelling older Japanese adults. J Am Med Dir Assoc, **16**, 1002.

第 37 回若手研究者のための健康科学研究助成成果報告書
2020 年度 *pp.*70〜74（2023.7）

膝関節機能評価のためのマルチモーダル歩行評価システムの開発と地域在住高齢者を対象とした実証研究

安　在　絵　美*

DEVELOPMENT OF A MULTIMODAL GAIT EVALUATION SYSTEM FOR ASSESSING KNEE JOINT FUNCTION AND AN INTERVENTION STUDY FOR COMMUNITY-DWELLING OLDER ADULTS

Emi Anzai

Key words: knee osteoarthritis, older adults, inertial sensor, walking assessment.

緒　　言

変形性膝関節症（以下，膝 OA）は、膝関節の関節軟骨が変性し、疼痛を伴い、重度だと歩行困難となる代表的な運動器疾患である。国内の大規模縦断的疫学調査によると膝 OA の推計罹患者は2530万人であり、このうち有症状有病者数は780万人と推計されている[10]。すなわち、多くの罹患者は無症状のまま発症、あるいは重症化する可能性がある。特に山間部や農村部では、都市部よりも膝 OA の有病者数が多いことが報告されており[4]、医療アクセスや専門家の不足などの課題も相まって、潜在的に重症化する対象者が多い。一方で、膝 OA の重症度評価は、X 線検査に基づいて診断されるため、症状が進行してから発見されることとなる。したがって、効果的な介護予防の実現には、地域で適応可能な膝 OA の早期発見手法と評価に基づく運動介入が求められる。

先行研究では、膝 OA の重症度に関連する身体特性として、膝関節可動域の減少、歩行中の膝の不安定性増大が示唆されている[2]。不安定性は歩行などの活動時に起こる膝の動的な不安定性（ぐらつきなど）を示す[9]。力学的な検証を含む研究では急激な膝内反運動、内反モーメントの増大と表現することもある[7]。急激かつ異常な荷重移動が伴うことから、6〜8 割の膝 OA 患者が症状を自覚していることが明らかになっている[3]。先行研究ではこれらの評価は、モーションキャプチャシステムを用いており、重症度推定に有用と報告されてきた[7]。しかしながら、大型かつ限定的な場所での計測に制限されることから、地域在住高齢者への適用は難しい。

以上より、本研究では、地域在住高齢者に適用可能な膝 OA リスク評価手法を構築することを目的とした。具体的には、下肢の運動と足底圧を評価可能な足部・膝運動評価システムを開発した。そして、開発したシステムを用いて地域在住高齢者を対象としたフィールド計測実験を実施し、膝痛や関節可動域減少がある対象者の歩行特徴を明らかにするとともに、健康運動指導士の運動介入による介入研究を実施した。これらの取り組みについて以下に報告する。

* 奈良女子大学研究院工学系　Faculty of Engineering, Nara Women's University, Nara, Japan.

方　　法

A．足部・膝運動評価システムの開発

本研究では、足部と膝の運動連鎖理論に基づき、膝の変形に伴う(a)膝の不安定性と(b)足底部の荷重変化に着目した評価システムを開発した(図１)。

初めに、(a)膝の急激な内反運動について、慣性センサ（TSND121，ATR-Promotions）を用いた運動計測システムを構築した。Android 端末用のアプリケーションを開発し、Bluetooth 通信にてデータ収集を行えるようにした。センサの配置は、先行研究の手法を参考に、足首・膝下・膝上の前面 3 箇所とした[5, 6, 8]。

次に、(b)足底部の荷重変化をとらえるため、インソール型足底圧分布計測装置の開発を行った[1)]。本装置は、７つの圧力センサと無線データ通信ユニットで構成される。各センサの圧力－抵抗特性について予め加圧試験を行うことでキャリブレーションを行った。センサ位置は、踵、中足部外側、前足部外側、前足部中心、第一中足骨頭、中足部中央、拇趾に配置され、歩行時の接地や離床および足部形状を推定できるような構成とした[1)]。無線ユニットは靴の甲側に設置され、通常の靴と同様に日常生活中の歩行計測が可能なように設計した。足底圧データは、スマートフォン等のアプリケーション上でリアルタイム表示される。これまで1000名以上の高齢者に対する歩行計測を行い、有用性を示してきた。加えて、膝 OA 患者を対象とした臨床実験により、足底圧分布から重症度を推定する手法を明らかにしてきた。なお、(a)(b)の両計測システムはそれぞれの Bluetooth 通信を経由してデータ収集されるため、計測の際、一時的に共通のトリガ信号を入力することで同期できる設計にした。サンプリング周波数は両計測器ともに100 Hz とした。

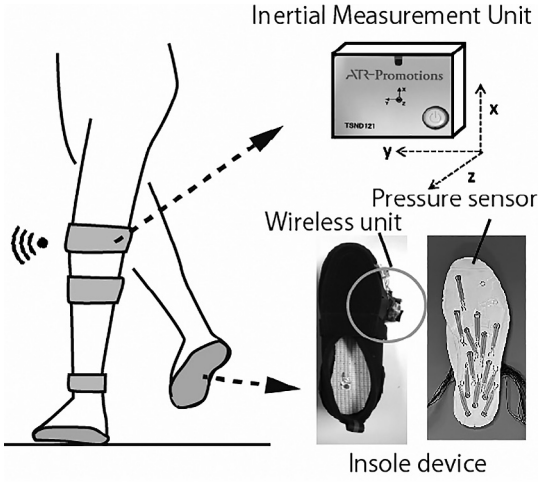


図１．足部・膝運動評価システム
Fig.1.　Foot and knee motion evaluation system.

B．地域在住高齢者を対象とした歩行計測実験（横断研究および介入研究）

A で開発した足部・膝運動評価システムを用いて、膝痛をもつ地域在住高齢者を対象としたフィールド計測実験を行った。具体的には、秋田県の各自治体が実施する介護予防運動プログラムと連携し、健康運動指導士による 4～5 か月間の運動介入（全10回）と介入前後（初回と最終回）に膝痛に関する調査と歩行計測を実施した。調査および計測の詳細は以下のとおりである。

プログラムの参加者は、秋田県の潟上市、五城目町、三種町に在住する高齢者43名（男性 5 名，女性38名，平均年齢72.0 ± 5.8歳）であった。参加者のうち16名が膝 OA の診断を受けていた。対象者は、独立歩行が可能な高齢者とした。実験前に、対象者には、質問紙を用いて年齢、身長、体重、医師による膝 OA の診断の有無とその時期、手術経験の有無を確認した。そのうえで 6 か月以内に下肢のけがや手術経験のある者、重度の心疾患、脳血管疾患の後遺症ならびに認知症をもつ者は除外された。なお、本研究は奈良女子大学研究倫理審査委員会の審査と承認を経て実施された（承認番号：第19-09号）。実験実施にあたり、すべての対象者には口頭と文書にて説明を行い書面にて実験参加の同意を得た。

実験では、介入前後において膝痛や疾患に関する情報として、膝関節可動域計測、膝の疼痛強度を調査した。膝関節可動域計測では、正座時の踵臀部間距離を計測した。膝の疼痛強度では、数日間の膝の状態について、「朝、動き出すとき膝がこわばるか」、「朝起きたとき膝が痛むか」、「夜間、睡眠中に膝が痛くて目が覚めることがあるか」、「階段を昇るときに膝が痛むか」、「階段を降りるときに膝が痛むか」、「ずっと立っているとき膝が痛むか」、「歩いているとき膝が痛むか」、「椅子か

ら立ち上がるとき膝が痛むか」の 8 項目について、フェイススケールを用いた調査を実施した。フェイススケールは疼痛の程度やその頻度について、6 段階で調査され、それぞれの項目について 0〜5 点で点数化し、その合計値を算出した。数値が大きいほど痛みの程度や頻度が大きいことを示す。

歩行計測実験では、A で開発した足部・膝運動評価システムを用いて歩行中の足底圧分布、足圧中心軌跡、足首・膝下・膝上の加速度ならびに角速度を計測した。計測で使用する靴は、底面がフラットな靴で統一し、実験対象者に最適なサイズを選定した。裸足でインソール型足底圧分布計測装置を装着し、快適な速度で10 m 歩行してもらうよう指示した。慣性センサは実験対象者の膝痛を強く感じる側の脚（膝痛症状のない場合は右）に設置し、伸縮ベルトを用いて固定した。

歩行データの処理について、歩行開始直後 2 歩と、歩行終了直前 2 歩を除いたデータを解析対象とした。慣性センサの時系列データは、4 次の Butterworth low-pass フィルタにかけ、ノイズを除去した[8]。カットオフ周波数は10 Hz に設定した。両計測器のデータは立脚期 1 歩ごとのデータに分割した。慣性センサでは、歩行周期時間、立脚期時間、遊脚期時間、立脚期および遊脚期の足首・膝下・膝上の各 3 軸に対する加速度・角速度の最大振幅値を算出した。左脚に着用した場合は関連するパラメータについて反転処理を行った。そして、平均を 0 、分散を 1 とする標準化処理を行い、解析に用いた。インソール型足底圧分布計測装置のデータでは、立脚期時間とそのうちの片脚支持割合、各センサのピーク圧力値、ピーク時点、積分値の平均等の項目を算出した。片脚支持割合やピーク時点は立脚期時間に対する割合を算出した。

分析では、まず膝の機能と歩行計測結果の関連を調べるため、横断研究（介入前）のデータについて正座の可否、すなわち踵臀部間距離が 0 より大きい者と 0 である者に分類し、2 つの群における各項目の平均値を比較した。その際、5 %を有意水準とし、Welch の検定を実施した。次に、上記であげられたパラメータについて、介入研究のデータを分析し、膝の機能の改善とともにどのように変化するかを検証した。その際、踵臀部間距離が改善した対象者における介入前後のデータを分析した。統計解析では、5 %を有意水準とし、対応のある t 検定を実施した。

結　　果

A．横断研究の結果

介入前の参加者は43名（男性 5 名，女性38名）であった。介入前では、正座ができない対象者、すなわち踵臀部間距離が 0 より大きい対象者は23名、0 である対象者は20名であった。

歩行計測の結果では、正座ができる人はできない人と比べて片脚支持時間割合が長く（63.0 ± 3.9% vs 59.0 ± 7.7%：$P = 0.04$）、踵の圧力ピークがみられる時間が早かった（19.8 ± 3.79% vs 23.2 ± 5.7%：$P = 0.02$）。また、歩行中の踵接地直後における膝上の進行方向の加速度が大きく（0.96 ± 0.86 vs − 0.50 ± 1.1：$P < 0.01$）、正座ができない人では進行方向と逆向きの加速度が増大していた。

B．介入研究の結果

介入後は12名がプログラムを途中辞退あるいは介入後の計測に不参加となり、介入前後の回に参加した者は31名（年齢：72.5 ± 5.7歳，身長：154.7 ± 6.1 cm，体重：56.9 ± 7.1 kg）となった。そのため、介入研究の分析対象は31名とした。表 1 に31名の運動介入前後における踵臀部間距離計測、膝の疼痛強度の結果を示した。31名のうち、介入前に正座ができなかった対象者は18名であった。そのうち、17名で改善がみられ、半数の 9 名においては運動介入後に踵臀部間距離が 0 cm になり、正座ができるまで改善した。平均では、左右ともに30 mm 程度改善していた。膝痛に関する 8 項目についても、有意な改善がみられた（表 1 ）。図 2 は介入前後における 1 名の踵臀部間距離の測定例である。

次に、歩行計測について、踵臀部間距離が改善した対象者（n = 17）における介入前後の足底圧および慣性センサのデータを分析した。結果として、介入後の歩行計測では介入前に比べて片脚支持時間が有意に延長した（60.8 ± 3.9% vs 62.8 ± 3.4%：$P = 0.04$）。一方、踵の圧力ピークがみられる時間では、有意な変化は認められなかった。

その他、介入前で正座の可否で分けた群におい

表 1．運動介入前後における踵臀部間距離計測、膝の疼痛強度の結果
Table 1. Assessment results before and after exercise program.

	Pre	Post	*P* value
Distance between heel and hip（right）, mm	68.7 ± 85.0	38.7 ± 75.0	< 0.01
Distance between heel and hip（left）, mm	69.7 ± 94.3	40.1 ± 86.5	< 0.01
Knee pain（total score of 8 items）, points	11.4 ± 8.3	7.4 ± 7.4	< 0.01

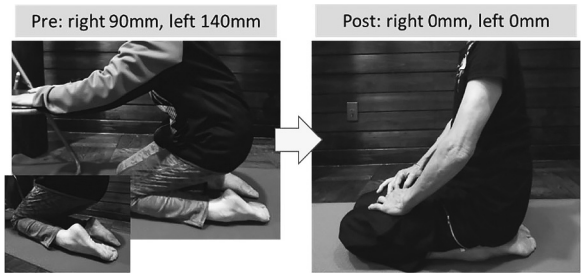


図 2．介入前後の踵臀部間距離
Fig.2. Distance between heel and hip before and after exercise program.

て有意差がみられなかったパラメータについても、介入前後で有意な差が認められた項目があった。例えば、立脚時間が短縮し（648.3 ± 84.9 ms vs 580.2 ± 130.2 ms：$P = 0.03$）、足部の外側に位置する中足部外側および前足部外側の圧力ピーク値が減少した（中足部：3.9 ± 4.0 N vs 2.0 ± 1.6 N：$P = 0.04$，前足部：7.4 ± 5.7 N vs 5.2 ± 5.2 N：$P < 0.01$）。更に、全センサから荷重中心を算出し、立脚期における前後左右方向の荷重中心位置を検証した結果、左右方向の最大荷重中心点が減少し、より内側に位置していた（0.97 ± 0.60 cm vs 0.57 ± 0.41 cm：$P < 0.01$）。

考　　察

本研究では、足底圧と膝の運動をマルチモーダルに評価可能な歩行評価システムの開発を行った。本システムは、キネティクスおよびキネマティクスの観点から疼痛や膝の機能に関連した歩行特徴を明らかにできるだけでなく、膝痛の改善に有効とされる運動指導等の具体的な提案につながると考えられる。

開発したシステムを用いたフィールド実験を実施した成果として、横断研究の結果より、片脚支持時間、踵の圧力ピーク時間、踵接地直後における膝上の進行方向加速度の 3 つのパラメータは膝の可動域や疼痛と関連する可能性が示された。また、介入研究の結果より、片脚支持時間は膝の可動域や疼痛と横断的なデータで関連していることだけでなく、改善に伴って変化することが明らかとなった。我々の先行研究で、片脚支持時間は膝 OA の重症度と関連することが明らかになっていることから、膝 OA と診断されないリスク群のなかでも膝の機能を推定可能なパラメータとなる可能性が示唆された。しかし、片脚支持時間は膝痛による結果である可能性が高く、具体的な運動介入には結び付きにくいパラメータである。リスク評価のための指標としては検討の余地がある。

更に、介入研究では上記 3 つのパラメータ以外でも介入後に多くの変化がみられた。立脚時間の短縮は痛みの改善による可能性がある。また、足部の外側の圧力ピーク値や左右方向の荷重中心の移動距離が減少したことについては、歩行指導による影響の可能性が考えられる。具体的には、膝の不安定性による急激な膝の内反運動を抑制するため、運動プログラムの歩行指導において足部接地後に内側荷重を意識するような指導が行われていた。介入後の計測ではこれが反映された可能性がある。このように、開発したシステムでは介入による歩行の変化をとらえられることも明らかとなった。なお、慣性センサについては通信環境や対象者への装置の装着等に不備があり、介入前後でデータが揃う対象者が少なかったため、今後の検討課題としたい。

総　　括

本研究では、地域在住高齢者に適用可能な膝 OA のリスク評価手法として足部・膝運動評価システムの開発を行った。そして、健康運動指導士が提供する運動の介入前後における膝の疼痛や機能に関する調査と開発したシステムを用いた歩行

計測を実施した。その結果、次の知見が得られた。

1）正座が困難な対象者は片脚支持時間、踵の圧力ピークがみられる時間において有意な差が認められ、これらのパラメータが膝の機能と関連する可能性が示された。

2）片脚支持時間は膝の機能改善に伴い、改善がみられたことから、経時的な変化への関連性も明らかとなった。

3）開発したシステムは高齢者が集まる運動プログラムのなかで適用でき、現場での実用可能性が確認できた。

4）本システムを用いて歩行指導の効果を評価できる可能性が示された。

以上より、本研究の成果は潜在的な膝 OA に対する早期対策に向けた評価手法の第一歩となり、地域の現場における定量的な歩行評価が可能なことが示唆された。今後、効果的な運動指導への貢献が期待される。

謝　　辞

本研究を遂行するにあたってご協力をいただきました株式会社ピーベリー健康運動指導士 児玉美幸先生、加藤光葉先生、秋田県潟上市、五城目町、三種町の各市町役場の皆様に深く感謝いたします。

参 考 文 献

1）Anzai E, et al.（2020）: Comparative study between a novel 7-sensor plantar pressure measurement insole and the F-scan device. 2020 IEEE 2nd Global Conference on Life Sciences and Technologies（LifeTech）, 339-342.

2）Astephen JL, et al.（2008）: Biomechanical changes at the hip, knee, and ankle joints during gait are associated with knee osteoarthritis severity. J Orthop Res, **26**（3）, 332-341.

3）Fitzgerald GK, et al.（2004）: Reports of joint instability in knee osteoarthritis: its prevalence and relationship to physical function. Arthritis Rheum, **51**（6）, 941-946.

4）Kang X, et al.（2009）: The high prevalence of knee osteoarthritis in a rural Chinese population: the Wuchuan osteoarthritis study. Arthritis Rheum, **61**（5）, 641-647.

5）Kobsar D, et al.（2017）: Wearable sensors to predict improvement following an exercise intervention in patients with knee osteoarthritis. J Neuroeng Rehabil, **14**（1）, 94.

6）Rueterbories J, et al.（2010）: Methods for gait event detection and analysis in ambulatory systems. Med Eng Phys, **32**（6）, 545-552.

7）Teng HL, et al.（2015）: Higher knee flexion moment during the second half of the stance phase of gait is associated with the progression of osteoarthritis of the patellofemoral joint on magnetic resonance imaging. J Orthop Sports Phys Ther, **45**（9）, 656-664.

8）Turcot K, et al.（2009）: The responsiveness of three-dimensional knee accelerations used as an estimation of knee instability and loading transmission during gait in osteoarthritis patient’s follow-up. Osteoarthritis Cartilage, **17**（2）, 213-219.

9）Wallace DT, et al.（2019）: The assessment of instability in the osteoarthritic knee. EFORT Open Rev, **4**（3）, 70-76.

10）Yoshimura N, et al.（2009）: Prevalence of knee osteoarthritis, lumbar spondylosis, and osteoporosis in Japanese men and women: the research on osteoarthritis/osteoporosis against disability study. J Bone Miner Metab, **27**（5）, 620-628.

第 37 回若手研究者のための健康科学研究助成成果報告書
2020 年度 *pp*.75～80（2023.7）

スポーツによる相対的エネルギー不足（RED-S）による骨髄間葉系幹細胞機能変容の解明

池　戸　　葵*

THE FUNCTIONAL CHANGE OF BONE MARROW MESENCHYMAL STEM CELLS BY RELATIVE ENERGY DEFICIENCY IN SPORT（RED-S）

Aoi Ikedo

Key words: Cxcl12 abundant reticular（CAR）cells, bone marrow fat, Foxc1, Runx2.

緒　　言

Relative energy deficiency in sport（RED-S）とは、相対的なエネルギー不足によって引き起こされる生理機能障害で、代謝率、月経機能、骨代謝、免疫、タンパク質合成、心血管機能等の障害を含むが、これらに限定されないと定義付けられた症候群である[6]。なかでもエストロゲン分泌異常による骨量減少や、免疫機能の低下、貧血等はアスリートのパフォーマンス低下に直結するため、RED-S の予防・改善はスポーツ界における重要課題である。

RED-S を模倣したエネルギー制限状態で自発運動をさせるマウスの実験では、エネルギー制限のみの条件より、更に骨量が減少することが報告されている[3]。また、エネルギー不足状態では骨髄脂肪が増加し、骨髄脂肪量は骨量と負の相関を示す[9]。エネルギー制限による骨髄脂肪量の増加は、運動を加えると軽減されるものの、骨量の増加はみられないことも示されている[5]。更に、骨は体の支持組織としてだけではなく、骨髄で起こる造血や免疫細胞の分化・成熟に必須の臓器である。先行研究において、エネルギー不足状態の骨髄では、メモリー T 細胞が集積し、免疫記憶を保護する役割をもつことが示唆されている[1]。このように、エネルギー不足下では、骨量減少だけでなく、免疫防御機構を維持するための骨髄環境も大きく変化する。

骨髄中に存在する Cxcl12 abundant reticular cells（CAR 細胞）は、造血幹細胞・前駆細胞ニッチ形成と維持に必須であるだけでなく、骨芽細胞や脂肪細胞に分化可能な骨髄間葉系幹細胞である[7]。そこで筆者は、エネルギー不足状態での運動による CAR 細胞の機能変容が、RED-S による生理機能の変化の一部を説明する可能性を考えた。しかし、エネルギー制限や運動によって CAR 細胞の機能が変化するかどうかは不明である。以上のことから、本研究では、CAR 細胞の機能がエネルギー制限下における運動で、どのように変化するのかをマウスモデルを用いて明らかにすることを目的とした。

* 愛媛大学プロテオサイエンスセンター病態生理解析部門　Division of Integrative Pathophysiology, Proteo-Science Center, Ehime University, Ehime, Japan.

方　　法

A．実験動物

本研究は、愛媛大学動物実験規則に基づき、愛媛大学動物実験委員会の承認を得て、実施された（承認番号：37A1-1・16）。本実験は、4 週齢のC57BL/6JJc1雌マウスを 1 週間の予備飼育をした後に実施した。

B．食餌制限および運動介入

予備飼育後、5 週齢の雌マウスを①通常飼育群（CON, n = 10）、②食餌制限群（DR, n = 10）、③通常食 + 運動群（CON+ex, n = 10）、④食餌制限 + 運動群（DR+ex, n = 10）の 4 群に分けた。DR および DR+ex 群には、CON および CON+ex 群の摂餌量の60％を与えた。また、CON+ex および DR+ex 群のケージ内には、ランニングホイールを設置し自由にアクセスできるようにした。これらの介入を 5 週間実施した（図 1 A）。

C．骨密度および骨構造解析

骨密度（BMD）の評価を Dual-energy X-ray Absorptiometry（DXA）（DCS-600EX, ALOKA）を用いて実施した。骨密度は骨全体および、骨全体を20分割した各部位を評価した。骨微細構造の測定を μCT（SCANCO Medical）を用いて実施し、海綿骨および皮質骨に分けて評価した。

D．血液検査

血液検査は、白血球数（WBC）、赤血球数（RBC）、ヘモグロビン（HGB）、ヘマトクリット（HCT）を評価した。これらの検査は、岡山理科大学生物医科学検査研究センターに委託した。

E．CAR 細胞の単離および遺伝子発現解析

骨サンプルから骨髄を採取し、フローサイトメトリー法を用いて CAR 細胞を単離した。CAR 細胞を標識する抗体には、CD31（102406, BioLegend）、CD45（103108, BioLegend）、Sca1 （122508, BioLegend）、PDGFRβ（BAF1042, R&D Systems） を用いた。単離した CAR 細胞から RNA を抽出し、逆転写酵素を用いて cDNA に合成した。これを用いて RT-qPCR を行い、遺伝子発現を評価した。

F．オスミウム染色

骨髄中の脂肪量を評価するために、オスミウム染色を実施した。脛骨を採取し、4 % PFA で一晩固定した後、0.1 M EDTA に 2 週間浸漬し、脱灰を行った。脱灰された脛骨を 5 %重クロム酸カリウムと 2 %四酸化オスミウムを 1 ： 1 で混合した溶液に48時間浸漬し染色した。染色した脛骨は μCT を用いて撮影し、骨髄脂肪量を評価した。

G．統計解析

すべてのデータは、平均 ± 標準偏差で示した。統計解析は、GraphPad Prism 9を用いて、2 群間の比較には Unpaired t test with Welch’s correction を、3 群間の比較には Brown-Forsythe and Welch ANOVA test を行い、post-hoc は Dunnett T3を実施した。有意水準は $P < 0.05$とした。

結　　果

A．体重、組織重量、血液指標の変化

5 週間の介入期間中、CON および CON+ex は体重増加を続ける一方で、DR および DR+ex の体重は 1 週目で急激に減少し、2 週目以降は維持された（図 1 B）。DR+ex の走行距離は、CON+ex と比較して、有意に少なかった（図 1 C）。各組織重量は、CON および CON+ex と比較して、DR および DR+ex で有意な減少を認めた（図 1 D-F）。また、血液検査の結果、WBC は、CON および CON+ex と比較して、DR および DR+ex で有意な減少を認め、DR+ex は、DR より、更に有意な低下を認めた。RBC、HGB、HCT は、DR および DR+ex で増加が認められた（図 1 G）。

B．骨長、骨密度、骨髄脂肪量、骨構造の変化

骨長および骨密度は、CON および CON+ex と比較して、DR および DR+ex で有意な減少を認めた（図 2 A–C）。骨髄脂肪量（AV/TV）は、CON および CON+ex と比較して、DR および DR+ex で有意な増加を認めた（図 2 D）。骨構造解析では、皮質骨における、骨量（BA/TA）、骨密度（Ct. BMD）、皮質骨幅（Ct. Th）は、CON および CON+ex と比較して、DR および DR+ex で有意な減少を認めた。一方で、DR および DR+ex は、CON および CON+ex と比較して、海綿骨における骨量（BV/TV）および連結性密度（Conn-Dens.）は有意に増加し、Structure model index（SMI）は有意に低下した。骨密度（Tb. BMD）は、CON と比較して、DR および DR+ex で有意に増加した。

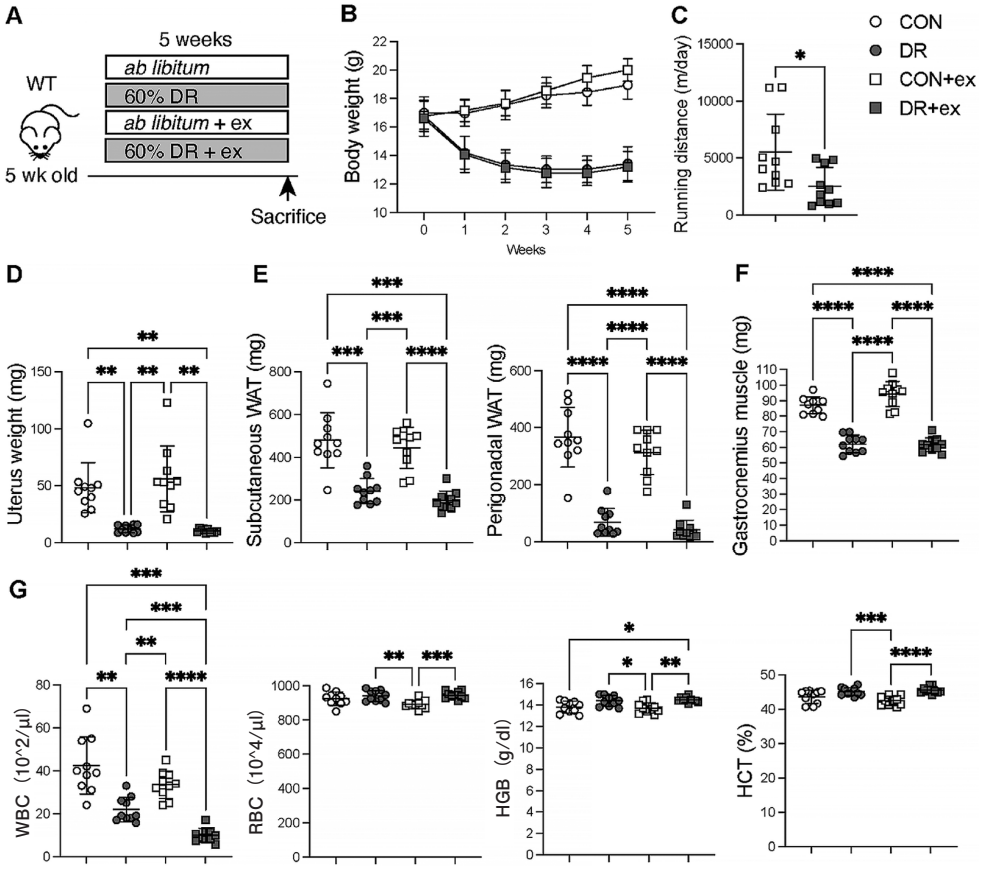


図１．体重、走行距離、組織重量、血液指標の変化

Fig.1. The change of body weight, running distance, tissue volume, and blood parameters.

A: Study protocol. B: Body weight during study period. C: Running distance. D−F: Tissues volume of uterus, subcutaneous and perigonadal white adipose tissue（WAT）, and gastrocnemius muscle. G: Blood parameters.
WBC; white blood cell, RBC; red blood cell, HGB; hemoglobin, HCT; hematocrit.
*$P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$.

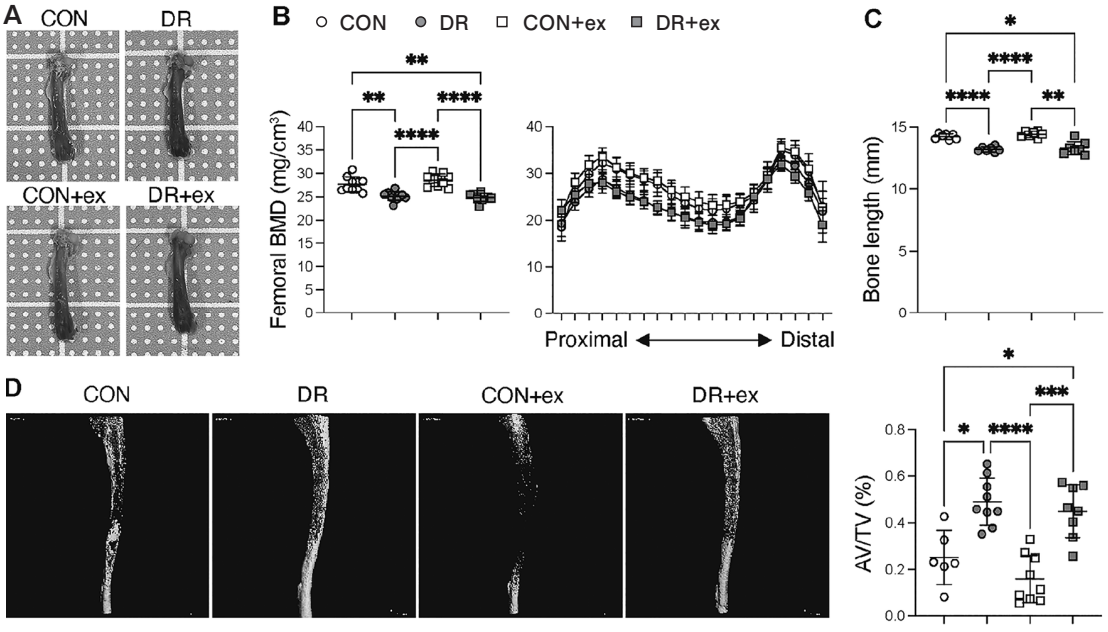


図２．骨長、骨密度、骨髄脂肪量の変化

Fig.2. The change of bone length, bone mineral density（BMD）, bone marrow fat.

A: Representative image of the bones of each group. B: Total femoral BMD（left）and BMD at each site when the bone is divided into 20 sections. C: Bone length. D: Representative image of the bone marrow fat of each group（left）and quantitative data（right）.
* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$.

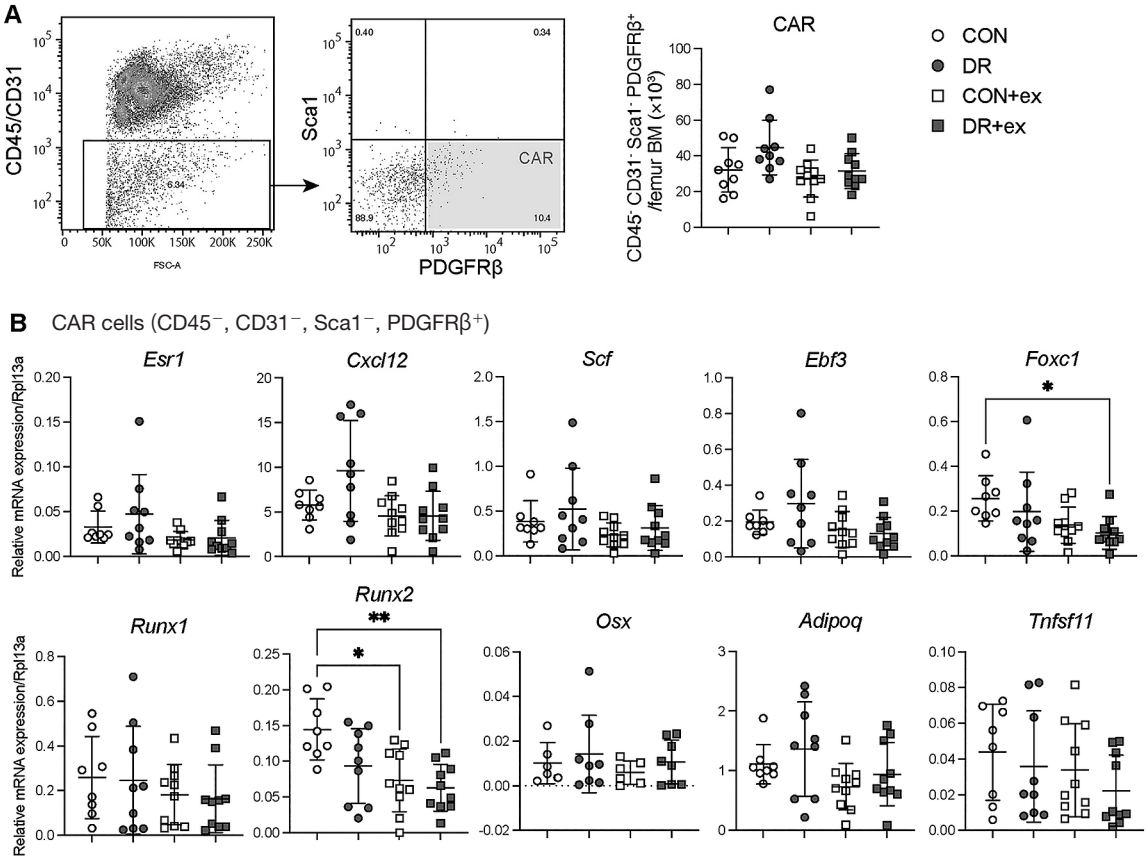


図 3．骨髄中の CAR 細胞数および CAR 細胞の遺伝子発現

Fig.3.　CAR cells number in bone marrow and gene expression in CAR cells.

A: FACS gate for isolation of CAR cells（left）and quantitative data（right）. B: Gene expression level in CAR cells.

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

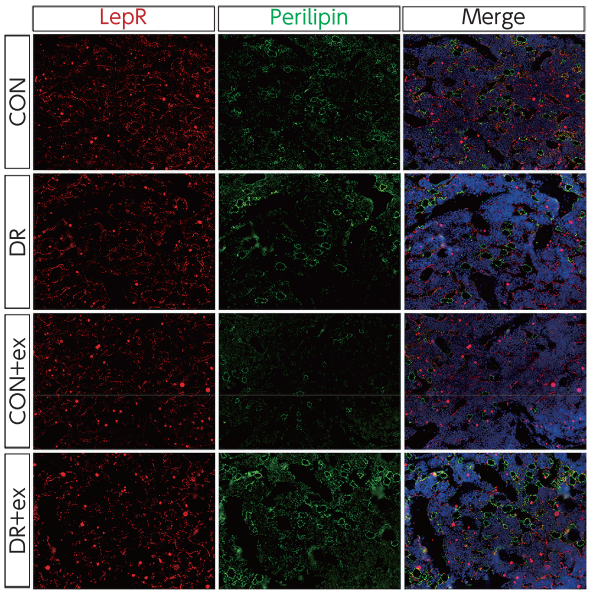


図 4．骨髄の免疫組織化学染色

Fig.4.　Immunofluorescent staining of bone marrow.

LepR: CAR cells, Perilipin: adipocyte, blue is DAPI（nuclei）.

これらの結果は、全体の骨密度および皮質骨量が減っていることから、皮質骨が海綿骨化し、海綿骨量が増加したと考えられる。

C．CAR 細胞の遺伝子発現変化

各条件における CAR 細胞の遺伝子発現変化を確認するために、セルソーターを用いて、CAR 細胞を単離した。骨髄中の CAR 細胞数に、群間で有意な差は認められなかった（図 3 A）。CAR 細胞の主要なマーカーおよび、骨芽細胞および脂肪細胞への分化を調節する遺伝子について、発現変化を確認した。その結果、CON と比較して、DR+ex では、CAR 細胞の脂肪分化を抑制する *Foxc1* および骨芽細胞分化を促進する *Runx2* の有意な減少が認められた（図 3 B）。

D．免疫組織化学染色

各条件における骨髄中の変化を免疫組織化学染色により観察した。LepR 陽性細胞（CAR 細胞：赤）の割合に群間で大きな変化はみられないものの、Perilipin 陽性細胞（脂肪細胞：緑）の割合は、DR および DR+ex で増加しており、オスミウム染色の結果と類似していた（図 4）。

考　　察

本研究では、エネルギー制限下における自発走運動により、CAR 細胞の機能がどのように変容するのかを検証した。その結果、DR+ex において、CAR 細胞の脂肪細胞への分化を抑制する *Foxc1* 遺伝子発現および、骨芽細胞への分化を促進する *Runx2*遺伝子発現の減少により、CAR 細胞の骨髄脂肪への分化が促進し、骨芽細胞への分化が抑制される可能性が考えられた。

DR+ex では、DR よりも更に末梢血における WBC が減少した。先行研究において、閉経前女性の血中 WBC 数と骨髄脂肪量の間に負の相関を認めることが報告されている[8)]。また、絶食やエネルギー制限下では、造血細胞の血液循環量が減り、骨髄に戻ることが観察されており、これは、エネルギー不足時に免疫防御機構を保つための免疫代謝反応であると考えられている。更に、エネルギー不足時の骨髄脂肪細胞の増加は、造血細胞の維持に寄与する可能性が示唆されている[2)]。したがって、本研究で認められた DR+ex の WBC の減少は、運動によりエネルギー消費量が増えることで、DR よりもエネルギー不足状態が深刻になり、造血細胞の免疫防御機構が強く働いた可能性が考えられた。加えて、DR+ex にみられた CAR 細胞の *Foxc1*遺伝子の発現減少は、骨髄中の脂肪細胞を増やし、免疫防御機構を維持するための反応である可能性も考えられた。

CON および CON+ex と比較して、DR および DR+ex の骨密度および皮質骨量は減少し、骨髄脂肪は増加することが認められた。しかし、DR および DR+ex の間に有意な差は認められなかった。これは先行研究の結果と一部一致していない[3,5)]。この理由として、DR+ex の走行距離が CON+ex と比較して短かったことや、使用した実験機器の影響等が考えられた。一方で、DR および DR+ex において、海綿骨量の増加が認められた。これは、エネルギー不足により皮質骨の多孔化が進み、皮質骨が海綿骨化している可能性が考えられた。詳細については、今後更なる検証が必要である。

CAR 細胞は、DR+ex において、*Foxc1* および *Runx2*遺伝子の発現減少が認められた。*Foxc1*は、CAR 細胞特異的な転写因子であり、骨髄中の造血幹細胞および造血幹細胞前駆細胞を維持し、CAR 細胞が脂肪細胞に分化するのを抑制する働きをもっている[7)]。したがって、本研究における DR+ex の CAR 細胞は、*Foxc1*遺伝子の発現減少により、脂肪細胞への分化が容易であることが示唆された。また、*Runx2*は、骨芽細胞分化に必須の転写因子である[4)]。CAR 細胞における *Runx2*の役割については、いまだ不明な点も残されているが、DR+ex の CAR 細胞では、*Runx2*遺伝子の発現減少により、CAR 細胞の骨芽細胞への分化が損なわれ、骨量低下に繋がっている可能性が考えられた。

総　　括

本研究の結果から、エネルギー制限下における運動は、CAR 細胞の分化を制御する遺伝子発現を変化させ、骨量減少および骨髄脂肪の増加を引き起こす可能性が考えられた。今後は、CAR 細胞を始めとした骨髄間葉系細胞の遺伝子発現変化を網羅的に解析し、エネルギー制限下における運動が骨髄ニッチおよび生理機能に及ぼす影響を明らかにする。

謝　　辞

本研究は、公益財団法人明治安田厚生事業団のご支援を賜り実施いたしました。関係者の皆さまに厚く御礼申し上げます。

参 考 文 献

1）Collins N, et al.（2019）: The bone marrow protects and optimizes immunological memory during dietary restriction. Cell, **178**（5）, 1088-1101. e15.

2）Goldberg EL, et al.（2019）: Bone marrow: an immuno-metabolic refuge during energy depletion. Cell Metab, **30**（4）, 621-623.

3）Ito E, et al.（2021）: Food restriction reduces cortical bone mass and serum insulin-like growth factor-1 levels and promotes uterine atrophy in mice. Biochem Biophys Res Commun, **534**, 165-171.

4）Komori T, et al.（1997）: Targeted disruption of Cbfa1 results in a complete lack of bone formation owing to maturational arrest of osteoblasts. Cell, **89**（5）, 755-764.

5）McGrath C, et al.（2020）: Exercise degrades bone in

caloric restriction, despite suppression of marrow adipose tissue（MAT）. J Bone Miner Res, **35**（1）, 106-115.

6）Mountjoy M, et al.（2014）: The IOC consensus statement: beyond the Female Athlete Triad - Relative Energy Deficiency in Sport（RED-S）. Br J Sports Med, **48**（7）, 491-497.

7）Omatsu Y, et al.（2021）: Identification of microenvironmental niches for hematopoietic stem cells and lymphoid progenitors-bone marrow fibroblastic reticular cells with salient features. Int Immunol, **33**（12）, 821-826.

8）Polineni S, et al.（2020）: Red and white blood cell counts are associated with bone marrow adipose tissue, bone mineral density, and bone microarchitecture in premenopausal women. J Bone Miner Res, **35**（6）, 1031-1039.

9）Shen W, et al.（2007）: MRI-measured bone marrow adipose tissue is inversely related to DXA-measured bone mineral in Caucasian women. Osteoporos Int, **18**（5）, 641-647.

第 37 回若手研究者のための健康科学研究助成成果報告書
2020 年度 *pp*.81～86（2023.7）

加齢によって変化する運動関連脳内ネットワークの特定と強化

佐々木　亮　樹*

AGE-RELATED CHANGES IN MOTOR NETWORKS AND ITS PLASTICITY

Ryoki Sasaki

Key words: aging, functional connectivity, primary motor cortex, motor learning, TMS-EEG.

緒　　言

加齢は我々が生きるうえで避けられない普遍のイベントであり、さまざまな機能低下を引き起こすことが知られている。そのなかでも顕著にみられる加齢変化の 1 つは、運動機能の低下であり、多くの人が周知する事実である。この運動機能の低下には、筋量や柔軟性低下などに伴う末梢性要因が関与することがわかっているが、中枢性要因、すなわち脳も同様に運動機能の低下に寄与することが脳イメージング装置の発達によって明らかになりつつある[8]。

運動には一次運動野（M 1 ）が大きく関与しているが、その領域の活動が加齢によって変化することが数多く報告されている。例えば、高齢者では M 1 の可塑性機能が若年者と比べて低下しており[4,7]、その低下は運動機能の低下と関連することが示されている[1]。これらの報告から、加齢に伴う M 1 の生理学的変化は、運動機能低下の原因の 1 つであることが示唆される。この背景を踏まえ、高齢者の M 1 の可塑性機能を高めることで運動機能を強化する試みがこれまで行われてきたが、一致した見解が得られていないのが現状である。

これまでの脳イメージング装置を用いた研究では、M 1 のような単一領域の評価に焦点を当ててきた。一方、実際の運動は、複数の運動関連脳領域が相互に活動することで行われている。そのため、加齢に伴う中枢性の変化を正確にとらえるには、伝統的な単一脳領域の評価に加えて、M 1 を基点とした複数脳領域のネットワーク変化も明らかにしていく必要があると考えられる。しかし、加齢がどのような運動関連ネットワークに影響を及ぼすのかは十分に明らかになっていない。したがって、本研究では、高齢者において M 1 を含む運動関連ネットワークは低下するのか、そして、そのネットワークは強化することが可能なのかを明らかにすることを目的とした。これらを解明するため、本研究では若年者と高齢者を対象とし、M 1 への経頭蓋磁器刺激（Transcranial magnetic stimulation; TMS）と脳電図（Electroencephalogram; EEG）を組み合わせた新手法 TMS-EEG を使用することで、M 1 の興奮性および M 1 を基点とした大脳ネットワークの解析を行った。本研究では、高齢者において M 1 の興奮性および特定の運動関連脳内ネットワーク、運動機能が低下しており、

* アデレード大学医学部生理学分野　Discipline of Physiology, Biomedicine of School, The University of Adelaide, Adelaide, Australia.

非侵襲的脳刺激法による可塑性誘導によって、これらを強化することができると仮説を立てた。

方　　法

A．対象者

本研究には19名の健常若年者と13名の健常高齢者が参加した。TMS によって運動誘発電位（Motor-evoked potential; MEP）が生じない被験者が若年者で 5 名と高齢者で 1 名いたため、対象から除外された。最終的に実験 1 では、14名の若年者（平均± SD ＝26.0 ± 5.4歳）と12名の高齢者（64.5 ± 5.7歳）が参加し、実験 2 では、14名の若年者（26.0 ± 5.4歳）と 4 名の高齢者（64.5 ± 5.6歳）が参加した（実験 2 の高齢者群ではコロナウイルスの蔓延により，リクルートが難しくなったため 4 名のみとなった）。実験 1 と実験 2 の両方に参加した被験者は、実験間で少なくとも 1 週間以上の間隔を空けた。全被験者は右利きであり、中枢神経活動に影響を与える薬の服用はなかった。対象者に対して TMS の安全性に関するスクリーニングを書面にて行い、本実験の参加に問題がないことを確認したうえで実験を行った。本研究はヘルシンキ宣言の趣旨に則り、アデレード大学倫理委員会の承認のもとで行われた（承認番号：H-026-2008）。被験者は、実験に参加する前に、その内容に関する情報を書面および口頭で十分に確認した後、同意書に署名した。

B．実験準備とプロトコール

被験者は背もたれのある椅子に座り、実験中は安静状態で開眼を維持した。右の第一背側骨間筋に対して筋電図電極を belly-tendon 法で貼付した。また、10-10法で61チャンネル電極が接続している EEG キャップを頭部に装着し、全電極の抵抗はゲルにて10 kΩ 以内に維持された。

実験 1 （運動関連ネットワークの探索）：各被験者は、右示指を使用した視覚追従課題（Block 1 ）を行い、運動機能の測定を行った。次に、M 1 への TMS を行い、MEP と TMS 誘発電位（TMS-evoked potential; TEP）の計測を行った。

実験 2 （運動関連ネットワークの強化）：実験 1 の結果をもとに M 1 の興奮性を増大させる反復的磁気刺激（repetitive paired-pulse TMS; iTMS）を15分間施行した[10]。介入は、M 1 の可塑性を誘導する paired-pulse を使用した本条件と単発刺激を使用したコントロール条件を設け、別日（> 1 week）にランダムな順序で各被験者にそれぞれの介入が同じ時間帯（11a.m. or 2 p.m.）で行われた。1 つのセッションにつき、約 3 時間を費やした。その介入前後で、運動課題（介入前：Block 1 , 介入後：Block 2 - 9 ）、MEP、TEP の計測をそれぞれ行った。

C．TMS

TMS 本体（Magstim, Dyfed, UK）に接続された TMS コイル（branding iron coil）は、頭部に垂直かつ矢状面に対して45度の角度で M 1 に設置された。M 1 への TMS は、posterior-to-anterior current になるようにコイルの向きを各被験者で統一した。筋電図より MEP、EEG より TEP をそれぞれ異なるブロックで記録した。MEP は0.5～1.0 mV を誘発する TMS 強度に設定し、TEP は安静時運動閾値の TMS 強度にそれぞれ設定した。TMS は、4 秒に 1 回の頻度で行われ、MEP は15回、TEP は100回それぞれ計測した。Brainsight Neuronavigation System（Rogue Research, Montreal, Canada）

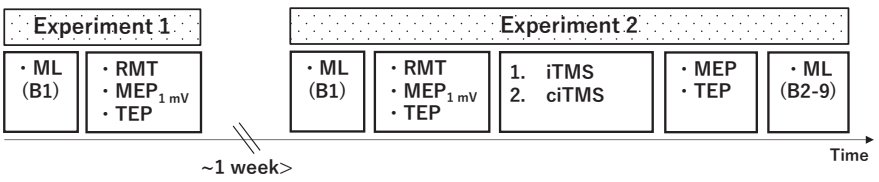


図 1 ．実験プロトコール

Fig.1. Experimental protocol.

Participants visited the laboratory for each session that were approximately 3 hours long, held at the same time of day and were separated by a period of at least one week.

B; block, ciTMS; control repetitive single-pulse transcranial magnetic stimulation, iTMS; repetitive paired-pulse transcranial magnetic stimulation, MEP; motor-evoked potential, ML; motor learning, RMT; resting motor threshold, TEP; TMS-evoked potential.

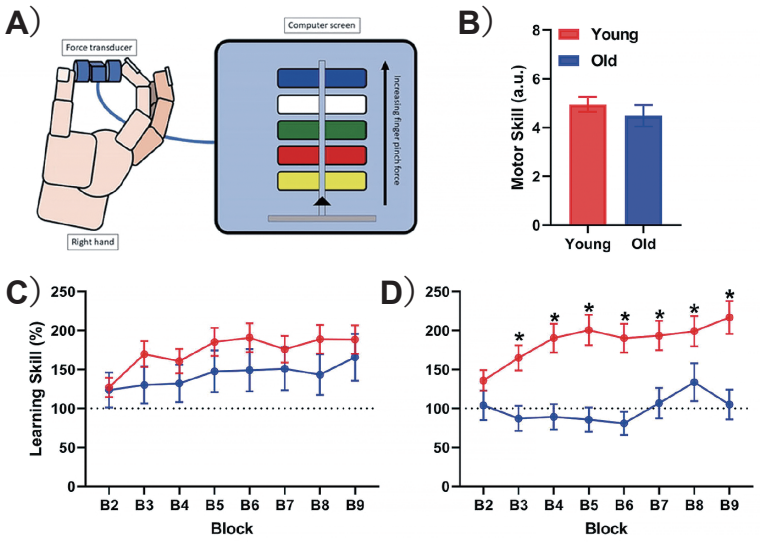


図２．視覚追従課題の概要図とグループ間の比較

Fig.2.　Visuo-motor task and comparisons between young and old.

A）Visuo-motor task, B）Motor skill between young and old groups in experiment 1, C）Learning skill in young and old groups before and after iTMS in experiment 2, D）Learning skill in young and old groups before and after control iTMS in experiment 2.

*: $P < 0.05$ compared to old group. Mean ± SEM.

を使用することで、TMS コイルの位置は一定の場所を保持した。TMS にて TEP を記録する際は、磁器刺激に伴う聴覚誘発電位の混入を最小限にするため、被験者はホワイトノイズをイヤホンから聴き、その上からヘッドホンで両耳を覆った。

D．運動機能と運動学習の評価

運動機能（Block 1）と運動学習（Block 2 - 9）の評価には、右示指の外転運動を伴う視覚追従課題を用いた（図 2 A）[6]。被験者は、評価の前に 5 つの色の順番を記憶した（赤→青→緑→黄→白）。その後、画面に現れた 5 つの色のターゲットに対して被験者は、示指の外転運動によって動かすカーソルを記憶した色の順番にてできるだけ正確かつ速く動かすように努めた。被験者は、5 つの色に対する 5 回の運動トライアルを介入前に 1 回、介入後に 8 回行った。

E．データ解析

MEP：介入前後で記録された各15個の MEP の peak-to-peak 値を算出し、加算平均を行った。各トライアルは、背景筋活動を含むかどうかを目視で確認し、それらを含むトライアルを除外した。平均化した介入後の MEP 振幅値は、介入前の MEP 振幅値で正規化を行った。

運動課題：各トライアルで計測されたエラーと運動時間を使用して次の計算式より motor skill を算出した[5]：Motor skill = (1 − Error)/Error (Ln (movement time)$^{1.627}$)。motor skill は、各ブロックで 5 つのトライアルを平均化して表した。実験 2 における介入後の motor skill スコアは、介入前の motor skill スコアにて正規化した。

TMS-EEG：データの事前処理は、推奨されているプロトコールに準拠して行った[9]。事前処理後には、Brainstorm Software による OpenMEEG BEM head model と LCMV beamformer を用いて全脳レベル（合計15000ボクセル）でのソース解析を行った（図 3，ソース解析の手順は以下を参照：https://neuroimage.usc.edu/brainstorm/Tutorials）。実験 1 では、M 1 の興奮性を評価するため、TEP の N45成分（TMS 後40～50 ms の区間）を使用した。また、M 1 の磁気刺激に伴う運動関連ネットワークの評価には、Corrected imaginary phase locking value（ciPLV）を用いて磁気刺激後の 1 秒区間（20～1020 ms）に対して β 帯域の機能的結合を M 1 -seed にて算出した（M 1 -seed ×15000ボクセル）。実験 2 では、実験 1 と同様に、TEP の N45 成分と ciPLV を介入前後で算出した。

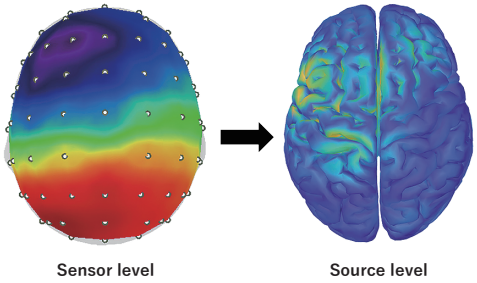


図 3．EEG によるソースレベルの解析
Fig.3. EEG analysis on source level.
LCMV beamformer was performed to estimate whole brain activity at source level.

F．統計解析

統計解析には、SPSS（SPSS; IBM, Armonk, NY, USA）、MATLAB（R2019b, The Mathworks, USA）、Brainstorm（v07-Jan-2022）をそれぞれ使用した。

MEP：正規化した MEP 振幅値に対してグループ（若年者と高齢者）×介入（本条件とコントロール条件）を要因とした Generalized linear mixed model を使用した。モデルは Gamma 分布を適応し、identity link function を MEP 振幅値に対して使用した。ランダムな被験者効果（intercept と slope）の影響はすべて含まれた。主効果と交互作用に対する事後検定は、Bonferroni 法が用いられ、$P < 0.05$を有意差があると定義した。すべての値は、平均値±標準誤差にて表した。

運動課題：実験 1 の motor skill に対して、グループ間（若年者と高齢者）にて Mann-Whitney test を行った。実験 2 では、MEP と同様の手法で正規化した motor skill に対してグループ（若年者と高齢者）×介入（本条件とコントロール条件）×ブロック（Block 2 - 9）を要因とした Generalized linear mixed model を使用した。

TMS-EEG：実験 1 では、TEP の N45成分の区間（40～50 ms）および機能的結合の解析で得られた M 1 -seed の ciPLV に対してグループ間（若年者と高齢者）における10000回の Permutation t-test をクラスター解析にてそれぞれ実施した。クラスターは隣り合うボクセルが 2 つ以上 $P < 0.05$ を示すものと定義した。実験 2 では、TEP の N45 成分または ciPLV 値を使用して、各グループにおける介入前後で10000回の Permutation t-test におけるクラスター解析をそれぞれ実施した。

結　　果

実験中に TMS に伴う副作用を訴える者はいなかった。また、運動課題後に筋疲労を訴える被験者はいなかった。

A．MEP

実験 2 の MEP 解析では、グループ間（$F_{1,525} = 0.273$, $P = 0.601$）、条件間（$F_{1,525} = 0$, $P = 1$ ）、グループ×条件間の交互作用（$F_{1,525} = 0.061$, $P = 0.806$）はいずれも有意差を認めなかった（若年者：本条件96.3±7.0%，コントロール条件119.9±9.5%，高齢者：本条件131.6±19.9%，コントロール条件118.1±11.6%）。

B．運動機能と運動学習

実験 1 の最初のブロックにおけるグループ間の比較では、motor skill において有意差は認められなかった（$P = 0.643$）（図 2 B）。実験 2 の Block 2 - 8 からなる learning skill の解析では、グループ間（$F_{1,2259} = 11.804$, $P < 0.001$）、条件間（$F_{1,2259} = 4.386$, $P = 0.036$）、ブロック間（$F_{1,2259} = 2.366$, $P = 0.021$）、グループ×条件間の交互作用（$F_{1,2259} = 9.495$, $P = 0.002$）のそれぞれで有意差を認めた。グループ間では、若年者のほうが高齢者よりも learning skill が有意に優れていた（$P < 0.001$）。本条件では、コントロール条件と比較して learning skill の向上を認めた（$P = 0.036$）。ブロック間では、Block 2 と比較して Block 8 - 9 にて learning skill の向上を認めた（$P < 0.049$）。また、交互作用における事後検定では、本条件ではグループ間に有意差がないのに対して（$P = 0.155$）、コントロール条件では若年者のほうが高齢者よりも learning skill が有意に優れていた（$P < 0.001$）（図 2 C，D）。一方、その他の交互作用は有意差を認めなかった（all $P > 0.37$）。

C．TMS-EEG

各グループの実験 1 で計測した TEPs のバタフライプロットを図 4 A，B に示した。TEP の N45 成分におけるグループ間の比較では、M 1 を含む運動関連領域および一次体性感覚野の活動が高齢者で有意に低下を示した（$P < 0.05$）。一方、M 1 - seed の機能的結合では、グループ間で有意なクラスターは認められなかった（$P > 0.65$）。更に実験

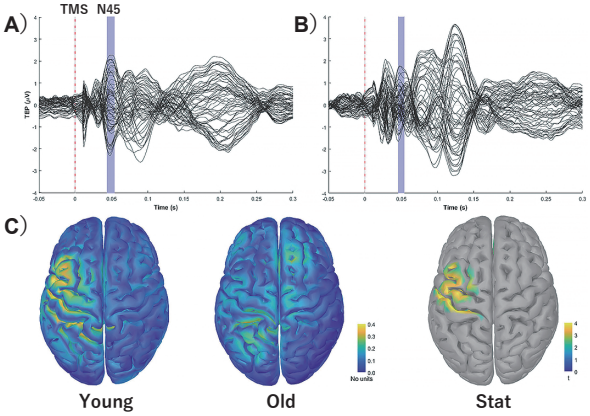


図４．加齢に伴う TEP の N45成分の変化
Fig.4. Age-related change in N45 of TEPs.
A）Grand-average of butterfly plot in young group. B）Grand-average of butterfly plot in old group. C）Comparison between young and old groups on N45 of TEPs. The colored voxels on the brain map in Stat represent significant difference between groups（$P < 0.05$）.

２では、TEP の N45成分または M１-seed の機能的結合は各グループ間の介入前後ではいずれも有意差を示さなかった（$P > 0.10$）。

考　　察

本研究では、加齢に伴う運動関連脳内ネットワークの特定および、非侵襲的脳刺激を使用してそのネットワークと運動機能の強化を図ることを目的とした。新手法 TMS-EEG によって計測した TEP の N45成分は高齢者で低下を示したものの、M１を基点とした運動関連ネットワークは、加齢によって変化を示さなかった。可塑性誘導後には、MEP、N45成分、運動関連ネットワークのいずれにおいても各グループで変化を示さなかったが、興味深いことに高齢者グループにおいて運動学習の促進を図ることに成功した。

多くの先行研究では、高齢者では M１の可塑性機能や抑制機能が低下することが報告されており[2,7]、これらと関連して運動機能の低下が引き起こることが明らかになっている。一方、本研究では、新手法である TMS-EEG を使用して TEP の N45成分が高齢者で低下していることを初めて明らかにした。N45成分は M１の gamma-aminobutyric acid（GABA）を含む抑制活動を反映していることから[3]、本研究結果は高齢者において M１の GABA の活動が低下していることを示唆している。一方、本研究の仮説に反して、運動関連ネットワークは高齢者で低下を示さなかった。その理由として、加齢は運動関連ネットワークよりも、N45成分のような M１の活動そのものに大きく影響を与えるということかもしれない。しかし、本研究では機能的結合の解析はβ帯域や M１-seed のみに限定したため、αやγなどの他の帯域や、補足運動野や運動前野などを seed とした更なる解析が要求されるかもしれない。

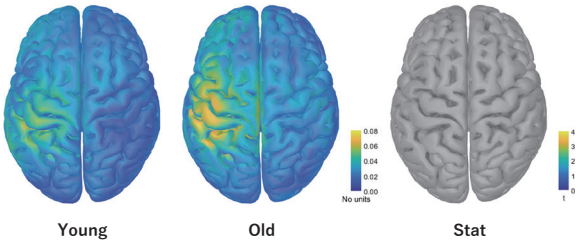


図５．加齢に伴う M1-seed の機能的結合の変化
Fig.5. Age-related change in M1-seed functional connectivity. Grand-average of beta-band M1-seed functional connectivity in young and old groups. The brain map in Stat did not show any significant differences between groups（$P > 0.11$）.

非侵襲的脳刺激は、皮質脊髄路の興奮性を表す MEP、M１の興奮性を表す TEP、運動関連ネットワークを表す M１-seed の機能的結合のそれぞれに影響を及ぼさなかったが、高齢者の運動学習を促進することができた。本研究で使用した非侵襲的脳刺激法は、MEP および TEP の N45成分を変動させることが先行研究より示されている[10]。しかし、本研究では、その結果を再現できなかったことから、その効果には被験者間にて大きなばらつきがあるのかもしれない。また、M１-seed の運動関連ネットワークも変化しなかったことから、MEP/TEP と同様に被験者間で大きなばらつきがあるのか、または運動関連ネットワークの変化を誘導するには有効な手法ではないかもしれない。それにもかかわらず、本介入は高齢者の運動学習を高めることが示された。どのようなメカニズムで運動学習を促進しているのかは本研究からは説明できないが、非侵襲的脳刺激法は、高齢者の運動機能を高める有用なツールになる潜在性が示された。しかし、本研究で使用した生理学的指標からは、脳内の可塑的変化をとらえることができなかったため、異なる解析手法、または機能的核磁気共鳴法や脳磁図などの異なる脳イメージング装置を使用して、将来的にその詳細なメカニズムを

解明する必要がある。また、実験２の高齢者グループでは、４名の少ないサンプルだったため、本研究で得られた結果は高い信頼性があるとはいえない。そのため、今後、サンプル数を増やし同様の結果が得られるかについても引き続き検討していく。

総　　括

本研究では新手法 TMS-EEG を使用し、高齢者では特定の運動関連ネットワークの変化は示されなかったが、M１における GABA を含む抑制性ネットワークが低下していることが初めて示された。また、非侵襲的脳刺激法は、M１の興奮性および M１-seed の運動関連ネットワークに影響を及ぼさなかったが、高齢者において運動学習を特異的に強化することが示された。その脳内メカニズムは本研究のみでは明らかにできなかったが、非侵襲的脳刺激法は高齢者の運動学習を高める有効なリハビリテーション手法になるかもしれない。

謝　　辞

本研究に対して助成を賜りました公益財団法人明治安田生命厚生事業団のご支援に深く感謝を申し上げます。

参 考 文 献

1）Cassady K, et al.（2019）: Sensorimotor network segregation declines with age and is linked to GABA and to sensorimotor performance. Neuroimage, **186**, 234-244.

2）Cuypers K, et al.（2020）: Task-related measures of short-interval intracortical inhibition and GABA levels in healthy young and older adults: a multimodal TMS-MRS study. Neuroimage, **208**, 116470.

3）Darmani G, et al.（2016）: Effects of the selective alpha5-GABAAR antagonist S44819 on excitability in the human brain: a TMS-EMG and TMS-EEG phase I study. J Neurosci, **36**, 12312-12320.

4）Ghasemian-Shirvan E, et al.（2020）: Age-related differences of motor cortex plasticity in adults: a transcranial direct current stimulation study. Brain Stimul, **13**, 1588-1599.

5）Hand BJ, et al.（2022）: Motor cortex plasticity and visuomotor skill learning in upper and lower limbs of endurance-trained cyclists. Eur J Appl Physiol, **122**, 169-184.

6）Opie GM, et al.（2020）: Investigating the influence of paired-associative stimulation on multi-session skill acquisition and retention in older adults. Clin Neurophysiol, **131**, 1497-1507.

7）Opie GM, et al.（2017）: Priming theta burst stimulation enhances motor cortex plasticity in young but not old adults. Brain Stimul, **10**, 298-304.

8）Rempe MP, et al.（2022）: Spontaneous sensorimotor beta power and cortical thickness uniquely predict motor function in healthy aging. Neuroimage, **263**, 119651.

9）Rogasch NC, et al.（2017）: Analysing concurrent transcranial magnetic stimulation and electroencephalographic data: a review and introduction to the open-source TESA software. Neuroimage, **147**, 934-951.

10）Sasaki R, et al.（2022）: Modulation of I-wave generating pathways with repetitive paired-pulse transcranial magnetic stimulation: a transcranial magnetic stimulation-electroencephalography study. Neuromodulation, in press.

第 37 回若手研究者のための健康科学研究助成成果報告書
2020 年度 *pp*.87～93（2023.7）

小児と母親の身体活動度および座位行動と骨密度との関連についての疫学研究

谷　川　果菜美[*,**]　池　原　賢　代[*,**]　磯　　博　康[**,***]

ASSOCIATIONS OF PHYSICAL ACTIVITY AND SEDENTARY BEHAVIOR WITH CALCANEUS BONE DENSITY AMONG MOTHERS AND CHILDREN

Kanami Tanigawa, Satoyo Ikehara, and Hiroyasu Iso

Key words: physical activity, quantitative ultrasound, mother, children, cross sectional study.

緒　　言

子どもの健康問題として、骨密度低下が注目されている[10]。学校管理下の災害の基本統計[8]においても、小学生の骨折発生率は直近の30年間で約２倍に増加した。子どもの骨密度は成長とともに増加し、思春期に最大となり、その後は徐々に減少することが知られている[5]。子どもの骨密度に影響を及ぼす要因として、母親の骨密度、子どもの運動や栄養（カルシウムやビタミンＤ等）の生活習慣が報告されている。

近年、外遊びの減少やインターネットの普及など社会環境の変化、更には新型コロナウイルス感染症の流行により、子どもの運動不足や体力低下が懸念されており、同様の状況は成人においても予想される。しかしながら、我が国では、若年成人女性や子ども、特に母親と子どもを対象にして、身体活動度や座位時間（テレビ視聴・ゲーム使用の時間など）と骨密度との関連を検討した大規模疫学研究からのエビデンスは極めて少ない。

そこで、本研究では、子どもおよび母親の身体活動度・座位行動と骨密度の関連について、横断的に検討することを目的とした。

方　　法

Ａ．研究デザインおよび対象者

本研究の対象者は、環境省「子どもの健康と環境に関する全国調査（エコチル調査）」の大阪ユニットセンターに登録されている子どもとその母親である。エコチル調査では、全国の15ユニットセンターにおいて、2011年１月～2014年３月にリクルートを行い、妊婦約10万人から参加同意を得た。大阪地域の調査運営は大阪ユニットセンター（大阪大学および大阪母子医療センター）が行い、8043人の参加同意を得て、現在もフォローアップ調査を継続している。エコチル調査では、全体調査や詳細調査に加え、研究者が独自で研究費を獲得し国立環境研究所（コアセンター）の承認を得

*　大阪大学大学院医学系研究科社会医学講座　Department of Social Medicine, Osaka University Graduate School of Medicine, Osaka, Japan.
**　大阪大学エコチル調査大阪ユニットセンター　Osaka Regional Center for Japan Environment and Children's Study（JECS）, Osaka University, Osaka, Japan.
***　国立国際医療センター国際医療協力局グローバルヘルス政策研究センター　Institute for Global Health Policy Research, Bureau of International Health Cooperation, National Center for Global Health and Medicine, Tokyo, Japan.

て追加調査を実施することが認められている。本研究は、小学２年学童期検査（2019～2022年度）の追加調査として、子どもおよび母親を対象とし、身体計測、骨密度測定、質問票調査、尿検査等を実施した。本研究は大阪大学医学部附属病院倫理審査委員会の承認を受けた（承認番号：18493）。参加者には、書面による同意を得た。

学童期検査会場に来場した3203組の母子のうち、3120組の母子が追加調査に参加した。骨密度検査未実施日での参加412組、骨密度検査や質問票調査の身体活動度・座位行動に関する情報の欠損48組、質問票調査の身体活動度・座位行動に関する不適切な情報35組を削除し、2625組の母子を本研究の分析対象とした。

Ｂ．身体活動度・座位行動

学童期検査会場での質問票調査において、子どもおよび母親の身体活動度・座位行動に関する情報を収集した。

子どもの身体活動度では、小児用国際質問票である青少年健康行動質問票（Health Behaviour in School-aged Children; HBSC）を用いた。質問項目「授業以外：あなたはふだん、息切れしたり汗をかいたりするくらいの運動を何回しますか？」および「授業以外：あなたはふだん、自由な時間に、息切れしたり汗をかいたりするくらいの運動を１週間に何時間しますか？」に対し、「週２～３回以上」かつ「週に約１時間以上」と回答した場合を「高身体活動」、それ以外を「低身体活動」に分類した。日本の子どもを対象とした日本語版HBSC質問票に関する妥当性検討では、質問票での１日60分以上動いた日数と加速度計での測定結果との相関は r = 0.32（$P < 0.01$）であったことが報告されている[9]。

母親の身体活動度の把握には、成人用国際質問票である国際標準化身体活動質問票（International Physical Activity Questionnaire; IPAQ）を使用した。強い身体活動・中等度の身体活動・歩行の頻度および時間の情報を収集し、ガイドライン[6]に基づいて、データクリーニングを実施した。また、同ガイドラインを用いて、強い身体活動に関する身体活動量（8.0×時間（分/日）×日数（日/週））、中等度の身体活動に関する身体活動量（4.0×時間（分/日）×日数（日/週））および歩行に関する身体活動量（3.3×時間（分/日）×日数（日/週））の和を総身体活動量（単位：メッツ・分/週）として算出し、身体活動の程度や総身体活動量より、「高身体活動」「中身体活動」「低身体活動」に区分した（表１）。日本人を対象とした日本語版IPAQに関する妥当性検討では、質問票と生活活動記録間の相関は r = 0.63、質問票と加速度計での測定結果間の相関は r = 0.37～0.39であったことが報告されている[7]。

また、母子の座位行動を把握するために、１日当たりの座位行動（総座位時間，テレビ視聴時間，ゲーム使用時間）の時間に関する情報を収集し、それぞれ四分位群に分類した。

Ｃ．骨密度測定

子どもと母親の骨密度測定では、定量的超音波測定法装置 A-1000 EXP Ⅱ（GE Healthcare Japan, Tokyo, Japan）を用い、右足で測定した。本研究で使用する装置では、超音波伝播速度（sound of speed; SOS）および超音波減衰定数（broadband

表１．母親の身体活動度の分類
Table 1. Criteria for physical activity categories among mothers[6].

		Criteria
Category 3	High	a）Vigorous-intensity activity on at least 3 days and accumulating at least 1500 MET-minutes/week OR b）7 or more days of any combination of walking, moderate- or vigorous-intensity activities accumulating at least 3000 MET-minutes/week
Category 2	Moderate	a）3 or more days of vigorous-intensity activity of at least 20 minutes per day OR b）5 or more days of moderate-intensity activity and/or walking of at least 30 minutes per day OR c）5 or more days of any combination of walking, moderate-intensity or vigorous-intensity activities achieving a minimum Total physical activity of at least 600 MET-minutes/week
Category 1	Low	Those individuals who not meet criteria for Categories 2 or 3

表２．子どもの身体活動度別の基本属性
Table 2. Basic charactristics of children according to categories of physical activity.

	Physical activity			
	Inactive (n = 804, 30.6%)		Active (n = 1821, 69.4%)	
	n	%	n	%
Age				
7 years old	532	(66.2)	1149	(63.1)
8 years old	272	(33.8)	672	(36.9)
Sex				
Male	349	(43.4)	992	(54.5)
Female	455	(56.6)	829	(45.5)
Body mass index				
Normal	697	(86.7)	1628	(89.4)
Overweight	107	(13.3)	192	(10.5)
Missing	0	(0.0)	1	(0.1)
Sleep duration				
< 9 hours	107	(13.3)	232	(12.7)
≥ 9 hours	694	(86.3)	1580	(86.8)
Missing	3	(0.4)	9	(0.5)
History of fracture				
No	733	(91.2)	1637	(89.9)
Yes	71	(8.8)	183	(10.0)
Missing	0	(0.0)	1	(0.1)
Total sedentary behavior（min/day）				
Q1	168	(20.9)	399	(21.9)
Q2	270	(33.6)	653	(35.9)
Q3	173	(21.5)	333	(18.3)
Q4	193	(24.0)	436	(23.9)
Watching TV（min/day）				
Q1	112	(13.9)	225	(12.4)
Q2	280	(34.8)	708	(38.9)
Q3	222	(27.6)	496	(27.2)
Q4	190	(23.6)	392	(21.5)
Playing games（min/day）				
Q1	258	(32.1)	567	(31.1)
Q2	136	(16.9)	349	(19.2)
Q3	222	(27.6)	492	(27.0)
Q4	188	(23.4)	413	(22.7)
Maternal employment				
No/Other	211	(26.2)	453	(24.9)
Yes	593	(73.8)	1366	(75.0)
Missing	0	(0.0)	2	(0.1)
Marital statas of parents				
Divorced/Unmarried/Deceased	57	(7.1)	121	(6.6)
Married	747	(92.9)	1699	(93.3)
Missing	0	(0.0)	1	(0.1)
Household income				
0-3999999 yen/year	181	(22.5)	336	(18.5)
≥ 4000000 yen/year	608	(75.6)	1447	(79.5)
Missing	15	(1.9)	38	(2.1)

表 3．母親の身体活動度別の基本属性
Table 3. Basic charactristics of mothers according to categories of physical activity.

	Physical activity					
	Low (n = 1550, 59.0%)		Moderate (n = 760, 29.0%)		High (n = 315, 12.0%)	
	n	%	n	%	n	%
Age						
< 30 years old	33	(2.1)	18	(2.4)	18	(5.7)
30-34 years old	201	(13.0)	130	(17.1)	76	(24.1)
35-39 years old	508	(32.8)	234	(30.8)	97	(30.8)
≥ 40 years old	808	(52.1)	378	(49.7)	124	(39.4)
Body mass index						
Underweight	141	(9.1)	67	(8.8)	40	(12.7)
Normal	1128	(72.8)	547	(72.0)	211	(67.0)
Overweight	278	(17.9)	145	(19.1)	64	(20.3)
Missing	3	(0.2)	1	(0.1)	0	(0.0)
Sleep duration						
< 7 hours	771	(49.7)	385	(50.7)	163	(51.7)
≥ 7 hours	777	(50.1)	375	(49.3)	151	(47.9)
Missing	2	(0.1)	0	(0.0)	1	(0.3)
History of fracture						
No	1096	(70.7)	511	(67.2)	206	(65.4)
Yes	454	(29.3)	248	(32.6)	109	(34.6)
Missing	0	(0.0)	1	(0.1)	0	(0.0)
Menopause						
No	1497	(96.6)	739	(97.2)	300	(95.2)
Yes	32	(2.1)	12	(1.6)	12	(3.8)
Missing	21	(1.4)	9	(1.2)	3	(1.0)
Total sedentary behavior（min/day）						
Q1	413	(26.6)	237	(31.2)	121	(38.4)
Q2	249	(16.1)	176	(23.2)	87	(27.6)
Q3	426	(27.5)	192	(25.3)	73	(23.2)
Q4	462	(29.8)	155	(20.4)	34	(10.8)
Watching TV（min/day）						
Q1	413	(26.6)	194	(25.5)	86	(27.3)
Q2	468	(30.2)	248	(32.6)	90	(28.6)
Q3	419	(27.0)	195	(25.7)	93	(29.5)
Q4	250	(16.1)	123	(16.2)	46	(14.6)
Playing games（min/day）						
Q1	679	(43.8)	298	(39.2)	107	(34.0)
Q2	96	(6.2)	63	(8.3)	25	(7.9)
Q3	228	(14.7)	135	(17.8)	59	(18.7)
Q4	547	(35.3)	264	(34.7)	124	(39.4)
Employment						
No/Other	457	(29.5)	177	(23.3)	30	(9.5)
Yes	1091	(70.4)	583	(76.7)	285	(90.5)
Missing	2	(0.1)	0	(0.0)	0	(0.0)
Marital statas						
Divorced/Unmarried/Deceased	92	(5.9)	65	(8.6)	21	(6.7)
Married	1457	(94.0)	695	(91.4)	294	(93.3)
Missing	1	(0.1)	0	(0.0)	0	(0.0)
Household income						
0-3999999 yen/year	287	(18.5)	157	(20.7)	73	(23.2)
≥ 4000000 yen/year	1234	(79.6)	586	(77.1)	235	(74.6)
Missing	29	(1.9)	17	(2.2)	7	(2.2)

ultrasound attenuation; BUA）を測定し、これらよりスティフネス値（stiffness index; SI）が算出される（計算式：SI = 0.28 × SOS + 0.67 × BUA−420）。先行研究では、踵骨での定量的超音波測定法装置にて、日本人男女において骨折リスクを予測できることが報告されている[4)]。本研究では、スティフネス値の下位５％（子ども：60.9，母親：69.4）を低骨密度と定義した。

D．統計解析

子どもおよび母親の身体活動度・座位行動と骨密度との関連を明らかにするために、ロジスティック回帰分析を用いて、低骨密度に関する多変量調整オッズ比および95%信頼区間を算出した。調整変数として、子どもの解析では、子どもの年齢（７歳，８歳）、子どもの性別（男性，女性）、子どもの体格（body mass index; BMI）（標準，過体重）、子どもの睡眠時間（９時間未満，９時間以上）、子どもの骨折歴（なし，あり）、世帯収入（400万円/年未満，400万円/年以上）、母親の就労（主婦・無職・学生・その他，常勤・パート・自営業）、父母の婚姻状況（婚姻，未婚・死別・離婚）を使用した。母親の解析では、母親の年齢（30歳未満，30〜34歳，35歳以上）、母親の体格（BMI）（やせ，標準，肥満）、母親の睡眠時間（７時間未満，７時間以上）、母親の骨折歴（なし，あり）、母親の閉経（なし，あり）、世帯収入（400万円/年未満，400万円/年以上）、母親の就労（主婦・無職・学生・その他，常勤・パート・自営業）、父母の婚姻状況（婚姻，未婚・死別・離婚）を調整した。また、スピアマンの順位相関係数を用い、身体活動度・座位行動および骨密度に関する母子間での相関について検討した。

すべての統計解析は両側検定とし、有意水準を５％に設定した。また、すべての統計解析には、SAS9.4（SAS Institute, Cary, NC, USA）を用いた。

結　　果

子どもの身体活動度別の基本属性を表２に、母親の身体活動度別の基本属性を表３に示す。子どもの年齢は７歳1681人、８歳944人、子どもの性別は男児1341人、女児1284人、子どもの身体活動度は低身体活動804人、高身体活動1821人であった。また、母親の年齢は30歳未満69人、30〜34歳407人、35〜39歳839人、40歳以上1310人、母親の身体活動度は低身体活動1550人、中身体活動760人、高身体活動315人、母親の身体活動度のカテゴリ別の総身体活動量の中央値は低身体活動132メッツ・分/週、中身体活動1386メッツ・分/週、高身体活動4638メッツ・分/週であった。

表４に、身体活動度別にみた低骨密度のオッズ比を示す。子どもでは、低身体活動群と比較して、高身体活動群において低骨密度の割合が低く、多変量調整オッズ比（95% 信頼区間）は0.62（0.43-0.89）であった。また、母親では、低身体活動群と比較して、高身体活動群において低骨密度の割合が低い傾向にあり、多変量調整オッズ比（95% 信頼区間）は0.48（0.23-1.02）であった。一方、座位行動と低骨密度の割合との間には関連はみられなかった（表５）。

更に、母子間のスティフネス値のスピアマンの相関係数は、r = 0.18（$P < 0.01$）であった。また、母子間の身体活動度、総座位時間、テレビ視聴時

表４．身体活動度別にみた低骨密度のオッズ比
Table 4. Odd ratio（ORs）and 95% confidence intervals（CIs）of low bone density according to categories of physical activity.

	Children[a)]		Mothers[b)]		
	Inactive	Active	Low	Moderate	High
Total number	804	1821	1550	760	315
Number of cases	54	78	89	35	8
Crude ORs（95% CIs）	1.00	0.62（0.44-0.89）	1.00	0.79（0.53-1.18）	0.43（0.21-0.89）
Multivariable ORs（95% CIs）	1.00	0.62（0.43-0.89）	1.00	0.83（0.55-1.25）	0.48（0.23-1.02）

a）Adjusted for age, sex, body mass index, sleep duration, history of fracture, maternal employment, marital status of parents and household income in the multivariable model.

b）Adjusted for age, body mass index, sleep duration, history of fracture, menopause, employment, marital status and household income in the multivariable model.

表５．座位行動別にみた低骨密度のオッズ比

Table 5. Odd ratio（ORs）and 95% confidence intervals（CIs）of low bone density according to categories of sedentary behavior.

	Children[a)]				Mothers[b)]			
	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
Total sedentary behavior（min/day）, Median（IQR）	120（90, 120）	180（180, 240）	300（300, 360）	540（480, 720）	120（60, 120）	180（180, 180）	300（240, 360）	540（480, 600）
Total number	567	923	506	629	771	512	691	651
Number of cases	27	47	22	36	39	23	30	40
Crude ORs（95% CIs）	1.00	1.07（0.66-1.74）	0.91（0.51-1.62）	1.21（0.73-2.03）	1.00	0.88（0.52-1.50）	0.85（0.52-1.39）	1.23（0.78-1.94）
Multivariable ORs（95% CIs）	1.00	1.12（0.69-1.82）	0.97（0.54-1.73）	1.33（0.79-2.22）	1.00	0.87（0.51-1.49）	0.83（0.51-1.37）	1.23（0.78-1.95）
Watching TV（min/day）, Median（IQR）	30（20, 30）	60（60, 60）	120（120, 120）	180（180, 240）	30（0, 30）	60（60, 60）	120（120, 120）	180（180, 240）
Total number	337	988	718	582	693	806	707	419
Number of cases	16	50	39	27	35	31	38	28
Crude ORs（95% CIs）	1.00	1.07（0.60-1.90）	1.15（0.63-2.09）	0.98（0.52-1.84）	1.00	0.75（0.46-1.23）	1.07（0.67-1.71）	1.35（0.81-2.25）
Multivariable ORs（95% CIs）	1.00	1.02（0.57-1.82）	1.07（0.59-1.95）	0.95（0.50-1.81）	1.00	0.77（0.47-1.27）	1.05（0.65-1.69）	1.25（0.74-2.12）
Playing games（min/day）, Median（IQR）	0（0, 0）	30（30, 30）	60（60, 60）	120（120, 150）	0（0, 0）	10（10, 17.5）	30（30, 30）	60（60, 120）
Total number	825	485	714	601	1084	184	422	935
Number of cases	43	19	41	29	67	9	15	41
Crude ORs（95% CIs）	1.00	0.74（0.43-1.29）	1.11（0.71-1.72）	0.92（0.57-1.50）	1.00	0.78（0.38-1.59）	0.56（0.32-0.99）	0.70（0.47-1.04）
Multivariable ORs（95% CIs）	1.00	0.73（0.42-1.27）	1.19（0.76-1.87）	1.15（0.69-1.91）	1.00	0.83（0.41-1.71）	0.61（0.34-1.08）	0.77（0.51-1.16）

a）Adjusted for age, sex, body mass index, sleep duration, history of fracture, maternal employment, marital status of parents and household income in the multivariable model.

b）Adjusted for age, body mass index, sleep duration, history of fracture, menopause, employment, marital status and household income in the multivariable model.

間、ゲーム時間のスピアマンの相関係数は、それぞれ、r = 0.07（$P < 0.01$）、r = 0.41（$P < 0.01$）、r = 0.33（$P < 0.01$）、r = 0.22（$P < 0.01$）であった。

考　　察

本研究では、子どもにおいて、低身体活動度の者と比べて、高身体活動度の者は、低骨密度の割合が低いことが示された。また、同様に、母親において、低身体活動度の者に比べて、高身体活動度の者は、低骨密度の割合が低い傾向があった。更に、母子間の骨密度では弱い正の相関、母子間の総座位時間、テレビ視聴時間、ゲーム時間では、弱い～中等度の正の相関が認められた。

身体活動度が骨に与える影響としては、子どもの骨の成長に有効であること[2)]、成人女性では骨量維持に寄与すること[1)]が既に明らかにされている。また、本研究では子どもおよび母親の身体活動度の間で相関が認められなかったが、先行研究にて子どもの身体活動度は、母親よりも父親の身体活動度との関連が強かったことが報告されている[3)]。

本研究での強みは、大規模母子疫学研究において、子どもおよびその母親を対象として、身体活動度および座位行動と骨密度との関連について検討したことである。また、本研究は、新型コロナウイルス感染症の流行下での実施となったが、感染症対策を十分に行い、貴重なデータを得ることができた。一方で、本研究での限界として、以下の 2 点が考えられる。まず、本研究は横断的検討のため、因果関係を示すことができなかった。今後、縦断的検討に向けて、引き続きデータを収集する必要がある。次に、身体活動度や座位行動は自己記入式の質問票を用いたことである。身体活動度に関しては加速度計との相関は中等度であったが、座位行動の妥当性に関するエビデンスは乏しく、確立されたカットオフ値も存在しないため、誤分類が発生した可能性がある。

総　　括

子どもにおいて、身体活動度と低骨密度の割合との間に負の関連が認められた。また、母親においても、低身体活動度と比較して、高身体活動度で低骨密度の割合が低い傾向がみられた。母子間の骨密度との間には弱い正の相関、母子間の総座位時間、テレビ視聴時間、ゲーム時間との間には弱い～中等度の正の相関が認められた。

謝　　辞

本研究は、第 37 回若手研究者のための健康科学研究助成のご支援を賜り実施しました。公益財団法人明治安田厚生事業団および関係者の皆さまに厚く御礼申し上げます。

参 考 文 献

1）Boreham CA, et al.（2011）: Physical activity in childhood and bone health. Br J Sports Med, **45**, 877-879.
2）Borer KT（2005）: Physical activity in the prevention and amelioration of osteoporosis in women: interaction of mechanical, hormonal and dietary factors. Sports Med, **35**, 779-830.
3）Ferreira I, et al.（2007）: Environmental correlates of physical activity in youth - a review and update. Obes Rev, **8**, 129-154.
4）Fujiwara S, et al.（2005）: Heel bone ultrasound predicts non-spine fracture in Japanese men and women. Osteoporos Int, **16**, 2107-2112.
5）Heaney RP, et al.（2000）: Peak bone mass. Osteoporos Int, **11**, 985-1009.
6）IPAQ Research Committee（2005）: Guidelines for Data Processing and Analysis of the International Physical Activity Questionnaire, 1-15.
7）村瀬訓生ら（2002）：身体活動量の国際標準化― IPAQ 日本語版の信頼性 , 妥当性の評価．厚生の指標，**49**, 1-9.
8）日本スポーツ振興センター（2022）：学校の管理下の災害 令和 4 年版，1-267.
9）Tanaka C, et al.（2021）: Validation of the physical activity questions in the World Health Organization Health Behavior in School-aged Children survey using accelerometer data in Japanese children and adolescents. J Phys Act Health, **18**, 151-156.
10）田中弘之ら（2006）：子どもの骨を丈夫にするための提言．日本骨粗鬆症学会雑誌，**14**, 11-23.

第 37 回若手研究者のための健康科学研究助成成果報告書
2020 年度 *pp.*94～100（2023.7）

エネルギー代謝における「脂肪酸レスポンダー・ノンレスポンダー」の存在明確化と特徴解明

矢　島　克　彦*

IDENTIFICATION AND CHARACTERIZATION OF FATTY ACID RESPONDER AND NON-RESPONDER IN ENERGY METABOLISM

Katsuhiko Yajima

Key words: energy metabolism, respiration quotient, fatty acid, fat oxidation.

緒　　言

近年、これまで「量」としてとらえられることが多かった脂肪の「質」の違いについての重要性が強調されており、日常的に摂取する脂肪の質が生活習慣病の発症率に影響すると報告されている[4)]。脂肪の主成分である脂肪酸は、化学構造の違いにより飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸の 2 種類に分類される。我々は、飽和脂肪酸をリッチに含む食事と比較し、一価不飽和脂肪酸をリッチに含む食事をすることで、24時間の呼吸商（respiratory quotient; RQ）が低下し、脂肪燃焼量が増加することを実証した[10)]。一方、個々の対象者データを精査したところ、RQ の経時変化（食事や睡眠時の RQ）に個人差が大きく生じていた。一般的に、中鎖脂肪酸、一価不飽和脂肪酸、多価不飽和脂肪酸は飽和脂肪酸よりも RQ を低下させ、肥満防止に効果的であると考えられている[3)]。しかしながら、脂肪の質が食後 RQ の完全な決定要因となるわけではないことが示された。

肥満や糖尿病発症の一次予防の観点からも、特定の脂肪酸を摂取した場合に RQ が低下するヒトと低下しにくいヒト（エネルギー代謝における脂肪酸レスポンダー・ノンレスポンダーと呼称する）の存在、およびその代謝的な特徴についての知見は興味深い。これらの背景から、脂肪酸組成の異なる 4 種類の油脂をリッチに含む食事を摂取した条件での、RQ の経時変化の特徴を分類することで、個人差の要因について検討した。

方　　法

A．研究デザインと倫理的配慮

本研究は、城西大学人を対象とする医学系研究倫理審査委員会の承認を得て実験を開始した（承認番号：人医倫 -2020-21）。インフォームドコンセントを取得した若年健康男性を対象に、1 人 4 試行のブラインド・ランダム・クロスオーバーデザインで実施した。対象者は食物摂取頻度調査（Food Frequency Questionnaire based on food groups; FFQg, 建白社）、体組成測定を行ったのち試験日の17:00に代謝測定室（ヒューマンカロリーメーター，FHC-15S, 富士医科産業）に入室した。

* 城西大学薬学部栄養生理学研究室　Laboratory of Nutritional Physiology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Josai University, Saitama, Japan.

表 1．被験者の特徴
Table 1. Characteristics of the study population.

	Mean（n = 8）	SE	S1-7 mean	SE	S8
Age, years	22.9	0.8	23.4	0.7	20.0
Height, cm	170.5	2.8	169.4	3.0	178.0
Body weight, kg	61.9	2.5	60.7	2.5	70.7
Body fat, %	16.1	2.8	14.7	2.8	25.7
BMI, kg/m^2	21.3	0.9	21.2	1.0	22.3

SE; standard error, BMI; body mass index, S1-7 mean; mean value of subject 1-7.

表 2．試験食の栄養素組成
Table 2. Composition of experimental meals.

	MC diet	PA diet	OA diet	A lino diet
Energy, kcal/day	2160 ± 89	2160 ± 89	2160 ± 89	2160 ± 89
Protein, %/total energy	7	7	7	7
Fat, %/total energy	45	45	45	45
Carbohydrate, %/total energy	48	48	48	48
Fatty acid profile（g/100g）				
Caprylic acid（C8:0）	55.8	0.0	0.0	0.0
Capric acid（C10:0）	17.2	0.0	0.0	0.0
Lauric acid（C12:0）	0.0	0.3	0.0	0.0
Myristic acid（C14:0）	0.1	1.0	0.0	0.0
Palmitic acid（C16:0）	4.2	44.6	5.4	7.8
Stearic acid（C18:0）	5.3	5.4	3.5	7.3
Oleic acid（C18:1）	10.7	38.3	80.8	19.4
Linoleic acid（C18:2）	4.5	9.4	8.5	15.3
A-linolenic acid（C18:3）	1.1	0.2	0.2	48.6
Arachidonic acid（C20:4）	0.2	0.0	0.0	0.2
EPA（C20:5）	0.0	0.0	0.0	0.0
DHA（C22:6）	0.1	0.0	0.0	0.2
Other fatty acids	0.7	0.8	1.6	1.3

Values are means ± standard error. MC diet; middle chain fatty acid diet trial, PA diet; palmitic acid diet trial, OA diet; oleic acid diet trial, A lino diet; a-linolenic acid diet trial.

18:00にエネルギー代謝測定を開始し、19:00に高脂肪試験食（脂質エネルギー比率40％）を摂取、23:00～翌朝 7:00までを睡眠期間とした。7:00に起床時尿の採取を行い、1 試行を完了とした。1 週間程度のウォッシュアウト期間をはさみ、同様の試験を 4 試行実施した。結果として、18:00～7:00までの13時間のエネルギー代謝結果を採用した。睡眠期間は脳波測定を行い、代謝測定期間のすべての尿を採取した。

B．対象者

若年健康男性10名を対象に実験を行った（途中リタイアした 2 名を除外し，8 例でデータ解析を行った）。対象者は BMI（body mass index）18.5 以上～25.0未満の通常体型の健常者とした。対象者の身体的特徴を表 1 に示した。

C．食事介入（規定食および試験食）

対象者は、試験前日に体格に合わせたエネルギー量の規定食（タンパク質：脂質：炭水化物％＝15：25：60）を朝・昼・晩に摂取した。試験当日は 4 種類の高脂肪試験食（①中鎖脂肪酸食（middle chain fatty acid; MC diet），②飽和脂肪酸パルミチン酸食（palmitic acid; PA diet），③一価不飽和脂肪酸オレイン酸食（oleic acid; OA diet），④多価不飽和脂肪酸 a- リノレン酸食（a-linolenic acid; A lino diet））のなかから 1 つを朝・昼・晩に摂取した。試験食の栄養素組成を表 2 に示した。

D．エネルギー代謝測定

ヒューマンカロリーメーターを用いて酸素濃度および二酸化炭素濃度の変化を記録し、エネルギー代謝（エネルギー消費量，糖質燃焼量，脂肪燃焼量，呼吸商）を 1 分ごとに算出した。

E．尿中メタボローム解析

尿サンプルを除タンパク処理し、内部標準物質（^{13}C acetyl-carnitine）を添加したのち液体クロマトグラフ質量分析計（LCMS-8050, SHIMAZU）を用いてメタボローム解析を行った。メタボロームは、エネルギー代謝関連物質（アシルカルニチン，クエン酸回路中間体など合計27種類）を定量とした。

F．睡眠時脳波測定

脳波計（Insomnogram, S'UIMIN）を用いて、睡眠脳波を記録した。臨床検査技師に脳波解析を依頼し、睡眠ステージ（覚醒，睡眠ステージ 1 ～ 3，レム睡眠）を判定、睡眠構築を評価した。

G．統計解析

30分ごとに算出した RQ 平均値を変数として主成分分析（SIMCA 13, Sartorius Stedim Biotech）を行った。同一対象者における 4 試行のプロットの位置関係が類似していた Subject 1 - 7 の平均値と、特徴的な位置関係を示した Subject 8 とを比較した。尿中の C 8 、C10アシルカルニチンにおける 4 試行間の有意差の有無は、一要因分散分析を行い検討した（SPSS, version 23.0）。

結　　果

A．主成分分析による RQ 経時変化の特徴

RQ（/30 min）を変数として主成分分析を行ったところ、図 1 のようにプロットされた。Subject 1 - 7 において MC diet 試行が 4 試行のうちで最も上部にプロットされ、その他 3 つの試行は中央部～下部にプロットされた。一方、Subject 8 においては A lino diet 試行が最も上部にプロットされ、PA diet 試行はグラフの外にプロットされた。この結果から、対象者 8 は脂肪酸の種類による RQ 変化の特徴が、他の対象者 7 名と異なる特徴を示すことが示唆された。

B．被験者特性の比較

体組成について、Subject 1 - 7 の平均値および

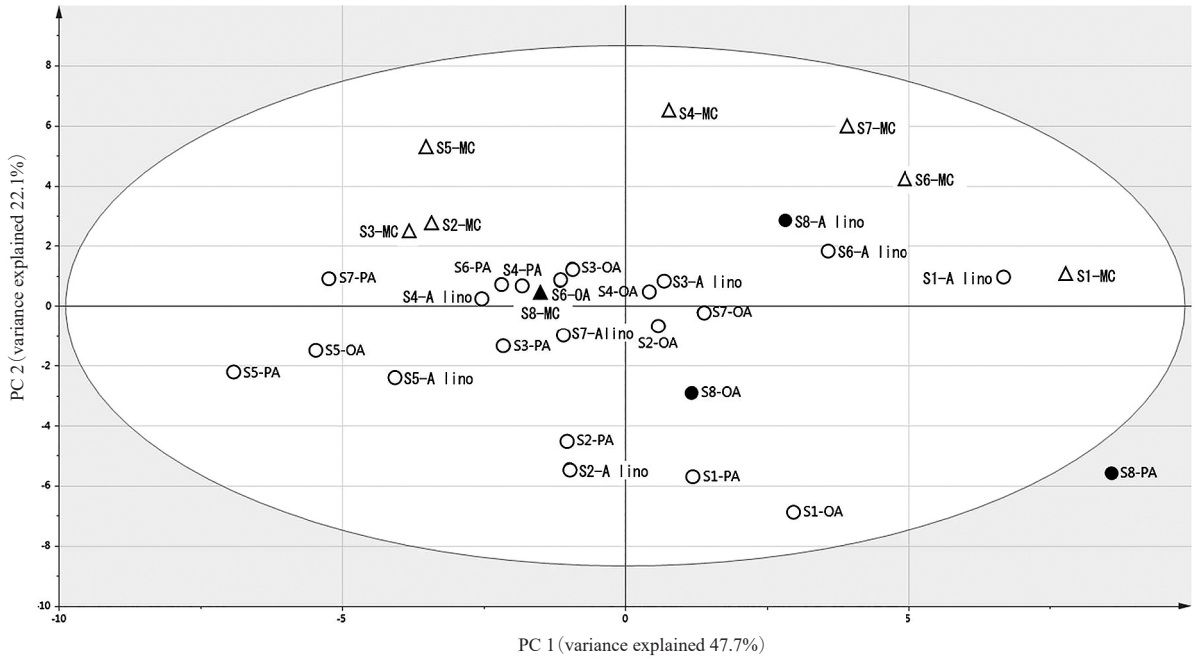


図 1．主成分分析による RQ 経時変化の特徴

Fig.1. Characteristics of time courses of change in RQ during measuring time by principal component analysis（PCA）.
The RQ was calculated at 30 minutes intervals for each subject and a total of 26 variables were subjected to PCA. PCA score plot of PC1-PC2, in which 26 variables were equally accounted for in the data sets. S indicated subject ID. Subjects 1-7 were plotted in white. Subject 8 was plotted in black. MC diet trial was indicated by triangles.
RQ; respiratory quotient, MC; middle chain fatty acid diet trial, PA; palmitic acid diet trial, OA; oleic acid diet trial, A lino; a-linolenic acid diet trial.

表 3．FFQg による栄養素摂取評価
Table 3.　The nutritional intake estimated from FFQg.

	S1-7 mean	SE	S8
Energy, kcal/day	1763	84	1997
Protein, %/total energy	13.6	0.7	15.7
Fat, %/total energy	30.1	1.9	34.4
Carbohydrate, %/total energy	56.3	2.1	49.9
Saturated fatty acids, g/day	9.9	0.8	10.5
Monounsaturated fatty acids, g/day	21.9	2.2	25.3
Polyunsaturated fatty acids, g/day	11.4	1.2	15.3
Cholesterol, mg/day	304.6	39.0	347.0
n3 fatty acids, g/day	1.6	0.2	2.4
n6 fatty acids, g/day	9.7	1.0	12.9
Dietary n6/n3 ratio	6.0	0.3	5.3

SE; standard error, S1-7 mean; mean value of subject 1-7. FFQg; Food Frequency Questionnaire based on food groups.

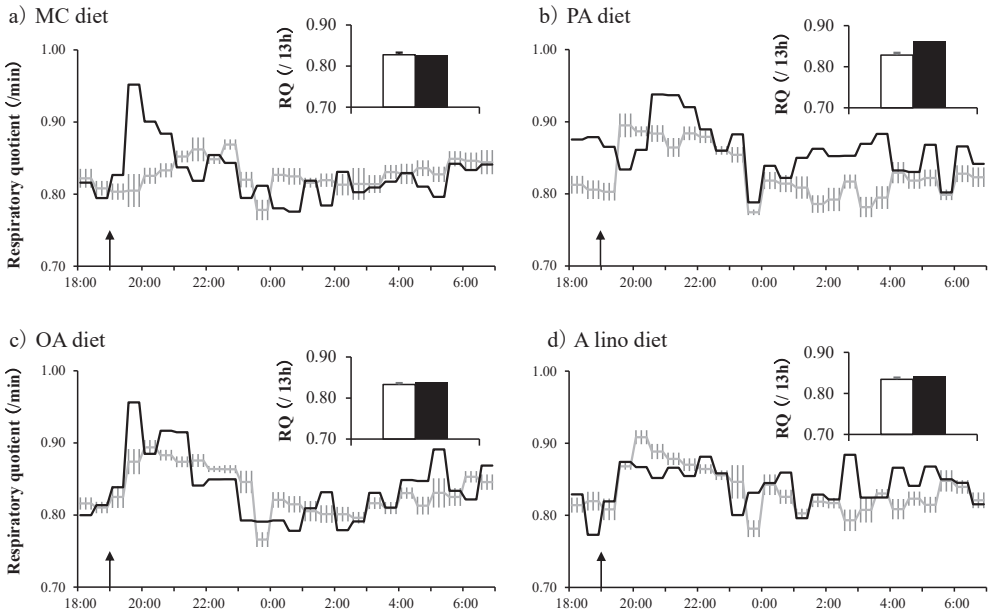


図 2．エネルギー代謝（RQ）の比較
Fig.2.　Comparison of energy metabolism（RQ）.
Time courses of changes in the RQ over 13-h were shown as the mean ± SE（n = 7）for the subjects 1-7（white）, and subject 8（black）.（a）MC,（b）PA,（c）OA, and（d）A lino diet trial were indicated. A prescribed meal was provided as breakfast（8:00）, lunch（12:30）, and dinner（19:00）, the times of which are indicated as arrows.
RQ; respiratory quotient, MC diet; middle chain fatty acid diet trial, PA diet; palmitic acid diet trial, OA diet; oleic acid diet trial, A lino diet; a-linolenic acid diet trial.

Subject 8 の数値を表 1 に示した。Subject 1 - 7 と比較して Subject 8 では体脂肪率が高値であったが、BMI に大きな差異は観察されなかった。FFQg の結果から、主要項目を抜粋し表 3 に示した。Subject 1 - 7 の平均値と比較して Subject 8 では脂質摂取比率が高く、糖質摂取比率が低かった。

C．エネルギー代謝（RQ）の比較

ヒューマンカロリーメーター測定より得られたエネルギー代謝データから、測定期間全体（13時間）の RQ 平均値および18:00から翌朝 7:00までの経時変化を図 2 に示した。測定期間全体の平均値においては、すべての試行で Subject 1 - 7 の平均値と Subject 8 との間に大きな差異は観察され

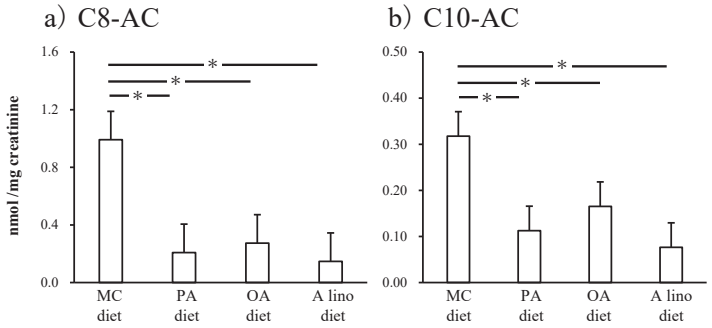


図３．尿中メタボローム定量値の比較

Fig.3. Comparison of urinary metabolites.

The mean urinary excretion of（a）C8 and（b）C10 - acylcarnitines over 13-h were shown as the mean ± SE（n = 8）.

MC diet; middle chain fatty acid diet trial, PA diet; palmitic acid diet trial, OA diet; oleic acid diet trial, A lino diet; a- linolenic acid diet trial.

Statistical analyses were performed using repeated-measures one-way analysis of variance, followed by Bonferroni post hoc tests. *: $P < 0.05$ vs MC diet.

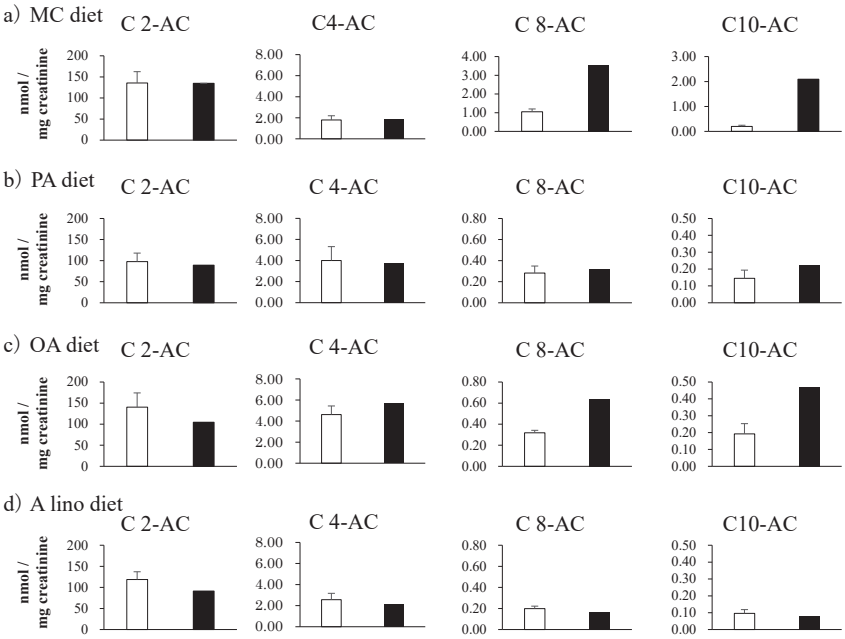


図４．Subject 1-7と Subject 8における尿中メタボローム定量値の比較

Fig.4. Comparison of urinary metabolites in subjects 1-7 and subject 8.

The mean urinary excretion of acylcarnitines over 13-h were shown as the mean ± SE（n = 7）for the subjects 1-7（white）, and the value of subject 8（black）.（a）MC,（b）PA,（c）OA, and（d）A lino diet trial were indicated.

MC diet; middle chain fatty acid diet trial, PA diet; palmitic acid diet trial, OA diet; oleic acid diet trial, A lino diet; a-linolenic acid diet trial.

なかった。経時変化の比較においては、MC diet 試行や PA diet 試行にて Subject 8 では特徴的な変化を示した。

D．尿メタボローム解析の比較

測定期間全体（13時間）の蓄尿したサンプル分析から得られた27種類のメタボローム定量値から、アシルカルニチン（C２，C４，C８，C10）を抜粋し図３、４に示した。MC diet 試行においては、他の３試行と比較してC８、C10アシルカルニチンの有意な増加を観察した（図３）。また、C８、C10アシルカルニチンにおいて、Subject 1 - 7 の平均値と比較して Subject 8 で高値を観察した。特に、MC diet 試行における Subject 8 では顕著な高値を観察した。

考　　察

従来のマスク型の呼気分析装置では、睡眠を妨げずに睡眠時エネルギー代謝を測定することは困難であった。しかしながら、筆者らは部屋型の呼気分析装置であるヒューマンカロリーメーターを使用することで測定手法上のリミテーションを突破し、食事や睡眠期間を含む長時間のエネルギー代謝測定を可能とした。本研究では、脂肪酸組成の異なる4種類の油脂をリッチに含む食事を摂取した条件での、RQの経時変化の特徴を分類することで、個人差の要因について検討した。

RQ平均値（/30min）を変数とした主成分分析の結果、各被験者のMC diet試行のプロットが上部に集中しており、その他3つの脂肪酸試行のプロットは中央部から下部に集中していた。しかしながら、Subject 8についてはA lino diet試行がMC diet試行よりも上部に位置し、PA試行が大きく右側のグラフ外にプロットされた。この結果から、Subject 8は他の被験者と比較して、脂肪酸組成の異なる4種類の油脂をリッチに含む食事による代謝反応が大きく異なると示された。そこで、Subject 1 - 7の平均値と比較を行い、Subject 8における身体的・代謝的な特徴を検討した。

FFQgの結果より、Subject 8は厚生労働省が示す脂質エネルギー比率の目安量[6]を大きく上回っていた。また、Subject 1 - 7の平均値と比較してSubject 8では日常的な脂質摂取量が多い。しかしながら、その他の栄養素や脂肪酸に特徴的な摂取状況は観察されなかった。食事性n 6 /n 3比率は生体膜リン脂質のn 6 /n 3比率に反映され、脂質代謝能に影響を与えることが報告されている[7]が、本研究では差異は観察されなかった。食品や栄養素の摂取状況は関連性が低いと考えられる。

4試行間におけるRQの比較より、測定期間全体（13時間）の平均値に差異は観察されなかった（図2）。しかしながら、経時変化を比較すると特徴的な差異が観察された。MC diet試行において、Subject 8は食後のRQが大きく上昇した（図2a）。PA diet試行において、食後のRQが大きく上昇し、睡眠期間も高い状態が継続した（図2b）。食後、および睡眠中の脂質代謝反応の差異が、主成分分析のプロット位置の特徴に繋がったと考えられる。

尿メタボローム解析の比較より、C2、C4アシルカルニチン排泄量に差異は観察されなかった。しかし、C8、C10アシルカルニチン排泄量については、MC diet試行においてその他の3試行と比較して有意な増加を観察した（図3）。MC diet試行はカプリル酸（C8）およびカプリン酸（C10）が試験食に含まれる総脂肪酸の70％以上を占めている。細胞内に流入したC8、C10のアシル化合物の増加が、MC diet試行の全Subjectsで観察されたC8、C10アシルカルニチン排泄量の高値を引き起こしたと考えられる。更にSubject 8に着目すると、Subject 1 - 7の平均値と比較しSubject 8にてMC diet試行でのC8、C10アシルカルニチン排泄量は顕著な高値を示した（図4）。中鎖脂肪酸は、油脂中の長鎖脂肪酸と消化吸収性が大きく異なり、肝臓に直接運ばれ素早く酸化されてエネルギー源となる[1]。その特性により、食後の熱産生が高く、食後の血中トリグリセリド濃度が上昇しない。結果的に、MC diet試行においてSubject 1 - 7の平均値では食後のRQが低い特徴を示した（図2a）。Subjects 8はMC diet摂取後のRQが上昇しており、中鎖脂肪酸のエネルギー消費が抑制されていることがわかった。このRQの反応が、C8、C10アシルカルニチン排泄量の顕著な高値を引き起こした要因であると考えられる。

アシルカルニチンは、細胞内の脂肪酸代謝産物であるアシル化合物を体外に排泄する働きを担っている[2]。尿中排泄量の増加は体重増加の初期応答となり[8]、特に中鎖アシルカルニチン（C8, C10）の増加は脂質代謝能の低下を示唆しているとされる[9]。Subject 1 - 7の平均値と比較し、Subjects 8におけるMC diet試行、OA diet試行のC8、C10アシルカルニチン排泄量の高値は、高脂肪試験食によって体内に流入した大量の脂肪酸代謝に適応できていない結果である可能性が示唆された。また、MC diet試行にて観察されたSubject 8の顕著な中鎖アシルカルニチン（C8, C10）の高値は、MC diet試行における食後RQの上昇と関連していると考えられる。Subject 1 - 7の平均値と比較し、Subject 8はMCT試行

での脂肪燃焼量が少ないため、尿中に排泄される中鎖アシルカルニチン（C８，C10）が高値を示した可能性が示唆された。

本研究は、１人につき４試行を行う大掛かりな代謝測定試験であったため、サンプルサイズが小さい点が課題である。今後の展望として、対象者数を増やすことでエネルギー代謝における脂肪酸レスポンダー、ノンレスポンダーの存在が明確化できると考える。また、筆者らは睡眠構築（ノンレム睡眠，レム睡眠の出現比率や睡眠効率など）が呼吸商の値と関連があることを明らかにしている[5)]。本研究でも睡眠時脳波を取得しているため、解析とエネルギー代謝との詳細な関連を今後検討していく。

総　　括

本研究によって、若年健康な男性対象者であっても、高脂肪食での RQ 経時変化には個人差が生じ、特定の脂肪酸を摂取した場合にその個人差が顕在化する可能性が示唆された。この現象は、高脂肪食条件における脂質代謝能力の差異が関与すると考えられる。

謝　　辞

本研究の遂行にあたり、助成を賜りました公益財団法人明治安田厚生事業団に感謝申し上げます。また、ヒューマンカロリーメーターの稼働、調整におきまして多大なるご協力を賜りました富士医科産業株式会社の皆さま、および本実験に協力いただきましたすべての方々に感謝申し上げます。

参 考 文 献

1）Crozier G, et al.（1987）: Metabolic effects induced by long-term feeding of medium-chain triglycerides in the rat. Metabolism, **36**, 807-814.
2）Dambrova M, et al.（2022）: Acylcarnitines: nomenclature, biomarkers, therapeutic potential, drug targets, and clinical trials. Pharmacol Rev, **74**, 506-551.
3）DeLany JP, et al.（2000）: Differential oxidation of individual dietary fatty acids in humans. Am J Clin Nutr, **72**, 905-911.
4）Gillingham LG, et al.（2011）: Dietary monounsaturated fatty acids are protective against metabolic syndrome and cardiovascular disease risk factors. Lipids, **46**, 209-228.
5）Kayaba M, et al.（2017）: Energy metabolism differs between sleep stages and begins to increase prior to awakening. Metabolism, **69**, 14-23.
6）厚生労働省（2019）：日本人の食事摂取基準（2020 年度版）.
7）Mejía-Zepeda R, et al.（2020）: Effect of alpha linolenic acid on membrane fluidity and respiration of liver mitochondria in normoglycemic and diabetic Wistar rats. J Bioenerg Biomembr, **52**, 421-430.
8）Morio B, et al.（2015）: Metabolomics reveals differential metabolic adjustments of normal and overweight subjects during overfeeding. Metabolomics, **11**, 920-938.
9）Patterson AD, et al.（2009）: Human urinary metabolomic profile of PPARr induced fatty acid b-oxidation. J Proteome Res, **8**, 4293-4300.
10）Yajima K, et al.（2018）: Meal rich in rapeseed oil increases 24-h fat oxidation more than meal rich in palm oil. PLoS One, **13**, e0198858.

第 37 回若手研究者のための健康科学研究助成成果報告書
2020 年度 *pp*.101～110（2023.7）

運動・スポーツのライフコースと認知症の関連
―高齢者を対象とした大規模地域コホート研究―

山北満哉[*]　辻大士[**]　金森悟[***]
谷友香子[****]　藤原武男[****]　近藤尚己[*****]
近藤克則[******]

ASSOCIATION BETWEEN LIFE COURSE OF EXERCISE, SPORTS, AND DEMENTIA: A LARGE-SCALE POPULATION-BASED COHORT STUDY OF OLDER ADULTS

Mitsuya Yamakita, Taishi Tsuji, Satoru Kanamori, Yukako Tani,
Takeo Fujiwara, Naoki Kondo, and Katsunori Kondo

Key words: sports participation, physical activity, life course, trajectory, dementia.

緒　　言

要介護の主要な要因である認知症は、2025年に患者数が約700万人にまで増加することが推計されており[7]、認知症の予防は日本において極めて重要な課題である。これまでに修正可能な認知症の12の予防因子の１つとして身体活動が報告されている[5]。また、社会参加も同様に認知症の予防因子であることが示されており[5]、身体活動と社会参加の双方の特徴を併せもつスポーツ組織への参加[2] は、認知症発症に対して予防的に作用することが予想される。しかしながら、身体活動と認知症との関連を検討したこれまでの報告では、追跡期間によって結果が異なっており、追跡期間が10年以上の長期的な検討では身体活動の認知症予防効果は示されておらず、運動習慣と認知症発症との因果関係は明らかにされてない。また、若年期や子どもの頃の運動と認知症の関連を検討した報告は限られており、ライフコースにおける長期的なスポーツとのかかわりを明らかにすることが求められているが[4]、これまでに生涯を通じた運動・スポーツ参加と認知症発症の関連を検討した報告は皆無である。そこで本研究は、児童期から高齢期まで（ライフコース）の運動・スポーツ経験の軌跡と認知症発症の関連について、全国の地域高齢者を対象とした大規模コホート研究により検討することを目的とした。

方　　法

A．研究デザインおよび対象者

本研究は日本老年学的評価研究（Japan Gerontological Evaluation Study; JAGES）における2016

*　山梨県立大学看護学部　Faculty of Nursing, Yamanashi Prefectural University, Yamanashi, Japan.
**　筑波大学体育系　Faculty of Health and Sport Sciences, University of Tsukuba, Tokyo, Japan.
***　帝京大学大学院公衆衛生学研究科　Teikyo University Graduate School of Public Health, Tokyo, Japan.
****　東京医科歯科大学国際健康推進医学分野　Department of Global Health Promotion, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan.
*****　京都大学大学院医学研究科　Graduate School of Medicine, Kyoto University, Kyoto, Japan.
******　千葉大学予防医学センター　Center for Preventive Medical Sciences, Chiba University, Chiba, Japan.

年調査のデータを用いた3年間のコホート研究である。

2016年のベースライン調査では、2016年10月から12月にかけて全国10道都県の18市町に居住する65歳以上を対象に129311人に自記式の調査票を郵送した。大規模な10市町では無作為抽出による標本調査、小規模な8市町では悉皆調査を行った。回答が得られた92234人（回答率71.3％）のうち、84376人から性別、年齢、居住地について有効回答を得た。更に、その有効回答者のうち、83082人（98.5％）から3年後の認知症発症の追跡データを収集した。

JAGES2016年調査は、回答者全員に回答してもらう基本項目と参加者に1/8の確率でランダムに割り当てられる8つのモジュールで構成されており、本研究は過去のスポーツ参加に関する項目を含む1つのモジュール（回答者10335人）を使用した。回答者のうち、ベースライン調査時に認知症の治療を受けていた37人、過去のスポーツ参加に関する質問に回答がなかった1951人、および日常生活で歩行、入浴、排泄の際に介護や介助を受けている70人を除外した8277人（男性：4089人、女性：4188人）を本研究の分析対象者とした。

B．評価項目

1．認知症の発症

要支援・要介護認定の際に用いる「認知症高齢者の日常生活自立度」のランクⅡa以上と判定された者を認知症発症として評価した。本評価法は認知症スクリーニング検査であるMini Mental State Examinationとの高い相関が示されており、認知症発症を示すアウトカムとして用いられている[9)]。

2．運動・スポーツのライフコース

過去のスポーツ参加の経験は、過去に部活動や社会人クラブ等、スポーツ関係の団体やグループに所属して定期的（少なくとも1回20分以上・週1回以上・6か月以上の継続）に運動やスポーツ（体育の授業は含めない）を行っていた時期について、以下、①～⑩の選択肢からあてはまる時期すべてを選択してもらった（①6～12歳，②13～15歳，③16～18歳，④19～29歳，⑤30～39歳，⑥40～49歳，⑦50～59歳，⑧60～69歳，⑨70歳以上，⑩全くない）。なお、本研究では70歳未満の参加者も含まれることから、①～⑧と⑩の回答を過去のスポーツ経験として使用した。

また、子どもの頃（6～18歳）に定期的に実施していたスポーツ種目について、「団体競技」（野球，ラグビー，サッカーなどのチームで試合を行う種目）と「個人競技（個人＋団体）」（柔道，剣道，卓球などの個人戦やダブルス，団体戦のある種目）、「どちらにもあてはまらない」の3つから選択してもらい（複数回答可）、実施していたスポーツ種目の分類を評価した。

3．共変量

先行研究[5,9)]に基づき、質問紙にて評価した以下の要因を共変量とした。基本属性として性別、年齢、子どもの頃の環境要因として、子どもの頃の社会経済状況（上，中，下）、子どもの頃の栄養環境指標としての身長（男性：155 cm未満，155～159.9 cm，160～164.9 cm，165～169.9 cm，170 cm以上，女性：145 cm未満，145～149.9 cm，150～154.9 cm，155～159.9 cm，160 cm以上）、教育年数（9年未満，10～12年，13年以上）を用いた。また、成人期の社会経済状況として、等価所得（200万円未満，200～400万円未満，400万円以上）、最長職（非マニュアル：管理職，専門・技術職，農林漁業職以外の自営職，マニュアル：事務職，販売・サービス業，技能・労務職，農林漁業職，職に就いたことがない）、就労状況（就業あり，退職，就職経験なし）を用いた。更に、健康状態として、body mass index（18.5未満，18.5～24.9，25.0～29.9，30.0以上）、疾患の有無（高血圧，糖尿病，脳卒中，心疾患，聴覚障害）、抑うつ（抑うつ状態，抑うつ傾向，抑うつなし）、喫煙状況（現在喫煙，やめた，経験なし）、飲酒状況（現在飲酒習慣あり，やめた，経験なし）とした。加えて、高齢期の社会関係として、婚姻状況（配偶者あり，死別，離別/未婚/その他）、友人・知人に会う頻度（週1回以上，月1～3回，年に数回，会っていない）、社会参加（ボランティア・趣味関係・老人クラブ・町内会・学習/教養・特技/経験のいずれかに参加あり）を使用した。抑うつは短縮版Geriatric Depression Scale-15を用いて評価し，うつ状態（10～15点）、うつ傾向（5

～9 点）、なし（ 0～4 点）に分類した。高齢期のスポーツ・身体活動状況として、2016年時のスポーツ参加（週 1 回以上）と身体活動量（活動的：肉体労働やスポーツをする時間 1 時間以上/日、座位時間 3 時間未満/日、歩いたり立っている時間 3 時間以上/日）を用いた。

C．統計解析

1．過去のスポーツ参加の軌跡グループの特定

過去のスポーツ参加の軌跡を類型化するために、Stata traj plugin を介した集団軌跡モデル[6] を使用した。2～5 までのグループ数と軌跡の形状（ 1：線形，2 ：二次，3 ：三次）を検討し、ベイズ情報基準（Bayesian information criterion; BIC）と各グループサイズ（各軌跡グループに少なくとも 5 %の参加者）に基づいて、最も適合するグループ数を決定した。その後、各軌道の形状を変化させ、BIC と十分なグループサイズ（少なくとも 5 %の参加者）、推定と実際の軌跡グループの参加者割合がほぼ一致すること、および各グループの平均事後確率が0.70以上であることに基づいて、最終的な各軌跡グループの形状を選択した。各軌跡グループのベースライン時における特性について、連続変数は分散分析、カテゴリ変数はχ^2検定により比較を行った。

2．スポーツ参加の各軌跡グループと認知症発症リスクの関連

軌跡グループを説明変数、認知症の発症を目的変数とし、Cox 比例ハザードモデルにより認知症の発症リスクを比較した。Crude モデルでは軌跡グループのみ、Model 1では基本属性として性別、年齢（連続値）を投入した。Model 2は子どもの頃の環境要因、Model 3では成人期の社会経済状況、Model 4では健康状態と社会関係、Model 5では高齢期のスポーツ参加と身体活動状況をそれぞれ 1 つ前のモデルに追加して投入した。共変量の欠損値は、20個のデータセットの分析結果を統合した多重代入法で補完した。

なお、認知症発症者の人数が少なかったこと、および性別と軌跡グループの交互作用に統計的な有意性がみられなかったことから、性別を共変量としてモデルに投入することで性差を調整した。統計的有意水準は 5 %とし、すべての解析は Stata SE 17.0にて実施した。

3．追加解析

追加解析として、各年代のスポーツ経験の有無による任意の組み合わせ（子どもの頃のみ，若年成人期のみ，中年期のみ，生涯を通じて参加）における認知症発症リスクの比較を行った。また、① 6～12歳から⑧60～69歳の各年代の参加の有無を合計した回数（ 0～8 回）による違いについても検討した。なお、本解析は、⑨70歳以上においてのみ参加していた187人を除いた8090人を対象とした。更に、子どもの頃（ 6～18歳のどこか）にスポーツを実施していた1369人を対象に、団体種目と個人種目の経験の違いについて検討を行った。また、高齢期のスポーツ参加の有無の影響を確認するために、軌跡グループと高齢期（2016年時）のスポーツ参加の有無との交互作用についても検討した。

感度分析として、共変量の欠損値カテゴリを設けた complete case 解析、および追跡期間が 1 年未満の者を除外した解析を実施した。

D．倫理的配慮

本研究は、国立長寿医療研究センター（承認番号：1274-2）、千葉大学（承認番号：3442）、日本老年学的評価研究機構（承認番号：2019-01）の承認を得て実施した。対象者には自記式調査票の返送をもって研究利用に同意したものとした（2016年調査時）。データの取り扱いについては、各自治体との間で定められた個人情報取り扱い事項を遵守した。

結　　果

A．スポーツ参加の軌跡グループの特定

集団軌跡モデルの類型化の結果、最適とされたモデルは 4 グループの3-2-3-3の形状であり、Consistently low（CL）群、Teenage, decrease（TD）群、Young adult, decrease（YD）群、Increasing until middle age（IM）群の 4 つの軌跡グループが同定された（図 1 ）。表 1 に類型化された各軌跡グループのベースライン時の特徴を示した。CL 群が最も多く（62.4%）、次いで TD 群が26.0%、YD 群、IM 群はそれぞれ、5.4%と6.2%であった。各グループの平均年齢（標準偏差：SD）は、CL 群で74.2

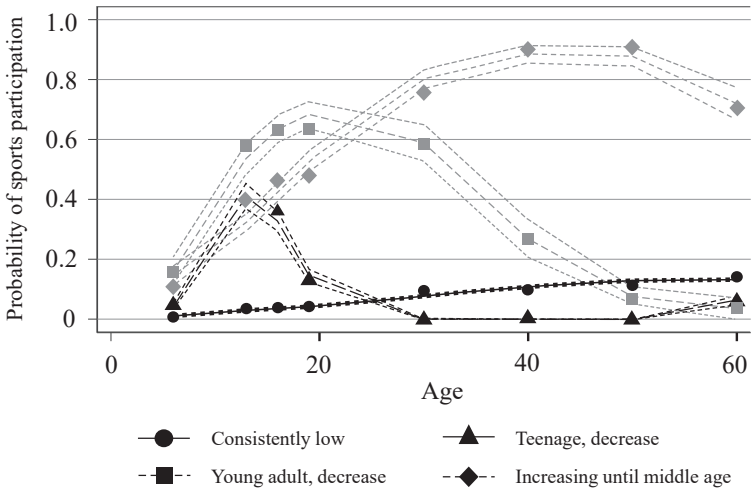


図 1．集団軌跡モデルによる児童期から高齢期までのスポーツ参加の軌跡（n = 8277）

Fig.1. Group-based trajectory modelling-derived sports participation trajectories and 95% confidence interval from childhood to old age（n = 8277）.

（6.2）歳、TD 群で72.6（5.6）歳、YD 群で71.1（4.7）歳、IM 群で72.0（5.2）歳であった。各グループの特徴として、CL 群では、女性の割合が多く、高齢で、教育歴や等価所得、非マニュアル職、就業者、喫煙や飲酒習慣者が少ない傾向にあった。一方で YD 群では、男性が多く、若齢で、糖尿病や喫煙者、飲酒習慣者の割合が多かった。TD 群は他群と比較して特筆すべき特徴は観察されず、IM 群では、友人に会う頻度や社会参加の割合が多い一方で、現在のスポーツ参加の割合が少ないという特徴を示した（表 1 ）。

B．過去のスポーツ参加の軌跡グループと認知症発症の関連

追跡期間中（平均追跡期間3.2年）に認知症を発症した人は311人（3.8％）であり、1000人年当たりの認知症発症率は11.7であった。各軌跡グループの比較では、CL 群における発症率が最も高く（13.1, 95% Confidence Interval; CI: 11.4-14.9）、IM 群で最も低かった（8.3, 95%CI: 4.9-14.0）。

軌跡グループと認知症発症の関連を検証した Cox 比例ハザードモデルの結果（Hazard Ratio; HR, 95% CI）、Crude モデルでは、CL 群と比較して、TD 群で HR が有意に低かった（0.72, 0.54-0.95）（表 2 ）。しかしながら、性別と年齢を調整した Model 1ではすべてのグループで結果が反転し、YD 群では認知症発症に対する HR が有意に高くなった（1.83, 1.08-3.08）。その他の共変量を追加した Model 1〜5においても同様に YD 群では CL 群と比較して有意に高い HR を示した（Model 5, 1.85, 1.09-3.16）。

C．追加解析、感度分析

表 3 に各年代におけるスポーツ参加の有無を任意に組み合わせたスポーツ参加のパターンと認知症発症リスクを示した。Crude モデルにおいて、ライフコースを通して一度もスポーツ参加経験のない No participation 群と比較して、スポーツ参加を継続していた Constant participation 群では、統計的な有意差は確認されなかったものの認知症発症に対する HR が低かった（0.39, 0.10-1.58）。共変量を調整したモデルでは、有意ではないものの、軌跡グループの結果と同様に若年成人期のみスポーツ参加のあった Participation in young adulthood only 群で認知症発症に対する高い HR が示された（Model 5, 1.48, 0.96-2.29）。

各年代のスポーツ参加の回数（ 0〜8 回）による違いを検討した解析では、5〜8 回群と比較して、回数が少なくなるにつれて1000人年当たりの認知症発症率が高くなった（表 4 ）。また、Cox 比例ハザードモデルの結果では、Crude モデルにおいては回数が少ないほど HR が高くなる傾向がみられたが、すべての共変量を調整した Model 5では、有意ではないものの 0 回群で認知症発症リスクが低値を示した（0.75, 0.34-1.65）。

更に、子どもの頃に実施していたスポーツ種目

表 1．ベースライン時における研究対象者の軌跡グループごとの特徴
Table 1. Baseline characteristics by sports participation trajectory groups of study participants.

	All	Consistently low	Teenage, decrease	Young adult, decrease	Increasing until middle age	*P*-value[a]
	n = 8277	n = 5164（62.4%） n （%）	n = 2150（26.0%） n （%）	n = 446（5.4%） n （%）	n = 517（6.2%） n （%）	
Sex						
Women	4188（50.6）	3088（59.8）	752（35.0）	129（28.9）	219（42.4）	< 0.001
Age（year）						
65-69	2762（33.4）	1515（29.3）	834（38.8）	209（46.9）	204（39.5）	< 0.001
70-74	2283（27.6）	1390（26.9）	581（27.0）	135（30.3）	177（34.2）	
75-79	1803（21.8）	1198（23.2）	452（21.0）	76（17.0）	77（14.9）	
≥ 80	1429（17.3）	1061（20.5）	283（13.2）	26（ 5.8）	59（11.4）	
Childhood environmental factors						
Childhood socioeconomic status						
High（high or middle-high）	1067（12.9）	616（11.9）	310（14.4）	64（14.3）	77（14.9）	< 0.001
Middle	3539（42.8）	2183（42.3）	958（44.6）	175（39.2）	223（43.1）	
Low（middle-low or low）	3286（39.7）	2092（40.5）	807（37.5）	192（43.0）	195（37.7）	
Missing	385（ 4.7）	273（ 5.3）	75（ 3.5）	15（ 3.4）	22（ 4.3）	
Height[b]						
Short	561（ 6.8）	446（ 8.6）	89（ 4.1）	13（ 2.9）	13（ 2.5）	< 0.001
Middle-short	1526（18.4）	1104（21.4）	302（14.0）	48（10.8）	72（13.9）	
Middle	2678（32.4）	1726（33.4）	653（30.4）	133（29.8）	166（32.1）	
Middle-tall	2163（26.1）	1213（23.5）	654（30.4）	143（32.1）	153（29.6）	
Tall	1227（14.8）	573（11.1）	438（20.4）	105（23.5）	111（21.5）	
Missing	122（ 1.5）	102（ 2.0）	14（ 0.7）	4（ 0.9）	2（ 0.4）	
Educational level（years）						
< 9	2345（28.3）	1797（34.8）	390（18.1）	66（14.8）	92（17.8）	< 0.001
10-12	3540（42.8）	2087（40.4）	1007（46.8）	208（46.6）	238（46.0）	
≥ 13	2289（27.7）	1206（23.4）	732（34.0）	169（37.9）	182（35.2）	
Missing	103（ 1.2）	74（ 1.4）	21（ 1.0）	3（ 0.7）	5（ 1.0）	
Adult socioeconomic status						
Annual equivalized income（yen）						
< 2.00 million	3264（39.4）	2145（41.5）	805（37.4）	146（32.7）	168（32.5）	< 0.001
2.00-3.99 million	2795（33.8）	1599（31.0）	783（36.4）	196（44.0）	217（42.0）	
≥ 4.00 million	802（ 9.7）	429（ 8.3）	242（11.3）	57（12.8）	74（14.3）	
Missing	1416（17.1）	991（19.2）	320（14.9）	47（10.5）	58（11.2）	
Longest-held occupation						
Non-manual	2313（27.9）	1209（23.4）	771（35.9）	169（37.9）	164（31.7）	< 0.001
Manual	4103（49.6）	2651（51.3）	989（46.0）	212（47.5）	251（48.5）	
None	483（ 5.8）	370（ 7.2）	76（ 3.5）	11（ 2.5）	26（ 5.0）	
Missing	1378（16.7）	934（18.1）	314（14.6）	54（12.1）	76（14.7）	
Employment status						
Working	2049（24.8）	1108（21.5）	609（28.3）	154（34.5）	178（34.4）	< 0.001
Retired/never worked	5229（63.2）	3331（64.5）	1341（62.4）	264（59.2）	293（56.7）	
Missing	999（12.1）	725（14.0）	200（ 9.3）	28（ 6.3）	46（ 8.9）	
Health status						
Body mass index（kg/m^2）						
< 18.5（Underweight）	541（ 6.5）	391（ 7.6）	113（ 5.3）	18（ 4.0）	19（ 3.7）	< 0.001
18.5-24.9（Normal）	5723（69.1）	3572（69.2）	1456（67.7）	306（68.6）	389（75.2）	
25.0-29.9（Overweight）	1625（19.6）	925（17.9）	500（23.3）	103（23.1）	97（18.8）	
≥ 30.0（Obese）	209（ 2.5）	138（ 2.7）	50（ 2.3）	13（ 2.9）	8（ 1.5）	
Missing	179（ 2.2）	138（ 2.7）	31（ 1.4）	6（ 1.3）	4（ 0.8）	
Disease						
Hypertension	3482（42.1）	2158（41.8）	926（43.1）	194（43.5）	204（39.5）	0.456
Diabetes	1037（12.5）	607（11.8）	303（14.1）	71（15.9）	56（10.8）	0.011
Stroke	221（ 2.7）	137（ 2.7）	53（ 2.5）	14（ 3.1）	17（ 3.3）	0.615
Heart disease	788（ 9.5）	483（ 9.4）	204（ 9.5）	46（10.3）	55（10.6）	0.651
Hearing loss	467（ 5.6）	318（ 6.2）	109（ 5.1）	20（ 4.5）	20（ 3.9）	0.085
Depression						
No	5567（67.3）	3338（64.6）	1516（70.5）	306（68.6）	407（78.7）	< 0.001
Mild	1209（14.6）	792（15.3）	297（13.8）	67（15.0）	53（10.3）	
Mild to severe	341（ 4.1）	238（ 4.6）	77（ 3.6）	14（ 3.1）	12（ 2.3）	
Missing	1160（14.0）	796（15.4）	260（12.1）	59（13.2）	45（ 8.7）	
Health behaviors						
Smoking status						
Current	921（11.1）	443（ 8.6）	325（15.1）	79（17.7）	74（14.3）	< 0.001
Ever	2479（30.0）	1318（25.5）	801（37.3）	197（44.2）	163（31.5）	
Never	4772（57.7）	3330（64.5）	1000（46.5）	165（37.0）	277（53.6）	
Missing	105（ 1.3）	73（ 1.4）	24（ 1.1）	5（ 1.1）	3（ 0.6）	
Alcohol intake						
Current	3365（40.7）	1826（35.4）	1043（48.5）	233（52.2）	263（50.9）	< 0.001
Ever	848（10.2）	508（ 9.8）	239（11.1）	54（12.1）	47（ 9.1）	
Never	3905（47.2）	2720（52.7）	833（38.7）	152（34.1）	200（38.7）	
Missing	159（ 1.9）	110（ 2.1）	35（ 1.6）	7（ 1.6）	7（ 1.4）	

表 1．ベースライン時における研究対象者の軌跡グループごとの特徴（つづき）
Table 1. Baseline characteristics by sports participation trajectory groups of study participants.（continue）

	All	Consistently low	Teenage, decrease	Young adult, decrease	Increasing until middle age	*P*-value[a]
	n = 8277	n = 5164（62.4%）	n = 2150（26.0%）	n = 446（5.4%）	n = 517（6.2%）	
		n （%）	n （%）	n （%）	n （%）	
Adult social relationships						
Marital status						
Married	6201（74.9）	3728（72.2）	1684（78.3）	365（81.8）	424（82.0）	
Widowed	1431（17.3）	1046（20.3）	283（13.2）	42（ 9.4）	60（11.6）	
Divorced/unmarried/other	595（ 7.2）	357（ 6.9）	168（ 7.8）	38（ 8.5）	32（ 6.2）	< 0.001
Missing	50（ 0.6）	33（ 0.6）	15（ 0.7）	1（ 0.2）	1（ 0.2）	
Frequency of meeting friends						
≥ 1/week	4081（49.3）	2495（48.3）	1035（48.1）	231（51.8）	320（61.9）	
1-3/month	1904（23.0）	1194（23.1）	489（22.7）	105（23.5）	116（22.4）	
Rarely	1496（18.1）	914（17.7）	438（20.4）	85（19.1）	59（11.4）	< 0.001
None	652（ 7.9）	463（ 9.0）	152（ 7.1）	21（ 4.7）	16（ 3.1）	
Missing	144（ 1.7）	98（ 1.9）	36（ 1.7）	4（ 0.9）	6（ 1.2）	
Social participation						
Yes	3731（45.1）	2264（43.8）	936（43.5）	216（48.4）	333（64.4）	
No	3749（45.3）	2357（45.6）	1019（47.4）	198（44.4）	157（30.4）	< 0.001
Missing	797（ 9.6）	543（10.5）	195（ 9.1）	32（ 7.2）	27（ 5.2）	
Current sports participation						
≥ 1/week	1682（20.3）	998（19.3）	396（18.4）	67（15.0）	221（42.8）	
< 1/week	5512（66.6）	3438（66.6）	1494（69.5）	329（73.8）	251（48.6）	< 0.001
Missing	1083（13.1）	728（14.1）	260（12.1）	50（11.2）	45（ 8.7）	
Current physical activity						
Active	2500（30.2）	1557（30.2）	673（31.3）	144（32.3）	126（24.4）	
Inactive	5627（68.0）	3488（67.5）	1454（67.6）	298（66.8）	387（74.9）	< 0.001
Missing	150（ 1.8）	119（ 2.3）	23（ 1.1）	4（ 0.9）	4（ 0.8）	

a: Chi-square test.
b: Height categories are defined as less than 155 cm, 155 to 159.9 cm, 160 to 164.9 cm, 165 to 169.9 cm, and greater than or equal to 170 cm for men and less than 145 cm, 145 to 149.9 cm, 150 to 154.9 cm, 155 to 159.9 cm, and greater than or equal to 160 cm for women.

の違いを検討した解析では、個人種目と比較して団体種目で低いHRを示したものの（Model 5, 0.69, 0.32-1.53）、有意な差はみられなかった（表 5 ）。

感度分析として実施した共変量の欠損値カテゴリを設けた complete case 解析、および追跡期間が 1 年未満の者を除外したいずれの解析においても概ね同様の結果であり、CL 群と比較して YD 群で有意に高い HR を示した（結果非提示）。また、軌跡グループと2016年時のスポーツ参加の有無の交互作用について検討したところ、有意ではなかったものの週 1 回以上のスポーツ参加により、週 1 回未満のグループと比較して認知症発症リスクが緩和されることが示された（CL: 0.68, 0.42-1.12, TD: 0.72, 0.33-1.61, YD: 1.36, 0.28-6.50, IM: 0.82, 0.27-2.53）（結果非提示）。

考　　察

本研究では、日本の高齢者のライフコースにおけるスポーツ参加の軌跡について、集団軌跡モデルを用いた類型化を行った。その結果、４つの軌跡グループが同定され、ライフコースを通じてスポーツ参加が少ない CL 群と学生期のみ参加していた TD 群の 2 群で全体の約 9 割を占めていた。また、各年代のスポーツ参加の有無による任意の組み合わせでは、すべての年代（①～⑧）でスポーツ参加を継続していた者は23人（0.28％）であり（データは示していないが認知症の発症はなし）、各年代で比較的継続していた Constant participation 群でも115人（1.4％）と、生涯を通じて継続してスポーツに参加する割合が極めて少ない実態が明らかとなった。成人期以降のスポーツ実施環境の整備が求められる。

同定された軌跡グループの認知症発症リスクに対する比較では、追跡期間中の罹患率は CL 群で最も高く、IM 群で最も低かった。しかしながら、主要な共変量を調整した解析では、CL 群と比較して YD 群で有意に高い認知症発症リスクが示された。この傾向は任意のパターンで検討した場合においても同様の結果であった。その他のグループにおいては、過去のスポーツ参加と認知症発症に有意な関連は観察されなかった。

本研究の結果は、認知症発症の10年以上前の身体活動と認知症発症が関連しないことを示したシステマティックレビューの結果と一致していた[4]。

表２．集団軌跡モデルによるスポーツ参加の軌跡グループと認知症発症リスクとの関連（n = 8277）

Table 2. Association between Group-based trajectory modeling-derived sports participation trajectories and risk of dementia（n = 8277）.

Sports participation trajectory	n	Number of dementia（%）	Incidence rate per 1000 person-years（95% CI）	Crude HR（95% CI）	Model 1[a] HR（95% CI）	Model 2[b] HR（95% CI）	Model 3[c] HR（95% CI）	Model 4[d] HR（95% CI）	Model 5[e] HR（95% CI）
Consistently low	5164	216（4.2）	13.1（11.4-14.9）	Reference	Reference	Reference	Reference	Reference	Reference
Teenage, decrease	2150	65（3.0）	9.4（ 7.3-12.0）	0.72（0.54-0.95）	1.02（0.77-1.36）	1.05（0.79-1.41）	1.08（0.81-1.45）	1.13（0.84-1.53）	1.13（0.84-1.52）
Young adult, decrease	446	16（3.6）	11.2（ 6.8-18.2）	0.85（0.51-1.41）	1.83（1.08-3.08）	1.86（1.10-3.15）	1.95（1.15-3.31）	1.88（1.10-3.21）	1.85（1.09-3.16）
Increasing until middle age	517	14（2.7）	8.3（ 4.9-14.0）	0.63（0.37-1.09）	1.03（0.60-1.78）	1.09（0.63-1.89）	1.16（0.67-2.01）	1.30（0.74-2.28）	1.36（0.78-2.39）

HR; hazard ratio, CI; confidence interval.

a: Adjusted for sex and age（continuous variable）.

b: Adjusted for model 1 + childhood environmental factors（childhood socioeconomic status, height, educational level）.

c: Adjusted for model 2 + adulthood socioeconomic status（annual equivalized income, longest-held occupation, employment status）.

d: Adjusted for model 3 + health status and adult social relationships（body mass index, hypertension, diabetes, stroke, heart disease, hearing loss, smoking status, alcohol intake）.

e: Adjusted for model 4 + current sports participation and physical activity.

表３．各ライフステージにおけるスポーツ参加パターンと認知症発症の関連（n = 8277）

Table 3. Association between sports participation pattern in each life stage and incident dementia（n = 8277）.

	n	Number of dementia（%）	Incidence rate per 1000 person-years（95% CI）	Crude HR（95% CI）	Model 1[a] HR（95% CI）	Model 2[b] HR（95% CI）	Model 3[c] HR（95% CI）	Model 4[d] HR（95% CI）	Model 5[e] HR（95% CI）
No participation	3113	134（4.3）	13.5（11.4-15.9）	Reference	Reference	Reference	Reference	Reference	Reference
Participation in childhood-teenage only[f]	341	8（2.3）	7.2（ 3.6-14.4）	0.53（0.26-1.08）	0.92（0.45-1.89）	0.93（0.45-1.91）	0.95（0.46-1.97）	1.07（0.51-2.24）	1.08（0.51-2.25）
Participation in young adulthood only[g]	687	27（3.9）	12.4（ 8.5-18.1）	0.92（0.61-1.40）	1.27（0.84-1.94）	1.35（0.88-2.06）	1.35（0.88-2.06）	1.47（0.96-2.27）	1.48（0.96-2.29）
Participation in middle-age only[h]	187	5（2.7）	8.3（ 3.4-19.9）	0.62（0.25-1.50）	0.76（0.31-1.86）	0.79（0.32-1.93）	0.75（0.31-1.84）	0.93（0.38-2.29）	0.99（0.40-2.46）
Constant participation[i]	115	2（1.7）	5.3（ 1.3-21.2）	0.39（0.10-1.58）	0.59（0.15-2.38）	0.65（0.16-2.65）	0.73（0.18-2.99）	0.85（0.21-3.49）	0.92（0.22-3.82）
Other patterns	3834	135（3.5）	10.9（ 9.2-12.9）	0.81（0.64-1.03）	1.07（0.84-1.36）	1.09（0.85-1.39）	1.10（0.86-1.41）	1.29（1.00-1.68）	1.37（1.05-1.78）

HR; hazard ratio, CI; confidence interval.

a: Adjusted for sex and age（continuous variable）.

b: Adjusted for model 1 + childhood environmental factors（childhood socioeconomic status, height, educational level）.

c: Adjusted for model 2 + adulthood socioeconomic status（annual equivalized income, longest-held occupation, employment status）.

d: Adjusted for model 3 + health status and adult social relationships（body mass index, hypertension, diabetes, stroke, heart disease, hearing loss, smoking status, alcohol intake）.

e: Adjusted for model 4 + current sports participation and physical activity.

f: At least twice somewhere between the ages of 6-12, 13-15, and 16-18.

g: At least once somewhere between the ages of 19-29 and 30-39.

h: At least twice somewhere between the ages of 40-49, 50-59, and 60-69.

i: All of the above f, g, and h are satisfied.

表４．各ライフステージにおけるスポーツ参加回数と認知症発症の関連（n = 8090）

Table 4. Association between total number[a] of sports participation at each life stage and incident dementia（n = 8090）.

	n	Number of dementia（%）	Incidence rate per 1000 person-years（95% CI）	Crude HR（95% CI）	Model 1[b] HR（95% CI）	Model 2[c] HR（95% CI）	Model 3[d] HR（95% CI）	Model 4[e] HR（95% CI）	Model 5[f] HR（95% CI）
5-8 points	314	7（2.2）	6.8（ 3.2-14.3）	Reference	Reference	Reference	Reference	Reference	Reference
2-4 points	1667	46（2.8）	8.5（ 6.4-11.3）	1.25（0.56-2.77）	1.16（0.52-2.56）	1.13（0.51-2.51）	1.07（0.48-2.38）	1.06（0.47-2.36）	1.01（0.45-2.27）
1 point	2996	108（3.6）	11.3（ 9.3-13.6）	1.66（0.77-3.57）	1.18（0.55-2.54）	1.15（0.53-2.47）	1.06（0.49-2.29）	1.02（0.47-2.22）	0.98（0.45-2.13）
0 point	3113	134（4.3）	13.5（11.4-15.9）	1.99（0.93-4.25）	1.12（0.52-2.41）	1.06（0.49-2.29）	0.98（0.45-2.12）	0.82（0.37-1.79）	0.75（0.34-1.65）

HR; hazard ratio, CI; confidence interval.

a: Sum of sports participation at each life stage（6-12, 13-15, 16-18, 19-29, 30-39, 40-49, 50-59, 60-69）.

b: Adjusted for sex and age（continuous variable）.

c: Adjusted for model 1 + childhood environmental factors（childhood socioeconomic status, height, educational level）.

d: Adjusted for model 2 + adulthood socioeconomic status（annual equivalized income, longest-held occupation, employment status）.

e: Adjusted for model 3 + health status and adult social relationships（body mass index, hypertension, diabetes, stroke, heart disease, hearing loss, smoking status, alcohol intake）.

f: Adjusted for model 4 + current sports participation and physical activity.

表５．子どもの頃に実施したスポーツ種目の種類と認知症発症の関連（n = 1369）

Table 5. Association between type of sports played as a childhood and incident dementia（n = 1369）.

	n	Number of dementia（%）	Incidence rate per 1000 person-years（95% CI）	Crude HR（95% CI）	Model 1[a] HR（95% CI）	Model 2[b] HR（95% CI）	Model 3[c] HR（95% CI）	Model 4[d] HR（95% CI）	Model 5[e] HR（95% CI）
Individual sports	561	16（2.9）	8.9（5.5-14.5）	Reference	Reference	Reference	Reference	Reference	Reference
Team sports	653	14（2.1）	6.6（3.9-11.1）	0.74（0.36-1.51）	0.63（0.30-1.29）	0.63（0.30-1.32）	0.65（0.31-1.37）	0.69（0.32-1.53）	0.69（0.32-1.53）
Neither	155	8（5.2）	16.3（8.2-32.6）	1.85（0.79-4.32）	1.19（0.49-2.85）	1.16（0.47-2.85）	1.11（0.45-2.73）	1.02（0.38-2.73）	1.02（0.38-2.74）

HR; hazard ratio, CI; confidence interval.

a: Adjusted for sex and age（continuous variable）.

b: Adjusted for model 1 + childhood environmental factors（childhood socioeconomic status, height, educational level）.

c: Adjusted for model 2 + adulthood socioeconomic status（annual equivalized income, longest-held occupation, employment status）.

d: Adjusted for model 3 + health status and adult social relationships（body mass index, hypertension, diabetes, stroke, heart disease, hearing loss, smoking status, alcohol intake）.

e: Adjusted for model 4 + current sports participation and physical activity.

認知症を発症するグループの身体活動の軌跡は発症以前から身体活動が低下することが示されており[8]、YD 群と IM 群で示されたスポーツ参加の減少は認知症の前駆症状としてスポーツ参加が低下する逆因果の関係を含んでいる可能性が考えられる。また、身体活動と認知症の関連には、循環器疾患を介した経路が推測されており[4]、YD 群で示された有意な発症リスクについては、認知症のリスクとなる生活習慣（喫煙や飲酒など）や糖尿病などの疾患が影響している可能性もある。加えて、CL 群や No participation 群のなかには、スポーツ組織に所属・参加していないが、家族との野球やウォーキング、体操などの身体活動を個人で実施していた人も含まれているため、認知症の発症リスクを高める方向に過大評価された可能性が考えられる。

一方で TD 群においては、若年成人期前からスポーツ参加が減少しており、逆因果の可能性は考えにくい。有意ではないがリスクとなる方向の HR が確認された理由として、学生期や若年成人期に競技スポーツを熱心に実施していたグループはその後の身体活動量が低下し、若年期に実施していなかったグループと比較して生涯を通じた総身体活動量が少ないことが示されている[10]。更に 60～69歳時のスポーツ参加が CL 群より低かったことが影響している可能性がある。

身体活動と認知症の関連について、更に最近のシステマティックレビューでは、長期間の追跡調査を含めた逆因果の影響を低減した検討においても、身体活動が認知症の発症を低下させることが報告されており[3]、一致した見解が得られていない。本研究の結果についても、今後更に各グループの特徴を詳細に検討するなど、より質の高い研究を蓄積していく必要がある。

本研究は児童期を含めた生涯を通じたスポーツ参加の軌跡と認知症発症の関連を明らかにした初めての研究である。また、日本全国18市町を対象とした大規模コホート研究であるため、本研究の一般化可能性は高い。一方で、本研究の結果を解釈するうえで留意すべき限界がある。第一に、認知症発症の定義が医学的診断ではないことである。しかしながら、要介護認定情報を用いることは、健康寿命延伸のための実践的な予防策の根拠を得るうえで有用である。第二に、過去のスポーツ参加について、スポーツの種類や活動強度、実施頻度などの詳細を検討できていない。加えて、スポーツ関係の団体やグループに所属せずに個人で運動やスポーツを実施していた場合を十分に考慮できていない点も限界として挙げられる。今後は、スポーツの実施内容の相違について詳細に検討し、生涯を通じたスポーツ参加と認知症発症の過程について明らかにする必要がある。第三に、過去のスポーツ経験に関する思い出しバイアスの可能性が含まれる。第四に、これまでに明らかにされている多くの交絡因子について検討しているものの、ApoE などの遺伝的要因[1] や未知の交絡要因の影響を排除できていない。最後に、過去の各年代やベースライン時の認知機能を評価できていないため、逆因果の可能性は否定できない。今後は、追跡期間を延長した検討、および男女別の軌跡グループを検討し、各軌跡グループの特徴をより詳細に検証することが必要である。

総　　括

日本の高齢者のライフコースにおけるスポーツ参加の軌跡の類型化を行ったところ、生涯を通じて継続してスポーツに参加する割合が極めて少ない実態が明らかとなった。若年期のみスポーツに参加していたグループでは認知症発症リスクが高くなる結果が示されたが、逆因果の可能性が考えられ、過去のスポーツ経験と高齢期の認知症発症には関連がない可能性が示唆された。

今後は対象者を増やした長期的な追跡研究、および詳細な身体活動状況も含めた各グループの特徴を男女別に検討する必要がある。

謝　　辞

本研究にご協力いただいた参加者の皆さまに心より感謝申し上げます。また、本研究の実施に対して助成を賜りました公益財団法人明治安田厚生事業団に厚く御礼申し上げます。

参 考 文 献

1）de Frutos-Lucas J, et al.（2020）: Does APOE genotype moderate the relationship between physical activity, brain

health and dementia risk? A systematic review. Ageing Res Rev, **64**, 101173.

2）Eime RM, et al.（2013）: A systematic review of the psychological and social benefits of participation in sport for adults: informing development of a conceptual model of health through sport. Int J Behav Nutr Phys Act, **10**, 135.

3）Iso-Markku P, et al.（2022）: Physical activity as a protective factor for dementia and Alzheimer's disease: systematic review, meta-analysis and quality assessment of cohort and case-control studies. Br J Sports Med, **56**, 701-709.

4）Kivimäki M, et al.（2019）: Physical inactivity, cardiometabolic disease, and risk of dementia: an individual-participant meta-analysis. BMJ, **365**, l1495.

5）Livingston G, et al.（2020）: Dementia prevention, intervention, and care: 2020 report of the Lancet Commission. Lancet, **396**, 413-446.

6）Nagin DS, et al.（2010）: Group-based trajectory modeling in clinical research. Annu Rev Clin Psychol, **6**, 109-138.

7）二宮利治ら（2015）：日本における認知症の高齢者人口の将来推計に関する研究．厚生労働省科学研究費補助金厚生労働科学特別研究事業，平成 26 年度統括・分担研究報告書.

8）Sabia S, et al.（2017）: Physical activity, cognitive decline, and risk of dementia: 28 year follow-up of Whitehall II cohort study. BMJ, **357**, j2709.

9）Tani Y, et al.（2020）: Association between adverse childhood experiences and dementia in older Japanese adults. JAMA Netw Open, **3**, e1920740.

10）van der Zee MD, et al.（2019）: Tracking of voluntary exercise behaviour over the lifespan. Int J Behav Nutr Phys Act, **16**, 17.

第 37 回若手研究者のための健康科学研究助成成果報告書
2020 年度 *pp*.111～116（2023.7）

サルコペニア発症の性差を紐解く骨格筋受容体発現制御

吉　原　利　典*

REGULATION OF SKELETAL MUSCLE RECEPTOR EXPRESSION UNRAVELING SEX DIFFERENCES IN THE DEVELOPMENT OF SARCOPENIA

Toshinori Yoshihara

Key words: angiotensin II type I receptor, sarcopenia, sex difference.

緒　　言

男女の生物学的な違いは運動効果の獲得や筋萎縮の生じやすさに多大な影響を与えることから、女性アスリートの競技力向上のみならず、高齢男性の加齢による骨格筋量減少（サルコペニア）に関与すると考えられる。これまで、雌性ラットでは筋萎縮に対して骨格筋量を負に調節する因子の活性化が生じやすいことが明らかにされているが、いまだに制御メカニズムの特定には至っていない。

近年、アンジオテンシン II 1 型受容体（angiotensin II type I receptor; AT1R）の骨格筋恒常性の維持における役割が注目されており、筋機能障害の潜在的な治療標的となっている[9)]。特に、サルコペニアに関する国内外の研究では、2000年頃からアンジオテンシン II 変換酵素（angiotensin-converting enzyme; ACE）阻害剤による骨格筋機能の改善に着目した研究が行われ、ACE 阻害剤治療による筋力・身体機能の改善や横断研究における ACE と下肢筋量との関連が臨床試験および動物実験において示されている[2-7)]。加えて、Deminice ら[3)] は、組織化学的にみた細胞膜上の AT1R 発現量やタンパク質発現レベルは、遅筋線維と比較して速筋線維で約 2 倍も高いことを明らかにしている。すなわち、速筋線維で認められるようなレジスタンス運動に対する高い適応応答やサルコペニアでの速筋線維の選択的萎縮による男性の急激な骨格筋量の低下に関与していると考えられるが、AT1R 発現がサルコペニアに及ぼす影響は明らかではない。

そこで本研究では、各月齢における AT1R 発現量の性差と骨格筋量により評価される筋表現型との関連を明らかにすることを目的とした。本研究の成果は、性差を考慮したサルコペニア予防運動プログラムの開発に応用可能な証拠を提供することができ、本邦のさまざまな健康問題の解決や生涯自立した生活の実現に広く貢献することが期待される。

方　　法

A．実験 1 ：実験動物および筋サンプリング

まず、骨格筋の加齢に伴う AT1R 発現の変化お

* 順天堂大学大学院スポーツ健康科学研究科　Graduate School of Health and Sports Science, Juntendo University, Chiba, Japan.

よびその性差を明らかにするために、Wistar 系雄性21匹・雌性ラット20匹を用い、6 か月齢（成熟）、12か月齢（中齢）および24か月齢（高齢）の各エンドポイントにおいて前脛骨筋を摘出した（各 6～7 匹）。ラットは、室温24.0 ± 1.0℃、湿度50～60％、12時間の明暗サイクルを維持した環境下で飼育した。また、水と飼料は自由に摂取させるが、サンプリング前には非活動期に12～16時間程度の絶食とした。なお、本研究のプロトコルは、順天堂大学における動物使用に関する規則に従い、実験動物等部門委員会の承認を得たうえで実施した（承認番号：2021-27および2022-22）。

B．実験 2 ：アデノ随伴ウイルス投与および筋サンプリング

次に、AT1R の発現制御が加齢による筋萎縮に与える影響を明らかにするために、21か月齢 Wistar 系雄性ラット 7 匹を用い、前脛骨筋への組換え型アデノ随伴ウイルス（recombinant adeno-associated virus; rAAV）ベクター（AT1R ショートヘアピン RNA（AAV9-GFP-U6-rAT1R-shRNA, Vector Biolabs））投与の影響を検討した。

具体的には、実験 1 をもとに雌性ラットの前脛骨筋における AT1R 発現量と同等（－20％程度）になるように AAV9-GFP-U6-rAT1R-shRNA を生理食塩水で希釈し、3.0×10^{11} GC となるように31G のマイクロシリンジにより片脚の前脛骨筋に直接注入した（AAV 脚）。反対側の脚には、同量の生理食塩水を注入し、対照脚とした（Control：CON 脚）。24か月齢時（ 3 か月後）に、イソフルラン麻酔下で心臓摘出により安楽死させた後、前脛骨筋を摘出した。

C．サンプル処理

ラットの前脛骨筋の一部（40～50 mg 程度）を切り出し、protease inhibitor cocktail（Complete EDTA-free, 1873580, Roche）および phosphatase inhibitor cocktail（PhosSTOP, 4906837, Roche）を含んだ 5 倍量の Homogenate Buffer 中（20 mM HEPES pH 7.4, 4 mM EGTA, 0.1 mM EDTA, 10 mM $MgCl_2$, 1 % Triton X-100）でホモジナイズした。その後、12000 × g、 4 ℃で15分間遠心分離して上清を回収した。得られた上清のタンパク質濃度は、BCA Protein Assay Kit（23225, Thermo）を用いて測定し、濃度が2.0 mg/ml になるように Laemmli サンプルバッファー（1610737, BioRad）を用いて調整した。その後、すべてのサンプルを95℃で 5 分間加熱し、分析まで −20℃で凍結保存した。

D．ウェスタンブロッティング

タンパク質発現量の分析には、ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動法を用いた。サンプルは、各レーン当たり10 μg のタンパクを負荷し、3 μl の分子量マーカー（プレシジョン Plus プロテインデュアルスタンダード，161-0374, Bio Rad）とともに泳動した。泳動後ゲルを、ミニトランスブロッドセル（Bio Rad）を用いて80 V で45分間通電し、イミュン - ブロット PVDF メンブレン（162-0176, Bio Rad）にタンパク質を転写した。その後、EveryBlot（12010020, Bio Rad）を用いて室温で20分間のブロッキング処理を行った。

ブロッキング処理後、 3 ％ウシ血清アルブミン/0.1％ Tween-20- トリス緩衝生理食塩水（T-TBS）で希釈した一次抗体と 4 ℃で一晩反応させた。用いた抗体は、AGTRA（1 : 4000, AF211026630-001, コスモ・バイオ）、eGFP（1 : 2000, CAB4211, Invitrogen）、phosphorylated Thr180/Tyr182- p38 mitogen-activated protein kinase（MAPK）（1 : 2000, 9211, Cell Signaling）、p38 MAPK（1 : 2000, 9212, Cell Signaling）、phosphorylated Thr202/Try204- extracellular signal-regulated kinase（ERK）1/2（1 : 2000, 9234, Cell Signaling）、ERK1/2（1 : 2000, 9202, Cell Signaling）、phosphorylated Thr37/46- eukaryotic translation initiation factor 4E-binding protein 1（4EBP1）（1 : 2000, 9459, Cell Signaling）および 4EBP1（1 : 2000, 9459, Cell Signaling）であった。一次抗体反応終了後、T-TBS で10分× 2 回洗浄し、室温で 1 時間の二次抗体反応を行った。二次抗体は、 3 ％ウシ血清アルブミン/T-TBS で 1×10^4 倍に希釈した Anti-Rabbit IgG HRP-linled antibody（7074, Cell Signaling） または Anti-Mouse IgG HRP-linled antibody（7076, Cell Signaling）を用いた。二次抗体反応終了後、T-TBS で10分× 3 回洗浄し、ECL Prime（RPN2232, Cytiva）を用いて発光させた。

E．統計解析

得られたデータは、実験 1 では 6 か月齢雄性

ラットを、実験 2 では CON 脚の平均値を 1 とした場合の発現率で示した（平均値 ± 標準偏差）。統計学的分析は、性別の加齢に伴う各変数の差については月齢（Age）× 性別（Sex）の要因について二元配置分散分析を、 2 群間の差の比較には対応のある/ない T 検定または Sidak 法による多重比較を行った。有意水準は危険率 5 % とした。

結　　果

A．前脛骨筋重量および低下率（実験 1）

前脛骨筋の相対筋重量には月齢および性別の主効果が認められたが、有意な交互作用は認められなかった（図 1 ）。しかしながら、 6 か月齢に対する24か月齢の前脛骨筋重量の比率を比較したところ、雄性ラットは雌性ラットと比較して有意に低い比率を示した（雄性ラット−15.6 % vs 雌性ラット−10.4 %，$P = 0.0134$）。

B．AT1R 発現量（実験 1）

AT1R 発現量には月齢および性別の主効果が認められた（$P = 0.0135$および $P = 0.0015$）（図 2 ）。

C．前脛骨筋重量（実験 2）

AT1R ショートヘアピン RNA を投与した 3 か月後の前脛骨筋重量には、CON 脚と AAV 脚との間で有意な差は認められなかった（CON 脚557.3 ± 74.0 vs AAV 脚553.9 ± 70.4，$P = 0.6946$）（図 3 ）。

D．AT1R および GFP 発現量（実験 2）

AAV 脚の AT1R 発現量は、CON 脚と比較して有意に低い値を示した（CON 脚 1.00 ± 0.40 vs AAV 脚0.77 ± 0.45，$P = 0.0114$）（図 4 ）。また、GFP 発現量は AAV 脚で有意に高値を示した（CON 脚1.00 ± 0.24 vs AAV 脚23.68 ± 7.90，$P = 0.0003$）。

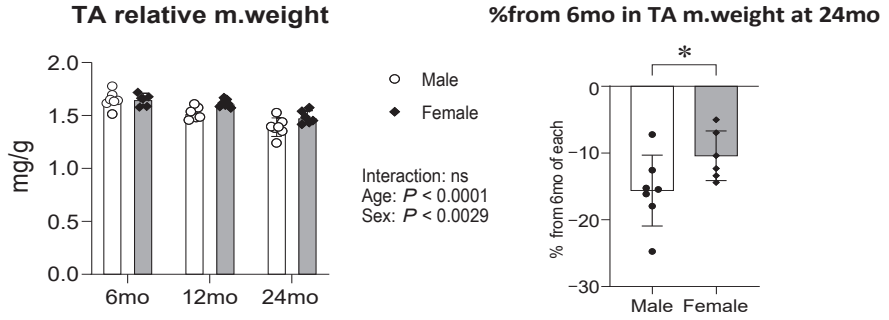


図 1 ．前脛骨筋重量および 6 か月齢に対する比率（実験 1 ）

Fig.1. Tibialis anterior（TA）muscle weight and % from 6mo in the msucle weight at 24mo（Experiment 1）.

Data are shown for 6-month-old（6mo）, 12-month-old（12mo）, and 24-month-old（24mo）rats（n = 6-7 per group）, and are expressed as mean ± standard diviation.

*$P < 0.05$.

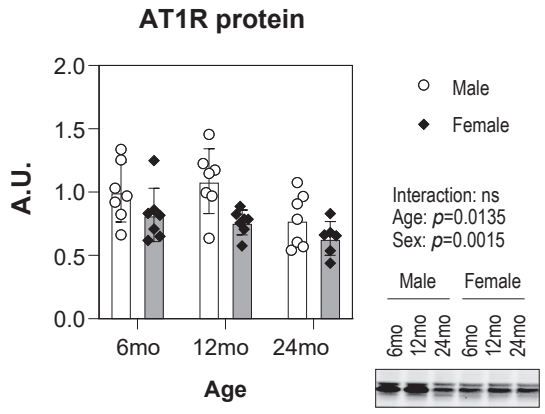


図 2 ．アンジオテンシン II 1型受容体発現量（実験 1 ）

Fig.2. Angiotensin II type I receptor（AT1R）expression（Experiment 1）.

Data are shown for 6-month-old（6mo）, 12-month-old（12mo）, and 24-month-old（24mo）rats（n = 6-7 per group）, and are expressed as mean ± standard diviation.

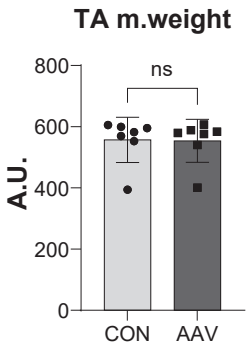


図 3 ．前脛骨筋重量（実験 2 ）

Fig.3. Tibialis anterior（TA）muscle weight（Experiment 2）.

Data are shown for saline-injected control（CON）, and AT1R-shRNA-injected（AAV）legs（n = 7）, and are expressed as mean ± standard diviation. ns; not significant.

E．細胞内シグナル伝達（実験２）

4EBP1（CON 脚1.00 ± 0.22 vs AAV 脚0.97 ± 0.20, $P = 0.5544$）、ERK（CON 脚1.00 ± 0.15 vs AAV 脚 0.87 ± 0.11, $P = 0.0692$）および p38 MAPK（CON 脚1.00 ± 0.39 vs AAV 脚1.11 ± 0.31, $P = 0.3355$）のリン酸化率には、CON 脚と AAV 脚との間で有意な差は認められなかった（図５）。

考　　察

本研究では、各月齢における AT1R 発現量の性差と骨格筋量により評価される筋表現型との関連を明らかにすることを目的とした。まず、ラットの各月齢における相対筋重量の違いとその性差について検討したところ、雄性ラットおよび雌性ラットの前脛骨筋重量は24か月齢において有意に低値を示し、６か月齢に対する比率は雌性ラット

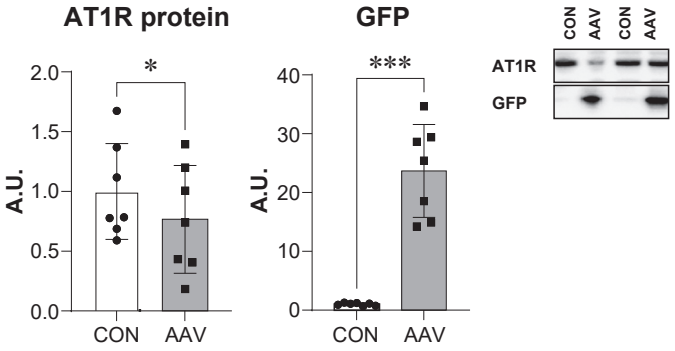


図４．アンジオテンシン II 1型受容体および緑色蛍光タンパク質発現量（実験２）

Fig.4. Angiotensin II type I receptor（AT1R）and green fluorescent protein（GFP）expression levels（Experiment 2）.

Data are shown for saline-injected control（CON）, and AT1R-shRNA-injected（AAV）legs（n = 7）, and are expressed as mean ± standard diviation. *$P < 0.05$, *** $P < 0.001$.

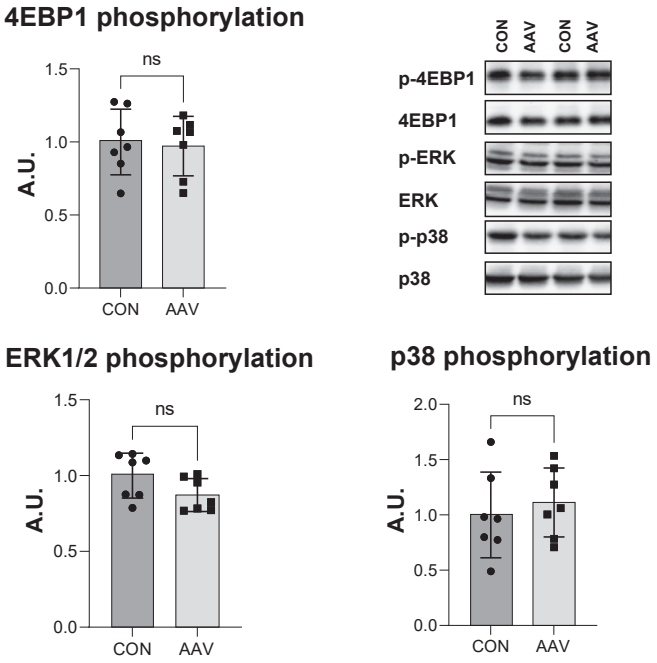


図５．細胞内シグナル伝達リン酸化率（実験２）

Fig.5. Phosphorylation of the Intracellular signaling（Experiment 2）.

Data are shown for saline-injected control（CON）, and AT1R-shRNA-injected（AAV）legs（n = 7）, and are expressed as mean ± standard diviation. ns; not significant, 4EBP1; 4E-binding protein 1, ERK; extracellular signal-regulated kinase.

と比較して雄性ラットで有意に小さかった。これまで女性と比較して男性では加齢とともに急激な骨格筋量の低下が生じることが知られており、本研究のデータはその結果を支持するものであった。次に、加齢に伴う AT1R 発現量の変化およびその性差について検討したところ、AT1R 発現量は両性別において24か月齢で有意に低値を示したが、雄性ラットの AT1R 発現量は雌性ラットと比較して有意に高値を示した。AT1R は、血圧の調節において重要な役割を担うレニン・アンジオテンシン系（RAS）における G タンパク質共役受容体であり、生理活性ペプチドであるアンジオテンシン II がこの受容体に結合されることで、昇圧応答が引き起こされる。しかしながら、近年ではこの古くから存在する RAS の新たな役割に注目が集まっている。すなわち、RAS が骨格筋恒常性の維持においても重要な役割を担っていることが明らかにされてきており[8]、筋機能障害の潜在的な治療標的として注目されている[9]。更に、AT1R は骨格筋において酸化ストレスの産生に関与することから[4]、先行研究では受容体遮断薬を使用して直接アンジオテンシン II と AT1R との結合を阻害することで、活性酸素種を介して生じるネガティブなシグナル伝達を抑制し、高齢マウスの前脛骨筋[1] や機械的人工換気によるラット横隔膜[5] における筋萎縮を抑制することが明らかにされている。これらのことから、雌性ラットと比較して雄性ラットにおいて 6 か月齢に対する24か月齢の筋重量の比率が小さかった理由として、AT1R 発現量が20％程度高値を示すことが要因と考えられる。

そこで、AT1R ショートヘアピン RNA を雄性ラットの前脛骨筋に注入し、雄性ラットの AT1R 発現量を雌性ラットと同等の発現レベルに制御し、サルコペニアの進行に及ぼす影響について検討した。本研究の結果、AT1R 発現量は CON 脚と比較して AAV 脚で23％低い値を示した。しかしながら、AAV 脚の前脛骨筋重量は、CON 脚と比較して有意な差は認められなかったことから、雄性ラット前脛骨筋における AT1R 発現量の制御はサルコペニア予防の手段ではない可能性が示唆される。これまで、サルコペニアに関する国内外の研究では、2000年頃から ACE 阻害剤による骨格筋機能の改善に着目した研究が行われてきており、ACE 阻害剤治療による筋力・身体機能の改善や横断研究における下肢筋量との関連が臨床試験および動物実験において示されている[2-7]。また、上述したように、活性酸素種の産生を抑制する作用により、高齢マウスの前脛骨筋における筋萎縮を抑制する[1] ことも知られている。これらの結果は、ACE 阻害剤や AT1R 遮断薬の投与が筋機能障害に対する治療的アプローチとして有効であることを示している。一方、AT1R 遮断薬の 1 つであるロサルタンの投与はレジスタンス運動に対する骨格筋の適応（肥大）の程度を低下させてしまうことも報告されており[6]、AT1R を介した種々の作用（シグナル伝達など）は、骨格筋の適応（成長・再生）にとって必要不可欠な刺激であり、ACE 阻害剤や AT1R 遮断薬によるアプローチは、RAS 自体の機能を阻害してしまうのかもしれない。本研究では、安静時における4EBP1や ERK および p38 MAPK の活性化にネガティブな影響は認められなかった。このように、AT1R 発現量による悪影響はみられなかったが、本研究では濃度依存的な発現制御の影響については明らかではなく、少なくとも雌性ラットと同程度になるような20％程度の AT1R 発現量の低下が、加齢による筋表現型の退行的な変化に関与している可能性は低いのではないかと考えられる。

総　　括

本研究の結果、AT1R 発現量は高齢ラットの前脛骨筋で有意に低値を示し、その発現量には性差が認められることが明らかとなった。一方、雄性ラットにおける AT1R 発現量の発現低下はサルコペニアの進行に影響を与えないことが示された。本研究では、骨格筋組織全体の AT1R 発現量について検討を行ったが、AT1R 発現量は血管内皮細胞に豊富に含まれていることが報告されているため、今後は筋組織全体ではなく、1 本の筋線維を取り出し、血管の影響を排除したうえで、AT1R 発現量の加齢変化および発現制御の影響を明らかにする必要があると考えられる。

謝　　辞

本研究に助成いただきました公益財団法人明治安田厚生事業団に深く感謝申し上げます。研究の遂行にあたり、ご協力いただきました筑波大学助教の土橋祥平先生に厚く御礼申し上げます。

参 考 文 献

1）Burks TN, et al.（2011）: Losartan restores skeletal muscle remodeling and protects against disuse atrophy in sarcopenia. Sci Transl Med, **3**, 82ra37.

2）Cesari M, et al.（2009）: Angiotensin-converting enzyme inhibition and novel cardiovascular risk biomarkers: results from the Trial of Angiotensin Converting Enzyme Inhibition and Novel Cardiovascular Risk Factors（TRAIN）study. Am Heart J, **157**, 334.e1-334.e8.

3）Deminice R, et al.（2020）: Human and rodent skeletal muscles express angiotensin II type 1 receptors. Cells, **9**, 1688.

4）Hord JM, et al.（2021）: Nox2 signaling and muscle fiber remodeling are attenuated by losartan administration during skeletal muscle unloading. Physiol Rep, **9**, e14606.

5）Kwon OS, et al.（2015）: AT1 receptor blocker losartan protects against mechanical ventilation-induced diaphragmatic dysfunction. J Appl Physiol（1985）, **119**, 1033-1041.

6）McBride TA（2006）: AT1 receptors are necessary for eccentric training-induced hypertrophy and strength gains in rat skeletal muscle. Exp Physiol, **91**, 413-421.

7）Onder G, et al.（2002）: Adverse drug reactions as cause of hospital admissions: results from the Italian Group of Pharmacoepidemiology in the Elderly（GIFA）. J Am Geriatr Soc, **50**, 1962-1968.

8）Powers SK, et al.（2018）: The renin-angiotensin system and skeletal muscle. Exerc Sport Sci Rev, **46**, 205-214.

9）Ranjbar R, et al.（2019）: The potential therapeutic use of renin-angiotensin system inhibitors in the treatment of inflammatory diseases. J Cell Physiol, **234**, 2277-2295.

第 37 回若手研究者のための健康科学研究助成成果報告書
2020 年度 *pp*.117～126（2023.7）

オンラインセルフケア教室を通じた妊産婦の心の健康支援
―With, After コロナでの健幸社会構築を目指して―

松　島　みどり*　　石　井　　忍**

SUPPORTING THE MENTAL HEALTH OF PREGNANT AND POSTPARTUM WOMEN THROUGH ONLINE SELF-CARE CLASSES: TOWARDS THE CONSTRUCTION OF A HEALTHY SOCIETY WITH AND AFTER COVID-19 PANDEMIC

Midori Matsushima and Shinobu Ishii

Key words: postpartum mental health, counseling, exercise, peer effects, online classes.

緒　　言

妊娠期・産褥期は女性の人生のなかで最も精神的に不安定になりやすい時期といわれており、日本では産後 1 か月の産後うつ症の有病率が14.3％と推定されている[8)]。加えて、COVID-19パンデミック禍においては、日本を含む世界各国の報告から有病率は約22％とこれまでの研究と比べて高い割合となっている[10)]。妊産婦の抑うつは本人のみならず、新生児の成長や家族の健康に長期的な悪影響を及ぼすといわれており、妊産婦の精神的健康の改善は喫緊の課題である。

なお、産後のうつ症状の発症については、産科学的要因と生物学的要因に加えて、心理的要因と社会的要因があることが今までの研究でわかってきているが、特に社会的要因が症状の悪化や長期化と関連するといわれている。そのなかでもソーシャルサポートの重要性が挙げられ、財やサービスなど、問題を解決するための資源を直接提供することだけではなく、他者からの愛情や励まし、同情といった情緒的サポートが精神的健康を保つのに役立つことがわかっている[3)]。加えて、近年注目されているのが、妊娠期・産褥期の運動介入である。従来から運動が精神的健康に与える良い影響はさまざまな研究で示されており、各国では積極的に妊娠期・産褥期の身体活動を推奨している[2)]。

一方で、日本においては周産期のケアは情緒的サポートを提供するのみのカウンセリングが主流であり、運動の積極的な導入は行われていない。

そこで、本研究では、妊産婦の精神的健康にアプローチをする方法として従来行われてきたカウンセリングのみではなく、運動も同時に提供することの効果を検証する。また、オンライン上での実施でも精神的健康へ良い影響を与えるかを分析する。オンライン実施の効果検証が重要な理由は、産後女性は乳幼児を抱えて長時間外出することは難しく、それはアフターコロナにおいても同様で

*　筑波大学人文社会系　Faculty of Humanities and Social Sciences, University of Tsukuba, Ibaraki, Japan.
**　北里大学看護学部　School of Nursing, Kitasato University, Sagamihara, Japan.

あるためである。今回の介入研究の結果の有効性が示されれば、外出をせずとも参加できるオンライン教室は、パンデミック以降の社会においても積極的に取り入れることが推奨される。

方　　法

A．対象

妊産婦サービス提供会社ユーザーのメーリングリスト登録者に、産後12か月未満の母親を対象として参加協力依頼のメールを送付した。なお、本研究においては、安全性を第一とするため、健康状態を確認し、過去に 3 回以上の流早産の経験がある、高血圧といわれたことがある（140/90 mmHg 以上）、糖尿病、心臓病の既往がある、整形外科的な疾患がある、血液検査で異常を指摘されたことがある（もしくは高脂血症と診断された）、医師による運動の制限がある、のうち 1 つでも当てはまる場合は参加を認めず、医療保険は個人加入を義務付けることとした。

研究の同意が得られ、ライブ形式のオンラインセルフケア教室に参加した産後12か月未満の母親154名のうち、未回答の質問がある者を除いた129名（平均36歳，最小24歳，最高44歳）を前後比較分析と教室の出席頻度と心の健康の関連を分析するための対象者とした。また、ランダム化比較実験（randomized controlled trial; RCT）の枠組みでデータ収集ができた参加者（n = 111）を用いて追加分析を行った。

B．研究デザイン

前述の対象者に対して全 6 セッション（ 2 月，3 月， 5 月， 6 月， 8 月， 9 月）の参加者を募った。なお、1 月、4 月、7 月にそれぞれ翌月、翌々月分の参加者（各50名）をメールで募り、その 2 か月については参加者をランダム割り付けすることとした。（以下，それぞれ第 1 期（ 2 月， 3 月）、第 2 期（ 5 月， 6 月）、第 3 期（ 8 月， 9 月）と呼ぶ）。つまり、介入時期をずらすことでセッション終了ごとに介入群と対照群を設定し、RCT を実施する計画であった（例： 2 月終了時において，2 月参加者（以下，前期参加者）が介入群となり 3 月参加者（以下，後期参加者）は対照群となる）。なお、第 1〜3 期までの申込者数はそれぞれ92名、97名、136名であり、同数程度に割り当てている。

しかし、申込者数が全体で325名であったのに対して、ドロップアウト率も高く、実際の研究参加者は154名であった。また、アンケートについては倫理上強制することが困難であり、すべての質問は任意回答とした。そのため、特に、後期参加者についてはセッション前後の 3 回のアンケート調査（割り付け直後，教室開始直前，教室終了後）を完遂することが必要であるが、特に割り付け直後、教室開始直前の両方に回答している参加者が更に少なかった。これは、後期参加者にとっては、開始前に 2 回のデータ収集の必要性は理解が困難であることを十分に考慮せず案内を行ったことが要因であると考えられた。この点については、研究期間中に改善を試み、丁寧な説明やメールでのリマインドや依頼内容の強調などに努めた結果、第 3 期目（ 8〜9 月期）においては回収数が増加した。しかし、全体として、対照群の分析対象者数が介入群よりも少ないこと、また今回の経緯を踏まえると回答者そのものにサンプルセレクションが発生している可能性があること、解析対象者が減少することによる分析結果のバイアスが懸念される。そこで、以下の 3 つの方法での分析を行い検証結果の頑健性を確かめることとした。まず、全セッションの参加者をプールし、対照群を置かない前後比較研究として行った分析、次に、教室出席頻度と心の健康状態との関連をみるために教室欠席回数を説明変数とし、心の健康状態を被説明変数として行った回帰分析、最後に RCT として介入群と対照群を分け、DID（difference-in-difference）の手法を用いた分析である。それぞれの分析に用いるデータの調査時期やそれぞれの分析対象者数は表 1 のとおりである。

本研究は、筑波大学体育系の研究倫理委員会の承認を得て実施した（承認番号：第体021-98号）。

C．オンラインセルフケア教室の内容

介入期間は 1 か月とし、その間に週に 2 回30分間、計 8 回の教室を実施した。教室は運動パート（15分）と助産師によるミニ講座および Q&A（15分）から構成された。運動パートでは、運動指導員の指導の下、ラジオ体操の一部を抜粋したワンポイントレッスンや、各回のテーマに沿った、産

後の心身の健康増進を目的とした運動のレクチャーを実施した。なお、運動については、安全性に最大限配慮したものとなっており、負荷のかかる運動は一切行っていない。

後半15分では、各回のテーマに合った内容のスライド資料を共有しながら助産師が解説と情報提供を行い、その後は事前に参加者から募った質問内容を Q&A 形式で共有することによりピア・コミュニケーションを図った（表２）。

D．アンケート調査手順

研究の同意が得られた参加者には、割り付け直後、教室開始直前、教室終了後の 3 回 Web アンケート調査を実施した。すべての調査において評価指標となるメンタルヘルスに関する質問をし、加えて、教室開始直前アンケートにて参加者の基本属性（年齢・子どもの数・経済状況・教育歴・就労状況）、既往歴、痛み、ソーシャルキャピタル、行政や家族からのサポートの満足度、社会的孤立、妊娠・出産の状況等について調査を行った。また、今後への示唆を得るために教室終了後アンケートでは、運動と相談が一体となっている教室への満足度やオンライン実施についての考え等について

表１．それぞれの分析で使用した調査の時期と調査対象者数
Table 1. Survey period and number of observations for each analysis.

	Survey period	**22 Jan-2 Feb**	**26 Feb-2 Mar**	**26 Mar-3 Apr**
1st session Recruitment: Jan The first term: Feb The second term: Mar	The first term participants			
		After the allocation ＝ Before the term started	After the term finished	
	Before-After n = 23	✓	✓	
	DID（Treatment）n = 22	✓	✓	
	The second term participants			
		After the allocation	Before the term started	After the term finished
	Before-After n = 18		✓	✓
	DID（Control）n = 6	✓	✓	
2nd session: Recruitment: Apr The first term: 11 May-4 June The second term: 11 June-2 July （Due to the Golden-week holiday, we changed the dates.）	**Survey period**	**27 Apr-11 May**	**4 -9 June**	**2 -6 July**
	The first term participants			
		After the allocation ＝ Before the term started	After the term finished	
	Before-After n = 18	✓	✓	
	DID（Treatment）n = 18	✓	✓	
	The second term participants			
		After the allocation	Before the term started	After the term finished
	Before-After n = 23		✓	✓
	DID（Control）n = 10	✓	✓	
3rd session: Recruitment: July The first term: Aug The second term: Sep	**Survey period**	**20 July-4 Aug**	**31 Aug-3 Sep**	**28 Sep-2 Oct**
	The first term participants			
		After the allocation ＝ Before the term started	After the term finished	
	Before-After n = 25	✓	✓	
	DID（Treatment）n = 28	✓	✓	
	The second term participants			
		After the allocation	Before the term started	After the term finished
	Before-After n = 22		✓	✓
	DID（Control）n = 27	✓	✓	

Total observation for Before-After analysis was n = 129；Total observation for DID analysis was n = 111.
The survey period for the‘After the allocation’is longer than the other survey. This is because the duration of the first survey needed to be longer in order to obtain the consent for the participation while the second survey needed to do it within the gap between the first and the second session. The third survey was also conducted for the same duration as the second session for the purpose of comparisons.
DID; difference-in-difference.

表 2．教室の内容
Table 2. Classroom content.

Topics	Exercise along the topics
1st“Sleep and daily rhythms for mom and baby”	Back, chest, and pelvis
2nd“Prenatal and postnatal pelvic care”	Pelvic area
3rd“Mental health of moms”	Back, chest, shoulders, and pelvis（minor problems）
4th“How to deal with breastfeeding problems”	Breast care（chest, back, and neck）
5th“Allergy prevention”	Total body maintenance
6th“How to hold a baby”	Back, chest, shoulders, hip, and legs
7th“Disaster preparation”	Legs
8th“Always be beautiful and healthy!”	Review

質問をした。なお、この点については、統計解析ではなく量的把握として結果を報告する。

E．評価指標

本研究では、産婦の心の健康を評価する指標として、エジンバラ産後うつ病自己評価票（Edinburgh Postnatal Depression Scale; EPDS）および PANAS（Positive and Negative Affect Schedule）を用いた。EPDS は、産後うつ病のスクリーニングを目的として開発された妊娠中および産後 1 年未満の妊産婦を対象に使用する自己記入式質問紙である。各質問とも 0〜3 点の 4 段階で評価し10項目を合計するため、総得点の範囲は 0〜30点となる[1)]。そして、本研究では日本語版を使用している[5)]。日本においては、合計得点が 9 点以上であった場合、「うつ病の可能性が高い」とされており[5)]、本研究でもカットオフ値を 9 と設定した。

PANAS は、ポジティブ感情とネガティブ感情を測定する20項目 6 件法で構成された尺度である[9)]。本研究で使用するのは日本語版であり、16項目で構成されたものである。ポジティブ感情、ネガティブ感情に関するそれぞれ 8 つの項目に対し、「1．全く当てはまらない」「2．当てはまらない」「3．どちらかといえば当てはまらない」「4．どちらかといえば当てはまる」「5．当てはまる」「6．非常によく当てはまる」の 6 件法で回答する。各感情における総得点の範囲はそれぞれ 8〜48点であり、点数の合計が高いほど、その感情が大きいと解釈することができる[7)]。

F．統計解析

まず、参加者の属性を確認し、その後介入前後で参加者の EPDS カットオフ値以上の割合と PANAS 得点に差があったかどうかを検討するため、二群の差の検定を行った。

次に、教室の参加が EPDS 得点と PANAS 得点の差に影響を及ぼしたことを検証するため、二項ロジスティック回帰分析を行った。被説明変数には介入前後の EPDS 得点および PANAS 得点の差を取り、改善されていた場合を 1 とするダミー変数を用いた。そして、説明変数に教室の欠席回数を用いることで教室の効果の検証を試みた。全 8 回のうち 0〜2 回、 3〜5 回、 6〜8 回の 3 段階に分けてダミー変数化した。統制変数には基本属性、既往歴、痛み、ソーシャルキャピタル、行政や家族からのサポートの満足度、社会的孤立（Lubben social network scale-6にてカットオフ値12点未満）、参加セッションの月ダミーを用いた。なお、教室の主な欠席理由は、時間が合わなかった、子どもの世話をしていたといったものであり、心の不調による欠席ではなかったことから、欠席が外生的な理由で起きていると仮定している。

最後に、DID 分析として、介入群と対照群を設定し分析をした。この分析では、被説明変数は上記の二項ロジスティック回帰分析と同様である。なお、今回、研究デザインとして RCT を用いたものの、アンケート回答者にセレクションが発生している可能性があること、また、介入前の平行トレンドの仮定についての検証ができないことから、上記と同様の統制変数を用いる。なお、痛みの変数については、本研究が運動介入でもあることを踏まえて 1 か月の変化を用いた。

解析には統計ソフト Stata/MP15.1を用いた。

表３．二群の差の検定
Table 3. Two-group difference test.

	Pre	Post	Differences
EPDS ≧ 9	Prevalence		
	30.23%（0.46）	17.05%（0.38）	−2.49***
PANAS	Mean score		
Positive affect	28.97 （6.56）	29.16 （6.73）	0.28
Negative affect	25.27 （8.10）	21.98 （7.77）	−4.07***

This shows the results of Two-group difference test.
EPDS stands for Edinburgh Postnatal Depression Scale, and PANAS stands for the Positive and Negative Affect Schedule. Chi-square test was used for differences in prevalence of EPDS ≧ 9, and T-test was used for differences in PANAS scores.
Standard deviation in parentheses.
*** $P < 0.01$.

結　　果

A．前後比較の分析

参加者の基本属性と評価指標の記述統計を確認すると、参加者の属性は、年齢の平均値が36歳（最小24歳，最高44歳）であり、子どもは平均1.63名、学歴は85％が４年制の大学を卒業していた。また、正規雇用（現在は育休中の場合も含む）が77％であり、年間の世帯年収は最頻値が1000万円以上、次いで600万円以上700万円未満であった。評価指標については、分析に用いた参加者（n = 129）のうち、介入前における EPDS 得点≧ 9 の者の割合は30.23％であり、PANAS のポジティブ感情およびネガティブ感情得点はそれぞれ平均して28.97、25.27であった。一方、介入後においては EPDS 得点≧ 9 の者の割合は17.05％であり、PANAS のポジティブ感情およびネガティブ感情得点はそれぞれ平均して29.16、21.98であった。更に、介入前後で EPDS 得点が改善した者の割合は58.91％、PANAS のポジティブ感情およびネガティブ感情についてはそれぞれ43.41％、65.12％であった。

二群の差の検定を行った結果を確認すると、EPDS のカットオフ値の割合（χ二乗検定：$P < 0.01$）および PANAS のネガティブ感情得点（T 検定：$P < 0.01$）において統計的に有意な差が認められたが、ポジティブ感情得点（$P = 0.39$）においては統計的には有意な差を示さなかった。EPDS のカットオフ値の割合は、介入前は30.23％、介入後は17.05％であった。なお、EPDS 得点の平均値は、介入前では6.00 ± 4.07点、介入後では4.78 ± 3.83点であり、カットオフ値のみでなく得点そのものにも差が確認されている。PANAS のネガティブ感情得点の平均値は、介入前では25.27 ± 8.10点、介入後では21.98 ± 7.77点であった（表３）。

B．二項ロジスティック回帰分析

欠席回数について、二項ロジスティック回帰分析の結果を確認すると、PANAS のネガティブ感情得点において、欠席回数６～８回の群で改善確率が有意に27％上昇すると示された（オッズ比 = 0.27，95％信頼区間［0.08-0.92］）（表４）。

C．DID 分析

DID 分析にあたり、まずバランシングテストを行った。前後比較の分析で用いた統制変数と同様の基本属性、既往歴、痛み、ソーシャルキャピタル、行政や家族からのサポートへの満足度、社会的孤立について確認をしたところ、介入群と対照群に統計的に有意な差は確認されなかった（表５）。

次に、分析の結果を表６に記す。EPDS 得点と PANAS のネガティブ感情得点の改善について、それぞれ、29％、20％、介入群で改善確率の上昇が確認された。一方で、ポジティブ感情得点に関しては統計的な有意差は確認されなかった。

D．教室の方法と内容についての満足度とオンライン教室のニーズの量的把握

教室の方法として、「運動教室と助産師講座が一体化している本教室に満足しているか」という設問に対し、97％が「そう思う」と回答していた。実際の参加動機についてみてみると、体力低下や心身の不調があり改善をしたいと思ったという者

表４．二項ロジスティック回帰分析
Table 4. Binomial logistic regression analysis.

Variable	EPDS OR（95%CI）	PANAS Positive affect OR（95%CI）	PANAS Negative affect OR（95%CI）
Number of absences[a)]（0-2）（ref.）			
Number of absences（3-5）	1.12（0.42 - 2.95）	1.05（0.43 - 2.57）	1.64（0.60 - 4.44）
Number of absences（6-8）	1.15（0.29 - 4.61）	0.61（0.16 - 2.26）	0.27（0.08 - 0.92）**
Age	0.98（0.87 - 1.09）	0.99（0.87 - 1.11）	0.98（0.87 - 1.11）
Number of children	1.23（0.67 - 2.27）	1.06（0.60 - 1.85）	1.12（0.63 - 2.01）
Household income[b)]: Poorest（ref.）			
Poor	0.73（0.24 - 2.22）	0.53（0.18 - 1.52）	0.78（0.25 - 2.47）
Rich	1.14（0.33 - 3.96）	0.63（0.19 - 2.03）	0.75（0.20 - 2.80）
Richest	0.98（0.25 - 3.80）	0.67（0.19 - 2.35）	0.59（0.14 - 2.39）
Education:（ref.）less than university			
University graduates	1.75（0.52 - 5.88）	1.93（0.54 - 6.99）	0.97（0.27 - 3.49）
Employment status[c)]: Unemployed（ref.）			
Part-time	0.91（0.18 - 4.61）	0.46（0.07 - 2.94）	0.76（0.12 - 4.81）
Full-time	0.71（0.22 - 2.31）	0.75（0.22 - 2.56）	2.22（0.60 - 8.27）
Medical history[d)]: Mental illness（1: Yes, 0: No）	0.46（0.11 - 1.85）	0.25（0.05 - 1.20）*	0.71（0.16 - 3.24）
Physical illness（1: Yes, 0: No）	0.51（0.14 - 1.93）	1.00（0.22 - 4.45）	1.13（0.23 - 5.55）
Pain（1: Yes, 0: No）	1.85（0.69 - 4.91）	1.24（0.54 - 2.87）	1.30（0.50 - 3.35）
SC[e)]: Community members are trustworthy（1: Yes, 0: No）	1.03（0.16 - 6.59）	7.08（0.85 - 58.91）*	0.79（0.09 – 7.00）
SC : Community members try to help others（1: Yes, 0: No）	0.66（0.16 - 2.79）	0.40（0.08 - 2.07）	0.49（0.11 - 2.29）
Support[e)]: Satisfied with government support for child care（1: Yes, 0: No）	2.09（0.62 - 7.03）	1.26（0.47 - 3.37）	0.74（0.24 - 2.28）
Support: Satisfied with community support for child care（1: Yes, 0: No）	0.55（0.17 - 1.76）	0.66（0.21 - 2.09）	1.15（0.36 - 3.63）
Support: Satisfied with family support for child care（1: Yes, 0: No）	3.43（0.95 - 12.49）*	1.13（0.32 - 4.04）	1.56（0.35 - 6.90）
Social isolation [f)]:（1: Isolated, 0: Not isolated）	0.64（0.24 - 1.71）	0.45（0.18 - 1.11）*	1.11（0.44 - 2.77）
Participating session[g)]: 1st session			
2nd session	1.54（0.35 - 6.75）	2.79（0.70 - 11.16）	1.73（0.37 - 8.09）
3rd session	0.68（0.15 - 3.08）	2.58（0.65 - 10.16）	1.52（0.36 - 6.47）
4th session	0.73（0.18 - 3.01）	3.10（0.80 - 12.00）	1.90（0.50 - 7.25）
5th session	3.77（0.80 - 17.7）*	1.64（0.38 - 7.15）	0.67（0.18 - 2.54）
6th session	0.57（0.14 - 2.32）	1.63（0.38 - 7.02）	5.91（1.23 - 28.34）**
Constant	0.66（0.00 -103.20）	0.34（0.00 - 59.28）	2.17（0.02 - 284.00）

This shows the results when a binomial logistic regression analysis was conducted with the number of class absences as the explanatory variable for each of the EPDS, PANAS positive affect, and PANAS negative affect.

Adjusted for standard error, ***$P < 0.01$, **$P < 0.05$, *$P < 0.1$, OR; odds ratio, 95%CI; 95％ confidence interval, number of observation: 129.

a: For the number of absences, of a total 8 class, the group was categorized as 0-2 times（reference group）, 3-5 times, and 6-8 times.

b: Household income was divided into quartiles.

c: Employment status was divided into unemployed（reference group）, part-time, and full-time.

d: For the medical history, those who responded“yes”for each of mental illness and physical illness were counted as 1.

e: For the social capital（SC）and support, those who responded“agree”or“somewhat agree”for each of the five items were counted as 1, while those who answered“not so much agree”or“disagree”were counted as 0.

f: The Lubben social network scale-6（LSNS-6）was used to identify for social isolation. A total score of less than 12, meaning“socially isolated”is counted as 1.

g: For the month of the participating sessions, the first session（February）was used as the reference group.

表５．バランステスト
Table 5.　Balance test for DID（difference-in-difference）analysis.

	Total n = 111	Control n = 43	Treatment n = 68	Difference
Age	35.5（4.0）	34.9（4.0）	35.9（4.0）	0.0
Number of children	2.4（2.3）	2.3（2.2）	2.4（2.3）	−0.10
Household income: Poorest	27（24.3%）	9（20.9%）	18（26.5%）	−0.64
Poor	29（26.1%）	10（23.3%）	19（27.9%）	−0.46
Rich	44（39.6%）	20（46.5%）	24（35.3%）	−0.11
Richest	11（ 9.9%）	4（ 9.3%）	7（10.3%）	−0.01
Education: University graduate	93（83.8%）	39（90.7%）	54（79.4%）	0.11
Working as a full-time	4（ 3.6%）	0（ 0.0%）	4（ 5.9%）	−0.06
Working as a part-time	83（74.8%）	30（69.8%）	53（77.9%）	0.33
Medical history: Mental illness	8（ 7.2%）	1（ 2.3%）	7（10.3%）	−0.08
Physical illness	14（12.6%）	5（11.6%）	9（13.2%）	−0.02
Pain severity	0.3（ 1.5）	0.3（1.5）	0.3（1.5）	0.0
Social isolation	11（ 9.9%）	3（ 7.0%）	8（11.8%）	0.05
SC: Trust to community members（Yes）	91（82.0%）	35（81.4%）	56（82.4%）	−0.01
SC: Community members help others（Yes）	85（76.6%）	31（72.1%）	54（79.4%）	−0.07
Support: Satisfied with government support for child care（Yes）	69（62.2%）	25（58.1%）	44（64.7%）	−0.07
Support: Satisfied with community support for child care（Yes）	69（62.2%）	30（69.8%）	39（57.4%）	0.12
Support: Satisfied with family support for child care（Yes）	100（90.1%）	40（93.0%）	60（88.2%）	0.05

This shows the results of balancing test of characteristics of respondents for DID analysis.
T-test was used for continuous variables to check the differences in mean and Chi-square test was used to check differences in prevalence rate.
Average or percentage were shown in parenthesis.

が90％程度いることに加えて、育児不安があり改善したいという動機をもって参加した者が75％存在していた。つまり、これらの結果を踏まえても、運動と相談が一体となった教室へのニーズは高いといえる。また、オンライン教室のニーズに関しては、「（現在は）オンラインで行う教室は対面よりも参加しやすいと感じるか」という設問については、92％が「そう思う」と回答していた。対面を希望する者も一定数いることには注意が必要ではあるものの、産後という通常とは異なる物理的な制約がかかる時期においては、オンラインの教室は特にニーズが高いといえる。

考　　察

産婦129名を対象に、１か月のオンラインセルフケア教室に参加したことで心の健康が改善されるかどうかを検証した。二群の差の検定では、EPDS のカットオフ値以上の割合と PANAS のネガティブ感情得点において教室参加前後で有意な差がみられた。また、教室の欠席回数を説明変数として行った二項ロジスティック回帰分析では、欠席回数が少ないことが心の健康の悪化の防止に役立つ可能性が示唆された。また、介入群と対照群を比較した DID 分析の結果からは、介入群では EPDS 得点と PANAS のネガティブ感情得点の改善確率が上昇するといった、前後比較から得られた示唆と整合的な結果が得られた。このように心の健康を悪化させないことは、RCT で検証したトルコでの訪問型ケア介入[4]、ノルウェーのオンラインでの周産期教育プログラム介入[6] においてもその効果として報告されており、産後女性においては「悪化させない」ことは重要である。つまり、今回のような週に２回（各30分）の１か月のオンラインの介入においても悪化防止の効果が

表 6．DID（difference-in-difference）分析の結果
Table 6. Results of DID（difference-in-difference）analysis.

Variable	EPDS Coefficients Standard error	PANAS Positive Affect Coefficients Standard error	PANAS Negative Affect Coefficients Standard error
Treated	0.29（0.09）***	−0.06（0.11）	0.20（0.11）*
Age	−0.01（0.01）	0.00（0.01）	0.00（0.01）
Number of children	0.07（0.02）***	−0.04（0.03）	−0.02（0.03）
Household income :（ref.）Poorest			
Poor	−0.17（0.14）	0.27（0.12）**	−0.17（0.15）
Rich	0.16（0.14）	0.03（0.14）	−0.05（0.16）
Richest	−0.42（0.15）***	−0.19（0.18）	−0.17（0.16）
Education:（ref.）less than university			
University graduates	−0.04（0.12）	0.03（0.14）	0.05（0.14）
Employment status :（ref.）Unemployed			
Part-time	0.24（0.17）	−0.17（0.29）	0.07（0.29）
Full-time	−0.14（0.12）	0.22（0.13）*	−0.03（0.14）
Medical history : Mental illness（1: Yes, 0: No）	−0.02（0.17）	−0.24（0.13）*	−0.24（0.17）
Physical illness（1: Yes, 0: No）	−0.22（0.14）	0.20（0.15）	−0.39（0.15）**
Pain severity（−5: improved- 5: worsened）	0.03（0.03）	0.03（0.03）	−0.04（0.03）
SC: Community members are trustworthy （1: Yes, 0: No）	−0.08（0.15）	−0.35（0.16）**	0.04（0.14）
SC: Community members try to help others （1: Yes, 0:No）	−0.06（0.15）	0.25（0.15）	−0.35（0.13）***
Support: Satisfied with government support for child care（1: Agree, 0: No）	0.04（0.09）	0.32（0.10）***	0.15（0.10）
Support: Satisfied with community support for child care（1: Agree, 0: No）	0（0.13）	−0.12（0.13）	0.16（0.12）
Support: Satisfied with family support for child care（1: Agree, 0: No）	−0.30（0.11）***	0.16（0.19）	−0.06（0.18）
Social isolation:（1: Isolated, 0: Not isolated）	0.32（0.15）**	0.39（0.14）***	−0.15（0.19）
Participating session:（ref.）1or 2nd session			
3 or 4th session	−0.36（0.17）**	0.33（0.18）*	0.17（0.19）
5 or 6th session	0.24（0.12）**	0.01（0.14）	0.04（0.14）
Constant	0.99（0.52）*	−0.09（0.46）	0.66（0.49）
R-squared	0.360	0.291	0.224
F（20,90）	6.80***	5.26***	2.72***

This shows the results of DID analysis.
Robust standard error in parentheses, ***$P < 0.01$, **$P < 0.05$, *$P < 0.1$, number of observation: 111.

認められたこと加えて、EPDS 得点に改善がみられたことは特記に値する。

なお、教室の方法と内容についての満足度とオンライン教室のニーズに関する量的把握からは、運動教室と助産師講座が一体化している教室へのニーズと満足度の高さが明らかとなった。また、オンライン教室に対するニーズは対面教室よりも高く、運動による健康への正の影響が認められたとしても、そもそも参加することができなければ意味をなさないため、参加のしやすさは非常に重要でありオンライン介入の有用性が示唆された。

本研究における限界として以下 3 点が挙げられる。まず、産後女性を対象とした介入研究の難しさと結果の頑健性である。産後女性は一般の成人

男女と異なり自分の意思や予定、体調でその日の活動を決められるわけではなく、予想が困難な新生児のケアをしており、アンケート調査に回答をする時間の確保は簡単ではない。そのため、すべての調査や質問に回答をしてもらうことを期待することや、分析対象者数を確保することは容易ではない。また今回のように介入を伴う研究については、研究への参加についての確約が困難である。ドロップアウト率を推定し研究をデザインする必要があるものの、今回についてはオンラインの運動相談室という新しい介入の試みであったこともあり、その推定が不正確であり不十分であった。そのため、今回は前後比較と、回帰分析、DID 分析によって結果の頑健性を確かめることを試みた。3 つの方法での分析結果は整合的であり、心の健康状態の悪化を防止することが示されたものの、いずれの分析においても対象者数が少なくなってしまったことは今後克服すべき課題である。2 点目は結果の一般化の妥当性である。本研究においては、ドロップアウト率が高い、そしてアンケートのすべての質問への回答率が低いなかで、アンケートに回答をしている回答者を分析している。しかし、アンケート未回答者についての情報がないため、今回の分析対象者の特異性を確認できていない。特に産婦を対象とした場合、どれだけ心身の健康状態を改善することが明らかなプログラムを提供したとしても、子育てや家事などの時間的・物理的制約によって、そもそもそのプログラムを受けることができない人が少なくないことも考慮する必要があり、それらについての検討を行い、社会実装した際のインパクトの測定が重要である。3 点目は中長期的なインパクトの測定を今回の研究では実施できていない。現在までの研究において中長期的な効果が認められているオンラインの介入は明らかになっておらず、今後の研究課題としたい。

総　　括

本研究は、オンラインセルフケア教室の効果を計量的に評価した介入研究である。二群の差の検定では、EPDS 得点と PANAS のネガティブ感情得点において有意な差を示し、基本属性や社会経済属性を考慮した二項ロジスティック回帰分析においても教室参加による心の健康状態悪化の防止の可能性が示された。加えて、介入群と対照群を設けて行った DID 分析の結果において介入群では EPDS 得点と PANAS のネガティブ感情得点の改善が確認された。また、質的な調査項目からは、運動と助産師相談教室が一体化した本教室がオンラインで実施されることの効果や需要についても確認することができた。一方で、本研究には、前述のように介入研究としての研究デザインの限界や分析者数を鑑み、結果の一般化は慎重に議論する必要がある。今後は、産後という特に時間的物理的な自由が制限されやすい時期であることも踏まえて、より慎重に研究デザインを整えること、そのような時期であっても参加することが可能な介入方法を提案し、COVID-19禍だけでなく今後の妊産婦の精神的健康の改善に役立つような研究を進めることが重要である。

謝　　辞

本研究は、公益財団法人明治安田厚生事業団第 37 回若手研究者のための健康科学研究助成を受けて実施したものである。介入研究の実施にあたっては、久野譜也氏（筑波大学体育系教授）から運動指導についての専門的な助言をいただいた。また健康運動指導士の吉永美奈子氏および小野梨沙氏、助産師の高杉絵理氏、榎本美紀氏、君島由紀氏、川崎麻希子氏、筑波大学国際総合学類 4 年佐々木壮志氏には教室運営にご協力いただいた。加えて、株式会社ベビーカレンダーには本教室の参加者募集を全面的にサポートいただいた。ここに深謝の意を表する。

参 考 文 献

1）Cox JL, et al.（1987）: Detection of postnatal depression. Development of the 10-item Edinburgh Postnatal Depression Scale. Br J Psychiatry, **150**, 782-786.
2）Department of Health and Social Care（2019）: UK Chief Medical Officer's physical activity guidelines. GOV.UK.
3）Ghaedrahmati M, et al.（2017）: Postpartum depression risk factors: a narrative review. J Educ Health Promot, **6**, 60.
4）Haga SM, et al.（2019）: Mamma Mia - a randomized controlled trial of an internet-based intervention for perinatal depression. Psychol Med, **49**, 1850-1858.
5）岡野禎治（1996）：日本版エジンバラ産後うつ病自己評価表（EPDS）の信頼性と妥当性．精神科診断学，**7**, 525-533.
6）Ozcan S, et al.（2021）: Using Levine's conservation

model in postpartum care: a randomized controlled trial. Health Care Women Int, **42**(4-6), 794-814.

7）佐藤　徳ら(2001)：日本語版 PANAS の作成．性格心理学研究，**9**, 138-139.

8）Tokumitsu K, et al.（2020）: Prevalence of perinatal depression among Japanese women: a meta-analysis. Ann Gen Psychiatry, **19**, 41.

9）Watson D, et al.（1988）: Development and validation of brief measures of positive and negative affect: the PANAS scales. J Pers Soc Psychol, **54**, 1063-1070.

10）Yan H. et al.（2020）: Mental health of pregnant and postpartum women during the coronavirus disease 2019 pandemic: a systematic review and meta-analysis. Front Psychol, **11**, 617001.

第 37 回若手研究者のための健康科学研究助成成果報告書
2020 年度 *pp*.127〜134（2023.7）

新型コロナウイルス感染症の流行が未就学児の身体活動とメンタルヘルスに及ぼす影響
―流行前後にわたる前向きコホート研究―

村　上　慶　子*

EFFECTS OF COVID-19 PANDEMIC ON PHYSICAL ACTIVITY AND MENTAL HEALTH IN PRESCHOOL CHILDREN

Keiko Murakami

Key words: cohort study, COVID-19, mental health, physical activity, preschool children.

緒　　言

新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の流行と感染防止策は、人々の生活のあらゆる側面に影響を及ぼしてきた。子どもは、感染により重症化するリスクは概して低いといわれている。しかし、休校や外出・保育所等利用の自粛要請等による交友の機会や屋外で体を動かす機会の減少、外出自粛要請や経済活動の停滞等に起因する保護者のメンタルヘルスの悪化等により、子どもの身体不活動およびメンタルヘルスの悪化は流行当初より懸念されてきた[3)]。そうした懸念を裏付けるように、コロナ禍における子どもの身体活動レベルの低下、スクリーンタイム（テレビ・スマホ・ゲームなどを見る時間）の増加、メンタルヘルスの悪化を明らかにした研究が続々と発表されている[6-8)]。しかし、流行後に開始された調査からの報告が主であるため、流行前の状況が不明であるか思い出しによる回答であることが多い。また、流行開始から 1 年以内という急性期に行った調査が主であるため、流行の急性期から中期にわたる変化を検討できていない。自粛の緩和等は進んできているものの、感染者数の増減を繰り返しており、2023年 1 月現在においても流行終息の目処は立っていない。そのため、COVID-19流行前から長期にわたり継続している調査データを用いた検討が必要と考えられる。

親の身体的・精神的な健康状態、社会経済的状態、居住環境など、児の身体活動・メンタルヘルスにはさまざまな要因が関連していることが示されてきた。COVID-19流行の長期化による社会的影響は多岐にわたるが、最も深刻な社会問題の 1 つとして、対面接触を避けることが推奨された結果の社会的孤立が挙げられる。社会的孤立がメンタルヘルスに悪影響を及ぼすことは多くの研究で示されてきたが[10)]、自身の社会的孤立の影響を検討したものが主であり、母親の社会的孤立が児のメンタルヘルスに及ぼす長期的な影響を検討した研究は限られている。

そこで本研究は、以下の 2 点を目的とする。 1

* 東北大学東北メディカル・メガバンク機構　Tohoku Medical Megabank Organization, Tohoku University, Sendai, Japan.

点目は、COVID-19流行前から継続しているコホート調査のデータを用いることで、COVID-19流行前後にわたる未就学児の身体活動とメンタルヘルスの変化を明らかにすることである。2点目は、母親の社会的孤立が児のメンタルヘルスに及ぼす長期的な影響を明らかにすることである。

方　　法

本研究では、東北メディカル・メガバンク計画において実施中の三世代コホート調査のデータを使用した。三世代コホート調査は、2013年7月より宮城県内および岩手県の一部地域に在住する妊婦とその家族を対象とした出生コホート調査であり、母児23143組が参加に同意した。協力の得られた宮城県内の約50の産科施設にて、妊婦に声がけをしてリクルートを行った。2017年3月にリクルートは終了したが、その後も1〜2年に1回児の誕生日を目安に調査票を郵送し、母児の健康状態等を追跡している。

A．COVID-19流行前後の児の身体活動・メンタルヘルスに関する研究

1．対象者

4歳時調査票と2019年1月から2021年12月に5歳時調査票に回答した母児8400組のうち、分析項目に有効回答が得られた4015組を分析対象とした。

2．測定項目

5歳時調査票の記入日をもとに、2019年回答群、2020年回答群、2021年回答群の3群に分類した。

児の身体活動は、運動・スポーツの頻度、スクリーンタイムを尋ねた。「お子さんは運動やスポーツをどのくらいしていますか？」を4件法で保護者に尋ね、「ほとんど毎日（週に3日以上）」「ときどき（週に1〜2日くらい）」を週に1回以上、「ときたま（月に1〜3日くらい）」「しない」を週に1回未満と2分類した。4歳時と5歳時の回答をもとに、高頻度を継続、頻度増加、頻度減少、低頻度を継続の4分類とした。感度分析として週に3日以上と週に2日以下の分類も検討した。「ふだんの1日、お子さんにテレビやDVD・テレビゲーム・ネットゲーム（携帯・タブレットも含む）などを何時間くらい見せて（させて）いますか？」を5件法で保護者に尋ね、「見せて（させて）いない」「1時間未満」「1〜2時間未満」を2時間未満、「2〜4時間未満」「4時間以上」を2時間以上と2分類した。4歳時と5歳時の回答をもとに、短時間を継続、時間減少、時間増加、長時間を継続の4分類とした。感度分析として1時間未満と1時間以上の分類も検討した。児のメンタルヘルス・行動は、Child Behavior Checklist 1½-5（CBCL/1½-5）を用いて保護者が評価した。CBCL/1½-5の回答は7つの症状群尺度とその他の問題に分類されるが、全部加えた全問題尺度に加え、上位尺度として情緒反応・不安/抑うつ・身体愁訴・引きこもりを内向尺度、注意の問題・攻撃的行動を外向尺度としている[1-2)]。4歳時と5歳時の各尺度スコアの差を算出した。共変量は、母親の年齢、教育歴、世帯所得、就労状況、うつ症状（the Center for Epidemiologic Studies Depression Scale; CES-Dスコア16点以上）、児の性別、きょうだい数、保育施設利用とした。

3．分析方法

5歳時調査票の2019年回答群、2020年回答群、2021年回答群の属性を、分散分析（ANOVA）およびχ^2検定で比較した。多項ロジスティック回帰分析を用いて、5歳時調査票の回答年と運動・スポーツの頻度、スクリーンタイムの関連を検討し、共変量で調整した。重回帰分析を用いて、5歳時調査票の回答年と児のメンタルヘルスの変化（CBCL/1½-5の全問題尺度, 内向尺度, 外向尺度）との関連を検討し、共変量で調整した。

B．母親の社会的孤立と児のメンタルヘルスに関する研究

1．対象者

2022年3月までに4歳時調査票に回答した母児9312組のうち、分析項目に有効回答が得られた5842組を分析対象とした。報告書執筆時点で回収されたデータの電子化がすべて終了しているという観点から、4歳時のデータを用いることとした。1歳時調査票と4歳時調査票の回答を連結してデータセットを作成した。

2．測定項目

児のメンタルヘルスに関連すると考えられる要因のうち、COVID-19流行により最も深刻な社会問題の1つとなった社会的孤立に本研究では着目

した。母親の社会的孤立は、児が 1 歳時に Lubben Social Network Scale 短縮版（LSNS-6）を用いて評価した[5]。そのため、COVID-19流行前の社会的孤立を測定していることになる。家族に関する項目と友人に関する項目からなる尺度であり、30点中12点未満を社会的孤立ありとした[4]。児のメンタルヘルス・行動は、CBCL/ 1 ½- 5 を用いて児が 4 歳時に保護者が評価した。全問題尺度、内向尺度、外向尺度いずれも、T 得点64点以上を臨床域とした[2]。共変量は、母親の年齢、教育歴、世帯所得、就労状況、婚姻状況、パーソナリティ（外向性傾向，神経症傾向）、うつ症状（CES-D スコア16点以上）、児の性別、きょうだい数とした。

3．分析方法

母親における社会的孤立の有無別の属性を、t 検定および χ^2 検定で比較した。多重ロジスティック回帰分析を用いて、児が 1 歳時の母親の社会的孤立と 4 歳時の児の問題行動（CBCL/ 1 ½- 5 の全問題尺度，内向尺度，外向尺度）の関連を検討し、共変量で調整した。

C．倫理的配慮

三世代コホート調査は、東北大学東北メディカル・メガバンク機構倫理委員会の承諾を得て行っている（承認番号：2013-1-103-1）。

結　　果

A．COVID-19流行前後の児の身体活動・メンタルヘルスに関する研究

対象者の属性を表 1 に示す。5 歳時調査票の回答年の割合は、2019年が19.3％、2020年が39.8％、2021年が40.9％であった。教育歴、世帯所得、就労状況、保育施設利用の有無は 5 歳時調査票の回答年により差がみられたものの、他の属性では群間に有意な差はみられなかった。4 歳時と 5 歳時の身体活動、メンタルヘルスともに、群間に有意な差はみられなかった。5 歳時調査票の回答年は、4 歳から 5 歳にかけての運動・スポーツ頻度の変化との関連はみられなかった（表 2 ）。頻度増加のオッズ比（95％信頼区間）は、2020年回答群で1.22（0.87, 1.72）、2021年回答群で1.09（0.77, 1.54）であった。頻度減少のオッズ比（95％信頼区間）は、2020年回答群で0.94（0.67, 1.34）、2021年回答群で1.07（0.76, 1.51）であった。5 歳時調査票の回答年は、4 歳から 5 歳にかけてのスクリーンタイム時間の変化との関連はみられなかった（表 3 ）。時間減少のオッズ比（95％信頼区間）は、2020年回答群で0.96（0.70, 1.32）、2021年回答群で0.99（0.72, 1.35）であった。時間増加のオッズ比（95％信頼区間）は、2020年回答群で1.19（0.86, 1.63）、2021年回答群で1.13（0.82, 1.55）であった。感度分析として、運動・スポーツ、スクリーンタイムのカテゴリー分類を変更して分析しても、同様の結果が得られた。5 歳時調査票の回答年は、4 歳から 5 歳にかけてのメンタルヘルスの変化との関連はみられなかった（表 4 ）。

B．母親の社会的孤立と児のメンタルヘルスに関する研究

対象者の属性を表 5 に示す。母親が社会的に孤立している割合は、25.4％であった。社会的に孤立している女性はそうでない女性と比較して、高い年齢、低い教育歴、低い世帯所得、就労なし、配偶者なし、低い外向性傾向、高い神経症傾向、うつ症状ありという傾向がみられた。母親の社会的孤立と児の問題行動の関連を表 6 に示す。児における問題行動の割合は、全問題尺度で12.3％、内向尺度で13.0％、外向尺度で13.9％であった。母親が社会的に孤立している児ほど全問題尺度で測定した問題行動の割合が高く、孤立なしと比較した孤立ありのオッズ比（95％信頼区間）は1.37（1.14, 1.64）であった。内向尺度、外向尺度で測定した問題行動でも同様の関連がみられ、オッズ比（95％信頼区間）は各々、1.33（1.12, 1.59）、1.40（1.18, 1.66）であった。

考　　察

本研究では、COVID-19流行前から継続しているコホート調査のデータを用いて、COVID-19流行前後での未就学児における運動習慣、スクリーンタイムとメンタルヘルスの変化を検討した。「4 歳と 5 歳の調査票回答が COVID-19流行開始をまたぐ群（5 歳時調査票を2020年に回答した群）では、運動・スポーツ頻度が減少、スクリーンタイムが増加、メンタルヘルスが悪化している」という仮説を立てて検討を行った。その結果、運

表 1．対象者の属性（COVID-19流行前後の児の身体活動・メンタルヘルスに関する研究）
Table 1. Characteristics of the participants.

	5-year survey year			*P*-value[a]
	Response in 2019 (n = 774)	Response in 2020 (n = 1597)	Response in 2021 (n = 1644)	
Maternal age, mean（SD）	36.4 （ 4.7）	36.2 （ 4.7）	36.5 （ 4.7）	0.17
Educational attainment, n（%）				0.039
High school or lower	193 （24.9）	491 （30.7）	486 （29.6）	
College	326 （42.1）	605 （37.9）	617 （37.5）	
University or higher	255 （32.9）	501 （31.4）	541 （32.9）	
Household income, n（%）				< 0.001
≤ 3.99 million Japanese yen	246 （31.8）	586 （36.7）	511 （31.1）	
4.00–5.99 million Japanese yen	275 （35.5）	542 （33.9）	546 （33.2）	
≥ 6.00 million Japanese yen	253 （32.7）	469 （29.4）	587 （35.7）	
Working, n（%）	419 （54.1）	949 （59.4）	979 （59.5）	0.025
Depressive symptoms, n（%）	128 （16.5）	309 （19.3）	306 （18.6）	0.25
Child sex, n（%）				0.81
Boys	413 （53.4）	830 （52.0）	859 （52.3）	
Girls	361 （46.6）	767 （48.0）	785 （47.7）	
Number of siblings, n（%）				0.069
0 siblings	202 （26.1）	336 （21.0）	397 （24.1）	
1 sibling	390 （50.4）	853 （53.4）	848 （51.6）	
≥ 2 siblings	182 （23.5）	408 （25.5）	399 （24.3）	
Use of childcare facilities, n（%）	709 （91.6）	1482 （92.8）	1576 （95.9）	< 0.001
Physical activity at 4 years of age				
Exercise/sports: less than once per week, n（%）	87 （11.2）	213 （13.3）	189 （11.5）	0.19
Screen time: 2 hours or more per day, n（%）	281 （36.3）	577 （36.1）	591 （35.9）	0.98
Mental health at 4 years of age				
Scores for total behavioral problems, mean（SD）	19.6 （17.4）	18.1 （15.0）	18.4 （15.8）	0.084
Scores for internalizing problems, mean（SD）	4.9 （ 5.2）	4.5 （ 4.8）	4.5 （ 4.8）	0.14
Scores for externalizing problems, mean（SD）	7.5 （ 7.4）	7.0 （ 6.5）	7.2 （ 6.9）	0.20
Physical activity at 5 years of age				
Exercise/sports: less than once per week, n（%）	88 （11.4）	188 （11.8）	194 （11.8）	0.95
Screen time: 2 hours or more per day, n（%）	274 （35.4）	600 （37.6）	606 （36.9）	0.59
Mental health at 5 years of age				
Scores for total behavioral problems, mean（SD）	17.6 （17.0）	16.8 （14.7）	16.8 （16.0）	0.43
Scores for internalizing problems, mean（SD）	4.7 （ 5.2）	4.4 （ 4.8）	4.5 （ 5.2）	0.54
Scores for externalizing problems, mean（SD）	6.6 （ 7.4）	6.3 （ 6.3）	6.2 （ 6.7）	0.25

SD; standard deviation.
[a]Obtained using analysis of variance for continuous variables and the chi-squared test for categorical variables.

動・スポーツやスクリーンタイムを維持している群を基準として、COVID-19流行下で各アウトカムが悪化したことを示す知見は得られなかった。また、調査回答年とメンタルヘルス変化の関連はみられず、仮説は支持されなかった。

コロナ禍における子どもの身体活動レベルの低下、スクリーンタイムの増加、メンタルヘルスの悪化が先行研究で報告されているが[6-8]、本研究はそれらと異なる結果となった。その理由として、主に 4 つ考えられる。1 つ目として、先行研究はCOVID-19流行前の情報を流行開始後に思い出しで収集していることが多いため、流行による変化を過大評価している可能性である。本研究では流行前から継続しているコホートデータを用いてい

表２．５歳時調査票の回答年と 4〜5 歳における運動・スポーツ頻度の変化の関連
Table 2. Associations between five-year survey year and changes in frequency of exercise/sports from 4 to 5 years old in children.

	From high to high frequencies OR（95% CI）[a]	From low to high frequencies OR（95% CI）[a]	From high to low frequencies OR（95% CI）[a]	From low to low frequencies OR（95% CI）[a]
Five-year survey year				
Response in 2019	1.00	1.00	1.00	1.00
Response in 2020	1.00	1.22（0.87, 1.72）	0.94（0.67, 1.34）	1.12（0.74, 1.68）
Response in 2021	1.00	1.09（0.77, 1.54）	1.07（0.76, 1.51）	1.03（0.68, 1.55）

95% CI; 95% confidence interval, OR; odds ratio.
High frequency: once per week or more, low frequency: less than once per week.
[a]Adjusted for maternal age, educational attainment, household income, work status, depressive symptoms, child sex, number of siblings, and use of childcare facilities.

表３．５歳時調査票の回答年と 4〜5 歳におけるスクリーンタイムの変化の関連
Table 3. Associations between five-year survey year and changes in screen time from 4 to 5 years old in children.

	From short to short time OR（95% CI）[a]	From long to short time OR（95% CI）[a]	From short to long time OR（95% CI）[a]	From long to long time OR（95% CI）[a]
Five-year survey year				
Response in 2019	1.00	1.00	1.00	1.00
Response in 2020	1.00	0.96（0.70, 1.32）	1.19（0.86, 1.63）	0.93（0.75, 1.16）
Response in 2021	1.00	0.99（0.72, 1.35）	1.13（0.82, 1.55）	0.92（0.74, 1.13）

95% CI; 95% confidence interval, OR; odds ratio.
Short time: less than 2 hours per day, long time: 2 hours or more per day.
[a]Adjusted for maternal age, educational attainment, household income, work status, depressive symptoms, child sex, number of siblings, and use of childcare facilities.

表４．５歳時調査票の回答年と 4〜5 歳におけるメンタルヘルス変化の関連
Table 4. Associations between five-year survey year and changes in mental health from 4 to 5 years old in children.

	Total problems β（95% CI）[a]	Internalizing problems β（95% CI）[a]	Externalizing problems β（95% CI）[a]
Five-year survey year			
Response in 2019	Reference	Reference	Reference
Response in 2020	0.71（−0.21, 1.63）	0.16（−0.16, 0.48）	0.15（−0.25, 0.56）
Response in 2021	0.30（−0.61, 1.22）	0.18（−0.14, 0.51）	−0.20（−0.60, 0.21）

95% CI; 95% confidence interval.
[a]Adjusted for maternal age, educational attainment, household income, work status, depressive symptoms, child sex, number of siblings, and use of childcare facilities.

るため、過大評価の可能性を排除することができた。２つ目として、流行の影響はあまり長期化しなかった可能性である。国立成育医療研究センターは、多くの学校が臨時休校になった2020年４月末から５月にかけて「第１回コロナ×こどもアンケート」を実施し、運動機会の減少、スクリーンタイムの増加、コロナに関連したストレス症状が多くの子どもに現れていたことを報告している。一方、英国で実施された研究では、成人のメンタルヘルスの悪化は2020年７月頃を境に改善傾向になったと報告している[9)]。先行研究は流行開始から１年以内という急性期に行った調査が主であるが、本研究ではより長期間を検討している。しかし、感度分析として群分けを１年単位から月単位で実施しても、2020年春に回答した群で身体活動・メンタルヘルスが悪化しているという傾向はみられなかった。３つ目として、コロナ禍の影響をあまり受けていない層が調査票に回答している傾向がある可能性が挙げられる。本研究は、COVID-19流行前に開始された出生コホート調査を

表 5．対象者の属性（母親の社会的孤立と児のメンタルヘルスに関する研究）
Table 5. Characteristics of the participants.

	Socially integrated (n = 4357)	Socially isolated (n = 1485)	*P*-value[a]
Maternal age, mean（SD）	33.3 （ 4.6）	33.8 （ 4.8）	0.0012
Educational attainment, n（%）			< 0.001
High school or lower	1247 （28.6）	516 （34.7）	
College	1718 （39.4）	552 （37.2）	
University or higher	1392 （31.9）	417 （28.1）	
Household income, n（%）			< 0.001
≤ 3.99 million Japanese yen	1397 （32.1）	565 （38.0）	
4.00–5.99 million Japanese yen	1494 （34.3）	478 （32.2）	
≥ 6.00 million Japanese yen	1466 （33.6）	442 （29.8）	
Working, n（%）	2349 （53.9）	694 （46.7）	< 0.001
Married, n（%）	4293 （98.5）	1450 （97.6）	0.022
Extraversion, mean（SD）	6.2 （ 3.2）	4.3 （ 3.1）	< 0.001
Neuroticism, mean（SD）	5.5 （ 3.1）	6.7 （ 3.1）	< 0.001
Depressive symptoms, n（%）	610 （14.0）	490 （33.0）	< 0.001
Marginal family ties, n（%）	121 （ 2.8）	595 （40.1）	< 0.001
Marginal friendship ties, n（%）	798 （18.3）	1337 （90.0）	< 0.001
Child sex, n（%）			0.26
Boys	2256 （51.8）	744 （50.1）	
Girls	2101 （48.2）	741 （49.9）	
Number of siblings, n（%）			0.71
0 siblings	2022 （46.4）	706 （47.5）	
1 sibling	1607 （36.9）	541 （36.4）	
≥ 2 siblings	728 （16.7）	238 （16.0）	

SD; standard deviation.
[a]Obtained using t test for continuous variables and the chi-squared test for categorical variables.

表 6．母親の社会的孤立と児のメンタルヘルスの関連
Table 6. Associations between maternal social isolation and mental health in children.

	Total problems		Internalizing problems		Externalizing problems	
	%	OR（95% CI）[a]	%	OR（95% CI）[a]	%	OR（95% CI）[a]
Total	12.3		13.0		13.9	
Socially integrated	10.3	1.00	11.2	1.00	11.8	1.00
Socially isolated	18.3	1.37（1.14, 1.64）	18.5	1.33（1.12, 1.59）	20.0	1.40（1.18, 1.66）

95% CI; 95% confidence interval, OR; odds ratio.
[a]Adjusted for maternal age, educational attainment, household income, work status, marital status, extraversion, neuroticism, depressive symptoms, child sex, and number of siblings.

ベースとしているという長所を有しているものの、調査票への回答は本人の自由意志によるため、コロナ禍の影響を強く受けた層は調査票への回答が困難であった可能性が考えられる。調査票への回答群と非回答群のベースラインの属性を比較する等して、今後詳細にこの点を検討していく必要がある。4 つ目として、運動・スポーツ頻度、スクリーンタイムに限った話だが、身体活動の一部しか評価できていないことが挙げられる。身体活動には他にも、移動に関する活動、家庭内の活動等がある。本研究ではデータが存在しないため検討できないが、身体活動全体の変化は本研究結果と異なる可能性も考えられる。

本研究では、児が 1 歳時点で社会的に孤立して

いる母親の児は4歳時点で問題行動の割合が高いことを明らかにした。この関連は、CBCL/1½-5の全問題尺度、内向尺度、外向尺度のいずれで問題行動を評価してもみられた。4歳時調査票および5歳時調査票ではLSNS-6の項目は含まれないため、本研究での社会的孤立の状況がコロナ禍にそのまま当てはまるかは不明である。しかし、コロナ禍で社会的孤立が深刻な社会問題となっているなか、母親の社会的孤立が児のメンタルヘルスと長期的に関連しているという本研究結果は、長期にわたる悪影響が懸念されるCOVID-19流行において、留意すべき知見といえる。関連を説明するメカニズムとして、母親のメンタルヘルス、パーソナリティ、養育態度、健康情報へのアクセス等が考えられるが、今後詳細に検討していく必要がある。

本研究には限界点が5つある。1つ目として、対象が宮城県内および岩手県の一部地域であるため一般化可能性に限界があることが挙げられる。COVID-19感染者数が2020年、2021年時点で調査地域では多くなかったため、感染者数の多い首都圏等での状況とは異なる可能性がある。2つ目として、上述した調査票の回収率の問題とともに、CBCL/1½-5の項目の欠損等により、コホート調査に参加の母児のうち15〜25%のデータであることが挙げられる。そのため、対象者に偏りがあった可能性が考えられる。3つ目として、データがすべて保護者による回答であることが挙げられる。しかし、CBCL/1½-5、LSNS-6の信頼性・妥当性は、日本人を対象に検証済みである[2,4]。4つ目として、当初は流行の推移（時期別）・地域別の分析を計画していたが、3年間の流行状況を鑑みて分類は難しいと判断し、層別分析は行えなかったことがある。5つ目として、コロナ禍の社会的孤立の状況を測定することができなかったことがある。このような限界はあるものの、COVID-19流行前から継続して測定したデータを用いてCOVID-19流行前後にわたる変化を検討できたという点で、本研究は大きな意義を有すると考えられる。

総　　括

本研究では、COVID-19流行前後で未就学児における運動習慣、スクリーンタイムとメンタルヘルスに変化はみられなかった。しかし、コロナ禍で懸念されている社会的孤立に関し検討したところ、児が1歳時点で母親が社会的孤立を有している場合、児が4歳時点で問題行動を有している割合が高いことが明らかになった。COVID-19流行は人々の生活の多様な側面に影響を及ぼしているため、流行前後での変化とその健康影響を今後も中長期的に継続して検討していく必要がある。

謝　　辞

本研究課題に対して、多大な助成を賜りました公益財団法人明治安田厚生事業団に深く感謝申し上げます。また、本研究の遂行のご協力をいただいた東北メディカル・メガバンク計画三世代コホート調査の関係者の皆様に心よりお礼申し上げます。

参 考 文 献

1）Achenbach TM, et al.（2000）: Manual for the ASEBA preschool forms & profiles. Burlington VT, University of Vermont, Research Center for Children, Youth, and Families.

2）船曳康子ら（2017）：ASEBA行動チェックリスト（CBCL/1½-5：保護者用およびC-TRF：保育士用）標準値作成の試み. 児童青年精神医学とその近接領域, **58**, 713-729.

3）Holmes EA, et al.（2020）: Multidisciplinary research priorities for the COVID-19 pandemic: a call for action for mental health science. Lancet Psychiatry, **7**, 547-560.

4）栗本鮎美ら（2011）：日本語版Lubben Social Network Scale短縮版（LSNS-6）の作成と信頼性および妥当性の検討. 日本老年医学会雑誌, **48**, 149-157.

5）Lubben J, et al.（2006）: Performance of an abbreviated version of the Lubben Social Network Scale among three European community-dwelling older adult populations. Gerontologist, **46**, 503-513.

6）Madigan S, et al.（2022）: Assessment of changes in child and adolescent screen time during the COVID-19 pandemic: a systematic review and meta-analysis. JAMA Pediatr, **176**, 1188-1198.

7）Ng CSM, et al.（2022）: Impact of the COVID-19 pandemic on children's mental health: a systematic review. Front Psychiatry, **13**, 975936.

8）Pfefferbaum B, et al.（2022）: Physical activity and sedentary behavior in children during the COVID-19

pandemic: implications for mental health. Curr Psychiatry Rep, **24**, 493-501.

9）Pierce M, et al.（2021）: Mental health responses to the COVID-19 pandemic: a latent class trajectory analysis using longitudinal UK data. Lancet Psychiatry, **8**, 610-619.

10）Wang J, et al.（2017）: Social isolation in mental health: a conceptual and methodological review. Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol, **52**, 1451-1461.

第 37 回若手研究者のための健康科学研究助成成果報告書
2020 年度 *pp*.135～140（2023.7）

バーチャルリアリティ（VR）と近赤外分光法（NIRS）による客観的ストレス評価技術の研究開発

守屋正道[*,**] 土屋航[***] 不破野有華[***]
酒谷薫[*]

RESEARCH AND DEVELOPMENT OF OBJECTIVE STRESS ASSESSMENT TECHNOLOGY USING VIRTUAL REALITY（VR）AND NEAR-INFRARED SPECTROSCOPY（NIRS）

Masamichi Moriya, Wataru Tsuchiya, Yuka Fuwano, and Kaoru Sakatani

Key words: stress, oxy-hemoglobin, virtual reality.

緒　　言

ストレス反応は、生体ホメオスタシスを維持するうえでは不可欠であるが、過剰な状態が長期化すると、身体への多様な影響を及ぼす危険性がある。近年では、厚生労働省が労働安全衛生法のなかでストレスチェックを制度化しており、「こころの健康」を保つうえでストレスを客観的に把握することの重要性が認知されつつある。そのなかでも長期的ストレスは、生活習慣病などのさまざまな疾患の発症、増悪に関与しており、ストレスは喫緊の社会的課題となっている。

しかし従来のストレス評価は、質問紙による主観的評価が一般的であり、手軽に客観的にストレスを評価する方法はいまだ確立されていない。また、効果的ストレス緩和法の開発はストレス性疾患を予防するうえで重要である。我々は脳機能計測法である近赤外分光法（near-infrared spectroscopy; NIRS）装置を用いて脳のストレス状態の評価法を開発し[3]、本法を用いてアロマセラピーなどによるストレス緩和効果を報告した[10]。アロマセラピーの他にも、運動によるストレス緩和効果については非常に注目されており、国内外において盛んに研究が進められている。更に近年では、バーチャルリアリティ（virtual reality; VR）が生活空間に浸透されつつあり、医療の現場で目にする機会も少しずつ増加している。我々のグループは VR を用いた自律神経系のストレス反応の評価法の開発にも着手している[2]。

本研究の目的は、VR のゴーグルに NIRS のプローブを一体化した NIRS-VR 一体型デバイスを開発し、VR の映像提示による脳活動を NIRS で計測することにより、ストレスおよびストレスの緩和効果を客観的に評価する方法を開発することである。まず第 1 プロジェクトとしてデバイスの開発（作製）を進め、第 2 プロジェクトとして

*　東京大学大学院新領域創成科学研究科ユニバーサルスポーツ健康科学講座
Department of Human and Engineered Environmental Studies, Graduate School of Frontier Sciences, The University of Tokyo, Chiba, Japan.
**　帝京平成大学健康医療スポーツ学部リハビリテーション学科
Department of Rehabilitation, Faculty of Health Care and Medical Sports, Teikyo Heisei University, Chiba, Japan.
***　日本大学医学部附属板橋病院リハビリテーション科
Department of Rehabilitation, Nihon University Itabashi Hospital, Tokyo, Japan.

VR によるストレス緩和効果について検証した。

方　　法

A．NIRS-VR デバイスの開発

我々は既にウェアラブル NIRS デバイス（NeU 社製 HOT-1000，図 1 A）を使用し、前頭前野の活動を測定してストレスをモニタリングできるシステムを開発している[6]。しかし本デバイスは総ヘモグロビン（total-Hb）の測定しかできない欠点が存在していた。一方、我々は別のポータブル NIRS デバイス（Dyna Sense 社製 pocket-NIRS，図 1 B）によって total-Hb だけでなく、酸素化ヘモグロビン（oxy-Hb）、脱酸素化ヘモグロビン（deoxy-Hb）を含む詳細な測定が可能なデバイスも所有しているが、こちらは小型の本体とプローブが有線での接続を必要とし臨床での応用には不向きな欠点が存在していた。

今回使用する，astem 社製 Hb 133の NIRS（図 2 ）は oxy-Hb、deoxy-Hb、total-Hb の測定が可能であり、本体が非常に小型であるため、市販の VR ゴーグル（HTC 社製 Vive Cosmos）と一体化して呼吸と脈波センサーを VR ゴーグルに取り付けて生体情報を取得可能な NIRS-VR 一体型デバイスを作製できる可能性があるため以下のとおり検証した。

1）NIRS-VR デバイスには、柔軟性のある固定パッドを使用し、NIRS プローブは前額部の中心線に左右対称 1 個ずつ設置した。各 NIRS プローブの光源と光センサーの中間点は両側眼窩ソケットの上端の中心から 3 cm 上とした。この位置は、国際脳波10–20システムの位置 Fp1（左）と Fp2（右）に相当する。これにより左右の前頭前野における脳活動をモニタリングした。

2）VR ゴーグルの鼻部に光電容積式脈波センサーを設置して脈拍波形を取得した。同時に心電図解析装置（closswell 社製治療名人）を装着して心電図波形も記録した。

3）開発する NIRS-VR デバイスで取得した NIRS データと既存の手法で取得していた NIRS データと生体情報を比較して、開発した NIRS-VR 一体型デバイスの性能を検証した。また、製作した NIRS-VR 一体型デバイスを被験者に問題なく装着できるかを確認した。

B．NIRS-VR 一体型デバイスの実装可否とストレス軽減効果の検証

被験者は男性 7 名、女性 3 名の計10名であり、研究に同意を得られた健常成人（22.7 ± 3.0歳）である。本研究は帝京平成大学倫理委員会の承認を得て実施した（承認番号：2020003・R02-025）。図 3 のとおり、①デバイス装着後安静中、② VR

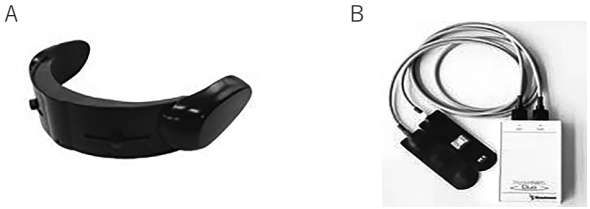


図 1．NIRS デバイス
Fig.1. NIRS device.
A: HOT-1000, B: pocket-NIRS.
NIRS; near-infrared spectroscopy.

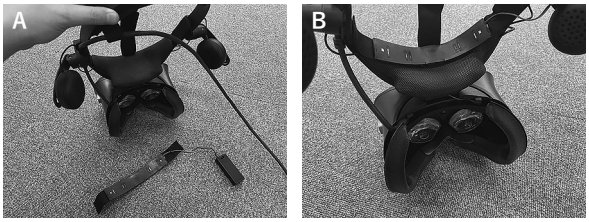


図 2．VR 一体型 NIRS（Hb 133）
Fig.2. VR Integrated NIRS（Hb 133）.
A: Before wearing NIRS, B: After wearing NIRS.
VR; virtual reality, NIRS; near-infrared spectroscopy.

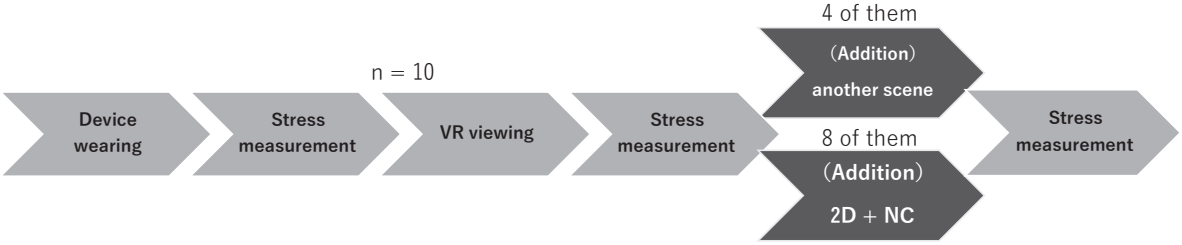


図 3．プロトコル
Fig.3. Protocol.
VR; virtual reality, NC; noise canceling.

コンテンツ視聴中、③暗算課題によりストレス計測中のデータを連続で取得した。

1）NIRS-VR 一体型デバイスとして装着した場合と、NIRS デバイス装着後に VR ゴーグルを装着した場合の oxy-Hb、deoxy-Hb、total-Hb の推移を比較した。NIRS で測定可能な 3 つのヘモグロビンデータは変形 Beer-Lambert 則である、ΔOD（λ）= ε（モル吸光係数）（λ）・Δc（吸光物質濃度）・d（光路長）で算出された場合に total-Hb = oxy-Hb + deoxy-Hb が成立するため、その数値を確認した。

2）NIRS デバイス装着後に VR ゴーグルを装着した10名について、VR によるストレス軽減効果を比較した。本研究では、リラクセーションコンテンツとして利用されることが多い海岸シーンの映像を使用した。その他、森林のシーン、海中のシーン、川のせせらぎシーンについても 4 名ずつ測定し追加で検証した。VR 視聴時間は10分とした。

3）NIRS デバイス装着後に VR ゴーグルを装着してストレス軽減効果を図る方法と、NIRS デバイス装着後に 2 D 映像およびノイズキャンセリング（noise canceling; NC）イヤホンでリラクセーションサウンドを視聴する方法を 8 名の被験者で比較した。2 D 映像はリラクセーションコンテンツとして利用されることが多い海岸のシーンを、NC イヤホン装着下で10分間視聴した。

C．NIRS データ解析

デバイスの性能は oxy-Hb、deoxy-Hb、total-Hb の推移にて比較した。oxy-Hb の左右非対称性を各被験者の安静時 LI（laterality index）から評価した。安静時の前頭前野活性の左右非対称性を解析するために、LI を以下のように計算した。

$$\Delta oxyR_{\min} = \min_{t \in analysis\ interval} \Delta oxyR_t$$

$$\Delta oxyL_{\min} = \min_{t \in analysis\ interval} \Delta oxyL_t$$

ここで、$\Delta oxyR_t$ と $\Delta oxyL_t$ は、休止状態の左右前頭前野の oxy-Hb 濃度変化を示す。上記式で定義された量は最小値に対する変化量であるため、常に負にならない。これに基づき LI を以下の LIR（laterality index at rest）のように定義した[3)]。

$$LIR = \frac{\sum_{t \in analysis\ interval} ((\Delta oxyR_t - \Delta oxyR_{\min}) - (\Delta oxyL_t - \Delta oxyL_{\min}))}{\sum_{t \in analysis\ interval} ((\Delta oxyR_t - \Delta oxyR_{\min}) + (\Delta oxyL_t - \Delta oxyL_{\min}))}$$

分子は、解析時間にわたる合計された左右前頭前野の oxy-Hb 濃度変化の差からなる。この量は、差の代わりに、左右前頭前野の oxy-Hb 濃度変化の和で正規化する。$\Delta oxyR_t$ と $\Delta oxyL_t$ それ自体を最小値からの変動の代わりに使用した場合、分母は目標量が発散するところでゼロまたはほぼゼロとなり LI の定義した指数は、− 1 から + 1 の範囲で数値化される。正の LI は、左よりも右の前頭前野が活動的であることを示し、負の LI は、右よりも左の前頭前野が活動的であることを示す。正の LI を交感神経活動、負の LI を副交感神経活動としている。

D．心電図周波数解析

周波数解析には自己回帰モデルを使用し、解析の次数は 8 次か10次とした。自己回帰モデルの係数を求めた後、得られた R-R 間変動幅の特性関数を因数分解し、R-R 間変動幅の要素波を求めた。2 次要素波で最も周波数の低い成分の周波数は0.1付近となり、血圧性変動といわれている周波数成分と考え、低周波数成分とした。最も周波数の高い要素波は0.4以上となり、通常の呼吸数では呼吸性の変動とは考えられないため、高周波数成分は最も周波数の高い要素波と低周波数成分を除外した 2 次要素波とした。副交感神経が優位にある場合に高周波成分が出現するため、高周波成分の数値を副交感神経の活性度とし、交感神経が優位でも副交感神経が優位でも低周波成分が現れるため、低周波成分と高周波成分の比である低周波成分/高周波成分（low frequency; LF/high frequency; HF）を交感神経の活性度とした。

E．統計処理

測定値はすべて、平均値 ± 標準偏差で示した。統計解析には、統計ソフトウエア Graphpad Prism version8（Graphpad Software Inc. 製）を使用した。デバイス装着後にストレステストの標準である暗算課題（ 4 桁の数字から 2 桁の数字の減算を連続して行う）を被験者に30秒間課し、暗算課題前（60

秒間）・暗算課題中（30秒間）・暗算課題終了後（30秒間）の oxy-Hb から LI を算出した。VR 前後の LI を二元配置分散分析を行い、各因子に有意な効果が認められた場合は、事後検定として Bonferroni の多重比較を行った。暗算課題中の心拍数と LF/HF は対応のある t 検定で比較した。また、海岸シーンの映像以外にも 3 つのシーンを使用した VR 後の暗算課題中（30秒間）および暗算課題終了後（30秒間）の計60秒間の LI を一元配置分散分析で比較した。更に、VR による 3 D と 2 D 映像に NC イヤホンによるストレス軽減効果についても二元配置分散分析を行い、各因子に有意な効果が認められた場合は、事後検定として Bonferroni の多重比較を行った。有意水準は 5 %とした。

結　　果

A．NIRS-VR デバイスの開発

本研究で作製を試みた VR ゴーグルに Hb 133 薄型 NIRS を一体型として装着すると NIRS の厚み分傾斜し画面がぼやける事象が発生したため、NIRS 装着後に VR ゴーグルを装着することで実験を進めることとした。2 段階での装着であれば VR 映像のぼやけは生じず、NIRS 測定においても、我々が以前から使用している NIRS デバイス（図 1 B）と同様に、total-Hb = oxy-Hb + deoxy-Hb が成立しており問題なく測定可能であった（図 4 ）。安静時の NIRS 波形は大きな揺らぎと小さな揺らぎが存在しており、大きな揺らぎは前述した計算式が一致し、小さな揺らぎはほぼ一定間隔で生じていることから我々が計測してきたデバイスと同等の結果を得られていたことを確認した。

B．VR によるストレス軽減効果

ストレスの指標としている LI は、VR 前後で有意差を認めなかった（$F(6, 54) = 0.226$, $P = 0.967$）（図 5 A）。安静時は VR 前で0.13 ± 0.5、VR 後で −0.03 ± 0.4であった。暗算開始中は VR 前で0.13 ± 0.2、VR 後で0.01 ± 0.1であった。暗算課題終了後は VR 前で0.06 ± 0.2、VR 後で0.01 ± 0.2であった。

一方、心拍数では有意差を認めたが（$P = 0.021$）、交感神経の指標としている LF/HF では有意差を認めなかった（$P = 0.654$）（図 5 B）。暗算課題中30秒間の心拍数は VR 前で87.3 ± 5.6 bpm、VR 後で79.6 ± 8.9 bpm であった。LF/HF は VR 前で1.8 ± 1.4、VR 後で1.5 ± 1.5であった。

VR の種類によってストレス反応が異なるのか海岸シーン以外にも試みたが、A（森林のシーン）、B（海中のシーン）、C（川のせせらぎシーン）のすべてのシーンにおいて有意なストレス軽減効果は認めなかった（$P = 0.730$）。しかし、図 3 で示した海岸シーン（normal; NL）を含め、全 4 シーンにおいて VR 後の暗算課題中（30秒間）および暗算課題終了後（30秒間）の計60秒間の LI は負の値であることが多く見受けられた（図 6 ）。

C．3 D 映像と 2 D 映像の比較

我々は VR（3 D）による映像提示ではなく、2 D 映像によるストレス軽減効果を追加で実施し

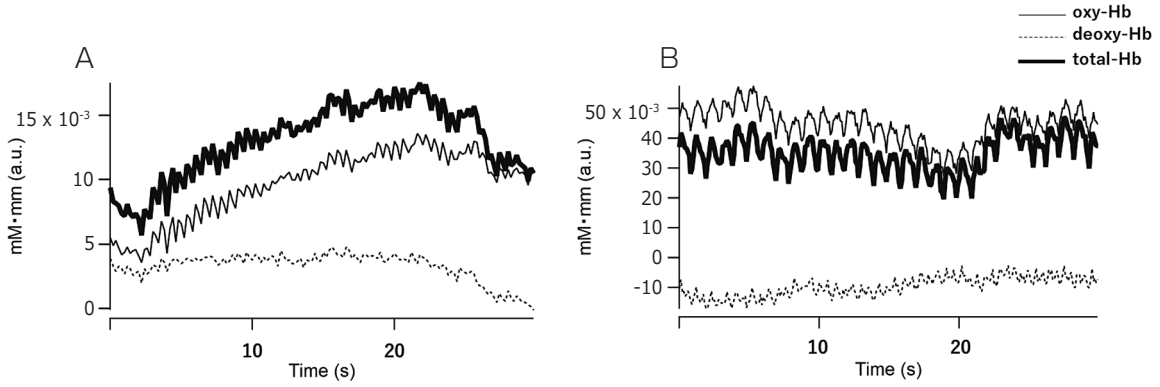


図 4 ．NIRS で測定した安静時 NIRS データ
Fig.4.　An example of resting data measured with NIRS.
A: Hb 133（astem）, B: pocket-NIRS（Dyna Sense）.
NIRS; near-infrared spectroscopy.

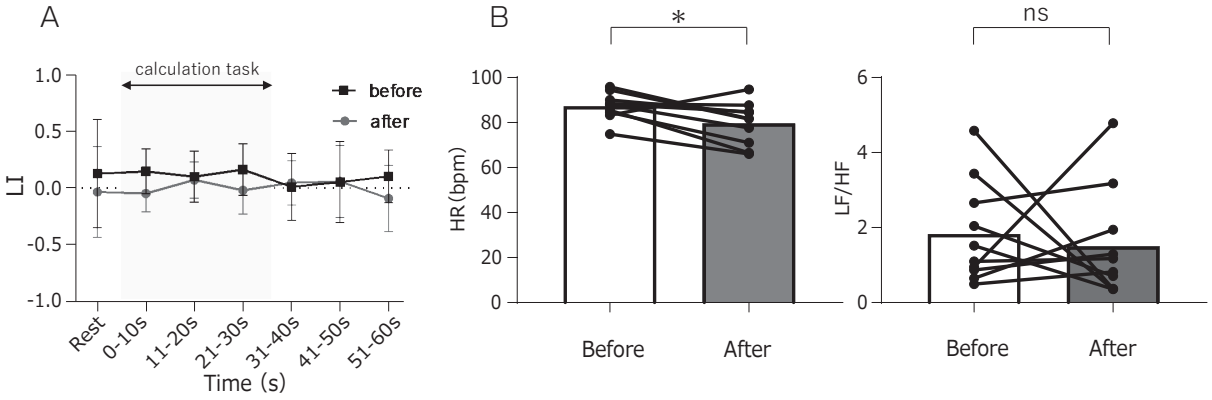


図 5．A: LI の推移、B: HR と LF/HF の前後比較
Fig.5.　A: Transition of LI, B: Comparison of HR and LF/HF by VR.
LI; laterality index, HR; heart rate, LF/ HF; low frequency/high frequency, VR; virtual reality.
*$P < 0.05$.

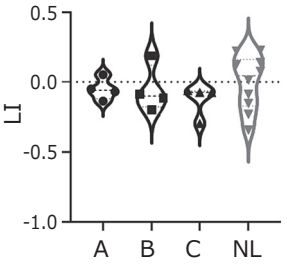


図 6．VR 後の LI のシーン別比較
Fig.6.　Comparison of LI after VR by scene.
A: Forest, B: In the sea, C: River, NL: Beach.
LI; laterality index, VR; virtual reality.

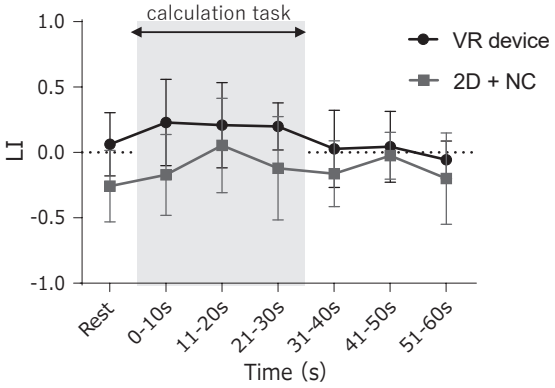


図 7．3D（VR）と2D + NC の比較
Fig.7.　Comparison of 3D（VR）and 2D + NC.
VR; virtual reality, NC; noise canceling.

た。二元配置分散分析で主効果のみ有意であり（$F(6, 42) = 2.583$, $P = 0.032$）、地点全体の LI は VR デバイス条件に比して 2 D 映像および NC イヤホンを装着した条件で低かった（図 7 ）。更に安静時は VR デバイス条件で0.06 ± 0.2、 2 D 映像および NC イヤホン条件で −0.26 ± 0.3であった。暗算開始中は VR デバイス条件で0.21 ± 0.2、 2 D 映像および NC イヤホン条件で −0.08 ± 0.3であった。暗算課題終了後は VR デバイス条件で0.01 ± 0.2、 2 D 映像および NC イヤホン条件で −0.13 ± 0.2であった。

考　　察

本研究では VR 前後の生体情報をリアルタイムに取得可能な一体型デバイス作製を試みたが、別々に装着しても問題なくデータを取得可能であった。薄型の NIRS を VR ゴーグルに取り付けることを考えていたが、ごくわずかな薄さでも VR ゴーグル装着に支障となることが確認された。しかし、LI をはじめとする NIRS データをリアルタイムで取得可能なデバイスを開発することは、ストレス軽減効果だけでなく、VR 満足度や VR 酔いの評価にも展開できる可能性があるため引き続き検討を重ねていきたい。今回は健常成人を対象に、VR によるストレス軽減効果を検証した。VR 後に心拍数の有意な減少を認めたが、ストレス指標として算出した LI および交感神経の指標として算出した LF/HF においては有意な効果を認めない結果となった。不安障害関連疾患[7] や精神疾患領域[8] においては VR 治療の可能性が報告されており、また高ストレスの対象者においては STAI（State-Trait Anxiety Inventory） や LF/HF を VR によって有意に軽減する効果が報告されている[5]。今回対象とした健常成人においては背景因

子として普段のストレスレベルが低く効果反応を得られにくかった可能性がある。

一方、最近では健常成人の急性ストレス軽減効果についても検討されている。Kampa らは瞑想やマインドフルネスなど他のリラクセーション方法よりも VR の効果が高いと報告している[4]。そのなかでは“没入感”についても触れており、没入できる対象者であれば効果は得られやすいと考えられる。図 6 で示したとおり VR シーンが異なったとしてもストレス軽減の傾向は確認されたが有意な効果は得られなかった。その 1 つの原因として、慣れていないデバイスの装着に対する抵抗感や VR ゴーグル装着による閉塞感があったのかもしれないと考えた。

そこで本研究では追加で若年の健常成人が頻用している NC イヤホンに 2 D 映像を視聴させた効果を検証した。興味深いことにストレス負荷をかけている暗算課題中はもちろん、安静時から LI が低値を示していた。10分間の自然環境のビデオ映像によって心拍数の減少を誘発した報告があるが[1]、我々のデータも先行研究を肯定する結果となった。高齢者に VR を行った研究で精神・認知にネガティブな結果が報告されているが[9]、高齢者にとって不慣れなデバイスを装着することに違和感があった可能性が考えられる。VR（3 D）という不慣れなデバイスを装着すること自体にストレスを生じる可能性と同時に、日頃から使用しているデバイス（2 D および NC イヤホン）を用いることはストレス軽減においては有効な手段である可能性が示唆された。今回は閉所恐怖症の有無や没入感の度合い、VR 経験有無などの質問紙調査は実施していないが今後調査していく予定である。

近年では VR コンテンツはもちろん、VR デバイスの進歩が目覚ましい。同時に、2 D や NC イヤホンの進化も勢いを増している。今後、各個人で最良のストレス軽減可能なデバイスが何かを短時間で評価できるツールについて検討したい。

総　　括

健常成人に対する VR によるストレス軽減効果は限定的であり、日常生活での汎化性の高いデバイスを使用したほうが効果を得られる可能性が示唆された。

謝　　辞

本研究の実施に対して助成を賜りました公益財団法人明治安田厚生事業団に厚く御礼申し上げます。また、本研究を遂行するにあたり東京大学大学院の酒谷薫先生、日本大学医学部附属板橋病院の土屋航先生、不破野有華先生から多大なご協力をいただきました。心よりお礼申し上げます。

参 考 文 献

1）Benz ABE, et al.（2022）: Nature-based relaxation videos and their effect on heart rate variability. Front Psychol, **13**, 866682.
2）稲澤将太ら（2019）：VR 体験中の人の覚醒度推定のための生体情報計測 Head Mounted Display の開発．日本バーチャルリアリティ学会論文誌，**24**（4）, 377-388.
3）Ishikawa W, et al.（2014）: Correlation between asymmetry of spontaneous oscillation of hemodynamic changes in the prefrontal cortex and anxiety levels: a near-infrared spectroscopy study. J Biomed Opt, **19**（2）, 027005.
4）Kampa M, et al.（2022）: Facilitating relaxation and stress reduction in healthy participants through a virtual reality intervention: study protocol for a non-inferiority randomized controlled trial. Trials, **23**（1）, 380.
5）Kim H, et al.（2021）: Effect of virtual reality on stress reduction and change of physiological parameters including heart rate variability in people with high stress: an open randomized crossover trial. Front Psychiatry, **12**, 614539.
6）Moriya M, et al.（2022）: Effect of exercise therapy on stress response evaluated by IoMT monitoring system. Adv Exp Med Biol, **1395**, 205-209.
7）Oing T, et al.（2018）: Implementations of virtual reality for anxiety-related disorders: systematic review. JMIR Serious Games, **6**（4）, e10965.
8）Park MJ, et al.（2019）: A literature overview of virtual reality（VR）in treatment of psychiatric disorders: recent advances and limitations. Front Psychiatry, **10**, 505.
9）Saredakis D, et al.（2021）: The effect of reminiscence therapy using virtual reality on apathy in residential aged care: multisite nonrandomized controlled trial. J Med Internet Res, **23**（9）, e29210.
10）Tanida M, et al.（2016）: Effects of fragrance administration on stress-induced prefrontal cortex activity and sebum secretion in the facial skin. Neurosci Lett, **432**（2）, 157-161.

第 37 回若手研究者のための健康科学研究助成成果報告書
2020 年度 *pp*.141～148（2023.7）

自己申告データに基づく食事摂取量のバイアスとバイアス除去手法の定量的評価

江 島 啓 介* 山 本 奈 央**

BIAS IN NUTRITION-HEALTH ASSOCIATIONS IS NOT ELIMINATED BY EXCLUDING EXTREME REPORTERS IN EMPIRICAL OR SIMULATION STUDIES

Keisuke Ejima and Nao Yamamoto

Key words: nutrition intake, self-report, bias, nutrition epidemiology, simulation study.

緒　　言

栄養疫学では、栄養摂取量（nutrition intake; NI）の計測値として広く自己申告データが用いられている。ところが自己申告データはバイアスを受けることが知られている。また NI と健康アウトカム（health outcome; HO）の相関の推定値にバイアスを生じることも知られている。そこで、バイアス除去の手法としてしばしば用いられる Goldberg cutoff[2] を用いて、さまざまな NI（エネルギー，ナトリウム，カリウム，タンパク質）の真の値（バイオマーカーで計測される）と比較して、信頼できない自己申告 NI データを除去することで、バイアスを低減・除去できるかどうかを検討した。IDATA（the Interactive Diet and Activity Tracking in the American Association of Retired Persons）のデータを用いたところ、Goldberg cutoff により NI の有意なバイアスを除去できることがわかった（303人中120人が分析から除外された）。NI とアウトカム（体重，ウエスト周囲径，心拍数，収縮期/拡張期血圧，最大酸素摂取量）の関連を推定したが、サンプルサイズが小さいためバイアス低減を評価するには不十分であった。そこで、実際のデータ（IDATA）に基づくシミュレーションを行った。シミュレーションでは、栄養－アウトカムの24組中14組において、Goldberg cutoff により有意にバイアスが減少したが、完全には除去されなかった。また残りのケースではバイアスは減少しなかった。95％カバレッジ確率（coverage probability; CP）は、ほとんどのケースで Goldberg cutoff を適用することにより改善されたが、バイオマーカーデータと比較すると劣る結果となった。Goldberg cutoff は、NI の平均値の推定のバイアスを除去する可能性があるが、NI とアウトカムの相関の推定におけるバイアスは必ずしも減少または除去されるとは限らない。したがって、Goldberg cutoff を使用するかどうかは研究の目的に基づいて決定されるべきである。

方　　法

自己申告による申告バイアスを評価するために、IDATA のデータを用いて、Goldberg cutoff がバイ

* 南洋理工大学 Nanyang Technological University, Singapore.
** アリゾナ州立大学 Arizona State University, Tempe, Arizona, USA.

アスを低減・除去できるかどうかを検証した。まず、NI の平均値におけるバイアス、NI と HO との関連性（回帰係数）を評価した。次に Goldberg cutoff の性能を検討するために IDATA に基づいたシミュレーションを行った。なお、データ解析では、真の値（すなわち母集団のパラメータ）は観測できないため、バイオマーカーからの推定値が真の値であると仮定した。

NI のうち、エネルギー摂取量（energy intake; EI）に加え、ナトリウム摂取量（Sodium intake; SI）、カリウム摂取量（Potassium intake; PoI）、タンパク質摂取量（Protein intake; PrI）に着目した。これらの NI は、自己申告だけでなく、尿検体でも測定できることから選択された。自己申告（self-reported）の NI を NI_{SR} と表記する（つまり自己申告 EI，SI，PoI，PrI は EI_{SR}，SI_{SR}，PoI_{SR}，PrI_{SR} と表記する）。バイオマーカー（biomarker）に基づく NI を NI_{BIO} と表記する。Goldberg cutoff を適用した後に残った NI_{SR} データを NI_G と表記する。NI と関連する可能性のある HO は、体重（body weight; BW）、ウエスト周囲径（waist circumference; WC）、フィットネステスト後の心拍数（heart rate; HR）、安静時収縮期血圧（systolic blood pressure; SBP）、安静時拡張期血圧（diastolic blood pressure; DBP）、最大酸素摂取量（$\dot{V}O_{2max}$; $\dot{V}O_2$）を用いる。回帰係数は、説明変数と HO の添え字で表記した（例，$\beta_{EI_{SR},BW}$ は自己申告の EI と体重の関係を表す）。

A．データ（IDATA の概要）

IDATA 研究は、食事と身体活動評価ツールの測定誤差の構造を評価し、参照バイオマーカーと比較することを目的としている。研究参加者は、ペンシルバニア州ピッツバーグとその周辺に居住する 50～74 歳の全米退職者協会（American Association of Retired Persons; AARP）会員リストから募集されており、電話インタビューまたはクリニック訪問により適格性を審査された。自己申告による食事・身体活動情報、食事摂取量を推定するためのバイオマーカーデータ、身体活動量を推定するための身体客観視モニターのデータが収集された。更に、人口統計学的情報（年齢，性別，人種/民族）および身体測定（体重，身長，ウエスト周囲径）が、臨床訪問または電話スクリーニングで取得された。

B．IDATA の統計解析

NI_{BIO} と比較した NI_{SR} の平均的な偏り（例えば，$EI_{SR} - EI_{BIO}$ として計算）が、Goldberg cutoff によって減少するかどうかを検証した。まず、各 NI_{SR} の平均的な偏りがゼロと有意に異なるかどうかを検定した。次に、各 NI_G の採用ケースのデータ（例えば，$EI_{SR} - EI_{BIO}$）について、同じ検定を繰り返した。更に、NI_{SR} の平均値が、削除された者（不採用ケース：NI_G を除く NI_{SR}）と採用ケース（NI_G）とで異なるかどうかを検定した。

更に、NI と HO の関連についての推定値の偏りが、Goldberg cutoff によって減少するかどうかを検証した。我々は、HO と NI_{SR}、NI_{BIO}、NI_G の3つの異なる NI 測定法との間の回帰係数（$\beta_{NI,HO}$）を計算した。この研究の目的は、共変量を考慮した関連づけを改良することではなく、Goldberg cutoff がバイアスを確実に減らすことができるかどうかを理解することであるため、他の共変量については分析を調整しなかったことに注意されたい。申告バイアスとバイアス低減を異なるアウトカムで異なる単位で包括的に評価するために、我々の以前の研究で元々提案されていた申告バイアスとバイアス低減の標準化された指標を使用した[1)]。つまり、バイアスの割合（b）を元々のバイアスの大きさの評価に用い、バイアス残存率（r）を Goldberg cutoff を適用した後に残るバイアスの大きさの評価に用いた。

$$b = \frac{\beta_{NI_{SR},HO} - \beta_{NI_{BIO},HO}}{\beta_{NI_{BIO},HO}} * 100\ (\%)$$

$$r = \frac{\beta_{NI_G,HO} - \beta_{NI_{BIO},HO}}{\beta_{NI_{BIO},HO}} * 100\ (\%)$$

この指標による詳細な解釈は、これまでの研究において示されている[1)]。

C．シミュレーション

IDATA の統計解析ではデータのサイズが小さかったこと、また各種 NI とアウトカムの相関が弱かったために、純粋にデータからバイアスが除去できているかを評価することが困難であることがわかった（結果の“IDATA での統計データ解析”参照）。そこで、追加で当初計画していなかった

IDATA の特性を保持したデータをシミュレーションで作成し分析した。

1．データ作成

4つの変数からなるデータを作成した。バイオマーカー（NI_{BIO}）、自己申告（NI_{SR}）、HO（BW，WC，HR，SBP，DBP，$\dot{V}O_2$）、非脂肪量（fat free mass; FFM）の4つの変数で構成されるデータを作成した。NI_{BIO} と FFM は IDATA からリサンプリングした。HO は、NI_{BIO} を予測変数とした線形モデルで以下のように計算した。

$HO = a_0 + a_1 NI_{BIO} + \epsilon$、$\epsilon \sim N(0, \eta^2)$

ここで a_0、a_1、η^2は IDATA から推定されたモデルパラメータである。NI_{SR} は、Ward らによって提案されたアプローチを適用し、誤差項 e（すなわち，申告誤差）を NI_{BIO} に追加することによって以下のように生成される[4)]。

$NI_{SR} = NI_{BIO} + e$

ここで e は経験分布における NI_{BIO} のパーセンタイル（$p(NI_{BIO})$）によって決定される。申告誤差 e は、パーセンタイル固有の平均（$\mu(p(NI_{BIO}))$）と一定の標準偏差（σ）の正規分布に従うと仮定する。μとσ は、IDATA に多項式モデル（$\mu(p(NI_{BIO})) = \sum_{k=0}^{k} m_k p(NI_{BIO})^k$）を当てはめることで推定した。ここで、$K$ は多項式の次数である。多項式関数の次数は 1 から 5 まで変化させ、最小の平均二乗誤差（mean squared error; MSE）を実現する K の値を選択した。各モデルのテスト MSE を計算するため、10回のクロスバリデーション（k-fold cross-validation）を行った。その結果、EI、SI、PoI、PrI に対して $K = 1, 3, 3, 5$ とした。例えば EI_{BIO} は3000 kcal で、90.4パーセンタイルに相当するとすると、申告誤差の平均 μ は−749.6、標準偏差 σ は−759.1であった。したがって、個々人の e は正規分布 N（−749.6,759.1）から無作為に抽出されたものである。更に、σ が等分散性という仮定が妥当であることを、Goldfeld Quandt 検定により確認した[3)]。Goldfeld Quandt 検定は、変数の高い値と低い値の分散を比較するもので、高いグループと低いグループを定義するために、全体の観測の中央20％を除去した（合計303件のうち中央61件を除去）。シミュレーション・データは、$NI_{SR} > 0$ となるように切り捨てた。FFM を用いて EI_{SR} に Goldberg cutoff を適用して変数 NI_G を生成した（したがって，NI_G は NI_{SR} のサブセットである）。以上の処理を各 NI について繰り返した。$n = 100$ を生成し、これを1000回繰り返し、1000個の複製を作成した。

2．Goldberg cutoff の性能評価

i 番目のシミュレーションによって得られた NI と HO の回帰係数の点推定値は $\hat{\beta}_{NI,HO,i}$ とする（例：i 番目の自己申告による EI と BW の回帰係数は $\hat{\beta}_{EI_{SR},BW,i}$ と表記する）。Goldberg cutoff の性能は、バイアス（$Bias_{NI,HO}$）、MSE（$MSE_{NI,HO}$）、CP（$P_{NI,HO}$）の 3 つの指標によって評価された。すべてのシミュレーションと分析は、統計計算ソフトウェア R（バージョン4.0.1）を用いて行った。分析コードは http://doi.org/10.5281/zenodo.7013204にて公開している。

結　　果

A．IDATA での統計データ解析

1．NI の申告バイアスに及ぼす Goldberg cutoff の影響について

Goldberg cutoff により、303人中120人が除外された（40％）（表 1 ）。不採用ケースでは過少申告が顕著であったが、採用ケースでは 4 つの NI すべてにおいて申告バイアス（$NI_{SR} - NI_{BIO}$）は有意ではなかった。また、不採用ケースと採用ケースのバイアスの差は有意であった。NI_{SR} の平均値は、4 つの NI すべてにおいて、採用ケースのほうが不採用ケースより有意に大きかった。NI_{BIO} は、SI では不採用ケースで有意に大きかったが、EI、PoI、PrI では両群間で同程度であった。NI_{BIO} と Goldberg cutoff がバイアスに与える影響を更に理解するため、個々のデータをプロットした（図 1 ）。バイアスは NI_{BIO} と有意かつ負の相関を示した（図 1 上段）。また、採用ケースの平均 NI_{SR} は、不採用ケースの平均 NI_{SR} よりも平均 NI_{BIO} に近い（図 1 下段）。これらの知見は、Goldberg cutoff が、主に過少申告の個人を識別することによって、平均 NI_{SR} のバイアスを減少させる（あるいは除去する）ことを示唆するものである。採用ケースと不採用ケースの間の自己申告による NI の差は、主に申告の差によるもので、実際のバイオマーカー測定

表1．Goldberg cutoff で採用、不採用ケースの栄養摂取量のまとめ
Table 1．Summary of nutrition intakes of the accepted and the rejected cases by the Goldberg cutoffs[#].

Number		Accepted 183	Rejected 120	*P*-value[$]
Bias	Energy intake（kcal/d）	−26 ± 33	−850 ± 89	< 0.001
	Sodium intake（mg/d）	−201 ± 142	−1100 ± 200	< 0.001
	Potassium intake（mg/d）	3 ± 98	−710 ± 129	< 0.001
	Protein intake（g/d）	−2 ± 3	−26 ± 4	< 0.001
Self-reported	Energy intake（kcal/d）	2320 ± 37	1633 ± 86	< 0.001
	Sodium intake（mg/d）	3757 ± 93	3002 ± 145	< 0.001
	Potassium intake（mg/d）	3240 ± 71	2461 ± 112	< 0.001
	Protein intake（g/d）	91 ± 3	71 ± 4	< 0.001
Biomarker	Energy intake（kcal/d）	2346 ± 34	2482 ± 49	0.023
	Sodium intake（mg/d）	3958 ± 141	4102 ± 195	< 0.001
	Potassium intake（mg/d）	3237 ± 88	3171 ± 124	0.666
	Protein intake（g/d）	93 ± 3	100 ± 4	0.367

[#]: Values are mean ± standard deviation or n. [$]: Mean difference between the accepted cases and the rejected cases was tested.

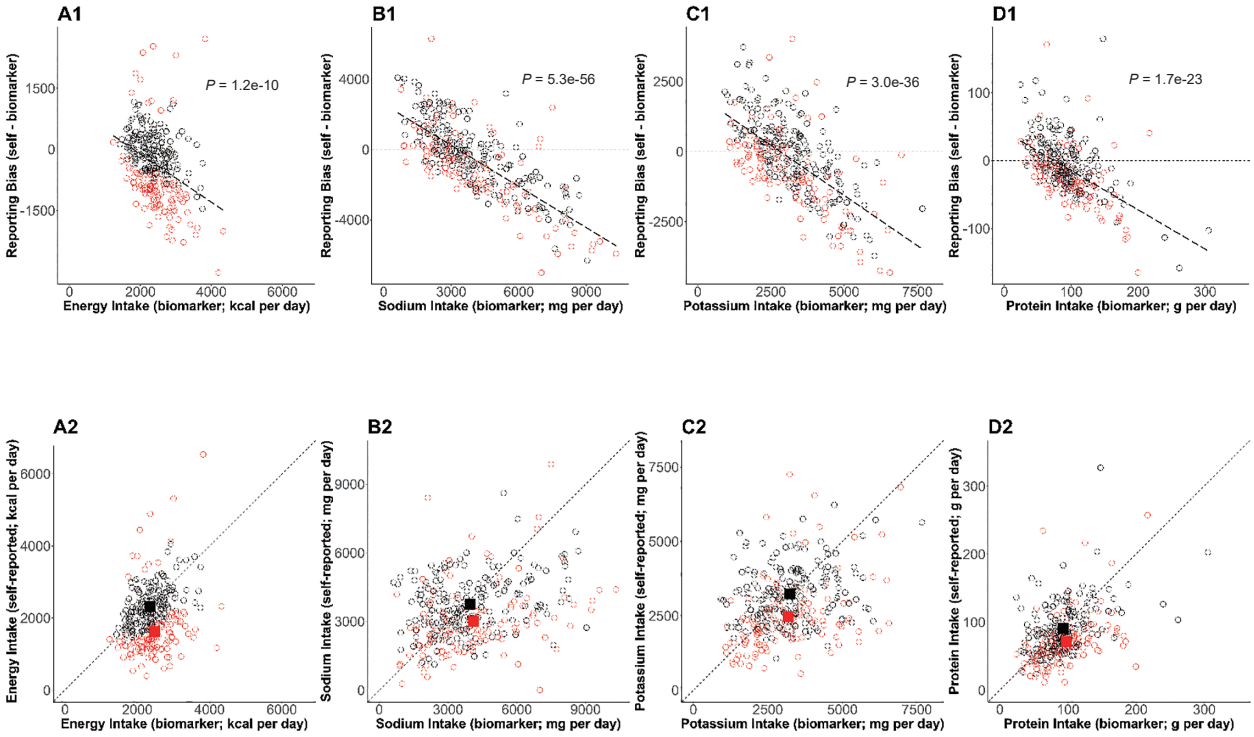


図１．自己申告栄養摂取量のバイアス
Fig.1．Bias in self-reported nutrition intakes.

（**Upper panels**）The error in mean of self-reported nutrition intake（A: energy intake, B: sodium intake, C: potassium intake, D: protein intake）and relevant nutrition intake measured by biomarkers are plotted. The regression lines are plotted with dashed lines and the corresponding *P*-values are stated. The dotted horizontal lines at zero indicate there is no error in nutrition intake. The red circles and black circles are the rejected cases and the accepted cases, respectively.

（**Bottom panels**）Self-reported nutrition intake and biomarker-based nutrition intake measured are plotted. Closed red and black squares are the mean of nutrition intake in the rejected cases and the accepted cases（NI_G）, respectively.

による摂取量の差はそれほど大きくはない。ただし、SI では、バイオマーカー測定による摂取量に統計的に有意な差が残っている（表 1 ）。

2．栄養摂取と HO との関連性

EI_{BIO}、SI_{BIO}、PrI_{BIO} と WC との関連は統計的に有意であった。PoI_{BIO} は、$\dot{V}O_2$ と有意に関連していた。バイオマーカーに基づく HO との相関（$\beta_{NI_{BIO},HO}$）と自己申告に基づく HO との相関（$\beta_{NI_{SR},HO}$）が異なると仮定すると、Goldberg cutoff 適用後の HO と自己申告 NI との相関（$\beta_{NI_G,HO}$）は、自己申告とバイオマーカーに基づく推定の間にあると予想される。つまり、Goldberg cutoff によりバイアスが軽減されると考えられる（$\beta_{NI_{BIO},HO} < \beta_{NI_G,HO} < \beta_{NI_{SR},HO}$ or $\beta_{NI_{BIO},HO} > \beta_{NI_G,HO} > \beta_{NI_{SR},HO}$）。まず、栄養－ HO の各対にバイアスが存在するかどうか、存在する場合はバイアスが過大評価か過小評価かを、バイアスの割合（b）を用いて検証した。b が 0 %を大きく下回ったのは、限られた事例（EI と BW，EI と WC）のみであり、それ以外の事例では偏りの有無を結論づけることができなかった。有意な過大評価（$b > 0$）は、どのケースでも観察されなかった（図 2 の左図）。なお、バイオマー

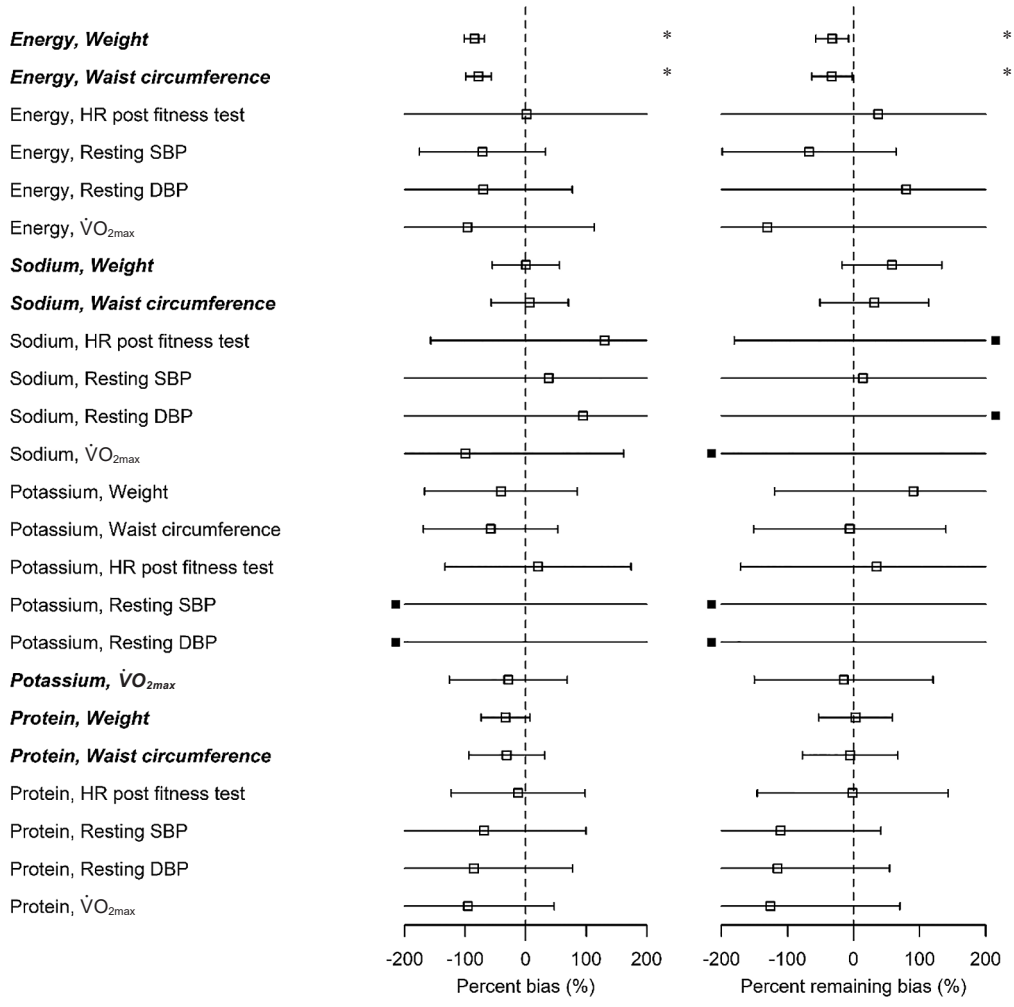


図 2．自己申告栄養摂取量のバイアス（回帰係数）

Fig.2. Bias in self-reported nutrition intakes.

Italic bold font denotes significant associations between nutrition intake measured by biomarkers and the outcome. Open squares correspond to the maximum likelihood estimators and the bars are 95% confidence intervals. Closed squares are plotted at the left end or right end of the panel when the point estimate is beyond the x-axis limits. Using three types of regression coefficients（β_{SR}: self-reported data, β_{BIO}: biomarker data, β_G: Goldberg accepted data）, three metrics were defined.

（**Left panel**）Percent bias of the linear regression coefficient, $b_\beta = (\beta_{SR} - \beta_{BIO})/\beta_{BIO} * 100$（%）, was computed. *: Significant bias was observed.

（**Right panel**）Percent remaining bias of the linear regression coefficient, $d_\beta = (\beta_G - \beta_{BIO})/\beta_{BIO} * 100$（%）, was computed. *: Significant remaining bias was observed.

カーから推定されるNIとHOに有意な関連があるケースでは、自己申告による有意な過小評価が観察された。次に、Goldberg cutoffを適用した後に偏りが残っているかどうか、残っている場合は過大評価か過小評価かを、バイアス残存率（r）を用いて検証した。BWとEI、WCとEIの関連については、バイアスは減少した（$|r| < 100$）が残存していた（$r \neq 0$）。残りのケースについてGoldberg cutoffを適用しても、バイアスが存在するか否かを再度結論づけることはできなかった。上記のデータ解析から、Goldberg cutoffは、信頼区間が広く、データのサンプルサイズやNIとHOの組み合わせによっては関連が弱いこともあり、ほとんどのケースでバイアスを除去しているかしていないかを結論づけることはできなかった。

B．シミュレーション

Goldberg cutoffの性能に関する議論を強化するために、IDATAの特性を保持したデータを生成し、分析した。このシミュレーションは、IDATAのサンプル数の制限を克服しつつ、IDATAの構造と性質を維持するように設計されている。NIとHOのすべての組み合わせにおける性能指標（バイアス，MSE，CP）を図3に示す。各性能指標について、1000回のシミュレーションによる平均値を示す。生成されたバイオマーカーデータがIDATAと整合していることを確認した。すべてのバイオマーカーのバイアスはほぼ0に近かった（図3の赤色の四角）。4つのNIすべてについて、HRとの相関は負で、他のアウトカムとの相関は正であった。正の相関を示したケースでは、$\beta_{NI_{SR},HO}$に正のバイアスがかかり、負の相関のあるケースでは、$\beta_{NI_{SR},HO}$に負のバイアスがかかった。$\beta_{NI_{SR},HO}$が観測されたことから、多くの研究で観測されているように、自己申告データでは減衰バイアス（すなわち，$|\beta_{NI_{SR},HO}| < |\beta_{NI_{BIO},HO}|$）が発生することが示唆された。Goldberg cutoffを適用したところ、24組のNIとHOの組み合わせのうち14組でバイアスが軽減された。特に、EIを予測因子として用いた場合には、6つのアウトカムすべてでバイアスが減少し、その減少幅は大きかった。SI、PoI、PrIを予測因子とした場合、Goldberg cutoffを適用してもバイアスはあまり変化しなかった。また、NI_{BIO}ではNI_{SR}と比較してMSEが小さくなるケースが多く、NI_{SR}ではGoldberg cutoffを適用することでMSEが小さくなった（図3）。CPは、予想どおりNI_{BIO}を予測因子として用いた場合は95％に近かったが、NI_{SR}を用いた場合は95％より低いケースがほとんどであった。Goldberg cutoffを適用することでCPは上昇したが、それでもほとんどの場合95％より低い結果となった。他の値についてもシミュレーションを繰り返したところ（$n = 50, 100, 200, 300$）、すべてのケースで同様の結果が得られた。

考　　察

食事の自己申告は、栄養疫学、特に栄養と健康の関係の研究にとって基本的な要素である。しかし、NIの申告の偏りは、栄養が疾病に及ぼす真の効果を理解するうえでおそらく最大の障害の1つである。自己申告におけるこのバイアスを考慮しないと、栄養が健康に及ぼす影響を評価するためにデザインされた研究の解析および解釈に影響を及ぼすことがある。自己申告によるNIとHOとの関連を推定する相関係数または回帰係数は、かなりの誤差を含んでいる可能性がある。このような申告バイアスの問題に対処するため、バイオマーカーデータと組み合わせて統計モデルを使用することに関心が高まっている。本研究では、自己申告によるNIの申告バイアスを実証的なデータ解析とシミュレーション研究の両方を用いて実証した。全体として、我々のデータ解析とシミュレーション研究は、Goldberg cutoffが栄養－HOの相関推定を改善することを示唆した。しかし、バイアスは完全には除去されなかった。

今後の課題として、「個人としてのバイアス」の検証を行いたい。集団と個人のバイアスを分けて検証するのは、それぞれ異なる意味をもつからである。例えば多くの疫学調査は集団の平均の摂取量や平均的な摂取量とアウトカムの関係が重要である一方、患者やアスリートを対象とした食事指導では個人の摂取量が重要であると考えられる。

総　　括

我々は、Goldberg cutoffがIDATAデータセット

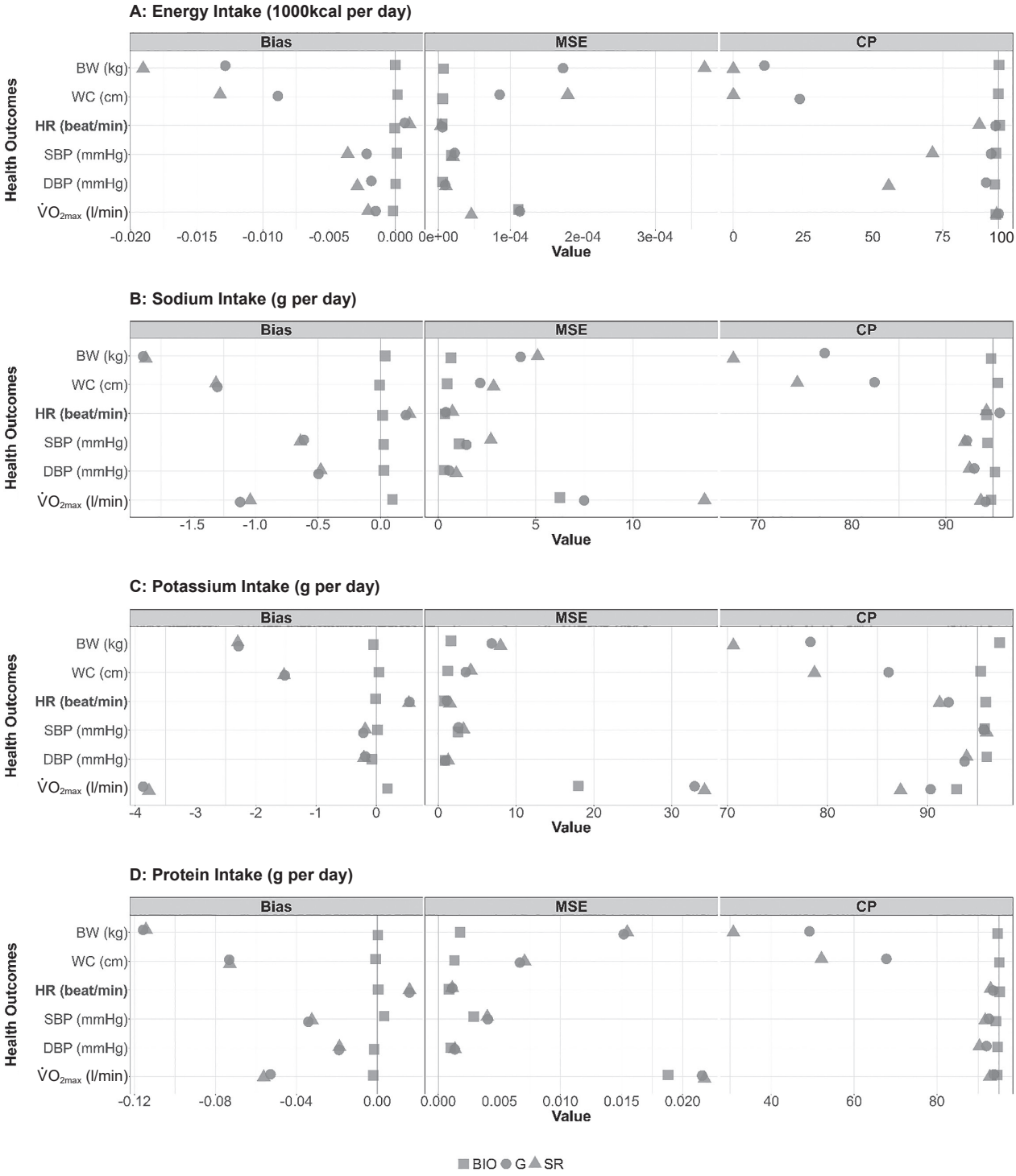


図 3．バイアス、MSE、coverage probability

Fig.3. Bias, MSE, and coverage probability in the simulation study.

The bias, mean squared error（MSE）, and the coverage probability in regression coefficients between four nutrition intakes（A: energy intake, B: sodium intake, C: potassium intake, D: protein intake）and six health outcomes（body weight, waist circumference, HR［heart rate］post fitness test, resting SBP［systolic blood pressure］, resting DBP［diastolic blood pressure］, and $\dot{V}O_{2max}$）for 1000 replicates. Bold font denotes negative associations between nutrition intake measured by biomarkers and the outcome. Red square, blue triangle, and green circle represent biomarker-based nutrition intake, self-reported nutrition intake, and Goldberg accepted nutrition intake, respectively.

（**Left panel**）The bias between estimated and true regression coefficients are plotted. The grey vertical line at zero indicates there is no bias between the true regression coefficient and the mean of the 1000 replicates. For each combination, if the green dot is closer to 0 than the blue dot, then that indicates Goldberg cutoff rule reduced the bias.

（**Middle panel**）The MSE between estimated and true regression coefficients are plotted. The grey vertical line at zero indicates there is no bias between the true regression coefficient and the mean of the 1000 replicates.

（**Right panel**）The coverage probability for simulation studies. The grey vertical line indicates coverage probability consistent with 95% confidence intervals.

における平均 NI の偏りを軽減・除去することを明らかにした。しかし、NI と HO との相関のバイアスは Goldberg cutoff によって軽減できる場合もあるが完全に除去できるわけでもない。このような cutoff は、NI と HO とのに相関ついての研究よりも平均 NI の推定において有用であることが示されたため、疫学研究において極端な申告者を除外することを検討している研究者は、その特定の研究課題に答えるためにそのようなアプローチが有用であると考えられるかどうかを考慮する必要がある。

謝　　辞

本研究を助成いただいた公益財団法人明治安田厚生事業団に感謝いたします。

参 考 文 献

1）Ejima K, et al.（2019）: Does exclusion of extreme reporters of energy intake（the "Goldberg cutoffs"）reliably reduce or eliminate bias in nutrition studies? Analysis with illustrative associations of energy intake with health outcomes. Am J Clin Nutr, **110**（5）, 1231-1239.

2）Goldberg GR, et al.（1991）: Critical evaluation of energy intake data using fundamental principles of energy physiology: 1. Derivation of cut-off limits to identify under-recording. Eur J Clin Nutr, **45**（12）, 569-581.

3）Goldfeld SM, et al.（1965）: Some tests for homoscedasticity. Journal of the American Statistical Association, **60**（310）, 539-547.

4）Ward ZJ, et al.（2019）: Projected U.S. state-level prevalence of adult obesity and severe obesity. N Engl J Med, **381**（25）, 2440-2450.

Contents

Outstanding Research Award **Designated Theme**

Acceptable walking and cycling distances and incidences of dementia and functional disability in community-dwelling older adults: A longitudinal study based on an inventory survey.
Kenji Tsunoda, et al. ····· 1

Designated Theme

Relationship between mental condition and fitness performance: Insight from fMRI study.
Nobuhiko Akazawa ····· 9

Identification of molecular mechanisms involved in the preventive effect of exercise on the onset of dementia in terms of brain-muscle interactions.
Yuki Ito, et al. ····· 15

Elucidation of the brain- intestine-skeletal muscle linkage centered on the umami taste receptor for the improvement of motor function and cognitive/ memory function.
Asako Inoue, et al. ····· 22

Estimating the effect of low physical activity on cardiovascular death through depressive symptoms: An application of machine learning and causal inference.
Kosuke Inoue ····· 27

Do eye-related measures predict the beneficial effects of exercise on mental health?
Ryuta Kuwamizu, et al. ····· 33

Changes in exercise, nutrition, and social activity during the COVID-19 pandemic and subsequent cognitive decline in older adults in Tokyo: A longitudinal study with annual repeated checkups from 2019 to 2022.
Hiroyuki Sasai, et al. ····· 38

Development of bedtime stretching exercise program enhancing mood and cognitive function.
Kazuya Suwabe, et al. ····· 44

Effects of age and acute aerobic exercise on the brain waste clearance.
Takashi Tarumi, et al. ····· 51

Elucidation of the mechanisms of improvement of mild cognitive impairment by exercise intervention.
Takuya Yamashita, et al. ····· 60

General Theme

Social participation and incident disability and mortality among frail older adults: A JAGES longitudinal study.
Noriyuki Abe, et al. ····· 65

Development of a multimodal gait evaluation system for assessing knee joint function and an intervention study for community-dwelling older adults.
Emi Anzai ····· 70

The functional change of bone marrow mesenchymal stem cells by Relative Energy Deficiency in Sport（RED-S）.
Aoi Ikedo ····· 75

Age-related changes in motor networks and its plasticity.
Ryoki Sasaki ····· 81

Associations of physical activity and sedentary behavior with calcaneus bone density among mothers and children.
Kanami Tanigawa, et al. ····· 87

Identification and characterization of fatty acid responder and non-responder in energy metabolism.
Katsuhiko Yajima ····· 94

Association between life course of exercise, sports, and dementia: A large-scale population-based cohort study of older adults.
Mitsuya Yamakita, et al. ····· 101

Regulation of skeletal muscle receptor expression unraveling sex differences in the development of sarcopenia.
Toshinori Yoshihara ····· 111

Selection Committee Grant

Supporting the mental health of pregnant and postpartum women through online self-care classes: Towards the construction of a healthy society with and after COVID-19 pandemic.
Midori Matsushima, et al. ····· 117

Effects of COVID-19 pandemic on physical activity and mental health in preschool children.
Keiko Murakami ····· 127

Research and development of objective stress assessment technology using virtual reality（VR）and near-infrared spectroscopy（NIRS）.
Masamichi Moriya, et al. ····· 135

36th General Theme

Bias in nutrition-health associations is not eliminated by excluding extreme reporters in empirical or simulation studies.
Keisuke Ejima, et al. ····· 141

第37回 若手研究者のための
健康科学研究助成 成果報告書

発行日　2023 年 7 月 1 日
発行者　公益財団法人 明治安田厚生事業団
〒163-0630
東京都新宿区西新宿 1-25-1
電話（03）3349-2741
印　刷　東京六法出版株式会社

37th (2020)
Research-Aid Report

Meiji Yasuda Life Foundation of Health and Welfare