第39回（2023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.39 2026/6

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、若手研究者による広く健康の維持増進に有用な課題解決のための研究に対し、助成を行っています。

制度の創設以来、第41回までの助成件数は732件、助成総額は 6 億9300万円に達し、若手研究者から斬新で独創的なテーマの応募を数多くいただき、健康科学研究に携わる若手研究者のみなさまのお役に立てることを願っております。

第38回からは、指定課題のテーマを「健康増進のための実装研究」に変更し、社会実装型研究の普及と発展を支援しております。

今般、第39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、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。

2026年 6 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	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

指定課題

委　員	公益財団法人 明治安田厚生事業団 体力医学研究所名誉所長	荒　尾　　孝
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	東京大学大学院 医学系研究科特任教授	川　上　憲　人
委　員	国立がん研究センターがん対策研究所 行動科学研究部室長	島　津　太　一
委　員	立教大学名誉教授	中　村　陽　一

一般課題

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	東京医科大学 公衆衛生学分野主任教授	井　上　　茂
委　員	東京都立大学 人間健康科学研究科教授	北　　一　郎
委　員	山野美容芸術短期大学 美容総合学科教授	永　松　俊　哉
委　員	明星大学教育学部教授	村　岡　慈　歩

（敬称略・五十音順）

＊職務は公募時

目　　次

優　秀　賞 ―― 一般課題 ――

一過性の有酸素運動が脳・認知機能に与える効果と加齢・性差の及ぼす影響
浅　原　亮　太　他 …… 1

―― 指定課題 ――

地域での継続につながった介護予防介入研究のプログラム検証
吉　田　　司　他 …… 11

―― 一般課題 ――

2型糖尿病原因遺伝子レジスチン SNP を標的としたサルコペニア肥満予備群の早期抽出と個別化予防戦略
池　田　陽　介　他 …… 18

不活動がもたらす不安・記憶障害における過酸化脂質制御の役割解明
江　島　弘　晃　他 …… 24

運動マウス由来の血漿投与は、筋萎縮モデルマウスの筋量や筋機能を改善するか？―筋萎縮抑制効果をもつエクサカインの探索と、血液伝播を介した運動による筋萎縮抑制効果の検証―
大　藪　　葵　他 …… 30

運動による実行機能低下の神経機構の解明―脳内乳酸濃度の役割―
越　智　元　太　他 …… 38

包括的学校身体活動介入による青少年の心身の健康に対する効果検証
喜　屋　武　享　他 …… 45

運動による認知症発症予防効果にかかわるミトコンドリア機能調節因子と機序の解明
小　林　天　美 …… 52

運動イメージの客観的評価法の確立と新規運動イメージ介入法の効果検証
竹　中　悠　真　他 …… 60

エネルギー摂取量の増加が筋肥大を誘導するメカニズムの解明―臓器連関の視点からの解析―
三　浦　　征　他 …… 67

レジスタンス運動を用いたエクササイズ・スナックは、
若年者・高齢者の生活習慣病リスクを低下させるか？
柳　岡　拓　磨　他 …… 72

介護予防のための集団認知行動療法を応用した運動プロ
グラムの開発―予備的ランダム化比較試験―
山　下　真　里　他 …… 80

第 39 回若手研究者のための健康科学研究助成成果報告書
2023 年度 *pp*.1〜10（2026.6）

〔優　秀　賞〕

一過性の有酸素運動が脳・認知機能に与える効果と加齢・性差の及ぼす影響

浅　原　亮　太*　　樽　味　　孝*

EFFECTS OF ACUTE AEROBIC EXERCISE ON THE NEURAL CORRELATES OF EXECUTIVE FUNCTION IN YOUNG AND OLDER ADULTS: A CROSSOVER fMRI STUDY

Ryota Asahara and Takashi Tarumi

Key words: acute aerobic exercise, brain activity, aging, sex, executive function, randomized crossover study.

緒　　言

日常生活において大筋群を用いた有酸素運動（歩行や自転車運動など）は、脳の健康維持に有益であると考えられている。近年のメタ解析では、一過性の有酸素運動が認知パフォーマンスを一時的に向上させ、その効果は、特に高齢者や運動介入前（ベースライン）の認知パフォーマンスが低い個人で大きいことが報告[8,10]されている。一方で、運動介入による認知パフォーマンス向上の効果の大きさや再現性には研究間でばらつきがあることも報告されており、運動と脳・認知機能の関係には個人差が存在する可能性が示唆されている。個人差を生む要因や神経基盤を明らかにすることは、だれもが脳・認知機能の向上を期待できる効果的な運動方法の開発につながると考えられる。

神経基盤を検討する手法の 1 つとして、課題遂行中の血中酸素濃度依存（blood oxygenation level-dependent; BOLD）信号を測定可能な機能的磁気共鳴画像法（functional magnetic resonance imaging; fMRI）がある。fMRI を用いた先行研究により、一過性の有酸素運動が認知課題遂行に関連する脳活動を調節する可能性が報告[7]されている。例えば、一過性の有酸素運動後には、実行機能を要する課題遂行中に、上・下前頭回や海馬における神経活動に伴う血流量増加が増強され、一方、前帯状皮質や背外側前頭前野では血流量減少が顕在化することが報告されている。これらの変化は、運動が実行機能を支える神経基盤に影響を与える可能性を示唆している。しかし、一過性運動により引き起こされる BOLD 信号変化が、加齢や性差、脳活動の構造的基盤となる灰白質や白質の健康状態によってどのように修飾されるのかについては、いまだ十分に明らかにされていない。

加齢は、認知課題の遂行に関連する脳活動様式を変化させる可能性が報告[3]されており、高齢者では若年者と比較して、より高い、あるいはより広範な BOLD 信号変化が観察されている。一方、性差についても、実行機能に関与する神経ネットワークや課題遂行時の神経戦略が男女で異なる可

＊　国立研究開発法人産業技術総合研究所　セルフケア実装研究センター　Integrated Research Center for Self-Care Technology, National Institute Advanced Industrial Science and Technology（AIST）, Ibaraki, Japan.

能性が報告[5]されている。これらの知見は、一過性運動が認知課題に関連する脳活動に及ぼす影響が、年齢や性別によって異なる可能性を示すものであり、同一実験条件下でこれらの要因を直接比較・検討する研究の必要性を示唆している。

これまでのfMRI研究では、介入後のみの測定に基づいて一過性運動の効果が検討されてきた。しかし、介入前のベースライン測定が行われていないため、日内変動や測定日間のばらつきによる認知パフォーマンスや脳活動の変動を十分に統制できないという問題点がある。この問題を克服し、加齢や性差を含む個人差要因を適切に考慮したうえで一過性運動の神経基盤を検討するためには、介入前後の測定を含む実験デザインが必須である。

そこで本研究では、ランダム化クロスオーバーデザインを用いて、脳・認知機能に与える一過性の有酸素運動の効果が、加齢、性差、更に脳萎縮および白質病変の個人差によりどのように異なるのかを、核磁気共鳴画像（magnetic resonance imaging; MRI）を用いて検討することを目的とする。

方　　法

A．被験者

健常な若年者17名（女性8名）と中高齢者19名（女性10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MRI計測を行えない者とした。本研究は、国立研究開発法人産業技術総合研究所におけるヒトを対象とした研究に関する研究内容審査委員会の承認を受けた（承認番号：HF2023-873）。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。

B．実験プロトコール

ランダム化クロスオーバーデザイン法により、認知パフォーマンスと脳活動に対する運動条件と安静条件の影響を比較した（図1）。日内変動の影響を統制するため、被験者には同時刻に2回研究室へ訪問してもらい（安静条件と運動条件）、各条件での計測を実施した。各条件の間には、48時間以上のウォッシュアウト期間を設けた（平均12.4±10.8日）。また、測定2時間前の飲食、測定24時間前以内のカフェイン摂取、飲酒、激しい身体活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。

初回実験日に、身長および体重を測定し、自動血圧計により、座位での安静時血圧および心拍数を測定した。各実験日において、被験者は、座位で約10分間、MRI内で行う認知課題の練習を行った。その後、介入前のfMRI測定を行い、30分間の運動介入、もしくは安静介入、介入約15分後（post 1：平均14.8±4.2分）、および介入約45分後（post 2：平均47.3±4.3分）にfMRI測定を行った（各被験者に計6回のfMRI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

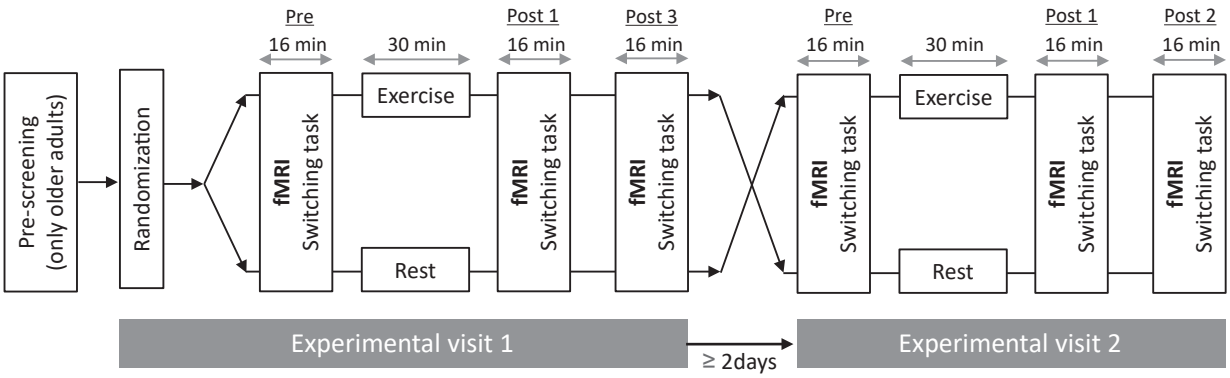

図1．実験プロトコール

Fig.1. Experimental protocol illustrating the randomized crossover, pre- and post-intervention design.
fMRI; functional magnetic resonance imaging.

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、運動後に質問紙を用いて自覚的運動強度を測定した。安静条件では、椅子に座った状態で30分間安静を保ってもらった。

C．認知課題

実行機能の中核要素である認知的柔軟性を評価するタスクスイッチング課題[9]を用いた。課題は、単一ルールA（Non-switch課題）・単一ルールB（Non-switch課題）・ルールA&B混在（Switch課題）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」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課題・Switch課題それぞれで反応時間（reaction time）と正答率（error rate）を取得し、Switch課題とNon-switch課題の反応時間と正答率の差を算出した。

D．MRIデータ収集

3テスラMRI装置（Ingenia，Philips Medical Systems社）を使用し、エコープラナー画像法によりfMRIの撮像を行った。また、高解像度脳構造画像として、T1強調画像を、脳白質病変の評価としてFLAIR画像を取得した。それぞれの撮像には、下記のパラメータを使用した。

fMRI画像：有効視野（FOV）= 230 × 230 mm、スライス数 = 50枚、ボクセルサイズ = 3 × 3 × 3 mm、繰り返し時間（TR）= 2000 ms、エコー時間（TE）= 35 ms、フリップ角度 = 90°、撮像時間 = 16分

T1強調画像：FOV = 240 × 240 mm、スライス数 = 170枚、ボクセルサイズ = 1 × 1 × 1 mm、TR = 8 ms、TE = 3.7 ms、フリップ角度 = 8°、撮像時間 = 5分38秒

FLAIR画像：FOV = 240 × 240 mm、スライス数 = 48枚、ボクセルサイズ = 1 × 1 × 1 mm、TR = 11000 ms、TE = 125 ms、撮像時間 = 6分36秒

E．MRIデータ解析

fMRIデータの前処理および解析には、Statistical Parametric Mapping（SPM12，Wellcome Department of Imaging Neuroscience）を用いた。前処理として、スライスタイミング補正、頭部位置補正、Montreal Neurological Institute（MNI）標準脳テンプレートへの標準化、空間平滑化を行い、ハイパスフィルタにて低周波成分を除去した。fMRIデータの個人レベルの解析では、一般線形モデルを用い、各課題ブロックを回帰項としてモデル化した。具体的には、Non-switch課題16ブロック、Switch課題8ブロックを設定した。各被験者について、① Switch課題 > Non-switch課題、② Switch課題＞注視点、③ Non-switch課題＞注視点、の3種類のコントラストを作成した。本研究のグループ解析では、Switch課題＞ Non-switch課題のコントラストに着目した。

関心領域（region of interest; ROI）解析では、先行研究[6]を参考に、左半球の前補足運動野、背外側前頭前野、および楔前部を対象とした。各ROIは、MNI座標に基づき半径5 mmの球体として定義し、運動条件、安静条件において、pre、post 1、post 2のBOLD信号変化率を抽出した[2]。

T1強調画像は、FreeSurferを用いて全脳容積を算出し、頭部サイズの影響を補正するため、頭蓋内容積に対する割合として正規化した。FLAIR画像は、LST softwareを用いて、白質病変の体積算出を行った。

F．統計解析

認知課題の成績および、事前に設定したROIの認知課題中のBOLD信号変化について、線型混合モデル（linear mixed model; LMM）を使用し、条件の影響（条件×時間）、更に条件と年齢、性別の影響（条件×時間×年齢差，条件×時間×性差）を検証した。介入前の課題成績、ROIのBOLD信号変化、頭蓋内容積で補正した全脳容積、白質病変の体積を共変量として統制した。また、介入前（pre）の値を共変量に含めることによる多重共線性の影響について、preの値を含めないLMMを用いて検証した。多重比較（事後検定）はBonferroni法により補正した。ROI解析に加え

て、SPM の flexible factorial design を用いて、全脳ボクセル単位での探索的解析を行った。最後に、認知課題中の BOLD 信号変化と課題成績の関連について、反復測定相関分析を用いて解析を行った。被験者特性は平均値±標準偏差、LMM の結果は推定周辺平均と95% 信頼区間によりデータを示し、統計学的有意水準は 5 %未満とした。統計解析には SPSS29（IBM Corporation）、R v4.4.2（R Foundation for Statistical Computing）を用いた。

結　　果

A．被験者の特性

表 1 に被験者特性を示す。若年者と高齢者の BMI（body mass index）に有意な差はなかった。全脳容積は高齢者で有意に小さかった。安静時血圧および心拍数には差はなかった。トレッドミル歩行速度は若年者で有意に速かったが、傾斜角度は両群で同程度であった。運動時心拍数は、両群とも年齢予測最大心拍数の60～70%で差はなかった。運動後の自覚的運動強度は両群で有意な差はなかった。

B．運動と加齢の影響

表 2 に事前に設定した ROI の認知課題中の信号変化に対する運動と加齢の影響を示す。条件×時間、または条件×時間×年齢差の有意な交互作用は認められなかった。条件、年齢にかかわらず、時間経過に伴い、BOLD 信号値は有意に低下した。全脳ボクセル解析では、条件×時間の有意な交互作用、年齢の有意な主効果が認められた。条件×時間の有意な交互作用を認めた領域は、両側上頭頂小葉および右中心後回であった（図 2 ）。同領域では、運動介入前と比較して、post 1 および post 2の両時点で BOLD 信号値が維持されていることが確認された。一方で、安静条件では、BOLD 信号値は有意に低下していた。運動の影響は、全脳容積、白質病変の体積で補正しても同様に認められた。年齢の有意な主効果は、両側上前頭回、両側中側頭回、右角回、ならびに左楔前部、

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

	Young (n = 17)	Older (n = 19)	*P*-values
Women（n, %）	8（47%）	10（53%）	0.738
Age（years）	25 ± 2	62 ± 5	< 0.001
Height（cm）	168 ± 10	162 ± 7	0.046
Body mass（kg）	63 ± 11	56 ± 10	0.030
Body mass index（kg/m^2）	22 ± 3	21 ± 3	0.139
Brain structure			
Total brain volume（mL）	1135 ± 101	1025 ± 89	0.002
Total brain volume（%ICV）	75.3 ± 5.9	68.6 ± 5.2	0.001
Intracranial volume（mL）	1517 ± 183	1504 ± 175	0.826
Blood pressure and heart rate			
Systolic blood pressure at rest（mmHg）	120 ± 13	122 ± 12	0.655
Diastolic blood pressure at rest（mmHg）	78 ± 9	80 ± 9	0.490
Heart rate at rest（bpm）	69 ± 13	72 ± 8	0.356
Age-predicted maximal heart rate（bpm）	191 ± 1	165 ± 3	< 0.001
Absolute heart rate during exercise（bpm）	127 ± 9	112 ± 9	< 0.001
Relative heart rate during exercise（%HRmax）	67 ± 5	68 ± 5	0.479
Treadmill settings and perceived exertion			
Speed（km/h）	5.9 ± 0.4	4.0 ± 0.8	< 0.001
Grade（%）	5.2 ± 1.1	5.5 ± 2.3	0.666
Post-exercise rating of perceived exertion	12 ± 1	12 ± 2	0.568

Values are means and standard deviations（SD）. Exercise heart rate represents a 30-minute average. *P*-values are calculated from independent t-test for continuous variables and chi-square test for categorical variables. ICV; intracranial volume.

表 2．認知課題時の BOLD 信号変化に対する運動と加齢の影響

Table 2. Task-related brain activity of the predefined regions-of-interest in young and older groups.

		Young（n = 17）				Older（n = 19）				*P*-values（LMM）	
		Rest		Exercise		Rest		Exercise			
Left preSMA（%）	Pre	0.212	（0.129, 0.295）	0.181	（0.097, 0.264）	0.202	（0.128, 0.275）	0.228	（0.147, 0.309）	C = 0.547	C*T = 0.491
	Post 1	0.195	（0.109, 0.281）	0.154	（0.068, 0.240）	0.200	（0.125, 0.276）	0.229	（0.148, 0.309）	T = 0.024	A*C*T = 0.703
	Post 2	0.056	（−0.030, 0.141）	0.119	（0.033, 0.205）	0.155	（0.079, 0.230）	0.200	（0.120, 0.281）	A = 0.054	
Left DLPFC（%）	Pre	0.370	（0.245, 0.495）	0.349	（0.224, 0.474）	0.326	（0.214, 0.437）	0.368	（0.247, 0.490）	C = 0.867	C*T = 0.585
	Post 1	0.358	（0.229, 0.488）	0.279	（0.149, 0.408）	0.368	（0.253, 0.483）	0.371	（0.250, 0.492）	T = 0.015	A*C*T = 0.447
	Post 2	0.129	（−0.001, 0.258）	0.254	（0.125, 0.384）	0.311	（0.197, 0.426）	0.280	（0.159, 0.402）	A = 0.243	
Left precuneus（%）	Pre	0.322	（0.219, 0.425）	0.313	（0.211, 0.416）	0.297	（0.205, 0.388）	0.331	（0.232, 0.431）	C = 0.655	C*T = 0.632
	Post 1	0.315	（0.209, 0.421）	0.312	（0.205, 0.418）	0.337	（0.243, 0.431）	0.307	（0.208, 0.407）	T = 0.236	A*C*T = 0.967
	Post 2	0.244	（0.138, 0.351）	0.320	（0.214, 0.426）	0.241	（0.147, 0.335）	0.262	（0.162, 0.362）	A = 0.798	

Values are estimated marginal means, 95% confidence intervals, and *P*-values calculated from the linear mixed model（LMM）. The model was adjusted for pre-intervention values of the corresponding exercise or rest condition. A; age, C; condition, DLPFC; dorsolateral prefrontal cortex, preSMA; pre-supplementary motor area, T; time.

表 3．認知課題の成績に対する運動と加齢の影響

Table 3. Behavioral performance in young and older groups.

		Young（n = 17）				Older（n = 19）				*P*-values（LMM）	
		Rest		Exercise		Rest		Exercise			
Reaction time（ms）	Pre	107.6	（87.3, 127.9）	108.5	（88.2, 128.9）	105.6	（87.6, 123.7）	113.2	（93.5, 133.0）	C = 0.326	C*T = 0.945
	Post 1	91.6	（70.7, 112.6）	94.5	（73.5, 115.5）	94.9	（76.4, 113.4）	108.8	（89.1, 128.6）	T = 0.147	A*C*T = 0.577
	Post 2	105.7	（84.7, 126.7）	100.9	（79.9, 121.8）	82.9	（64.4, 101.5）	102.8	（83.0, 122.5）	A = 0.989	
Error rate（%）	Pre	1.8	（0.2, 3.4）	2.0	（0.4, 3.6）	2.6	（1.1, 4.0）	2.9	（1.3, 4.4）	C = 0.910	C*T = 0.365
	Post 1	1.2	（−0.5, 2.8）	1.1	（−0.5, 2.8）	1.7	（0.2, 3.1）	2.8	（1.2, 4.3）	T = 0.303	A*C*T = 0.879
	Post 2	1.6	（0.0, 3.3）	1.2	（−0.4, 2.9）	2.3	（0.8, 3.8）	0.8	（−0.7, 2.4）	A = 0.159	

Values are estimated marginal means, 95% confidence intervals, and *P*-values calculated from the linear mixed model（LMM）. The model was adjusted for pre-intervention values of the corresponding exercise or rest condition. A; age, C; condition, T; time.

表 4．認知課題時の BOLD 信号変化に対する運動と性別の影響
Table 4. Task-related brain activity of the predefined regions-of-interest in males and females.

		Male（n = 18）				Female（n = 18）				*P*-values（LMM）	
		Rest		Exercise		Rest		Exercise			
Left preSMA（%）	Pre	0.223	（0.144, 0.303）	0.216	（0.134, 0.298）	0.189	（0.110, 0.269）	0.194	（0.109, 0.278）	C = 0.565	C*T = 0.548
	Post 1	0.197	（0.115, 0.279）	0.202	（0.120, 0.283）	0.199	（0.117, 0.281）	0.184	（0.097, 0.272）	T = 0.038	S*C*T = 0.986
	Post 2	0.131	（0.049, 0.213）	0.155	（0.074, 0.237）	0.092	（0.010, 0.173）	0.169	（0.082, 0.257）	S = 0.538	
Left DLPFC（%）	Pre	0.361	（0.242, 0.480）	0.370	（0.248, 0.493）	0.328	（0.209, 0.448）	0.348	（0.222, 0.474）	C = 0.882	C*T = 0.672
	Post 1	0.387	（0.265, 0.510）	0.328	（0.205, 0.450）	0.339	（0.216, 0.461）	0.329	（0.198, 0.459）	T = 0.028	S*C*T = 0.926
	Post 2	0.283	（0.160, 0.405）	0.250	（0.127, 0.372）	0.180	（0.058, 0.302）	0.290	（0.159, 0.421）	S = 0.500	
Left precuneus（%）	Pre	0.319	（0.222, 0.415）	0.332	（0.232, 0.431）	0.297	（0.200, 0.394）	0.313	（0.210, 0.416）	C = 0.654	C*T = 0.645
	Post 1	0.334	（0.234, 0.433）	0.291	（0.192, 0.391）	0.321	（0.221, 0.420）	0.330	（0.224, 0.436）	T = 0.214	S*C*T = 0.970
	Post 2	0.270	（0.170, 0.369）	0.288	（0.188, 0.388）	0.215	（0.115, 0.314）	0.290	（0.184, 0.396）	S = 0.734	

Values are estimated marginal means, 95% confidence intervals, and *P*-values calculated from the linear mixed model（LMM）. The model was adjusted for pre-intervention values of the corresponding exercise or rest condition. C; condition, DLPFC; dorsolateral prefrontal cortex, preSMA; pre-supplementary motor area, S; sex, T; time.

表 5．認知課題の成績に対する運動と性差の影響
Table 5. Behavioral performance in males and females.

		Male（n = 18）				Female（n = 18）				*P*-values（LMM）	
		Rest		Exercise		Rest		Exercise			
Reaction time（ms）	Pre	101.5	（82.2, 120.7）	102.7	（82.9, 122.5）	111.6	（92.5, 130.7）	119.7	（99.0, 140.4）	C = 0.304	C*T = 0.943
	Post 1	92.6	（72.8, 112.4）	109.8	（90.1, 129.6）	94.7	（75.1, 114.4）	93.2	（71.9, 114.5）	T = 0.121	S*C*T = 0.466
	Post 2	97.9	（78.1, 117.7）	102.2	（82.4, 122.0）	87.9	（68.3, 107.6）	101.3	（79.8, 122.7）	S = 0.969	
Error rate（%）	Pre	2.2	（0.8, 3.7）	1.7	（0.2, 3.2）	2.2	（0.7, 3.6）	3.3	（1.7, 4.8）	C = 0.791	C*T = 0.297
	Post 1	0.4	（−1.1, 1.9）	3.0	（1.5, 4.5）	2.5	（1.0, 4.0）	0.8	（−0.8, 2.4）	T = 0.234	S*C*T = 0.013
	Post 2	0.9	（−0.6, 2.4）	1.8	（0.3, 3.3）	3.1	（1.6, 4.6）	0.1	（−1.5, 1.7）	S = 0.507	

Values are estimated marginal means, 95% confidence intervals, and *P*-values calculated from the linear mixed model（LMM）. The model was adjusted for pre-intervention values of the corresponding exercise or rest condition. C; condition, S, sex, T; time.

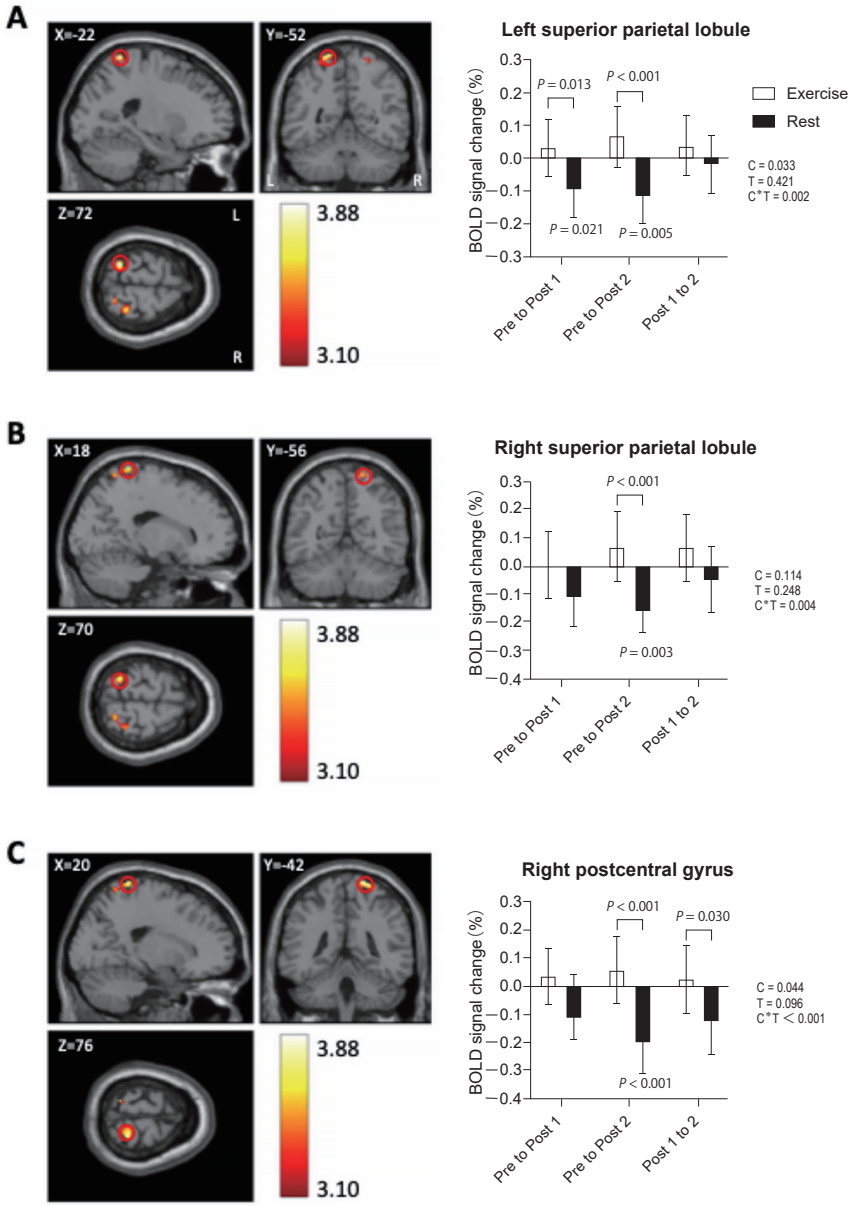

図２．運動条件と安静条件の認知課題中における脳血行動態の比較

Fig.2. Brain maps showing significant clusters where blood oxygenation level-dependent（BOLD）signal changes differed between the exercise and rest conditions.

Adjacent bar graphs illustrate differences in BOLD signal changes between conditions. Panels（A）,（B）, and（C）correspond to the left and right superior parietal lobules and the right postcentral gyrus, respectively. Change scores represent estimated marginal means（with 95% confidence intervals）from linear mixed models for post 1 minus pre, post 2 minus pre, and post 2 minus post 1. Models were adjusted for pre-intervention values in each condition. *P*-values above brackets indicate between-condition differences; *p*-values below error bars in the rest condition indicate within-condition time effects. C; condition. T; time.

側頭極、中心前回などで認められ、若年者と比較して高齢者で BOLD 信号値が高かった。若年者で高齢者より高い活性を示す領域は認められなかった。全脳ボクセル解析では、条件×時間×年齢差の有意な交互作用は認められなかった。なお、pre の値を含めない追加解析も、主要解析と同様の結果を得た。

表 3 に認知課題の成績に対する運動と加齢の影響を示す。reaction time、error rate ともに、条件×時間、および条件×時間×年齢差の有意な交互作用は認められなかった。Pre の値を含めない追加解析も、主要解析と同様の結果を得た。

C．運動と性差の影響

事前に設定した ROI の認知課題中の BOLD 信号変化に対する運動と性差の影響について、条件×時間×性差の有意な交互作用は認められなかった（表 4 ）。全脳ボクセル解析では、条件×時間×性差の有意な交互作用はなかったが、性別の有

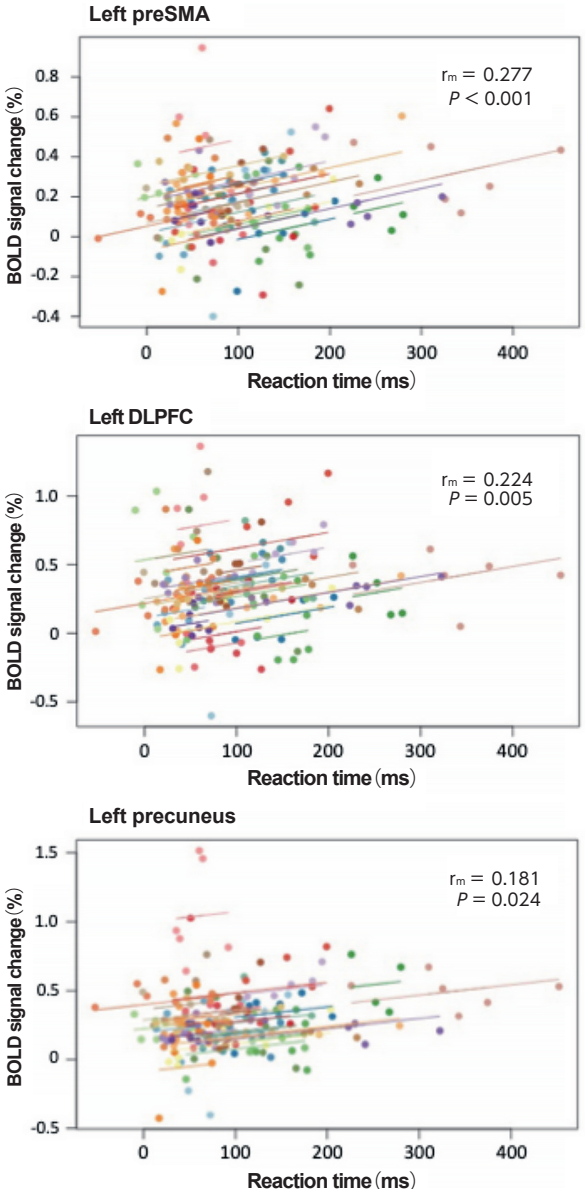

図 3．認知課題中の BOLD 信号変化と課題成績の関連
Fig.3. Repeated-measures correlations between reaction time and blood oxygenation level-dependent (BOLD) signal changes extracted from the predefined region of interest [left pre-supplementary motor area (preSMA), dorsolateral prefrontal cortex (DLPFC), and precuneus].

意な主効果が認められた。女性と比較して男性では、両側中前頭回、補足運動野、中側頭回、左角回、楔前部、鳥距溝皮質、ならびに右縁上回および前部島皮質において BOLD 信号値が高かった。表 5 に認知課題の成績に対する運動と性差の影響を示す。reaction time に、条件×時間×性差の有意な交互作用は認められなかったが、error rate に、条件×時間×性差の有意な交互作用を認めた。女性では、運動条件において、介入前と比べて post 2の時点で、error rate が有意に改善した。

D．認知課題中の BOLD 信号変化と課題成績の関連

事前に設定した ROI における認知課題中の BOLD 信号変化と課題成績の関連を図 3 に示す。いずれの ROI においても、BOLD 信号値と reaction time の間に、有意な正の相関関係を認めた。つまり、課題の反復実施に伴って BOLD 信号値が低下する一方で、reaction time は改善した。一方で、error rate については、左半球の前補足運動野においてのみ、有意な正の相関関係が認められた。

考　　察

本研究の主な結果は次のとおりである。1）認知課題中の両側上頭頂小葉および右中心後回における BOLD 信号値は、安静座位後には低下したが、運動後には低下せず維持された。運動の認知課題中の BOLD 信号への影響と、全脳容積、白質病変の体積には関連はなかった。また、認知課題の成績は運動による有意な変化は認められなかった。2）運動の影響に年齢差は認められなかったが、高齢者は若年者と比較して、認知課題成績がやや低下しているにもかかわらず、認知課題中に広範囲、かつ高い BOLD 信号変化が認められた。3）運動の影響に性差は認められなかったが、男性は女性と比較して、認知課題中に高い BOLD 信号変化が認められた。4）課題の反復実施により、認知課題中の BOLD 信号変化は減少し、関連して課題成績は改善した。本研究の結果により、一過性の有酸素運動は、加齢、性差、更に脳萎縮および白質病変の個人差にかかわらず、実行機能を賦活する課題実施中の局所的な BOLD 信号変化を維持することが示された。

本研究では、ランダム化クロスオーバーデザインを用い、介入前の脳活動の個人差を統計的に補正したうえで、一過性有酸素運動が実行機能に関係する脳活動に及ぼす影響を検討した。先行研究に基づき ROI に設定した、左半球の前補足運動野、背外側前頭前野、および楔前部では、有意な運動の影響は認められなかった。これは、運動条件および安静条件のいずれにおいても、課題の反復実施に伴い脳活動が経時的に低下したため、運動効

果がマスクされた可能性が考えられる。

一方で全脳ボクセル解析では、両側上頭頂小葉および右中心後回といった頭頂葉領域において、運動後に BOLD 信号値が低下せず、維持されることが明らかとなった。これらの領域は、課題ルール間の注意の切り替えに関与することが報告[4]されており、一過性有酸素運動が実行機能の神経基盤に影響を与える可能性を示している。更に、年齢による差が認められなかったことから、一過性運動による脳活動への影響は、加齢の影響を大きく受けない可能性が示唆される。

BOLD 信号は神経活動に関連した血流動態反応を反映すると考えられているが、脳血流や酸素供給といった血管系要因の影響も受ける。有酸素運動中および運動後には、心拍出量や換気量の増加により酸素供給が高まり、これらの生理反応は運動後も一定時間持続する可能性がある。そのため、本研究で観察された運動後の BOLD 信号の変化は、神経活動と血管反応の双方の影響を含んでいる可能性があり、fMRI のみでは両者を分離することは困難である。また、行動成績の改善を伴わない BOLD 活性の増加は、運動後の神経効率の低下を反映している可能性も考えられる。今後は、神経活動および血管機能を補完的に評価する手法を用いた検討が必要である。

本研究では、一過性有酸素運動は、安静条件に比べて認知課題の成績を改善しなかった。これは、一過性有酸素運動が認知機能を向上させると報告した先行研究[8,10]とは一致しない。この相違の一因として、本研究では介入前（ベースライン）の認知課題成績を調整する解析手法を用い、個人差を厳密に統制した点が挙げられる。先行研究の多くはこの調整が行われていない。実際、一過性有酸素運動後の認知機能の改善には大きな個人差が存在することが報告されている。興味深いことに、本研究と同様に、屋内の歩行運動では認知機能の改善効果は認められなかったが、屋外歩行では効果が認められたとする報告[1]もあり、運動を行う環境が一過性有酸素運動の効果に影響する可能性も示唆される。これらの点から、一過性有酸素運動の効果を検出するには、厳密な介入デザインや環境因子の勘案が必要であると考えられる。

本研究の探索的解析では、男性は女性と比較して認知活動中の BOLD 信号変化が高く、異なる神経戦略を用いている可能性が示唆された。一方で、一過性有酸素運動が脳活動に及ぼす効果は性別によって影響を受けないことが示唆された。

本研究にはいくつかの限界点がある。1）認知機能の評価に単一課題のみを用いた点、2）介入が中強度有酸素運動に限定されている点、3）課題時間が16分と比較的長く、学習効果が強く生じた可能性がある点、4）サンプルサイズが小さく、統計的検出力が限定的であった点である。

総　　括

本研究では、健常若年者および高齢者を対象に、一過性の中強度有酸素運動が実行機能課題中の脳活動に及ぼす影響を検討した。その結果、課題遂行に関与する両側頭頂葉および右中心後回において、運動後に BOLD 信号値が維持されることが示され、一過性有酸素運動が課題反復に伴う BOLD 信号低下を抑制する可能性が示唆された。特に、実行機能を支える頭頂葉領域においてその傾向が顕著であった。これらの BOLD 信号の変化は、運動による神経血管連関の調節、脳血流の増加、あるいは認知課題遂行時の神経効率の変化を反映している可能性が考えられる。一方で、認知課題の成績については運動後に有意な改善は認められなかったが、課題の繰り返しに伴う学習効果が、運動による微細な効果をマスクした可能性がある。このように、脳活動の変化と課題成績との間に乖離が認められたことは、一過性の有酸素運動が、まず神経基盤レベルに作用し、その効果が行動指標として顕在化するには追加的な条件や時間を要する可能性を示している。

以上より、本研究は、一過性有酸素運動が認知課題遂行中の脳活動を調節しうること、特に認知課題の反復による神経活動低下を抑制する可能性を示した点で意義がある。今後は、年齢差や性差を考慮した研究デザインの重要性を踏まえつつ、一過性運動によって生じる一時的な神経変化が、反復的な運動介入を通じて蓄積し、長期的な脳機能の維持・向上につながるのかを検討する必要がある。これらの知見は、加齢に伴う認知機能低下

の予防や、個人特性に応じた運動処方の最適化に資する基盤的知見を提供するものと考えられる。

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。

参 考 文 献

1）Boere K, et al.（2023）: Exercising is good for the brain but exercising outside is potentially better. Sci Rep, **13**, 1140.

2）Brett M, et al.（2002）: Region of interest analysis using an SPM toolbox. Presented at the 8th International Conference on Functional Mapping of the Human Brain, June 2-6, 2002. Sendai, Japan. Neuroimage, **13**（2）, 210-217.

3）Cabeza R, et al.（1997）: Age-related differences in neural activity during memory encoding and retrieval: a positron emission tomography study. J Neurosci, **17**, 391-400.

4）Esterman M, et al.（2009）: Decoding cognitive control in human parietal cortex. Proc Natl Acad Sci U S A, **106**, 17974-17979.

5）Gaillard A, et al.（2021）: Sex differences in executive control: a systematic review of functional neuroimaging studies. Eur J Neurosci, **53**, 2592-2611.

6）Gold BT, et al.（2013）: Lifelong bilingualism maintains neural efficiency for cognitive control in aging. J Neurosci, **33**, 387-396.

7）Herold F, et al.（2020）: The contribution of functional magnetic resonance imaging to the understanding of the effects of acute physical exercise on cognition. Brain Sci, **10**, 175.

8）Ishihara T, et al.（2021）: The effects of acute aerobic exercise on executive function: a systematic review and meta-analysis of individual participant data. Neurosci Biobehav Rev, **128**, 258-269.

9）Monsell S（2003）: Task switching. Trends Cogn Sci, **7**, 134-140.

10）Pontifex MB, et al.（2019）: A primer on investigating the after effects of acute bouts of physical activity on cognition. Psychol Sport Exerc, **40**, 1 -22.

第 39 回若手研究者のための健康科学研究助成成果報告書
2023 年度 *pp*.11～17（2026.6）

地域での継続につながった介護予防介入研究のプログラム検証

吉田　司[*,**] 渡邊裕也[***] 横山慶一[****]

RETROSPECTIVE EVALUATION OF A CARE PREVENTION PROGRAM CONTINUING IN THE COMMUNITY AFTER INTERVENTION

Tsukasa Yoshida, Yuya Watanabe, and Keiichi Yokoyama

Key words: comprehensive geriatric program, sustainability, RE-AIM, Kyoto-Kameoka study.

緒　　言

日本において65歳以上人口は2040年代まで増加し続ける見通しである[10]。高齢者ができる限り自立した生活を続けることは、本人の生活の質を維持するだけでなく、介護や医療に関連した社会資源の確保と、社会保障制度を含めた持続可能性の観点からも重要である。そのため、加齢による心身の機能低下を抑制する介護予防はますます注目を集めている。2006年からの介護保険制度の改正施行以降、国は市町村に対し、要支援・要介護リスク者である高齢者を特定し重症化予防のための特定高齢者施策や二次予防事業の実施を推進したが、事業の参加者は高齢者人口の0.7%であった[4]。二次予防事業の参加割合が低値にとどまり、要支援・要介護リスク者を特定し対応する方法だけでは十分な介護予防効果が得られないことが課題となった。これを踏まえ、2015年から国は地域包括ケアシステムを整備する方針に転換した。これまでにフレイル・サルコペニアを含めた介護予防介入による前後比較についていくつか報告がされ、一定の有効性が示されている。しかしながら、研究段階で確立されたエビデンスが地域にどのように展開されるか、あるいはどのように展開すると良いかについての知見は不足している。

京都府亀岡市をフィールドとした、外傷予防および介護予防を推進・検証するための前向きコホート研究「亀岡スタディ」は、①地域で展開できる介護予防プログラムの開発・検証、②介護予防の医療経済学的評価、③介護予防プログラムを展開するための地域システムの構築、を目標とし、官学民で連携して進められた[8-10]。研究組織は、厚生労働省の推奨事項[3] に基づいて開発した介護予防プログラムで介入研究を行い、亀岡市役所は本取り組みの一環で、地域の介護予防の担い手育成事業「介護予防サポーター養成講座」を開講した。育成された介護予防サポーターや有志が特定非営利活動法人（NPO）を組織し、介護予防サポーターの活動の受け皿となった。介入研究終了後は、地域からの介護予防プログラムの継続を求める声に応え、NPO が独立採算制で継続運営することとなった。

*　東北大学大学院医学系研究科　Graduate School of Medicine, Tohoku University, Sendai, Japan.
**　国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所　National Institutes of Biomedical Innovation, Health and Nutrition, Osaka, Japan.
***　びわこ成蹊スポーツ大学スポーツ学部　Faculty of Sport Study, Biwako Seikei Sport College, Otsu, Japan.
****　特定非営利活動法人元気アップ AGE プロジェクト　Non-profit Organization Genki-up AGE Project, Kyoto, Japan.

地域で展開された介護予防の事例報告は限られている。本研究は、亀岡スタディの介入研究で得られた情報の二次解析を通じて介護予防プログラムを検証するとともに、介入研究終了後にNPOに移管された段階までを社会実装の用語で記述し、地域が主体となって取り組む介護予防の普及のための課題を可視化することを目的とした。

方　　法

A．セッティング

亀岡スタディは、65歳以上で要介護3以上を除くすべての亀岡市民に対する平成23（2011）年度日常生活圏域ニーズ調査（ニーズ調査）[10]をベースラインとしている。亀岡市内21地区（23自治会）中10地区で身体機能測定会が開催され、身体機能測定会参加者からリクルートした526人の高齢者に対して自重負荷とゴムバンドやアンクルウェイトを用いた筋力トレーニングを中心とした運動指導、口腔ケア指導、栄養指導、日誌の記録を組み合わせた複合型介護予防プログラムを12週間実施した。参加者の居住地区によって介入方法を割り付けた（クラスターランダム化比較試験）。介入10地区中5地区は、集団指導でプログラムの実施法を学んだ後は各自でプログラムを実施させた（自宅型）。残りの介入5地区は、週1回公民館等に参集し集団指導で指導者とともにプログラムを実施した（教室型）。介護予防教室の全容はUMIN臨床試験登録システムに登録され（UMIN000008105）、および先行研究で報告された[8,9]。介入研究は2012年に介入プログラム、2013年にフォローアップ集団指導が実施され、介入研究終了後の介護予防教室は2014年3月設立のNPOに移管され、地域の介護予防教室として引き継がれた（図1）。

B．評価

Reach（到達）、Effectiveness（効果）、Adoption（採用）、Implementation（実施）、Maintenance（維持）で構成されたRE-AIMのフレームワーク[1,7]で、介入研究の段階（研究段階）とNPO移管後の段階（NPO段階）について評価した。Reachは介護予防介入研究の参加者の特徴（研究段階）、亀岡市内教室の述べ参加者数および実参加者数（NPO段階）とした。要支援・要介護認定者を除いたニーズ調査参加者を代表集団とし、カイ二乗検定を用いて介入研究参加者の特徴を比較した。有意水準は5％とした。Effectivenessは介護予防介入研究の有効性評価（研究段階）とし、既に論文として公表された[9]。Adoptionは介護予防介入研究の教室数、介入実施者（研究段階）、NPOが実施する教室数、教室実施者、波及効果（NPO段階）とした。Implementationはリクルート、スタイル、費用、時間、実施マニュアルの作成（研究段階）、広報、スタイル、費用、時間、研究と現在での内容の変更点、教室実施者への教育機会（NPO段階）とした。Maintenanceはフォローアップ期間の日

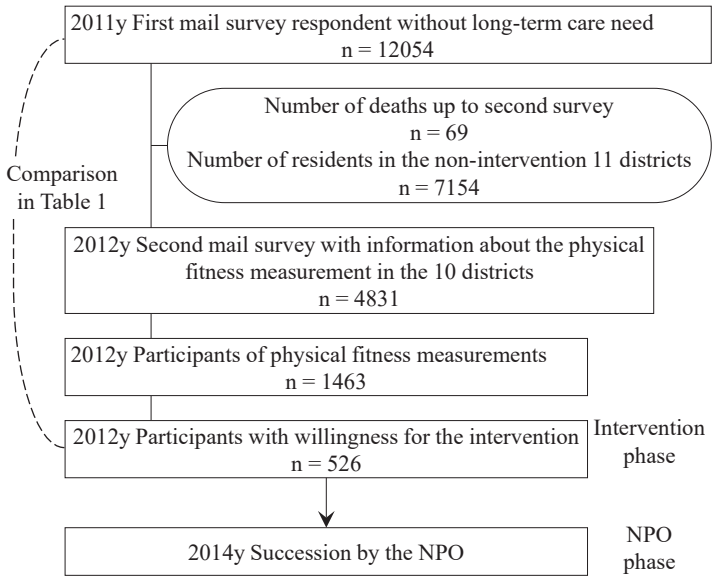

図1．本研究のフローチャート[8-10]
Fig.1.　Flowchart of this study.

誌の回収率、介入期間終了後の継続方法（研究段階）、教室移行率とNPO活動移行者数および3か月を1期として年4期開講される教室の1つ前の期からの継続率（NPO段階）とした。

結　　果

表1にRE-AIMのフレームワークによる研究段階とNPO段階の評価を示した。

A．Reach

研究段階について、介入研究参加者と代表集団の比較を表2に示した。介入研究参加者は女性が多く、年齢が若く、独居が少なく、主観的健康感が良好で、有疾病者が多く、社会参加があり、公共交通手段があり、喫煙者が少なく、飲酒者が多く、フレイルが少なかった。

NPO段階について、介護予防教室の延べ参加者数（1期10回とした1期ずつの参加者の総計）は、2022年が3686人、2023年が4171人、2024年が5660人であった。また、実参加者数は2022年が176人、2023年が177人、2024年が264人であった。

B．Effectiveness

12週間の介護予防介入プログラムの有効性は既に論文として公表された[9)]。その概要は、自宅型と教室型ともに、等尺性膝伸展筋力、通常歩行速度、5回椅子立ち座り時間、30秒椅子立ち座り回数、ファンクショナルリーチ、20秒座位開閉ステッピング回数、垂直跳インデックス（距離×体重）の各身体機能が向上した。また、超音波法による大腿前部筋厚、1日の平均歩数、中高強度身体活動量が増加した。教室型は加えて最大歩行速度とTimed up -and-goが向上した。

介護予防介入プログラムの内容と、NPO段階でプログラムの内容に変更があり、変更されたプログラムの効果は検証されていないため、Effectivenessに該当する結果はない。

C．Adoption

介入研究は亀岡市21地区（23自治会）中10地区で合計11教室開催された。2～3人の研究者と数人の介護予防サポーターによって教室を運営した。

NPOが実施する亀岡市内の教室は、亀岡市21地区（23自治会）中12地区で合計15教室開催され、各教室はNPOのスタッフ2～5人で実施された。亀岡市以外でも23教室展開された。

D．Implementation

介入研究の参加者は、身体機能測定会の参加者からリクルートした。対象者の居住地域によって自宅型または教室型のプログラムを実施した。研究目的のプログラムであったため、参加費は無料であった。自宅型は2回の集団指導と1回の自由参加形式の集団指導、教室型は週1回の集団指導を12週間実施し、1回の教室は90分間で構成した。介入方法、教材、介入効果の測定方法、介護予防サポーターの養成方法等がまとめられた介護予防プログラムをマニュアル化し、京都府内の全市町村に配布され、京都地域包括ケア推進機構のウェブサイトに掲載された（www.kyoto-houkatucare.org/kaigo-yobou-manual）。

NPOが継続した教室では、チラシの配布、自治体広報誌の掲載、自治体の全戸配布、新規教室開設時の新聞折り込みなど、複数の広報手段を用いた。運営はすべて教室型で実施され、3か月を1期として1回90分間の教室が全10回実施された。参加費はチケット制（1期10回：4500円）、または都度払い（1回：600円）を参加者が自己負担した。研究時に使用したツールのうち、日誌とアンクルウェイトはNPOの判断で採用されなかった。日誌を用いなかった理由は、配布、回収（確認）、返却といった事務作業の負担軽減と、参加者の教室参加の心理的負担感を減らすことにあった。アンクルウェイトを用いなかった理由は、参加者の初期費用の抑制、教室来場時の荷物の軽減、および今後参加者層が幅広い体力レベルに拡大した場合の安全面への配慮であった。NPOの判断でプログラムの一部が変更された。音楽体操は曲目が変更された。参加者の増加が見込まれることを想定して、認知機能向上が期待されるコンテンツ（脳トレ）が追加された。また、介護予防サポーターの技能向上に伴い、指導者の裁量による取り組み（他の筋力トレーニング種目，ドローイン，笑いヨガなど）も追加された。介護予防サポーターには、スキルアップ講座や研修会の開催により、継続的な教育機会が提供された。

E．Maintenance

介入研究の12週間の介入期間後のフォローアッ

表 1．RE-AIM モデルを用いた介入研究段階および NPO 移管後の介護予防教室の評価
Table 1. Evaluation of research intervention phase and continuing by NPO phase using the RE-AIM framework.

Issue	Content	Result
Reach	Research intervention phase	
	・Representativeness of intervention participants	Comparison of background between intervention participants and community-dwelling representative（Table 2）
	Continuing by NPO phase	
	・Gross number participation	2022y：3686 gross participants for 4 periods
		2023y：4171 gross participants for 4 periods
		2024y：5660 gross participants for 4 periods
	・Actual number participation rate※	2022y：176 participants / 22559 independent population = 0.78%
		2023y：177 participants / 22435 independent population = 0.79%
		2024y：264 participants / 22490 independent population = 1.17%
Effectiveness	Research intervention phase	
	・Effectiveness of program	Effectiveness of program（see reference #9）
	Continuing by NPO phase	
	・Unable to evaluate	
Adoption	Research intervention phase	
	・Number of classrooms in the intervention	Home-based：5 area of Kameoka, 5 classes（1-4 times in each class, total 14 classes）
		Class-style：5 area of Kameoka, 6 classes（1-4 times in each class, total 13 classes）
	・Intervention staff	2 to 3 researchers（some of whom are PT or NSCA strength and conditioning specialists）and a few trained supporter. A dental hygienist of nutritionist lectured in #1 or #2 session
	Continuing by NPO phase	
	・Number of classrooms in Kameoka city	12 area of Kameoka, 15 classes（4 times in each class, total 60 classes）
	・Staff	2 to 5 NPO staff（all of whom are trained supporters）
	・Spillover	23 classes out of Kameoka（4 times in each class, total 92 classes）
Implementation	Research intervention phase	
	・Recruiting	Recruit participants for participants in research physical fitness measurement
	・Session style	Home-based and Class-styled session（cluster RCT）
	・Cost	Free（for research）
	・Time	90 minutes per session and do independently on the other days
	・Manual	Create manual as Kyoto-style program, and distributed all municipality in Kyoto. Uploaded on website of Kyoto community comprehensive care promotion organization
	Continuing by NPO phase	
	・Public relation	Flyers: every 3 months, 4 times a year
		Local government newsletters: each 1-3 month(s)
		Local government all household distribution: approx. 20 times in the past
		Insert flyers in newspapers: approx. 10 times in the past, announcing new opening class
	・Session style	Class-styled session
	・Cost	4500 yen for 10 weekly lessons per period. 600 yen for single lesson
	・Time	90 minutes per session and do independently on the other days
	・Difference from research intervention	No using diary or ankle weights, changed exercise with music, added training the mind, and partially added other resistance training, drawing, laughter yoga, etc by instructors' discretion
	・Education opportunity for staff	Skill-up courses and training sessions for supporters
Maintenance	Research intervention phase	
	・Diary returning rate during follow-up term	58.3%
	・Continue after ending research intervention	Transferred classes of 9 of 10 area from research group to NPO to continue
	Continuing by NPO phase	
	・Continueation rate from research	164 participants / 526 intervention subjects = 31.2%
	・Continueation rate from previous period	2024y 4th period participants：89.7% in 1st, 82.0% in 2nd, 76.8% in 3rd of periods in 2025y, respectivity
		2025y 1st period participants：89.0% in 2nd, 81.3% in 3rd of periods in 2025y, respectivity
		2025y 2nd period participants: 80.3% in 3rd of period in 2025y
	・Transformed from participants to staff	3 participants were transformed to NPO staff

※ The number of independent individuals aged 65 years and older was estimated based on the population estimates of Kameoka City and data on the number of certified long-term care by municipality in Kyoto Prefecture.
www.city.kameoka.kyoto.jp/life/6/30/151/
www.pref.kyoto.jp/kaigo/documents/r3120siryou2.pdf
www.pref.kyoto.jp/kaigo/documents/r4120siryou2.pdf
www.pref.kyoto.jp/kaigo/documents/r5120siryou2.pdf
PT; Physical Therapist, NSCA; National Strength and Conditioning Association, RCT; randomized controlled trial.

表２．介入研究参加者と地域代表集団の背景情報の比較
Table 2. Comparison of background between intervention participants and community-dwelling representative.

category		Intervention participants n = 526		Community representative n = 11528		χ^2	*P* value
Sex	female	306	58.2%	6150	53.3%	4.71	**0.030**
Age	65-74	337	64.1%	6874	59.6%	13.60	**0.001**
	75-84	174	33.1%	3868	33.6%		
	85+	15	2.9%	786	6.8%		
Family sturcture†	living alone	52	9.9%	1347	11.7%	15.90	**0.000**
Education†	12 years and less	341	64.8%	7775	67.4%	1.67	0.434
Self-reported health†	bad	61	11.6%	2269	19.7%	21.42	**0.000**
Sickness	presence	412	78.3%	8539	74.1%	4.77	**0.029**
Economic situation†	bad	320	60.8%	7331	63.6%	5.28	0.071
Social participant	participant	424	80.6%	7469	64.8%	55.69	**0.000**
Private transportation※	use	457	86.9%	9698	84.1%	2.88	0.090
Public transportation※※	use	209	39.7%	3343	29.0%	27.89	**0.000**
Smoking†	use	31	5.9%	1306	11.3%	19.98	**0.000**
Alchol†	use	203	38.6%	4321	37.5%	6.08	**0.048**
Kihon Checklist†	frailty	161	30.6%	3998	34.7%	7.94	**0.005**

†Missing for intervention participants：27 for family structure, 22 for self-reported health, 21 for economic situation, 18 smoking, 12 for Alchol, 31 for Kihon Checklist.
Missing for community representative：492 for family structure, 2 for education, 492 for self-reported health, 623 for economic situation, 610 for smoking, 524 for alchol, 1233 for Kihon Checklist.
※ Vehicles, bike or bicycles（driven by themselves or someone else）.
※※ Train, bus or taxi.

プ期間の日誌の回収率は58.3％であった。介入研究終了後は、介入を実施した10地区のうち９地区（10教室）について教室がNPOに移管され地域の介護予防教室として運営された。

NPOで継続された教室は３か月を１期とした年４期の教室で、１つ前の期からの継続率は80.3％から89.7％であった。

考　　察

国が推進する地域包括ケアシステムの意義は、地域が主体となって日常のなかに介護予防を落とし込むことにある。介入が健康上の利点をもち、かつ持続可能性を確保した形で地域システムに組み込まれた場合、スケールアップが達成されたとみなされる[6)]。スケールアップの概念は文脈によって意味が異なるが､その１つのとらえ方は｢地域に根付く｣ことが挙げられる[2)]。ランダム化比較試験によって科学的な有効性は明らかにできるものの、地域に根付く局面を検証することは難しく、より学際的な視点による評価検証が必要である[2)]。本研究では、RE-AIMフレームワークを用いて、地域での継続につながった介護予防介入研究で実施されたプログラムを後ろ向きに評価した。

介入研究参加者は地域代表集団と比較し、女性比率が高く、年齢が若く、独居が少なく、主観的健康感が良好で、有疾病者が多く、社会参加があり、公共交通手段が利用可能で、喫煙者が少なく、飲酒者が多く、フレイル状態の者が少なかった。このことから、プログラムがすべての高齢者に適応できるとは限らない可能性がある。また、フォローアップ期間中の日誌回収率が低下していたことから、個人単位での継続に課題があり、個人に継続を促すための方策の検討と、プログラムを中断した場合にどの程度効果が残存するかについて評価する必要がある。

NPOへの移管後は参加者負担による自主運営となり、亀岡市内での実施地区および教室数が増加するだけでなく、市外での教室展開も進んだ。１つ前の期からの継続率は80.3% から89.7% と比較的高い割合で推移している。プログラムの内容は、基盤である運動・口腔・食事に関して指導することは変わっていないため、健康に対するプロ

グラムの有効性は一定程度維持されていると推察されるが、広く展開するため、または時代の求めに応じて一部の内容が変更された。介入研究では地域で展開可能であることを念頭にプログラムが開発されたが、NPO 移管後は運営する指導者のスキルアップによる新たな取り組みなどのコンテンツの追加や、運営と参加者双方の負担軽減を目的とした使用ツールの制限により、プログラムの内容が変化した。NPO 段階の Effectiveness については、一部内容が変更された現在のプログラムが有効であるかを評価できておらず、本研究の限界である。更に、現在実施されているプログラムが将来的に継続して同一である保証はなく、更なる変更が発生する可能性がある。また、NPO の教室は、 1 つ前の期に参加した人が次の期に参加するとは限らず、継続して参加しなかった人の不参加の理由が不明である。調査票等による定期調査など、地域展開の実情に応じて適切に設計された研究計画を構築することによって、現在のプログラムおよび将来の変更されたプログラムの評価が可能かもしれない。

NPO が2014年 3 月に設立されて以来、新型コロナ感染症の流行を経験した後の現在に至るまで、介護予防教室は継続運営されている。介護予防教室が継続を可能にした要因として、介入研究を起点に定期的な運動の重要性について地域に浸透したこと、各地区に社会参加の場が形成されたこと、教室運営の主たる担い手である介護予防サポーターは退職者や主婦など市民が中心で、地域住民が地域を支える仕組みが構築されたことが考えられる。また、一部の市民は介護予防プログラムの提供を受ける参加者から、サービスを提供する側である運営者に移行しており、介護予防教室が継続に至った要因は部分的に連鎖的に作用している可能性がある。一方で、参加者と運営者が近い関係であるがゆえにコミュニティが形成され、新規参加者が参加しづらく感じる可能性がある。コミュニティが強固になるほど閉鎖性が高まり、集団の流動性が低下して硬直化し、結果として参加集団の高齢化が進むことも課題である。また、生活のために働く人が増え、退職者や主婦などが中心となって成り立っている介護予防サポーターの新規担い手が減少し、これも阻害要因になり得る。研究実施時は介護予防プログラムを参加者に無料で提供していたが、NPO 移管後は有料化された。参加費の設定が高額と感じられる場合は阻害要因となる一方、有料化によって意欲的な市民が参加するようになった可能性もあり、参加費は促進と阻害の双方の要因になり得る。持続的な実装を目指す場合には入念に地域診断などを通じた慎重な検討が必要である。

介護予防プログラムはエビデンスに基づいて骨子が組み上げられていることが特徴で、ある程度マニュアル化によって展開しやすい点は促進要因と考えられる。しかしながら、マニュアル化された内容は単調になりやすく、プログラムが合わない参加者にとっては阻害要因となる可能性がある。教室実施地区の拡大する際、地域に適切な規模・設備を備えた施設がない場合には、地域の要望に十分に応えられないこともある。

総　　括

介入試験によって健康に対する有効性を示す研究は多く存在するものの、地域への展開とその継続状況に関する報告は少ない。亀岡スタディによって検証された介護予防介入研究は、介入研究終了後も解散せず、地域の需要に応じて NPO が継続し、自主財源によって運営されている稀有な事例である。本研究では、RE-AIM のフレームワークに基づき、介入研究の段階および NPO 移管後について評価した。その結果、地域に根付いてはいるもののプログラムの内容の一部が改変されていた。また、コミュニティの形成や参加費の有料化は、促進と阻害の双方の要因となる可能性が示唆された。実社会の場面において、プログラムやシステム等が動的に変化したことが有効であったかについては、今後更なる検証によるエビデンスの積み上げと知見の整理が必要である。

謝　　辞

亀岡スタディにご参加いただいた亀岡市民の皆様、亀岡市および京都府の関係者の皆様に感謝申し上げます。本研究遂行にあたり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御礼申し上げます。

参 考 文 献

1）Glasgow RE, et al.（1999）: Evaluating the public health impact of health promotion interventions: the RE-AIM framework. Am J Public Health, **89**, 1322-1327.

2）Greenhalgh T, et al.（2017）: Beyond adoption: a new framework for theorizing and evaluating nonadoption, abandonment, and challenges to the scale-up, spread, and sustainability of health and care technologies. J Med Internet Res, **19**（11）, e367.

3）厚生労働省（2012）：高齢者の介護予防マニュアル（改訂版）. https://www.mhlw.go.jp/topics/2009/05/dl/tp0501-1_1.pdf（アクセス日：2026 年 1 月 19 日）

4）厚生労働省老健局老人保健課：平成 24 年度介護予防事業及び介護予防・日常生活支援総合事業（地域支援事業）の実施状況に関する調査結果. https://www.mhlw.go.jp/seisakunitsuite/bunya/hukushi_kaigo/kaigo_koureisha/yobou/tyousa/h24.html（アクセス日：2026 年 3 月 22 日）

5）内閣府：令和 7 年版高齢社会白書. https://www8.cao.go.jp/kourei/whitepaper/w-2025/zenbun/07pdf_index.html（アクセス日：2026 年 1 月 19 日）

6）Reis RS, et al.（2016）: Scaling up physical activity interventions worldwide: stepping up to larger and smarter approaches to get people moving. Lancet, **388**（10051）, 1337-1348.

7）高橋由光ら（2025）：実践！実装科学：現場を変える、社会実装の科学的アプローチ. 初版, インターメディカ, 東京.

8）Watanabe Y, et al.（2018）: Comprehensive geriatric intervention program with and without weekly class-style exercise: research protocol of a cluster randomized controlled trial in Kyoto-Kameoka Study. Clin Interv Aging, **13**, 1019-1033.

9）Watanabe Y, et al.（2020）: Comprehensive geriatric intervention in community-dwelling older adults: a cluster-randomized controlled trial. J Cachexia Sarcopenia Muscle, **11**（1）, 26-37.

10）Yamada Y, et al.（2017）: Prevalence of frailty assessed by Fried and Kihon Checklist indexes in a prospective cohort study: design and demographics of the Kyoto-Kameoka longitudinal study. J Am Med Dir Assoc, **18**（8）, 733.e7-733.e15.

第 39 回若手研究者のための健康科学研究助成成果報告書
2023 年度 *pp.*18～23（2026.6）

2 型糖尿病原因遺伝子レジスチン SNP を標的とした サルコペニア肥満予備群の早期抽出と個別化予防戦略

池 田 陽 介* 川 村 良 一* 髙 田 康 徳*
大 澤 春 彦*

EARLY IDENTIFICATION AND PERSONALIZED PREVENTION STRATEGIES FOR PRE-SARCOPENIC OBESITY TARGETING RESISTIN GENE SNPS ASSOCIATED WITH TYPE 2 DIABETES

Yosuke Ikeda, Ryoichi Kawamura, Yasunori Takata,
and Haruhiko Osawa

Key words: sarcopenic obesity, resistin, insulin resistance, SNP.

緒　　言

サルコペニアは筋肉量の喪失、筋力の低下、更に身体活動の低下を伴う疾患概念である。特に、サルコペニアと肥満を伴うサルコペニア肥満では、心血管疾患やその関連死のリスクが高い。更に、サルコペニア肥満はインスリン抵抗性（血糖値を下げるホルモンであるインスリンの”効き”が悪いこと）を悪化させ、2 型糖尿病の発症を増加させる。本邦では加齢に伴ってサルコペニア肥満を合併した 2 型糖尿病患者が増加している。

レジスチンは、数少ないインスリン抵抗性関連遺伝子である。著者らの教室は、レジスチン遺伝子転写調節領域の一塩基多型（single nucleotide polymorphism; SNP）-420が、血中濃度を非常に強く規定し、インスリン抵抗性を介して、2 型糖尿病のリスクを高めることを見いだした[4,5]。加えて、SNP-420と同じ転写調節領域に位置する SNP-358 の組み合わせ（ハプロタイプ）が、SNP-420G/SNP-358A（G-A ハプロタイプ）の場合に、血中レジスチンは最も高かった[1,3]。最近、著者らは、地域一般住民のコホート研究において、G-A ハプロタイプホモでは、握力が低下した内臓脂肪型肥満（サルコペニア肥満予備群）のオッズ比が高いことを見いだした[5]。これまでに G-A ハプロタイプに特徴的な表現型は特定されておらず、SNP を標的とした高精度医療の独自のモデルとなりうる。

本研究では、レジスチンハプロタイプという「遺伝因子」に、サルコペニア肥満という「時間的因子」が加わることで、将来のインスリン抵抗性に及ぼす影響・効果を検証する。その際に影響しうる標的分子群の同定を試み、メカニズム解明につなげる。更に、本研究では、地域一般住民のサルコペニア肥満類似集団に対して階層型クラスタリングを用いて探索する。これにより、疾患発症早期予防の高精度医療の確立を目指す。

* 愛媛大学医学部附属病院糖尿病内科　Department of Diabetes and Molecular Genetics, Ehime University Graduate School of Medicine, Ehime, Japan.

方　　法

A．研究倫理コンプライアンス

本研究は愛媛大学医学部倫理委員会の承認を得て実施し（承認番号：170511，31- 4 ）、すべての参加者から書面によるインフォームド・コンセントを得た。本研究は、性別やジェンダーの公平性に配慮したSAGERガイドラインに準拠している。

B．研究対象集団（東温ゲノムスタディ）

愛媛県東温市の住民を対象とした地域住民コホート「東温ゲノムスタディ」の参加者のうち、2009年から2012年のベースライン調査および5年後の追跡調査の両方に参加し、十分な臨床データ（75 g 経口ブドウ糖負荷試験（oral glucose tolerance test; OGTT）結果，身体組成データ等）が得られた803名（平均年齢62歳）を解析対象とした。

C．身体組成の評価とサルコペニア肥満の定義

身体組成の測定には多周波バイオ電気インピーダンス分析装置（MC-780A，タニタ社製）を用い、四肢骨格筋量（appendicular skeletal muscle mass; ASM）および内臓脂肪スコアを評価した。筋肉量の指標として、肥満者においても筋量を正確に反映しやすい「ASM/体重（Wt）比」を採用した。本研究では、以下の基準に基づき参加者を4つのグループに分類した：

①対照群：内臓脂肪スコア＜10（内臓脂肪面積100 cm^2未満に相当）かつ ASM/Wt 比 Q 2 -Q 4（上位75％）

②潜在的低筋肉量群：内臓脂肪スコア＜10かつ ASM/Wt 比 Q 1 （下位25％）

③内臓脂肪型肥満群：内臓脂肪スコア≥10（内臓脂肪面積100 cm^2 以上に相当）かつ ASM/Wt 比 Q 2 -Q 4

④潜在的サルコペニア肥満群：内臓脂肪スコア≥10かつ ASM/Wt 比 Q 1

D．糖代謝能およびインスリン抵抗性の評価

75 gOGTT を実施し、空腹時および負荷後1時間、2時間の血漿グルコースおよびインスリン濃度を測定した。インスリン抵抗性の指標としてHOMA（homeostasis model assessment）2-IR（insulin resistance）を、定常状態のβ細胞機能の指標としてHOMA2-Bを算出した。

E．SNP タイピングとハプロタイプの判定

TaqMan 法およびパイロシーケンス法を用い、*RETN* SNP-420および SNP-358の遺伝子型を決定した。得られた遺伝子型に基づき、参加者を G-A ハプロタイプ保有者（ヘテロ接合体およびホモ接合体）と非保有者に分類した。

F．クラスター解析（階層的クラスター解析）

身体組成（ASM/Wt 比，握力，内臓脂肪スコア）および糖代謝パラメータ（OGTT 時の血糖値・インスリン値）をモデル変数とし、Ward 法を用いた階層的クラスター解析を行った。これにより、臨床的に意味のある特徴をもつ5つのクラスターを同定した。

G．RNA-seq および定量的 RT-PCR 解析

G-A ハプロタイプホモ接合体（n = 25）と、年齢・性別・BMI（body mass index）をマッチングさせた SNP-420C/SNP-358G（C-G ハプロタイプ）ホモ接合体（n = 33）の全血細胞から RNA を抽出し、RNA-seq（sequencing）による網羅的遺伝子発現解析および KEGG（Kyoto encyclopedia of genes and genomes）パスウェイ解析を行った。抽出された有意な変動遺伝子については、定量的 RT-PCR（qRT-PCR）を用いて検証した。

結　　果

A．G-A ハプロタイプと潜在的サルコペニア肥満の相互作用

横断的解析において、G-A ハプロタイプ保有者は血中レジスチン値が最も高かった。この結果については先行研究と矛盾しないものであった[1)]。一方で、HOMA2-IR については、G-A ハプロタイプの有無にかかわらず変化はなかった（図 1 ）。潜在的サルコペニア肥満は、他の群と比べて、血糖値、インスリン値ともに有意に高値であった（表 1 ）。重回帰分析の結果、5年間の HOMA2-IR の変化（ΔHOMA2-IR）に対して、G-A ハプロタイプと潜在的サルコペニア肥満の間に有意な交互作用が認められた。具体的には、G-A ハプロタイプを保有し、かつ潜在的サルコペニア肥満（低筋肉量＋内臓脂肪型肥満）を合併している群においてのみ、5年後のインスリン抵抗性が著しく悪化していた（図 2 ）。

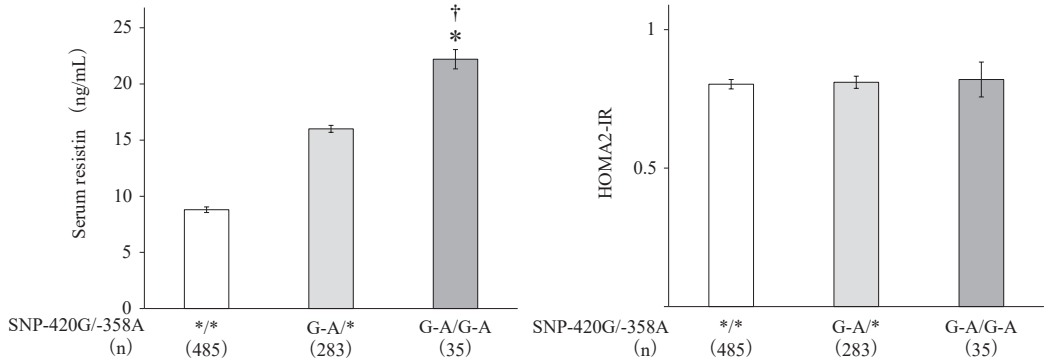

図 1．G-A ハプロタイプは血中レジスチン値が高いが、HOMA2-IR は差がなかった

Fig.1. Subjects with the homozygotes of SNP-420G/-358A haplotype had the increased in serum resistin but not in HOMA2-IR.
Subjects were divided into 3 groups by SNP-420/-358 haplotype. ANCOVA involving serum resistin and HOMA2-IR as dependent variables, and age and sex as independent variables was performed. Mean ± standard error（SE）. Tukey's honestly significant difference（HSD）test: * vs */*, $P < 0.0001$; † vs G-A/*, $P < 0.0001$.
SNP; single nucleotide polymorphism, HOMA2-IR; homeostasis model assessment 2-insulin resistance.

表 1．サルコペニア肥満は最もインスリン抵抗性が悪化していた

Table 1. In the 75 g oral glucose tolerance test, latent skeletal muscle loss and visceral fat obesity showed the highest insulin resistance.

	Low ASM/weight and VFA ≥ 100 cm^2							
Group No.	1	2	3	4				
Variable	ASM/Wt Q2-4 & obesity（−）（n = 440）	ASM/Wt Q1 & obesity（−）（n = 83）	ASM/Wt Q2-4 & obesity（+）（n = 181）	ASM/Wt Q1 & obesity（+）（n = 99）	*P* value			
					ANCOVA	1 vs 4	2 vs 4	3 vs 4
Fasting glucose（mg/dL）	95.0±0.9	97.5±1.7	97.7±1.1	100.8±1.4	**0.0098**	**0.0010**	0.1368	0.0785
1-h glucose（mg/dL）	148.3±2.8	148.8±5.4	151.1±3.6	161.6±4.5	0.0972	**0.0164**	0.0635	0.0614
2-h glucose（mg/dL）	127.5±2.7	136.3±5.3	135.8±3.5	146.7±4.5	**0.0054**	**0.0006**	0.0508	0.1319
Fasting insulin（μIU/mL）	4.8±0.3	5.6±0.5	7.0±0.4	9.4±0.4	$\mathbf{3.00 \times 10^{-14}}$	$\mathbf{5.61 \times 10^{-16}}$	$\mathbf{7.76 \times 10^{-8}}$	$\mathbf{2.01 \times 10^{-5}}$
1-h insulin（μIU/mL）	49.6±2.5	52.1±4.9	65.8±3.3	76.0±4.2	$\mathbf{3.51 \times 10^{-6}}$	$\mathbf{3.47 \times 10^{-7}}$	$\mathbf{1.98 \times 10^{-4}}$	$\mathbf{6.12 \times 10^{-4}}$
2-h insulin（μIU/mL）	45.9±2.2	49.9±4.3	62.5±2.8	75.2±3.6	$\mathbf{1.18 \times 10^{-9}}$	$\mathbf{6.78 \times 10^{-11}}$	$\mathbf{5.24 \times 10^{-6}}$	$\mathbf{4.56 \times 10^{-5}}$

Subjects were divided into 4 groups: group 1, VFA < 100 cm^2 and ASM/Wt Q2-4; group 2, VFA < 100 cm^2 and ASM/Wt Q1; group 3, VFA ≥ 100 cm^2 and ASM/Wt Q2-4; and group 4, VFA ≥ 100 cm^2 and ASM/Wt Q1.
Mean ± standard error（SE）. ANCOVA involving blood glucose and insulin as dependent variables, and age and sex as independent variables were performed using Tukey's honestly significant difference（HSD）test as post-hoc analyses.
ASM; appendicular skeletal muscle mass, VFA; visceral fat area.

B．階層的クラスター解析による高リスク群の同定

データ駆動型のアプローチであるクラスター解析により、参加者を 5 つのクラスターに分類したところ、「クラスター 2」が最も高いリスクを示した（図 3）。このクラスターは、低筋肉量、内臓脂肪型肥満、および高いインスリン抵抗性を特徴としていた。注目すべき点として、このクラスター 2 に属する G-A ハプロタイプ保有者は、他のハプロタイプ保有者と比較して、追跡期間中にインスリン抵抗性が更に顕著に増悪することが確認された。

C．RNA-seq によるマイトファジー関連遺伝子の発現変化

G-A ハプロタイプがインスリン抵抗性を悪化させる分子機序を探索するため、RNA-seq 解析を実施した。これに基づく pathway 解析の結果、G-A ホモ接合体では C-G ハプロタイプホモ接合体と比較して、細胞内の不要なミトコンドリアを分解・除去するプロセスであるマイトファジー（Mitophagy）に関連する遺伝子群の発現が有意に変動していることが明らかとなった（表 2）。

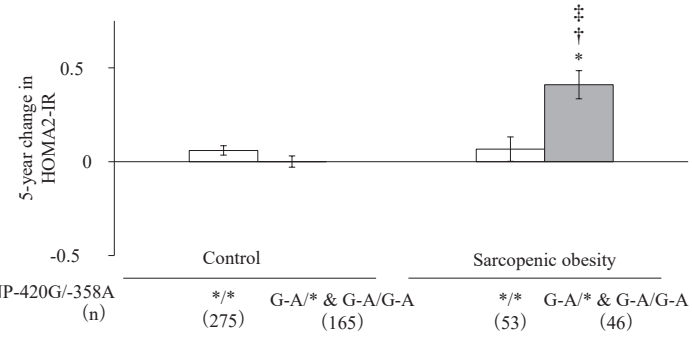

図２．サルコペニア肥満かつ G-A ハプロタイプは5年間で最もインスリン抵抗性が増悪した

Fig.2. The increase in insulin resistance was highest when low ASM/Wt and visceral fat obesity were accompanied by the G-A haplotype over a five-year period.

The increase in insulin resistance was highest when the G-A haplotype was accompanied by low ASM/Wt and visceral obesity over a 5-year period. Glucose metabolism was evaluated at baseline and 5-year follow-up, and body composition was assessed at 5-year follow-up. Data are expressed as mean ± standard error of the mean（SEM）. Tukey's honestly significant difference（HSD）test: *, vs control with */*, $P < 0.0001$; †, vs control with G-A/* and G-A/G-A, $P < 0.0001$; ‡, vs sarcopenic obesity with */*, $P < 0.05$.

SNP; single nucleotide polymorphism, HOMA2-IR; homeostasis model assessment 2-insulin resistance. ASM; appendicular skeletal muscle mass.

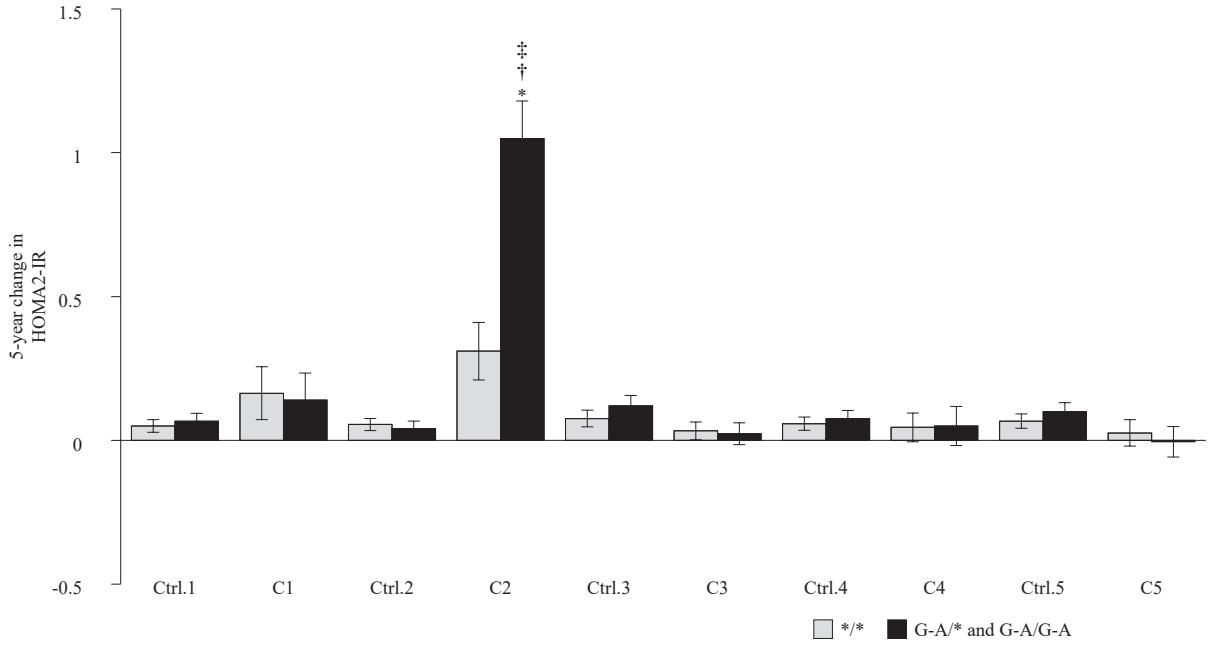

図3．クラスター2かつ G-A ハプロタイプは5年間で最もインスリン抵抗性が増悪した

Fig.3. Cluster 2, characterized by latent skeletal muscle loss, visceral fat obesity, and insulin resistance, with the G-A haplotype, demonstrated the equivalent deterioration in insulin resistance over a 5-year period.

Cluster 2, characterized by latent skeletal muscle loss, visceral obesity and insulin resistance, with the G-A haplotype, demonstrated deterioration in insulin resistance over a 5-year period. Ctrl（control）denotes four clusters, excluding those located on the right side of number of clusters（e.g. Ctrl.1 includes clusters 2–5）. ANCOVA, $P = 9.41 \times 10{-}14$. Tukey's honestly significant difference（HSD）test for post hoc analyses: * $P < 0.001$ vs Ctrl.2 with */*; $^{\dagger}P < 0.001$ vs Ctrl.2 with G-A/* and G-A/G-A; $^{\ddagger}P < 0.001$ vs C2 with */*.

HOMA2-IR; homeostasis model assessment 2-insulin resistance.

考　　察

本研究により、G-A ハプロタイプという「遺伝因子」に、潜在的サルコペニア肥満という「時間的・環境的因子」が加わることで、将来のインスリン抵抗性が顕著に増悪することが縦断的に示された。これまでの知見では、SNP-420単独では必ずしもインスリン抵抗性と直接相関しないことが報告されていたが[5]、本研究の結果はこの乖離を埋めるものである。すなわち、高レジスチン血症を規定する遺伝子型が病態として顕在化するためには、加齢等に伴う筋肉量低下や内臓脂肪蓄積と

表２．Pathway 解析の結果、G-A ハプロタイプで発現変化していた上位5つの経路
Table 2. Top 5 pathways in pathway analysis and altered expression of mitophagy-related genes in whole blood cells from G-A homozygotes compared to C-G homozygotes.

Pathway	*P* value	Involved genes
Mitophagy	2.7×10^{-4}	*BNIP3L, GABARAPL2, PGAM5, PRAS2, TBK1, ATG9A, FIS1, FOXO3, MFN1, UBA52*
Ubiquitin mediated proteolysis	3.4×10^{-3}	*ANAPC1, ANAPC11, ANAPC15, BIRC3, CDC34, CUL7, ELOB, KEAP1, RBX1, UBA52, UBA7, UBE3B*
Glycosylphosphatidylinositol – anchor biosynthesis	6.9×10^{-3}	*DPM2, PIGG, PIGO, PIGU, PIGX*
Nucleotide excision repair	0.011	*POLE2, ERCC4, MNAT1, POLR2D, XPA, GTF2H3, RBX1*
Autophagy	0.026	*GABARAPL2, PRAS2, RB1CC1, PRAGB, TBK1, TSC2, ATG9a, CTSB, PIK3CB, STK11, UBA52*

Pathway analysis was performed by comparing homozygotes of the G-A haplotype defined by resistin SNP-420 and SNP-358 with those of the C-G haplotype using DAVID, a tool for providing functional interpretation of large lists of genes derived functional interpretation. SNP; single nucleotide polymorphism, DAVID; database for annotation, visualization and integrated discovery.

いった身体組成の変化が必要条件となることが示唆された。

更に、全血細胞を用いた解析から、G-A ハプロタイプ保有者におけるマイトファジー関連遺伝子の発現変化が判明したことは極めて重要である。レジスチンは TLR 4 受容体を介して炎症反応やオートファジー抑制に関与することが他研究でも示唆されており[2)]、本研究の結果は、ミトコンドリア機能不全がサルコペニア肥満における糖尿病発症の分子メカニズムの鍵であることを示している。今後は、これらのマイトファジー関連遺伝子の変動がどの細胞種で主に生じているか、また介入によって回復可能かについての追加解析が必要である。

臨床的な意義として、遺伝子型（SNP-420/-358）と簡易的な身体組成測定（ASM/Wt 比，内臓脂肪スコア）を組み合わせることで、将来の糖尿病発症リスクが極めて高い集団を早期に「予備群」として抽出できることが示された。これは、画一的な予防法ではなく、個人の遺伝的背景に基づいた「精密医療（precision medicine）」を生活習慣病領域で実現するための重要なステップとなる。

本研究では、地域一般住民における将来のインスリン抵抗性増悪をきたすサルコペニア肥満に類似したクラスターを同定できた。一方で、このクラスターがインスリン抵抗性増悪をきたす分子メカニズムについては、追加解析によって解明する必要がある。

総　　括

本研究を通じて、２型糖尿病感受性遺伝子であるレジスチン G-A ハプロタイプに基づく遺伝子・環境因子の相互作用を背景とした、サルコペニア肥満・インスリン抵抗性増悪のメカニズムを解明した。特に、潜在的な段階でのスクリーニングが重要であることを強調したい。今後は本知見に基づき、特定のハプロタイプ保有者に対する運動療法や栄養介入の効果を検証し、サルコペニア肥満および２型糖尿病の個別化予防戦略の高精度化を目指していく。

謝　　辞

本研究にあたり寛大な援助をして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御礼申し上げます。研究遂行にご尽力いただいた愛媛大学大学院医学系研究科糖尿病・分子遺伝学講座の医局員一同にも深く感謝いたします。また、東温ゲノムスタディのスタッフ、特に健診のサポートおよび本研究への技術的支援をいただいた方々にも心より感謝申し上げます。

参 考 文 献

1）Ikeda Y, et al.（2023）: Resistin G-A haplotype at SNP-420/-358 is associated with the latent sarcopenic obesity index in the toon genome study. J Diabetes Investig, **14**（5）, 686-694.

2）Miao J, et al.（2018）: Resistin inhibits neuronal autophagy through Toll-like receptor 4. J Endocrinol, **238**（1）, 77-89.

3）Onuma H, et al.（2010）: A at single nucleotide polymorphism-358 is required for G at -420 to confer the highest plasma resistin in the general Japanese population. PLoS One, **5**（3）, e9718.

4) Osawa H, et al. (2004): The G/G genotype of a resistin single-nucleotide polymorphism at -420 increases type 2 diabetes mellitus susceptibility by inducing promoter activity through specific binding of Sp1/3. Am J Hum Genet, **75**(4), 678-686.

5) Osawa H, et al. (2007): Plasma resistin, associated with single nucleotide polymorphism -420, is correlated with insulin resistance, lower HDL cholesterol, and high-sensitivity C-reactive protein in the Japanese general population. Diabetes Care, **30**(6), 1501-1506.

第 39 回若手研究者のための健康科学研究助成成果報告書
2023 年度 *pp*.24～29（2026.6）

不活動がもたらす不安・記憶障害における過酸化脂質制御の役割解明

江 島 弘 晃* 冨 賀 裕 貴**

LIPID PEROXIDATION AS A KEY MEDIATOR OF ANXIETY AND COGNITIVE DYSFUNCTION INDUCED BY PHYSICAL INACTIVITY

Hiroaki Eshima and Yuki Tomiga

Key words: lipid peroxidation, anxiety, memory impairment, physical inactivity, small cage.

緒　　言

日本を含む先進国では、過食および社会環境の変化に起因する身体活動量の低下（身体不活動）が公衆衛生上の課題となっている。特に、慢性的な身体不活動の状態は、全死亡率を約30％増加させ、40秒ごとに 1 人の死亡に相当すると考えられている[3)]。この背景には、身体不活動が 2 型糖尿病や心血管疾患をはじめとする慢性疾患リスクの悪化のみならず[1)]、抑うつ症状、不安および記憶障害の発症とも関連している[4)]。このように、身体不活動は世界規模で進行する深刻な健康被害の 1 つである一方で、どのような機序を介して全身性の臓器・組織障害、特に脳機能への障害が引き起こされるのかは不明である。

酸化ストレスは、アルツハイマー病をはじめとする神経変性疾患において顕著に認められることが広く知られている。脳は多価不飽和脂肪酸（polyunsaturated fatty acids; PUFAs）を豊富に含む脂質に富んだ臓器であることから、過酸化脂質が酸化ストレスの主要な発生要因である可能性が高い。実際に、過酸化脂質はアルツハイマー病の発症初期段階に関与する重要な病態機序の 1 つであると考えられている[6)]。また、2012年に同定されたフェロトーシスは、遺伝学的、形態学的および生化学的特徴においてアポトーシスとは異なる新規の細胞死機構であり、その発生機序として過酸化脂質が中心的役割を担う。これまでに、腎尿細管細胞障害、T リンパ球障害、肝細胞機能異常、更には海馬神経変性など、さまざまな病態においてフェロトーシスの関与が報告されているが[10)]、身体不活動が脳機能に及ぼす影響において、過酸化脂質およびフェロトーシスが関与するか否かについては、依然として明らかにされていない。

これまで、身体不活動を再現する実験モデルとして、ヒトを対象としたベッドレスト試験や、実験動物を用いた後肢懸垂モデル、ギプス固定モデルなどが広く用いられてきた。これらのモデルは、筋量および筋力の低下、ならびにインスリン感受性の低下といった骨格筋の廃用性変化を解析するうえでは有用である。一方で、ヒトにおいて観察される身体不活動に起因した全身性の代謝適応や

*　長崎国際大学人間社会学部　Faculty of Human and Social Sciences, Nagasaki International University, Nagasaki, Japan.
**　福岡大学スポーツ科学部　Faculty of Sports and Health Science, Fukuoka University, Fukuoka, Japan.

生体反応を十分に反映するものとしては限界があると指摘されている[7]。このような方法論的課題に対処するため、近年では骨格筋局所の変化にとどまらず、全身性の代謝調節をより包括的に反映可能な新規の不活動モデルとして、小型マウスケージ（small mouse cage; SMC）モデルが注目されている[9]。

SMC モデルを用いた先行研究において、Park らは、SMC による身体不活動が不安様行動の増加および作業記憶の低下を引き起こすことを報告している[5]。一方、Roemers らは、SMC による身体不活動は不安様行動に影響を及ぼさないと報告している[8]。このように、SMC モデルにおける脳機能への影響は、不安様行動の増加と作業記憶が低下するということに一致した見解は得られていない。以上を踏まえ、本研究では、実験動物を対象として SMC による身体不活動の慢性化が情動および記憶機能などの脳機能に及ぼす影響を詳細に解明することを目的とし、運動介入を用いた検討に加え、先行研究では十分に検証されていない雌雄差の影響にも着目した。更に、不活動が脳機能に影響を及ぼす基盤機構として過酸化脂質およびフェロトーシスの関与を仮定し、脳内過酸化脂質の評価ならびにフェロトーシス阻害剤を用いた検討を行うことを目的とした。

方　　法

A．実験動物

本研究には、4 か月齢の C57BL/ 6 J マウス（日本 SLC 株式会社，日本）を用いた。また、生物学的変数としての性別を考慮し、雄性と雌性の両方を用いて実験を実施した。なお本研究は、長崎国際大学動物実験委員会の承認を得て行われた（承認番号：157および170）。

B．不活動モデル（SMC）

高16 cm、縦 6 cm、横 9 cm の飼育面積を制限した SMC と高12 cm、縦14 cm、横20 cm の通常のマウス用飼育ゲージと区分し、 8 週間の介入を実施した。SMC モデルを SMC+、通常のマウス用飼育ゲージで飼育したマウス（コントロール）を SMC- と定義した。

C．運動モデル（Ex）

回転式運動量測定器（SN-450-A，シナノ製作所，日本）を用いた自発走行の運動を促す環境下で 8 週間飼育する運動モデルを作製した。運動モデルを Ex+、通常のマウス用飼育ゲージで飼育したマウス（コントロール）を Ex- と定義した。なお、上記の SMC- のマウスと別個体のマウスを Ex- では用いた。

D．オープンフィールドテスト

40 cm × 40 cm のフィールド上で 5 分間、マウスの行動を追跡した。中心領域に位置する四方に侵入回数、滞在時間、移動距離を分析した。中心領域に位置する四方に滞在するほど不安様行動が低く、滞在しないほど不安様行動が高いと評価した。SMART3.0ビデオ画像行動解析装置（バイオリサーチセンター株式会社，日本）を用いて分析した。

E．高架式十字迷路

上下のオープンアーム（開空間）と左右のクローズアーム（閉空間）で設置された装置を用いて、5 分間、マウスの侵入回数、滞在時間、移動距離を追跡した。マウスが開空間に滞在するほど不安様行動が低く、閉空間に滞在するほど不安様行動が高いと評価した。オープンフィールドテスト同様に、SMART3.0ビデオ画像行動解析装置を用いて分析した。

F．Y 字迷路試験

Y 字型の装置を用いて、 8 分間、マウスの自由移動を追跡し、アームへの進入回数を記録した。異なるアームへの侵入回数を総侵入回数で除算することで、短期記憶能を評価した。

G．過酸化脂質の評価

SMC 介入後のマウスの海馬、大脳皮質から上清を採取し、マイクロプレートリーダー（Infinite M Plex，TECAN，Austria）を用いて、脂質ラジカル由来、過酸化脂質由来に反応して発光する Bodipy C11、Liperfluo の蛍光指示薬による蛍光強度を測定した。Bodipy C11は非酸化型・酸化型に由来する赤色蛍光ならびに緑色蛍光の蛍光比、Liperfluo は緑色蛍光の単波長の蛍光強度から SMC- との相対値で評価した。

H．統計処理

データを平均値 ± 標準誤差で示し、統計解析には Prism version 10を用いた。解析上、データの分布の正規性を確認し、対応のない t 検定で SMC- および SMC+ の比較、Ex- および Ex+ の比較をそれぞれ実施した。統計的有意性は $P < 0.05$ と定義した。

結　　果

A．オープンフィールドテストによる不安情動の検証

オープンフィールドテストでは、雌雄ともに試験中の総移動距離は同等であった（図 1 A，F）。雄では、中心領域に移動した時間に差はないものの、移動距離では SMC+ が SMC- と比較して有意に低値を示した（図 1 B，C）。また、中心領域に侵入した相対値に差はないものの、侵入回数では SMC+ が SMC- と比較して有意に低値を示した（図 1 D，E）。雌では、中心領域に移動した距離に差はないものの、滞在時間では SMC+ が SMC- と比較して有意に低値を示した（図 1 G，H）。中心領域に侵入した侵入回数、相対値は SMC+ が SMC- と比較して有意に低値を示した（図 1 I，J）。以上の結果から、SMC による不活動は、雌雄ともにオープンフィールドテストによる不安水準が高まる可能性が示唆された。

B．Y 字型迷路試験短期間の認知記憶能の検証

次に、空間認知における記憶機能の不活動の影響を雌雄間で検証した。その結果、Y 字型迷路試験においては、雌雄ともに SMC+ と SMC- に空間認知正答率に差はみられなかった（図 2 A，B）。したがって、SMC は、Y 字型迷路試験による短期間の認知記憶能に影響を及ぼさない可能性が示唆された。

C．高架式十字迷路試験による不安情動の検証

不安情動の検証として、オープンフィールドテスト上では、雌雄ともに不活動の影響がみられたため、次に実験条件を変更し、雄性を対象に高架式十字迷路試験を実施した。その結果、SMC+ は SMC- と比較して、開空間への侵入回数が有意に低かった（図 3 A）。そのため、開空間の滞在時間も SMC+ は SMC- と比較して、有意に低くかった（図 3 B）。開空間への侵入回数、滞在時間の結果と対応して、閉空間の侵入回数に SMC+ と SMC- に差はなく（図 3 C）、滞在時間は、SMC+ が SMC- と比較して、有意に高かった（図 3 D）。

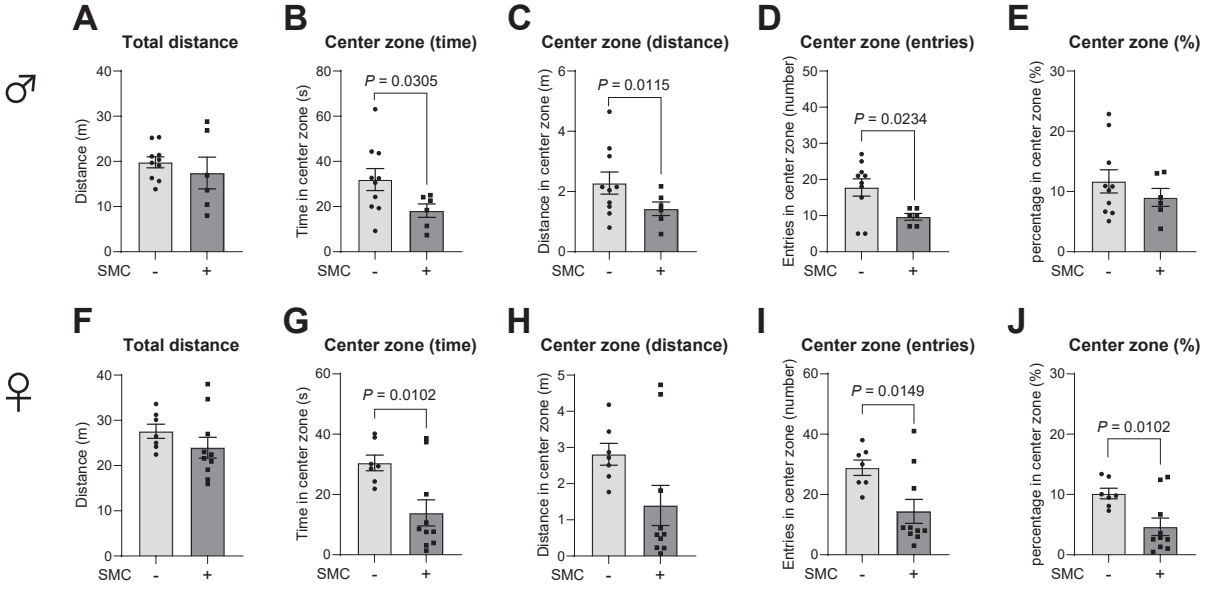

図 1．雌雄ともに SMC はオープンフィールドテストにおける不安様行動が高まる

Fig.1. Effects of small mouse cage（SMC）on anxiety and depression-like behavior using the open-field test.
Total distance traveled（A and F）, time spent（B and G）, distance（C and H）, entries（D and I）, and percentage of time spent（E and J）in the center zone in the open-field test. Data are from male（A-E）and female mice（F-J）. Data are expressed as mean ± standard error of the mean（SEM）. All data were analyzed by unpaired t-test, Male: n = 10 mice for SMC - group, n = 6 mice for SMC + group, Female: n = 7 mice for SMC - group, n = 10 mice for SMC + group.

このことから、オープンフィールドテスト同様に、高架式十字迷路試験の結果からも SMC による不活動は不安水準が高まる可能性が示唆された。

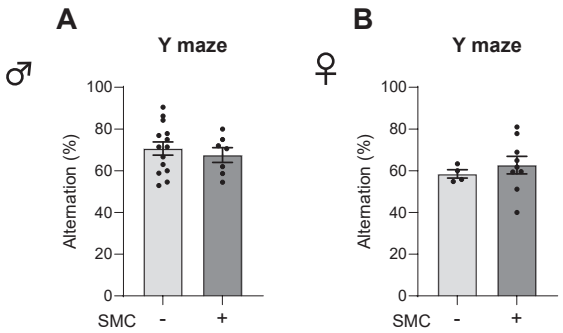

図 2．SMC は Y 字迷路試験による短期の作業記憶能に影響を及ぼさない

Fig.2. Effects of small mouse cage（SMC）on cognitive function.

Percentage of spontaneous alternations in the Y-maze test from male（A）and female mice（B）. Data are expressed as mean ± standard error of the mean（SEM）. All data were analyzed by unpaired t-test, Male: n = 14 mice for SMC - group, n = 7 mice for SMC + group, Female: n = 4 mice for SMC - group, n = 9 mice for SMC + group.

D．習慣的な運動トレーニングによる不安情動の変化の検証

次に、不活動と対照的な身体活動量を高めた運動トレーニングが不安情動を変化させるか否か検証した。当初、運動トレーニング後の不活動を実施したモデルの検討を予定していたが、まずは運動トレーニングそのものの影響を確認した。その結果、Ex+ および Ex- では試験中の総移動距離（図４A）、中心領域に移動した時間（図４B）、移動距離（図４C）、侵入した回数（図４D）、相対値（図４E）いずれにおいても差はなかった。以上の結果から、回転式運動量測定器を用いた自発走行による習慣的な運動トレーニングは、オープンフィールドテストによる不安水準に影響を与えないことが示唆された。

E．海馬、大脳皮質における過酸化脂質の検証

過酸化脂質の関連性を検証するために、雄性マウスの海馬、大脳皮質から、過酸化脂質に反応して発光する Bodipy C11、Liperfluo の蛍光強度比

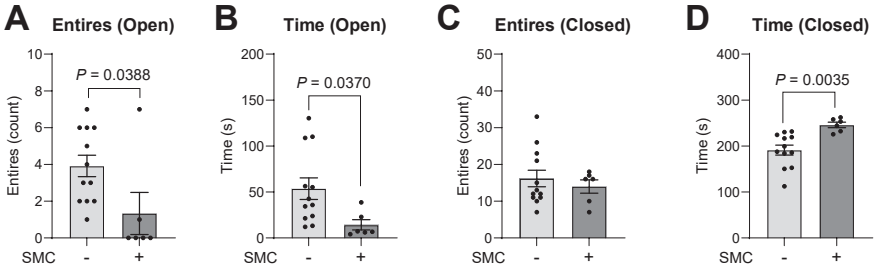

図 3．SMC は高架式十字迷路における不安様行動が高まる

Fig.3. Effects of small mouse cage（SMC）on anxiety and depression-like behavior using the elevated plus maze.

Number of open arm entries（A）and time spent（B）. Number of closed arm entries（C）and time spent（D）. Data are expressed as mean ± standard error of the mean（SEM）. All data were analyzed using an unpaired t-test, and all experiments were conducted in male mice. n = 12 mice for SMC - group, n = 6 mice for SMC + group.

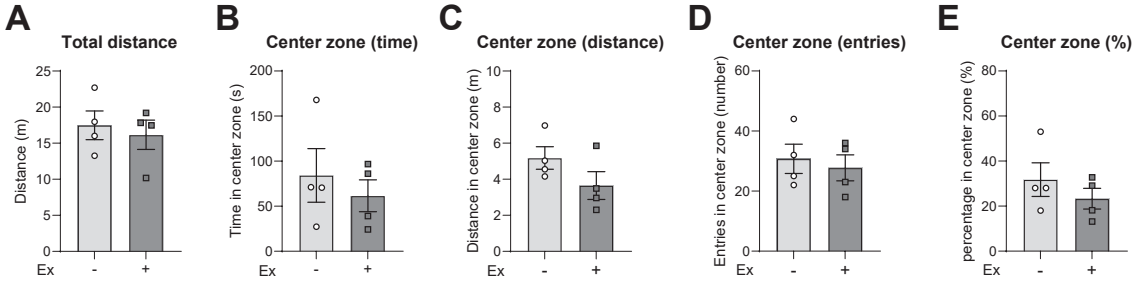

図 4．Ex はオープンフィールドテストにおける不安様行動に影響を及ぼさない

Fig.4. Effects of exercise（Ex）on anxiety and depression-like behavior using the open-field test.

Total distance traveled（A）, time spent（B）, distance（C）, entries（D）, and percentage of time spent（E）in the center zone in the open-field test. Data are expressed as mean ± standard error of the mean（SEM）. All data were analyzed by unpaired t-test, n = 4 mice for Ex - group, n = 4 mice for Ex + group.

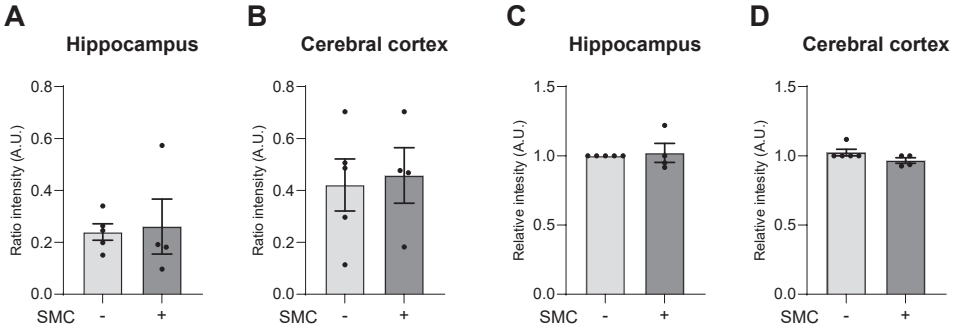

図 5．SMC の海馬、大脳皮質の過酸化脂質は差を認めない

Fig.5. Effects of small mouse cage（SMC）on lipid peroxidation in brain tissue.

Bodipy C11 fluorescence intensity in the hippocampus（A）and cerebral cortex（B）. Liperfluo fluorescence intensity in the hippocampus（C）and cerebral cortex（D）. Data are expressed as mean ± standard error of the mean（SEM）.

を比較した。その結果、SMC- と SMC+ では、海馬、大脳皮質における Bodipy C11、Liperfluo の蛍光強度は有意な差は観察されなかった（図 5 A-D）。

考　　察

本研究では、身体不活動が不安様行動および記憶機能に及ぼす影響を、脳部位における過酸化脂質制御の観点から検討した。その結果、不活動は記憶機能の変化とは非依存的に不安様行動を亢進させる可能性が示唆された。一方で、本研究で用いた評価系においては、過酸化脂質との関連を明確に示す証拠は得られなかった。

オープンフィールドテストにおいて、先行研究と同様に不活動群は中央領域での滞在時間および侵入回数の有意な減少を示した一方で、総移動距離には大きな差が認められなかった[5)]。この結果は、不活動による行動変化が単なる運動能力の低下ではなく、不安水準の上昇に起因するものであることを示している。同様に、高架式十字迷路試験においても、不活動群はオープンアーム（開空間）への進入回数および滞在時間の減少が観察され、不安様行動が一貫して示された。

一方、記憶機能の評価では、Y 字型迷路試験上では、不活動群は空間認知正答率に変化は認められなかった。このことから、短期間の課題における空間認知記憶能は不活動が影響しない可能性が示唆された。本研究で用いた Y 字型迷路試験は、短期記憶の評価に適していることから、長期記憶を評価する実験系を用いた検討は今後の課題である。

また、本研究において、身体不活動とは対照的な介入である運動トレーニングは、不安様行動に必ずしも影響を及ぼさないことが確認された。身体不活動および運動トレーニングに関する介入研究は、実験動物を用いた場合においても再現性の確保が必ずしも容易ではなく、十分なデータの蓄積が求められる。しかしながら、時間的制約のため、本研究期間内にその達成には至らなかった。当初の研究計画では、運動トレーニング後に身体不活動を負荷したモデルの作製を予定していたが、その前段階として運動トレーニング単独の影響を検討した結果、不安様行動への有意な影響は認められなかった。今後は、当初計画していた運動トレーニング後の身体不活動モデルを作製し、不安様行動に及ぼす影響について詳細に検証する予定である。

過酸化脂質は PUFA を豊富に含む神経細胞膜において生成されやすく、脳においては膜流動性の低下、受容体機能の異常、シナプス可塑性の障害を引き起こすことが知られている[6)]。身体不活動の状態では、ミトコンドリア機能の低下や抗酸化酵素活性の減弱により過酸化脂質の蓄積が促進される可能性が高く、その結果、海馬や前頭前皮質など記憶および情動制御に関与する脳領域において神経回路の機能破綻が生じ、不安様行動や記憶障害が顕在化する可能性が考えられる。過酸化脂質の過剰蓄積は鉄依存的細胞死であるフェロトーシスを誘導し、神経細胞の機能的・構造的損傷を引き起こす可能性が示唆されている[2)]。当初、不

活動が脳内のフェロトーシスを発生させ、不安様行動や記憶障害の原因と仮説を立てていたが、本研究の評価系ではフェロトーシスの関与は見いだすことはできなかった。フェロトーシスの主要因である過酸化脂質反応は即時的に進行しやすく、加えてその測定は対象や条件が限定され、定量的評価が困難であることがこれまで指摘されている。したがって、今後は過酸化脂質の下流産物であるアルデヒド類の測定を含め、Glutathione peroxidase 4やAcyl-CoA Synthetase Long Chain Family Member 4、Lysophosphatidylcholine acyltransferase 3などのフェロトーシス関連遺伝子の解析を実施することで、より適切な評価指標および実験条件について検討することが課題である。実験動物の生命倫理に十分配慮し、これらの課題を達成したうえで、今後は阻害剤を用いた *in vivo* における検証を実施する予定である。

以上より、不活動による不安様行動および記憶機能障害には、過酸化脂質の制御破綻を基盤とした酸化ストレスの関与を想定したが、本研究では仮説と必ずしも一致しない結果が得られた。今後は、炎症反応をはじめとする他の主要な分子機構について検討するとともに、過酸化脂質の時空間的変化や細胞種特異的影響を詳細に解析する必要があると考えられる。これらの検討を通じて、不活動が脳機能に及ぼす影響について、より包括的な理解が進むことが期待される。また、当初、研究計画で予定していたフェロトーシスの阻害剤投与および運動介入が不活動の抑制効果を担うのかの検証は達成できておらず、これらの因果検証を実施することで研究の発展が見込まれる。

総　　括

本研究では、実験動物を用いた活動制限による慢性的な不活動が、短期的な作業記憶機能の変化に影響せずに不安様行動の水準を高める現象が雌雄ともに生じることを明らかにした。今後、研究計画で想定した慢性的な不活動に伴う脳機能変化におけるフェロトーシスの因果検証および介入効果の検証を実施することが本研究の課題である。

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申し上げます。また、本実験の遂行にあたり、ご協力いただきました長崎国際大学薬学部細胞生物学研究室の黒川健児教授、石原知明講師に感謝申し上げます。

参 考 文 献

1）Bowden Davies KA, et al.（2018）: Short-term decreased physical activity with increased sedentary behaviour causes metabolic derangements and altered body composition: effects in individuals with and without a first-degree relative with type 2 diabetes. Diabetologia, **61**, 1282-1294.
2）Hambright WS, et al.（2017）: Ablation of ferroptosis regulator glutathione peroxidase 4 in forebrain neurons promotes cognitive impairment and neurodegeneration. Redox Biol, **12**, 8-17.
3）Lee IM, et al.（2012）: Effect of physical inactivity on major non-communicable diseases worldwide: an analysis of burden of disease and life expectancy. Lancet. **380**, 219-229.
4）Loprinzi PD, et al.（2015）: Exercise and cognitive function: a randomized controlled trial examining acute exercise and free-living physical activity and sedentary effects. Mayo Clin Proc, **90**, 450-460.
5）Park J, et al.（2022）: Exercise hormone irisin prevents physical inactivity-induced cognitive decline in mice. Behav Brain Res, **433**, 114008.
6）Praticó D, et al.（2004）: Lipid peroxidation and oxidative imbalance: early functional events in Alzheimer's disease. J Alzheimers Dis, **6**, 171-175.
7）Reidy PT, et al.（2021）: Preclinical rodent models of physical inactivity-induced muscle insulin resistance: challenges and solutions. J Appl Physiol, **130**, 537-544.
8）Roemers P, et al.（2019）: Inducing physical inactivity in mice: preventing climbing and reducing cage size negatively affect physical fitness and body composition. Front Behav Neurosci, **13**, 221.
9）Siripoksup P, et al.（2024）: Sedentary behavior in mice induces metabolic inflexibility by suppressing skeletal muscle pyruvate metabolism. J Clin Invest, **134**, e167371.
10）Stockwell BR（2022）: Ferroptosis turns 10: emerging mechanisms, physiological functions, and therapeutic applications. Cell, **185**, 2401-2421.

第 39 回若手研究者のための健康科学研究助成成果報告書
2023 年度 *pp.*30〜37（2026.6）

運動マウス由来の血漿投与は、筋萎縮モデルマウスの筋量や筋機能を改善するか？
―筋萎縮抑制効果をもつエクサカインの探索と、血液伝播を介した運動による筋萎縮抑制効果の検証―

大藪　葵*　吉岡潔志**　亀井康富*

DOES ADMINISTRATION OF PLASMA FROM EXERCISE-TRAINED MICE IMPROVE MUSCLE MASS AND FUNCTION IN MUSCLE ATROPHY MODEL MICE ?: IDENTIFICATION OF EXERKINE THAT PREVENTS MUSCLE ATROPHY AND VERIFICATION OF SUPPRESSIVE EFFECT OF EXERCISE AGAINST MUSCLE ATROPHY VIA BLOOD TRANSMISSION

Mamoru Oyabu, Kiyoshi Yoshioka, and Yasutomi Kamei

Key words: exercise, exerkine, skeletal muscle, muscle atrophy, plasma.

緒　　言

近年、若齢マウスやヒトの血漿投与が老齢マウスの認知機能を改善すること[1,5,8]や、運動した老齢マウスの血漿投与によって老齢マウスの認知機能が改善すること[2,4]が報告され、血液伝播を介した健康効果の伝達が注目されている。運動はさまざまな臓器を刺激し、多種多様な生理活性物質（マイオカイン, ヘパトカイン, オステオカイン等）の分泌を促すことで全身的な健康増進に寄与する。

加齢に伴う筋量・筋機能の低下（サルコペニア）や疾患に付随した筋萎縮は、日常生活動作や生活の質を低下させるだけでなく寿命にも影響を及ぼす。本研究では、これら運動誘発性の生理活性因子の総称である「エクサカイン（exerkines）」に着目し、運動マウス由来の血漿中に含まれる筋萎縮抑制因子を特定すること、および最終的に「運動マウス由来の血漿投与が、個体レベル（in vivo）において筋萎縮モデルマウスの筋量や筋機能を改善するか」を実証することを大目的としている。本成果報告では、この最終目的に向けた初期的な検証段階として、運動マウス由来の血漿におけるエクサカイン候補物質の探索結果、および運動マウス由来の血漿が筋細胞に対して直接的な萎縮抑制効果をもつかについて、細胞培養系（in vitro）を用いて解析した結果を中心に報告する。

*　京都府立大学生命環境科学研究科　Graduate School of Life and Environmental Sciences, Kyoto Prefectural University, Kyoto, Japan.
**　プロダクティブ・エイジング機構　Institute for Research on Productive Aging（IRPA）, Tokyo, Japan.

方　　法

A．アミノ酸欠乏培地を用いたC2C12筋管細胞でのデキサメタゾン添加実験

（研究計画２：運動マウス由来の血漿投与が筋萎縮モデルマウスに与える影響の解析の補助的検証）

C2C12細胞（RCB0987, RIKEN）を10% ウシ胎児血清（FBS, F9423, Sigma-Aldrich）と１% ペニシリン-ストレプトマイシンを含有したDMEM（C11995500BT, Thermo Fisher）を用いて培養した。C2C12細胞の分化誘導は、２% ウマ胎児血清（HS, 16050122, Thermo Fisher）と１% ペニシリン-ストレプトマイシンを含有したDMEMを含む分化培地でC2C12筋芽細胞を培養することにより実施した。分化誘導６日目のC2C12細胞をアミノ酸欠乏培地（D9800-13, US Biological）で１時間washし、アミノ酸欠乏培地に終濃度０，１，５，10，20，25 μM デキサメタゾン（DEX, D4902, Sigma-Aldrich）を加えた培地に交換し、24時間後に細胞回収し、qRT-PCR解析を実施した。アミノ酸欠乏培地（低グルコース，HSなし）を用いて、アミノ酸の有無によってDEXを添加した際に筋萎縮関連遺伝子の発現増加の程度をqRT-PCR解析で調べたところ、アミノ酸欠乏培地でDEXを処理することで、DEXによる筋萎縮関連遺伝子 *Atrogin1*の発現誘導が顕著になった（図１）。そこで、本研究ではアミノ酸欠乏培地を用いた条件下で、筋萎縮関連遺伝子 *Atrogin1*をマーカー遺伝子として運動マウス由来の血漿による筋萎縮抑制効果を評価した。

B．C2C12細胞と骨格筋組織におけるqRT-PCR解析

（研究計画２：運動マウス由来の血漿投与が筋萎縮モデルマウスに与える影響の解析の補助的検証）

凍結した骨格筋組織およびC2C12筋管細胞から、TRIzolもしくはSepasol試薬を用いてRNAを回収した。骨格筋組織はTissue Lyser Ⅱ（Qiagen）を用いて30 Hzで１サイクル３分間（３サイクル以上）ホモジナイズした。cDNAはReverTra Ace qPCR RT Master Mix with gDNA Remover（Toyobo）を用いて合成した。mRNA発現レベルは、Thunderbird Next SYBR qPCR Mix（Toyobo）を用いてCFX Connect Real-Time PCR Detection System（Bio-Rad）で測定した。データ解析はΔΔCt法で行った。

C．マウスの回転かご運動と骨格筋・血漿サンプルの回収

（研究計画２：運動マウス由来の血漿投与が筋萎縮モデルマウスに与える影響の解析の補助的検証）

８か月齢のC57BL/6Jマウス（雌）を47日間、回転かごで自発運動させた。その後、ヘパリンを添加したチューブに血液を回収し、遠心分離後、血漿を凍結保存した。骨格筋を回収し、重量測定後、凍結保存した。

D．C2C12筋管細胞へのデキサメタゾンと運動マウス由来の血漿添加実験

（研究計画２：運動マウス由来の血漿投与が筋萎縮モデルマウスに与える影響の解析の補助的検証）

分化誘導７日目のC2C12筋管細胞をアミノ酸欠乏培地で培地交換し、その１時間後にアミノ酸欠乏培地に10% マウス由来の血漿と終濃度25 μM DEXを加えた培地に交換した。24時間後に細胞回収し、qRT-PCR解析を実施した。

E．ラダークライミングを用いたレジスタンストレーニングと血漿プロテオーム解析

（研究計画１：運動マウス由来の血漿における筋萎縮抑制効果をもつエクサカインの探索）

３か月齢のC57BL/6Jマウス（雄）を使用した。バーベキュー網（長さ80 cm，網目1.3 cm，傾斜80°）で作ったクライミングラダーを用いて、１か月間週２～３回のレジスタンストレーニングを実施した。初週は順化期間とし、「最大挙上重量」の50% の負荷にて１分間のインターバルで６～８ラウンドのラダークライミングを行った。２週目からは、マウスに「最大挙上重量」の70% の重量のナットを尾に付けてレジスタンストレーニングを行い、１分間のインターバルで12ラウンドのラダークライミングを実施した。登りを停止したマウスについては、尻を軽く叩いて登りを促した。登りが困難な場合は、登ることが可能な重量に減量させた。最終的なラダートレーニングの24

時間後、骨格筋を回収するとともに、血漿を凍結保存し、標準 DIA プロテオーム解析（Promega）を実施した（n = 9〜10のサンプルをプールして使用した）。

F．不活動モデルマウスを用いた骨格筋と血漿メタボローム解析（関連データ取得）

2 か月齢の C57BL/6J マウス（雄）を使用した。7 日間の片足の不動化により運動量を部分的に制限した不活動モデルマウスの骨格筋と血漿を用いて、CE-TOFMS によるメタボローム解析（Human Metabolome Technologies）を実施した[6]。血漿は 800 × g で 5 分間遠心分離することによりを分離し（EDTA 含有採血管：VP-DK051K，Terumo を使用した）、液体窒素で急速凍結後、その後の分析のために−80℃で保存した。

G．不動化・再運動時の骨格筋トランスクリプトーム解析（関連データ取得）

2 か月齢の C57BL/6J マウス（雄）を使用した。11日間の片足の不動化により運動量を部分的に制限した不活動モデルマウス、および11日間の片足の不動化後 3 日あるいは30日間の再活動により運動量を向上させた再運動マウスの骨格筋から RNA を抽出し、骨格筋のトランスクリプトーム変化を RNA-seq（Macrogen）により解析した。

H．動物実験

動物実験は京都府立大学動物実験委員会（承認番号：KPU260407，審査責任者：塚本康弘）の承認を得て実施した。実験は機関のガイドラインに従って実施した。マウスは、24℃の一定温度下で人工照明（12時間明期/12時間暗期）のもと、飼料（CE-2, CLEA）と水を自由摂取できる状態で飼育した。

結　　果

A．回転かごで自発運動させたマウスの骨格筋における筋重量と遺伝子発現変化

（研究計画 2 ：運動マウス由来の血漿投与が筋萎縮モデルマウスに与える影響の解析の補助的検証）

まず運動マウス由来の血漿を回収するために、C57BL/6J マウスを回転かごで 1 か月半飼育した。コントロールマウスには回転かごに入れていない

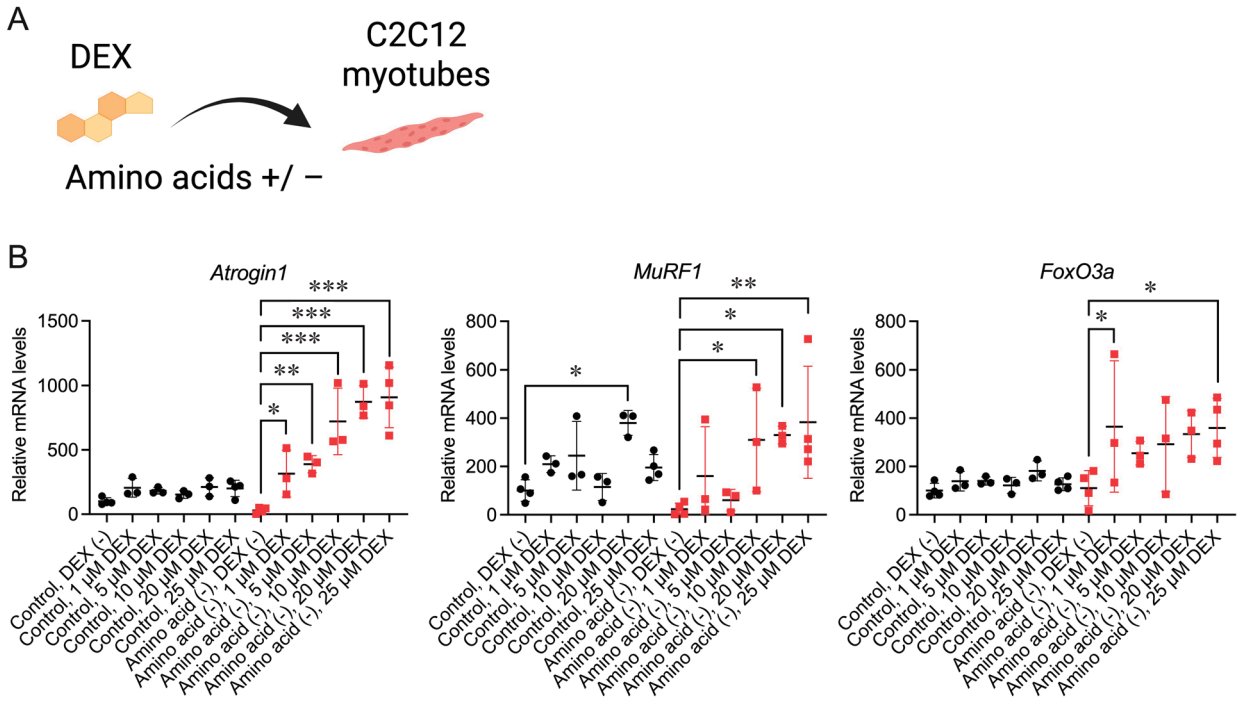

図 1．C2C12筋管細胞でのデキサメタゾン誘導性の筋萎縮関連遺伝子発現変化に及ぼすアミノ酸の影響

Fig.1. Effects of amino acids on dexamethasone-induced expression of muscle atrophy-related genes in C2C12 myotubes.

A. Experimental design（created with BioRender.com）. B. Relative mRNA expression of *Atrogin1*, *MuRF1*, and *FoxO3a* genes in C2C12 myotubes treated with dexamethasone（DEX）for 24h（n = 3-4/group）. All data indicate mean ± standard deviation（SD）. One-way ANOVA. **P* < 0.05, ***P* < 0.01, ****P* < 0.001.

同週齢のマウスを使用した。運動効果が出ているかを確認するために、骨格筋における遺伝子発現解析を実施した。先行研究より、週 5 回、 1 時間のトレッドミル運動により 1 か月間トレーニングを行ったマウスでは、定常状態での大腿四頭筋における運動応答遺伝子 *PGC1α* の発現が低下することが明らかにされている[3)]。この結果と一致して、 1 か月半回転かごで自発運動させたマウスでは、骨格筋（大腿四頭筋）における運動応答遺伝子 *PGC1α* の発現が有意に低下していた（図 2 ）。

B．デキサメタゾンおよび運動マウス由来の血漿の C2C12筋管細胞への添加実験

（研究計画 2 ：運動マウス由来の血漿投与が筋萎縮モデルマウスに与える影響の解析の補助的検証）

上記の 1 か月半の自発運動を経験したマウス由来の血漿をアミノ酸欠乏条件下で C2C12筋管細胞に添加することで、DEX 誘発性筋萎縮に対する運動マウス由来の血漿の効果について評価した。qRT-PCR 解析の結果、自発運動をさせていないコントロールマウス由来の血漿を添加した C2C12筋管細胞と比べて、運動マウス由来の血漿を添加した C2C12筋管細胞で DEX 添加による筋萎縮関連遺伝子 *Atrogin1* の発現増加に影響はみられなかった（図 3 ）。一方で、他の筋萎縮関連遺伝子である *MuRF1* の発現は運動マウス由来の血漿を添加した C2C12筋管細胞において DEX 添加による発現増加がむしろ増強されていた（図 3 ）。

C．レジスタンストレーニングマウス由来の血漿におけるプロテオーム変化

（研究計画 1 ：運動マウス由来の血漿における筋萎縮抑制効果をもつエクサカインの探索）

次に、別の運動マウスを用いて、筋萎縮抑制効果をもつエクサカインの探索における予備的なデータを得るために、若齢マウスをラダークライミングにより 1 か月間のレジスタンストレーニングを行った。このレジスタンストレーニングマウスでは、体重補正した際の骨格筋重量の増加が観察された（図 4 ）。そこで、レジスタンストレーニングマウスにおける血漿のプロテオーム解析を実施した（図 4 ）。

D．不活動モデルマウスを用いた骨格筋と血漿メタボローム変化（関連データ取得）

運動不足（不活動）によって骨格筋は萎縮する。そこで、運動不足による筋萎縮時の血液と骨格筋の代謝変化を包括的にメタボローム解析によって調べた。 7 日間の片足の不動化により運動量を部分的に制限した不活動モデルマウスの骨格筋と血漿を用いて、CE-TOFMS によるメタボローム解析を実施したところ、運動不足によって血漿で有意に減少するいくつかの代謝物を見いだすことができた（図 5 ）[6)]。

E．不動化時の骨格筋トランスクリプトーム変化（関連データ取得）

若齢マウスと老齢マウスを用いて、運動不足による筋萎縮時の骨格筋トランスクリプトーム変化

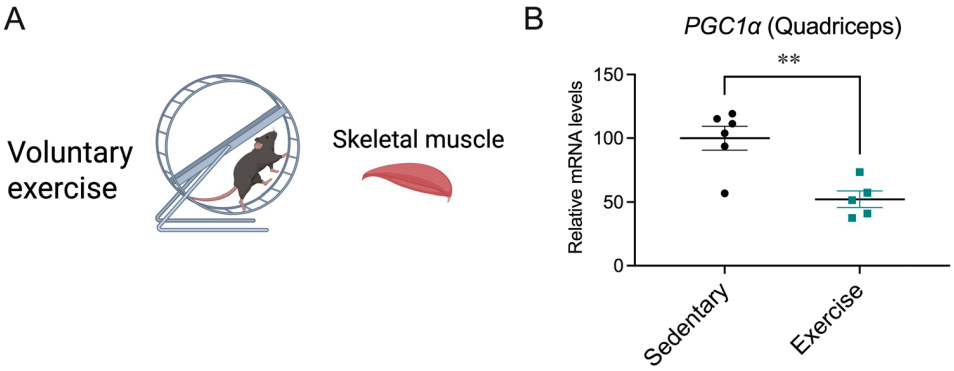

図 2 ． 回転かごで自発運動させたマウスの骨格筋における遺伝子発現変化

Fig.2. Gene expression changes in skeletal muscle of mice with spontaneous exercise in a rotating cage. A. Experimental design（created with BioRender.com）. B. Relative mRNA expression of *PGC1α* genes in skeletal muscle of exercise-trained mice（n = 5-6/group）. All data indicate mean ± standard error（SE）. Student's two-tailed unpaired t-test. $^{**}P < 0.01$.

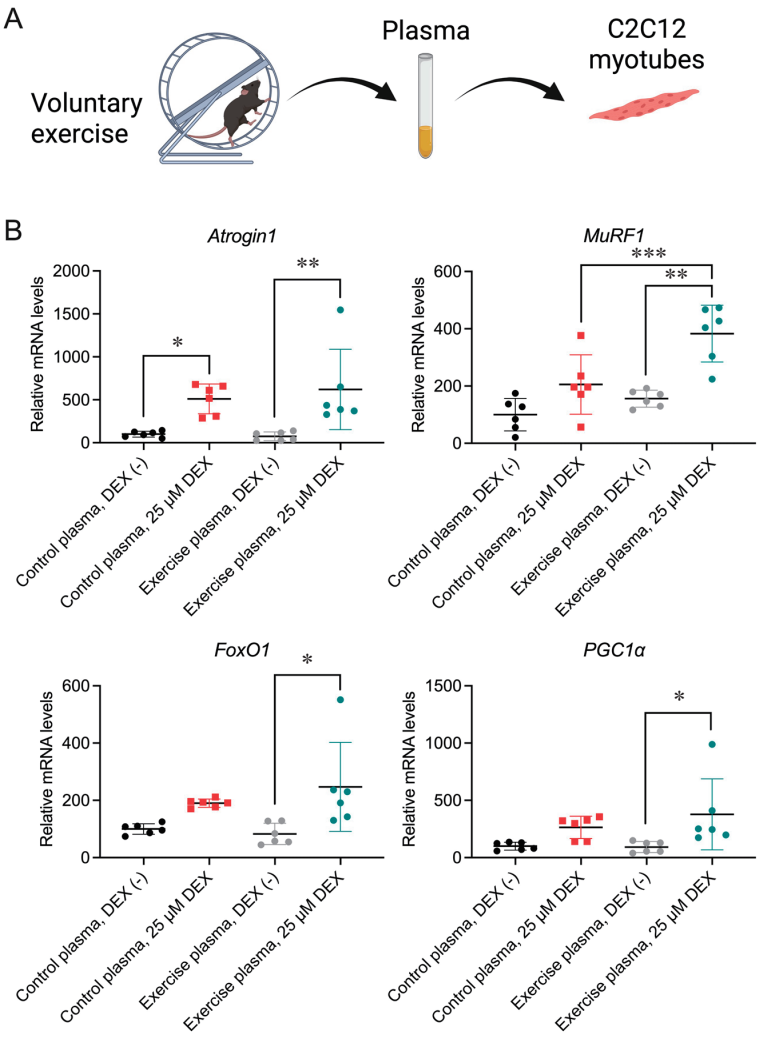

図 3．運動マウス由来の血漿による C2C12筋管細胞でのデキサメタゾン誘導性の筋萎縮関連遺伝子発現変化への影響

Fig.3. Effects of exercise-trained mouse-derived plasma on dexamethasone-induced changes in gene expression of muscle atrophy-related genes in C2C12 myotubes.
A. Experimental design（created with BioRender.com）. B. Relative mRNA expression of *Atrogin1*, *MuRF1*, *FoxO1*, and *PGC1α* genes in C2C12 myotubes treated with exercise-trained mouse-derived plasma and dexamethasone（DEX） for 24 h（n = 6/group）. All data indicate mean ± standard deviation（SD）. One-way ANOVA. **P* < 0.05, ***P* < 0.01, ****P* < 0.001.

を RNA-seq 解析により明らかにした。この解析によって、運動不足による骨格筋の遺伝子発現変化が、加齢によってどのように変化するかを明らかにできた。特に興味深いことに、不活動による筋萎縮関連遺伝子 *Atrogin1*や *MuRF1*の発現増加は老齢マウスの骨格筋ではむしろ抑制されることを見いだした（図 6 ）。

考　　察

本研究では、運動マウス由来の血漿を C2C12 筋管細胞に添加することで、DEX 誘発性筋萎縮を抑制しうるかを評価した。その結果、筋萎縮関連遺伝子である *Atrogin1*を指標とした解析では、運動マウス由来の血漿による筋萎縮抑制効果はみられなかった。一方で、他の筋萎縮関連遺伝子である *MuRF1*の発現は運動マウス由来の血漿を添加した C2C12筋管細胞において DEX 添加による発現増加がむしろ増強されていたことから、運動マウス由来の血漿は C2C12筋管細胞における DEX の感受性を増加させる可能性が示唆された。運動マウスの骨格筋では、*MuRF1*などの筋萎縮関連遺伝子の発現が増加することが報告されてお

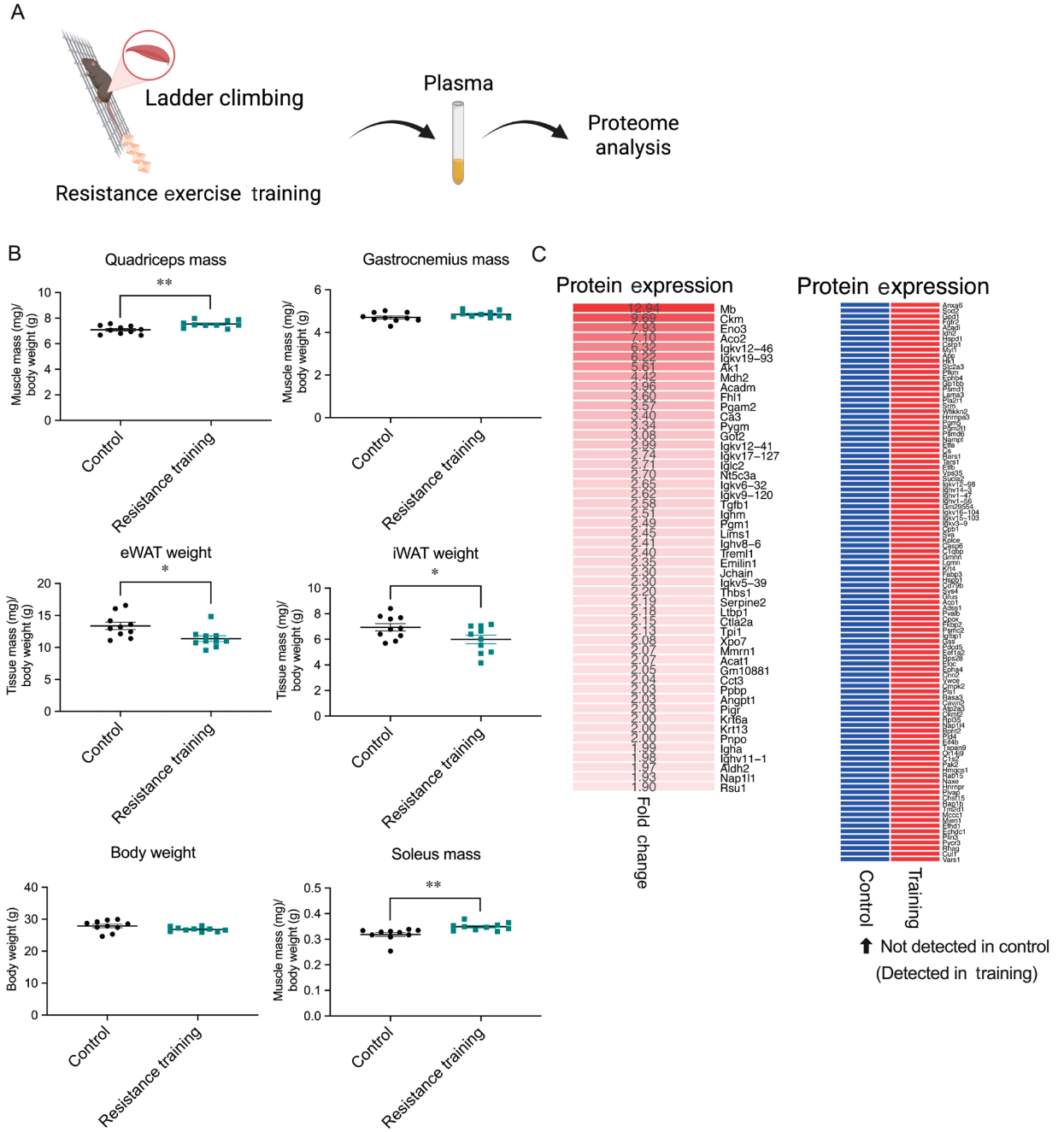

図４．レジスタンストレーニングモデルマウスにおける血漿プロテオーム解析

Fig.4.　Plasma proteome analysis in resistance training model mice.

A. Experimental design（created with BioRender.com）. B. Body weight and tissue mass normalized to body weight（n = 10/group）. All data indicate mean ± standard error（SE）. Student's two-tailed unpaired t-test. *$P < 0.05$, **$P < 0.01$. C. Plasma proteome data. Left figure shows top 50 increased proteins in plasma of trained mice. Right figure shows detected proteins in plasma of trained mice（not detected in control mice）.

り、運動による *MuRF1* などの発現増加は、骨格筋リモデリングに寄与していることも考えられる。この視点から本研究結果を解釈すると、運動マウス由来の血漿は筋細胞における骨格筋リモデリングを促進している可能性も考えられる。グルココルチコイドは慢性投与では骨格筋に対して筋萎縮というネガティブな影響をもたらす一方で、断続的な投与では筋機能をむしろ増強することが報告されている[7]。したがって、運動マウス由来の血漿が *MuRF1* の発現増加を増強したという結果は、骨格筋のグルココルチコイド応答性を増強したという運動によるポジティブな効果をとらえている可能性も考えられる。

本研究の主眼は、運動マウス由来の血漿因子の

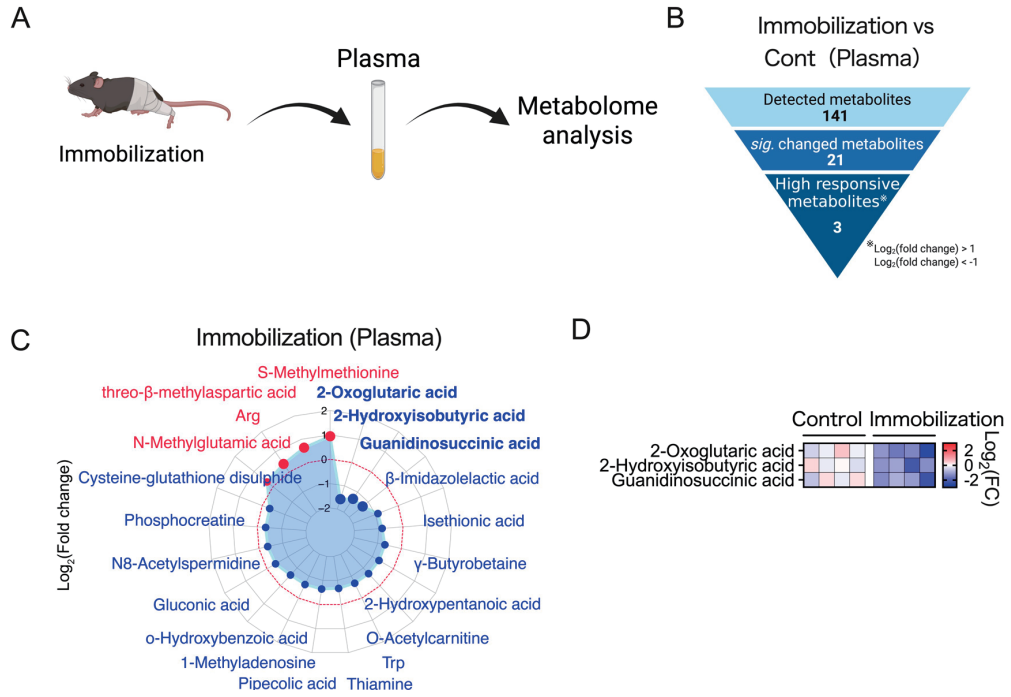

図 5．不活動モデルマウスにおける血漿メタボローム解析

Fig.5. Plasma metabolome analysis in immobilization model mice.

A. Experimental design（created with BioRender.com）. B. Scheme of the procedure of data filtering. C. Twenty-one significantly altered metabolites in the plasma of limb-immobilized mice. D. Heatmap showing three highly responsive metabolites that decreased in plasma of limb-immobilized mice（n = 4 mice/group）. Figure 5B-D are reproduced from Oyabu, M. et al.[6)]

筋萎縮抑制効果を個体レベル（in vivo）で実証することにある。当初は 1 年度目に本検証を実施する計画であったが、in vitro 解析の結果を受け、運動マウス由来の血漿による筋萎縮抑制効果を最適に評価しうる運動マウスの再選定に時間を要した。また、2 年度目は研究実施体制の変更（他機関への研究拠点の移行）に伴い、実験環境の再整備を優先せざるを得ず、期間内に個体レベルでの投与検証を完遂するに至らなかった。今後は、新体制下において本年度確立した評価系を用い、速やかに in vivo 検証へと移行することが最優先課題である。その一環として、レジスタンストレーニングマウス由来の血漿におけるプロテオーム変化により得られた一部の運動関連エクサカイン候補のなかから、筋萎縮抑制効果を発揮する因子を同定していく必要がある。

本研究では、上述の in vivo 検証および将来の研究展開をより強固なものにするための補足的成果として、以下のオミクス解析を実施し、重要な基盤情報を取得した。まず、運動不足モデルマウスを用いたメタボローム解析により、不活動時に血漿中で有意に低下する候補代謝物を特定した[6)]。これらの代謝物のなかには、運動による健康効果を仲介するエクサカインが含まれている可能性もあり、今後これらのデータセットを指標にエクサカイン研究が進むことが期待される。一方で、骨格筋と血漿のメタボローム解析からは、運動不足

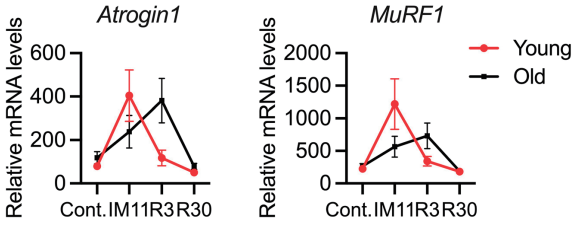

図 6．不活動・再活動モデルマウスの骨格筋における筋萎縮関連遺伝子の発現変化

Fig.6. Changes in expression of muscle atrophy-related genes in skeletal muscle of immobilization and remobilization model mice.

Relative mRNA expression of *Atrogin1* and *MuRF1* genes in skeletal muscle of young and old limb-immobilized mice and limb-remobilized mice(n = 4/group). All data indicate mean ± standard error(SE).

によって変動する代謝物は骨格筋と血漿では大きく異なっていることが示唆された[6]。骨格筋が運動による血中因子の変化にどの程度寄与しているのかは今後詳細に調べていく必要がある課題であるだろう。更に、加齢が筋萎縮応答に及ぼす影響を解明するために実施した骨格筋トランスクリプトーム解析では、若齢と老齢のマウスを比較した結果、不活動による筋萎縮関連遺伝子（*Atrogin1*, *MuRF1*）の発現増加が老齢マウスではむしろ抑制されるという、加齢特有の応答変容を明らかにした。この知見は、将来の in vivo 血漿投与実験において、若齢と老齢で異なる評価基準を設ける必要性を示唆する補足的成果である。本研究で得られたこれら一連のデータセットは、当初計画していた個体レベルでの検証において、形態的評価を補完する新たなバイオマーカー（評価指標）を提供するものであり、将来の研究展開を支える基盤的知見となる。

総　　括

本研究の主目的は、運動マウス由来の血漿投与が筋萎縮モデルマウスの筋量および筋機能を改善するかを個体レベル（in vivo）で実証することであった。計画全体に対する達成状況について、研究計画の中核であった in vivo 検証については、期間内に完遂できず未達成であると自己評価している。その主因は、１年度目に運動マウス由来の血漿による筋萎縮抑制効果を最適に評価しうる運動マウスの再選定に不測の時間を要したこと、および２年度目に研究実施体制の変更（他機関への研究拠点の移行）に伴う実験環境の再整備を優先せざるを得なかったことにあり、個体レベルでの検証は詳細な解析を実施できなかった。一方で、主目的をサポートするための補助的検証として実施した in vitro モデルの解析においては、運動マウス由来の血漿が筋管細胞の DEX 応答性に変容を及ぼすことが示唆された。更に、レジスタンストレーニングマウス由来の血漿プロテオーム解析を実施することで、エクサカイン候補探索における予備的なデータを得ることができた。将来の研究展開に向けた補足的成果として、筋萎縮モデルマウスでのメタボローム解析、トランスクリプトーム解析を行い、次段階の検証において使用可能な評価指標となる多角的なデータセットを構築することができた。本助成研究における最優先の課題は、運動マウス由来の血漿が個体レベルでの筋量および筋機能の改善効果を実証することであり、今後は新体制下において、in vivo 検証へと移行し、血液を介した運動の健康効果伝達メカニズムの全容解明を目指す必要がある。

謝　　辞

ラダートレーニングによる運動トレーニング実験に関しては、熊本大学発生医学研究所の堀居直希先生、小野悠介先生にご指導を賜りました。また、血漿におけるプロテオーム解析にあたっては、京都府立医科大学の吉澤達也先生にご協力を賜りました。そして、自発運動マウス由来の血漿による筋萎縮抑制効果の検証については、京都府立大学大学院生の山本遥希君が精力的に実施してくれました。また、本研究の実施にあたり、ご助言・サポートをいただきました先生方に感謝申し上げます。

参 考 文 献

1）Castellano JM, et al.（2017）: Human umbilical cord plasma proteins revitalize hippocampal function in aged mice. Nature, **544**, 488-492.

2）De Miguel Z, et al.（2021）: Exercise plasma boosts memory and dampens brain inflammation via clusterin. Nature, **600**, 494-499.

3）Furrer R, et al.（2023）: Molecular control of endurance training adaptation in male mouse skeletal muscle. Nat Metab, **5**, 2020-2035.

4）Horowitz AM, et al.（2020）: Blood factors transfer beneficial effects of exercise on neurogenesis and cognition to the aged brain. Science, **369**, 167-173.

5）Katsimpardi L, et al.（2014）: Vascular and neurogenic rejuvenation of the aging mouse brain by young systemic factors. Science, **344**, 630-634.

6）Oyabu M, et al.（2025）: Multi-dimensional metabolomic remodeling under diverse muscle atrophic stimuli in vivo. Cell Rep, **44**, 116097.

7）Salamone IM, et al.（2022）: Intermittent glucocorticoid treatment enhances skeletal muscle performance through sexually dimorphic mechanisms. J Clin Invest, **132**, e149828.

8）Villeda SA, et al.（2014）: Young blood reverses age-related impairments in cognitive function and synaptic plasticity in mice. Nat Med, **20**, 659-663.

第 39 回若手研究者のための健康科学研究助成成果報告書
2023 年度 *pp.*38～44（2026.6）

運動による実行機能低下の神経機構の解明
―脳内乳酸濃度の役割―

越 智 元 太* 大 野 健** 児 玉 直 樹***
佐 藤 大 輔**** 松 井 崇****

THE ROLE OF BRAIN LACTATE IN NEURAL MECHANISMS OF EXERCISE-INDUCED DECREASE IN EXECUTIVE FUNCTION

Genta Ochi, Ken Ohno, Naoki Kodama,
Daisuke Sato, and Takashi Matsui

Key words: hypoxia, magnetic resonance spectroscopy, dorsolateral prefrontal cortex, flanker task, cognitive fatigue.

緒　　言

身体活動による疲労は、運動などにより心身機能が一時的に低下した状態とされ、疾病や故障にかかわらずだれもが経験する現象である。疲労は筋や呼吸循環器など末梢組織機能の低下のみならず、疲労感の形成や筋への中枢指令低下、実行機能の低下（認知疲労）など脳機能の低下としても現れ、日々のパフォーマンスに影響を及ぼす重要な社会的課題といえる。特に認知疲労は、抑制機能、意思決定能力、注意集中の低下により、競技力低下だけでなく[10]、作業効率悪化や事故リスク上昇をもたらす[9]。認知疲労の機構解明とその予防法やレジリエンス向上法の開発は、スポーツ分野に限らず、元気で高い心身機能実現に重要である。

正常な脳機能には血液由来のグルコースに加え、脳内に貯蔵されたグリコーゲン利用が関与していることが示唆されている。神経細胞を取り巻くアストロサイトに貯蔵されているグリコーゲンが乳酸に分解され、脳のエネルギー生成に寄与[3]、運動持久力維持にも重要な役割を果たす[4]。しかし、乳酸は神経活動のエネルギー源となる一方で、過剰な乳酸放出は乳酸受容体を介して神経活動を低下させることが示唆されている[1,5]。これは、脳内乳酸は運動持久力を支えるエネルギー源であると同時に、神経細胞のエネルギー枯渇を防ぐための神経保護因子としての役割を担っている可能性が考えられている。したがって、運動による認知疲労には、前頭前野の過剰な乳酸上昇が関与している可能性がある。

実行機能は注意制御ネットワーク（背外側前頭前野-頭頂葉ネットワーク）の結合性が重要とされ、運動による実行機能低下時にはネットワークの 1 つである背外側前頭前野の活動低下が生じる。我々はこれまでに、低酸素環境（標高3500 m 相当,

* 新潟医療福祉大学健康スポーツ学科 Department of Health and Sports, Niigata University of Health and Welfare, Niigata, Japan.
** 新潟大学脳研究所統合脳機能研究センター Center for Integrated Human Brain Science, Brain Research Institute, Niigata University, Niigata, Japan.
*** 新潟医療福祉大学診療放射線学科 Department of Radiological Technology, Niigata University of Health and Welfare, Niigata, Japan.
**** 筑波大学体育系 Institute of Health and Sport Sciences, University of Tsukuba, Ibaraki, Japan.

13.5％酸素濃度）での10分間中強度運動によって、注意制御ネットワークに含まれる背外側前頭前野の活動が低下し、実行機能が低下することを明らかにしてきた[6,7]。しかし、注意制御ネットワークへの影響やその生理機構は不明な点が残る。低酸素環境での運動時には脳内乳酸産生が増加することから[8]、低酸素環境での運動による実行機能低下に、過剰な乳酸産生が関与している可能性がある。本研究では、運動による実行機能低下の詳細な神経機構を解明するため、2つの研究を計画した。研究1では、fMRI（functional magnetic resonance imaging）を用いて低酸素環境での運動が注意制御ネットワークに及ぼす影響を評価し、実行機能低下の神経基盤を明らかにすることを目的とした。研究2では、MRS法（MR spectroscopy）を用いて前頭前野乳酸濃度を測定し、脳内乳酸が実行機能低下に関与するかを検証することを目的とした。これらの多角的なアプローチにより、運動による実行機能低下のメカニズム解明を目指した。しかし、MRSとfMRIは同時測定ができず、両者を別々に測定する必要性が生じた。測定パラメータの最適化（エコー時間，積算回数など）や、データ品質の評価基準（Cramér-Rao lower bound; CRLB閾値の設定など）の検討に注力した結果、本研究期間内にfMRI測定まで至ることができなかった。そのため、本稿では、磁気共鳴画像診断装置（MRI）によるMRS法によって運動前後の課題特異的な前頭前野部位の脳内乳酸濃度変化を評価し、脳内乳酸が実行機能低下に関係するか検証した研究2について報告した。

方　　法

A．対象者

本研究参加の募集に対し、運動部に所属する健常成人25名が参加した。非喫煙、呼吸器系疾患、心血管疾患、神経疾患、その他の重大な疾患の既往歴がなく、体内金属（インプラント等）および閉所恐怖症がないことを参加資格の条件とした。このうち11名については、MRS乳酸測定プロトコルが確立される前の測定であり、データ品質が解析に不十分であった。プロトコル確立後の再測定を試みたが、参加者の都合や実験期間の制約により再測定が実現せず、最終的に14名（男性7名：年齢21.00 ± 0.58歳，身長172.00 ± 4.40 cm，体重68.71 ± 7.11 kg，女性7名：年齢21.00 ± 0.82歳，身長161.14 ± 6.41 cm，体重51.29 ± 4.31 kg）のデータを解析対象とした。14名のうち両条件（常酸素・低酸素）に参加できたのは9名であり、常酸素条件のみに参加した者が2名、低酸素条件のみに参加した者が3名であった。これは、参加者の大学の授業や部活動のスケジュール調整が困難であったこと、および研究期間中に体調不良や個人的事情により一方の条件の参加を取りやめた者がいたためである。本研究は新潟医療福祉大学におけるヒトを直接の対象とする研究に関する研究内容審査委員会により承認された（承認番号：19546–250520）。参加者の募集にはメーリングリストが使用され、全参加者から書面によるインフォームドコンセントを得た。

B．実験手順

対象者は全部で3回の実験に参加した。初回は運動強度算出のための準備日とした。安静時心拍数からカルボーネン法を用いて50％の運動強度にあたる目標心拍数を求めた。その後、自転車エルゴメータ（Ergomedic 828E，MONARK社，スウェーデン）を用い、1分ごとに負荷（kp）を0.25 kp増加させる漸増負荷運動を課した。漸増負荷運動は、目標心拍数に到達するまで60 rpmの回転速度を維持させ、目標心拍数に達した段階のkpを50％強度として本実験に用いた。

2、3回目の実験では、低酸素条件、常酸素条件の2条件にランダムの順序で参加した。両条件において、初回の実験で算出した50％強度を用い、ペダルの回転速度は60 rpmを維持させ中強度自転車運動を10分間実施した。運動前後に心拍数と末梢血乳酸濃度、実行機能を評価するフランカー課題をMRIスキャナ外で測定し、その後に3T-MRI（Vantage Galan 3T，Canon社，日本）内に仰臥位姿勢で入り頭部の撮像を行った。当初計画ではフランカー課題前にMRS測定を実施する予定であったが、実際には運動前後それぞれで、フランカー課題実施後にMRS測定を行った。これは、MRS測定後にフランカー課題を実施すると、測定に約30分かかるため、フランカー課題の変化が

運動効果だけでなくMRIスキャナ内での30分仰臥位で拘束された影響を受ける可能性が生じたため、この測定順序を採用した。運動時は低酸素ガス・常酸素ガスを吸引するためのマスクと光学式心拍センサー（Polar Verity Sence，POLAR社，フィンランド）を装着させた。乳酸濃度はランセットを用いて指先を穿刺し、ラクテートプロ2（LT-1730，アークレイ社，日本）を用いて測定した。低酸素条件では標高3500 m相当（13.5％酸素濃度）のガスを低酸素発生装置（FUJIポータブル型小型低酸素システム，富士医科産業社，日本）で作成し、ダグラスバッグを通じて吸引させた。常酸素条件では標高0 m相当（20.9％酸素濃度）の空気を、ダグラスバッグを通じて吸引させた。当初計画では、厳しい低酸素環境（標高4500 m相当，10％酸素濃度）を含む複数の低酸素条件を設定する予定であったが、事前の低酸素吸引練習の際に厳しい低酸素環境では強い低酸素血症を示したため、参加者の安全性を最優先に考慮し、本研究では標高3500 m相当（13.5％酸素濃度）の中程度低酸素条件のみを採用した。

C．実行機能課題

認知機能課題として、フランカー課題を用いた。示された記号の向きを判断するように指示した。参加者には左、右に該当するキーを押して回答させた。スクリーンには「＜＜＞＜＜」のように矢印が表示され、参加者は中央の矢印の方向に応じてキーを押すよう指示された。課題の条件は2つあり、一致課題条件ではフランカーとターゲットが同じ情報 （例：＜＜＜＜＜）、不一致課題条件ではフランカーとターゲットが異なる情報（例：＜＜＞＜＜）で表示した。反応時間と正答率を測定し、不一致課題と一致課題の反応時間の差分をフランカー干渉と呼び、実行機能の指標として解析に用いた。

D．右背外側前頭前野乳酸測定

右背外側前頭前野乳酸濃度は、3T-MRIを用いた単一ボクセル ^{1}H-MRSにより測定した。フランカー課題で評価される抑制機能は、特に右背外側前頭前野が活動する。MRS測定では測定部位を1箇所に限定する必要があることから、右背外側前頭前野を測定領域とした。関心領域は右背外側前頭前野を研究者2名によって設定し、ボクセルサイズは20 × 20 × 20 mm^{3}とした。MRSデータの取得にはpoint-resolved spectroscopy（PRESS）シーケンスを使用し、撮像パラメータは乳酸サンプルおよび5名の参加者に対して、乳酸値を検出できる測定プロトコルの検討を行った。繰り返し時間（TR）、エコー時間（TE）、積算回数の組み合わせを検証した結果、以下のプロトコルを採用することとした：TR = 2500 ms、TE = 144 ms、積算回数 = 400回、総取得時間約21分30秒。代謝物の定量解析にはLCModel（version 6.3- 1 M，Stephen Provencher社，カナダ）を使用した。乳酸は健常脳において低濃度であり、従来のCRLB閾値（例：20％以下）を適用すると偽陰性が生じる可能性がある。そのため、本研究ではKreis[2)]の推奨に従い、高CRLB値であっても解析に含めることとし、CRLB = 999％（未検出）のみを除外した。

E．統計処理

すべての統計分析はR（version 4.4.2）を用いて実施した。有意水準は5％とし、多重比較の補正にはFalse Discovery Rate（FDR）法を適用した。すべての参加者が両条件に参加したわけではないため、欠測データを適切に扱うことができる線形混合モデルを用いて分析を行った。(1) 記述統計：各測定変数について、条件別・時点別の平均値、標準偏差を算出した。心拍数については運動中のみの測定とした。(2) 条件 × 時点の交互作用：線形混合モデルを用いて、条件（常酸素/低酸素）と時点（運動前/運動後）の交互作用を検証した。個人差をランダム効果として投入した。交互作用が有意な場合のみ、事後検定として単純主効果（各条件内でのPre-Post比較）を実施した。心拍数については運動中のみの測定のため、条件の主効果のみを検討した。(3) 非線形関係の検証：右背外側前頭前野乳酸とフランカー干渉の関係について、線形モデル、二次モデル（二乗項を追加）、Natural Splineモデル（自由度2）を比較し、赤池情報量基準（AIC）および尤度比検定により非線形性を評価した。更に、条件と二次項の交互作用を尤度比検定により検証し、条件間で非線形関係のパターンが異なるかを検討した。

結　　果

各測定変数の記述統計量を表 1 に示した。

A．生理パラメータ

右背外側前頭前野乳酸は、条件 × 時点の交互作用は非有意であった（F(1 , 26.2) = 0.88, P = 0.656)。時点の主効果は非有意であり（F(1 , 26.3) = 0.00, P = 0.956)、運動による有意な変化は認められなかった。末梢血乳酸は、条件 × 時点の交互作用は非有意であった（F(1 , 15.0) = 8.96, P = 0.064)。時点の主効果は有意であり（F(1 , 15.0) = 65.81, P = 0.000)、運動により有意な変化が認められた。心拍数は、条件間に有意差が認められ（F(1 , 8.0) = 47.55, P < 0.001)、低酸素条件が常酸素条件より有意に高かった。

B．実行機能

一致課題と不一致課題の比較を行った。不一致課題の反応時間は、一致課題より有意な差が認められ（t(45) = 5.73, P < 0.001)、一致課題より不一致課題で反応時間が遅延した。正答率については、不一致課題と一致課題の間に有意差が認められ（t(45) = −3.03, P = 0.004)、一致課題より不一致課題で正答率が低くなった。これらの結果は、フランカー干渉効果が生じていたことを示してい

表 1．条件および時間別の記述統計
Table 1.　Descriptive statistics by condition and time.

Variable	Condition	Time	M_SD
Right DLPFC lactate（mM）	Hypoxia	Pre	0.76（0.49）
Right DLPFC lactate（mM）	Hypoxia	Post	0.82（0.39）
Right DLPFC lactate（mM）	Normoxia	Pre	0.74（0.26）
Right DLPFC lactate（mM）	Normoxia	Post	0.64（0.48）
Peripheral blood lactate（mM）	Hypoxia	Pre	1.80（0.17）
Peripheral blood lactate（mM）	Hypoxia	Post	9.36（3.04）
Peripheral blood lactate（mM）	Normoxia	Pre	1.85（0.29）
Peripheral blood lactate（mM）	Normoxia	Post	5.33（1.84）
Heart rate（bpm）	Hypoxia	During	170.42（9.48）
Heart rate（bpm）	Normoxia	During	152.00（17.92）
Congruent RT（ms）	Hypoxia	Pre	376.66（23.56）
Congruent RT（ms）	Hypoxia	Post	372.45（29.69）
Congruent RT（ms）	Normoxia	Pre	386.13（36.15）
Congruent RT（ms）	Normoxia	Post	371.82（47.02）
Incongruent RT（ms）	Hypoxia	Pre	391.74（35.32）
Incongruent RT（ms）	Hypoxia	Post	382.25（23.43）
Incongruent RT（ms）	Normoxia	Pre	408.35（44.70）
Incongruent RT（ms）	Normoxia	Post	400.39（53.08）
Congruent accuracy（%）	Hypoxia	Pre	95.83（3.22）
Congruent accuracy（%）	Hypoxia	Post	96.67（4.49）
Congruent accuracy（%）	Normoxia	Pre	97.88（3.08）
Congruent accuracy（%）	Normoxia	Post	97.58（2.16）
Incongruent accuracy（%）	Hypoxia	Pre	95.28（3.61）
Incongruent accuracy（%）	Hypoxia	Post	93.89（5.09）
Incongruent accuracy（%）	Normoxia	Pre	93.94（4.17）
Incongruent accuracy（%）	Normoxia	Post	93.33（6.67）
Flanker interference（ms）	Hypoxia	Pre	15.08（23.73）
Flanker interference（ms）	Hypoxia	Post	9.80（23.47）
Flanker interference（ms）	Normoxia	Pre	22.21（21.36）
Flanker interference（ms）	Normoxia	Post	28.57（16.58）

DLPFC = dorsolateral prefrontal cortex, RT = reaction time, M = mean, SD = standard deviation.

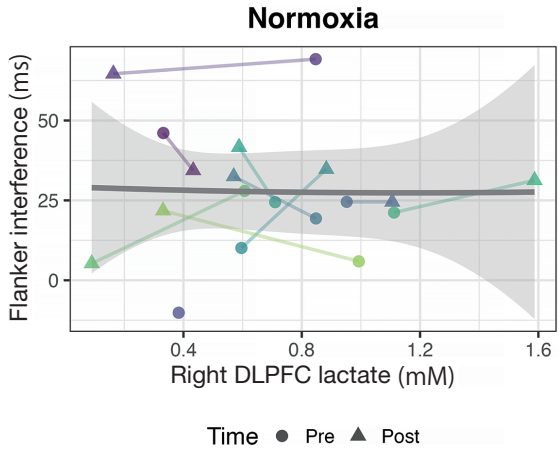

図１．常酸素条件における非線形関係

Fig.1. Nonlinear relationship in normoxia condition. Nonlinear relationship between right dorsolateral prefrontal cortex（DLPFC）lactate concentration and Flanker interference in the normoxia condition. Colored points represent individual data（Pre: ●, Post: ▲）, and lines connect the same participant before and after exercise. The gray curve and shaded area indicate the estimated values and 95% confidence interval of the quadratic regression model. The quadratic term was not significant（β = −0.860, P = 0.963）.

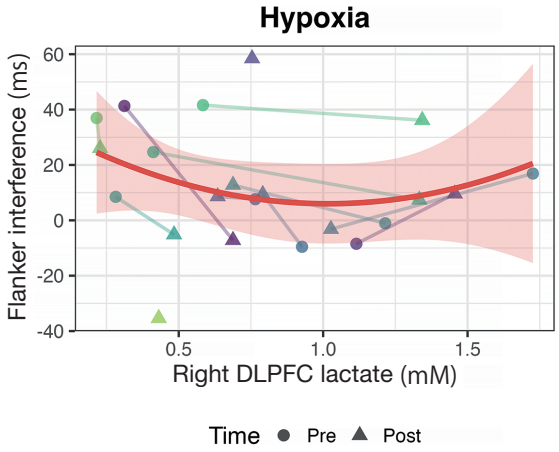

図２．低酸素条件における非線形関係

Fig.2. Nonlinear relationship in hypoxia condition. Nonlinear relationship between right dorsolateral prefrontal cortex（DLPFC）lactate concentration and Flanker interference in the hypoxia condition. Colored points represent individual data（Pre: ●, Post: ▲）, and lines connect the same participant before and after exercise. The red curve and shaded area indicate the estimated values and 95% confidence interval of the quadratic regression model. A significant U-shaped relationship was found（β = 62.937, P = 0.002）, indicating that both too low and too high DLPFC lactate concentrations were associated with larger Flanker interference（i.e., reduced cognitive inhibition ability）.

る。次に、不一致課題と一致課題の反応時間の差分をフランカー干渉効果とし、実行機能の指標として分析することとした。

フランカー干渉は、条件×時点の交互作用は非有意であり（F(1 , 28.9) = 2.35, P = 0.477）、運動前後の変化パターンは条件間で異ならなかった。時点の主効果は非有意であり（F(1 , 28.9) = 0.02, P = 0.956）、運動による有意な変化は認められなかった。

C．フランカー干渉と右背外側前頭前野乳酸濃度の関係

右背外側前頭前野乳酸とフランカー干渉の関係について検証した。全体では、線形モデル（AIC = 364.5）と二次モデル（AIC = 366.4）の間でΔAIC = −1.9であり、二次項は非有意であった（β = 3.766, P = 0.963）。条件別では、常酸素条件において二次項は非有意であった（β = −0.860, P = 0.963, 図１）のに対し、低酸素条件では二次項が有意であり（β = 62.937, P = 0.002, 図２）、有意なU字型関係が認められた。条件と二次項の交互作用を尤度比検定により検証した結果、χ^2 (1)= 5.79, P = 0.016であり、低酸素条件と常酸素条件で非線形関係のパターンが統計的に異なることが示された。

考　　察

本研究では、低酸素環境での中強度運動による実行機能低下に脳内乳酸が関与するかを検証した。その結果、運動前後で右背外側前頭前野乳酸濃度およびフランカー干渉に有意な変化は認められなかったものの、低酸素条件においてのみ両者の間に有意なU字型の非線形関係が認められた。本研究の結果から、低酸素条件での脳内乳酸と認知干渉の関係が常酸素条件とは異なるパターンを示すことが明らかになった。この知見は、脳内乳酸が単純に認知機能を低下させるのではなく、その濃度依存的に異なる作用をもつ可能性を示している。

本研究では、低酸素条件において実行機能の低下がみられなかった。この結果は、同様の低酸素環境条件での運動による実行機能低下を報告した先行研究と異なる[6,7]。先行研究では、普段運動を行っていない健常成人を対象としているといった本研究との違いがある。特に、普段の運動実施状況は、運動時のエネルギー代謝に影響を与えている可能性がある。一般的に相対的運動強度が同程

度の場合、非運動実施者と比べて運動実施者は乳酸生成量は小さくなることが知られている。本研究においても、低酸素条件において右背外側前頭前野乳酸濃度が増加していなかったことから、乳酸産生が過剰とならず、実行機能低下が起こりにくかった可能性がある。

乳酸は神経活動のエネルギー源として機能する一方で、過剰な乳酸放出は乳酸受容体を介して神経活動を抑制することが示唆されている[1,5]。本研究で認められたU字型関係は、この二面的な乳酸の役割を反映している可能性がある。中程度の乳酸濃度では、エネルギー供給と神経活動抑制のバランスが最適となり、認知干渉が最小化される可能性がある。低酸素環境では脳内乳酸産生が増加することから[8]、乳酸濃度の変動幅が拡大し、U字型関係が顕在化した可能性がある。常酸素条件では乳酸濃度の変動が比較的小さく、非線形関係を検出するには至らなかったと考えられる。

低酸素条件においてのみ、右背外側前頭前野乳酸濃度とフランカー干渉の間に有意なU字型の非線形関係が認められた知見は、脳内乳酸が単純に実行機能を低下させるのではなく、その濃度依存的に異なる作用をもつ可能性を示している。右背外側前頭前野乳酸濃度のばらつき（標準偏差）は、低酸素条件（Pre：0.49，Post：0.39）において常酸素条件（Pre：0.26，Post：0.48）より運動前に大きい傾向が認められた（表1）。また、測定値の範囲をみると、低酸素条件では0.2～1.7 mM、常酸素条件では0.4～1.4 mMと、低酸素条件でより広い範囲に分布していた。このことは、低酸素条件における乳酸濃度の個人間変動の拡大が生じていた可能性を示唆している。この個人間変動の拡大により、低酸素条件ではU字型関係の両端（低濃度側と高濃度側）のデータが得られやすくなり、非線形関係が顕在化したと考えられる。

一方で、本研究にはいくつかの限界がある。まず、運動前後で実行機能および右背外側前頭前野乳酸濃度に有意な変化が認められなかった。これは、MRS測定に約21分30秒を要したことで、運動直後の乳酸濃度変化をとらえきれなかった可能性がある。また、サンプルサイズが比較的小さく、両条件に参加した対象者が9名にとどまったことも、交互作用の検出力に影響した可能性がある。更に、本研究では右背外側前頭前野のみを測定対象としたが、実行機能には複数の脳領域が関与するため、他の前頭前野領域における乳酸動態の検討も今後必要である。本研究では測定できなかったfMRIを用いた注意制御ネットワークの評価は、今回の結果の解釈に重要な示唆を与える可能性がある。背外側前頭前野を含む注意制御ネットワークは、フランカー課題のような抑制機能課題において中心的な役割を果たす。低酸素条件において右背外側前頭前野乳酸濃度が低い場合、神経活動のエネルギー供給が不足し、注意制御ネットワーク内の情報伝達効率が低下する可能性がある。一方、乳酸濃度が過剰に高い場合、乳酸受容体を介した神経活動の抑制が生じ、同様にネットワーク機能が低下する可能性がある。今後、fMRIを用いて運動前後における注意制御ネットワークの機能的結合性の変化と、脳内乳酸濃度の関係を検討することで、この仮説を直接検証することができる。

総　　括

本研究では、低酸素環境での運動時における脳内乳酸と認知機能の関係を検討した。運動前後での有意な変化は認められなかったものの、低酸素条件においてのみ右背外側前頭前野乳酸濃度とフランカー干渉の間にU字型の非線形関係が認められた。この知見は、低酸素環境下での脳内乳酸が認知機能に対して濃度依存的な二面的作用をもつ可能性を示唆しており、運動による認知疲労のメカニズム解明に向けた基盤情報となりうる。今後の研究では、本研究で確立したMRSによる脳内乳酸測定プロトコルを活用しつつ、fMRIを用いた注意制御ネットワークの機能的結合性評価を追加し、脳内乳酸濃度の変化が神経ネットワークの活動パターンにどのように影響するかを明らかにする。更により多様な酸素濃度条件や運動強度条件を設定し、脳内乳酸と認知機能の用量反応関係を詳細に検討する。これらの研究により、脳内乳酸が神経活動を介して認知機能に影響を与えるメカニズムの全容解明を目指す。最終的には、脳

内乳酸濃度の最適化を通じた認知疲労の予防・対処法の開発につなげたい。

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きました新潟医療福祉大学健康スポーツ学科星美月さん、新潟医療福祉大学診療放射線学科吉田宜清講師に深く感謝申し上げます。

参 考 文 献

1）Bozzo L, et al.（2013）: Lactate modulates the activity of primary cortical neurons through a receptor-mediated pathway. PLoS One, **8**, e71721.

2）Kreis R（2016）: The trouble with quality filtering based on relative Cramér-Rao lower bounds. Magn Reson Med, **75**, 15-18.

3）Magistretti PJ, et al.（2018）: Lactate in the brain: from metabolic end-product to signalling molecule. Nat Rev Neurosci, **19**, 235-249.

4）Matsui T, et al.（2017）: Astrocytic glycogen-derived lactate fuels the brain during exhaustive exercise to maintain endurance capacity. Proc Natl Acad Sci U S A, **114**, 6358-6363.

5）Morland C, et al.（2015）: The lactate receptor, G-protein-coupled receptor 81/hydroxycarboxylic acid receptor 1: expression and action in brain. J Neurosci Res, **93**, 1045-1055.

6）Ochi G, et al.（2018）: Neural basis for reduced executive performance with hypoxic exercise. Neuroimage, **171**, 75-83.

7）Ochi G, et al.（2022）: Cognitive fatigue due to exercise under normobaric hypoxia is related to hypoxemia during exercise. Sci Rep, **12**, 9835.

8）Overgaard M, et al.（2012）: Hypoxia and exercise provoke both lactate release and lactate oxidation by the human brain. FASEB J, **26**, 3012-3020.

9）Reynolds AC, et al.（2017）: The shift work and health research agenda: considering changes in gut microbiota as a pathway linking shift work, sleep loss and circadian misalignment, and metabolic disease. Sleep Med Rev, **34**, 3-9.

10）Van Cutsem J, et al.（2017）: The effects of mental fatigue on physical performance: a systematic review. Sports Med, **47**, 1569-1588.

第 39 回若手研究者のための健康科学研究助成成果報告書
2023 年度 *pp*.45〜51（2026.6）

包括的学校身体活動介入による青少年の心身の健康に対する効果検証

喜屋武　享[*,**]　島袋　桂[***]　喜屋武　ゆりか[****]
高倉　実[*,*****]　宮城　政也[******]

EVALUATION OF THE EFFECTS OF A COMPREHENSIVE SCHOOL PHYSICAL ACTIVITY INTERVENTION ON THE PHYSICAL AND MENTAL HEALTH OF ADOLESCENTS

Akira Kyan, Kei Shimabukuro, Yurika Kyan,
Minoru Takakura, and Masaya Miyagi

Key words: Comprehensive School Physical Activity Program, physical fitness, depression, preadolescent, school health.

緒　　言

これまで学級担任が担当してきた小学校の体育授業は、学習における教育の質や安全性の担保、教諭の負担軽減を理由に、体育専科教諭が単独で担当するか、体育専科教諭が学級担任とともに複数名体制で担当するケースがある。先駆けて一部の学校で実施された体育専科配置事業の報告書によると、その取り組み内容は、学校の運動環境の整備や家庭との連携による子どもの身体活動促進など、体育科学習の充実という枠を超えて多岐にわたる[6)]。これらの実践は、学校を基盤とした包括的な身体活動促進プログラムと見なすことができる。諸外国では、このような教育日課全体を通して行われる身体活動促進が Comprehensive School Physical Activity Program（CSPAP）として概念整理され、効果検証が進められている[7)]。CSPAP の介入ターゲットは、1）体育授業、2）学校滞在中の身体活動、3）教育日課前後の身体活動、4）スタッフのウェルネス、5）家庭と地域の参画である。CSPAP の目標は、1）〜5）にあげた要素への介入を通して、子どもと青少年が推奨される 1 日60分の中高強度身体活動を達成させることや、フィジカルリテラシー（生涯にわたり身体活動を主体的に実践するための知識・意欲・能力）を向上させることとされる。先述した体育専科の取り組みと照らし合わせると、日本の体育専科配置事業は CSPAP と整合性が高いことがわかる。

CSPAP による健康指標や教育指標、生活の質

*　琉球大学医学部　Faculty of Medicine, University of the Ryukyus, Okinawa, Japan.
**　京都大学成長戦略本部 Beyond 2050 社会的共通資本研究部門　Center for Social Common Capital Beyond 2050, Office of Institutional Advancement and Communications, Kyoto University, Kyoto, Japan.
***　沖縄国際大学産業情報学部　Faculty of Industrial Information, Okinawa International University, Okinawa, Japan.
****　沖縄大学健康栄養学部　Faculty of Health and Nutrition, Okinawa University, Naha, Japan.
*****　名桜大学大学院スポーツ健康学研究科　Graduate School of Sports and Health Sciences, Meio University, Okinawa Japan.
******　琉球大学教育学部　Faculty of Education, University of the Ryukyus, Okinawa, Japan.

を含む well-being への効果について検討したシステマティックレビューによると[7]、2018年 7 月までに諸外国において32編の研究成果が報告されており、身体活動量や体力運動能力の向上、座位行動の抑制に積極的な効果を示している。しかしながら精神健康度や食・睡眠行動を始めとする生活習慣をアウトカムにした報告は皆無である。

これまでの体育専科配置事業の成果が報告されている平成30年（2018）度全国体力・運動能力、運動習慣等調査の結果によると[8]、体育専科教諭が配置された学校はそうでない学校と比較して児童の運動に対する嗜好性が高いほか、教諭の体育授業の改善に対する意欲が高い。体育科指導コーディネーター教諭の内省報告によると、体育専科や体育科指導コーディネーター配置による影響は、体力・運動能力の向上だけでなく、児童の授業中の集中力の向上や欠席者・不登校者の減少など、多方面に波及している[6]。身体活動の促進は児童生徒の心身の健康に好影響をもたらすだけでなく、認知機能の改善や学力向上などさまざまな効果が支持されているために[3]、その所見と事実が大きく乖離しているとは考えにくいが、これまでの体育専科の評価は、学校単位の集計値の比較や当該教諭の主観的報告によるものでしかなく、確かなエビデンスとはいい難い。いい換えれば、体育専科あるいは体育コーディネーターの配置により、学校における身体活動量の増加が期待できることはさることながら、身体的・精神的健康やその他の生活習慣、学校生活の充実に寄与している可能性があるが、未開なままということである。

したがって、本研究の目的は、体育専科/体育科指導コーディネーター配置校による児童の身体的、精神的健康および学力への波及効果を明らかにすることとする。

方　　法

A．対象・手続き

本研究の研究デザインは、体育専科が配置されない学校を比較対照群とした準実験デザインである。2022年度に新たに体育専科/体育科指導コーディネーターが導入された小学校（以下，配置校）と比較対照学校の児童を 2 年間追跡調査した。研究対象者のうち、選択基準をすべて満たし、かつ除外基準のいずれにも該当しない場合を適格とした。選択基準は、 1）沖縄県内の配置校に属した第 5 学年の児童、 2）配置校と人数規模、男女比、体力・運動能力水準が類似するようにマッチングした小学校（以下，非配置校）の第 5 学年の児童とした。除外基準は 1）発話あるいは文書による意思疎通が取れない児童、 2）本人または代理人から参加拒否の申し出があった場合とした。 5 年生を選定したのは、本事業における体育専科/体育科指導コーディネーターの配置が主に 5 ・ 6 年生を対象としたためである。学校割り当ての決定権は沖縄県教育委員会が完全に有し、各教育委員会が学校参加を要請した。

あらかじめ学校数が決まるため、標本サイズは算出していない。2022年度の配置校は 5 校であった。配置校 5 校に対して非配置校を 5 校選定し、計10校を対象とした。ベースライン対象は2022年度に沖縄県内の公立小学校10校の 5 年生1033名であり、2023年度に 6 年生まで追跡調査を行った（追跡率84％）。解析対象は、解析に使用する変数に欠損がない412名（配置校87名）であった。

倫理的な手続きとして、まず、学校長が学校レベルでの参加について書面による同意書を提供した。保護者には事前に書面による情報が提供され、参加を希望しない場合はオプトアウトする機会が与えられた。全生徒には参加が任意であることが口頭で説明され、データ収集前に口頭での同意が得られた。研究の実施に先立ち琉球大学人を対象とする生命科学・医学系研究倫理審査委員会の承認を得た（承認番号：22-1943-03-00-00）。本研究はヘルシンキ宣言（2013年改訂版）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（2021年）」に準拠して実施された。

B．測定

1．身体的健康度

本研究における身体的健康度は総合的な体力・運動能力（toe flexor muscle strength; TFS）とした。毎年 4 月から 5 月に沖縄県の全小中学校で実施される新体力テストのデータを用いて TFS を算出した。新体力テストは次の 8 項目で構成される―1）握力、 2）上体起こし、 3）長座体前屈、 4）

50 m 走、5）20 m シャトルラン、6）ボール投げ、7）反復横とび、8）立ち幅とび。測定は、新体力テストの実施要項を遵守して、学級担任や教科担任が実施した。TFS は、各測定項目の実測値を Z-score として標準化し、それらを平均値化した値である。

2．精神的健康度

本研究における精神的健康度は抑うつ症状として、Patient Health Questionnaire（PHQ）-9日本語版[1]の第 9 項目を除いて評価した。PHQ-9は Kroenke らにより開発された自己記入式抑うつ尺度である。PHQ-9の第 9 項目は自殺念慮に関する内容を含み、調査参加者への即時的かつ専門的対応が求められることから、大規模な疫学調査においては使用が不適切であることが指摘されている。そこで本研究では第 9 項目を除いた PHQ-8を採用した。PHQ-8は PHQ-9と比較して主要うつ病性障害のスクリーニング精度が同等であることが示されている[10]。PHQ-8は、過去 1 週間における抑うつ症状（例：「気分が落ち込む，憂うつになる，いらいらする，または絶望的な気持ちになる」「物事に対してほとんど興味がない，または楽しめない」など）を問う 8 項目から構成される。各項目は「全くない」から「ほとんど毎日」までの 4 件法で回答し、各項目得点を合計した総得点が高いほど抑うつ症状が強いことを示す。得点化および解析は PHQ-9の標準的手順に準拠し、合計得点を算出した[4]。

3．学力

本研究における学力は、沖縄県が毎年 2 月に実施する標準学力テストのデータを用いて評価した。児童個人の国語と算数の正答数のデータについて学校から提供を受けた。解析には、5 年生時点と 6 年生時点の 2 教科の平均正答数を用いた。

4．共変量

共変量は体格指標（body mass index; BMI）、性別、家庭の社会経済状態（就学援助認定状況）とした。BMI は体重 kg ÷ 身長 m² で算出した。身長・体重のデータは学校から提供を受けた。毎年 4 月から 6 月にかけて日本の学校記録の作成のために身体測定が行われる。身体測定は標準的な手順に基づき養護教諭によって実施される。解析において BMI は連続変数として扱った。性別もこの学校記録から情報を得た。家庭の社会経済状態は就学援助認定状況について学校から提供を受けた。なお、本テストは毎年 2 月に実施されるため、体育専科配置から初回評価まで約10か月の時間差がある。

C．統計解析

対象者特性として、各変数の頻度、割合、平均値、標準偏差を算出した。

TFS、PHQ-8、学力テストの時点間変化と群間差を検討するため、反復測定を含む一般線形モデルを用いた。時点を被験者内要因、配置群・非配置群を被験者間要因として投入し、時点と群の交互作用および主効果を検定した。分散分析には Type III 平方和を用い、有意水準は両側 5 %とした。群の主効果が有意であった場合には、Bonferroni 法による多重比較を行った。更に、推定周辺平均差（estimated marginal means; EMM）を算出し、群間比較、時点間比較、時点ごとの群間比較、群ごとの時点間比較を Bonferroni 補正下で実施した。結果の提示として、各条件の記述統計量を出力し、効果量として偏 η^2（eta-squared）を算出した。加えて、時点と群の EMM のプロフィールプロットを作成し、95 % 信頼区間（confidence interval; CI）を付して可視化した。共変量は、ベースライン時点の値を一般線形モデルに投入した。

結　　果

A．対象者特性

対象者特性を表 1 に示した。性別の割合は 5、6 年生ともに男子47.6%であった。就学援助認定割合は18.0%であった。身体計測値の平均値（標準偏差）は、5 年生から 6 年生にかけて、身長が140.0(6.7)cm から 146.5(7.0)cm へ、体重が35.6(8.2)kg から39.5(8.7)kg へ増加した。BMI は18.0(3.2)から18.3(3.2)とほぼ変化はなかった。体力・運動能力は各項目で概ね向上がみられた。TFS（Z-score）は 5 年生で0.1(0.5)、6 年生で0.0(0.5)と大きな変化はなかった。PHQ-8得点は、5 年生で4.8(4.4)点から 6 年生で4.2(4.6)点へ低下した。学力テストの平均正答数は、5 年生で10.4(4.1)点から 6 年生で9.8(3.3)点へ低下した。

B．身体的健康（総合的な体力運動能力）への効果

TFS について（図 1 ）、時点の主効果は有意ではなく（$P = 0.126$）、時点と体育専科配置との交互作用は境界的であった（$P = 0.055$、偏 $\eta^2 = 0.009$）。配置校と非配置校の TFS の差は 1 年目では認められなかった（EMMD = 0.054，95%CI: −0.056〜0.164）が、 2 年目には配置校が非配置校より高かった（EMMD = 0.136，95%CI: 0.029〜0.243）。この差は約0.14標準偏差に相当し、効果量は小さい水準であった。群内の変化は、非配置校（差 = 0.027，$P = 0.164$）、配置校（差 = 0.055，$P = 0.148$）ともに有意ではなかった。総じて、配置校において、 2 年目の TFS が相対的に高い水準を示す傾向が認められた。

表 1 ．記述統計
Table 1．Descriptive.

	Fifth grade		Sixth grade	
	n	%	n	%
Total	412	100.0	412	100.0
Sex				
Boy	196	47.6	196	47.6
Girl	216	52.4	216	52.4
School assistance				
Non-recipient	338	82.0		
Recipient	74	18.0		
	Mean	SD	Mean	SD
Height	140.0	6.7	146.5	7.0
Weight	35.6	8.2	39.5	8.7
BMI	18.0	3.2	18.3	3.2
Hand-grip strength	16.7	3.7	19.6	4.8
Sit-ups	18.3	5.5	20.6	5.2
Sit and reach	35.4	8.3	39.5	9.8
Repeated side-steps	41.2	7.0	41.5	8.1
20-m shuttle run	41.1	19.0	49.3	20.8
50-m sprint	9.8	1.3	9.1	0.9
Standing long jump	150.6	22.8	163.7	23.7
Softball throw	18.2	8.1	21.5	9.9
Total fitness score	0.1	0.5	0.0	0.5
PHQ score 8	4.8	4.4	4.2	4.6
Academic achievement	10.4	4.1	9.8	3.3

BMI; body mass index, PHQ; Patient Health Questionnaire.

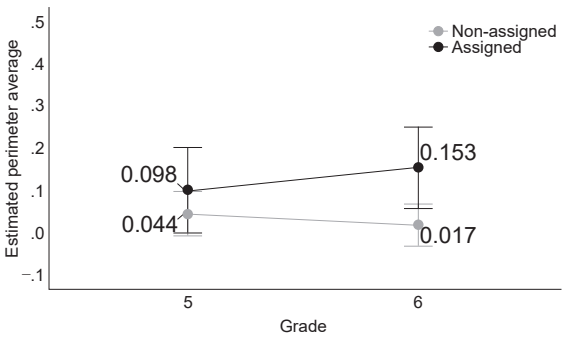

図 1 ．体育専科教諭の有無による小学校 5 年生から 6 年生への総合体力の変化
Fig.1．Changes in overall, physical fitness and motor skills from fifth to sixth grade by schools with and without specialized PE Teachers.
PE; physical education.

C．精神的健康（抑うつ症状）への効果

PHQ-8（抑うつ症状）について（図 2 ）、時点の主効果が有意であり、全体として 1 年目から 2 年目にかけて低下した（EMMD = 0.772，95%CI: 0.150〜1.393）。一方、体育専科配置の主効果は有意ではなく（$P = 0.553$）、時点と体育専科配置の交互作用も有意ではなかった（$P = 0.322$）。配置校と非配置校の差は、 1 年目および 2 年目のいずれにおいても有意ではなかった。群内の時点間変化も、非配置校（差 = 0.458，$P = 0.108$）、配置校（差 = 1.086，$P = 0.055$）ともに有意ではなかった。

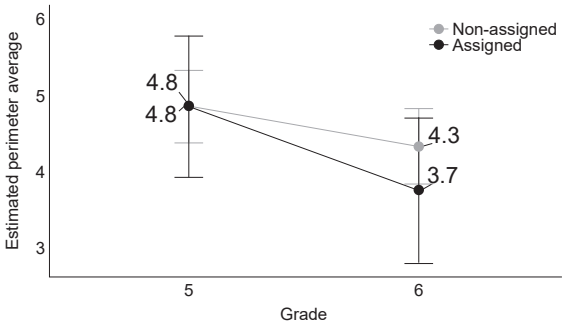

図 2 ．体育専科教諭の有無による小学校 5 年生から 6 年生へのうつ症状の変化
Fig.2．Changes in depressive syndrome from fifth to sixth grade by schools with and without specialized PE Teachers.
PE; physical education.

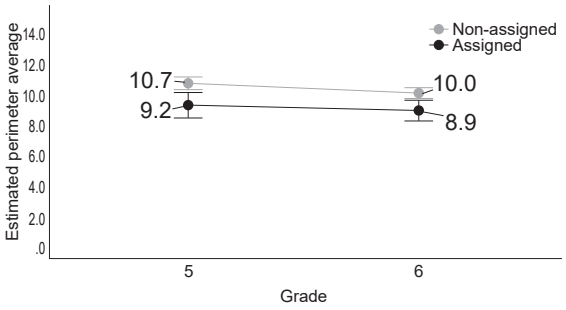

図 3 ．体育専科教諭の有無による小学校 5 年生から 6 年生への学業成績の変化
Fig3．Changes in academic achievement from fifth to sixth grade by schools with and without specialized PE Teachers.
PE; physical education.

D．学力への効果

学力テスト得点について（図 3 ）、時点の主効果が認められ、全体として 1 年目から 2 年目にかけて得点は低下した（EMMD = 0.512，95%CI: 0.106～0.917，$P = 0.015$）。一方、時点と体育専科配置との交互作用は有意ではなかった（$P = 0.422$, 偏 $\eta^2 = 0.002$）。体育専科配置の主効果は有意であり（$P < 0.001$，偏 $\eta^2 = 0.029$）、推定周辺平均は配置校が非配置校より低かった。時点別の群間比較では、1 年目（EMMD = 1.482, 95%CI: 0.546～2.417, $P = 0.002$）および 2 年目（EMMD = 1.142，95%CI: 0.393～1.892，$P = 0.003$）のいずれも、非配置校が配置校より高得点であった。群ごとの時点間変化は、非配置校では 1 年目から 2 年目にかけて得点が低下した（差 = 0.682，95%CI: 0.302～1.062, $P < 0.001$）が、配置校では有意な変化は認められなかった（差 = 0.343，$P = 0.361$）。

考　　察

A．身体的健康（総合的な体力運動能力）への効果

効果量は小さいものの配置校において 2 年目の TFS が非配置校より高い水準を示した（約0.14標準偏差，偏 $\eta^2 \approx 0.01$）。CSPAP の効果をメタ解析した先行研究でも効果量は小から中程度と報告されている[7]。これは、体育専科配置が児童の体力・運動能力に与える影響が限定的であることを示す一方で、本研究における TFS は学年内分布を基準に標準化した相対指標であるため、観察された差は体力の絶対的な増加量ではなく、同学年集団内における相対的な位置の違いを反映している。このような相対指標を用いた解析では、大きな効果量が得られにくいという特性がある。これを踏まえると、学校レベルの単一要因としては妥当かつ現実的な効果の大きさである。体育専科配置の影響は、短期間に顕著な体力向上として現れるというよりも、発育発達に伴う個人差の拡大のなかで、体力水準を相対的に高く維持する方向に作用した可能性がある[5]。体育専科配置は体育授業の質や運動機会の確保といった学校環境の一側面を反映する構造的要因であり、児童個人の身体活動量や生活習慣全体に直接介入するものではない。そのため、効果量が小さいことは、介入の性質上も想定される結果である[5]。むしろ、個人背景要因（性別，BMI，就学援助認定）を調整したうえで、相対指標においても群間差が検出された点は、体育専科配置が体力・運動能力の水準に一定の関連を有する可能性を示している。

B．精神的健康（抑うつ症状）への効果

PHQ-8により評価した抑うつ症状については、全体として 1 年目から 2 年目にかけて得点が低下した一方で、体育専科配置の主効果および時点と体育専科配置との交互作用はいずれも有意ではなかった。この結果は、精神的健康度の改善が体育専科配置という学校レベルの要因とは独立して生じていた可能性を示している。抑うつ症状の全体的な低下は、学年進行に伴う発達的変化や学校生活への適応、学級・友人関係の安定化など、児童期に一般的にみられる要因を反映している可能性がある[9]。特に、本研究の対象である小学校高学年期は、学校環境への適応が進む時期であり、抑うつ症状が一時的に軽減または安定することは先行研究とも整合的である[9]。

一方で、体育専科配置の有無による差が認められなかったことは、体育専科の主たる役割が身体活動や体育授業の質の向上にあり、精神的健康への影響が直接的には現れにくいことを示唆している。身体活動は精神的健康と関連することが知られているものの、その影響は自己効力感、仲間関係、達成感といった心理社会的要因を介した間接的な経路で生じることが示唆されており[2]、体育専科配置という単一の構造的要因のみでは、抑うつ症状の変化を十分にとらえられなかった可能性がある。また、本研究で用いた PHQ-8は抑うつ症状のスクリーニング尺度であり、比較的短期間の変化や軽度の心理的状態の揺らぎをとらえる一方で、学校環境の差異による微細な影響を検出する感度には限界がある可能性がある。群内変化がいずれの群でも有意ではなかった点も踏まえると、体育専科配置が抑うつ症状に及ぼす影響は小さい、もしくは他の要因により相殺されていた可能性がある。

C．学力への効果

学力テスト得点については、時点の主効果が認

められ、1年目から2年目にかけて全体として得点が低下した。体育専科配置の主効果も認められ、配置校は非配置校と比較して両時点において学力テスト得点が低い水準を示した。一方、時点と体育専科配置との交互作用は有意ではなく、体育専科配置によって学力テスト得点の低下幅（時点間変化）が統計学的に異なるとはいえなかった。群内の時点間変化が配置校では認められなかった点は、体育専科配置が学力低下を抑制する可能性を示唆する所見とも解釈し得るが、慎重な解釈が必要である。

本研究で用いた学力テストは主として教科学習の到達度を評価する指標であり、その特性として日常的な学習習慣や授業内容の影響を強く受ける。身体活動と学力との関連については、認知機能の改善や授業中の集中力向上などを介した間接的効果が報告されているものの[3)]、これらの効果は中長期的に蓄積されるものであり、本研究の観察期間においては学力テスト得点として明確に検出されなかった可能性がある。体育専科配置は主として体育授業の質向上や身体活動機会の充実を目的とした施策であり、学力向上を直接の介入目標としていない。そのため、体育専科配置による効果が本研究の観察期間内に学力テスト得点として明確に顕在化しにくいことは、介入の性質上も想定される。

ただし、注意すべき点として、体育専科配置と学力テスト評価の測定時期の制約があげられる。体育専科は新学期が開始される4月から配置されている。一方で、学力テストは2月に実施される。すなわち、本研究で用いた学力アウトカムは介入開始から約10か月後および約22か月後に評価されたものである。したがって、介入開始後の影響が初回評価に既に含まれていた場合、配置による効果は初回から2回目の変化量としてはとらえにくく、交互作用として検出される効果が小さく見積もられた可能性がある。また、配置校が地域特性や教育行政上の判断に基づいて配置されていることを踏まえると、学力における群間差は、体育専科配置そのものの影響というよりも、配置校と非配置校の学校特性や児童背景の違いを反映している可能性がある。本研究では性別、BMI、就学援助認定状況を調整しているものの、家庭の学習環境や通塾状況、学校全体の教育資源といった要因を十分に考慮できていない。

総　　括

体育専科配置は児童の身体的健康の増進に貢献する可能性が示唆された。一方で、精神的健康や学力への影響は限定的である可能性がある。本研究は、体育専科配置事業を学校全体を基盤とした身体活動促進の枠組みであるCSPAPと理論的に対応づけ、日本の学校現場におけるCSPAP相当の取り組みとして、その身体的・精神的健康および学力への影響を実証的に検討した初めての研究である。学校環境要因としての体育専科配置の効果を個人レベルの縦断データで検証した点に本研究の意義がある。

当初計画では、身体活動と健康アウトカムとの関係を媒介する要因について検討することを計画していたが、体育専科の配置による身体活動への効果が認められなかった、すなわち、媒介分析を進めるうえでの前提条件を満たさなかったために、発展的な解析は断念した。体育専科の配置による身体活動への効果が認められなかった理由は、測定期間の長さや時期、活動量計の非装着など方法論的問題が潜在している可能性がある。今後は身体活動の測定方法を再検討したうえで、長期的影響をとらえるための研究が求められる。

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に心より感謝申し上げます。

参 考 文 献

1）Adachi M, et al.（2020）: Distributional patterns of item responses and total scores of the Patient Health Questionnaire for Adolescents in a general population sample of adolescents in Japan. Psychiatry Clin Neurosci, **74**（11）, 628-629.

2）Biddle SJH, et al.（2019）: Physical activity and mental health in children and adolescents: an updated review of reviews and an analysis of causality. Psychol Sport Exerc, **42**, 146-155.

3）Donnelly JE, et al.（2016）: Physical activity, fitness, cognitive function, and academic achievement in children: a systematic review. Med Sci Sports Exerc, **48**（6）, 1197-

1222.

4）Kroenke K, et al.（2009）: The PHQ-8 as a measure of current depression in the general population. J Affect Disord, **114**（1-3）, 163-173.

5）Neil-Sztramko SE, et al.（2021）: School-based physical activity programs for promoting physical activity and fitness in children and adolescents aged 6 to 18. Cochrane Database Syst Rev, **9**, CD007651.

6）沖縄県教育委員会（2025）：沖縄県児童生徒体力向上推進委員会報告書「児童の身体活動量の実態評価と身体的・精神的健康に関する調査（2022 ～ 2023 年度）」. https://sites.google.com/open.ed.jp/kenkoutaiiku-2024/沖縄県児童生徒体力向上推進委員会報告書

7）Pulling Kuhn A, et al.（2021）: A systematic review of multi-component Comprehensive School Physical Activity Program（CSPAP）interventions. Am J Health Promot, **35**（8）, 1129-1149.

8）スポーツ庁（2018）：平成 30 年度全国体力・運動能力、運動習慣等調査結果. https://www.mext.go.jp/sports/b_menu/toukei/kodomo/zencyo/1411922.htm

9）Thapar A, et al.（2012）: Depression in adolescence. Lancet, **379**（9820）, 1056-1067.

10）Wu Y, et al.（2020）: Equivalency of the diagnostic accuracy of the PHQ-8 and PHQ-9: a systematic review and individual participant data meta-analysis. Psychol Med, **50**（8）, 1368-1380.

第 39 回若手研究者のための健康科学研究助成成果報告書
2023 年度 *pp*.52～59（2026.6）

運動による認知症発症予防効果にかかわるミトコンドリア機能調節因子と機序の解明

小　林　天　美*

THE POTENTIAL MITOCHONDRIAL REGULATORY FACTORS UNDERLYING THE EFFECTS OF EXERCISE ON DEMENTIA ONSET

Ami Kobayashi

Key words: mitochondria, respiratory chain supercomplex, FRET, miRNA, dementia.

緒　　言

運動に伴う生体内の分子的変化の 1 つとして、脳実質内のミトコンドリア呼吸鎖複合体の機能亢進が報告されている[5,7]。この呼吸鎖複合体は、複合体Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳの 4 つから構成され、酸化的リン酸化によりアデノシン三リン酸（adenosine triphosphate; ATP）合成酵素の働きに必要なプロトン濃度勾配を生成し、生命活動に必要なエネルギーである ATP 産生を担っている。外膜と内膜という 2 枚の脂質膜を有しており、真核生物では内膜に酸化的リン酸化を担う呼吸鎖複合体が配列している。呼吸鎖複合体のうち、複合体Ⅰ、Ⅲ、Ⅳは複合体同士が結合し更に高次の超複合体を形成することが報告されている[2]。複合体に障害が生じると、ATP 産生の低下だけでなく過剰な活性酸素が生成され、酸化ストレスが引き起こされる。アルツハイマー型認知症（Alzheimer’s disease; AD）の患者の脳では複合体ⅠとⅣの機能と発現がともに低下し、ミトコンドリア機能も低下することが報告されている[1,6]。呼吸鎖複合体とミトコンドリア機能に対する運動効果を評価する目的で、AD モデルマウスをトレッドミルで一定時間の運動を数週間継続させた結果、脳実質内の複合体ⅠとⅣならびに ATP 合成酵素の機能が増強され、ミトコンドリア機能の改善と認知機能の向上が観察された[9]。一方で、運動により AD モデルマウスの脳実質内の複合体の発現量自体は変わらないことが報告されている[3]。複合体の発現量に変化なく、機能亢進のみに寄与する現象として複合体Ⅰ、Ⅲ、Ⅳ同士の結合に伴うミトコンドリア呼吸鎖超複合体形成が挙げられる[4]。運動に伴うミトコンドリア呼吸鎖超複合体の形成促進とミトコンドリア機能亢進の報告は、ヒトの骨格筋内では既に複数あるが、脳に関する研究報告はほとんどない。ミトコンドリア呼吸鎖超複合体形成を定量する手法としては、Förster 共鳴エネルギー移動（FRET）現象を活用したライブイメージングによる FRET シグナルによる定量法[4] が確立されている。そこで、本研究では、運動に伴い脳内で変動し、かつ認知症発症患者の脳検体において有意差がみられる miRNA による神経細胞のミトコンド

* ハーバード大学医学部　Harvard Medical School, Boston, USA.

リア呼吸鎖超複合体形成に及ぼす影響を評価した。なお、当初予定していたマウスを用いた運動介入研究に代わり、ヒト脳検体およびiPSC由来神経細胞を用いた分子生物学的解析を中心に研究を遂行した。

方　　法

A．ヒト脳検体

凍結保存されたヒト死後脳組織試料は、Harvard Brain Tissue Resource Centerより提供を受けた。本研究における試料の使用は、ハーバード大学医学部附属病院Brigham and Women's Hospitalの倫理審査委員会（Institutional Review Board）の方針および承認に従って実施した（承認番号：2016N000113）。

B．細胞培養

SH-SY5Y細胞は、37°C、5 % CO_2条件下で、Advanced DMEM/F-12（10% FBS，2 mM L- グルタミン，ペニシリン - ストレプトマイシンを含む）を用いて培養した。安定した細胞内導入を確立するため、クローンはG418（Sigma）を800 µg/mLの濃度で使用して選択した。ヒトiPSC由来神経細胞は、96ウェルプレート（Corning）をマトリゲル（354234，Corning）溶液（DMEM/F-12中0.2 mg/mL）とポリオ /Laminin で37°C で1.5時間コーティングした。その後、マトリゲル溶液を完全に除去し、PBS（Gibco）を加えた。プレートとディッシュは使用直前に37°C でインキュベートした。凍結保存された4日目のiPSC由来神経細胞は、再懸濁メディアで解凍した。このメディアは、NBM（neurobasal medium，0.5x MEM-NEAA，1 x GlutaMAX，0.3% デキストロース）、1 :50 B27、1 :10000 DOX、プエロマイシン、1 :1000 BDNF/CNTF/GDNF、1 :1000 ROCKi（StemCell Technologies）で構成され、解凍を促進するために温水槽に入れた。チューブを逆さまにして優しく混ぜた後、トリパンブルー（Bio-Rad）を用いて生存細胞濃度を測定した。細胞は遠心分離（250 g，5分，室温）し、4日目のメディアで再懸濁し、5 × 10^ 4 cells/cm² の密度でプレートに播種した。7日目、10日目、14日目、18日目には、培養済みメディアの3分の2をメディア（NBM，1 :50 B27，1 :10000 DOX，プエロマイシン，1 :1000 BDNF/CNTF/GDNF）で交換した。使用したiPSCラインは、MAPT P301L ドナー（ドナーID：F0510）由来のもので、CRISPR/CAS9を用いてMAPT P301S に変異させたもの（F0510.2Δ3B5）またはMAPT WT に修正したもの（F0510.2 Δ3B3,4, E10）である。iPSC由来神経細胞は、ハーバード大学医学部附属病院Brigham and Women's Hospital倫理審査委員会の審査と承認を受けて生成された（承認番号：2016N000114）。

C．RNAの抽出

5 mLシリンジと18 G、23 G、26 Gの針を用いて組織をTrizol（Invitrogen）の中でホモジェナイズした。Total RNA を抽出し、RNA quality はThermo Scientific Nanodrop 1000分光光度計を使用して確認した。

D．プラスミドの構築と細胞内導入

ユビキノール - シトクロムc還元酵素6.4 kDaサブユニット（UQCR11）をコードするプラスミドは、過去に報告されたようにAcGFPと融合した。NADH- ユビキノン酸化還元酵素サブユニットB 8（NDUFB8）をAcGFPと融合したプラスミドは、ヒトNDUFB8を哺乳類発現ベクターpAcGFP1-N1（Clontech）にサブクローニングすることによって構築された。NDUFB8のコーディング領域は、ヒト乳がん細胞株MCF7のcDNAから次のプライマーセットを用いて増幅した：

NDUFB8, Forward：5'-CCCGAGCTCGCCATGGGCGCGGTGGCCAGGGCC-3'

NDUFB8, Reverse：5'-GGGGTACCCCGATCTCATAGTGAACCACCCGC-3'

シトクロムcオキシダーゼサブユニット8A（COX8A）またはATP合成酵素F 1サブユニットガンマ（ATP5F1c）をDsRed-Monomerと融合させたプラスミドは、以前に構築したAcGFPと融合したタンパク質をコードするプラスミドから蛍光分子を変更することによって構築した。タンパク質のコーディング領域は、哺乳類発現ベクターpDsRed-Monomer-N1（Clontech）にサブクローニングされた。発現ベクターのトランスフェクションは、細胞を播種してから24時間後にFuGENE HD（Promega）を使用して、製造元の指示に従っ

て行った。

E．FRET signal の定量

AcGFP および DsRed-Monomer を共発現する細胞を96ウェルプレートで培養し、IN Cell Analyzer 6000（GE Healthcare）および IN Cell Investigator 画像解析ソフトウェアバージョン1.6.2（GE Healthcare）を使用して FRET 信号を定量した。細胞は検出の24時間前に化合物で処理、または48時間前に siRNA でトランスフェクションされた。AcGFP（励起488nm，発光522nm）および DsRed-Monomer（励起561 nm，発光605 nm）の蛍光信号と生の FRET 信号（励起488 nm，発光605 nm）は、1 ウェル当たり12の ROI で取得された。AcGFP 信号が生の FRET 信号に及ぼすクロストークを評価するため、NDUFB8-AcGFP のみを安定的に発現する細胞を488 nm のレーザー波長で励起し、605 nm で発光を検出した。この実験に基づいて、以下の式におけるクロストーク係数（α）を決定した。次に、DsRed-Monomer の488 nm でのクロス励起を評価するため、COX8A-DsRed-Monomer のみを安定的に発現する細胞を488 nm のレーザー波長で励起し、605 nm で発光を検出した。この実験に基づいて、以下の式におけるクロス励起係数（β）を決定した。補正 FRET（cFRET）値は次のように計算された：cFRET =（生の FRET 信号強度）－ α ×（ドナー信号強度）－ β ×（アクセプター信号強度)。化学物質または siRNA が FRET 信号に与える影響を評価するために、cFRET 値はドナー信号強度で割った（cFRET /ドナー)。β-lapachone（4-dihydro-2,2-dimethyl-2H-naphtho［1,2-b］pyran-5,6-dione, Sigma）は cFRET/ドナー高値と相関して細胞内の呼吸鎖超複合体形成を促進することが既に確認されており[4]、本実験での陽性コントロールとして使用した。

F．神経細胞生存率アッセイ

ヒト iPSC 由来神経細胞は、15000細胞 /cm² の密度で播種し、96ウェルプレートで 3 週間培養した。処理後、細胞生存率は AlamarBlue HS Cell viability 試薬（DAL1025，Life Technologies）を 1 :10 の希釈で使用して測定した。メーカーの指示に従い、37℃ で 4 時間インキュベーション後、Promega GloMax 96マイクロプレートルミノメーターを使用して、AlamarBlue® の吸光度を570 nm で測定し、600 nm を参照波長として使用した。

G．神経突起の長さおよび神経突起分岐点の測定

神経細胞イメージングは IncuCyte™ Live-Cell Imaging System（Essen BioScience）を使用して行った。細胞の密度、細胞体数、神経突起の長さ、および分岐点は IncuCyte™ ソフトウェアを使用して監視および定量した。

H．マイクロアレイ

Total RNA は脱リン酸化され、3' 末端から残留リン酸および環状リン酸基が除去され、3-OH 末端が露出した。反応は70℃ で 3 分間加熱して終了し、急速に氷上で冷却したのち、サンプルは100℃ で変性させ、T4 RNA リガーゼを使用して RNA 末端標識を行った。このとき、50 mM の pCp-Cy3/Cy5、リガーゼバッファー、および BSA を使用し、16℃で一晩インキュベーションした。その後、標識された RNA はヒト/マウス小 RNA マイクロアレイ（GPL31220/GPL31221，Arraystar）にハイブリダイズし、スライドは Agilent G2505C マイクロアレイスキャナー（Agilent）でスキャンした。マイクロアレイデータは Agilent Feature Extraction Software（バージョン11.0.1.1）を使用して処理し、原始信号強度は対数 2 変換され、Agilent Technologies GeneSpring GX v12.1ソフトウェアパッケージ（バージョン867 11.0.1.1）を使用してクォンタイル正規化した。「Present」（P）または「Marginal」（M）としてフラグ付けされたプローブセットを用いた。

I．Small RNA sequencing

シーケンシングデータは Sequence Read Archive および ArrayExpress から取得し、各ライブラリ構築プロトコルに従ってアダプター配列を除去するためにトリミングした。アダプターのトリミングと汚染配列（UniVec）の除去後、リードは順次、リボソーム RNA（rRNA)、転移 RNA（tRNA）および tRNA 断片（tRF)、マイクロ RNA/snoRNA/scaRNA、piRNA、最終的にタンパク質コーディング mRNA、長鎖非コーディング RNA（lncRNA)、および miRNA ヘアピン reference にアライメントされた。miRNA の reference アノテー

ションはRmiRBaseから取得した。この多段階のアライメントワークフローを使用した結果、サンプル間でリードの90～95％が正常にマッピングされた。差次的発現解析はDESeq 2を使用して、マッピングされた総リードに基づく正規化で実施した。統計的有意性は偽発見率（FDR）< 0.05、Fold Change > 1.5 または < 0.5（|log2 Fold Change| > 0.585）として定義した。

結　　果

A．運動に伴い変動し、かつ神経細胞内のミトコンドリア呼吸鎖超複合体形成を制御するmiRNAの同定

運動に伴い脳内で変動するmiRNA[8]について複数の論文報告が既にされている。また、運動がADモデルマウスの脳内ミトコンドリア機能を改善し、認知機能を向上させるという報告[9,3]もあることから、ミトコンドリア呼吸鎖超複合体の制御にかかわるmiRNA（図1）を検討した。複合体Ⅰのサブユニットである ND1、複合体Ⅲのサブユニットである CYTB、更に複合体Ⅳのサブユニットである COX3を制御することで知られているmiR-1、miR-21、miR-5787のほか、ミトコンドリア呼吸鎖超複合体形成を制御するmiR-663aを同定した。

B．認知症患者の脳組織におけるmiRNAの変動解析

AD患者において低下しているmiRNAとしてmiR-132が多数の既報により確立されている。本研究で使用したAD患者の側頭葉におけるmiR-132の発現レベルも有意に低かった（図2）。そのうえで、smallマイクロアレイを用いて上記で同定したmiRNAの発現レベルをコントロール群とAD患者群で比較したところ、AD患者におけるmiR-1の有意な低下ならびにmiR-663aの有意な上昇がみられた（図2）。

ADとともに、タウを主病変とするタウオパチーに分類される認知症として前頭側頭葉型認知症（frontotemporal dementia; FTD）が挙げられる。FTD患者の脳検体を用いたsmall RNA-seq datasetを再解析したところ、miR-21の発現レベルはコントロール群とFTD患者群で特に有意差はみられなかったが、miR-1の発現レベルは有意に低下していた（図3）。一方で、miR-663a、miR-5787は検出されなかった。運動により変動しミトコンドリア呼吸鎖超複合体の制御にかかわる

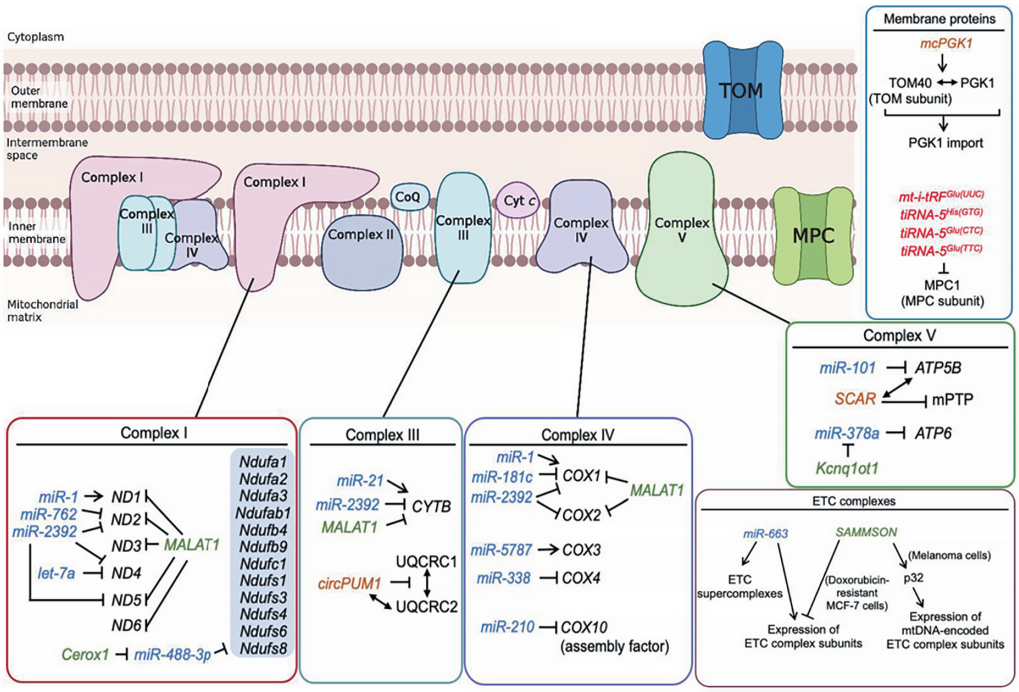

図1．非コードRNAによるミトコンドリア電子伝達系・酸化的リン酸化の制御

Fig.1. Regulation of mitochondrial electron transport chain and oxidative phosphorylation by non-coding RNAs.（Kobayashi A, et al.（2023）: Int J Mol, 24（11）, 9414.）

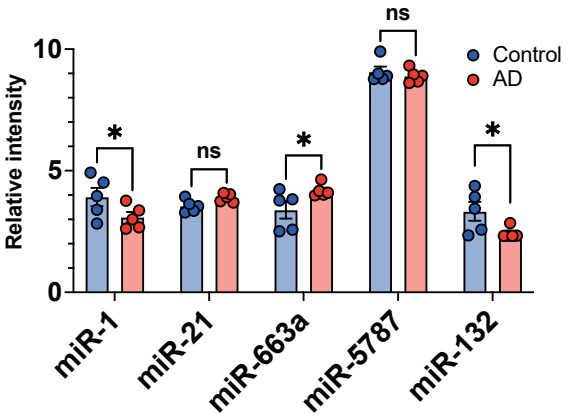

図 2．運動により変動しミトコンドリア呼吸鎖超複合体の制御にかかわる miRNA（miR-1, miR-21, miR-663a, miR-5787）のコントロール群と AD 患者群の前頭皮質における発現レベルの比較

Fig.2. The expression levels of miRNAs involved in exercise-induced fluctuations and regulation of mitochondrial respiratory chain complexes（miR-1, miR-21, miR-663a, miR-5787）in Alzheimer's disease（AD）patient prefrontal cortex.

Control subjects（n = 5）are in blue and AD patients（n = 5）are in red. Unpaired two-tailed Student's t-test was performed. All graphs show mean ± standard error of the mean（SEM）. *$P < 0.05$, ns = not significant.

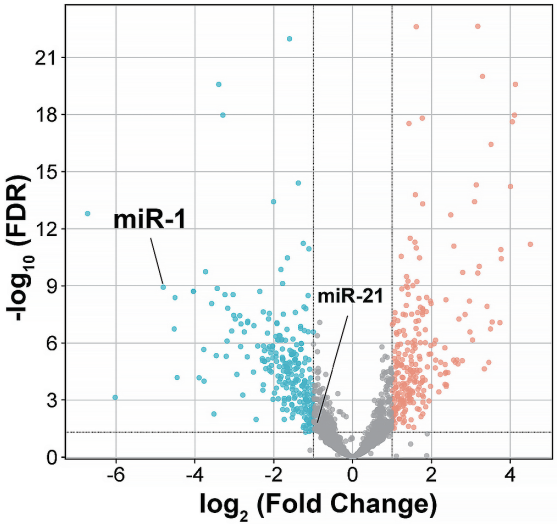

図 3．Small-seq のコントロール群と FTD 患者群の前頭葉における発現レベルの比較

Fig.3. Reanalysis of published small-RNA-seq data on FTD frontal cortex compared with control.

Volcano plots of frontal cortex small RNA-seq comparing FTD（n = 13）and control subjects（n = 12）with significantly downregulated and upregulated small RNAs in blue and red, respectively. Differential expression was evaluated using the DESeq2 Wald test with FDR adjustment. Dataset E-MTAB-12731, batch 1 reanalyzed.

miRNA のうち、タウを主病変とする異なる認知症患者の脳組織において一貫して miR- 1 の発現レベルが有意に低下していた（図 2， 3 ）。

C．miRNA mimic の細胞内導入によるミトコンドリア呼吸鎖超複合体形成制御の評価

上記の miRNA のシークエンスを用いて人工的に合成した miRNA mimic を神経細胞内に導入し、ミトコンドリア呼吸鎖超複合体形成に影響を及ぼすかを評価した。ミトコンドリア呼吸鎖超複合体形成の制御を検出する目的で以前に確立した FRET 現象を活用したライブイメージングによる FRET シグナルの定量手法[4] を用いた。ミトコンドリア呼吸鎖超複合体が形成されると、cGFP タグ付き複合体 I の励起により、DsRed-Monomer タグ付き複合体 IV からの発光信号が得られる仕組みになっている（図 4 a）。

miR-1、miR-21、miR-663a、miR-5787の人工的に合成した miRNA mimics を細胞内導入した神経細胞における FRET シグナルの定量を行ったところ、miR-1 mimics を細胞内導入した神経細胞においては、濃度に相関して FRET シグナルの増加がみられた（図 4 b）。また、40 nM の miR-1 mimics を細胞内導入した群では、陽性コントロールに近い FRET シグナル値が計測され、ミトコンドリア呼吸鎖超複合体の形成促進が示唆された。

ヒト iPS 由来神経細胞で AD、FTD といったタウを主病変とする認知症のモデルの Tau P301S 変異細胞に対して miR-1 mimics を細胞内導入し、神経細胞の形態変化・経時的な動態解析をしたところ、神経突起の長さや分岐部位の数量が miR-1 mimics を細胞内導入した群で有意に増加した（図 4 c）。また、Tau P301S 変異細胞の生存率の変化についても計測したところ、miR-1 mimics を細胞内導入した群で有意に上昇した（図 4 d）。

考　　察

当初の研究計画では、上記の *in vitro* 実験と並行して、AD モデルマウスを用いた運動介入研究を実施する予定であった。具体的には、AD モデルマウスにトレッドミルによる走行試験を数週間にわたり継続的に実施し、運動前後における脳内ミトコンドリア呼吸鎖超複合体の形成を制御する miRNA 発現量の変化、ミトコンドリア機能および ATP 産生能の変化、ならびに神経保護作用の

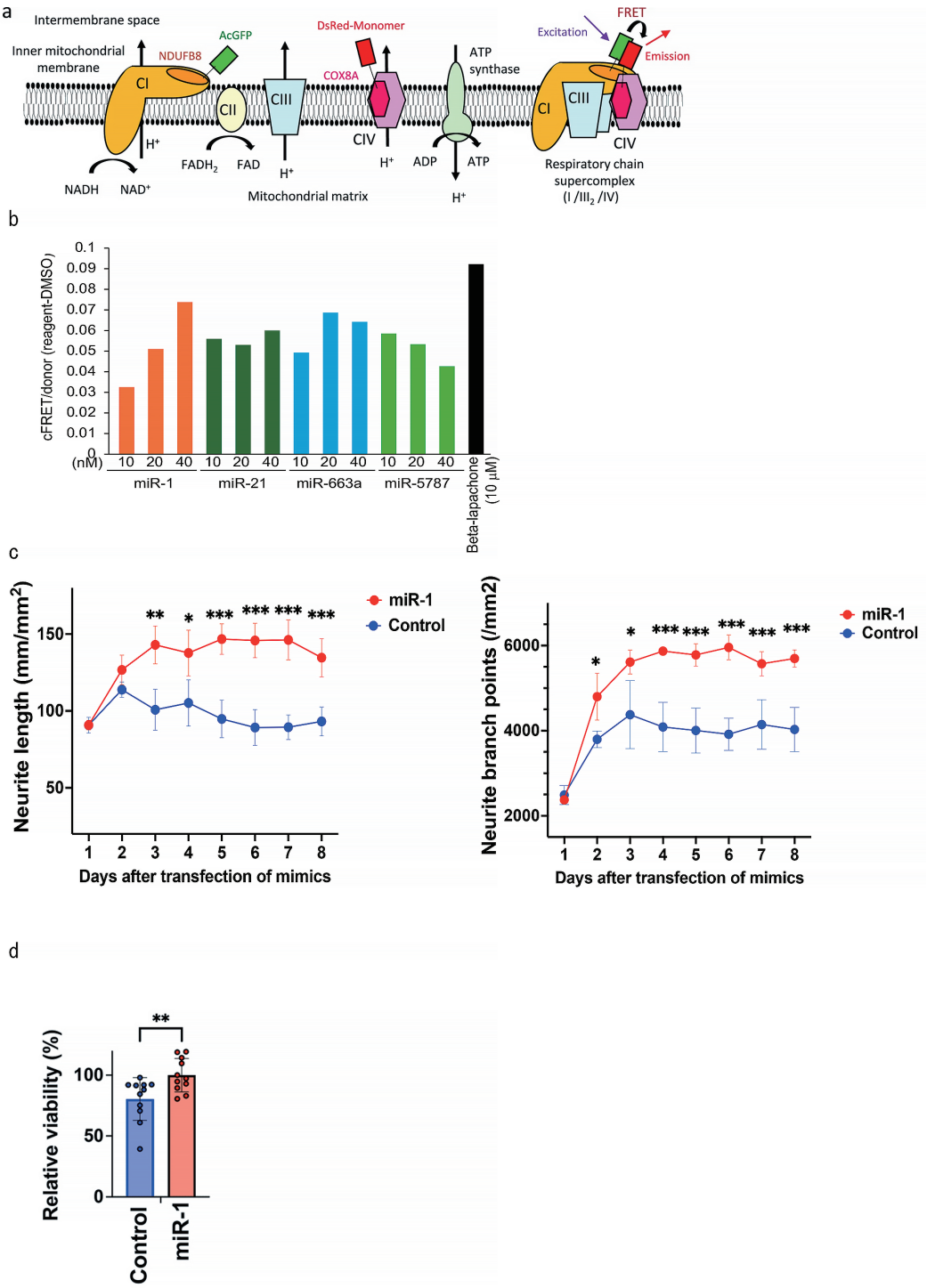

図 4．運動により変動しミトコンドリア呼吸鎖超複合体の制御にかかわる miRNA による細胞内ミトコンドリア呼吸鎖超複合体形成の制御と神経細胞の形態変化

Fig.4. Regulation of intracellular mitochondrial respiratory chain complex formation by miRNAs involved in the control of mitochondrial respiratory chain complexes, which fluctuate with exercise.

(a) Intermolecular FRET biosensors of mitochondrial respiratory chain complex detect supercomplex formation in cells[4]. (b) cFRET/donor signals detected in miRNA mimics (miR-1, miR-21, miR-663a, miR-5787) transfected cells with various concentrations (10, 20, 40 nM). (c) Tau P301S human neurons transfected with miR-1 mimics were monitored for neurite length and neurite branch points over 8 days by live-cell imaging (n = 3 biological replicates/group). (d) Neuronal viability was assessed by Alamar Blue assay 8 days after transfection (n = 11 biological replicates/group). $*P < 0.05$, $**P < 0.01$, $***P < 0.001$.

評価を経時的にモニタリングすることで、miRNAを介した運動による認知症予防効果を *in vivo* レベルで検証することを目的としていた。また、認知症モデルマウスへのmiRNA mimics/阻害薬の脳内投与による脳組織の病理学的改善および認知症症状の改善効果についても、本研究期間内に評価する予定であった。

しかしながら、研究助成期間中にトランプ政権下の新規政策によりハーバード大学に対する研究費制限が発生し、マウスのオーダリングが一定期間凍結したため、上記の動物実験を予定どおりに実施することができなかった。このため、本助成期間内の研究はヒト死後脳検体を用いたmiRNA解析およびヒトiPSC由来神経細胞を用いた *in vitro* 実験を新規に進めることとなった。マウスを用いた運動介入研究については、今後の研究課題として引き続き取り組む予定である。

本研究では、運動により発現が上昇すると報告されており、ADおよびFTDの認知症患者の脳組織内で低下しているmiR-1がミトコンドリア呼吸鎖超複合体の形成制御に関与する可能性について検討した。その結果、miR-1 mimicを細胞内に導入した神経細胞において、ミトコンドリア呼吸鎖超複合体の形成が促進されることが示された。これまでに、運動により脳内のmiR-1が増加することが報告されており、本研究の結果と合わせて、運動によるmiR-1の上昇が神経細胞内のミトコンドリア呼吸鎖超複合体の形成を促進する可能性が示唆された。また、認知症モデルのヒトiPSC由来神経細胞において、miR-1の上昇が神経細胞の形態的変化を引き起こし、神経保護作用を示すことが明らかとなった。しかしながら、miR-1の増加が神経細胞内のミトコンドリア機能およびATP産生能の向上に寄与するか、またmiR-1を脳内投与した認知症モデルマウスにおいて脳組織の病理学的改善や認知症症状の改善がみられるかどうかについては、今後の検証が必要である。また、miR-1をターゲットにした運動による認知症予防効果を示すためには、高齢マウスにおける脳内miR-1の測定、トレッドミルによる走行試験を実施し、運動前後のmiR-1の変化、ミトコンドリア機能およびATP産生能の変化、ならびに認知症症状の有無を経時的にモニタリングする研究が必要である。更に、miR-1の上昇に伴うミトコンドリア呼吸鎖超複合体の形成促進が、呼吸鎖複合体Ⅰの形成または機能の促進によるものなのか、それとも各呼吸鎖複合体の発現量に変化がなく、ミトコンドリア呼吸鎖超複合体形成のみが促進されるのかを検証する必要がある。この点については、現在、miR-1 mimicを細胞内に導入した神経細胞からミトコンドリアを抽出し、BN-PAGEを用いて各呼吸鎖複合体の発現量を確認するとともに、miR-1 mimic導入によるミトコンドリア機能およびATP産生能の変化を検討している

総　　括

本研究では、運動による認知症発症予防効果のメカニズムとして、miR-1がミトコンドリア呼吸鎖超複合体の形成促進に寄与する可能性を明らかにした。これらの知見は、運動による認知症発症予防効果をミトコンドリアの機能制御という新たな視点から解明するための基盤となる。

謝　　辞

本研究は、公益財団法人明治安田厚生事業団の助成を受けて行われました。また、本研究の遂行に協力いただいた東京都健康長寿医療センター研究所老化機構部門システム加齢医学井上聡先生、竹岩俊彦先生に心より感謝申し上げます。

参 考 文 献

1）Bosetti F, et al.（2002）: Cytochrome c oxidase and mitochondrial F1F0-ATPase（ATP synthase）activities in platelets and brain from patients with Alzheimer's disease. Neurobiol Aging, **23**（3）, 371-376.

2）Calvani R, et al.（2013）: Mitochondrial pathways in sarcopenia of aging and disuse muscle atrophy. Biol Chem, **394**（3）, 393-414.

3）García-Mesa Y, et al.（2012）: Melatonin plus physical exercise are highly neuroprotective in the 3xTg-AD mouse. Neurobiol Aging, **33**（6）, 1124.e13-1124.e29.

4）Kobayashi A, et al.（2023）: A FRET-based respirasome assembly screen identifies spleen tyrosine kinase as a target to improve muscle mitochondrial respiration and exercise performance in mice. Nat Commun, **14**（1）, 312.

5）Marques-Aleixo I, et al.（2015）: Physical exercise improves brain cortex and cerebellum mitochondrial bioenergetics and alters apoptotic, dynamic and auto

(mito)phagy markers. Neuroscience, **301**, 480-495.

6) Maurer I, et al. (2000): A selective defect of cytochrome c oxidase is present in brain of Alzheimer disease patients. Neurobiol Aging, **21**(3), 455-462.

7) Navarro A, et al. (2004): Rat brain and liver mitochondria develop oxidative stress and lose enzymatic activities on aging. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, **287**(5), R1244-R1249.

8) Zhang J, et al. (2025): Effect of exercise on regulating miRNA expression in brain health and diseases. Biology (Basel), **14**(6), 729.

9) Zhao N, et al. (2023): Treadmill exercise improves PINK1/Parkin-mediated mitophagy activity against Alzheimer's disease pathologies by upregulated SIRT1-FOXO1/3 axis in APP/PS1 mice. Mol Neurobiol, **60**(1), 277-291.

第 39 回若手研究者のための健康科学研究助成成果報告書
2023 年度 *pp*.60〜66（2026.6）

運動イメージの客観的評価法の確立と新規運動イメージ介入法の効果検証

竹　中　悠　真*　　佐々木　亮　樹*　　菅　原　憲　一*

ESTABLISHING AN OBJECTIVE EVALUATION METHOD FOR MOTOR IMAGERY AND VERIFYING THE EFFECTIVENESS OF A NOVEL MOTOR IMAGERY INTERVENTION METHOD

Yuma Takenaka, Ryoki Sasaki, and Kenichi Sugawara

Key words: motor imagery, transcranial magnetic stimulation, electroencephalography, motor performance.

緒　　言

運動イメージ（motor imagery; MI）は、実際の運動を伴わない、脳内における内的な運動の想起と定義されている。MI は、実際に運動を行う以外の補完的な練習方法としてリハビリテーションやスポーツ等の分野で使用されている。しかし、一般的に実際に練習を行う場合と比較して、MI を用いた練習はその効果が低いことが知られている。この要因の 1 つとして、MI が、その定義から、第三者が知覚することができず、MI の正確性等の評価を行えないことが挙げられる。現状、MI の評価法は、質問紙等による主観的な評価に依存している。したがって、MI の正確性等を客観的に評価する方法を確立することは、MI を用いた練習効果を向上するうえで極めて重要である。

MI に関する神経生理学的研究では、MI が実際の運動と類似する脳領域の活動を引き起こすこと[3)] や MI 中に MI に関与する筋の皮質脊髄路興奮性が増大すること[9)]、脳波に特異的な変化を誘発することが報告されている[10)]。また、特定の運動スキルをもつ熟練者と非熟練者に関する研究では、MI 中の脳活動や運動パフォーマンスに与える影響が異なることが示されている。これは、MI の正確性等の質がスキルレベルによって異なることを示すと考えられる。

以上のことを踏まえ、本研究では、MI にかかわる神経生理学指標が、MI の正確性等を客観的に評価する手法となる可能性を検証した。この目的のため、3 つの実験系を実施した。実験 1 では、皮質脊髄路興奮性の評価を運動課題の MI を用いた練習前後で行い、練習による運動パフォーマンスの向上の程度と皮質脊髄路興奮性の変化の程度の相関を検討した。実験 2 では、実験 1 の結果を踏まえ、運動課題を修正したうえで、脳波の評価を、MI を用いた練習前後および練習中に実施し、それらの変化と練習による運動パフォーマンスの向上の程度の関連を検討した。実験 3 では、スキルレベルと MI 中の皮質脊髄路興奮性の関連に着目し、任意の 2 時点の MI 中の皮質脊髄路興奮性の比を指標とし、実際に運動課題を練習した前後で評価し、その有効性を検討した。いずれにおい

* 神奈川県立保健福祉大学大学院保健福祉学研究科　Kanagawa University of Human Services, Kanagawa, Japan.

ても、運動パフォーマンスの変化量と神経生理学的指標の変化量には相関および関連があると仮説を立てた。

方　　法

A．対象

対象はすべて若年健常者とした。実験 1 には合計18名（女性12名：20.7 ± 0.55歳）、実験 2 には合計38名（女性27名：21.6 ± 1.46歳）、実験 3 には21名（女性12名：21.0 ± 2.01歳）が参加した。いずれの実験においても対象者は、各実験における運動課題を遂行することができる者とし、該当する手指および腕に怪我など何らかの動かしにくさがある場合は除外した（この基準で除外された者はいなかった）。また、実験 1 と 3 においては、経頭蓋磁気刺激（transcranial magnetic stimulation; TMS）を使用するため、その安全な使用に関するスクリーニング質問紙（①幼少期の熱性けいれん，②喘息，③頭部外傷，④脳外科手術，⑤体内に金属がある，⑥呼吸・心疾患，⑦精神疾患，⑧妊婦，⑨喘息のようなストレスで悪化する疾患，⑩心臓ペースメーカー，⑪中枢神経系疾患，⑫整形外科疾患，⑬高血圧の既往がある場合，⑭てんかんの家族歴を有する場合）において該当する場合には除外した。加えて、実験 1 と 2 は運動課題が類似するため、実験 1 に参加した場合は実験 2 には参加できないものとした。結果として、 3 件の実験に重複して参加した者はいなかった。それぞれの実験の実施時期については、実験 1 から 3 の順に各実験の結果を参照しつつ実施した。本研究に関して、神奈川県立保健福祉大学研究倫理審査委員会および英国 Newcastle 大学研究倫理審査委員会の承認を受けたうえで実施した（承認番号：保大第18-23-46，保大第10-24-8，application reference：63072）。なお、参加者に対して事前に研究の趣旨と目的を文書および口頭にて説明し、書面による同意を得て実施した。

B．使用機器

TMS（Magstim Co, Whitland, UK）および表面筋電図（electromyography; EMG, LabChart 8 および Labchart 26T, AD Instruments Pvt Ltd, Bella Vista, NSW, Australia）は実験 1 、 3 で使用した。TMS は一次運動野を刺激し、標的筋（実験 1 ：非利き手，実験 3 ：利き手の第一背側骨間筋）から皮質脊髄路興奮性を反映する運動誘発電位（motor evoked potential; MEP）を記録した。刺激強度は、安静時に50 μV 以上の MEP が10回中 5 回以上生じる最低強度（安静時閾値）の1.2倍とした。EMG はサンプリング周波数 4 kHz で記録し、バンドパスフィルタとして実験 1 では 5 〜2000 Hz、実験 3 では機器の制限により 5 〜1000 Hz を適用した。実験 2 では、64 ch 脳波計（electroencephalography; EEG）を用い、課題練習前後の安静時脳活動を記録した。取得したデータはフィルタ処理（0.5〜200 Hz およびノッチフィルタ）およびノイズ除去後、θ 波（ 5 〜 7 Hz）、α 波（ 8 〜12 Hz）、β 波（15〜29 Hz）の 3 帯域における平均パワーを算出した。

C．実験 1（図 1 A，B）：明示的系列反応時間課題と TMS による皮質脊髄路変化の関連

タッチパネルモニタ上に提示される 4 つの刺激に対応するボタンを、非利き手の示指から小指までを用いてできるだけ速く押下する系列反応時間課題（serial reaction time task; SRTT）を使用した。16回の点灯を 1 シーケンスとし、 3 回の反復を 1 セット、 5 セットを 1 ブロックとした。セット間には12秒の休憩を挟んだ。参加者には、実験開始前に学習可能なシーケンスがあることを明示した。練習は MI を用いて 4 ブロック実施し（ブロック間休憩 2 分）、その前後で反応時間（reaction time; RT）と MEP の評価を行った。評価では実動作 1 セットに加え、自動点滅する刺激に合わせた MI 中の MEP（示指対応ボタン点滅時：MI MEP）および安静時（rest MEP）MEP を各16個記録した。また、MI 能力の評価として the Kinesthetic and Visual Imagery Questionnaire の短縮版（KVIQ-10）および Japanese version of the Movement Imagery Questionnaire-Revised second version（JMIQ-RS）を実施し、合計得点、視覚イメージスコア（KVIQ-V，JMIQ-RS-V）、筋感覚イメージスコア（KVIQ-K，JMIQ-RS-K）を算出した。解析では、誤試行を除外した RT の中央値の変化量（difference RT; dRT）、TMS アーチファクト直前100 ms 区間の RMS（root mean square）値、練習前後の MEP

振幅比（MI ratio，rest ratio）を算出した。

D．実験 2（図 1 C）：黙示的 SRTT と安静時 EEG パワー変化の関連

シーケンス（16点灯× 6 反復で 1 セット）の存在を伏せた学習条件下での SRTT を実施した。参加者は、MI 練習、ボタン点滅を数える観察、Control（30分休憩）の 3 条件を 1 週間以上の間隔を空けてすべて実施した。練習ではシーケンスを含む SRTT を 5 セット行い、その前後で安静時脳波を計測した。追加条件として、実際に練習を行う条件（physical）を実施した。これには当初の 3 条件を実施していない参加者が参加した。この条件では練習において、実際に課題を行うことで練習した。

練習後のパフォーマンス評価として、シーケンスあり試行とランダム試行を各 1 セット実施し、誤試行を除外した RT の中央値および dRT を算出した。加えて、練習前後で記録した安静時脳波における θ（5 ～ 7 Hz）、α（8 ～12 Hz）、β（15～29 Hz）の 3 つの周波数帯の平均パワーを算出し、それぞれの練習前後の差も計算した。

E．実験 3（図 1 D-F，図 2）：スピードスタッキングと TMS による皮質脊髄路変化の関連

右手のみによる 3 - 6 - 3 個のカップを用いたスピードスタッキング課題を実施した。パフォーマンス指標として、手がタイマーを離れてから課題を完了し戻るまでの時間（movement time; MT）を計測した。実験は 4 回の評価（Test 1 - 4）で構成し、Test 1 - 2 間および Test 3 - 4 間に20分間の休憩、Test 2 - 3 間に100試行の実動作練習を行った。各評価では、MT、MI による遂行時間（imagined MT; IMT）、および動画視聴下の MI 中の MEP を記録した。MEP は、開始前の静止タイミング（MEP-imagine rest）と、右側のカップを掴む瞬間（MEP-imagine active）の 2 時点で各30試行（評価ごとに60個）記録した。なお、失敗試行は解析から除外した。試行ごとに、MEP-imagine active を MEP-imagine rest で除し、MEP ratio を算出した。

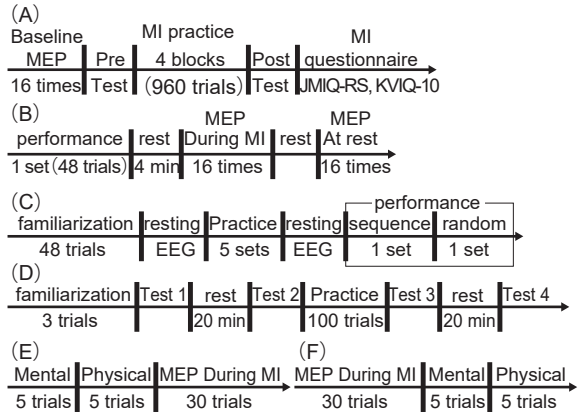

図 1．実験手順

Fig.1. Experimental procedures.

(A) Overall experimental procedure for Experiment 1. (B) Test procedure for Experiment 1. (C) Procedure for Experiment 2. (D) Overall procedure for Experiment 3. (E) Test procedure for Test 1 of Experiment 3. (F) Test procedure for Tests 2-4 of Experiment 3.

MEP; motor evoked potential, MI; motor imagery, JMIQ-RS; Japanese version of the Movement Imagery Questionnaire-Revised second version, KVIQ-10; the Kinesthetic and Visual Imagery Questionnaire, EEG; electroencephalography.

F．統計解析

統計解析には Statistical Package for Social Science（SPSS）ver.26を使用し、有意水準は 5 %とした。また、多重比較の調整には holm 法を使用した。調整後の *P* 値は *P* adj と示した。

実験 1 の RT と MEP、RMS の解析には一般化線形混合モデル（generalized linear mixed model; GLMM）を使用した。RT においては、固定効果を評価時期とし、MEP と RMS では、評価時期に加えて、計測条件（rest，MI）およびこれらの交互作用とした。変量効果は共通で、対象者とした。また、参加者ごとの評価時期間の dRT と MEP 関連指標（練習前後の MI MEP，rest MEP，MI ratio，rest ratio）との相関は Pearson の相関係数、dRT と質問紙関連指標との相関は Spearman の相関係

図 2．実験 3 で使用した動画の一部

Fig.2. A sequence of the video used in Experiment 3. Participants were required to stack the cups in 3-6-3 formation from the left to right (upstacking), and then return them to their original positions (downstacking).

数を算出した。

実験 2 の RT の解析にも GLMM を使用した。固定効果は、課題条件（シーケンス，ランダム）と練習条件（MI，観察，Control，Physical）およびこれらの交互作用とし、変量効果は対象者とした。安静時脳波については、練習前後の各周波数帯域の平均パワーを permutation 検定で比較した。この比較には Fieldtrip toolbox を使用した。dRT と安静時脳波における、一次運動野周辺領域の 9 つのチャンネル（FT7，FC5，FC3，FC1，FCz，FC2，FC4，FC6，FT8）の各周波数帯域の練習前後の差については、ロバスト回帰分析を行った。

実験 3 の MT と IMT、MEP、MEP ratio の解析にも GLMM を使用した。固定効果は、MT と IMT では、課題条件（MT，IMT）と評価時期（Test 1 - 4）およびこれらの交互作用とし、MEP 振幅では、刺激時期（MEP-imagine rest，MEP-imagine active）と評価時期（Test 1 - 4）、およびそれらの交互作用、MEP ratio では評価時期（Test 1 - 4）とした。変量効果はすべての GLMM で共通して対象者とした。

実験 1 から 3 すべての GLMM において、目標分布はガンマ、リンク関数は log とし、除外した以外のすべての試行を使用した。反復測定共分散構造は一次自己回帰とした。

結　　果

A．実験 1（表 1 ）

RT では、GLMM の結果、条件の有意な主効果が認められた（$F(1,327) = 188.7$, P adj < 0.001）。また、RMS については有意な主効果および交互作用は認められなかった（計測条件：$F(1,32) = 0.03$, $P = 0.86$；評価時期：$F(1,28) = 1.74$, $P = 0.20$；交互作用：$F(1,31) = 0.41$, $P = 0.53$）。MEP については、計測条件の主効果は有意だったが（$F(1,203) = 108.7$, P adj < 0.001）、評価時期および交互作用は有意ではなかった（評価時期：$F(1,176) = 4.95$, P adj $= 0.05$；交互作用：$F(1,199) = 0.90$, $P = 0.34$）。dRT と MEP 関連指標および質問紙関連指標との相関はいずれも有意ではなかった（すべて $P > 0.5$）。

B．実験 2（図 3 ）

RT は、GLMM の結果、課題条件の主効果と交互作用は有意であったが（課題条件：$F(1,4434) = 44.2$, P adj < 0.001；交互作用：$F(3,4430) = 5.48$, P adj < 0.01）、練習条件の主効果は有意ではなかった（$F(3,46) = 1.77$, $P = 0.17$）。交互作用についての事後検定の結果、ランダム試行では、Control 条件よりも MI 条件で有意に RT が短かった。また、観察条件と Control 条件のみランダム試行の RT がシーケンス試行よりも有意に増大した。安静時脳波についての比較の結果、いずれの周波数帯域

表 1．dRT との相関分析の結果
Table 1. Results of the dRT correlation analysis.

Variables	Pearson's r	*P* value	Adjusted *P* value	Variables	Spearman's ρ	*P* value	Adjusted *P* value
MEP baseline	r = 0.41	0.16	−	JMIQ-RS-V	$\rho = 0.47$	0.05	0.54
Rest MEP at Pre test	r = 0.27	0.38	−	JMIQ-RS-K	$\rho = 0.25$	0.32	−
MI MEP at Pre test	r = 0.35	0.25	−	JMIQ-RS-total	$\rho = 0.40$	0.10	−
Rest MEP at Post test	r = 0.40	0.18	−	KVIQ-V	$\rho = -0.01$	0.96	−
MI MEP at Post test	r = 0.36	0.22	−	KVIQ-K	$\rho = 0.16$	0.54	−
Rest MEP ratio	r = 0.19	0.54	−	KVIQ-total	$\rho = 0.10$	0.70	−
MI MEP ratio	r = 0.09	0.77	−				

P values were adjusted using holm's method. MEP; motor evoked potential, MI; motor imagery, JMIQ-RS; Japanese version of the Movement Imagery Questionnaire-Revised second version, KVIQ; the Kinesthetic and Visual Imagery Questionnaire, V; visual imagery sub-score, K; kinesthetic imagery sub-score.

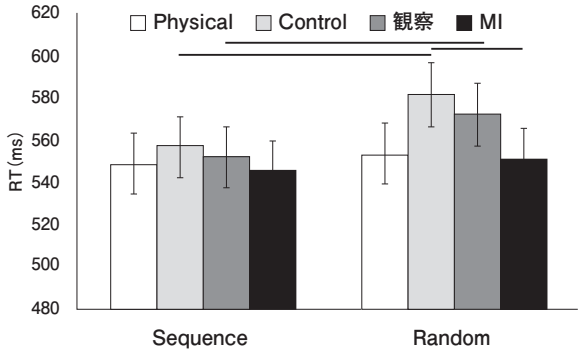

図 3．実験2の反応時間
Fig.3. RTs in Experiment 2.
The black lines on the bars indicate significant difference（$P < 0.05$）. MI; motor imagery.

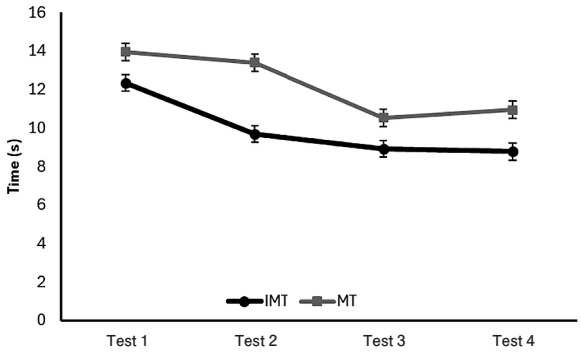

図 4．実験3の動作時間（MT）とイメージによる動作時間（IMT）
Fig.4. Movement time（MT）and imagined MT（IMT）in Experiment 3.
The black line with circles represents MT, while the gray line with squares represents IMT.

においても練習前後における有意な変化は認められなかった（すべて P adj > 0.05）。ロバスト回帰分析の結果、MI 条件の練習前後の FC 5 のβパワーの差と dRT の間にのみ有意な関連を認めた（P adj < 0.05）。

C．実験 3（図 4 ）

MT と IMT の GLMM の結果、課題条件、評価時期、および交互作用すべてが有意であった（課題条件：$F(1,563) = 206.68$, P adj < 0.001；評価時期：$F(3,188) = 60.77$, P adj < 0.001；交互作用：$F(3,392) = 7.93$, P adj < 0.01）。事後検定の結果、MT では、Test 3 および Test 4 が Test 1 および Test 2 よりも有意に短かった（すべて P adj < 0.05）。IMT においては、Test 2 、Test 3 が Test 1 よりも有意に短縮し、Test 4 は Test 2 よりも短縮した（すべて P adj < 0.05）。一方で、Test 2 と Test 3 および Test 3 と Test 4 の間では有意な変化は認められなかった（P adj > 0.05）（図 4 ）。MEP については、有意な刺激時期と評価時期の主効果が認められたが（課題条件：$F(3,1034) = 8.35$, P adj < 0.001；評価時期：$F(1,1149) = 73.43$, P adj < 0.001）、交互作用は有意ではなかった（交互作用：$F(3,1098) = 0.38$, $P = 0.77$）。事後検定の結果、刺激時期では、MEP-imagine rest が、有意に振幅が大きく、評価時期では、Test 1 が他の Test よりも大きく（すべて P adj < 0.05）、Test 2 と Test 3 、Test 4 の間では有意な変化は認められなかった（P adj > 0.05）。MEP ratio では、有意な主効果を認めなかった（$F(3,741) = 1.70$, $P = 0.167$）。

考　　察

A．実験 1 ：MEP の変化と明示的 SRTT のパフォーマンスの変化は相関しない

実験 1 では、MI 中の皮質脊髄路興奮性の変化（MEP の変化）が、MI を用いた明示的 SRTT の練習による運動パフォーマンスの変化と相関するかを検証した。その結果、MI による練習で、RT が有意に短縮し、MEP においては、MI 中に安静時よりも振幅が増大したことから参加者が MI を実施していたと考えられた。しかし、練習前後で MEP は変化せず、パフォーマンスの指標である dRT と MEP に相関は認められなかった。これは、明示的 SRTT が、運動出力そのものよりも、そのシーケンスの順序の記憶や予測といった認知的な処理に多分に依存する課題であることに起因すると考えられた。これは、MI が認知的な要素を含む課題の学習初期でも明示的な知識の獲得を通じて運動パフォーマンスを向上させることに有効であるとする報告[2] からも支持される。同様に dRT と質問紙の結果についても相関は認められなかった。MI 能力が高い人ほど、MI による練習の効果も高いと報告[4] があるが、この実験における課題の認知的要素の影響によりマスクされた可能性がある。したがって、実験 2 においては、参加者に事前にシーケンスがあることを伝えない黙示的 SRTT を実施した。

B．実験 2 ：MI による練習で黙示的 SRTT のパフォーマンスは向上しない可能性

実験 2 では、課題練習前後の安静時脳波の変化

が、黙示的 SRTT のパフォーマンスの変化と関連するかを検証した。前提として、課題の練習においては、シーケンス試行を用いることで、パフォーマンスの評価において、シーケンス試行の RT が短縮し、ランダム試行の RT はシーケンス試行よりも長くなる。しかし、この実験のパフォーマンスの評価において、シーケンス試行の RT は、練習条件による差が認められず、Physical 条件および MI 条件ではシーケンス試行とランダム試行の RT にも差が認められなかった。シーケンス試行において練習を実施していない Control 条件と有意な RT の差が認められないことから、MI 条件に期待していた潜在的な系列学習が生じていない可能性が考えられた。一方で、Physical 条件と MI 条件でシーケンス試行とランダム試行に差がないことは、系列学習ではなく、刺激反応連関の強化が生じている可能性を示すものと考えられた。脳波についても評価した各周波数帯域において、いずれの練習条件でも練習前後で有意な変化が認められなかった。練習の前後、つまり運動学習によって、安静時脳波に変化が生じることが報告されている[6]が、本実験での練習量や課題の難易度、安静時の覚醒度の影響によりばらつきが増大した可能性がある。MI 条件において dRT と FC5のβパワーに有意な関連が認められ、MI を用いた練習における効果の指標として、FC5のβパワーの変化が有効である可能性がある。しかし、上述のように、MI 条件では系列学習が生じたかどうかが不明であること、練習前後で安静時脳波パワーに有意な変化がないことから、解釈には慎重になる必要がある。実験 1 および 2 を踏まえて、MI 中に神経生理学的指標の記録が行える TMS を使用し、SRTT よりも運動の要素が大きく、1 試行の時間が相応に長いスピードスタッキング課題[1]を採用し、最終的な検討を実施した。

C．実験 3 ：MEP を用いた MI の評価では評価のタイミングが重要

MT は Test 2 と比較して Test 3 で有意に短縮し、練習によるパフォーマンス向上が確認された。一方、IMT は Test 1 から 2 、更に 3 にかけて段階的に短縮した。これは、Test 1 時点では試行回数が少なく未習熟であったのに対し、Test 2 時点では経験値の蓄積により MI が鮮明化したためと考えられる。加えて Test 2 から 3 にかけては練習を重ねたことで、課題パフォーマンスの向上に伴い、減少したと考えられた。Test 3 から 4 にかけて変化が認められなかった点については、短時間休憩による early boost[8]を意図した設定であったが、パフォーマンスが限界に達した（天井効果）、あるいは蓄積した疲労が影響した可能性がある。MEP は、まず、MEP-imagine rest が MEP-imagine active よりも有意に大きかった。MI 中の MEP は想起する筋出力に応じて増大する[7]が、一方で、MI を行う直前でも MEP が増大することが報告されている[5]。本結果は、後者の MI を行う直前の MEP 増大の程度が、MI 中の筋出力の差を反映して MEP が増大する程度を上回った可能性が考えられる。また、Test 1 、 2 、 3 の順に減少していったことに関しては、課題に慣れ、練習を重ねたことで、対象筋を支配する一次運動野の活動が最適化される神経効率化が考えられる。これは、パフォーマンスに変化がなかった Test 3 と 4 の間で、MEP も同様に変化しなかったことからも支持される。MEP ratio については、評価時期間で有意な変化を認めなかった。これは、MEP ratio の算出元である MEP の変化が、MI 開始直前（MEP-imagine rest）が MI 中（MEP-imagine active）よりも増大していたことに起因する結果であると考えられる。一方で、MEP 自体は評価時期に応じて減少したことに対して、いずれの評価時期間でも差がなかったことから、評価指標としては安定していることを示唆しているとも考えられる。つまり同じ課題において、MEP-imagine rest のタイミングを、MI 開始直前ではなく、動画上で課題が完了し、スタートポジションに戻り、数秒経過した時点にする等の変更を行うことで、真に MEP が MI の客観的評価法となるかを検討することができる。

本研究全体の限界点として、対象者数が少なく、弱い相関を見逃している可能性がある。しかし、本研究は全体として、MI の正確性等の質を客観的に評価する方法を探索するものであり、その基盤としての役割は十分に果たせると考えられる。また、今後の課題として、上述のように、MEP

が真に MI の客観的評価法となるかを検討する必要があること、そしてその評価指標が試行した運動課題以外でも有効であるかを検討していく必要がある。

総　　括

本研究では、TMS および EEG を用いた神経生理学的指標が、MI の客観的評価法となるかを検討した。結果として、運動課題の設定や神経生理学的評価のタイミング等の課題により、客観的評価法の確立には至らなかった。しかし、本研究を通じて、MI の客観的評価に適した運動課題（例：スピードスタッキング課題）と、評価が困難な可能性がある課題（例：SRTT）の特性が明らかになったことは、今後の研究における重要な知見である。今回の実験結果を踏まえ、今後は神経生理学的指標の評価タイミング（特に MEP-imagine rest の設定）を最適化した再検証が必要である。プロトコルの修正により、MI に伴う皮質脊髄路の興奮性変化をより正確にとらえることで、真に実用的な MI 客観的評価法の確立を目指すべきである。

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申し上げます。

参 考 文 献

1）Binks JA, et al.（2023）: Motor learning without physical practice: the effects of combined action observation and motor imagery practice on cup-stacking speed. Psycol Sport Exerc, **68**, 102468.

2）Frank C, et al.（2024）: Learning motor actions via imagery - perceptual or motor learning? Psychol Res, **88**, 1820-1832.

3）Hardwick RM, et al.（2018）: Neural correlates of action: comparing meta-analyses of imagery, observation, and execution. Neurosci Biobehav Rev. **94**, 31-44.

4）Krüger B, et al.（2024）: The multisensory nature of human action imagery. Psychol Res, **88**, 1870-1882.

5）Kumru H, et al.（2008）: Motor cortex excitability changes during imagery of simple reaction time. Exp Brain Res, **189**, 373-378.

6）Lum JAG, et al.（2023）: Resting state electroencephalography power correlates with individual differences in implicit sequence learning. Eur J Neurosci, **58**, 2838-2852.

7）Mizuguchi N, et al.（2013）: Modulation of corticospinal excitability dependent upon imagined force level. Exp Brain Res, **230**（2）, 243-249.

8）Muellbacher W, et al.（2002）: Early consolidation in human primary motor cortex. Nature, **415**, 640-644.

9）Takenaka Y, et al.（2023）: Corticospinal excitability changes during muscle relaxation and contraction in motor imagery. Eur J Neurosci, **58**（8）, 3810-3826.

10）Villabona Orozco MP, et al.（2025）: Investigating mu and alpha oscillations as indicators of intra-individual success and inter-individual ability in motor imagery performance. Front Psychol, **16**, 1598196.

第 39 回若手研究者のための健康科学研究助成成果報告書
2023 年度 *pp*.67～71（2026.6）

エネルギー摂取量の増加が筋肥大を誘導するメカニズムの解明
―臓器連関の視点からの解析―

三　浦　　征[*,**]　冨　賀　裕　貴[**,***]　川　中　健太郎[**,***]

MECHANISMS OF MUSCLE HYPERTROPHY INDUCED BY ENERGY SURPLUS: AN INTER-ORGAN CROSSTALK PERSPECTIVE

Ikuru Miura, Yuki Tomiga, and Kentaro Kawanaka

Key words: muscle hypertrophy, adipose tissue, energy surplus, organ cross talk.

緒　　言

骨格筋は体重の約40% を占める生体最大の臓器であり、運動や身体活動の中心的な役割を担っている。骨格筋量の増加は、筋発揮パワーを高め、運動パフォーマンスの向上に寄与することから、スポーツ競技者にとって重要である。また、高齢化の進展に伴い、中高齢者層における加齢性筋萎縮（サルコペニア）や身体虚弱（フレイル）の蔓延が社会問題として顕在化してきている。これらは、健康寿命の短縮や生命の質（quality of life; QOL）の低下に直結する疾病病態であり、早急な対策が求められている。以上より、骨格筋量を維持・増加させるための新しい方策を見いだし、普及していくことは多くの人々に恩恵をもたらすことが期待される。

競技スポーツの場では、筋量増加のための方法として「食トレ」などと称し、食事量、つまりエネルギー摂取量を増やすことが行われている。実際に、スポーツ栄養学分野のテキストにもこの方法が記載されているが[6)]、エネルギー摂取量の増加と筋量の増加を直接的に結びつける科学的根拠は十分とはいい難いのが現状である。

エネルギー摂取量の増加に伴い、体脂肪量も増加することはいうまでもない。脂肪組織はエネルギー貯蔵庫としての機能のみならず、アディポカインと呼ばれる生理活性物質を分泌する内分泌器官としての側面も有している。食の欧米化や慢性的な運動不足などに起因する肥満人口の増加は、高齢化と並ぶ社会問題として認識されていることもあり、インスリン抵抗性や炎症障害を誘導する悪玉のアディポカインに注目が集まりがちである。一方、近年では、レプチン、アディポネクチン、FGF-21など、複数のアディポカインが骨格筋に作用し、筋合成シグナルを活性化させることが報告されている[5,7)]。Collins らの報告では[1)]、遺伝子操作によって脂肪組織を除去したマウスは筋量が低下するものの、外的にレプチンを導入することで筋量減少が軽減されることが示されている。レプチンの代表的な作用は中枢神経系を介した食欲

*　筑波大学医学医療系　Institute of Medicine, University of Tsukuba, Ibaraki, Japan.
**　福岡大学身体活動研究所　Institute for Physical Activity, Fukuoka University, Fukuoka, Japan.
***　福岡大学スポーツ科学部　Faculty of Sports and Health Science, Fukuoka University, Fukuoka, Japan.

抑制であり、食事によってその血中濃度が上昇することが知られている。また、肥満者ではレプチンの血中濃度が慢性的に上昇することも報告されている[4)]。

以上の先行研究を踏まえると、エネルギー摂取量の増加は液性因子（アディポカイン）の分泌状態を変化させることで筋量増加を誘導する可能性が示唆される。本研究では、高脂肪食を異なる期間摂餌させたマウスの内臓脂肪移植を行うことで、エネルギー摂取量ならびに体脂肪量の増加が骨格筋量に与える影響を検討した。総エネルギー摂取量および移植する脂肪量を変化させるため、食事介入期間を 1 週間ごとに区切り、最大 4 週間行う実験を立案した。しかしながら、 2 週間を超える食事介入では、内臓脂肪量がレシピエントマウスの腹腔内容量の物理的な限界を超えてしまったため、食事介入期間を 2 週間までとした。

方　　法

A．実験動物

実験動物には、雄性 C57BL/6J マウスを使用した。マウスは室温23℃、湿度60％に保たれた飼育室で12時間ごとの明暗サイクル環境下にて飼育した。飼料ならびに飲水は自由摂取とした。すべての動物実験は、関連法規ならびに、福岡大学および筑波大学が定める動物実験規定に則り、それぞれの動物実験委員会に実験計画書を事前に提出し、承認を受けたうえで実施した（承認番号：福岡大学 2307025，筑波大学 25-400）。

B．エネルギー付加および精巣上体脂肪移植

エネルギー摂取量を増加させるため、 9 週齢の C57BL/6J マウスに 60 ％高脂肪食（high fat diet; HFD）を摂餌させた（ドナーマウス）。食事介入期間は最大 4 週間までを計画していたが、 2 週間を超える介入では移植可能な脂肪量の上限を超えてしまうことより、 1 週間または 2 週間の介入とした。介入期間終了後、下肢骨格筋を採取し、重量を測定した。同時に、精巣上体を摘出し、同週齢同系統のマウスの肝臓直下に移植した（レシピエントマウス）。対照群には、開腹処置のみを施した。その後、すべてのレシピエントマウスを通常食摂餌下で飼育し、 2 週間後に下肢骨格筋を採取し、重量を測定した。

C．細胞実験

9 週齢の C57BL/6J マウスを通常食摂餌群、 1 週間高脂肪食摂餌群、 2 週間高脂肪食摂餌に分け、 2 週間の食餌介入を行った。通常食摂餌群は 2 週間通常食（normal chow; NC）を摂餌させ、高脂肪食摂餌の 2 群には、介入終了から数えてそれぞれ 1 週間または 2 週間60% 高脂肪食を摂餌させた。介入終了後、すべてのマウスを安楽死させ、下大静脈より採血を行った。全血を遠心分離し、血清を回収した。血清は使用するまで−80℃で保存した。

細胞実験にはマウス筋芽細胞（C2C12）を使用した。細胞は、10％ウシ胎児血清（FBS）および 1 ％ペニシリン・ストレプトマイシンを添加した培養用培地（Dulbecco’s modified Eagle’s medium; DMEM）を用いて37℃、 5 % CO_2の環境下で培養した C2C12筋芽細胞がコンフルエンスに達した時点で、 2 ％ウマ血清を添加した DMEM（分化誘導培地）に培地交換し、 5 日間培養することで成熟した筋管細胞へと分化させた。分化後の C2C12筋管細胞の培地を無血清培地に交換し、上述の各マウスの血清を10％濃度で添加した。対照には血清添加を行わず、無血清培地のみで培養した。血清添加から 4 時間後に細胞を回収し、使用するまで−80℃で保存した。

D．タンパク定量および Western blotting

回収した C2C12筋管細胞を RIPA buffer 中で懸濁し、タンパク質を抽出した。このライセートの総タンパク量を BCA assay にて定量した。等量のタンパク質ライセートと sample loading buffer を混合し、加熱処理した後、SDS-PAGE によりタンパク質を分離した。分離したタンパク質を PVDF メンブレンに転写し、Blocking one-P または Blocking one（nacali tesque）を用いてブロッキングした。ブロッキング後のメンブレンを一次抗体（p-p70S6K CST#9205, t-p70S6K CST#9202, p-4EBP1 CST#2855, t-4EBP1 CST#9452）とともに 4 ℃で一晩インキュベートした。翌日、メンブレンを TBS-T で洗浄し、二次抗体とともに室温で 1 時間インキュベートした。メンブレンを再度 TBS-T で洗浄した後に、標的タンパク質を化学発

光試薬にて可視化し、画像解析ソフト（Image Lab, Bio-Rad）によりシグナル強度を解析した。各タンパク質のリン酸化レベルはそれぞれの総タンパク質のシグナル強度で除して算出した。

E．統計処理

すべての結果は平均値 ± 標準誤差（mean ± standard error of the mean）で示した。統計解析には SPSS Statistics version 26（IBM Corp）を使用した。2 群間の比較には T 検定を、3 群以上の比較には、one-way ANOVA および Tukey の多重比較検定を行った。有意水準は $P < 0.05$ とした。

F．筋合成促進因子の絞り込みおよび同定

動物・細胞実験の結果を照合し、エネルギー摂取量の増加により発現量が変化するアディポカイン等の作動物質およびその受容体を絞り込み、抽出する。抽出した因子について、高脂肪食を摂餌したドナーマウスおよびレシピエントマウスにおける血中濃度を測定する。エネルギー摂取量の増加および脂肪移植により発現量が変化する因子を探索し、筋合成促進因子を同定する。なお、本実験は現在進行中である。

結　　果

A．エネルギー付加および脂肪移植が骨格筋量に与える影響

高脂肪食を摂餌したドナーマウスでは、同期間通常食を摂餌したマウスと比較して体重および精巣上体脂肪重量が有意に増加したものの、下肢骨格筋である足底筋、ヒラメ筋の重量に変化は認められなかった（図 1 ）。

レシピエントマウスの比較では、ドナーマウスの高脂肪食摂餌期間にかかわらず、オリジナルの精巣上体脂肪重量に変化は認められなかった。同様に、下肢骨格筋（大腿四頭筋，足底筋，ヒラメ筋）の重量も変化せず（図 2 ）、内臓脂肪移植による筋肥大効果は認められなかった。一方、現状では筋重量の評価に留まっており、エネルギー摂取量の増加による筋肥大促進作用を完全に否定することは困難である。今後、筋横断面積や筋力など他の指標を用いた評価を行う必要がある。

B．細胞実験

培養筋管細胞へのマウス血清の添加は、筋合成誘導因子である p70S6K の活性化（リン酸化レベルの増加）を誘導する傾向が確認された。また、その作用は高脂肪食の摂餌期間に依存して増強した。一方、p70S6K と同様に筋合成に関与する 4EBP-1のリン酸化レベルも血清添加により増加する傾向がみられたが、統計学的な有意差は認められなかった（図 3 ）。本結果は、エネルギー摂取量の増加が何らかの液性因子を介した筋合成を促進することを示している。現在、細胞および動物実験の追加解析を実施し、筋合成を誘導する因子の同定に向けた候補因子の絞り込みを行っている。

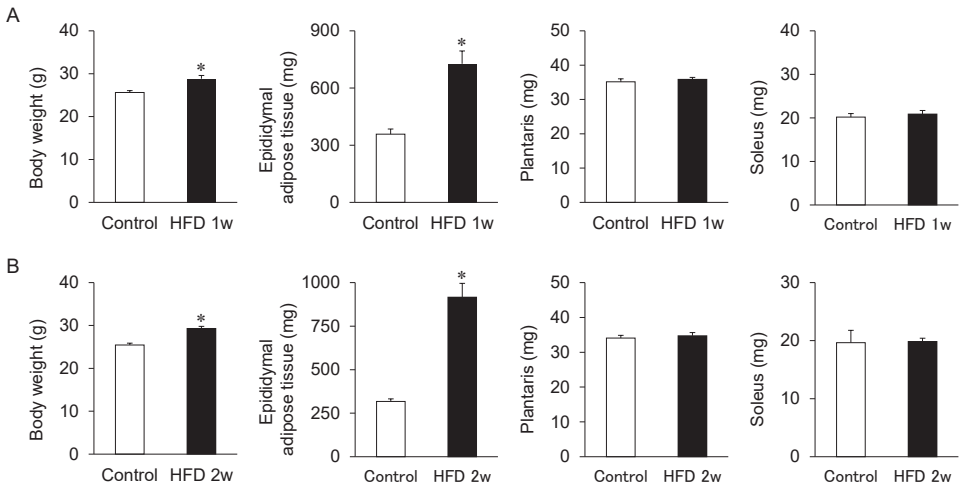

図 1．高脂肪食摂餌による体重、内臓脂肪重量、骨格筋重量の変化

Fig.1. Changes in body weight, visceral fat mass, and skeletal muscle mass induced by a high-fat diet.
（A）Mice fed a high-fat diet for 1 week（1w）.（B）Mice fed a high-fat diet for 2 weeks（2w）.
*$P < 0.05$, vs Control group.

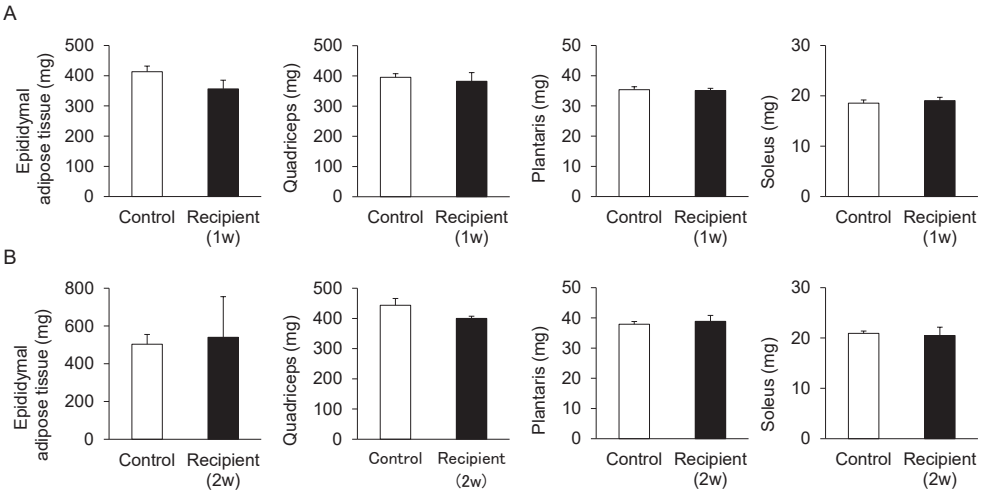

図 2．レシピエントマウスの内臓脂肪重量、骨格筋重量
Fig.2. Visceral fat mass and skeletal muscle mass in recipient mice.
（A）Donor mice fed a high-fat diet for 1 week（1w）.（B）Donor mice fed a high-fat diet for 2 weeks（2w）.

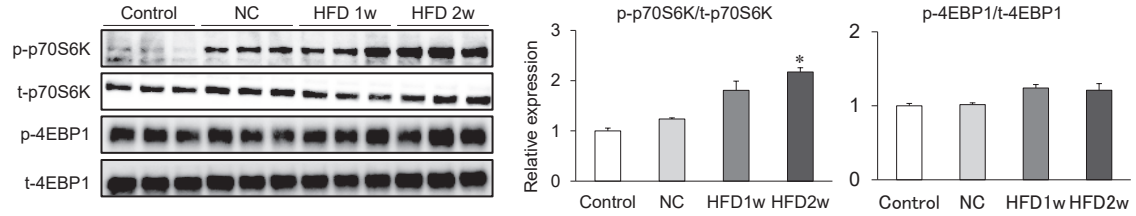

図 3．血清添加による C2C12細胞における筋合成シグナルの変化
Fig.3. Changes in muscle protein synthesis signaling induced by serum supplementation in C2C12 myotubes.
*$P < 0.05$, vs Control group.

考　　察

本研究では、最大 4 週間までの高脂肪食を摂餌させたマウスの内臓脂肪移植実験を計画していたが、2 週間を超える食事介入では、移植する脂肪量がレシピエントマウスの許容量の物理的上限を超えてしまうことより、2 週間までの食事介入実験を行った。1 週間または 2 週間の高脂肪食の摂餌により、体重および内臓脂肪（精巣上体脂肪）量の増加が認められたことから、エネルギー摂取量の増加が確認された。しかし、骨格筋重量の増加は認められなかった。同様に、脂肪移植により内臓脂肪を外的に増加させた条件下においても骨格筋重量は変化せず、仮説を支持する結果は得られなかった。一方、本研究では、筋重量のみの評価に留まっているため、エネルギー摂取量の増加ならびに体脂肪量の増加が骨格筋に影響しないと断定はできない。筋横断面積や筋力、筋機能など他の指標を用いた評価が今後必要である。細胞実験では、血清中には筋合成を促進する液性因子が含まれ、その血中濃度は高脂肪食の摂餌ならびにその期間に依存して増加する可能性が見いだされた。動物実験では、体脂肪量増加と筋肥大の因果関係を見いだすことはできなかったものの、エネルギー摂取量の増加は何らかの液性因子を介して筋肥大を誘導する可能性が示唆された。今後、体脂肪量の増加以外の因子を視野に入れた解析が求められる。

体脂肪量と筋量の指標である除脂肪量には正の相関関係があることは広く知られており[2]、エネルギー付加やそれに伴う体脂肪量の増加が筋量増加に関与する可能性が示されている。当研究グループで実施した健常男性を対象としたランダム化比較試験では、40% のエネルギー付加を 6 週間継続することにより、体脂肪量とともに体タンパク質量が増加することが明らかになった[3]。一般的にエネルギー付加による体成分の増加は、体脂肪量と除脂肪量の比が 2 : 1 で増加するとされており、実験レベルでは、骨格筋と比較して体脂肪のほうがより早期かつ明確に重量の変化をとら

えられる可能性がある。これらの先行研究を考慮すると、より長期間の介入を行うことで個体レベルでも筋重量の増加を確認できる可能性がある。しかしながら、前述のとおり、現在の実験条件ではドナーマウスの食事介入期間を延長させることは困難である。何らかの代替手段を検討し、新たな実験系を確立したうえで追加解析を行う必要がある。

また、細胞実験の結果は、高脂肪食の摂餌が何らかの液性因子を介して筋細胞の同化作用を促進することを示した。本結果は、エネルギー付加や体脂肪の増加が筋量を増加させるメカニズムを明らかにするうえで興味深いものと考えられる。レプチンを始めとする筋同化作用を有するアディポカインの分泌動態は、エネルギー摂取量や体組成により変化することが示されている[4)]。また、2週間の高脂肪食の摂餌は、体重や内臓脂肪量を増加させた（図1）。これより、高脂肪食の摂餌は、アディポカインの分泌動態および循環量を変化させ、これにより筋細胞の同化作用が誘導された可能性が示唆される。一方、本実験の条件では、エネルギー摂取量の増加、脂肪の摂取量増加、体組成の変化などさまざまな要因が絡んでおり、液性因子による筋同化作用が何に起因するものなのか明らかではない。また、脂肪組織の他にも多くの臓器組織が多種多様な生理活性物質を分泌しており、本研究の結果のみではアディポカインによる作用と断定することは困難である。現在、本研究で採取した動物、細胞実験サンプルの追加解析を行い、エネルギー摂取量の増加による筋合成促進を媒介する液性因子の絞り込みと同定に向けた解析を継続している。生体における臓器・細胞間コミュニケーションは複雑に制御されており、その全容を解明するためには更なる詳細な解析が求められる。

総　　括

1週間または2週間の高脂肪食によるエネルギー摂取量の増加、ならびに脂肪移植による体脂肪量の増加はマウスの骨格筋量を増加させず、仮説に反する結果となった。また、本研究ではより長期間の介入実験を実施できなかった。今後は、他の筋量指標を用いた評価を行うとともに、より長期間の介入が可能な実験系を検討していく必要がある。一方、高脂肪食の摂餌は何らかの液性因子を介して筋細胞の同化作用を促進する可能性が細胞実験により見いだされた。今後は、体脂肪量の増加以外の要因にも視野を広げ、エネルギー摂取量の増加による筋合成の促進を媒介する液性因子の同定を目指し、動物、細胞サンプルの追加解析を進捗させる計画である。

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ならびに事務局の皆様に心より感謝申し上げます。また、実験にご協力いただきました福岡大学の分子スポーツ栄養学研究室・運動生理学研究室の皆様に感謝申し上げます。実験の礎となったすべての実験動物に深い感謝と追悼の意を表します。

参 考 文 献

1）Collins K, et al.（2022）: Leptin mediates the regulation of muscle mass and strength by adipose tissue. J Physiol, **600**（16）, 3795-3817.
2）Forbes GB.（2000）: Body fat content influences the body composition response to nutrition and exercise. Ann N Y Acad Sci, **904**, 359-365.
3）Hatamoto Y, et al.（2024）: Greater energy surplus promotes body protein accretion in healthy young men: a randomized clinical trial. Clin Nutr, **43**（12）, 48-60.
4）Imajo K, et al.（2012）: Hyperresponsivity to low-dose endotoxin during progression to nonalcoholic steatohepatitis is regulated by leptin-mediated signaling. Cell Metab, **16**（1）, 44-54.
5）Minard A, et al.（2016）: $mTORC_1$ is a major regulatory node in the FGF21 signaling network in adipocytes. Cell Rep, **17**（1）, 29-36.
6）鈴木志保子（2018）：理論と実践スポーツ栄養学. 初版, 日本文芸社, 東京.
7）Yu A, et al.（2021）: Adiponectin promotes myogenic differentiation via a Mef2C-AdipoR1 positive feedback loop. Gene, **771**, 145380.

第 39 回若手研究者のための健康科学研究助成成果報告書
2023 年度 *pp.*72〜79（2026.6）

レジスタンス運動を用いたエクササイズ・スナックは、若年者・高齢者の生活習慣病リスクを低下させるか？

柳 岡 拓 磨* 武 藤 亮 佑* 黒 坂 志 穂*

CAN RESISTANCE-BASED EXERCISE SNACKS DECREASE THE RISK OF NON-COMMUNICABLE DISEASES ON YOUNG AND OLDER ADULTS ?

Takuma Yanaoka, Ryosuke Muto, and Shiho Kurosaka

Key words: exercise snacks, muscle strength, cardiorespiratory fitness, young adults, older adults.

緒　　言

全身持久力は心血管疾患や生活習慣病などの非感染性疾患の罹患リスクと関連しているため、すべての年代において高い全身持久力を維持することが重要である。近年、全身持久力に加えて、筋力の重要性が着目されている。高齢期の筋力低下は、転倒リスク、非感染性疾患の罹患リスクを増加させる[6,7]。また、20〜30歳代で迎えるピーク時の筋力は、その後の加齢に伴う筋力の低下や転倒リスクに関連している[7]。したがって、若年者および高齢者に対して、これらの身体機能を向上させる介入研究のエビデンスを蓄積していくことが求められている。

1 日のなかで複数回にわたり短時間（1 〜 5 分程度）かつ高強度の運動（階段昇降や速歩などの有酸素運動）を実施する有酸素性エクササイズ・スナック（aerobic-based exercise snacks; AES）は、全身持久力を時間効率よく向上させる[9]。しかし、AES に関する先行研究において、筋力の変化を検討したものはない。類似した運動様式である高強度インターバルトレーニングを実施した場合、若年者および高齢者で筋力は増加することが報告されているため[3]、AES も同様の効果が期待できる。レジスタンストレーニングは、筋力および全身持久力の向上にも効果的であるが、レジスタンス運動を用いたエクササイズ・スナック（resistance-based exercise snacks; RES）の有効性は検討されていない。若年者と比較して、高齢者は加齢に伴う身体的な変化から筋タンパクの合成能や運動における身体の適応に限界があることが報告されていることから[7]、若年者と高齢者の間で RES は健康指標に与える影響が異なる可能性がある。したがって、本研究は、若年成人（実験 1）または高齢者（実験 2）を対象として、AES および RES が健康指標に与える影響について検討することを目的とした。

＊　広島大学大学院人間社会科学研究科　Graduate School of Humanities and Social Sciences, Hiroshima University, Hiroshima, Japan.

方　　法

A．有酸素運動またはレジスタンス運動を用いたエクササイズ・スナックが若年者の健康状態に与える影響（実験１）

１．参加者および実験デザイン

実験１の参加者は若年男性16名とした。参加者の募集は、大学関連のソーシャルネットワークを通じ実施した。採用基準は、自己想起による世界標準化身体活動質問票で中高強度身体活動量が600 METs-min/week 未満であることとした。除外基準は、心血管疾患の罹患歴があること、喫煙者とした。参加者は、それぞれ無作為に AES（n = 8，年齢：22.0 ± 1.5歳，体格指数［BMI］：23.4 ± 3.6 kg/m^2）と RES（n = 8，年齢：22.1 ± 1.7 歳，BMI：22.3 ± 3.1 kg/m^2）に割り付けられた。

初めに、参加者はベースライン時の測定のために研究室を訪問した（Baseline）。身体組成、安静時血圧を測定し、血液サンプルを提供した。２～４日後、参加者は再度研究室を訪問し、筋力と全身持久力を測定した。介入後４週間（4-week）および８週間（8-week）に、Baseline と同様の測定を実施した。侵襲を最小限にするために、血液サンプルの提供は4-week 時には実施されなかった。すべての測定は Baseline と同じ時間帯で実施された。また、参加者は実験期間中、通常の身体活動および食生活を維持するよう指示された。本実験は、広島大学大学院人間社会科学研究科倫理審査委員会の承認を受けて実施した（承認番号：HR-ES-000974）。参加者に対し実験の手順や潜在的なリスクについて十分な説明を行い、本人の自由な意思のもと、書面による研究参加への同意を得た。

２．運動介入

参加者は介入期間中、１日２回、週３日、８週間にわたり合計48セッションを実施した。１回のセッションは、60秒間の運動フェーズと60秒間の座位による休憩フェーズを３回繰り返すことで構成された。運動フェーズについて、AES は20 cm 程度のステップ台または段差を用いた踏み台昇降を実施し、RES はハーフスクワットを実施した。運動フェーズ中、参加者はできる限り多くの回数を繰り返し、Borg category ratio 10（CR-10）スケールで相対的にきついと感じる程度で実施するよう指示された。それぞれのセッションは験者によって監督された。１日のなかのセッション間は少なくとも１～４時間あけて実施した。セッション開始前のウォーミングアップとして、研究室に訪問する際に１分間早歩きを実施した。参加者は、セッション中の CR-10スケールによる主観的運動強度と各セッション中の反復回数を記録した。

３．測定項目

1）全身持久力

最大酸素摂取量（$\dot{V}O_{2max}$）は、電動トレッドミル（Run 600，Technogym 社製，イタリア）を用いたランプ式漸増負荷試験にて測定した。ランプ式漸増負荷試験は６ km/h、傾斜１％に設定されたトレッドミルで２分ごとに１ km/h ずつ速度を増加させ、参加者が疲労困憊または年齢予測最大心拍数の90％を超えるまで継続した。酸素摂取量は、ポータブル呼気ガス分析器（VO2Master Pro, VO2Master 社製，カナダ）を用いて測定した。室内の空気および３-L シリンジを用いて酸素と流量センサーをそれぞれ校正した。

2）筋力

等尺性膝伸展最大筋力（MVC force）は、筋力計（T.K.K. 1286b，竹井機器工業社製，日本）を用いて測定した。参加者は膝関節を90° に屈曲させた状態で座り、利き脚で MVC force を測定した。測定は２分間の間隔をあけて２回実施した。測定された２回のうち、より高い値を分析に用いた。その後、MVC force と体重の比率（MVC/BM）を算出した。

3）筋厚と羽状角

利き脚の大腿直筋の筋厚と羽状角は、B モード機能のある超音波画像診断機（JS2，Medicare 社製，日本）と４～16 MHz の線形プローブ、内部ソフトウェアを用いて測定した。参加者は、利き脚の股関節と膝関節をそれぞれ90° にし、足部を地面に設置させて座った。超音波による画像の撮影中、リラックスするよう指示された。大腿直筋の画像撮影は、大腿骨の大転子から外側顆までの中点において、筋の長軸方向に対してプローブを平行に置き実施した。適切な伝達のために超音波用ジェルが使用され、画像撮影中にプローブが皮膚に加

える圧力を最小限に抑えた。再現性を担保するために画像の撮影は3回実施した。すべての画像の分析には、ImageJ（National Institutes of Health, アメリカ）を用いた。筋厚は、各画像の遠位端と近位端の表層および深層筋膜間の距離の平均値とした。羽状角は、深層筋膜と筋束に沿って引いた線分との間の角度とした。すべての測定、分析は同一の験者が実施した。

4）体組成

身長、体重、筋肉量、下肢筋肉量、体脂肪率とBMIは、ポータブル身長計（seca 213，seca 社製，ドイツ）と多周波数生体電気式インピーダンス体組成測定器（InBody 470，Inbody Japan 社製，日本）を用いて測定した。参加者は、10時間の夜間絶食後に研究室を訪問し、身長と体重をそれぞれ0.1 cm、0.1 kg まで測定した。

5）血圧・血中項目

安静時の収縮期および拡張期血圧は、10時間の夜間絶食後に水銀柱式血圧計（Mercurial Sphygmomanometer 605P MY，松吉医科器械社製，日本）を用いて測定した。また、平均血圧（mean arterial pressure; MAP）を下記の公式を用いて算出した。

MAP = 拡張期血圧 + 0.333 ×（収縮期血圧 − 拡張期血圧）

空腹時の血糖、中性脂肪、総コレステロール、HDL−コレステロール、LDL−コレステロール、インスリンは、10時間の夜間絶食後に血中サンプルを採取した。採血後、血液サンプルを5回混和させ、少なくとも室温で30分間安置し、4℃に設定された遠心分離機を用いて3000 rpm で10分間遠心分離処理をした。遠心分離された血液サンプルの測定は臨床検査センター（福山臨床検査センター，日本）に外注した。インスリン抵抗性を評価するために、空腹時の血糖、中性脂肪、インスリンを用いて、下記の公式にしたがって homeostasis model assessment of insulin resistance（HOMA-IR）と triglyceride/glucose（TyG）index を算出した。

HOMA-IR = 空腹時血糖（mg/dL）× インスリン（μU/mL）/405

TyG index = Ln［空腹時中性脂肪（mg/dL）× 空腹時血糖（mg/dL）/ 2 ］

4．統計解析

すべての統計解析はSPSSソフトウェア（version 30.0，SPSS Japan 社製，日本）を用いて実施した。統計的有意水準は $P < 0.05$ とした。すべての値は平均値 ± 標準偏差で示した。Shapiro-Wilk 検定を用いてデータの正規性を評価した。Baseline における集団特性は、対応のない t 検定または Mann-Whitney 検定を用いて比較した。$\dot{V}O_{2max}$、MVC force、MVC/BM、筋厚、羽状角、体組成、安静時血圧、血中項目、インスリン抵抗性は二要因（群 × 時間）の反復測定による共分散分析を用いて比較した。共変量はそれぞれの項目の Baseline 値とした。主効果または交互作用が認められた場合、Bonferroni 法を用いて事後検定を実施した。Cohen の d を算出し、0.8より大きい場合は大きな効果、0.8〜0.5は中程度の効果、0.5〜0.2は小さな効果と定義した。

B．有酸素運動またはレジスタンス運動を用いたエクササイズ・スナックが高齢者の健康状態に与える影響（実験２）

1．参加者および実験デザイン

本実験の参加者は27名の高齢者とした。参加者の募集は、高齢者交流事業に登録している高齢者に対するチラシの頒布によって実施した。採用基準は、事前のアンケート（フレイルに関する基本チェックリスト）によってフレイルと識別されていないこと、過去6か月間に心血管疾患を罹患していないことであった。除外基準は、喫煙者とした。参加者は、それぞれ無作為に統制群（CON；n = 9［男性：n = 6，女性：n = 3］，年齢：73.4 ± 5.7歳，BMI：22.5 ± 3.1 kg/m^2）、AES（n = 7［男性：n = 6，女性：n = 1］，年齢：72.4 ± 4.7歳，BMI：23.4 ± 3.1 kg/m^2）、RES（n = 11［男性：n = 5，女性：n = 6］，年齢：72.0 ± 5.0歳，BMI：23.0 ± 2.6 kg/m^2）に割り付けられた。

初めに、参加者はベースライン時の測定のために研究室を訪問した（Baseline）。身体組成、安静時血圧を測定し、血液サンプルを提供した。その後、参加者は移動能力、筋力、全身持久力を測定した。介入後4週間（4-week）に、Baseline と同様の測定を実施した。すべての測定は Baseline と同じ時間帯で実施された。また、参加者は実験期

間中、通常の身体活動および食生活を維持するよう指示された。本実験は、広島大学大学院人間社会科学研究科倫理審査委員会の承認を受けて実施した（承認番号：HR-ES-002742）。参加者に対し実験の手順や潜在的なリスクについて十分な説明を行い、本人の自由な意思のもと、書面による研究参加への同意を得た。

2．運動介入

参加者は1日2回、週3日、4週間にわたり合計24セッションを実施した。両群の各セッションの運動は実験1と同じであったが、参加者の自宅または職場にて個別に実施され、研究者による監督は行わなかった。また、安全管理のため、参加者は手すりにつかまった状態で運動を実施するよう指示された。CONは通常の食生活や身体活動を維持するよう指示された。すべての参加者は週1回、験者による電話で体調や運動の状況に関するカウンセリングを受けた。

3．測定項目

1）全身持久力

全身持久力は、6分間歩行テストを用いて評価した。参加者は縦15 m × 横5 mで構成された周回用のトラックを6分間でできる限り長く歩行するよう指示され、歩行距離（m）を測定した。

2）筋力

実験1と同様の方法で測定した。

3）移動能力

移動能力は、通常および最速の5 m歩行時間、Timed Up and Go（TUG）テストを用いて評価した。通常および最速の5 m歩行時間は、平地5 mの通常および最速歩行の所要時間（sec）をストップウォッチで測定した。歩行開始と終了時での加速と減速を考慮し、測定区間の前後に予備区間を3 mずつ確保し、合計11 mを歩行区間とした。測定はそれぞれ1回ずつ実施した。

TUGテストは、座面の高さが40 cmのひじ掛けのないパイプ椅子に座った姿勢から、3 m前方のマーカーを回り着座するまでの所要時間（sec）をストップウォッチで測定した。参加者は、可能な限り速く実施するよう指示された。測定は1回実施した。

4）体組成

実験1と同様の方法で測定した。

5）血圧・血中項目

実験1と同様の方法で測定した。

4．統計解析

すべての統計解析はSPSSソフトウェア（version 30.0，SPSS Japan社製，日本）を用いて実施した。統計的有意水準は$P < 0.05$であった。すべての値は平均値 ± 標準偏差で示された。Shapiro-Wilk検定を用いてデータの正規性を評価した。Baselineにおける集団特性は対応のない一要因分散分析またはKruskal-Wallis検定を用いて比較した。6分間歩行距離、MVC force、MVC/BM、通常の5 m歩行時間、最速の5 m歩行時間、TUGテスト時間、安静時血圧、血中項目、インスリン抵抗性は二要因（群 × 時間）の反復測定による共分散分析を実施した。共変量はそれぞれの項目のBaseline値とした。主効果または交互作用が認められた場合、Bonferroni法を用いて事後検定を実施した。Cohenのdを算出し、0.8より大きい場合は大きな効果、0.8〜0.5は中程度の効果、0.5〜0.2は小さな効果と定義した。

結　　果

A．有酸素運動またはレジスタンス運動を用いたエクササイズ・スナックが若年者の健康状態に与える影響（実験1）

Baselineにおいて、それぞれの値にAESとRESの間で有意な差は認められなかった（$P > 0.05$）。すべての参加者が8週間の運動介入を完了し、ドロップアウトした者はいなかった。セッションへの参加率は、群間（AES：97.7 ± 2.8%，RES：99.5 ± 1.3%）に有意な差は認められなかった（$P > 0.05$）。運動介入中、有害事象は報告されなかった。

1．全身持久力

$\dot{V}O_{2max}$において、交互作用は認められなかった（$P > 0.05$，図1 A）。しかし、$\dot{V}O_{2max}$に時間の主効果が認められた（$P = 0.018$）。$\dot{V}O_{2max}$は、Baselineと比較して4-week（$P < 0.001$，d = 0.46）と8-week（$P < 0.001$，d = 0.75）、4-weekと比較して8-weekで有意に高値を示した（$P < 0.001$，d = 0.30）。

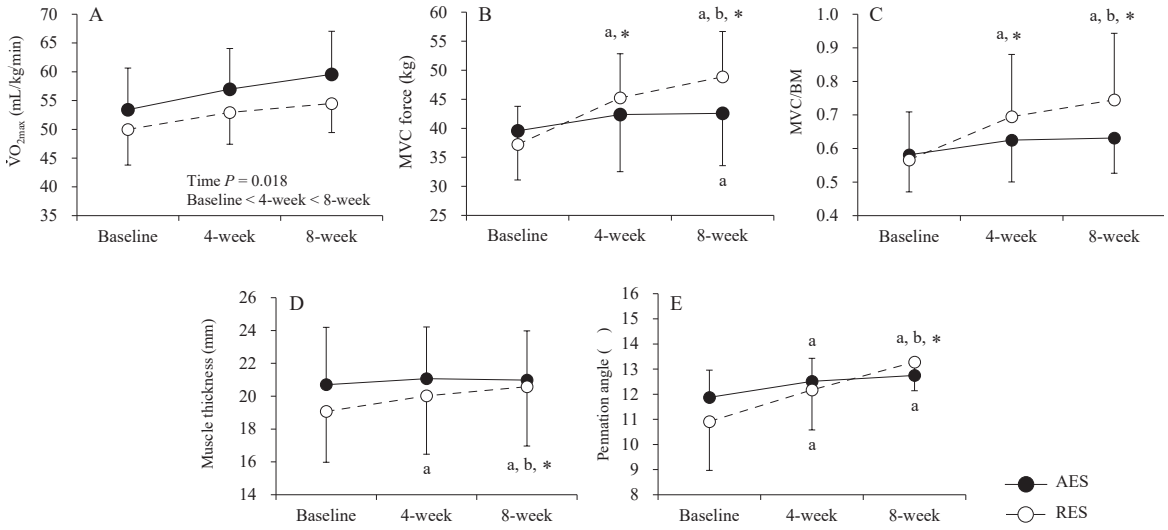

図 1．若年男性における最大酸素摂取量（$\dot{V}O_{2max}$：A）、等尺性膝伸展最大筋力（MVC force：B）、等尺性膝伸展最大筋力の体重比（MVC/BM：C）、筋厚（D）、羽状角（E）の変化

Fig.1. Changes in maximal oxygen uptake（$\dot{V}O_{2max}$: A）, maximal voluntary isometric contraction（MVC force: B）, ratio of maximal voluntary isometric contraction and body mass（MVC/BM: C）, muscle thickness（D）, and pennation angle（E）in young males.

The value are shown as mean ± standard deviation. AES; aerobic-based exercise snacks（n = 8）, RES; resistance-based exercise snacks（n = 8）.

a: Significant difference compared to Baseline（$P < 0.05$）. b: Significant difference compared to 4-week（$P < 0.05$）. *: Significant difference between AES and RES（$P < 0.05$）.

2．筋力

MVC force（$P < 0.001$，図 1 B）と MVC/BM（$P < 0.001$，図 1 C）に交互作用が認められた。AES では、MVC force は Baseline と比較して8-week でのみ有意に高値を示した（$P = 0.019$，d = 0.31）。RES では、MVC force は Baseline と比較して 4-week（$P < 0.001$，d = 1.05）および8-week（$P < 0.001$，d = 1.51）、4-week と比較して8-week で有意に高値を示した（$P < 0.001$，d = 0.44）。更に、4-week（$P = 0.003$，d = 0.30）と8-week（$P < 0.001$，d = 0.70）の MVC force は、AES と比較して、RES で有意に高値を示した。MVC/BM は、RES でのみ、Baseline と比較して4-week（$P < 0.001$，d = 0.73）および 8-week（$P < 0.001$，d = 0.97）、4-week と比較して8-week で有意に高値を示した（$P = 0.001$，d = 0.24）。4-week（$P = 0.003$，d = 0.42）と 8-week（$P < 0.001$，d = 0.67）の MVC/BM は AES と比較して、RES で有意に高値を示した。

3．大腿直筋の筋厚と羽状角

筋厚（$P = 0.025$, 図 1 D）および羽状角（$P = 0.019$, 図 1 E）に交互作用が認められた。RES でのみ、筋厚は Baseline と比較して4-week（$P = 0.008$，d = 0.27）と8-week（$P = 0.001$，d = 0.42）、4-week と比較して8-week で有意に高値を示した（$P < 0.001$，d = 0.15）。8-week の筋厚は、AES と比較して RES で有意に高値を示した（$P = 0.021$，d = 0.12）。

AES では、羽状角は Baseline と比較して4-week（$P = 0.014$，d = 0.59）と8-week（$P = 0.001$，d = 0.91）で有意に高かった。RES では、羽状角は Baseline と比較して4-week（$P < 0.001$，d = 0.66）と8-week（$P < 0.001$，d = 1.39）、4-week と比較して8-week で有意に高値を示した（$P = 0.001$，d = 0.75）。8-week の羽状角は、AES と比較して RES で有意に高値を示した（$P = 0.014$，d = 0.54）。

4．体組成と血圧・血中項目

体組成において、体重、筋肉量、体脂肪率、BMI、下肢筋肉量に交互作用は認められなかった（$P > 0.05$）。しかし、下肢筋肉量にのみ時間の主効果が認められた（$P < 0.001$）。下肢筋肉量は、Baseline と比較して4-week（$P = 0.008$，d = 0.08）と8-week（$P = 0.013$，d = 0.10）で有意に高値を示した。

血圧・血中項目について、収縮期血圧、拡張期血圧、MAP、空腹時血糖、中性脂肪、総コレステロール、HDL-コレステロール、LDL-コレステ

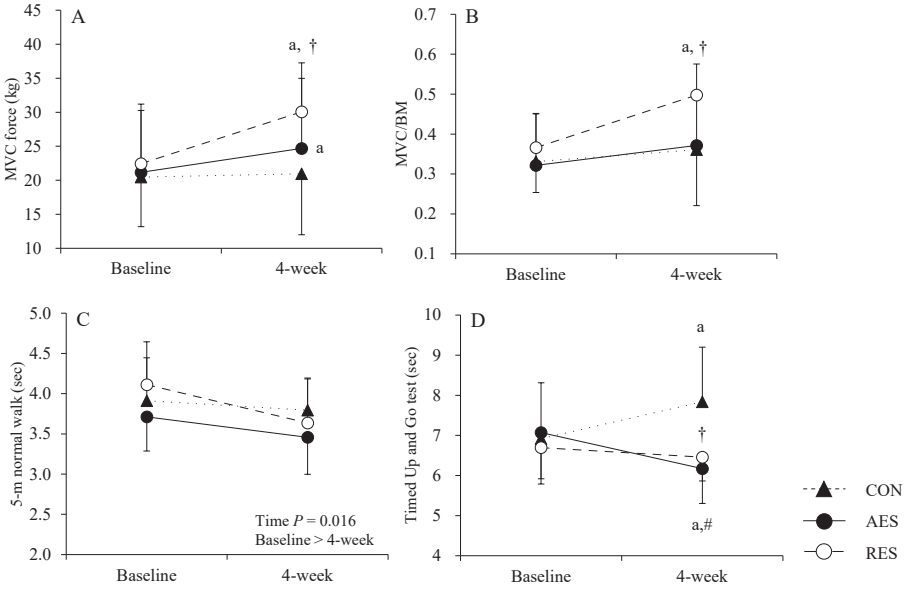

図２．高齢者における等尺性膝伸展最大筋力（MVC force：A）、等尺性膝伸展最大筋力の体重比（MVC/BM：B）、通常の５ m 歩行時間（C）、Timed Up and Go テスト（D）の変化

Fig.2. Changes in maximal voluntary isometric contraction（MVC force: A), ratio of maximal voluntary isometric contraction and body mass（MVC/BM: B), 5-m normal walk（C), and Timed Up and Go test（D）in older adults.

The value are shown as mean ± standard deviation. CON; control group（n = 9), AES; aerobic-based exercise snacks（n = 7), RES; resistance-based exercise snacks（n = 11).

a: Significant difference compared to Baseline（$P < 0.05$). #: Significant difference compared between CON and AES（$P < 0.05$). †: Significant difference between CON and RES（$P < 0.05$).

ロール、インスリン、HOMA-IR、TyG index において交互作用と時間、群の主効果は認められなかった（$P > 0.05$）。

B．有酸素運動またはレジスタンス運動を用いたエクササイズ・スナックが高齢者の健康状態に与える影響（実験２）

Baseline において、それぞれの値に CON、AES、RES の間で有意な差は認められなかった（$P > 0.05$）。すべての参加者が 4 週間の運動介入を完了し、途中でドロップアウトした者はいなかった。AES および RES の参加者は計24セッションをすべて完遂した。運動介入中、有害事象は報告されなかった。

１．全身持久力

６分間歩行距離において、交互作用および時間、群の主効果は認められなかった（$P > 0.05$）。

２．筋力

MVC force（$P < 0.001$，図２A）と MVC/BM（$P = 0.017$，図２B）に交互作用が認められた。AES では、MVC force は Baseline と比較して4-week で有意に高値を示した（$P = 0.016$，d = 0.32）。RES では、MVC force は Baseline と比較して4-week（$P < 0.001$，d = 0.97）で有意に高値を示した。更に、4-week の MVC force は、CON と比較して、RES（$P < 0.001$，d = 1.08）で有意に高値を示した。MVC/BM は、RES でのみ、Baseline と比較して4-week で有意に高値を示した（$P < 0.001$，d = 1.53）。更に、4-week の MVC/BM は、CON と比較して、RES で有意に高値を示した（$P = 0.021$，d = 1.18）。

３．移動能力

通常と最速の５ m 歩行時間に交互作用は認められなかった（$P > 0.05$）。しかし、通常（$P = 0.016$，図２C）の５ m 歩行時間に時間の主効果が認められた。通常の５ m 歩行時間は、Baseline と比較して4-week で有意に低値を示した（$P = 0.001$，d = 0.57）。最速の５ m 歩行時間について、時間の主効果は認められなかった（$P > 0.05$）。

TUG テスト時間（$P < 0.001$，図２D）に交互作用が認められた。CON において、TUG テスト時間は Baseline と比較して4-week で有意に高値を示した（$P < 0.001$，d = 0.63）。AES では、Baseline と比較して4-week で有意に低値を示した（$P < 0.001$，d = 0.76）。4-week の TUG テスト時間は、CON と比較して AES（$P < 0.001$，d = 1.33）と

RES（$P < 0.001$, d = 1.29）で有意に低値を示した。

4．体組成と血圧・血中項目

体組成において、体重、筋肉量、体脂肪率、BMI、下肢筋肉量に交互作用および時間、群の主効果は認められなかった（$P > 0.05$）。

血圧・血中項目について、収縮期血圧、拡張期血圧、MAP、空腹時血糖、中性脂肪、総コレステロール、HDL-コレステロール、LDL-コレステロール、インスリン、HOMA-IR、TyG index において交互作用および時間、群の主効果は認められなかった（$P > 0.05$）。

考　　察

本研究は、AES と RES が若年者および高齢者の健康指標に与える影響を検討した。AES が若年者の全身持久力に与える影響は最近の総説で報告されているものの[9]、若年者に対する AES および RES が筋力に与える影響、高齢者を対象に AES および RES の健康効果を検討した研究はない。本研究の主な知見は、1）身体不活動な若年者に対し 8 週間の AES および RES を実施することで筋力が向上し、その程度は AES よりも RES で大きかったこと、2）高齢者に対し 4 週間の AES および RES を実施することで筋力および移動能力が向上したことである。

身体不活動の若年者に対する 8 週間の AES と RES は、先行研究[9] と同様に、$\dot{V}O_{2max}$ を有意に向上させた。若年成人において、高い全身持久力を維持することは、正常な安静時血圧やインスリン感受性を維持し、心血管疾患やメタボリックシンドロームのリスクを減少させる[4]。また、AES と RES は MVC force、羽状角を向上させた。若年者において高い下肢筋力を維持することは、加齢に伴う筋力の減少を抑制し、サルコペニアや高齢者における転倒のリスクを減少させる[7]。更に、MVC force と MVC/BM、筋厚、羽状角の改善程度は、AES と比較して、RES で大きかった。レジスタンス運動は、有酸素運動と比較して主に筋へ負荷を与え、神経筋系の適応を促す。筋厚や羽状角の改善は筋力の発揮に関する重要な要素であり、運動の特性が影響したと考えられる。

高齢者に対する 4 週間の AES および RES は、MVC force を有意に向上させた。高齢者において、高い筋力を維持することは、転倒や突然死のリスクを減少させることが示唆されている[6]。また、AES および RES は通常の 5 m 歩行時間を改善した。高齢期の移動能力維持は、身体的なフレイルを抑制する[8]。更に、AES および RES は TUG テスト時間を有意に改善した。高齢者における TUG テスト時間は転倒および転倒に伴う骨折リスクに関連し、TUG テスト時間の長い人は2.1倍転倒するリスクが高いことが報告されている[1]。一方、若年者では認められた AES および RES による全身持久力の改善が、高齢者では認められなかった。HIIT に関するメタ分析では、10～20分の運動プロトコルで若年者の $\dot{V}O_{2max}$ は向上するが[2]、高齢者の場合，$\dot{V}O_{2max}$ を向上させるためには21～39分の運動プロトコルが必要であることが報告されている[5]。実際、1 日当たり27分のエクササイズ・スナックを用いた先行研究では、高齢者の $\dot{V}O_{2max}$ が向上したことが報告されている[10]。したがって、本研究の運動プロトコル（1 日当たり12分）では、高齢者の全身持久力を改善するための運動負荷が不十分だった可能性がある。

本研究の限界は、健康な若年者および高齢者を対象としているため、糖尿病や高血圧などの臨床・前臨床的な集団に対しても同様にエクササイズ・スナックが筋力や運動機能に有効であるか不明である。したがって、今後の研究では、臨床・前臨床的な集団においてエクササイズ・スナックが心肺機能に加え、筋力や運動機能の改善に効果的であるか検討する必要がある。

総　　括

AES および RES は、身体不活動な若年者の全身持久力と筋力、高齢者の筋力と移動能力を向上させた。これらは、AES および RES が生活習慣病や加齢に伴う筋力低下、転倒や要介護発生リスクの抑制に効果的であることを示唆している。更に身体不活動な若年者に対しては、AES と比較し、RES は同等の全身持久力向上効果を有し、かつ、筋力の増加の程度が大きいため、RES を用いることが好ましいと考えられる。

謝　　辞

本研究の実施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事業財団に深く感謝申し上げます。また、参加者をはじめ、本研究にご協力いただきました皆様に深く感謝申し上げます。

参 考 文 献

1）Beauchet O, et al.（2011）: Timed up and Go test and risk of falls in older adults: a systematic review. J Nutr Health Aging, **15**（10）, 933-938.
2）Buchheit M, et al.（2013）: High-intensity interval training, solutions to the programming puzzle: Paet I: cardiopulmonary emphasis. Sports Med, **43**（5）, 313-338.
3）Caparrós-Manosalva C, et al.（2023）: Effects of high-intensity interval training on lean mass, strength, and power of the lower limbs in healthy old and young people. Front Physiol, **14**, 1223069.
4）Carnethon MR, et al.（2003）: Cardiorespiratory fitness in young adulthood and the development of cardiovascular disease risk factor. JAMA, **290**（23）, 3092-3100.
5）Chu R, et al.（2026）: The effect of high-intensity interval training and moderate-intensity continuous training on cardiorespiratory function in healthy elderly individuals: systematic review and meta-analysis. Medicine（Baltimore）, **105**（2）, e47101.
6）Fragala MS, et al.（2019）: Resistance training for older adults: position statement from the National Strength and Conditioning Association. J Strength Cond Res, **33**（8）, 2019-2052.
7）Jung HN, et al.（2023）: Sarcopenia in youth. Metabolism, **144**, 155557.
8）Patrizio E, et al.（2021）: Physical functional assessment in older adults. J Frailty Aging, **10**（2）, 141-149.
9）Rodríguez MÁ, et al.（2026）: Effects of exercise snacks on fitness and cardiometabolic health in physically inactive individuals: systematic review and meta-analysis. Br J Sport Med, **60**（2）, 133-141.
10）Zhou P, et al.（2025）: Effects of exercise snack program on quality of life, cardiorespiratory fitness, and metabolic flexibility in elderly cancer survivors: a preliminary study. Life（Basel）, **15**（9）, 1401.

第 39 回若手研究者のための健康科学研究助成成果報告書
2023 年度 *pp*.80〜88（2026.6）

介護予防のための集団認知行動療法を応用した運動プログラムの開発―予備的ランダム化比較試験―

山　下　真　里*　　野　藤　　悠*

DEVELOPMENT OF AN EXERCISE PROGRAM BASED ON GROUP COGNITIVE BEHAVIORAL THERAPY FOR THE PREVENTION OF FUNCTIONAL DECLINE: A PILOT RANDOMIZED CONTROLLED TRIAL

Mari Yamashita and Yu Nofuji

Key words: mindfulness, group cognitive behavioral therapy, frailty, exercise adherence, older adults.

緒　　言

地域では、介護予防や認知症予防を目的とした運動教室が開催されているが、ドロップアウトや教室終了後の逆戻り（好ましい行動を継続した後，その行動を止めてしまうこと）といった課題が指摘されている[2)]。身体活動量の維持や健康行動の習慣化を阻害する要因として、モチベーションや活力の低下など心理社会的要因が関連していると報告されている一方で[5)]、これらに対する効果的な支援方法に関する研究は十分とはいえない。身体活動量の維持には、運動内容の理解に加え、自己効力感の向上や意欲低下への対処といった心理的側面への働きかけが重要である。認知行動療法は、セルフモニタリングや目標設定、認知の再構成といった技法を通じて、これら心理的要因に直接介入し、行動変容を促進・維持させる手法として有効性が示されている[1)]。

本研究では、運動習慣の乏しい高齢者を対象とした介護予防教室で、運動・栄養等の集団指導に加え、集団認知行動療法を援用した心理的介入を 3 か月間実施し、日常生活における身体活動量、運動習慣や食品摂取多様性といった生活習慣、心身の健康状態、ならびにドロップアウト率に及ぼす効果を明らかにする。更に、教室終了から 6 か月後の運動実施状況を調査し、逆戻りに対する中期的な効果についても検討した。

方　　法

A．研究デザイン

本研究は、予備的ランダム化比較試験（randomized controlled trial; RCT）として実施した。本研究プロトコルは、UMIN 臨床試験登録システムに登録され（UMIN000054923）、東京都健康長寿医療センター研究倫理委員会の承認を受けて実施された（承認番号：R24-001）。

B．対象者

2024年 2 月に実施した板橋区在住の65歳以上を対象とした会場型健診調査の参加者878名のうち、「定期的な運動・スポーツはしていますか。1 週

* 東京都健康長寿医療センター研究所　Tokyo Metropolitan Institute for Geriatrics and Gerontology, Tokyo, Japan.

間に何日くらいしていますか」という質問に「運動・スポーツはしていない」と回答した者368名を対象に、介護予防教室（ここから元気にクラス）への参加を募集した。研究参加申込者は105名であり、研究説明会に参加し、適格基準を満たしていることが確認され、文書によるインフォームド・コンセントを取得した者は80名であった。なお、適格基準は、65歳以上で定期的な運動が週１回未満であり、教室の実施日時に参加可能な者とし、他の臨床試験への参加中、骨関節疾患・腎不全・虚血性心疾患等による運動制限、日本語での会話困難、要介護度１以上、大うつ病・双極性障害・統合失調症・依存症の既往、または重篤・不安定な疾患を有する者は除外した。同意取得後、UMIN INDICE を用いてブロックランダム化法により介入群または対照群への割り付けを行った。割り付けにあたっては性別の偏りを防ぐための定員設定を行っており、その結果、割り付け時点で男性参加者が定員を超過したため、抽選により４名を研究対象から除外した（図１）。評価は、研究開始時点（Baseline：BL）、教室終了時点である３か月後（3M）、および教室終了から６か月後（研究開始から９か月後：9M）に追跡評価を実施した。

C．サンプルサイズ

本研究では介入効果が小～中程度（Cohen の d = 0.2～0.6）である可能性を想定し、効果量推定の安定性と実施可能性を考慮して、解析対象者数として55名程度を確保する方針とした。欠測を見込み、BL 評価欠席率20％、割り付け後ドロップアウト率10％を想定すると、必要募集人数は55/(0.8 × 0.9)= 約77名となるため、募集目標数を80名とした。

D．介入プログラム

１．介入群

介入群では、フレイル予防プログラム[6] の内容に準拠した運動および栄養指導（約60分）に加えて、認知行動療法の考え方を援用した心理ワーク[9] およびマインドフルネスを基に開発したプチ瞑想を実施した（約30分）[10]。これらの内容を１回当たり90分間、全12回のグループ形式で毎週実施した。

具体的な運動としては、７種類の筋力運動と６

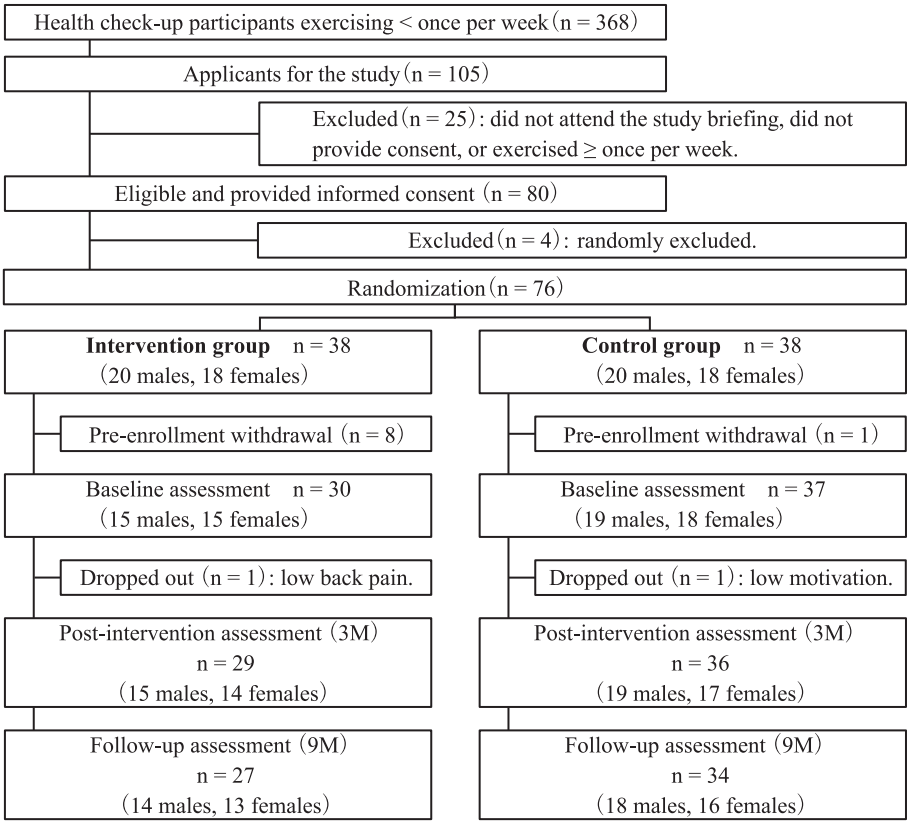

図１．参加者選定のフロー図
Fig.1. Study flow.

種類のストレッチ運動、およびゲーム体操を毎回実施した。また、栄養指導は主に第２回および第３回セッションで提供された。心理ワークでは、行動変容を促進することを目的として、目標設定、セルフモニタリング、認知の歪みへの気づき、習慣形成のための時間管理、意欲低下への対処方略、ソーシャルサポートの可視化などを段階的に取り上げた（表１）。更に、身体感覚や思考・感情への気づきを高めることを目的に、すべてのセッションにおいて運動開始前に５分間のプチ瞑想を取り入れた。

２．対照群

対照群では、介入群と同じフレイル予防プログラムに基づく運動およびゲーム体操、栄養指導の内容のみを１回当たり90分間、全12回のグループ形式で毎週実施し、心理ワークおよびプチ瞑想は行わなかった。

Ｅ．測定項目

本研究の評価項目は、運動習慣、身体活動量、握力、歩行速度、フレイル、食習慣、ならびに心理社会的指標とした。運動習慣については、本プログラムで指導した７種類の筋力運動および６種類のストレッチ運動の実施状況を質問紙により把握した。各運動種目はイラストと説明文を用いて示し、それぞれの実施頻度について「週１日未満/やっていない（０点）」、「週１日程度（１点）」、「週２～３日（２点）」、「週４～５日（３点）」、「ほぼ毎日（４点）」としてそれぞれの合計得点を用いた。身体活動量は、国際標準化身体活動質問票短縮版（International Physical Activity Questionnaire-Short Form; IPAQ-SF）を用い[4]、メッツ・時/週を算出した。握力（kg）は握力計を用いて左右各２回測

表１．「ここから元気にクラス」における介入プログラムの構成要素
Table 1. Components of the intervention program in the preventive care classes.

Session	Contents of lesson	Summary
1	Orientation	Self-introduction; sharing current physical inactivity and its potential negative effects; confirming the purpose of program participation; introduction to brief mindfulness practice.
2	Goal setting and planning for goal attainment	Setting six-month personal goals and discussing strategies for achieving them.
3	Self-monitoring methods and cognitive distortions	Introducing practical self-monitoring methods and discussing common cognitive distortions related to behavior change.
4	Scheduling strategies for habit formation	Practical strategies for managing daily time and routines were introduced.
5	Reflection on time use and group sharing	Reviewing time management practices and sharing experiences within the group.
6	Coping strategies for low motivation	Introducing strategies for coping with low motivation and difficulty initiating activities.
7	Reflection on coping strategies for low motivation	Reflecting on the use of coping strategies for low motivation and sharing experiences through group discussion.
8	Support mapping for physical activity and nutrition	Identifying people, resources, and places that support physical activity and nutrition in daily life.
9	Support mapping for relaxation and cognitive activities	Identifying people, resources, and places that support relaxation and cognitive activities.
10	Reflection on support maps and group sharing	Reviewing support maps and sharing insights within the group.
11	Review of goal attainment and goal resetting	Reviewing progress toward goals and resetting goals as needed.
12	Future challenges and plans for continuation	Discussing future challenges, including what to try next and how and where activities will be continued.

In both groups, each session included seven types of muscle-strengthening exercises, six types of stretching exercises, and cognicise. Nutrition education was provided in Sessions 2 and 3. In addition, the intervention group engaged in mindfulness practice at every session.

定し、その最大値を採用した。歩行速度（m/s）は、前後に各 1 m の助走路を設けた2.4 m の直線コースにおいて、通常歩行時間を測定し、2.4 m を当該時間で除することにより算出した。フレイルについては新開らによる介護予防チェックリスト（15項目）[7] を用いて評価し、食習慣は食品摂取多様性指標（Dietary Variety Score; DVS）により評価した。

心理社会的指標として、抑うつ症状は Geriatric Depression Scale（GDS）、精神的健康は WHO-5 Well-Being Index 日本語版（J-WHO-5）、意欲低下は日本語版 Dimensional Apathy Scale（J-DAS）[3]、自己効力感は General Self-Efficacy Scale（GSES）、およびソーシャルネットワークは Lubben Social Network Scale 短縮版（LSNS-6）をそれぞれ用いて評価した。その他、基本属性として、性別、年齢、教育年数、世帯構成、および既往歴等を質問紙により把握した。

Ｆ．統計解析

統計解析は、BL、3M、9M の各時点の縦断データを用いて行った。各評価項目について、群（介入群・対照群）および時点を独立変数とし、群 × 時点の交互作用を主な検討対象として解析した。解析には、欠測値が生じた場合にも利用可能なデータを活用できる方法として、反復測定を考慮した混合効果モデルを用いた。モデルには個人をランダム効果として組み込み、BL 値を共変量として調整した。群 × 時点の交互作用が認められた場合、または群内の時点間変化を確認する目的で、推定周辺平均に基づく群内の時点間比較を行い、多重比較に対しては Bonferroni 法による補正を適用した。割り付け後 BL 評価前にドロップアウトした者については、BL データが得られていないため解析からは除外した。統計学的有意水準は両側 5 %とし、解析には IBM SPSS Statistics for Windows Version 25（IBM Corp, Armonk, NY, USA）を用いた。

結　　果

図 1 に示すように、割り付け後から教室開始までの期間に、9 名（介入群 8 名，対照群 1 名）が研究参加を辞退した。辞退理由は、体調の悪化や入院、教室日程の不都合などであった。最終的に介入群30名、対照群37名で教室を開始した。その後、 4 回目のセッションまでに、介入群 1 名（腰痛の悪化）、対照群 1 名（モチベーションの低下）の計 2 名がドロップアウトした。3M 評価を完了した対象者の教室出席状況は、介入群では全員が 6 回以上参加しており、平均出席率は93.1% であった。29名中27名（93.1%）が10回以上のセッションに参加していた。一方、対照群においても全員が 6 回以上参加しており、平均出席率は 93.3% であった。36名中31名（86.1%）が10回以上のセッションに参加していた。9M 評価においては、介入群 2 名（入院）、対照群 2 名（参加拒否）が不参加となり、最終的に評価を完了したのは介入群27名、対照群34名であった。

Ａ．ベースライン（BL）時点の参加者の特徴

教室に参加した67名（介入群30名，対照群37名）の基本属性を表 2 に示す。平均年齢は、介入群で76.2歳（SD = 2.9）、対照群で76.4歳（SD = 3.2）であり、男性の割合はそれぞれ50.0%、51.4% であった。社会背景については、既婚者の割合は介入群60.0%、対照群59.5% であり、独居率はそれぞれ20.0%、27.0% であった。教育年数は介入群13.7年（SD = 2.5）、対照群15.5年（SD = 10.2）であった。健康状態の指標として用いた既往疾患数（糖尿病，高血圧，脂質異常症，心房細動，うっ血性心不全，慢性腎臓病，肝疾患，脳血管疾患，ガン，甲状腺疾患，冠動脈疾患，神経変性疾患，うつ病）の平均は、介入群で1.5個（SD = 1.4）、対照群で1.1個（SD = 0.9）であった。カイ二乗検定および Welch の t 検定による群間比較の結果、年齢、性別、家族構成、教育歴、および既往疾患数のいずれの項目においても統計学的に有意な差は認められなかった。以上より、BL 時点における両群の背景因子は概ね均質であることが確認された。なお、本研究の適格基準（運動頻度週 1 回未満）は、「定期的な運動・スポーツ」の実施状況を尋ねる設問に基づいて判断している。一方で、BL 時点で筋力運動やストレッチの実施スコアが一定以上であった対象者が含まれていたが、これは散発的に行っている軽微な筋力運動やストレッチを、設問上の「運動・スポーツ」とは認識していなかった

表２．参加者の特徴
Table 2. Characteristics of the study participants.

	Intervention group（n = 30）	Control group（n = 37）	*P*-value
Sex[a)], men, n（%）	15（50.0）	19（51.4）	0.912
Age[b)], mean（SD）	76.2（2.9）	76.4（3.2）	0.847
Marital status[a)], married（%）	18（60.0）	22（59.5）	0.498
Alone[a)], yes（%）	6（20.0）	10（27.0）	0.626
Year of education[b)], mean（SD）	13.7（2.5）	15.5（10.2）	0.308
Number of chronic conditions[b)], mean（SD）	1.5（1.4）	1.1（0.9）	0.180

The number of chronic conditions was defined as the presence of the following conditions: diabetes mellitus, hypertension, dyslipidemia, atrial fibrillation, congestive heart failure, chronic kidney disease, liver disease, cerebrovascular disease, malignant neoplasm, thyroid disease, coronary artery disease, neurodegenerative disease, and depression.
a）chi-square test. b）Welch's t-test. SD; standard deviation.

者が含まれていたためと考えられる。

B．介入効果の全体像および教室終了時点である3Mまでの変化（表３）

運動習慣について、筋力運動実施頻度の合計得点（以下，筋力運動スコア）は群×時点の交互作用が認められた（F(2, 115.4)= 4.283, $P = 0.016$）。群内比較の結果、どちらの群も BL から3M にかけて有意な向上が認められた（$P < 0.001$）。ストレッチ運動実施頻度の合計得点（以下，ストレッチ運動スコア）についても、有意な交互作用が認められ（F(2, 124.3)= 5.991, $P = 0.003$）、介入群および対照群のいずれにおいても、BL から3M にかけて有意な向上が認められた（いずれも $P < 0.001$）。身体活動量（IPAQ-SF）では、群 × 時点の交互作用は有意ではなかった（$P = 0.625$）。群内比較においても、介入群・対照群ともに BL から3M にかけて有意な変化は認められなかった。握力については、群 × 時点の交互作用は有意ではなく（$P = 0.981$）、いずれの群においても BL から3M にかけて有意な変化は認められなかった。歩行速度についても、群×時点の交互作用は有意ではなかった（$P = 0.276$）。ただし、群内比較では介入群および対照群の両群において、BL から3M にかけて有意な向上が認められた（いずれも $P < 0.001$）。

フレイル得点および食品摂取多様性スコア（DVS）のいずれについても、群 × 時点の交互作用は有意ではなかった（それぞれ $P = 0.936$, $P = 0.668$）。群内比較においても、BL から3M にかけて有意な変化は認められなかった。

心理社会的アウトカムについては、抑うつ症状（GDS）、精神的健康（J-WHO-5）、意欲低下（J-DAS）、自己効力感（GSES）、およびソーシャルネットワーク（LSNS-6）のいずれにおいても、群×時点の交互作用は有意ではなかった。また、群内比較においても、BL から3M にかけて有意な変化は認められなかった。

C．教室終了６か月後（9M）における介入効果（表３）

筋力運動スコアおよびストレッチ運動スコアについて、介入群では9M においても BL と比較して有意に高い水準が維持されていた（いずれも $P < 0.001$）。対照群においても9M 時点の各スコアは BL と比較して有意に高い水準であったが（いずれも $P < 0.001$）、平均値の推移をみると介入群においてより高い実施水準が維持される傾向にあった。

身体活動量（IPAQ-SF）については、9M において BL との有意差は認められなかった。握力については、すべての評価時点において BL からの有意な変化は認められなかった。フレイル得点および食品摂取多様性スコア（DVS）のいずれについても、9M において BL との有意差は認められなかった。心理社会的アウトカムのうち、意欲低下（J-DAS）については、介入群において9M で BL と比較して有意な改善が認められた（$P = 0.028$）。一方、対照群では有意な変化は認められなかった。その他の心理社会的指標（抑うつ症状,

精神的健康，自己効力感，ソーシャルネットワーク）については、9M においても BL からの有意な変化は確認されなかった。

考　　察

A．運動習慣の獲得および維持に対する心理的介入の意義

本研究では、従来の運動・栄養指導に加えて、

表 3．ベースライン時（BL）・教室終了時点（3M）・教室終了から 6 か月後（9M）における各評価指標の比較
Table 3. Comparison of outcome measures at baseline（BL）, end of the program（3M）, and 6 months after the program（9M）.

Outcome	Group	Mean（SD）			*P*-value[a)]	*P*-value[b)]		
		BL	3M	9M	group × time	BL-3M	BL-9M	3M-9M
Physical outcomes								
Muscle-strengthening exercise	Intervention	5.0（1.2）	22.1（1.4）	18.2（1.5）	**0.016**	**< 0.001**	**< 0.001**	0.187
	Control	5.6（1.1）	15.4（1.2）	14.6（1.4）		**< 0.001**	**< 0.001**	1.000
Stretching exercise	Intervention	6.5（1.6）	24.7（1.4）	20.6（1.5）	**0.003**	**< 0.001**	**< 0.001**	0.054
	Control	8.5（1.4）	16.9（1.3）	16.3（1.3）		**< 0.001**	**< 0.001**	1.000
Physical activity（IPAQ-SF）	Intervention	27.3（6.1）	50.2（9.2）	43.5（9.1）	0.625	0.122	0.423	1.000
	Control	23.1（5.6）	31.6（8.4）	32.8（8.3）		1.000	0.997	1.000
Handgrip strength（kg）	Intervention	29.0（1.5）	29.9（1.5）	29.4（1.6）	0.981	1.000	1.000	1.000
	Control	28.7（1.3）	30.1（1.3）	29.0（1.3）		1.000	1.000	1.000
Walking speed（m/s）	Intervention	0.86（0.03）	1.25（0.04）	1.18（0.05）	0.276	**< 0.001**	**< 0.001**	0.682
	Control	0.85（0.03）	1.12（0.03）	1.13（0.04）		**< 0.001**	**< 0.001**	1.000
Frailty and nutrition								
Frailty（checklist-based）	Intervention	2.4（0.3）	2.1（0.3）	2.3（0.3）	0.936	1.000	1.000	1.000
	Control	2.0（0.3）	1.9（0.3）	2.1（0.3）		1.000	1.000	1.000
Dietary variety score（DVS）	Intervention	3.3（0.4）	4.7（0.4）	4.2（0.4）	0.668	0.064	0.345	1.000
	Control	3.8（0.3）	4.5（0.4）	4.4（0.4）		0.621	0.971	1.000
Psychosocial outcomes								
Depressive symptoms（GDS）	Intervention	3.8（0.6）	3.3（0.6）	3.5（0.6）	0.970	1.000	1.000	1.000
	Control	3.9（0.5）	3.7（0.5）	3.6（0.5）		1.000	1.000	1.000
Mental well-being（J-WHO-5）	Intervention	14.5（1.0）	15.9（0.8）	15.0（0.9）	0.972	0.903	1.000	1.000
	Control	14.9（0.9）	16.4（0.7）	15.1（0.8）		0.587	1.000	0.747
Apathy（J-DAS）	Intervention	35.0（1.4）	31.0（1.3）	29.8（1.4）	0.061	0.110	**0.028**	1.000
	Control	31.2（1.3）	30.0（1.1）	32.3（1.2）		1.000	1.000	0.522
Self-efficacy（GSES）	Intervention	8.4（0.8）	8.6（0.8）	9.1（0.8）	0.873	1.000	1.000	1.000
	Control	9.1（0.7）	9.5（0.7）	9.4（0.7）		1.000	1.000	1.000
Social network（LSNS-6）	Intervention	12.2（1.2）	12.9（1.2）	13.3（1.3）	0.622	1.000	1.000	1.000
	Control	13.9（1.1）	14.0（1.1）	12.7（1.2）		1.000	1.000	1.000

Values are mean（SD）. Higher scores indicate better outcomes, except for frailty, depressive symptoms（GDS）, and apathy（J-DAS）, where higher scores indicate worse outcomes.

a）: *P*-values for the group × time interaction were obtained from linear mixed-effects models adjusted for baseline values.

b）: *P*-values represent within-group pairwise comparisons between time points, with adjustment for multiple comparisons using the Bonferroni method.

SD; stadard deviation, IPAQ-SF; International Physical Activity Questionnaire-Short Form, DVS; Dietary Variety Score, GDS; Geriatric Depression Scale, J-WHO-5; Japanese version of WHO-5 Well-Being Index, J-DAS; Japanese version of Dimensional Apathy Scale, GSES; General Self-Efficacy Scale, LSNS-6; Lubben Social Network Scale-6.

認知行動療法の考え方を援用した心理ワークおよびプチ瞑想を組み合わせた介護予防教室を実施し、その効果を検証した。その結果、介入群では筋力運動およびストレッチ運動の実施頻度において、教室終了時点（3M）で対照群を上回る改善が認められ、更に教室終了 6 か月後（9M）においてもベースライン（BL）より高い実施水準が維持されていた。行動変容理論の観点からは、運動行動の維持には、運動内容の理解に加え、目標設定、自己効力感の向上、セルフモニタリング、意欲低下への対処など、心理的要因への働きかけが重要であるとされている。先行研究においても、運動介入におけるドロップアウトや逆戻りの背景として心理的障壁の重要性が指摘されており、認知行動療法的方略を組み込むことで運動の継続（adherence）を高め得ることが報告されている[1)]。本研究においても、教室で学んだ具体的な運動行動が中期的に維持されていたことは、心理的介入を通じて行動変容プロセスを支援したことが、運動習慣の定着に寄与した可能性を示唆している。特に、短時間の心理ワークやプチ瞑想といった比較的負担の少ない介入であっても、運動習慣の維持という点で一定の効果が得られたことは、地域介護予防事業における実践的意義が大きいと考えられる。

B．身体活動量、フレイル、食習慣における効果の限界

身体活動量（IPAQ-SF）、フレイル、および食品摂取多様性（DVS）については、群 × 時点の交互作用は認められず、Bonferroni 補正後の群内比較においても、9M 時点では BL との差は有意ではなかった。

これらの結果は、身体活動量や食習慣、フレイルといった生活全体を反映する指標が、筋力運動やストレッチといった特定の運動行動に比べて、短期間の集団型介入の影響を受けにくいことを示唆している。特にフレイルは身体的・心理的・社会的側面を含む多面的な概念であり、比較的健康度の高い高齢者を対象とした本研究においては、短期間で顕著な変化が生じにくかった可能性がある。食習慣についても、教室内での教育的介入のみでは、家庭環境や社会的支援、経済状況といった要因の影響を十分に補うことが難しく、行動変容の維持に限界があったと考えられる。本研究の結果は、集団型介護予防教室が運動習慣の定着には一定の効果をもち得る一方で、生活全体にかかわる行動や状態の変容には、より包括的かつ継続的な支援が必要であることを示している。

C．身体機能評価に対する介入効果

身体機能指標のうち、握力については、群 × 時点の交互作用および群内比較のいずれにおいても有意な変化は認められなかった。一方、歩行速度については、介入群および対照群の両群において、9M 時点でも BL と比較して有意な向上が認められた。これらの結果は、本研究で実施された介護予防教室における運動内容の特性を反映している可能性がある。本研究では高負荷の筋力運動は実施しておらず、運動内容は主として下肢や体幹を中心とした自重運動およびストレッチで構成されていた。そのため、上肢の最大筋力を反映する握力については、有意な改善が得られなかった可能性が考えられる。

D．意欲低下の改善など心理社会的機能の変化

心理社会的アウトカムについては、3M において、いずれの指標でも群 × 時点の交互作用は認められず、Bonferroni 補正後の群内比較においても有意な変化は確認されなかった。一方、意欲低下（J-DAS）については、介入群において9M 時点で BL と比較して有意な改善が認められた。意欲低下は、高齢者における身体活動量の低下と関連することが報告されている[8)]。本研究の結果からは、心理的介入が意欲低下や自発性の低下といった心理的側面に一定の影響を及ぼし、そのことが運動行動の継続を支えた可能性が示唆される。ただし、J-DAS においても群 × 時点の交互作用は有意ではなかったことから、意欲低下の改善については探索的な結果として慎重に解釈する必要がある。

また、抑うつ症状（GDS）、精神的健康（J-WHO-5）、自己効力感（GSES）、およびソーシャルネットワーク（LSNS-6）については、介入による明確な変化は認められなかった。これらの心理社会的指標は、比較的安定した状態特性を反映する側面が強く、本研究で実施した短期間の介護予防教室による影響が現れにくかった可能性があ

る。

E．ドロップアウト率の低さとプログラムの受容性

本研究では、介入群・対照群のいずれにおいても教室出席率が高く、ドロップアウト率は低水準にとどまっていた。これは、両群に共通して実施された運動および栄養指導を中心とする介護予防教室そのものが、参加者にとって受容性の高いプログラムであったことを示唆している。一方で、介入群においては心理ワークやプチ瞑想を含む構成であっても出席率の低下は認められず、対照群と同程度の高い参加継続率が維持されていた。このことから、本研究で導入した心理的介入は、少なくとも参加継続の妨げとなるものではなく、地域介護予防の現場において無理なく付加可能な要素であったと考えられる。地域介護予防事業では、内容の複雑化や負担感の増加が参加継続を阻害することが懸念されるが、本研究の結果は、短時間で構成された心理的介入や瞑想が、教室全体の受容性を損なうことなく実装可能である可能性を示している。

F．研究の限界と今後の課題

本研究にはいくつかの限界がある。第一に、本研究では運動・栄養指導に加えて心理ワークおよびプチ瞑想を組み合わせた包括的な介入を実施しており、どの介入要素が運動習慣の維持や意欲低下の改善に最も寄与したのかを個別に検証することはできない点が挙げられる。これは地域介護予防事業の実装研究としては現実的な制約である一方、今後の検討課題である。第二に、身体活動量や食習慣、心理社会的指標の多くが自己記入式質問紙によって評価されており、回答バイアスの影響を受けている可能性がある。今後は、加速度計等の客観的指標を併用した評価が望まれる。今後は、より長期的な追跡や、心理的要因と運動行動維持との関係を明らかにする分析、異なる地域・対象集団における再現性の検証を進めることが重要な課題である。

総　　括

本研究では、運動習慣の乏しい高齢者を対象とした介護予防教室において、運動および栄養指導に加え、認知行動療法の考え方を援用した心理ワークおよびプチ瞑想を組み合わせたプログラムを実施し、その効果を検討した。その結果、介入群では、教室で指導した筋力運動およびストレッチ運動の実施頻度が教室終了時点で有意に向上し、教室終了6か月後においてもベースラインと比較して有意に高い水準が維持されていた。一方、身体活動量、食品摂取多様性、フレイル指標については、介入による有意な変化は認められなかった。心理社会的指標については、教室終了時点では明確な変化は確認されなかったが、意欲低下においては、介入群内で教室終了6か月後時点においてベースラインと比較して改善が認められた。ただし、群×時点の交互作用は有意ではなく、心理的介入の効果については探索的な結果として慎重に解釈する必要がある。また、介入群・対照群ともに教室出席率は高く、心理的介入を付加しても参加継続を妨げないことが示された。以上より、本研究は、地域における介護予防教室において、心理的介入を組み合わせることが、運動習慣の維持を支援する可能性を示唆するものである。

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申し上げます。また、運動指導をご担当いただいた佐伯京子先生、プチ瞑想の開発にご協力いただいた業平山南蔵院副住職で公認心理師の日吉円順先生にも心より感謝いたします。更に、本研究の実施にあたり多大なご協力をいただいた東京都健康長寿医療センター研究所の櫻井花研究員、中山莉子研究員、清水恒三朗研究員、前田優貴乃研究員に感謝の意を表します。

参 考 文 献

1）Dalle Grave R, et al.(2011): Cognitive-behavioral strategies to increase the adherence to exercise in the management of obesity. J Obes, **2011**, 348293.
2）Dishman RK, et al.(1985): The determinants of physical activity and exercise. Public Health Rep, **100**(2), 158-171.
3）川越敏和ら(2020)：日本語版 Dimensional Apathy Scale (J-DAS)の作成と信頼性・妥当性の検証．日本心理学会大会発表論文集，**84**, 157.
4）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.
5）鍋谷　照(2001)：運動継続のための新しいアプロー

チ．健康科学，**23**, 106-116.
6）Seino S, et al.（2017）: Effects of a multifactorial intervention comprising resistance exercise, nutritional and psychosocial programs on frailty and functional health in community-dwelling older adults: a randomized, controlled, cross-over trial. Geriatr Gerontol Int, **17**（11）, 2034-2045.
7）新開省二ら（2013）：『介護予防チェックリスト』の虚弱指標としての妥当性の検証．日本公衆衛生雑誌，**60**（5）, 262-274.
8）徳永智史ら（2020）：アパシーが地域在住高齢者の身体活動量に及ぼす影響．ヘルスプロモーション理学療法研究．**10**（2）, 73-79.
9）東京都健康長寿医療センター研究所：Community Psyworks Project. ちょい足し心理ワークガイドブック. https://x.gd/tmig_mental（アクセス日：2026 年 1 月 16 日）
10）東京都健康長寿医療センター研究所：Community Psyworks Project. プチ瞑想ガイド．https://x.gd/tmig_mental（アクセス日：2026 年 1 月 16 日）

Contents

Outstanding Research Award **General Theme**

Effects of acute aerobic exercise on the neural correlates of executive function in young and older adults: A crossover fMRI study.
Ryota Asahara, et al. ····· 1

Designated Theme

Retrospective evaluation of a care prevention program continuing in the community after intervention.
Tsukasa Yoshida, et al. ····· 11

General Theme

Early identification and personalized prevention strategies for pre-sarcopenic obesity targeting resistin gene SNPs associated with type 2 diabetes.
Yosuke Ikeda, et al. ····· 18

Lipid peroxidation as a key mediator of anxiety and cognitive dysfunction induced by physical inactivity.
Hiroaki Eshima, et al. ····· 24

Does administration of plasma from exercise-trained mice improve muscle mass and function in muscle atrophy model mice? : Identification of exerkine that prevents muscle atrophy and verification of suppressive effect of exercise against muscle atrophy via blood transmission.
Mamoru Oyabu, et al. ····· 30

The role of brain lactate in neural mechanisms of exercise-induced decrease in executive function.
Genta Ochi, et al. ····· 38

Evaluation of the effects of a comprehensive school physical activity intervention on the physical and mental health of adolescents.
Akira Kyan, et al. ····· 45

The potential mitochondrial regulatory factors underlying the effects of exercise on dementia onset.
Ami Kobayashi ····· 52

Establishing an objective evaluation method for motor imagery and verifying the effectiveness of a novel motor imagery intervention method.
Yuma Takenaka, et al. ····· 60

Mechanisms of muscle hypertrophy induced by energy surplus: An inter-organ crosstalk perspective.
Ikuru Miura, et al. ····· 67

Can resistance-based exercise snacks decrease the risk of non-communicable diseases on young and older adults?
Takuma Yanaoka, et al. 72

Development of an exercise program based on group cognitive behavioral therapy for the prevention of functional decline: A pilot randomized controlled trial.
Mari Yamashita, et al. 80

第39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　2026 年 6 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　編集室かわかみ

39th (2023)
Research-Aid Report

Meiji Yasuda Life Foundation of Health and Welfare