

博 士 論 文

中高齡者における筋間・筋内脂肪と代謝異常の
関係および運動トレーニング効果に関する研究

平成 30 年度

筑波大学大学院 人間総合科学研究科

スポーツ医学専攻

方 恩 知

指導教員 久野 譜也 教授

目次

List of Tables	vi
List of Figures	vii
List of Appendix	viii
略語と記号	ix
用語の説明	xi
関連論文リスト	xii
第1章 緒言	1
1. 研究の背景と意義	1
2. 目的	4
3. 本研究の仮説	4
第2章 研究小史	5
1. 筋間・筋内脂肪に関する研究	5
(1) 筋間・筋内脂肪の定義と評価	5
(2) 筋間・筋内脂肪の特性	7
(3) 筋間・筋内脂肪の蓄積に影響を与える要因	7
A. 加齢と筋間・筋内脂肪との関係	7
B. 身体不活動と筋間・筋内脂肪との関係	8
(4) 筋間・筋内脂肪の蓄積	9
2. 筋間・筋内脂肪が代謝異常に及ぼす影響	12

(1) 筋間・筋内脂肪が骨格筋代謝に及ぼす影響	12
(2) 筋間・筋内脂肪と代謝異常リスク因子との関係	14
3. 運動トレーニングが筋間・筋内脂肪に及ぼす影響	15
(1) 有酸素運動が筋間・筋内脂肪に及ぼす影響	15
(2) 筋力トレーニングが筋間・筋内脂肪に及ぼす影響	16
第3章 本研究の課題	18
第4章 筋間・筋内脂肪と代謝異常リスク因子との関係（課題1）	19
1. 筋間・筋内脂肪と代謝異常リスク因子との関係	19
(1) 目的	19
(2) 方法	20
A. 対象者	20
B. 形態計測	20
C. 大腿部および腹部横断面積の測定	20
D. 血圧の測定および血液検査データの解析	21
E. メタボリックシンドロームリスク因子の判定	22
F. 共変量	22
G. 統計分析	23
(3) 結果	24
A. 対象者の特性	24
B. 筋間・筋内脂肪の4分位における大腿部および腹部の比較	24
C. 筋間・筋内脂肪の4分位における代謝異常リスク因子の比較	24
D. 筋間・筋内脂肪と代謝異常リスク因子との関係	28

(4) 考察	32
(5) 結論	34
第5章 運動トレーニングが筋間・筋内脂肪に及ぼす影響（課題2）	35
1. 筋力トレーニングが筋間・筋内脂肪に及ぼす影響（課題2-1）	35
(1) 目的	35
(2) 方法	36
A. 対象者	36
B. 介入内容	36
C. 形態計測	37
D. 大腿部および腹部横断面積の測定	37
E. 血圧の測定および血液検査データの解析	39
F. 日常身体活動量	39
G. 基本属性および生活習慣の調査	39
H. 統計分析	39
(3) 結果	40
A. 介入前後における対象者の特徴	40
B. 各群における大腿部の変化	40
C. 各群における代謝異常リスク因子の変化	44
D. 筋間・筋内脂肪の変化量と代謝異常リスク因子の変化量との関係	44
(4) 考察	44
(5) 結論	46

2. 5年間の複合トレーニングが加齢に伴う筋間・筋内脂肪の蓄積に及ぼす影響 (課題 2-2)	48
(1) 目的	48
(2) 方法	48
A. 対象者	48
B. 複合トレーニングの内容	49
C. 形態計測	49
D. 大腿部および腹部横断面積の測定	50
E. 日常身体活動量	50
F. 統計分析	50
(3) 結果	50
A. 全対象者の特徴	51
B. 全対象者における大腿部および腹部の変化	51
C. 各群における5年間の変化	51
D. 5年間における日常身体活動量と筋間・筋内脂肪の変化量の関係	57
(4) 考察	59
(5) 結論	61
第6章 総括	62
1. 本研究で得られた成果と意義	62
2. 本研究の限界	64
3. 今後の課題	65
4. 結論	65

謝辭	67
参考文献	68
Appendix	75

List of Tables

Table 4-1-1	Characteristics of participants according to quartiles of IMAT	25
Table 4-1-2	Thigh and abdominal cross-sectional areas of participants according to quartiles of IMAT	26
Table 4-1-3	Metabolic disorder risk factor of participants according to quartiles of IMAT	27
Table 4-1-4	Partial correlation coefficients between the IMAT and Metabolic disorder risk factor	29
Table 4-1-5	Body composition for predicting Metabolic disorder risk factor	30
Table 4-1-6	Regression coefficients between the IMAT and number of MetS risk factor	31
Table 5-1-1	Characteristics of participants	41
Table 5-1-2	Changes in Metabolic disorder risk factor in the resistance training and control groups	45
Table 5-2-1	Characteristics of participants at baseline and follow-up	52
Table 5-2-2	Thigh and abdominal cross-sectional areas of participants at baseline and follow-up	53
Table 5-2-3	Change in characteristics according to level of physical activity	55
Table 5-2-4	Change in thigh and abdominal cross-sectional areas according to level of physical activity	56

List of Figures

Figure 2-1-1	Cross-sectional images from the midthigh	6
Figure 2-1-2	Schematic illustration showing potential role of FAP-SC and their interplay in muscle	10
Figure 5-1-1	Illustration of the resistance training.	38
Figure 5-1-2	Changes in Thigh muscle and TSAT in the resistance training and control groups	42
Figure 5-1-3	Changes in IMAT in the resistance training and control groups	43
Figure 5-2-1	Follow-up change in physical activity	54
Figure 5-2-2	Relationship between 5year change in IMAT and daily physical activity.	58

List of Appendix

Appendix 1	身体活動メモ	76
Appendix 2	食事記録調査	78
Appendix 3	基本属性および生活習慣の調査	83
Appendix 4	関連論文 1	89
Appendix 5	関連論文 2	94

略語と記号

本研究で用いる主な略語と記号は以下の通りである。

1RM	: One repetition maximum 最大挙上重量
BMI	: Body mass index 体格指数
CPT-I	: Carnitine palmitoyltransferase I カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ I
CT	: Computed tomography
CV	: Coefficient of variation 変動係数
DAG	: Diacylglycerol ジアシルグリセロール
DBP	: Diastolic blood pressure 拡張期血圧
EMCL	: Extramyocellular lipid 骨格筋細胞外脂質
FA	: Flip angle フリップ角
FAPs	: Fibro-adipogenic progenitors 線維/脂肪細胞前駆細胞
FG	: Fasting glucose 空腹時血糖
FOV	: Field of view 撮像領域
GLUT4	: Glucose transporter 4 糖輸送体 4
MRS	: magnetic resonance spectroscopy
HbA1c	: Hemoglobin A1c ヘモグロビンエーワンシー
HDL-C	: High density lipoprotein cholesterol 高密度リポ蛋白コレステロール
ICC	: Intraclass correlation coefficient 級内相関係数
IGF-1	: Insulin-like growth factor-1 インスリン様成長因子-1
IRS	: Insulin receptor substrate
IMAT	: Intermuscular adipose tissue 筋間脂肪

	: Intramuscular adipose tissue	筋内脂肪
IMCL	: Intramyocellular lipid	骨格筋細胞内脂質
LDL-C	: Low density lipoprotein cholesterol	低密度リポ蛋白コレステロール
LPL	: Lipoprotein lipase	リポタンパク質リパーゼ
MetS	: Metabolic syndrome	メタボリックシンドローム
miRNA	: Micro ribonucleic acid	マイクロリボ核酸
MRI	: Magnetic resonance imaging	磁気共鳴画像撮影法
MyoD	: Myogenic determination factor	筋原性細胞決定因子
one-way ANOVA	: One-way analysis of variance	一元配置分散分析
PBG	: Porphobilinogen	ポルフォビリノーゲン
PI3K	: Phosphoinositide 3-kinase	PI3 キナーゼ
RT	: Resistance training	筋力トレーニング
SBP	: Systolic blood pressure	収縮期血圧
SD	: Standard deviation	標準偏差
T-CHO	: Total cholesterol	総コレステロール
TE	: Echo time	エコー時間
TG	: Triglyceride	中性脂肪
TR	: Repetition time	繰り返し時間
two-way ANOVA	: two-way analysis of variance	二元配置分散分析

用語の説明

本研究で用いる主な用語は以下の通りである。

- エビデンス : 科学的根拠. つまり実験の結果を基に「根拠がある」と考えられる事柄.
- 脂質代謝 : 脂質が生体内での構成成分に分解されたり, 再び脂質に合成されることである. 体内では LDL-C, HDL-C, そして中性脂肪の 3 つの形態で存在する.
- 糖代謝 : 糖質の同化作用と異化作用を意味する.
- 肥満 : 体内に脂肪が過剰に蓄積させている状態を意味する.
- 複合トレーニング : 本研究では筋力トレーニングと有酸素運動を組み合わせたトレーニングを意味する.
- 糖尿病 : 膵臓で作られるインスリンが不足したり, あるいは分泌されるインスリンが体内で適切に作用されない状態. 2 型糖尿病はインスリン抵抗性の発生が特徴である.

関連論文リスト

本論文は、以下の原著論文に未発表の実験結果を加筆，修正したものである。

【原著論文】

- 1) Eunji Bang, Kai Tanabe, Noriko Yokoyama, Shoko Chijiki, Shinya Kuno (2016) Relationship between thigh intermuscular adipose tissue accumulation and number of metabolic syndrome risk factors in middle-aged and older Japanese adults. *Experimental Gerontology* 79:26-30.
- 2) Eunji Bang, Kai Tanabe, Noriko Yokoyama, Shoko Chijiki, Takuya Tsuruzono, Shinya Kuno (2018) Effects of daily walking on intermuscular adipose tissue accumulation with age: A 5-year follow-up of participants in a lifestyle-based daily walking program. *European Journal of Applied Physiology* 118:785-793.

第1章 緒言

1. 研究の背景と意義

厚生労働省（2015）の「人口動態統計」によると，日本人の総死亡原因の約6割は，がん，心血管疾患及び糖尿病などの生活習慣病が占めていることが報告されている．肥満は生活習慣病の有病率を増加させる強力な一つの因子であることが知られている．しかしながら，アジア人においては，太っていなくても生活習慣病が発生する人が多く（Kodama et al. 2013），日本人においては2型糖尿病患者の平均BMIは 23.1kg/m^2 であり（曾根 2010），心疾患による死亡はBMI 25kg/m^2 未満の非肥満者が約80%を占めていることが報告されている．今後，加速する高齢化が生活習慣病の有病率を増加させると予測され，それに伴い医療費増大や要介護者の増加などの社会的な負担が増えると考えられる．したがって，日本の生活習慣病予防対策において非肥満者における代謝異常に関連する因子を検討し，その改善方法を明らかにしていくことは，重要な課題であると考えられる．

最近，非肥満者における代謝異常を引き起こす原因として骨格筋のインスリン抵抗性が関連する可能性が示唆されている（Takeno et al. 2016）．骨格筋は糖の70%以上を利用し，インスリンの作用に重要な役割を果たしている臓器の一つである（DeFronzo 1988）．マウスを用いた動物実験によると，骨格筋に脂肪の蓄積を誘導した結果，骨格筋にインスリン抵抗性が発生することから（Kim et al. 2001），インスリン抵抗性の発生に影響を与える一つの要因として筋肉に蓄積される脂肪，すなわち，筋間・筋内脂肪（IMAT：Inter・Intramuscular adipose tissue）が注目されている．IMATは筋肉の間または内に蓄積されている脂肪を意味する．IMATは健常者に比べて2型糖尿病や心血管疾患患者の筋肉で多く観察されている（Goodpaster et al. 2000; Gallagher et al. 2009）．一方，重度の疾患を有していない健常者を対象とした研究においてもIMATの

蓄積は代謝異常リスク因子およびメタボリックシンドローム（MetS：Metabolic syndrome）の発生リスクと関連することが報告されている（Yim et al. 2007; Therkelsen et al. 2013）.

骨格筋に近接して蓄積している IMAT は脂質代謝物を分泌することによって、骨格筋の糖代謝低下とインスリン抵抗性の発生に影響を及ぼすことが報告されている（Holland et al. 2007; Timmers et al. 2008; Wang et al. 2009）. インスリン抵抗性は、MetS や 2 型糖尿病の発生に重要な要因であると同時に、心血管疾患の発生リスクを増加させることから、IMAT の蓄積は、骨格筋のインスリン抵抗性を引き起こし、MetS や 2 型糖尿病および心疾患などの代謝異常に関わる可能性が示唆されている. このように、これまでの先行研究から IMAT の蓄積と代謝異常との間に一定の関連性が示唆されている. しかしながら、多くの先行研究は、肥満者や糖尿病患者を対象としており、健全な中高齢者を対象とした IMAT と代謝異常との関係を検討した研究はわずかである. また、内臓脂肪や BMI のように代謝異常に強い影響を与えることが知られている体組成因子と比較して IMAT は代謝異常リスク因子にある程度関連しているのか、または独立して関連するか否かについて不明な点が多い. さらに、黒人は白人に比べて IMAT と代謝異常のリスク因子との関連性が強いことが示され（Albu et al. 2005; Yim et al. 2007）、IMAT と代謝異常リスク因子の関係には人種による差があると考えられる. しかしながら、IMAT と代謝異常リスク因子との関係を検討したものは、ほとんど欧米人を中心とした研究であり、アジア人、特に日本人を対象とした研究は見当たらないのが現状である.

一方、IMAT の蓄積には加齢（Borkan et al. 1983; Song et al. 2004; Albu et al. 2005; Delmonico et al. 2009; Buford et al. 2012）、身体不活動および低身体活動量（Manini et al. 2007; Ryan et al. 2011; Tuttle et al. 2011; Wroblewski et al. 2011; Leskinen et al. 2013）が影響を与える重要な要因であることが知られている. 加齢、身体不活動お

よび低身体活動量による IMAT 蓄積のメカニズムはまだ明らかにされていないものの、いくつかの仮説が挙げられている。その一つは、骨格筋に存在する筋衛星細胞と間葉前駆細胞の相互作用に障害が発生して IMAT が蓄積される可能性である。筋肉に存在している間葉前駆細胞は、脂肪へ分化する能力を持つ細胞であり、通常、筋衛星細胞は間葉前駆細胞が脂肪へ分化することを抑制している。しかしながら、加齢や身体不活動のような生物学的、生理学的環境の変化によって筋衛星細胞の脂肪分化抑制シグナルが弱くなると、間葉前駆細胞が脂肪へ分化し、筋肉で IMAT として蓄積される可能性が示唆されている。

もう一つは、筋肉の脂肪酸化能の低下による蓄積である。筋肉は安静時に脂肪をエネルギー源として使用するために、脂肪酸化能を持っている。筋肉の不活動により脂肪酸化能の低下が発生すると、筋肉は脂肪の代わりに糖をエネルギー源として必要とされる。すなわち、安静時の代謝作用が筋肉の脂肪酸化の代わりに解糖作用へ変化し、酸化されなかった脂肪が血液や筋肉に残り、これが IMAT として蓄積される可能性が報告されている。

これらのことから、IMAT の蓄積を予防するためには、一定の身体活動が必要であり、特に筋肉への刺激、筋肉の活動が重要であると考えられる。筋肉の活動を増大させる方法としては、筋力トレーニングが有効であることが知られており（久野 2005）、IMAT の蓄積の予防においてもその効果が期待される。これまで IMAT の蓄積を予防する運動トレーニングとして主に有酸素運動の効果が報告されている（Durheim et al. 2008; Marcus et al. 2008; Murphy et al. 2012）。しかしながら、有酸素運動は短期間な IMAT の減少には効果的であるが、筋肉での刺激が小さく、長期的に筋肉量が増大しにくいデメリットが指摘されている（高橋と久野 2005）。

一方、IMAT に対する筋力トレーニングの効果を報告した研究は、有酸素運動に比べて少なく、若年者や肥満者を対象とし（Marcus et al. 2010; Jacobs et al. 2014; Nicklas

et al. 2015), または比較対象を設けていないため, 中高年者における筋力トレーニングが IMAT に及ぼす影響は明らかにされていないままである. さらに, IMAT は加齢によって増加することが報告されているが (Song et al. 2004; Delmonico et al. 2009), 長期間における運動トレーニングが加齢に伴って増加していく IMAT の蓄積を予防できるか否かは不明である.

このように, IMAT の蓄積と代謝異常との間には一定の関連性が示唆されており, 日本人を対象に IMAT と代謝異常の関係を明確に把握した上で, IMAT 蓄積の予防に関する検討が必要であると考えられる.

2. 目的

本研究は非肥満者における生活習慣病の発症率が高い日本人の代謝異常に関連する因子を検討し, 予防プログラムの確立に貢献するために, 中高齢者を対象として, IMAT と代謝異常リスク因子との関連性を明らかにした上で, 運動トレーニングが IMAT に及ぼす影響について明らかにすることを目的とした.

3. 本研究の仮説

本研究では, 以下の 3 つの仮説を設定した.

- ① 中高齢者における IMAT は代謝異常リスク因子と関連する.
- ② 筋力トレーニングは中高齢者における IMAT の減少に有効である.
- ③ 長期間における複合トレーニングは加齢に伴う IMAT の蓄積を予防する.

第2章 研究小史

4. 筋間・筋内脂肪に関する研究

(1) 筋間・筋内脂肪の定義と評価

筋間・筋内脂肪 (IMAT: inter・intramuscular adipose tissue) とは、筋膜の下で筋肉の間または筋肉の内に蓄積されている脂肪を意味する。IMAT は、世界的に統一された名称がないため、研究者によって intermuscular adipose tissue, intermuscular fat, myostasis, low density lean tissue など様々な名称で呼ばれている。

IMAT の評価方法においては、バイオプシー、核磁気共鳴画像法 (MRI: magnetic resonance imaging), コンピュータ断層撮影法 (CT: computed tomography) などがあり、ヒトを対象とした研究では非侵襲的方法である MRI と CT を用いた研究が多く見られている。CT は、徐脂肪組織の密度 (X 線吸収値) を測定し、徐脂肪組織の密度が低いほど、IMAT が多く蓄積されていると判断する方法である (Ryan and Nicklas 1999; Rossi et al. 2011)。MRI は磁気を利用した断層画像法で、骨格筋や脂肪組織の断層像を得る方法である。MRI と CT は測定部位の映像より IMAT の横断面積またはボリュームを定量化することが可能である (Ruan et al. 2007; Marcus et al. 2010)

(Figure 2-1-1)。両方の方法とも解剖用遺体の横断面積から得られた IMAT 量との間に高い相関関係 (MRI は $r=0.92$, CT は $r=0.96$) を示していることから、IMAT を評価する明確な方法の一つであるとされている (Mitsiopoulos et al. 1998)。

一方、MRI や CT の画像からは筋細胞に存在する脂質を明確に判断できないため、プロトン磁気共鳴分光法 ($^1\text{H-MRS}$: proton magnetic resonance spectroscopy) を用いて筋細胞の脂質を測定し、筋細胞内に存在する脂質は骨格筋細胞内脂質 (IMCL: intramyocellular lipid), 筋細胞の外側に存在する脂質は骨格筋細胞外脂質 (EMCL: extramyocellular lipid) と定義している (Szczepaniak et al. 1999)。MRI により評

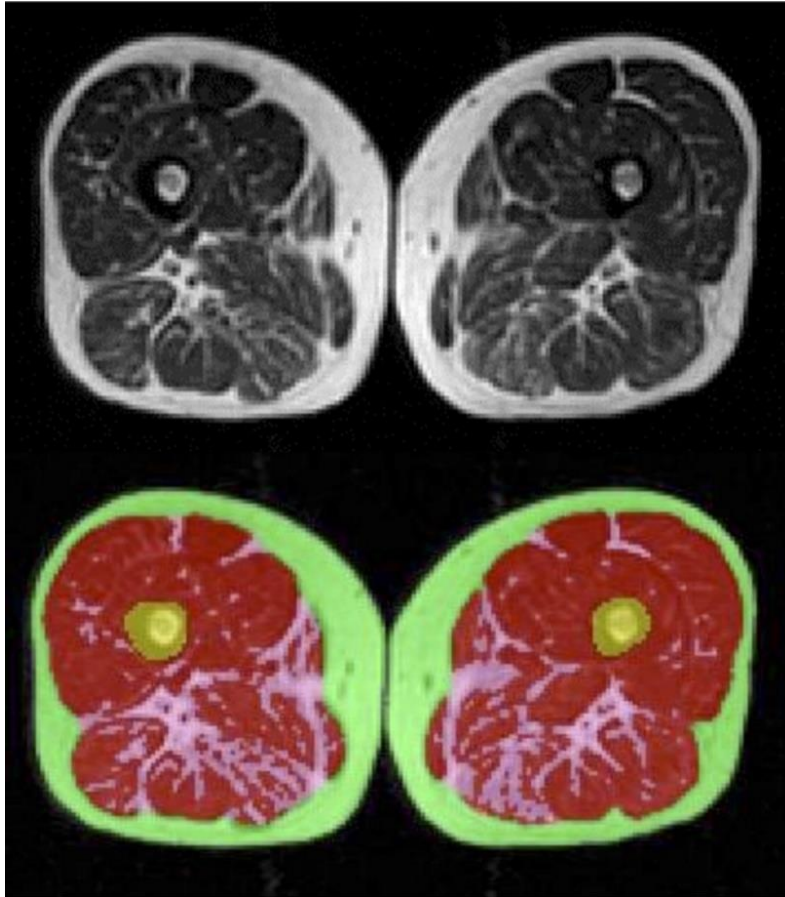


Figure 2-1-1. Cross-sectional images from the midthigh (Ruan et al. 2007).
pink, intermuscular adipose tissue; red, skeletal muscle;
green, subcutaneous adipose tissue.

価された IMAT は IMCL より EMCL と有意に相関 ($r = 0.51 \sim 0.6$) していることが報告されている (Akima et al. 2016) ことから IMAT は主に EMCL を定量化している可能性が考えられる。

(2) 筋間・筋内脂肪の特性

ヒトの脂肪組織は全身に分布し、蓄積されている場所によって脂肪が持っている生理学的特性が異なることが示唆されている (Edens et al. 1993; Folsom et al. 1993)。わずかな研究であるが、IMAT においてもいくつかの生理学的特性が、動物研究により挙げられている。

豚における僧帽筋の IMAT と皮下脂肪の生物学的特徴を検討した研究によると、IMAT は脂質生成または脂質分解酵素の活動および発現が皮下脂肪に比べて有意に低く、レプチン、アディポネクチン、および IGF-1 をコーディングする遺伝子の発現が、他の脂肪細胞に比べて有意に低いことが示された (Gardan et al. 2006)。また、豚の皮下脂肪と IMAT の miRNAs を比較した実験では、IMAT は皮下脂肪に比べて炎症 (miR-21, miR-101) や糖尿病関連 miRNAs (miR-30a, miR-103) が多いことを報告した (Ma et al. 2013)。さらに、IMAT、皮下脂肪、内臓脂肪の遺伝子発現プロファイリングを分析し、同様な特性を持つ遺伝子をグループ化するクラスター分析を行った。IMAT は内臓脂肪から発現される炎症、免疫関連遺伝子と類似な特性を持っていることが示された (Zhou et al. 2013)。IMAT は皮下脂肪や内臓脂肪に比べて少ない量であるものの、他の脂肪とは異なる特徴を持ち、体内でどのように作用するか注目して検討する必要があると考えられる。

(3) 筋間・筋内脂肪の蓄積に影響を与える要因

A. 加齢と筋間・筋内脂肪との関係

加齢は IMAT 蓄積の主な一つの要因であることが示唆されている。年齢と IMAT の

関連性は 1983 年、Borkan et al. により初めて報告された。Borkan et al. は CT を用いて中年男性と高齢男性の IMAT を測定し、中年群に比べて高齢群で IMAT 量が有意に多いことを明らかにした。その後、多くの横断研究から性別にかかわらず、年齢が高いほど多い IMAT 量が多いことが明らかとなった。さらに、総脂肪量や大腿筋面積当たりの相対的な IMAT も年齢と相関関係にあることが報告されている (Gallagher et al. 2005; Marcus et al. 2010)。日本人の横断的データからでも、若年者に比較して高齢者の IMAT が多いことが示され、日本人も他の人種と同様に、加齢に伴って IMAT が増加する可能性が示されている (Akima et al. 2015)。

さらに、縦断データにより加齢に伴う IMAT の変化が明らかにされている。Song ら (2004) は、2 年間、65 歳以上の女性 26 名を対象として MRI を用いて全身の IMAT 量を評価し、その変化を追跡した。その結果、2 年間、体重や総脂肪量が維持されているにもかかわらず、IMAT 量が年間約 70g 程度増加していることを確認した。Delmonico et al. (2009) は、70~79 歳の高齢男女 1678 名を対象とした大規模のコホート研究により、5 年間の大腿部 IMAT の変化を追跡した。その結果、男女ともに大腿部の IMAT 横断面積が有意に増加していることを示し、さらに、対象者を体重の変化によって分類して IMAT の変化を検討したところ、皮下脂肪は体重の変化に相関して増減することに比べ、IMAT は体重の変化にかかわらず、体重が維持または減少した者においても IMAT が 16~75% まで増加していることが示された。このような加齢と IMAT の関係には筋量の低下やホルモンの変化などの様々な加齢現象が IMAT の蓄積に影響を及ぼす可能性があると考えられる。

B. 身体不活動と筋間・筋内脂肪との関係

IMAT は局所・全身的な不活動によって増加することが報告されている。19~28 歳の若年者 18 名を対象とし、4 週間の下肢サスペンションによる IMAT の変化を検討し

た Manini et al. (2007) の研究では、4 週間後、大腿筋は 7.4%減少し、大腿部の IMAT は 14.5%増加することを示した。また、脊髄損傷や脳卒中による四肢麻痺患者を対象に、身体不活動と IMAT の関係について報告されている。脊髄損傷患者は脊髄損傷 6 週間後、年齢、身長、体重などをマッチングさせた身体活動が可能な健康者に比べて IMAT が約 126%多く、脊髄損傷 3 ヶ月後には IMAT が約 26%増加することが示された。大腿筋は健康者に比べて約 33%少なく、3 ヶ月後には大腿筋が 10%減少していることが明らかとなった (Gorgey and Dudley 2007)。また、脳卒中後、麻痺のある骨格筋は、麻痺がない骨格筋に比べて IMAT が約 4%増加したことが報告されている (Ryan et al. 2011)。

さらに、身体不活動だけではなく、低い身体活動量も IMAT と関連する可能性が示唆されている。糖尿病患者 22 名を対象とし、歩数と IMAT の関係について横断的に検討した研究によると、歩数が少ないほど IMAT が多いといった負の相関 ($r = -0.44, p < 0.05$) を示した (Tuttle et al. 2011)。Larsen et al. (2014) は、質問紙にて調査した余暇時間の座位時間を 3 分位して IMAT 量を比較した結果、座位時間が多いグループであるほど IMAT が多いことを示した。また、IMAT は座位時間より身体活動量 (中等強度以上の身体活動を週 2 回以上行う時間) と有意に関連することが示され、IMAT の蓄積を予防するためには単に座位時間を減らすことだけでなく、中等強度の身体活動が必要であるとことが示唆された。

(4) 筋間・筋内脂肪の蓄積

IMAT は主に加齢、身体不活動や低い身体活動量の影響を受けて蓄積される。IMAT の蓄積に関するメカニズムはまだ不明な点があるものの、いくつかの仮説が挙げられている。まず、筋衛星細胞 (SC : Satellite cell) と間葉前駆細胞または FAPs (fibro / adipogenic progenitor) 細胞の相互関係による蓄積である (Uezumi et al. 2010; Farup

et al. 2015, Figure 2-1-2). 筋衛星細胞は、筋線維の筋形質膜と基底膜の間に存在する単核細胞である。通常、静止期の状態であるが、骨格筋が負荷刺激を受けると活性化され、筋分化制御因子の一つである MyoD を発現して増殖し、筋芽細胞に分化する。新しい筋線維を形成したり、既存の筋繊維と融合することによって筋衛星細胞は筋線維の再生、肥大に重要な役割を果たしている。

骨格筋には、筋衛星細胞の以外にも間葉前駆細胞や FAPs が存在している。間葉前駆細胞と FAPs は、脂肪に分化することが知られている。通常、筋衛星細胞は間葉前駆細胞が脂肪へ分化することを強く抑制しており、間葉前駆細胞は、筋衛星細胞の筋分化を促進させる相互作用を行っている (Uezumi et al. 2010)。しかしながら、加齢と身体不活動や低い身体活動量により筋衛星細胞の脂肪分化抑制シグナルが弱くなると、間葉前駆細胞が脂肪へ分化して筋肉で IMAT として蓄積される可能性が示唆されている。

また、もう一つの仮説としては、筋肉の脂肪酸化能力の低下が挙げられている (Manini et al. 2007)。筋肉は安静時脂肪をエネルギー源として使用するために脂肪を酸化する能力を持っている。脂肪酸をエネルギー源として使用するには、3つのステップが必要である。第一は、脂肪組織にある脂肪酸が脂肪組織から放出され、血液によって輸送される脂質に転換される。第二では、変換された脂肪酸がミトコンドリアに運搬されると活性化されて、脂質加水分解酵素によって分解される。最後のステップでは、脂肪酸が段階的にアセチル CoA に分解し、TCA 回路で処理されてエネルギーとして使用される。しかしながら、加齢や身体不活動により脂質への転換に重要な役割を果たしている 3-ヒドロキシアシル CoA (3-hydroxyacyl-CoA) の濃度が減少し、末梢神経の異常で神経が正常的に筋肉を支配していない状態である筋肉の脱神経が発生する。筋肉の脱神経は脂肪酸の酸化過程で脂肪酸をミトコンドリアの内膜へ移動させる必要不可欠な物質である CPT-I を抑制し、ミトコンドリアで活性脂肪酸の伝送の反応速度を制御する malonyl-CoA の増加を引き起こす。その結果、筋肉に脂肪酸化能力の低下が発生

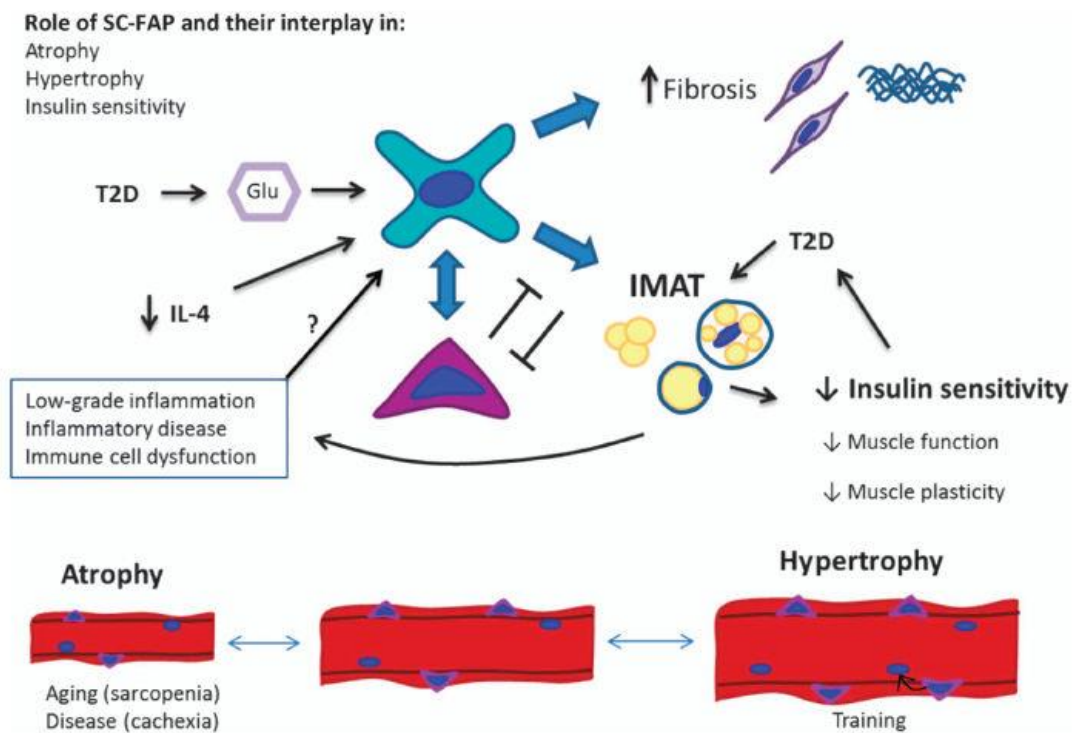


Figure 2-1-2. Schematic illustration showing potential role of FAP-SC and their interplay in muscle (Farup et al. 2007)

すると、脂肪酸をエネルギー源として使用することができなくなり、脂肪の代わりに糖がエネルギー源として必要とされる。すなわち、筋肉における安静時の代謝作用が変化することにより、酸化されなかった脂肪が血液や筋肉に残り、これが IMAT として蓄積される可能性が報告されている。

これらのメカニズムは共通して IMAT の蓄積が骨格筋の減少や機能低下と関連することを示唆している。さらに、脊髄損傷患者を対象に電気刺激を介して筋肉の収縮を誘導した結果、IMAT が約 50% 有意に減少することが報告されている (Gorgey et al. 2012)。これらのことから、IMAT の蓄積を予防するためには、筋肉への刺激、筋肉の活動が重要であると考えられる。

5. 筋間・筋内脂肪が代謝異常に及ぼす影響

(1) 筋間・筋内脂肪が骨格筋代謝に及ぼす影響

IMAT はインスリン抵抗性と関連し、2 型糖尿病患者の骨格筋で多く観察されることが報告されている (Goodpaster et al. 2000; Albu et al. 2005; Miljkovic-Gacic et al. 2008; Hilton et al. 2008; Gallagher et al. 2009)。膵臓の β 細胞から分泌されるインスリンは、筋肉へのグルコース摂取を促進し、脂肪細胞の脂肪分解を抑制する。肝臓ではグルコースの生成を抑制するなど、筋肉と肝臓の代謝活動を介して血糖を調節する。

インスリン抵抗性は、血糖値を下げるインスリンの機能が低下し、細胞がグルコースを効果的に燃焼できない状態である。筋肉ではグルコースの摂取が減少し、肝臓では、グルコースの生成抑制が低下することによって血糖が増加する。また、インスリンの脂質分解抑制の効果が減少すると、血液に遊離脂肪酸が過剰に流入される。したがって、インスリン抵抗性は 2 型糖尿病および心血管疾患などの代謝性疾患の危険因子として示唆されている (Henriksen 2002)。

健康者での骨格筋では、グルコースの 70% 以上を利用し (DeFronzo 1988)、インス

リンによって媒介される全身グルコース利用はほとんど筋肉のグルコース合成によって左右される。したがって、骨格筋におけるグルコース利用の減少は、全身インスリン抵抗性に最も大きな影響を与えていると考えられる。

最近、いくつかの動物実験により、IMATが骨格筋のインスリン抵抗性の発生に影響を与える一つの因子として注目されている。Kim et al. (2001) はリポタンパク質リパーゼ (LPL: lipoprotein lipase) の過発現によりマウスの筋肉に脂肪の蓄積を誘導した後、骨格筋にインスリン抵抗性が発生することを報告した。また、筋肉特異的なLPL knock-outマウスによる実験では、筋肉への脂肪蓄積を抑制し、高脂肪食によるインスリン抵抗性を有意に改善させたと報告した (Wang et al. 2009)。

これらのIMATによるインスリン抵抗性の発生機序はまだ明らかになっていないが、IMATの脂質代謝物による骨格筋のインスリンシグナル伝達の障害が原因である可能性が挙げられている。血液中のグルコースを骨格筋の細胞内に取り込むには、グルコース輸送体4 (GLUT4: glucose transporter 4) が重要である。GLUT4は、通常は細胞内に存在するが、グルコースの取り込みを促進させる刺激が加わると細胞膜に移動して、細胞内へグルコースの取り込みの輸送通路として働く。インスリンが骨格筋の細胞膜表面にあるインスリン受容体に結合すると、細胞内のIRS, PI3K, Aktなどの情報伝達分子が順々に活性化される。この情報が最終的に細胞内のGLUT4貯蔵庫に伝達されると、GLUT4が細胞膜に移動してインスリン刺激によるグルコースの取り込みを行う。しかしながら、IMATの蓄積により、筋肉細胞内に脂質代謝物の一つであるジアシルグリセロール (DAG: diacylglycerol) の量が増加すると、IRSの活性化が抑制され、順々にPI3KおよびAktの活性を減少させる。最終的に筋肉では GLUT4により媒介されるグルコースの流入が減少してインスリン抵抗性が発生することが報告されている (Timmers et al. 2008)。また、細胞膜を構成する代表的な脂質成分の一つであるセラミド (ceramide) はAktの活性を減少させ、インスリンシグナル伝達障害に関連することが

知られている (Holland et al. 2007; Ussher et al. 2010). したがって, IMATから分泌される脂質代謝物により筋肉へのグルコース流入が減少し, インスリン抵抗性を発生させると, IMATは結果的に2型糖尿病, 心血管疾患の代謝性疾患の発症と関連する二次的作用を起こす可能性が考えられる.

(2) 筋間・筋内脂肪と代謝異常リスク因子との関係

IMAT が代謝異常に与える影響に関するエビデンスは 1990 年代から蓄積し始めた. ヒトを対象とした先行研究から, IMAT が代謝異常リスク因子と関連することが報告されている. これらの研究のほとんどは過体重または肥満を対象としており, IMAT は体脂肪量, BMI と正の相関関係であることが知られているため, IMAT と代謝リスク因子との関係は, 肥満 (脂肪の過剰蓄積) に起因した現象の一つであると考えられてきた.

一方, 正常体重者においても IMAT は代謝異常リスク因子と相関することが報告されている. Goodpaster et al. (Goodpaster et al. 2003) は 70~79 歳の高齢男女 2964 名を対象とし, 糖尿病群とグルコース耐糖能群は正常群に比べて IMAT が約 2 倍以上多く, 正常体重者でも IMAT は空腹時のインスリンと関係することを示した (男性: $r = 0.24$, 女性: $r = 0.20$, $p < 0.001$). また, Leskinen et al. (2013) は IMAT がグルコース恒常性マーカーである HbA1c と相関 ($r = 0.54$, $p < 0.03$) することを示している. さらに, Yim et al. (2007) は, 18 歳以上の男女における大腿部の IMAT が総筋肉量, 総脂肪量, 内臓脂肪, 性別に独立して, 空腹時血糖値 (FG: fasting glucose), ポルフィリノーゲン (PBG: protein bound glucose), 総コレステロールと関連することを示した.

一方, いくつかの研究によると, IMAT は白人よりも黒人の代謝異常に関連し, 人種によって IMAT と代謝異常との関連性が異なる可能性が指摘されている (Albu et al.

2005, Yim et al. 2007).

また、横断研究のみならず、介入研究により IMAT の減少が代謝リスク因子の改善に及ぼす影響について検討した研究が報告されている。Murphy et al. (2012) は有酸素運動による IMAT の減少量がインスリン感受性の増加と相関 ($r = -0.71, p < 0.001$) することを報告している。また、Durheim et al. (2008) は有酸素運動による IMAT の減少が HDL-C ($r = -0.42$) と LDL-C ($r = -0.52$) 粒子サイズの増加と関連すると報告した。HDL-C と LDL-C の粒子は、サイズが小さいほどコレステロール量は少なく、中性脂肪の含有量が高いことから心血管疾患の発生リスクを高める。これらのことから、IMAT の減少は代謝異常リスク因子の改善に関連する可能性が考えられる。しかしながら、有酸素運動は IMAT だけではなく、他の脂肪の減少にも影響を与えるため、実際に IMAT の減少が代謝異常のリスク因子の改善と関連するのかわについては明らかではない。

これらの横断、縦断データの先行研究から、IMAT は糖代謝、脂質代謝関連リスク因子と関連することが報告されている。したがって、IMAT の蓄積は、正常体重者でも IMAT 蓄積の高リスク群である高齢者や運動習慣がない者の代謝異常に影響を与える可能性が高いと考えられる。

6. 運動トレーニングが筋間・筋内脂肪に及ぼす影響

(1) 有酸素運動が筋間・筋内脂肪に及ぼす影響

有酸素運動は、運動の実行時に要求されるエネルギーが有酸素性代謝から供給される運動を意味する。代表的にウォーキング、ジョギング、水泳などがある。有酸素運動は、脂肪代謝を調節する。また、脂肪分解作用に関与するカテコラミンや成長ホルモン遺伝子の発現を活性化させ、脂肪の合成に関与するインスリン遺伝子の発現を減少させ、脂肪の蓄積を抑制する。また、脂肪酸が主なエネルギー源として使用されるため、体脂肪

の減少や肥満の治療に効果的な運動トレーニングとして知られている。

なお、多くの先行研究では、有酸素運動が IMAT の減少に効果があることが報告されている。Durheim et al. (2008) は脂質異常症を有している 40～65 歳の男女を対象に 9 ヶ月間 65～80%VO₂peak の有酸素運動を行った結果、男女ともに IMAT が約 6%減少することが示された。Marcus et al. (2008) は 2 型糖尿病患者に 16 週間、最大心拍数の 85%強度で有酸素運動を実施し、IMAT が約 6.8%減少していることを示した。また、Murphy et al. (2012) は 50～60 歳の男女を対象に、コントロール群、カロリー制限群、有酸素運動群における IMAT の変化を比較検討した。その結果、コントロール群とカロリー制限群に比較して有酸素運動群で IMAT がより減少したことが示された。さらに、日本高齢者においても 12 週間のスロージョギングを実施し、IMAT が 21.8%減少していることが報告された (Ikenaga et al. 2017)。

以上のように、有酸素運動は、短期的な IMAT の減少に、効果的であると考えられる。しかしながら、加齢に伴って筋肉が減少し、体力が低下する中高齢者にとって有酸素運動は、筋肉量の低下と基礎代謝量の減少を伴って否定的な結果をもたらす可能性も考えられる。

(2) 筋力トレーニングが筋間・筋内脂肪に及ぼす影響

筋力トレーニングは、マシン、ダンベル、ゴム、そして自体重などを利用して、筋肉に負荷を与えて筋肥大や筋力を増加させる運動である。筋力トレーニングは有酸素運動に比べて体脂肪の減少効果は少ないものの、筋力トレーニングを通じた筋肉量 1lb (0.45kg) の増加は安定時の代謝率を約 2～3%増加させ、体脂肪の蓄積を予防するには有効である (Power & Dodd, 2003)。また、筋肉は収縮するために脂質を酸化し、筋肉内に蓄積されている脂質細胞は運動中のエネルギー源として使用されることが報告されている (Fritz et al. 1958)。したがって、筋肉の活動を増加させる筋力トレー

ニングは IMAT の蓄積を予防する運動トレーニングとして期待される。

これまで、IMAT の蓄積を予防するための運動トレーニング方法として有酸素性トレーニングを中心に検討されてきており、筋力トレーニングが IMAT に与える影響を検討した研究は、有酸素性運動に比べて少ない。

Nicklas et al. (2015) は 65～79 歳の過体重および肥満高齢者を対象とし、5 ヶ月間、週 3 回、70%1RM 強度で筋力トレーニングを実施した結果、IMAT が 5%減少していることを示した。Marcus et al. (2010) は 55 歳以上の慢性疾患患者を対象とし実施した 12 週間、週 3 回の筋力トレーニングの結果、IMAT が 11%有意に減少していることを報告した。

一方、Taaffe et al. (2009) のみが健常な高齢者を対象としてトレーニングの前後比較により筋力トレーニングが IMAT に及ぼす影響について検討し、12 週間、75%1RM の筋力トレーニングを週 3 回実施後、IMAT が 5.4%減少していることを報告した。しかしながら、コントロール群が設けられていないため、筋力トレーニングの効果についてはまだ明らかにされていない状態である。

このように、筋力トレーニングは IMAT の減少に影響を与える可能性が示唆されているものの、その多くは肥満や疾患患者を対象とした研究であり、健常な高齢者において筋力トレーニングが IMAT に及ぼす影響は明らかになっておらず、IMAT の蓄積を予防できるか否かは不明である。今後、IMAT 蓄積の予防策を具体化するためには、筋力トレーニングが IMAT における蓄積の抑制及び減少をもたらすのかを明らかにすることが必要であると考えられる。

第3章 本研究の課題

1. 本研究の課題

本研究の目的である、筋間・筋内脂肪と代謝異常リスク因子との関連および運動トレーニングの効果を明らかにするため、本研究に関連した先行研究を整理したところ、次の問題点が挙げられた。

- ① 日本の中高齢者を対象に IMAT と代謝異常リスク因子との関係については明らかにされていない。
- ② 筋力トレーニングが中高齢者における IMAT に与える影響を検討した研究は少なく、健常な中高齢者を対象に、対照群を設けて比較した検討は行われていない。
- ③ 長期間行う運動トレーニングが加齢に伴う IMAT の蓄積を抑制できるか否かは不明である。

以上の問題点を検討するために、本研究では以下の 2 つの研究課題を設定した。特に、本研究は、高 IMAT 群である運動習慣がない中高齢者に限定して検討を行った。

課題 1：中高齢者における IMAT と代謝異常リスク因子との関係

課題 2：トレーニングが中高齢者における IMAT に及ぼす影響

【課題 2 - 1】 筋力トレーニングが中高齢者の IMAT に及ぼす影響

【課題 2 - 2】 5年間の複合トレーニングが加齢に伴う IMAT の蓄積に及ぼす影響

第4章 筋間・筋内脂肪と代謝異常リスク因子との関係

1. 筋間・筋内脂肪と代謝異常リスク因子との関係（課題1）

(1) 目的

IMAT は若年者と比べて高齢者でより多くみられており（Borkan et al. 1983; Albu et al. 2005; Buford et al. 2012; Akima et al. 2015）、追跡研究によると、体重や体脂肪量にかかわらず、加齢に伴って増加することが報告されている（Song et al. 2004; Delmonico et al. 2009）。このことから、IMAT は、加齢に伴う老化現象と関連する可能性が示唆されている。

一方、IMAT は糖代謝や脂質代謝リスク因子と関連することがこれまでの多くの研究から示唆されている。さらに、これらの関連性は必ずしも脂肪が過剰に蓄積されている過体重者や肥満者のみならず、正常体重の健常な者においても IMAT は代謝リスク因子と関連することが報告されている。

これまでの研究を踏まえてみると、加齢に伴って増加した IMAT は中高齢者の代謝異常に関連する因子である可能性が考えられる。しかしながら、健康な高齢者を対象に、IMAT と代謝異常との関係を検討した研究は少数であり、IMAT が代謝異常とどの程度関連するかについては不明である。さらに、人種によって IMAT と代謝異常のリスク因子との関連性を検討した研究によると、黒人は白人に比べて IMAT と代謝異常のリスク因子との関連性が強く示され、人種による差がある可能性が考えられる（Albu et al. 2005; Gallagher et al. 2009）。しかしながら、IMAT と代謝異常リスク因子との関係を検討した研究のほとんどは欧米人を中心としたエビデンスであり、アジア人、特に日本人を対象とした研究は見当たらない。したがって、課題1では、日本の中高年齢者を対象に、IMAT と代謝異常のリスク因子との関係を明らかにすることを目的とした。

(2) 方法

A. 対象者

対象者は、重度の疾患がなく、運動習慣のない 60 歳から 85 歳までの中高齢男女 166 名（平均年齢 68.9 ± 5.5 歳，男性 53 名，女性 113 名）を対象とした。対象者は茨城県つくば市の地域情報誌により募集した。全ての対象者には研究について、紙面及び口頭により十分な説明を行った上で、同意書による研究参加の同意を得た。本研究は筑波大学大学院人間総合科学研究科の研究倫理委員会の承認を受けた（課題番号第 体 26-27 号）。

B. 形態計測

被験者は活動しやすい服を着用し、身長、体重、BMI により身体の形態を評価した。身長は、対象者が靴下を脱いだ状態で身長計により 0.1cm 単位で測定し、体重体組成計（HBF-354 IT-2, Omron Healthcare Co., Ltd., Kyoto）を用いて体重を 0.1kg 単位で測定した。測定された身長と体重から、体重を身長の二乗で割って BMI（Body Mass Index : kg/m^2 ）を算出した。腹囲は対象者が立っている状態で息を軽く吐く時にメジャーを用いて肋骨最下段と腸骨稜最上段の中間部位の周径囲を 0.1 cm 単位で 3 回測定し、その平均値を腹囲として採用した。

C. 大腿部および腹部横断面積の測定

大腿部と腹部の横断面積は筑波大学体育科学系 B 棟 107 室に設置されている 0.25T MRI（AIRIS mate, Hitachi Medical Co., Tokyo）により測定した。対象者は腕と膝を伸展させた仰臥位姿勢で撮影した。大腿部の MRI 撮影条件は、スピンエコー法，FOV：240 mm，TR：360 ms，TE：28 ms，FA：90°，マトリックス 256×256，ライス厚 10

mm, スライス間隔 20 mm であり, 右脚の大転子と外側上顆の 50 % 部位の横断画像を採用した.

腹部の MRI 撮影条件は, 高速スピノエコー法, FOV : 320 mm, TR:510 ms, TE:30 ms, FA:90°, マトリックス 256×256, ライス厚 5 mm, スライス間隔 13 mm であり, 腰椎 4 番と 5 番の間の椎間板を中心とした横断画像を用いて内臓脂肪と皮下脂肪の横断面積を算出した.

本研究における各組織は, 画像処理ソフトウェア (SliceOmatic 5.1, Tomovision, Montreal) の thresholding method を用いて区画し, その面積を算出した. 大腿部の場合, IMAT は 大腿筋膜の下にある筋肉群の間または内に位置する脂肪組織として定義し (Song et al. 2004), region growing 機能の利用し, 各イメージ別における脂肪組織のシグナル強度に対する閾値を決定した後, 手動で IMAT の定義に該当する部分を選択して面積値を算出した. 皮下脂肪, 大腿筋面積は watershed algorithm を用いて得られた. 腹部は watershed algorithm を用いて皮下脂肪と内臓脂肪を区画し, 内臓脂肪内で非脂肪ピクセルを手動で削除した.

大腿部と腹部横断面積の解析はトレーニングを受けた熟練者 1 名が参加者の個人情報情報をブラインドした上でランダムに提供された画像を各 3 回解析した. 大腿部における大腿筋, 皮下脂肪, IMAT の測定変動係数 (CV : coefficient of variation) 値はそれぞれ, $\pm 0.24\%$, $\pm 0.45\%$, $\pm 0.53\%$ であり, 腹部における皮下脂肪, 内臓脂肪の CV は $\pm 0.40\%$, $\pm 0.57\%$ であった. CSA の反復測定における級内相関係数 (ICC : intraclass correlation coefficient) は 0.98-1.00 であった ($p < 0.05$).

D. 血圧の測定および血液検査データの解析

被験者に採血前日は激しい運動や飲酒を控えるように指示し, 早朝に血圧の測定及び採血を行った. 血圧は, 椅子に座ったまま 10 分以上安定状態を維持した後, 自動血圧

計 (HEM-780, Omron Healthcare Co., Ltd., Kyoto) を用いて 3 回測定し, 収縮期血圧と拡張期血圧の平均値を算出した。採血は血圧測定後に, 看護師が上腕静脈から行った。血液生化学検査項目は, IMAT と関連性が報告されている中性脂肪, HDL-C, LDL-C の脂質代謝関連因子と FG, HbA1c, HOMA-R の糖代謝関連因子を分析した。

E. メタボリックシンドローム (MetS) リスク因子の判定

日本動脈硬化学会などが作成した日本人のメタボリックシンドローム診断基準 (2005) により, MetS リスク因子の判定を行った。

MetS リスク因子の構成要素は腹囲, 収縮期血圧, 拡張期血圧, 中性脂肪, HDL-C, および FG である。MetS リスク因子は, 腹部肥満 (臍位周径囲が男性は 85 cm 以上, 女性は 90 cm 以上), 高血圧 (収縮期血圧 130 mmHg 以上, または拡張期血圧 85 mmHg 以上), 高血糖 (FG 110 mg/dL 以上), 血中脂質異常 (中性脂肪 150 mg/dL 以上または HDL-C 40 mg/dL 未満) である。さらに, 各項目に関する薬を服用している場合, それぞれのリスク項目の該当者として含め, 各 MetS リスク因子の保有数を算出した。

F. 共変量

日常身体活動量は, 2 週間, 対象者に睡眠や入浴時など装着ができない場合を除いて起床から就寝まで腰に歩数計を装着してもらい, 加速度センサー内蔵歩数計 (HJ-730IT, Omron Healthcare Co., Ltd., Kyoto) を用いて評価した。また, 身体活動記録用紙にも活動の内容を直接に記入してもらい, 旅行, 出張などの非日常的な活動を除外し, 7 日間の日常活動量を採用して 1 日当たりの歩数を日常身体活動量として算出した。

食事調査による摂取エネルギー量の測定は, 対象者に 3 日間の食事内容を記録してもらい (Ogawa et al. 2003), 1 日当たりの総エネルギー摂取量 (kcal/日), 炭水化物 (g/日), タンパク質 (g/日) 及び脂質摂取量 (g/日) を算出した。これらの摂取エネルギー

量は栄養素分析ソフト（エクセル栄養君 Ver.4.5, 建帛社, 東京）を用いて分析を行った。また, 摂取エネルギーは年齢, 性別, 体格, 身体活動レベルによって要求される摂取エネルギー量が異なるため, 厚生労働省「日本人の食事摂取基準」(Uenishi, 2007)に基づいて年齢, 性別, 体格, 及び身体活動レベルに応じた適正エネルギー摂取量を算出し, 総エネルギー摂取量当たりの適正摂取エネルギー量の割合を用いて適正エネルギー摂取量をある程度満たしているかを評価した。さらに, 質問紙を用いて健康状態および生活習慣について調査を行った。本研究における女性は全員が閉経し, ホルモン補充療法を受けてない者であった。

G. 統計分析

IMAT 量による代謝異常リスク因子の差を検討するため, IMAT を 4 分位 (Q1: < 2.7 cm², Q2: 2.7-3.7 cm², Q3: 3.8-5.5 cm², Q4: > 5.5 cm²) に分類して分析を行った。IMAT の 4 分位における年齢, 身長, 体重, BMI, 身体活動量, 摂取エネルギー量, 大腿部および腹部横断面積, 代謝異常リスク因子の比較は一元配置分散分析 (one-way ANOVA: analysis of variance) を行った。また, MetS リスク保有数は Kruskal Wallis 検定または Mann-Whitney の *U* 検定によって群間比較を行った。IMAT と代謝異常リスク因子の相関関係を検討するために, 年齢と性別を制御変数とした偏相関分析を行った。また, IMAT が代謝異常リスク因子にどの程度関連するかを他の体組成因子と比較検討して予測するために, 対数線形回帰分析を行った。また, IMAT と他の体組成因子における予想値の間に有意な差があるかを検討するために Steiger's Z-test を行った。

さらに, IMAT が代謝異常リスク因子に独立して影響を与えるかを検討するために, 代謝異常リスク因子の重なりである MetS リスク保有数を従属変数とし, 偏相関分析で MetS リスク保有数と関連がみられた IMAT, 年齢, 性別, 身体活動量, 摂取エネルギー量, BMI, 内臓脂肪を独立変数とした重回帰分析を行った。基本統計量は平均値±標

準偏差, または%で示した. 全ての統計処理には統計ソフト SPSS (SPSS Statistics 21.0 for Windows) を用い, $p<0.05$ を有意とした.

(3) 結果

A. 対象者の特性

全体および IMAT の 4 分位における対象者の特性を Table 4-1-1 に示した. 本研究における男性の割合は 31.9%であり, BMI は $24\text{kg}/\text{m}^2$ を示した. 年齢, 身長に 4 群間の有意な差はみられなかったが, 体重, BMI, 腹囲は 4 群間の有意な差はみられており, IMAT が多いほど高い値を示した ($p<0.001$). 一日当たりの歩数は 6761 歩であり, IMAT が多いほど歩数が少ない傾向がみられたものの, 4 群間の有意な差はみられなかった. また, 摂取エネルギー量においても 4 群間の有意な差はみられなかった.

B. 筋間・筋内脂肪の 4 分位における大腿部および腹部の比較

Table 4-1-2 はまた, 全体および IMAT の 4 分位における大腿部と腹部横断面積の比較を示した. 大腿筋は 4 群間に有意な差が認められ, Q4 は大腿部の皮下脂肪は 4 群間の有意な差がみられなかった. また, IMAT と大腿筋当たりの IMAT は 4 群間に有意な差が認められ, Q4 は Q1, Q2, Q3 に比べて有意に多い IMAT 量を示した ($p<0.001$). なお, 腹部の皮下脂肪と内臓脂肪は Q1 に比べて Q4 で有意に多いことが示された.

C. 筋間・筋内脂肪の 4 分位における代謝異常リスク因子の比較

Table 4-1-3 は先行研究から IMAT と強い関連性がみられた糖代謝・脂質代謝関連リスク因子の比較を示した. 脂質代謝関連リスク因子である TG, HDL-C, LDL-C はすべて 4 群間に有意な差がみられなかった. 一方, 糖代謝関連リスク因子では FG ($p<0.05$),

Table 4-1-1 Characteristics of participants according to quartiles of IMAT

Characteristics	All participants	Quartiles of IMAT				P-value
		Q1 ($\leq 2.7\text{cm}^2$)	Q2 ($2.8\text{-}3.7\text{cm}^2$)	Q3 ($3.8\text{-}5.5\text{cm}^2$)	Q4 ($\geq 5.6\text{cm}^2$)	
N	166	41	42	42	41	
Male, %	31.9	29.3	31.0	31.0	36.6	0.504
Age, years	68.9 \pm 5.5	68.1 \pm 5.3	69.4 \pm 5.5	68.4 \pm 5.9	69.7 \pm 5.5	0.486
Height, cm	154.0 \pm 8.0	153.9 \pm 6.8	153.4 \pm 8.1	154.7 \pm 8.7	154.2 \pm 8.5	0.883
Weight, kg	57.1 \pm 9.3	51.7 \pm 7.1 ^{c,d}	56.4 \pm 7.4	59.3 \pm 11.4 ^a	60.9 \pm 8.1 ^a	<0.001
BMI, kg/m ²	24.0 \pm 3.0	21.8 \pm 2.3 ^{b,c,d}	24.0 \pm 2.6 ^{a,d}	24.6 \pm 3.2 ^a	25.6 \pm 2.5 ^{a,b}	<0.001
Waist circumference, cm	81.9 \pm 9.6	75.4 \pm 6.6 ^{b,c,d}	81.6 \pm 9.3 ^a	83.6 \pm 10.8 ^a	86.6 \pm 7.8 ^a	<0.001
SBP, mmHg	136.3 \pm 17.9	131.8 \pm 16.1	140.0 \pm 21.1	135.1 \pm 17.3	138.2 \pm 16.3	0.168
DBP, mmHg	80.8 \pm 12.8	80.8 \pm 10.6	80.2 \pm 11.5	79.5 \pm 10.2	82.9 \pm 17.9	0.655
Daily physical activity, steps/day	6761.78 \pm 3202.4	7446.1 \pm 3498.0	6896.2 \pm 2852.8	6491.7 \pm 3740.8	6216.5 \pm 2550.2	0.332
Dietary intake						
Total energy intake, kcal/day	2096.6 \pm 382.2	2121.7 \pm 413.1	2102.0 \pm 363.6	2072.1 \pm 391.1	2091.1 \pm 371.7	0.948
Energy intake, % of EER	114.8 \pm 24.5	110.6 \pm 22.7	115.6 \pm 27.4	115.7 \pm 21.9	117.2 \pm 25.9	0.654
Protein, g/day	83.5 \pm 16.4	84.0 \pm 18.1	87.9 \pm 17.9	81.4 \pm 13.6	80.5 \pm 15.1	0.160
Fat, g/day	54.7 \pm 15.5	56.9 \pm 17.1	55.9 \pm 15.3	53.2 \pm 13.8	52.8 \pm 16.0	0.572
Carbohydrate, g/day	302.2 \pm 58.9	306.3 \pm 67.9	300.8 \pm 55.2	295.1 \pm 59.7	306.9 \pm 53.2	0.784

Values are means \pm standard deviation and percentage. BMI, body mass index; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; EER, estimated energy requirement. a, indicate a significant difference for the Q1; b, indicate a significant difference for the Q2; c, indicate a significant difference for the Q3; d, indicate a significant difference for the Q4.

Table 4-1-2 Thigh and abdominal cross-sectional areas of participants according to quartiles of IMAT

Characteristics	All participants	Quartiles of IMAT				<i>P</i> -value
		Q1 ($\leq 2.7\text{cm}^2$)	Q2 ($2.8\text{-}3.7\text{cm}^2$)	Q3 ($3.8\text{-}5.5\text{cm}^2$)	Q4 ($\geq 5.6\text{cm}^2$)	
Thigh cross-sectional areas						
Thigh muscle, cm^2	99.0 ± 18.5	93.7 ± 16.8	96.9 ± 15.2	100.8 ± 21.3	104.4 ± 18.9	<0.05
TSAT, cm^2	53.0 ± 23.9	46.1 ± 20.5	52.4 ± 25.1	56.2 ± 24.3	57.0 ± 24.7	0.149
IMAT, cm^2	4.1 ± 1.9	$2.0 \pm 0.7^{\text{b,c,d}}$	$3.4 \pm 0.2^{\text{a,c,d}}$	$4.5 \pm 0.5^{\text{a,b,d}}$	$6.7 \pm 1.3^{\text{a,b,c}}$	<0.001
IMAT, % of thigh muscle	4.2 ± 1.9	$2.2 \pm 0.8^{\text{b,c,d}}$	$3.6 \pm 0.6^{\text{a,c,d}}$	$4.6 \pm 0.9^{\text{a,b,d}}$	$6.6 \pm 1.6^{\text{a,b,c}}$	<0.001
Abdominal cross-sectional areas						
ASAT, cm^2	160.2 ± 63.5	$127.5 \pm 61.2^{\text{b,c,d}}$	$167.1 \pm 67.5^{\text{a}}$	$178.4 \pm 60.0^{\text{a}}$	$167.5 \pm 54.6^{\text{a}}$	<0.01
VAT, cm^2	64.8 ± 33.9	$46.2 \pm 28.1^{\text{b,c,d}}$	$66.2 \pm 30.3^{\text{a}}$	$65.1 \pm 29.3^{\text{a}}$	$81.8 \pm 38.3^{\text{a}}$	<0.001

Values are means \pm standard deviation and percentage. TSAT, thigh subcutaneous adipose tissue; IMAT, intermuscular adipose tissue; ASAT, abdominal subcutaneous adipose tissue; VAT, visceral adipose tissue. a, indicate a significant difference for the Q1; b, indicate a significant difference for the Q2; c, indicate a significant difference for the Q3; d, indicate a significant difference for the Q4.

Table 4-1-3 Metabolic disorder risk factor of participants according to quartiles of IMAT

	Quartiles of IMAT					<i>P</i> Value
	All participants	Q1 ($\leq 2.7\text{cm}^2$)	Q2 ($2.8\text{-}3.7\text{cm}^2$)	Q3 ($3.8\text{-}5.5\text{cm}^2$)	Q4 ($\geq 5.6\text{cm}^2$)	
Lipid metabolism						
TG, mg/dl	107.2 \pm 49.3	103.9 \pm 54.4	101.4 \pm 44.3	114.0 \pm 51.0	109.4 \pm 48.0	0.653
HDL-C, mg/dl	57.4 \pm 13.5	61.1 \pm 14.5	58.2 \pm 14.3	55.4 \pm 12.8	55.0 \pm 11.7	0.140
LDL-C, mg/dl	131.1 \pm 33.5	130.1 \pm 29.8	133.5 \pm 37.4	130.7 \pm 35.5	130.3 \pm 31.9	0.964
Glucose metabolism						
FG, mg/dl	105.4 \pm 23.6	98.3 \pm 9.7 ^d	101.3 \pm 13.4	109.5 \pm 28.8	112.3 \pm 32.2 ^a	<0.05
Hb1Ac, %	5.4 \pm 0.9	5.1 \pm 0.3 ^{c,d}	5.2 \pm 0.5 ^d	5.6 \pm 1.2 ^a	5.7 \pm 1.0 ^{a,b}	<0.001
HOMA-R	1.6 \pm 1.3	1.2 \pm 0.6	1.7 \pm 1.2	1.9 \pm 1.7	1.8 \pm 1.2	0.102
Number of MetS risk Factor, n	1.6 \pm 1.1	1.1 \pm 0.9 ^{b,c,d}	1.6 \pm 1.0 ^{a,d}	1.6 \pm 1.1 ^a	2.2 \pm 1.1 ^{a,b,c}	<0.001

Values are means \pm standard deviation. TG, Triglyceride; HDL-C, high density lipoprotein cholesterol; LDL-C, low density lipoprotein cholesterol; FG, fasting glucose; HbA1c, hemoglobin A1c. a, indicate a significant difference for the Q1; b, indicate a significant difference for the Q2; c, indicate a significant difference for the Q3; d, indicate a significant difference for the Q4.

HbA1c($p<0.001$)で4群間に有意な差がみられており, IMATが多いほどFG, HbA1cが高いことが示された. また, 代謝異常リスク因子の重なりであるMetSリスク保有数は4群間に有意な差がみられており, Q1に比べてQ4で有意に高い値を示した.

D. 筋間・筋内脂肪と代謝異常リスク因子との関係

IMATと代謝異常リスク因子の相関関係を検討するために年齢と性別を制御変数とした偏相関分析を行った(Table 4-1-4). その結果IMATはHDL-C($r = -0.198, p<0.05$)と負の相関, FG($r = 0.202, p<0.01$), HbA1c($r = 0.272, p<0.05$), HOMA-R($r = 0.182, p<0.05$), MetSリスク保有数($r = 0.391, p<0.001$)と正の相関が認められた. また, 大腿筋面積や大腿部総面積あたりのIMATの割合はFG, HbA1c, MetSリスク保有数と正の相関が認められた.

さらに, 代謝異常の強い関連性が報告されている内臓脂肪, BMIとの比較によりIMATの蓄積が代謝異常リスク因子の変化にどの程度関連するかを検討した(Table 4-1-5). その結果, IMATが1%増加することにより, HDL-Cが0.22%減少し, FGは0.21%, HOMA-Rは0.18%, HbA1cは0.27%増加すると予測された. 糖代謝関連リスク因子のFGとHbA1cは内臓脂肪とBMIに比べて, IMATがより関連し, 特に, HbA1cはBMIに比較して有意に関連することが示された.

Table 4-1-6にはIMATが独立して代謝関連リスク因子と関連するかを検討するために, 代謝関連リスク因子の重なりであるMetSリスク保有数を従属変数とした重回帰分析の結果を示した.

IMATはModel1の年齢, 性別, BMI, 身体活動量, 摂取エネルギー, 大腿筋面積の補正後, MetSリスク保有数($\beta = 0.304, R^2 = 0.276, p<0.001$)と有意に関連し, IMATが多くなるほどMetSリスク保有数が有意に高くなることが認められた. さらに, 偏相関分析の結果, MeSリスク保有数にBMIとVATの影響が強かったため, BMIと内臓

Table 4-1-4 Partial correlation coefficients between the IMAT and Metabolic disorder risk factor

	TG	HDL-C	LDL-C	FG	Hb1Ac	HOMA-R
BMI, kg/m ²	0.209 **	-0.355 ***	0.086	0.169 *	0.140	0.294 ***
Daily Physical activity, steps/day	-0.202 **	0.193 *	-0.091	-0.201 *	-0.235 **	-0.071
Energy intake, % of EER	0.168 *	-0.108	-0.055	0.093	0.108	-0.050
Thigh cross-sectional areas						
Thigh muscle, cm ²	0.254 **	-0.224 **	0.033	0.135	0.109	0.169 *
TSAT, cm ²	0.123	-0.129	0.029	-0.040	-0.041	0.133
IMAT, cm ²	0.153	-0.198 *	0.042	0.202 **	0.272 ***	0.182 **
IMAT, % of thigh muscle	0.056	-0.128	0.043	0.181 *	0.255 **	0.133
Abdominal cross-sectional areas						
ASAT, cm ²	0.178 *	-0.191 *	0.175 *	0.161 *	0.109	0.301 ***
VAT, cm ²	0.323 ***	-0.257 **	0.211 **	0.165 *	0.154 *	0.266 **

Controlling for age and sex. *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001. BMI, body mass index; EER, estimated energy requirement; TG, Triglyceride; HDL-C, high density lipoprotein cholesterol; LDL-C, low density lipoprotein cholesterol; FG, fasting glucose; HbA1c, hemoglobin A1c; TSAT, thigh subcutaneous adipose tissue; IMAT, intermuscular adipose tissue; ASAT, abdominal subcutaneous adipose tissue; VAT, visceral adipose tissue.

Table 4-1-5 Body composition for predicting Metabolic disorder risk factor

	Log_IMAT		Log_VAT		Log_BMI	
	β	S.E.	β	S.E.	β	S.E.
Lipid metabolism						
TG	0.15	1.941	0.32 ***	4.292	0.21 **	2.740
HDL-C	-0.22 **	-2.847	-0.26 **	-3.494	-0.32 ***	4.357
LDL-C	0.02	0.201	0.18 *	2.387	0.09	1.128
Glucose metabolism						
FG	0.21 **	2.687	0.16 *	2.056	0.17 *	2.150
HOMA-R	0.18 *	2.303	0.26 **	3.397	0.29 ***	3.948
HbA1c	0.27 ^b ***	3.646	0.26 *	3.397	0.14	1.794

Estimates were divided by 100 in order to approximate associated change in the outcome variable for a 1% increase in a given predictor. *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001. b, indicate a significant difference for the BMI

Table 4-1-6 Regression coefficients between the IMAT and number of MetS risk factor

Variables	Model1			Model2			Model3		
	β	S.E.	<i>P</i> -value	β	S.E.	<i>P</i> -value	β	S.E.	<i>P</i> -value
IMAT, cm ²	0.304	0.043	<0.001	0.204	0.045	<0.01	0.177	0.045	<0.05
Age, years	0.167	0.016	<0.05	0.143	0.016	0.074	0.124	0.016	0.119
Sex	-0.125	0.228	0.196	-0.264	0.241	<0.05	-0.272	0.238	<0.01
Daily physical activity, steps/day	-0.141	0.000	0.066	-0.090	0.000	0.232	-0.086	0.000	0.251
Energy intake, % of EER	-0.032	0.004	0.688	0.002	0.004	0.983	-0.017	0.004	0.828
Thigh muscle, cm ²	0.202	0.006	<0.05	0.005	0.007	0.965	-0.017	0.007	0.878
BMI, kg/m ²				0.301	0.033	<0.01	0.209	0.036	<0.05
VAT, cm ²							0.198	0.003	<0.05
R ²	0.276			0.325			0.349		

EER, estimated energy; CSA, cross-sectional areas; BMI, body mass index; VAT, visceral adipose tissue. Model 1, adjusted for age, sex, physical activity, energy intake, thigh muscle; Model 2, adjusted for model 1 and BMI; Model 3, adjusted for model 2 and VAT.

脂肪を補正した Model2 と Model3 の分析を行った。BMI を補正した Model2 においても Model1 と同様に IMAT が多くなるほど MetS リスク保有数 ($\beta = 0.204$, $R^2 = 0.325$, $p < 0.01$) が有意に高くなることが認められた。さらに, Model2 に VAT を加えた Model3 の補正後にも, IMAT と MetS リスク保有数との有意な関連が維持された ($\beta = 0.177$, $R^2 = 0.349$, $p < 0.05$) .

(4) 考察

本研究は, 日本の健常な中高齢者を対象とし, IMAT と代謝異常リスク因子との関係を検討した。その結果として, IMAT は代謝関連リスク因子と関連することが示された。なお, IMAT は内臓脂肪や BMI に比べて糖代謝関連リスク因子とより強く関連する可能性が示された。さらに, IMAT は BMI, 内臓脂肪に独立して MetS リスク保有数の増加に影響を及ぼす可能性が示唆された。

正常体重者や重度の疾患がない健康者における IMAT と代謝異常リスク因子と関連を検討した先行研究はいくつか報告されている。Goodpaster et al. (2003) は 70-79 歳の高齢男女 2964 名を対象とし, 糖尿病群とグルコース耐糖能群は正常群に比べて約 2 倍以上多い IMAT を有しており, 正常体重者であっても IMAT は空腹時のインスリンと関係することを示した (男性 : $r = 0.24$, 女性 : $r = 0.20$, すべて $p < 0.001$)。また, Leskinen et al. (2013) は IMAT がグルコース恒常性マーカーである HbA1c と相関 ($r = 0.54$, $P < 0.05$) することを報告している。さらに, Yim et al. (2007) は, 18 歳以上の男女を対象とし, 大腿部の IMAT が性別, 総筋肉量, 総脂肪量, 内臓脂肪に独立して, FG, PBG, TG, HDL-C, そして総コレステロールと関連していることを示した。これらの先行研究で示された IMAT と代謝異常リスク因子との関係より, 本研究の結果は, 先行研究を裏付ける内容であると考えられる。

IMAT が代謝異常リスク因子と関連するメカニズムについては未だ不明な点が多い。

一つの仮説として、IMATの脂質代謝物による骨格筋のインスリンシグナル伝達の障害が影響を与える可能性が考えられる。IMATの蓄積によって、筋肉細胞内のDAG, ceramideの脂質代謝物が増加すると、IRS, PI3K, Aktの骨格筋のインスリンシグナル伝達分子の活性が減少することが報告されている (Holland et al. 2007; Timmers et al. 2008; Ussher et al. 2010)。したがって、IMATから分泌される脂質代謝物により筋肉へのグルコース流入が減少し、インスリン抵抗性を発生させることで、血液内へ遊離脂肪酸が過剰に流入される。結果的に2型糖尿病、心血管疾患の代謝性疾患と関連する可能性が予想される。今後、IMATとMetSの関係におけるその因果関係についてメカニズムを踏みながら縦断的に検討する必要があると考えられる。

さらに、本研究では、IMATは脂質代謝リスク因子よりも糖代謝リスク因子と強く関連し、その関連性は内臓脂肪とBMIに比べてもより強く関連していることが示されたのは興味深いことである。全身の糖代謝のほとんどは骨格筋で行い、IMATによる骨格筋のグルコース利用の減少は糖代謝異常につながることから、IMATは糖代謝リスク因子において内臓脂肪よりも大きな影響を与える可能性が考えられる。しかしながら、本研究で直接に観察していないため、今後さらなる検討が必要であると考えられる。

本研究は、IMATと代謝異常リスク因子の重なりであるMetSリスク保有数との関係を検討した。中高齢者におけるIMATは、年齢、性別、BMI、身体活動量、摂取エネルギー、大腿筋面積、内臓脂肪面積に独立して多くなるほどMetSリスク保有数が高くなることが示された。先行研究においてはIMATとMetSの発生との関係を検討した研究が報告されている。Goodpaster et al. (Goodpaster et al. 2005)は、70-79歳の高齢男女を対象とし、多いIMATを有する男性は正常体重であったにも関わらずMetSが発生するリスクが約2.3倍高くなるものの、BMI25以上の男性や女性ではIMATとMetSとの関連性が認められなかったと報告している。また、Therkelsen et al. (Therkelsen et al. 2013)は、30歳以上の男女を対象とし、傍脊柱筋のIMATが1SD

増加すると、女性における MetS の発生リスクは約 1.2 倍高くなり、男性では MetS との関連がみられなかったと報告している。先行研究と本研究の結果をまとめてみると、IMAT と MetS の関連性は、IMAT が代謝異常リスク因子の重なりに影響を与え、MetS になりやすくなる可能性が示されたと考えられる。一方、先行研究における IMAT と MetS の関連性にみられた男女差について、対象者の年齢、性別や IMAT の測定部位、人種の違いが影響を及ぼしている可能性があると考えられる。

(5) 結論

本研究は、日本の健常な中高齢者を対象に IMAT は代謝異常リスク因子と関連し、内臓脂肪や BMI に比べて糖代謝リスク因子とより関連する可能性を示した。したがって、IMAT が日本人の健常な中高齢者における代謝異常リスク因子に関連する一つの因子であることが示唆されたと考えられる。

第5章 運動トレーニングが筋間・筋内脂肪に及ぼす影響(課題2)

1. 筋力トレーニングが筋間・筋内脂肪に及ぼす影響(課題2-1)

(1) 目的

課題1では, 中高年者を対象に IMAT と代謝異常のリスク因子との関係を検討した。その結果, 健常な中高齢者における IMAT は代謝異常のリスクと関連する可能性が示された。したがって, IMAT 蓄積の予防に関する検討は, 代謝異常予防の観点から重要な研究課題であると考えられる。

IMAT の蓄積には, 筋活動の低下による筋衛星細胞の脂肪分化抑制の減少 (Uezumi et al. 2010; Farup et al. 2015), または筋肉の脂肪酸化能の低下 (Manini et al. 2007) が影響を与えることが報告される。IMAT の蓄積を予防するためには身体活動が必要であり, 特に筋肉への刺激, 筋肉の活動が重要であると考えられる。したがって, 筋肉の活動を増加させる筋力トレーニングは IMAT の蓄積を予防する運動トレーニングとしてその効果が期待される。

これまで IMAT を減少させる運動トレーニングとして主に有酸素運動の効果が報告されている。しかしながら, 有酸素運動は短期間に IMAT の減少に効果的であるが, 筋肉での刺激が小さく, 長期間的には筋肉量を減少させるデメリットが指摘されている (高橋と久野 2005; Karavirta et al. 2011)。

一方, 筋力トレーニングが IMAT に与える影響を検討した研究は, 有酸素性運動に比べて少なく, ほとんど肥満者や疾患者を対象としている。これまで, 健常な高齢者を対象とした検討において Taaffe et al. (2009) のみが, 筋力トレーニングにより IMAT が減少していることを示している。しかしながら, 介入前後比較による検討であり, 比較対象を設けてないため, 中高年者の IMAT に対する筋力トレーニングの効果は明らかにされていないままである。したがって, 筋力トレーニングの効果を明らかにす

るためには、対照群との比較を介した検討が必要であると考えられる。

そこで、本研究では、無作為化対照試験により筋力トレーニングが中高齢者の IMAT に及ぼす影響について検討することを目的とした。

(2) 方法

A. 対象者

対象者は地域情報誌により募集された。対象者の選定条件、① 60～85 歳、② 心血管系疾患やがんを患っていない者、③ 重度疾患がない者、④ 週 2 回、30 分以上の運動を定期的に行っていない者、⑤ 医師に運動を制限されていないまたは禁止されていない者、⑥ 要介護 1～5 の認定を受けていない者、⑦ 慢性的な関節痛等で日常生活に支障を来す痛みがない者とした。

応募した 41 名の内、上記の条件を満たす 38 名を研究対象者とした（肥満者 2 名）の対象者 38 名を無作為に筋力トレーニング群（n=19）と対照群（n=19）の 2 群に分類した。なお、介入期間中辞退した者、血液や MRI データの解析が困難である者、測定に参加していない者を除いて、最終的な分析対象者はトレーニング群 15 名と対照群 12 名の計 27 名を対象とした。対象者には研究について、紙面及び口頭により十分な説明を行った上で、同意書による研究参加の同意を得た。本研究は筑波大学大学院人間総合科学研究科の研究倫理委員会の承認を受けた（課題番号第 体 26-27 号）。

B. 介入内容

介入期間は全ての群で 24 週間とした。筋力トレーニング群はトレーニングを開始させる前の週に各運動種目について最大挙上重量（1RM : one repetition maximum）の測定を実施した。対象者はストレッチ後に体重の 10%程度で 2～3 回挙上させ、正しい動作の確認を行った。1RM の測定方法は、ある重量に対して 1 回挙上することができ

れば徐々に負荷を増加させる Trial and Error 方式 (LeSuer et al. 1997) で行い、挙上できる最大の重量を記録した。なお、各試技間の休息時間は 3 分～5 分とした。

筋力トレーニングの内容は、Progression Models in Resistance Training for Health Adults (American College of Sports Medicine 2009) に基づき、1 つのセッションは、準備体操と 5 分間のウォームアップ、筋力トレーニング、整理体操の順で約 45 分間行った。筋力トレーニング群は週 3 日、ウエイトトレーニングマシン (Nautilus NITRO, Nautilus Inc., Vancouver, Washington) を用いて 4 種目のレジスタンス運動 (ニーエクステンション、ニーフレクション、レッグプレス、ヒップアダクション, Figure 5-1-1) を、65～80%1RM 強度で 10 回 3 セット、セット間の休憩時間を 2 分として行った。

全てのセッションは、トレーニング指導者によって運動フォームや速度が同一になるよう管理された。さらに、介入期間中には筋力トレーニング除いた身体活動量および食習慣を変化させないよう指示した。なお、対象者のトレーニング実施率は、96%であった。一方、対照群は筋力トレーニングの影響を明らかにするため、介入期間中に身体活動量および食習慣を変化させないよう指示した。

C. 形態計測

対象者は介入前後において身長、体重、BMI、腹囲により身体の形態を評価した。形態計測の測定方法と手順は、課題 1 と同様であり、詳細は課題 1 の方法に示した。

D. 大腿部腹部横断面積

大腿部の横断面積は筑波大学体育科学系 B 棟 107 室に設置されている 0.25T MRI (G-scan, Esaote Biomedica, Genoa) により介入の前後に測定した。撮像と解析方法については、課題 1 に詳述した。大腿部における大腿筋、皮下脂肪、IMAT の CV 値はそれぞれ、 $\pm 0.26\%$ 、 $\pm 0.41\%$ 、 $\pm 0.50\%$ であった。

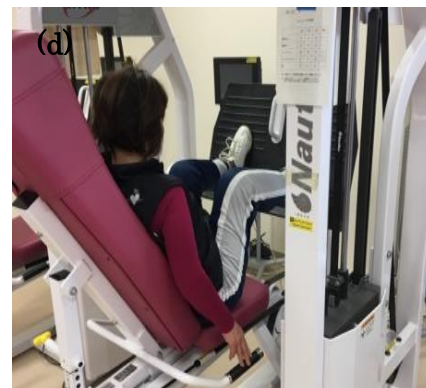
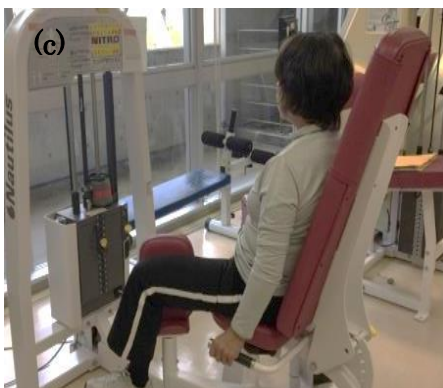


Figure 5-1-1 Illustration of the resistance training. (a) Leg Extension, (b) Leg flexion, (c) Hip adduction, (d) Leg press.

E. 血圧の測定および血液検査データの解析

血圧の測定および血液検査データの解析は介入の前後に分析した。測定方法と手順は、課題 1 と同様であり、詳細は課題 1 の方法に示した。

F. 日常身体活動量

筋力トレーニングを除いた日常身体活動量の変化を確認するために、加速度センサー内蔵歩数計（HJ-730IT, Omron Healthcare Co., Ltd., Kyoto）を用いて介入の前後に日常身体活動量の測定を行った。測定方法と手順は、課題 1 と同様であり、詳細は課題 1 の方法に示した。

G. 基本属性および生活習慣の調査

対象者の年齢、既往歴、服薬状況、喫煙習慣、食習慣及び飲酒習慣をアンケートにより調査した（Kim et al. 2013）。食習慣は、「食事を摂る時間帯は決まっているか」、「食事の量は腹八分目にしているか」、「食事のカロリーや量が多い場合、残すことをしているか」、「朝食は摂っているか」、「普段間食（夜食を含む）をすることがあるか」、「普段外食をすることがあるか」、「外食するときや食品を購入するときにカロリー表示や栄養成分表示を参考にしているか」及び「脂分の多い食べ物を食べるか」の 8 項目について 4 件法で回答を得た。なお、最も好ましい回答肢を 1 点、最も好ましくない回答肢を 4 点とし、8 項目の合計得点を食習慣スコア（8-32 点）とした。飲酒習慣は、「お酒を飲む頻度」を 6 件法で回答を得た、毎日飲むを 1 点、ほとんど飲まないを 6 点とし、飲酒習慣スコア（1-6 点）とした。

H. 統計分析

筋力トレーニング群と対照群におけるトレーニング開始前の年齢、体重、BMI、腹囲、

歩数，大腿部横断面積，代謝異常リスク因子の比較は独立したサンプルの t 検定を行った。また，各群のトレーニング前後における体重，BMI，腹囲，歩数，大腿部横断面積，代謝異常リスク因子の変化は対応のある t 検定を行った。各群の筋力トレーニング前後における大腿部横断面積の変化の比較は，二元配置分散分析（two-way ANOVA）を行った。さらに，IMAT の変化が代謝異常リスク因子の変化と関連するかを検討するために，年齢と性別を制御変数とした IMAT の変化量と代謝異常リスク因子の変化量の偏相関分析を行った。統計量は平均値±標準偏差，または%で示した。全ての統計処理には統計ソフト SPSS（SPSS Statistics 21.0 for Windows）を用い， $p<0.05$ を有意とした。

(3) 結果

A. 介入前後における対象者の特徴

Table5-1-1 に介入前後における対象者の特徴を示した。介入前，RT 群は平均年齢が 68.7 ± 4.7 歳，BMI は 23.6kg/m^2 であり，コントロール群は平均年齢が 70.1 ± 4.4 歳，BMI は 22.9kg/m^2 を示した。なお，介入前における両群の年齢，体重，BMI，腹囲，日常身体活動量には有意な差がみられなかった。介入後，体重，BMI，日常身体活動量には有意な変化がみられたものの，両群ともに腹囲が増加していることが示された。

B. 各群における大腿部の変化

各群における大腿部の大腿筋，皮下脂肪，IMAT，大腿筋当たり IMAT の割合の変化は Figure5-1-2, Figure 5-1-3 に示した。介入前における両群の大腿筋，皮下脂肪，IMAT，大腿筋当たり IMAT の割合の比較には有意な差がみられなかった。介入後，大腿筋が RT 群で 5.0cm^2 有意に増加し，対照群では変化がみられなかった。RT 群における大腿

Table 5-1-1 Characteristics of participants

	RT (n=15)			CON (n=12)			Time	Group	Time × group				
	PRE	POST	Change	PRE	POST	Change							
Male/Female	5/10		-	-	6/6		-	-	-				
Age, years	68.7 ± 4.7		-	-	70.1 ± 4.4		-	-	-				
Weight, kg	57.2 ± 2.5		56.6 ± 2.6	-0.5 (-0.9%)	58.2 ± 2.7		58.5 ± 2.8	0.3 (0.5%)	0.664	0.699	0.185		
BMI, kg/m ²	23.6 ± 0.7		23.4 ± 0.8	-0.2 (-0.7%)	22.9 ± 0.8		23.1 ± 0.8	0.1 (0.6%)	0.844	0.644	0.233		
Waist circumference, cm	81.1 ± 2.6		82.7 ± 2.5*	1.6 (2.0%)	77.7 ± 2.7		81.8 ± 2.7*	4.1 (5.3%)	p<0.01	0.562	0.182		
Daily physical activity, steps/day	5264 ± 2547		5594 ± 2351	330 (6.3%)	5492 ± 2739		5674 ± 2548	182 (3.3%)	0.515	0.564	0.715		
Eating habits score	19.5	2.5	19.2	2.4	-0.3 (-1.5%)	19.2	2.8	19.0	2.5	-0.2 (-1.0%)	0.811	0.731	0.512
Drinking habits score	4.5	1.2	4.8	1.2	0.3 (6.7%)	5.0	1.1	4.9	1.1	-0.1 (0.0%)	0.546	0.357	0.479

Values are means ± standard deviation. RT, resistance training group; CON, control group; BMI, body mass index. *p<0.05 vs PRE

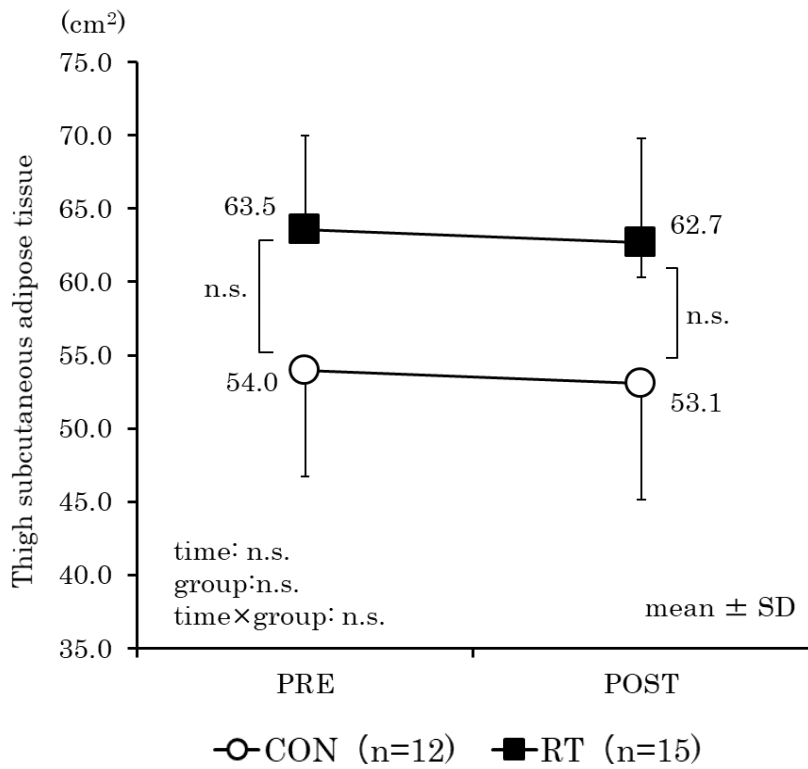
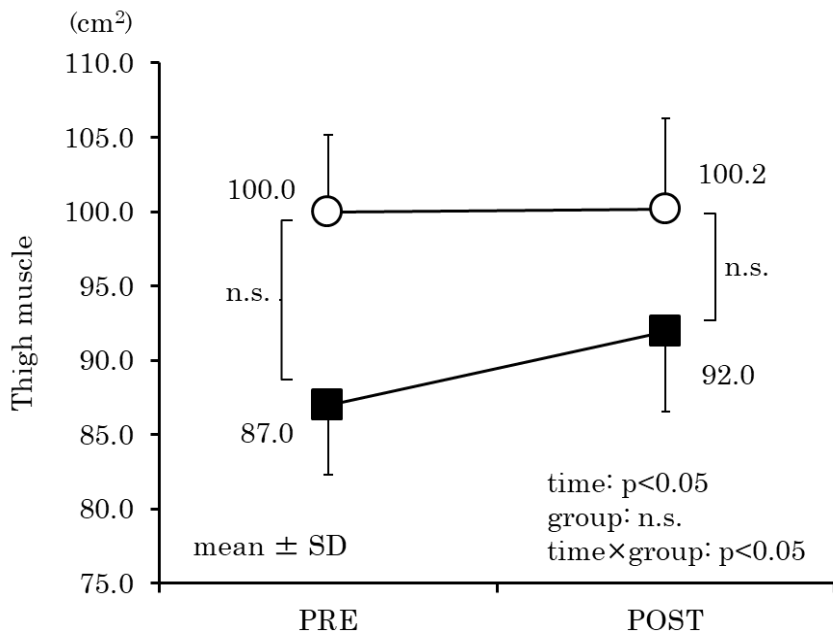


Figure 5-1-2 Changes in Thigh muscle and TSAT in the resistance training and control groups

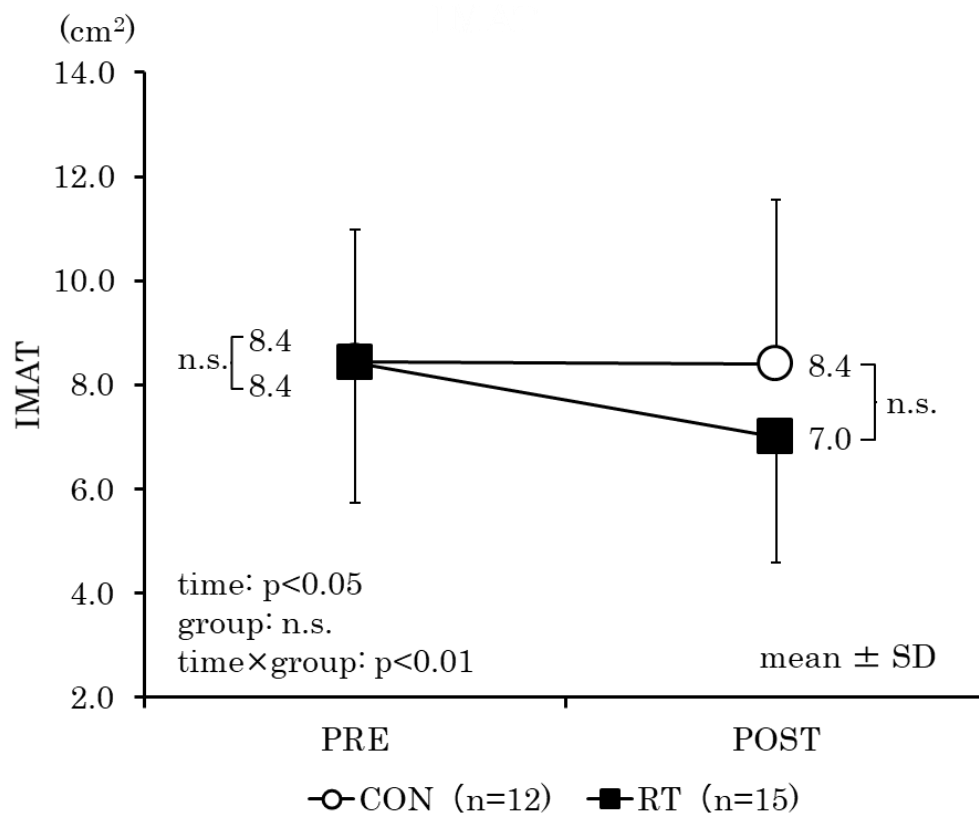


Figure 5-1-3 Changes in IMAT in the resistance training and control groups

筋の変化量は対象群に比較して交互作用が認められた ($p<0.05$)。一方、皮下脂肪においては両群ともに有意な変化がみられなかった (Figure5-1-2)。

IMAT は RT 群で 1.4 cm^2 有意に減少し (-17.4%)、対照群では変化がみられなかった。また、RT 群における IMAT の変化量は対象群に比較して交互作用が認められた (Figure5-1-3, $p<0.05$)。大腿筋当たり IMAT の割合においても同様な結果が認められた。

C. 各群における代謝異常リスク因子の変化

Table 5-1-2 に各群における血中の糖・脂質代謝関連因子の変化を示した。介入前における両群の代謝異常リスク因子にはすべて有意な差がみられなかった。介入後、RT 群は HDL-C が 5.8 mg/dl 増加し ($p<0.05$)、FG は 5.9 mg/dl 減少 ($p<0.05$) していることが示された。TG, LDL-C, HbA1c, HOMA-R においては有意な変化がみられなかった。一方、対照群では HDL-C と LDL-C が増加し、他のリスク因子では変化がみられなかった。なお、これらすべてのリスク因子では交互作用が認められなかった。

D. 筋間・筋内脂肪の変化量と代謝異常リスク因子の変化量との関係

介入前後における IMAT の変化量と代謝異常リスク因子の変化量との関係を検討した結果、年齢と性別の補正後、IMAT の変化量とすべての代謝異常リスク因子の変化量との間には有意な相関関係は認められなかった。

(4) 考察

本研究では、筋力トレーニングが中高齢者における IMAT に及ぼす影響について検討した。その結果、24 週間の筋力トレーニングにより IMAT が 17.4%有意に減少し、

Table 5-1-2 Changes in Metabolic disorder risk factor in the resistance training and control groups

	RT (n=15)			CON (n=12)			Time	Group	Time × group
	PRE	POST	Change	PRE	POST	Change			
Lipid metabolism									
TG, mg/dl	98.3 ± 14.1	102.3 ± 12.7	3.9 (4.0%)	94.6 ± 15.2	81.7 ± 13.6	-12.9 (-13.7%)	0.480	0.521	0.191
HDL-C, mg/dl	68.9 ± 4.6	74.7 ± 5.1*	5.8 (8.4%)	72.2 ± 4.9	80.7 ± 5.5**	8.5 (11.8%)	p<0.001	0.515	0.395
LDL-C, mg/dl	113.1 ± 6.8	118.4 ± 7.5	5.3 (4.7%)	127.7 ± 7.3	137.5 ± 8.0*	9.8 (7.7%)	p<0.05	0.108	0.408
Glucose metabolism									
FG, mg/dl	92.5 ± 3.1	86.5 ± 3.0*	-5.9 (-6.4%)	99.2 ± 3.3	91.7 ± 3.2	-7.5 (-7.5%)	p<0.01	0.136	0.730
Hb1Ac, %	5.7 ± 0.1	5.8 ± 0.1	0.1 (0.9%)	5.7 ± 0.1	5.7 ± 0.1	0.1 (0.9%)	0.112	0.888	0.994
HOMA-R	1.2 ± 0.2	1.3 ± 0.1	0.1 (12.1%)	1.0 ± 0.2	1.2 ± 0.2	0.2 (16.9%)	0.129	0.658	0.856

Values are means ± standard deviation. TG, Triglyceride; HDL-C, high density lipoprotein cholesterol; LDL-C, low density lipoprotein cholesterol; FG, fasting glucose. *p<0.05 vs PRE, **p<0.01 vs PRE

対照群に比較して有意に高いことが示された。したがって、筋力トレーニングは IMAT 蓄積の予防に有効である可能性が示唆された。一方、IMAT の変化は代謝異常リスク因子の変化との関連が認められなかった。

健常な中高齢者を対象に筋力トレーニングが IMAT に及ぼす影響について報告した Taaffe et al. (2009) によると、運動習慣がない健常な 65～83 歳の高齢者を対象とし 12 週間、75%1RM の筋力トレーニングを実施した結果、IMAT が 5.4%減少していることを報告した。しかしながら、この先行研究は対照群がない介入前後比較による検討であることが限界である。本研究の結果は、この先行研究を支持する内容であり、対照群を設けた無作為比較検討により筋力トレーニングは IMAT 蓄積の予防に有効である可能性をより強める知見が示されたと考えられる。

これまで、先行研究において、有酸素運動による IMAT の変化量は代謝異常リスク因子の変化と関連することが示されている。本研究は代謝異常リスク因子に影響を与える他の脂肪因子の変化を最小限にした上で、IMAT の変化と代謝異常リスク因子の変化と関連を明らかにするために、局所的な筋力トレーニングを用いて検討を行った初めての研究である。しかしながら、本研究では、IMAT の変化と代謝異常リスク因子の変化との間に関連性が認められなかった。課題 1 では、中高齢者における IMAT は代謝異常リスク因子と相関することが示されたが、本研究で IMAT の変化が代謝異常リスク因子の変化との関連性が認められなかった理由については不明である。本研究では縦断的に検討を行ったため、課題 1 のような横断的検討よりも、少ない対象者数で検討を行ったことが影響していた可能性も考えられる。この点については、今後さらなる検討が必要である。

(5) 結論

本研究では、24 週間の筋力トレーニングにより中高齢者における IMAT が有意に減

少していることが明らかとなった。このことから、筋力トレーニングは中高齢者における IMAT の減少をもたらす有効なトレーニングであることが示唆されたと考えられる。

2. 5年間の複合トレーニングが加齢に伴う筋間・筋内脂肪の蓄積に及ぼす影響（課題2-2）

(1) 目的

5年間の追跡研究によると、高齢男女における大腿部のIMATは体重の増減にかかわらず、有意に増加することが報告されている（Delmonico et al. 2009）。課題2-1では、中高齢者における筋力トレーニングはIMATの減少に有効である可能性が示唆された。しかしながら、この結果は、短期的な運動トレーニングの効果について検討した者であり、長期間にわたる運動トレーニングが加齢に抗ってIMATの増加を抑制または減少させるのかについては不明である。

そこで、本研究では中高齢者を対象とし、5年間にわたる複合トレーニングが加齢によるIMATの蓄積に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

(2) 方法

A. 対象者

本研究は筑波大学のライフスタイル型運動プログラムに5年間参加した地域在住の中高齢男女を対象とした。ライフスタイル型運動プログラムの参加者は茨城県つくば市の地域情報誌や既存の参加者のつながりにより募集し、教室の参加条件は60歳から85歳、運動の制限、重度の疾患、そして運動習慣のない者であった。5年間継続にプログラムに参加した者は総46名であり、体組成、身体活動量およびMRIデータの紛失12名、MRI画像の分析ができない10名を除外し、最終的に24名（男性11名、女性13名）を分析対象とした。全ての参加者には研究について、紙面及び口頭により十分な説明を行った上で、同意書による研究参加の同意を得た。本研究は筑波大学大学院人間総合科学研究科の研究倫理委員会の承認を受けた（課題番号第 体 26-27 号）。

B. 複合トレーニングの内容

複合トレーニングは、身体活動量の増加を目的としたウォーキングプログラムを中心とし、筋力トレーニングとバイクトレーニングで構成された。ウォーキングプログラムは、毎日、加速度センサー内蔵歩数計 (HJ-730IT, Omron Healthcare Co., Ltd., Kyoto) を装着してもらい、身体活動量の増加を目標とした。歩数の目標値設定は、最初にはプログラム開始前の歩数から 1 日当たり 1000~1500 歩程度の増加を設定し、最終的には 1 日当たり 8000~10000 歩達成を目標とした。参加者は少なくとも月 1 回、歩数計のデータを大学にある指定の PC にアップロードし、定期的に自分の身体活動状況を確認した。プログラムの管理者は月 1 回の頻度で参加者に個人の体力レベルに応じるフィードバックを行った。

筋力トレーニングは、大学施設あるいは自宅で自体重およびチューブを用いて 7 種類の筋力トレーニングを 10 回×1~3 セット、週 2 回実施した。トレーニング種目は、スクワット、レッグエクステンション、腕立て伏せ、上体起こし、背筋、レッグカール、ヒップエクステンションである。参加者は個々のライフスタイルに合わせ、任意の場所と時間帯に筋力トレーニングを実施した。参加者は、トレーニングの実施した時に歩数計の任意のボタンを押すことで筋力トレーニングの頻度を記録した。

なお、バイクトレーニングは参加者が大学施設にある自転車エルゴメータ (Aerobike ai, Combi Wellness Co., Tokyo) を用いて身体作業能力 (PWC: Physical work capacity) の 75%HRmax を目安に週 2 回、30 分~45 分間実施した。

C. 形態計測

対象者は介入前後において身長、体重、BMI、腹囲により身体の形態を評価した。形態計測の測定方法と手順は、課題 1 と同様であり、詳細は課題 1 の方法に示した。

D. 大腿部および腹部横断面積の測定

大腿部の横断面積は筑波大学体育科学系 B 棟 107 室に設置されている 0.25T MRI (AIRIS mate, Hitachi Medical Co., Tokyo) により介入の前後に測定した。撮像と解析方法については、課題 1 に詳述した。大腿部における大腿筋、皮下脂肪、IMAT の測定変動係数 CV 値はそれぞれ、 $\pm 0.2\%$ 、 $\pm 0.1\%$ 、 $\pm 5.3\%$ であり、腹部皮下脂肪、内臓脂肪の CV は $\pm 0.0\%$ 、 $\pm 0.8\%$ であった。

E. 日常身体活動量

日常身体活動量の測定方法と手順は、課題 1 と同様であり、詳細は課題 1 の方法に示した。参加者は毎日歩数計を装着してもらい、少なくとも月 1 回、歩数計のデータを大学にある指定の PC にアップロードした。参加 5 年目における日常身体活動量は、参加 5 年間目の総歩数から 1 日当たりの平均歩数により算出された。

F. 統計分析

全体対象者における 5 年間の年齢、歩数、筋力トレーニング回数および体組成の変化は対応のある t 検定、性別の割合は χ^2 検定を用いて行った。また、我々は、IMAT の蓄積における身体活動量の影響を明らかにするために、5 年目の平均歩数がプログラムの平均目標値である 9000 歩以上達成している達成群と未達成群に分類して対応のある t 検定を行った。両群における 5 年間の IMAT の変化量と日常身体活動量の変化量は単回帰分析を用いて検討した。統計量は平均値 \pm 標準偏差、または%で示した。全ての統計処理には統計ソフト SPSS (SPSS Statistics 21.0 for Windows) を使い、 $p < 0.05$ を有意とした。

(3) 結果

A. 全体対象者の特徴

Table 5-2-1 にベースラインにおける全体対象者の特徴を示した。体組成において、体重、BMI は 5 年後に有意な変化が示されなかった。歩数は 5 年後に有意な変化が示されず、筋力トレーニング回数は有意に増加した。

B. 全対象における大腿部および腹部の変化

大腿筋、大腿部皮下脂肪、IMAT、腹部皮下脂肪、および内臓脂肪は 5 年後に有意な変化が示されなかった。(Table 5-2-2)。

C. 各群における 5 年間の変化

IMAT の蓄積における身体活動量の影響を明らかにするために、5 年目の平均歩数がプログラムの目標値である 9000 歩以上達成群と未達成群に分類して分析を行った。両群における 5 年間の日常身体活動量は Figure 5-2-1 に示した。9000 歩達成群は開始前に比べて 5 年後に歩数が有意に増加し、9000 歩未達成群は有意に減少していることが示された。

両群における 5 年後の体組成の変化を Table 5-2-3, Table 5-2-4 に示した。開始前での年齢、BMI、大腿部および腹部横断面積のすべての項目で両群間に有意差はなかった。5 年後における変化において、9000 歩以上未達成群は、開始前に比べて 5 年後に、BMI、大腿筋、大腿部皮下脂肪、IMAT、大腰筋、腹部皮下脂肪、内臓脂肪に有意な変化がみられなかった。また、9000 歩以上達成群では、開始前に比べて 5 年後に BMI、大腿筋、大腿部皮下脂肪、大腰筋、腹部皮下脂肪、内臓脂肪で有意な変化がみられなかったものの、IMAT は開始前に比べて 5 年後に有意に減少していることが認められた ($p < 0.05$)。しかしながら、9000 歩以上達成群における IMAT の変化は 9000 歩未達成群の変化に比べて有意な交互作用はみとめられなかった。

Table 5-2-1 Characteristics of participants at baseline and follow-up

	Baseline	5years	Change	<i>P</i> -value
Male/Female, n	11/13	-	-	-
Age, years	68.2 ± 0.7	73.2 ± 0.7	-	-
Weight, kg	56.6 ± 2.2	55.3 ± 1.9	-1.2 (-1.6%)	0.053
BMI, kg/m ²	22.7 ± 0.6	22.4 ± 0.4	-0.4 (-1.2%)	0.205
Daily physical activity, steps/day	7788 ± 485	8200 ± 2953	411.6 (5.3%)	0.469
Frequency of strength training, time/month	0.0 ± 0.0	13.8 ± 1.6	-	p<0.001

Values are presented as mean ± standard deviation.

Table 5-2-2 Thigh and abdominal cross-sectional areas of participants at baseline and follow-up

	Baseline	5years	Change	<i>P</i> -value
Thigh cross-sectional areas				
Thigh muscle, cm ²	98.3 ± 20.2	96.4 ± 18.5	-1.9 (-1.4%)	0.189
TSAT, cm ²	45.6 ± 4.1	45.6 ± 3.8	0.0 (4.4%)	0.985
IMAT, cm ²	4.7 ± 2.2	4.3 ± 2.5	-0.4 (-6.3%)	0.230
IMAT, % of thigh muscle	4.9 ± 2.2	4.5 ± 2.4	-0.4 (-8.1%)	0.345
Abdominal cross-sectional areas				
ASAT, cm ²	135.1 ± 53.5	138.2 ± 49.0	3.1 (9.9%)	0.683
VAT, cm ²	47.5 ± 21.8	47.9 ± 22.5	0.4 (8.7%)	0.904

Values are presented as mean ± standard deviation and percentages. TSAT, thigh subcutaneous adipose tissue; IMAT, intermuscular adipose tissue; ASAT, abdominal subcutaneous adipose tissue; VAT, visceral adipose tissue.

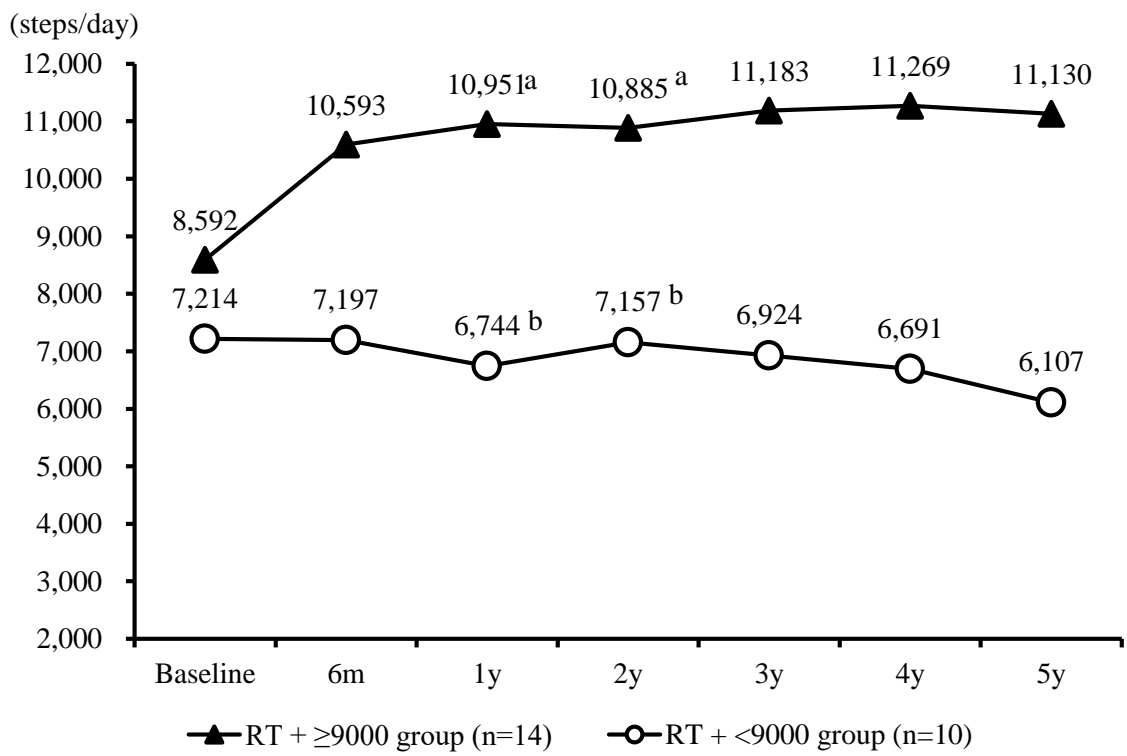


Figure 5-2-1 Follow-up change in physical activity. *a*: n=8, *b*: n=12

Table 5-2-3 Change in characteristics according to level of physical activity

	RT + <9000 group (n = 14)			RT + ≥9000 group (n = 10)			Time	Group	Time × group
	Baseline	5years	Change	Baseline	5years	Change			
Male/Female, n	8/6	-	-	3/7	-	-	-	-	-
Age, years	68.8 ± 3.2	73.8 ± 3.2	-	67.4 ± 3.9	72.4 ± 3.9	-	-	-	-
BMI, kg/m ²	22.8 ± 3.0	22.6 ± 2.3	-0.2 (-0.9%)	22.6 ± 2.6	22.0 ± 2.1	-0.6 (-2.8%)	0.178	0.710	0.474
Daily physical activity, steps/day	7214 ± 1820	6107 ± 1206*	-1107 (-15.3%)	8592 ± 2896	11130 ± 1958*	2538 (29.5%)	0.111	p<0.000	p<0.001
Frequency of strength training, time/month	0.0 ± 0.0	12.0 ± 6.6***	-	0.0 ± 0.0	16.3 ± 8.5***	-	p<0.000	0.077	0.177

Values are presented as mean ± standard deviation and percentages. *p<0.05, ***p<0.01 vs Baseline

Table 5-2-4 Change in thigh and abdominal cross-sectional areas according to level of physical activity

	RT + <9000 group (n = 14)			RT + ≥9000 group (n = 10)			Time	Group	Time × group
	Baseline	5years	Change	Baseline	5years	Change			
Thigh cross-sectional areas									
Thigh muscle, cm ²	101.3 ± 23.3	100.5 ± 21.2	-0.8 (-0.8%)	94.1 ± 14.9	90.7 ± 12.9	-3.4 (-3.6%)	0.153	0.292	0.376
TSAT, cm ²	45.8 ± 23.6	47.3 ± 21.6	1.5 (3.2%)	45.2 ± 15.5	43.2 ± 13.5	-2.0 (-4.4%)	0.893	0.766	0.363
IMAT, cm ²	5.3 ± 2.1	5.2 ± 2.6	-0.1 (-1.3%)	4.0 ± 2.1	3.1 ± 1.6*	-0.9 (-21.8%)	0.166	0.059	0.237
IMAT, % of thigh muscle	5.2 ± 1.9	5.3 ± 2.6	0.1 (1.9%)	4.3 ± 2.5	3.5 ± 1.9*	-0.8 (-18.6%)	0.261	0.129	0.253
Abdominal cross-sectional areas									
ASAT, cm ²	134.6 ± 59.7	133.1 ± 47.2	-1.5 (-1.0%)	135.9 ± 46.5	145.3 ± 53.1	9.4 (6.9%)	0.608	0.742	0.489
VAT, cm ²	50.0 ± 22.5	51.9 ± 21.7	1.9 (3.9%)	44.0 ± 21.6	42.3 ± 23.6	-1.7 (-3.8%)	0.671	0.564	0.615

Values are presented as mean ± standard deviation and percentages.

TSAT, thigh subcutaneous adipose tissue; IMAT, intermuscular adipose tissue; ASAT, abdominal subcutaneous adipose tissue; VAT, visceral adipose tissue.

A. 5年間における日常身体活動量と筋間・筋内脂肪の変化量の関係

全体対象者における5年間のIMATの変化量と日常身体活動量の変化量との関係についてFigure5-2-2に示した。IMATの変化量は日常身体活動量の変化量と有意な負の関係であることが示された ($r = -0.446$, $p < 0.05$)。

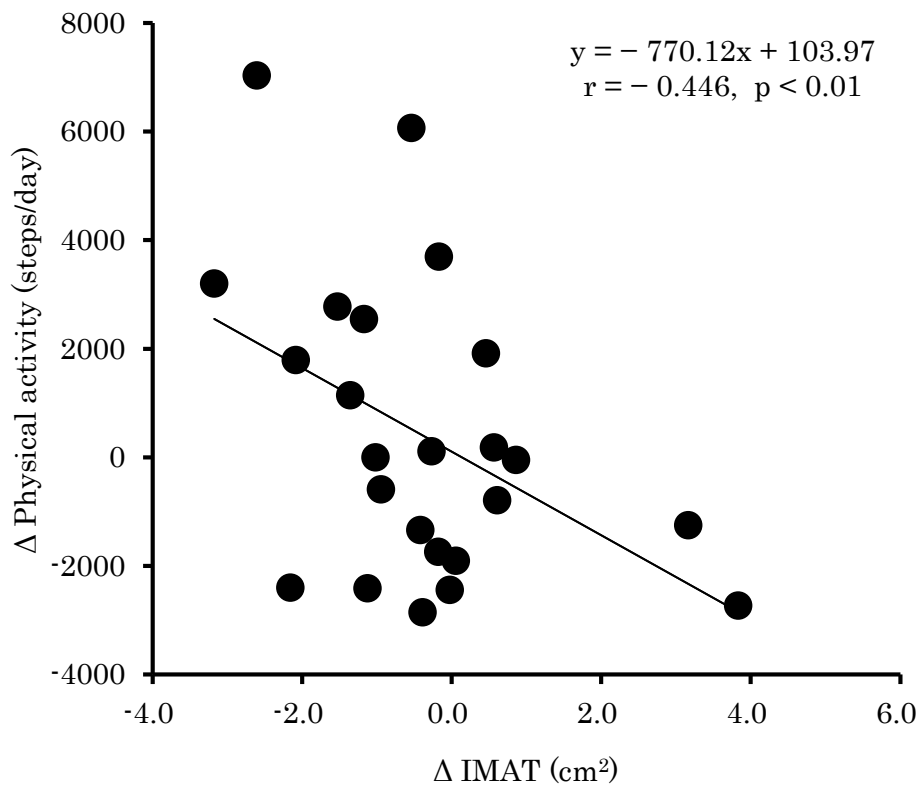


Figure 5-2-2 Relationship between 5year change in IMAT and daily physical activity.

(4) 考察

本研究は、中高齢者を対象とし、長期間にわたる複合トレーニングが加齢による IMAT の蓄積に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。その結果、中高齢者における 5 年間の複合トレーニングは加齢に伴う大腿部 IMAT の蓄積を抑制させることが明らかとなった。さらに、5 年間、筋力トレーニングとともに高い日常身体活動量を維持した者は大腿部 IMAT が有意に減少していることが示された。また、5 年間における日常身体活動量の増加は IMAT の減少と関連することが示された。これらの結果から、長期間における複合トレーニングの実施は加齢に伴う IMAT の蓄積を抑制させ、さらに、身体活動量が高いほど IMAT が減少することを示唆した。また、その身体活動量の増加は 5 年間における IMAT の減少と関連する可能性が示された。

Goodpaster et al. (2008) は 70~89 歳の高齢者男女 42 名を対象とし、ウォーキングを中心とした 1 年間の複合トレーニングによる大腿部 IMAT の変化を報告している。1 年間、健康教育を行った対照群では大腿部の IMAT が有意に増加したにも関わらず、身体活動群は有意な増加がみられなかったと報告している。また、Gallagher et al. (2014) は、45-76 歳の中高齢男女 91 名を対象とし、健康教育群は大腿部の IMAT が有意に増加したことに比べて 1 年間の複合トレーニングは有意な増加がみられてなかったと報告している。これらの先行研究で示される複合トレーニングが IMAT の増加を抑制することを明らかにした点において、本研究の結果は、先行研究を支持する内容であり、我々が知る限り、本研究は 5 年間の追跡調査により長期間における身体活動が加齢に抗って IMAT の増加を抑制または減少させることを明らかにした初めての研究である。

本研究では、対象全体の 5 年間後の IMAT が維持されていることが示された。多くの研究から IMAT は加齢に伴って増加することが知られており (Delmonico et al. 2009)、日本人も他の人種と同様に、加齢に伴って IMAT が増加する可能性が示されて

いる (Akima et al. 2015). したがって、本研究において IMAT が維持されたことは、運動トレーニングが加齢に伴う IMAT の抑制に有効であることを意味する結果であると考えられる.

さらに、身体活動が IMAT に及ぼす影響を明らかにするために、5 年間目標身体活動量を達成した者と達成していない者に分類し、IMAT の変化を検討した. その結果、5 年間の平均歩数が 9000 歩以上群は IMAT が有意に減少していることが示されており、さらに、9000 歩未満群においても IMAT の増加が抑制されていることが示された. この理由については未だ不明な点が多いものの、考える一つの理由として、筋力トレーニングによる効果であると考えられる. IMAT は筋量と関連し (Manini et al. 2007; Akima et al. 2015), 筋力トレーニングにより高齢者における大腿部 IMAT が有意に減少することが報告されている (Nicklas et al. 2015). 本研究の 9000 歩以下群は 5 年間、平均 12.1 回/月 (約週 3 回) の筋力トレーニングを行い、さらに、大腿筋や大腰筋を維持していることが示されている. したがって、この関係性から考えてみると、本研究で 5 年間、定期的な筋力トレーニングにより加齢による IMAT の増加が抑制された可能性が考えられる.

また、本研究では 5 年間における日常身体活動量の増加が IMAT の減少に関連することを明らかとした. 糖尿病の中高齢男女 22 名を対象とし、歩数と IMAT の関連について横断的に検討した研究によると、歩数が少ないほどは IMAT 量が高い負の相関 ($r = -0.44, p < 0.05$) を示すことを報告している (Tuttle et al. 2011). この先行研究で示される歩数と IMAT の負の関連より、本研究における結果は、横断研究の結果を縦断データにより支持する内容であり、IMAT の蓄積を予防するためには、筋力トレーニングとともに日常身体活動量を増加させる有酸素運動の実施が重要であることが示唆された.

(5) 結論

中高齢者における5年間の複合トレーニングは加齢に伴う大腿部 IMAT の蓄積を抑制させることが明らかとなった。さらに、5年間、筋力トレーニングとともに高い日常身体活動量を維持した者は大腿部 IMAT が有意に減少し、5年間における日常身体活動量の増加は IMAT の減少と関連することが示された。これらのことから、長期間における複合トレーニングの実施することで加齢に伴う IMAT の蓄積は抑制される可能性が考えられる。

第6章 総括

1. 本研究で得られた成果と意義

本研究は、中高齢者を対象として、IMAT と代謝異常リスク因子との関連性を明らかにした上で、運動トレーニングが IMAT に及ぼす影響について明らかにすることを目的に、二つの検討課題から以下の知見が得られた。

課題 1 では、中高齢者における IMAT と代謝異常リスク因子との関係について検討を行った。IMAT は代謝異常リスク因子と関連し、内臓脂肪と BMI が脂質代謝関連因子と強く関連したことに比べ、IMAT は糖代謝関連因子と強く関連することが示された。したがって、IMAT は健常な中高齢者の代謝異常リスクに一定の影響を与える可能性があると考えられる。本研究は、日本の健常な中高齢者を対象として IMAT が代謝異常リスク因子にどの程度関連しているか初めて検討し、IMAT が内臓脂肪や BMI に比較して脂質代謝よりは糖代謝関連因子と強く関連することが示された成果は興味深いものであると思われる。これまで、IMAT が内臓脂肪や BMI に独立して代謝異常と関連することを報告した研究はいくつかあるが、その関連性について内臓脂肪や BMI との比較よりどの因子とどの程度関連するかを具体的に明らかにした研究は我々の知る限りみられない。今後、非肥満者における生活習慣病の予防に IMAT の情報を利用する場合、関連性を示すだけでは不十分であると考えられる。その点において本研究は、新たな知見を提供する研究であると考えられる。

課題 1 で IMAT が日本の健常な中高齢者における代謝異常リスク因子と関連する可能性が示された。そこで課題 2 では、IMAT の蓄積を予防するための運動プログラムを提供するため、運動トレーニングが IMAT に及ぼす影響について検討を行った。これまで有酸素運動は IMAT の減少に有効であるトレーニングとして知られているが、長期間有酸素運動を行う場合、筋量減少を引き起こすデメリットがある。IMAT に対する筋

筋力トレーニングの有効性についてはまだ明らかにされていないため、課題 2-1 では、60～85 歳の中高齢者を対象としてマシンを用いた中高強度の筋力トレーニングを 24 週間行った。その結果、筋力トレーニングにより IMAT が 17.4%有意に減少することが認められた。このことから、IMAT の蓄積を改善させる方法として、中高強度の筋力トレーニングが有効であると考えられた。ところが、IMAT は加齢に伴って増加することが示唆されるものの、運動トレーニングが加齢に伴う IMAT の蓄積を抑制できるか否かについては不明である。そこで、課題 2-2 では、5 年間、ウォーキングを中心とした有酸素性運動と自体重やゴムチューブを用いた筋量トレーニングを合わせた複合トレーニングが加齢に伴う IMAT の蓄積に及ぼす影響について検討した。その結果、5 年間の複合トレーニングによって、IMAT は加齢に伴う増加がみられていなかった。加齢は IMAT 蓄積の主な一つの要因である。5 年間の複合トレーニングによって IMAT の維持が認められたことは、加齢に伴う IMAT の蓄積を運動トレーニングにより抑制できる可能性が示されたと考えられる。さらに、5 年間、筋力トレーニングの実施とともに高い日常身体活動量を維持した者は IMAT が 18.6%減少し、日常身体活動量が増加することにより IMAT が減少する関連性が認められたことから、加齢に伴う IMAT 蓄積を予防するためには、筋力トレーニングだけではなく、有酸素運動の実施も重要であると考えられる。

以上の結果から課題 2 をまとめると、筋力トレーニングにより中高齢者における IMAT は減少し、長期間の複合トレーニングにより加齢に伴う IMAT の蓄積を抑制できることが明らかになった。これまでに、IMAT を減少させるトレーニング方法として報告されていたのは、ほとんど有酸素運動であり、本研究は、筋力トレーニングが健全な中高齢者の IMAT を減少させること、さらに、定期的な複合トレーニングにより加齢に伴う IMAT の蓄積を抑制させることを初めて明らかにした。したがって、本研究の結果は、科学的根拠に基づく非肥満者における代謝異常予防プログラムの確立に貢献する

知見であると考えられる。また、本研究にて日常身体活動量の増加が IMAT の減少と関連することを示した、このことから、健常者の IMAT を減少させるためには、筋力トレーニングだけではなく、有酸素運動を取れ入れたプログラムを実施することが重要である可能性が示された。

課題 1 と 2 の結果から本研究をまとめると、健常な中高齢者でも IMAT は代謝異常に影響を与える一つの因子となる可能性があるものの、有酸素運動と筋力トレーニングを長期間継続することで、IMAT を抑制することができると考えられる。

2. 本研究の限界

本研究は、60～85 歳の運動習慣がなく、重度の疾患がない健常な中高齢者を対象とした。したがって、得られた知見が若年者や、すでに寝たきりになっている高齢者のような低体力者や、競技者のような極端な高体力者にも当てはまるか否かは明らかでない。本研究の結論の一般化に対して制限を与えうると考えられ、中高齢者に応用するにあたっては十分な配慮を要する。

なお、本研究における IMAT の評価は、あくまでも MRI による横断面積を定量化しているに過ぎない。すなわち、筋肉内に存在する脂質は明確に把握できていない可能性がある。したがって、本研究で得られた結果は、MRI で測定可能な IMAT の範囲内でのみ適用可能である。

課題 1 では、IMAT と代謝異常リスク因子との関係を横断データにより検討したため、この結果は IMAT が中高齢者の代謝異常に影響を与える可能性を示しているに過ぎない。

課題 2 では、5 年間の介入研究を行っているが、さらなる長期間な期間においても同様の結果が得られるかどうかについては明らかにできない。また、介入群のみで介入前後の比較を行っているため、研究結果をより強調するには限界がある。

3. 今後の課題

本研究では、中高齢者を対象として検討を行ったが、今後は若年者や 60 歳未満の中年者などの多様な年齢層における検討も行う必要があるだろう。

本研究では、横断データにより IMAT は代謝異常リスク因子と関連する可能性を示したが、その因果関係については検討していなかったため、今後は、長期間にわたる前向き観察研究により IMAT の蓄積が代謝異常の発症につながるかについても検討する必要がある。また、なぜ IMAT が代謝異常リスク因子と関連するのか、IMAT の変化が代謝異常リスク因子の改善と関連が認められなかったのか、分子レベルでメカニズムを検討する必要があると考えられる。

なお、本研究では、介入前後の比較研究により加齢に伴う IMAT の蓄積を予防するためには、運動トレーニングの実施が重要であることが示唆された。今後、エビデンスレベルを高めるためには、対照群を設定した上で運動トレーニングの効果をより明確にする必要がある。

最後に、効果的に IMAT 蓄積の予防を行うためには、個人にあったプログラムが必要であり、そのためには、性、年齢、体力および生活習慣などを考慮する必要がある。

4. 結論

本研究は、中高齢者を対象として、筋間・筋内脂肪と代謝異常リスク因子との関連性を明らかにした上で、運動トレーニングが筋間・筋内脂肪に及ぼす影響について明らかにすることを目的として検討を行った。中高齢者における IMAT は代謝異常リスク因子に影響を与える可能性があり、特に、脂質代謝リスク因子より糖代謝リスク因子と関連する可能性が示された。また、中高齢者における IMAT の減少に筋力トレーニングが有効であり、長期間の複合トレーニングにより加齢に伴う IMAT の蓄積を抑制できる

ことが明らかになった。以上のことから、中高齢者における IMAT は代謝異常に影響を与える一つの因子となる可能性があるものの、有酸素運動と筋力トレーニングを長期間継続することで、IMAT を抑制することができると考えられる。

謝辞

本博士論文を終えるにあたり、終始懇切丁寧なご指導を賜り、親身なご助言と激励を頂いた指導教員である筑波大学大学院人間総合科学研究科教授 久野譜也 先生に心から深甚なる感謝の意を表します。また、本博士論文の副指導教員として、ご助言および校閲を賜りました、筑波大学大学院人間総合科学研究科准教授 向井直樹 先生、筑波大学医学系講師 金森章浩 先生、ならびに博士論文の副査をお引き受け頂き、貴重なご指導・ご助言を頂きました、筑波大学医学医療系准教授 鈴木浩明 先生に心から感謝の意を表します。

論文執筆にあたり、データの解析、懇切丁寧かつ大変有意義なご指導、ご助言を賜りました駒沢女子大学人間健康学部准教授 田辺解 先生、筑波大学人間総合科学研究科 特任助教 横山典子 先生に心から感謝の意を表します。

そして、本研究の被験者としてご協力くださった方々、実験ならびに本論文作成にご協力いただきました筑波大学久野研究室の皆様、つくばウエルネスリサーチの皆様、深く感謝の意を表します。

最後に、6年間の留学生生活を暖かく見守ってくれました両親、姉の家族と日本での家族である鄭 松伊博士、咸 章鉉氏に限りない感謝の気持ちを送ります。

参考文献

- Addison O, Marcus RL, Lastayo PC, Ryan AS (2014) Intermuscular fat: A review of the consequences and causes. *Int. J. Endocrinol.* 2014:309570.
- Akima H, Yoshiko A, Hioki M et al (2015) Skeletal muscle size is a major predictor of intramuscular fat content regardless of age. *Eur J Appl Physiol* 115:1627–1635.
- Akima H, Hioki M, Yoshiko A, Koike T, Sakakibara H, Takahashi H, Oshida Y et al (2016) Intramuscular adipose tissue determined by T1-weighted MRI at 3T primarily reflects extramyocellular lipids. *Magn Reson Imaging* 34:397–403.
- Albu JB, Kovera AJ, Allen L et al (2005) Independent association of insulin resistance with larger amounts of intermuscular adipose tissue and a greater acute insulin response to glucose in African American than in white nondiabetic women. *Am J Clin Nutr* 82:1210–1217.
- American College of Sports Medicine (2009) American College of Sports Medicine position stand. Progression models in resistance training for healthy adults. *Med Sci Sports Exerc* 41:687–708.
- Borkan GA, Hults DE, Gerzof SG et al (1983) Age changes in body composition revealed by computed tomography. *J Gerontol* 38:673–677.
- Buford TW, Lott DJ, Marzetti E et al (2012) Age-related differences in lower extremity tissue compartments and associations with physical function in older adults. *Exp Gerontol* 47:38–44.
- DeFronzo RA (1988) The triumvirate: beta-cell, muscle, liver. A collusion responsible for NIDDM. *Diabetes* 37:667–687.
- Delmonico MJ, Harris TB, Visser M et al (2009) Longitudinal study of muscle strength, quality, and adipose tissue infiltration. *Am J Clin Nutr* 90:1579–1585.
- Durheim MT, Slentz C, Bateman L et al (2008) Relationships between exercise-induced reductions in thigh intermuscular adipose tissue, changes in

- lipoprotein particle size, and visceral adiposity. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 295:E407-12.
- Edens NK, Fried SK, Kral JG et al (1993) In vitro lipid synthesis in human adipose tissue from three abdominal sites. *Am J Physiol* 265:E374-9.
- Farup J, Madaro L, Puri PL, Mikkelsen UR (2015) Interactions between muscle stem cells, mesenchymal-derived cells and immune cells in muscle homeostasis, regeneration and disease. *Cell Death Dis* 6:e1830.
- Folsom AR, Kaye SA, Sellers TA et al (1993) Body fat distribution and 5-year risk of death in older women. *JAMA* 269:483-7.
- Fritz IB, Davis DG, Holtrop RH, Dunhee H (1958) Fatty acid oxidation by skeletal muscle during rest and activity. *Am J Physiol* 194:379-386.
- Gallagher D, Heshka S, Kelley DE et al (2014) Changes in adipose tissue depots and metabolic markers following a 1-year diet and exercise intervention in overweight and obese patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 37:3325-3332.
- Gallagher D, Kelley DE, Yim J-E et al (2009) Adipose tissue distribution is different in type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr* 89:807-814.
- Gallagher D, Kuznia P, Heshka S et al (2005) Adipose tissue in muscle: A novel depot similar in size to visceral adipose tissue. *Am J Clin Nutr* 81:903-910.
- Gardan D, Gondret F, Louveau I (2006) Lipid metabolism and secretory function of porcine intramuscular adipocytes compared with subcutaneous and perirenal adipocytes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 291: E372-E380.
- Goodpaster BH, Chomentowski P, Ward BK et al (2008) Effects of physical activity on strength and skeletal muscle fat infiltration in older adults: a randomized controlled trial. *J Appl Physiol* 105:1498-503.
- Goodpaster BH, Krishnaswami S, Harris TB et al (2005) Obesity, regional body fat distribution, and the metabolic syndrome in older men and women. *Arch Intern Med* 165:777-783.
- Goodpaster BH, Krishnaswami S, Resnick H et al (2003) Association between

- regional adipose tissue distribution and both type 2 diabetes and impaired glucose tolerance in elderly men and women. *Diabetes Care* 26:372–379.
- Goodpaster BH, Thaete FL, Kelley DE (2000) Thigh adipose tissue distribution is associated with insulin resistance in obesity and in type 2 diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr* 71:885–892.
- Gorgey AS, Dudley G (2007) Skeletal muscle atrophy and increased intramuscular fat after incomplete spinal cord injury. *Spinal Cord* 45:304–309 .
- Gorgey AS, Mather KJ, Cupp HR, Gater DR (2012) Effects of resistance training on adiposity and metabolism after spinal cord injury. *MedSci Sport Exerc* 44:165–174.
- Henriksen EJ (2002) Invited Review: Effects of acute exercise and exercise training on insulin resistance. *J Appl Physiol* 93:788–796.
- Hilton TN, Tuttle LJ, Bohnert KL et al (2008) Excessive adipose tissue infiltration in skeletal muscle in individuals with obesity, diabetes mellitus, and peripheral neuropathy: association with performance and function. *Phys Ther* 88:1336–44.
- Holland WL, Brozinick JT, Wang LP et al (2007) Inhibition of Ceramide Synthesis Ameliorates Glucocorticoid-, Saturated-Fat-, and Obesity-Induced Insulin Resistance. *Cell Metab* 5:167–179.
- Ikenaga M, Yamada Y, Kose Y et al (2017) Effects of a 12-week, short-interval, intermittent, low-intensity, slow-jogging program on skeletal muscle, fat infiltration, and fitness in older adults: randomized controlled trial. *Eur J Appl Physiol* 117:7–15.
- Jacobs JL, Marcus RL, Morrell G, Lastayo P (2014) Resistance exercise with older fallers: Its impact on intermuscular adipose tissue. *Biomed Res Int* 2014: 398960.
- Karavirta L, H??kkinen A, Sillanp E et al (2011) Effects of combined endurance and strength training on muscle strength, power and hypertrophy in 40-67-year-old men. *Scand J Med Sci Sport* 21:402–411.

- Kim J, Tanabe K, Yoshizawa Y et al (2013) Lifestyle-Based Physical Activity Intervention for One Year Improves Metabolic Syndrome in Overweight Male Employees. *Tohoku J Exp Med* 229:11–17.
- Kim JK, Fillmore JJ, Chen Y et al (2001) Tissue-specific overexpression of lipoprotein lipase causes tissue-specific insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:7522–7527.
- Kodama K, Tojjar D, Yamada S et al (2013) Ethnic differences in the relationship between insulin sensitivity and insulin response: A systematic review and meta-analysis. *Diabetes Care* 36:1789–1796.
- 厚生労働省 (2015) 平成 27年人口動態統計月報年計(概数) の概況.
- 久野譜也 (2005) 生活機能を維持・増進するための筋機能向上プログラムの開発.
In: 高齢者の生活機能の維持・増進と社会参加を促進する地域システムに関する研究. 平成 16 年度科学技術振興調整費 生活・社会基盤研究のうちの生活者ニーズ対応研究 研究成果報告書, pp 1-27.
- Larsen AB, Allison AM, Kang E et al (2014) Associations of Physical Activity and Sedentary Behavior with Regional Fat Deposition. *Med Sci Sport Exerc* 46:520–528.
- Leskinen T, Sipilä S, Kaprio J et al (2013) Physically active vs. inactive lifestyle, muscle properties, and glucose homeostasis in middle-aged and older twins. *Age* 35:1917–1926.
- LeSuer DA, McCormick JH, Mayhew JL et al (1997) The Accuracy of Prediction Equations for Estimating 1-RM Performance in the Bench Press, Squat, and Deadlift. *J Strength Cond Res* 11:211.
- Ma J, Yu S, Wang F et al (2013) MicroRNA transcriptomes relate intermuscular adipose tissue to metabolic risk. *Int J Mol Sci* 14:8611–8624.
- Manini TM, Clark BC, Nalls M a et al (2007) Reduced physical activity increases intermuscular adipose tissue in healthy young adults. *Am J Clin Nutr* 85:377–384.
- Marcus RL, Addison O, Kidde JP et al (2010) Skeletal muscle fat infiltration:

- Impact of age, inactivity, and exercise. *J Nutr Heal Aging* 14:362–366.
- Marcus RL, Smith S, Morrell G et al (2008) Comparison of combined aerobic and high-force eccentric resistance exercise with aerobic exercise only for people with type 2 diabetes mellitus. *Phys Ther* 88:1345–1354.
- Miljkovic-Gacic I, Gordon CL, Goodpaster BH et al (2008) Adipose tissue infiltration in skeletal muscle: Age patterns and association with diabetes among men of African ancestry. *Am J Clin Nutr* 87:1590–1595.
- Mitsiopoulos N, Baumgartner RN, Heymsfield SB et al (1998) Cadaver validation of skeletal muscle measurement by magnetic resonance imaging and computerized tomography. *J Appl Physiol* 85:115–122.
- Murphy JC, McDaniel JL, Mora K et al (2012) Preferential reductions in intermuscular and visceral adipose tissue with exercise-induced weight loss compared with calorie restriction. *J Appl Physiol* 112:79–85.
- Nicklas BJ, Chmelo E, Delbono O et al (2015) Effects of resistance training with and without caloric restriction on physical function and mobility in overweight and obese older adults: A randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 101:991–999.
- Ogawa K, Tsubono Y, Nishino Y et al (2003) Validation of a food-frequency questionnaire for cohort studies in rural Japan. *Public Health Nutr* 6:147–157.
- Rossi AP, Watson NL, Newman AB et al (2011) Effects of body composition and adipose tissue distribution on respiratory function in elderly men and women: the health, aging, and body composition study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 66:801–808.
- Ruan XY, Gallagher D, Harris T et al (2007) Estimating whole body intermuscular adipose tissue from single cross-sectional magnetic resonance images. *J Appl Physiol* 102:748–754.
- Ryan AS, Buscemi A, Forrester L, et al (2011) Atrophy and Intramuscular Fat in Specific Muscles of the Thigh: Associated Weakness and Hyperinsulinemia in Stroke Survivors. *Neurorehabil Neural Repair* 25:865–872.

- Ryan AS, Nicklas BJ (1999) Age-related changes in fat deposition in mid-thigh muscle in women: relationships with metabolic cardiovascular disease risk factors. *Int J Obes Relat Metab Disord* 23:126–132.
- 曾根博仁 (2010) 日本人糖尿病患者の特徴と病態に関する臨床疫学的研究. *糖尿病* 53:791–794.
- Song MY, Ruts E, Kim J et al (2004) Sarcopenia and increased adipose tissue infiltration of muscle in elderly African American women. *Am J Clin Nutr* 79:874–880.
- Szczepaniak LS, Babcock EE, Schick F et al (1999) Measurement of intracellular triglyceride stores by H spectroscopy: validation in vivo. *Am J Physiol* 276:E977–E989.
- Taaffe DR, Henwood TR, Nalls MA et al (2009) Alterations in muscle attenuation following detraining and retraining in resistance-trained older adults. *Gerontology* 55:217–223
- 高橋康輝, 久野譜也 (2005) 筋の萎縮とトレーニング 高齢期における筋萎縮とトレーニング. *体育の科学* 55:608–613.
- Takeno K, Tamura Y, Kawaguchi M et al (2016) Relation between insulin sensitivity and metabolic abnormalities in Japanese men with BMI of 23-25 kg/m². *J Clin Endocrinol Metab* 101:3676–3684 .
- Therkelsen KE, Pedley A, Speliotes EK et al (2013) Intramuscular fat and associations with metabolic risk factors in the framingham heart study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 33:863–870.
- Timmers S, Schrauwen P, de Vogel J (2008) Muscular diacylglycerol metabolism and insulin resistance. *Physiol Behav* 94:242–251.
- Tuttle L, Sinacore D, Cade W, Mueller M (2011) Lower physical activity is associated with higher intermuscular adipose tissue in people with type 2 diabetes and peripheral neuropathy. *Phys Ther* 91:923–930
- Uenishi K (2007) Dietary reference intakes for Japanese, 2005. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi* 48:J268–J272.

- Uezumi A, Fukada S, Yamamoto N et al (2010) Mesenchymal progenitors distinct from satellite cells contribute to ectopic fat cell formation in skeletal muscle. *Nat Cell Biol* 12:143–152
- Ussher JR, Koves TR, Cadete VJJ et al (2010) Inhibition of de novo ceramide synthesis reverses diet-induced insulin resistance and enhances whole-body oxygen consumption. *Diabetes* 59:2453–2464.
- Wang H, Knaub LA, Jensen DR et al (2009) Skeletal muscle-specific deletion of lipoprotein lipase enhances insulin signaling in skeletal muscle but causes insulin resistance in liver and other tissues. *Diabetes* 58:116–124.
- Wroblewski A, Amati F, Smiley M et al (2011) Chronic Exercise Preserves Lean Muscle Mass in Masters Athletes. *Phys. Sportsmed.* 39:172–178
- Yim J-E, Heshka S, Albu J et al (2007) Intermuscular adipose tissue rivals visceral adipose tissue in independent associations with cardiovascular risk. *Int J Obes (Lond)* 1400–1405.
- Zhou C, Zhang J, Ma J et al (2013) Gene expression profiling reveals distinct features of various porcine adipose tissues. *Lipids Health Dis* 12:75.

Appendix

<活動量調査について>

皆さんの通常の生活の活動量を調査します。

7日間以上装着し、活動メモに記録をつけて下さい。

(活動量計:歩数計について)

- ★何もボタンを押す必要はありません。朝起きたらつけ、寝る直前にはずして下さい。
- ★就寝時・入浴中・シャワー・プール・着替えなどのとき以外は必ずつけて下さい。

(身体活動メモについて)

- ★活動量計を装着した日を記入して下さい。
- ★運動(水泳、自転車など)や特別な仕事・活動をした場合には、1日の活動に費やした合計時間を記入して下さい。
- ★つけ忘れた場合や体調不良で寝こんだ場合などは、特記事項の欄に記入して下さい。

【記入例】

月日	運動・腕のみの活動	装着時間	特記事項
5 / 7	(分) (分)	始:午前8時 終:午後9時	特になし
5 / 8	自転車(20分) (分)	始:午前8時 終:午後9時	AM 9:00-10:00 つけ忘れ
5 / 9	(分) 庭の草取り(30分)	始:午前8時 終:午後9時	特になし
5 / 10	(分) (分)	始:午前8時 終:午後9時	風邪のため、 装着せず
5 / 11	水泳(60分) (分)	始:午前8時 終:午後9時	
5 / 12	(分) (分)	始:午前8時 終:午後9時	筑波大学で測定
5 / 13	ダンス(分) (分)	始:午前8時 終:午後9時	特になし

◎ご協力よろしくお願いたします。

***** 身体活動メモ *****

名前:	ID: _____
-----	-----------

月日	運動・腕のみの活動	装着時間	特記事項
/	(分) (分)	始: 終:	
/	(分) (分)	始: 終:	
/	(分) (分)	始: 終:	
/	(分) (分)	始: 終:	
/	(分) (分)	始: 終:	
/	(分) (分)	始: 終:	
/	(分) (分)	始: 終:	
/	(分) (分)	始: 終:	
/	(分) (分)	始: 終:	
/	(分) (分)	始: 終:	
/	(分) (分)	始: 終:	
/	(分) (分)	始: 終:	
/	(分) (分)	始: 終:	
/	(分) (分)	始: 終:	
/	(分) (分)	始: 終:	
/	(分) (分)	始: 終:	
/	(分) (分)	始: 終:	

食事記録について

食事記録記入例を参考にして記入してください

1. 皆様の3日間(連続しなくても可)の食事を記入してください。
2. 記録していただきたい内容
 - ・食べた物, 飲んだ物, おやつ等も含め口にしたものすべて
 - ・食べた時間
 - ・料理名や中に入っている食品名
 - ・食事内容には, 料理の中身(材料)をできるだけ詳しく記入
 - ・材料を量った時は, 分量のところに重量を記入
 - ・はかりを持っていない方は, 「少々, 半分, 1/4, 1枚」などの目安量を記入
 - ・分量には, 「自分が食べた量」のみ記入
 - ・残した場合は, その他の欄に「残した分量」を記入
3. 記入上の注意事項
 - ・市販食品など, メーカーの分かる物は, メーカーと商品名を記入してください。
例) セブンイレブンのおにぎり(梅)1個
ファンタ グレープ 350cc など
 - ・市販食品を食べた場合, 栄養成分の記載されているものを添付して下さい。無理な場合は, その他の欄にできるだけくわしく記入してください。

※書き終わった食事記録用紙は、
第1測定の時に測定会場にお持ち下さい。

(食事記録記入例)

※ 朝起きてから、夜ねるまでの間に食べたものを、(口に入れたもの)すべて記入してください。

<1日目: 3月17日 名前 方 恩知 >

食べた時間	料理名	食事内容 (できるだけくわしく)	分量(グラム) または目安量	その他
8:20	ごはん	めし(ごはん)	150g または ※茶碗軽く1杯	
	味噌汁	豆腐 わかめ みそ	1/4丁 少々 大さじ1 190cc	
10:00	缶コーヒー	サントリー 無糖ブラック	200g スライス4枚	
12:20	焼き肉定食 肉	めし(ごはん) 豚肉 しょうゆ しょうが みりん	少々 少々 少々 小皿1杯 少々	半分残す
	付け合せサ ラダ	キャベツ にんじん 大根	50g 1/2枚 大さじ1	
	味噌汁	油揚げ 味噌	5枚	
15:00	ガム	梅味ガム	160g 1個	
18:00	おにぎり 調理パン	おにぎり(梅)普通サイズ カレーパン		ローソン "

※朝, 昼, 夜, 間食, 飲み物, 嗜好品等 記入もれはありませんか?

※ 1日の食事(口にしたもの全て)をできるだけ詳しくご記入下さい。

<1日目: 月 日 名前 >

食べた時間	料理名 (分かる範囲で)	食事内容 (できるだけ詳しく中身も記入して下さい)	分量(g)又は 目安量	備考

※朝, 昼, 夜, 間食, 飲み物, 嗜好品等 記入もれはありませんか?

<2日目: 月 日 名前 >

食べた時間	料理名 (分かる範囲で)	食事内容 (できるだけ詳しく中身も記入して下さい)	分量(g)又は 目安量	備考

※朝, 昼, 夜, 間食, 飲み物, 嗜好品等 記入もれはありませんか?

<3日目: 月 日 名前 >

食べた時間	料理名 (分かる範囲で)	食事内容 (できるだけ詳しく中身も記入して下さい)	分量(g)又は 目安量	備考

※朝, 昼, 夜, 間食, 飲み物, 嗜好品等 記入もれはありませんか?

生活習慣及び健康状態に関するアンケート調査

ID		名前		記入日	平成	年	月	日
----	--	----	--	-----	----	---	---	---

1. 生活習慣についてお聞きします。(あてはまる数字 1つに○)

1) お酒(清酒、焼酎、ビール、洋酒など)を飲む頻度						
<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 33%;">1. 毎日</td> <td style="width: 33%;">2. 週5-6日</td> <td style="width: 33%;">3. 週3-4日</td> </tr> <tr> <td>4. 週1-2日</td> <td>5. 月1-3日</td> <td>6. ほとんど飲まない</td> </tr> </table>	1. 毎日	2. 週5-6日	3. 週3-4日	4. 週1-2日	5. 月1-3日	6. ほとんど飲まない
1. 毎日	2. 週5-6日	3. 週3-4日				
4. 週1-2日	5. 月1-3日	6. ほとんど飲まない				
2) 【お酒を飲む方へ】飲酒日の1日当たりの飲酒量						
<p>※清酒1合(180ml)の目安 : ビール中瓶1本(約500ml)、焼酎35度(80ml)、ワイン2杯(240ml)</p> <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 25%;">1. 1合未満</td> <td style="width: 25%;">2. 1~2合未満</td> <td style="width: 25%;">3. 2~3合未満</td> <td style="width: 25%;">4. 3合以上</td> </tr> </table>	1. 1合未満	2. 1~2合未満	3. 2~3合未満	4. 3合以上		
1. 1合未満	2. 1~2合未満	3. 2~3合未満	4. 3合以上			
3) 食事を摂る時間帯は決まっていますか？						
<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 50%;">1. ほとんど決まっている</td> <td style="width: 50%;">2. だいたい決まっている</td> </tr> <tr> <td>3. あまり決まっていない</td> <td>4. ほとんど決まっていない</td> </tr> </table>	1. ほとんど決まっている	2. だいたい決まっている	3. あまり決まっていない	4. ほとんど決まっていない		
1. ほとんど決まっている	2. だいたい決まっている					
3. あまり決まっていない	4. ほとんど決まっていない					
4) 食事の量は、腹八分目にしていますか？						
<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 50%;">1. いつもしている</td> <td style="width: 50%;">2. 時々している</td> </tr> <tr> <td>3. あまりしていない</td> <td>4. ほとんどしていない</td> </tr> </table>	1. いつもしている	2. 時々している	3. あまりしていない	4. ほとんどしていない		
1. いつもしている	2. 時々している					
3. あまりしていない	4. ほとんどしていない					
5) 食事のカロリーや量が多い場合、残すことをしていますか？						
<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 50%;">1. いつもしている</td> <td style="width: 50%;">2. 時々している</td> </tr> <tr> <td>3. あまりしていない</td> <td>4. ほとんどしていない</td> </tr> </table>	1. いつもしている	2. 時々している	3. あまりしていない	4. ほとんどしていない		
1. いつもしている	2. 時々している					
3. あまりしていない	4. ほとんどしていない					
6) 朝食は摂っていますか？						
<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 50%;">1. ほとんど摂っている</td> <td style="width: 50%;">2. 時々摂っている</td> </tr> <tr> <td>3. まれに摂っている</td> <td>4. ほとんど摂っていない</td> </tr> </table>	1. ほとんど摂っている	2. 時々摂っている	3. まれに摂っている	4. ほとんど摂っていない		
1. ほとんど摂っている	2. 時々摂っている					
3. まれに摂っている	4. ほとんど摂っていない					
7) あなたはふだん間食(夜食を含む)をすることがありますか？						
<ol style="list-style-type: none"> 1. 毎日2回以上(週に14回以上)間食 2. 毎日1回以上2回未満(週に7回以上14回未満)間食 3. 週2回以上7回未満間食 4. 間食しない・または週2回未満間食 						

8) あなたはふだん外食をすることがありますか？

1. 毎日2回以上(週に14回以上)外食
2. 毎日1回以上2回未満(週に7回以上14回未満)外食
3. 週2回以上7回未満外食
4. 外食しない・または週2回未満外食

9) 外食するときや食品を購入するときにカロリー表示や栄養成分表示を参考にしていますか？

- | | |
|-------------|--------------|
| 1. いつもしている | 2. 時々している |
| 3. あまりしていない | 4. ほとんどしていない |

10) 脂分の多い食べ物を食べますか？

- | | |
|-----------|-------------|
| 1. よく食べる | 2. 時々食べる |
| 3. まれに食べる | 4. ほとんど食べない |

11) 現在、たばこを習慣的に吸っている

※「これまでに合計100本以上か6ヶ月以上吸っている」者で、「最近1ヶ月間も吸っている」者

- | | |
|-------|--------|
| 1. はい | 2. いいえ |
|-------|--------|

2. 運動・スポーツ実施についてお聞きします。(あてはまる数字 1 つに○、下線部には文字を記入)

1) 習慣的に運動やスポーツを行っている

- | | |
|-------|--------|
| 1. はい | 2. いいえ |
|-------|--------|

【「はい」と答えた方のみお答え下さい】

2) 行っている運動・スポーツは何ですか？

3) どのくらいの頻度で行っていますか？(月か週に○をつけて数字を入れる)

月・週に _____ 回くらい

4) 何ヶ月くらい継続して行っていますか？

_____ヶ月くらい

3. あなた自身のことについてお聞きします。(あてはまる数字 1 つに○、下線部には数字か文字を記入)

1) 今回のプログラムに参加した主な目的は次のどれですか		
1. 健康の増進	2. 体力の向上	3. 体重の減少
4. 運動不足解消	5. 体型の改善	6. 美容
7. 老化や病気の予防	8. その他(_____)	
2) 健康づくりと聞いて、直感的にイメージするのは次のどれですか		
1. 食習慣の改善	2. 運動の習慣化	3. 飲酒の制限
4. 禁煙	5. 規則的な生活	6. その他(_____)
3) 世帯構成は次のどれですか		
1. 1人暮らし	2. 夫婦のみ	3. 2人世帯(夫婦以外)
4. 2世代 (父母または子供と同居)	5. 3世代 (父母と子供、子供と孫 または父母と祖父母と同居)	6. その他 (_____)
4) 配偶者はいますか		
1. はい	2. いいえ	
5) あなたには、育児や介護を必要とする家族がいますか		
1. 子ども(孫)がいる	2. 大人がいる	
3. 子ども(孫)と大人がいる	4. いない	
6) 最終学歴は次のどれですか		
1. 小学校・中学校卒	2. 高等学校・高専卒	3. 短大・専門学校卒
4. 大学卒・大学院卒	5. その他(_____)	
7) あなたは、経済的なゆとりがありますか？		
1. 全くない	2. ほとんどない	3. どちらともいえない
4. 少しある	5. かなりある	

8) あなたの家にはクルマ、バイク、自転車が何台ありますか		
1. クルマ ()台	2. バイク(原付含む) ()台	3. 自転車 ()台
9) あなたはクルマやバイクの免許を持っていますか		
・クルマの免許	(1. 持っている	2. 持っていない)
・バイク(小型二輪以上)の免許	(1. 持っている	2. 持っていない)
10) あなたの主な移動手段は何ですか (1つのみ○)		
1. 徒歩	2. 自転車	3. バスや電車(鉄道)
4. バイク(原付含む)	5. クルマ	6. その他 ()

4. 服薬、疾患、健康状態についてお聞きします。(あてはまる数字 1つに○、下線部には文字を記入)

1) 現在、以下の薬を使用していますか		
① 血圧を下げる薬	1. はい	2. いいえ
② インスリン注射又は血糖を下げる薬	1. はい	2. いいえ
③ コレステロールを下げる薬	1. はい	2. いいえ
④ 腰痛症の薬	1. はい	2. いいえ
⑤ 膝関節症の薬	1. はい	2. いいえ
⑥ 骨粗鬆症の薬	1. はい	2. いいえ
2) 現在、サプリメント(栄養補助食品)を使用していますか		
1. はい	2. いいえ	
* 製品名または種類 : _____		
(例:グルコサミン、マルチビタミン、ビタミンCなど)		
3) 医師から、以下の疾病にかかっているといわれたり、治療を受けたことがありますか		
① 脳卒中(脳出血、脳梗塞等)	1. はい	2. いいえ
② 心臓病(狭心症、心筋梗塞等)	1. はい	2. いいえ

③ 慢性の腎不全・治療(人工透析)

1. はい

2. いいえ

4) 現在、医師から、以下の疾病にかかっているといわれたり、治療を受けていますか

① 糖尿病

1. はい

2. いいえ

② 高血圧症

1. はい

2. いいえ

③ 高脂血症(高コレステロール、低 HDL コレステロール血症等)

1. はい

2. いいえ

④ 慢性の腰痛症(椎間板ヘルニア・腰椎分離症など)

1. はい

2. いいえ

⑤ 慢性の膝関節症(変形性膝関節症など)

1. はい

2. いいえ

⑥ 骨粗鬆症

1. はい

2. いいえ

5) この1ヶ月のからだの部位の痛み(しびれを含む)についてお聞きします

① 膝、股関節、太もも、ふくらはぎ、
すね、足首、足のいずれか

1. 痛くない

2. 少し痛い

3. 中程度痛い

4. かなり痛い

5. ひどく痛い

②腰、背中、お尻のいずれか

1. 痛くない

2. 少し痛い

3. 中程度痛い

4. かなり痛い

5. ひどく痛い

③首、肩、腕、手のいずれか

1. 痛くない

2. 少し痛い

3. 中程度痛い

4. かなり痛い

5. ひどく痛い

④ふだんの生活でからだを動かすの
はどの程度つらいですか

1. つらくない

2. 少しつらい

3. 中程度つらい

4. かなりつらい

5. ひどくつらい

6) 血縁関係の両親・兄弟・姉妹が以下の病気にかかったことがありますか

① 心臓病

1. はい

2. いいえ

② 脳卒中

1. はい

2. いいえ

③ 糖尿病

1. はい

2. いいえ

④ 高血圧症

1. はい

2. いいえ

⑤ 高脂血症

1. はい

2. いいえ

⑥ 結核

1. はい

2. いいえ

⑦ がん

1. はい

2. いいえ

7) あなたの月経の状態は次のどれですか

- | | |
|---------------------|--------------|
| 1. 定期的に月経がある | 2. 不定期に月経がある |
| 3. 閉経(閉経時の年齢 _____) | |

5. 職業についてお聞きします。(あてはまる数字 1 つに○、下線部には数字か文字を記入)

1) あなたは現在働いていますか		
1. 働いている(パート・アルバイト含む)	2. 主婦	3. 無職
【以下の質問は、働いている方のみお答えください】		
2) あなたの職業は次のどれに当てはまりますか		
1. 会社員・役員	2. 自営業	3. 専門職
4. 公務員・団体職員	5. パート・アルバイト	6. その他(具体的 _____)
3) 勤務頻度はどのくらいですか		
週あたり(_____)日くらい		
4) あなたの主な通勤手段は何ですか (<u>1</u> つのみ○)		
1. 徒歩	2. 自転車	3. バスや電車(鉄道)
4. バイク(原付含む)	5. クルマ	6. その他(_____)
5) 就業内容についてお答えください		
1. 1日のほとんどが座ったままの仕事である		
2. 立っていたり、歩いていたことが多い仕事である		
3. 土木作業や荷物の運搬などの肉体労働が主である		
4. その他 (_____)		

以上で終了です。

最後までアンケートにご協力くださり、誠にありがとうございます。

※恐れ入りますが、記入漏れがないかご確認の上、提出をお願いいたします。



Relationship between thigh intermuscular adipose tissue accumulation and number of metabolic syndrome risk factors in middle-aged and older Japanese adults



Eunji Bang, Kai Tanabe, Noriko Yokoyama, Shoko Chijiki, Shinya Kuno *

Department of Sports Medicine, Graduate School of Comprehensive Human Sciences, University of Tsukuba, 1-1-1 Tennodai, Tsukuba City, Ibaraki 305-8577, Japan

ARTICLE INFO

Article history:

Received 12 January 2016

Received in revised form 14 March 2016

Accepted 15 March 2016

Available online 16 March 2016

Section Editor: Borg Holly M. Brown-

Keywords:

Intermuscular adipose tissue

Metabolic syndrome

Skeletal muscle mass

Japanese adults

ABSTRACT

Background: To evaluate the association between thigh intermuscular adipose tissue accumulation and number of metabolic syndrome risk factors in middle-aged and older Japanese adults.

Methods: Thigh muscle cross-sectional area, subcutaneous adipose tissue, thigh intermuscular adipose tissue, abdominal subcutaneous adipose tissue, and visceral adipose tissue were measured in 166 middle-aged and older (mean age, 69 years) Japanese adults using magnetic resonance imaging. Daily physical activity was calculated using pedometers, and energy intake per day was evaluated using 3-day dietary records. Multiple linear regression analysis was used to assess the association between intermuscular adipose tissue and the number of metabolic syndrome risk factors.

Results: Multiple regression analysis indicated that intermuscular adipose tissue was significantly associated with the number of metabolic syndrome risk factors, after adjusting for age, sex, body mass index, daily physical activity, energy intake, thigh muscle cross-sectional area, and visceral adipose tissue ($p < 0.05$).

Conclusions: Thigh intermuscular adipose tissue accumulation was significantly associated with the number of metabolic syndrome risk factors in middle-aged and older Japanese adults, independent of age, sex, body mass index, daily physical activity, energy intake, thigh muscle cross-sectional area, and visceral adipose tissue.

© 2016 Elsevier Inc. All rights reserved.

1. Introduction

Age-related loss of skeletal muscle mass, termed sarcopenia (Rosenberg, 1997), is related to mobility disorders, impaired activities of daily living, and decreased quality of life in older adults (Janssen et al., 2002; Doherty, 2003). Sarcopenia has also been reported as associated with metabolic diseases, such as diabetes (Morley, 2008; Kim et al., 2010) and metabolic syndrome (MetS) (Yum et al., 2012). Furthermore, sarcopenic obesity, defined as having low skeletal muscle mass in the presence of obesity (Baumgartner et al., 2004), is reportedly more closely associated with MetS than either sarcopenia or obesity alone (Lim et al., 2010).

Intermuscular adipose tissue (IMAT) has been observed in the skeletal muscles of older adults with sarcopenia. Recent studies have demonstrated that patients with metabolic diseases, such as type 2 diabetes (Goodpaster et al., 2000; Hilton et al., 2008; Gallagher et al., 2009) or stroke (Ryan et al., 2002, 2011), have a greater amount of IMAT compared with healthy individuals. These

observations indicate that increased IMAT contributes to the pathogenesis of metabolic disease. However, few reports have examined the relationship between IMAT and metabolic abnormalities in older adults without severe disease.

MetS represents a cluster of cardiovascular risk factors that includes abdominal obesity, hypertension, dyslipidemia, and hyperglycemia (Reaven, 1988). The incidence of lifestyle-related diseases reportedly increases with increasing numbers of MetS risk factors, even if they are mild risk factors (Nakamura et al., 2001).

Therefore, there is a clinical need to determine the effects of IMAT on metabolic abnormalities in terms of MetS risk factors for the prevention of lifestyle-related disease. To date, only two previous studies have reported that IMAT is independently associated with the incidence of MetS in men or women without severe disease (Goodpaster et al., 2003; Therikelsen et al., 2013). Despite reporting an association between IMAT and MetS, neither of these studies focused on the number of MetS risk factors or measured physical activity or energy intake. The influence of IMAT on MetS risk factors is likely to differ according to the race (Yim et al., 2007); however, to the best of our knowledge, no studies have been conducted on middle-aged and older Japanese adults.

Therefore, the present study aimed to determine the association between thigh IMAT accumulation and the number of MetS risk factors in middle-aged and older Japanese adults, independent of sex and objectively measured physical activity and energy intake.

* Corresponding author.

E-mail addresses: bangeunji000@gmail.com (E. Bang), tanabe.kai.gm@u.tsukuba.ac.jp (K. Tanabe), yokoyama.noriko.ge@u.tsukuba.ac.jp (N. Yokoyama), schijiki@gmail.com (S. Chijiki), kuno@taiiku.tsukuba.ac.jp (S. Kuno).

2. Methods

2.1. Participants

The present study included 166 middle-aged and older Japanese adults without exercise habits or severe metabolic disease (mean age, 68.9 ± 5.5 years; 53 men, 113 women). Participants were recruited through advertisements in the local community. All participants provided informed written consent. The Ethical Committee of the Institute of Health and Sport Sciences and the Institute of Clinical Medicine at the University of Tsukuba approved the present study protocol.

2.2. Anthropometric measurements

Anthropometric measurements were performed on barefoot participants wearing light clothing. Height was measured to the nearest 0.1 cm using a wall-mounted stadiometer. Body weight was measured to the nearest 0.1 kg using a digital scale (TBF-551; Omron Healthcare Co., Ltd., Kyoto, Japan). Body mass index (BMI) was calculated as body weight/height² (kg/m²).

2.3. Thigh muscle and abdominal cross-sectional area (CSA)

Thigh muscle and abdominal CSA measurements were obtained by magnetic resonance imaging (MRI) at the University of Tsukuba. Participants were placed in the supine position with extended knee joints on a 0.25-T scanner (AIRIS mate; Hitachi Medical Co., Tokyo, Japan). Thigh cross-sectional images were obtained using a conventional T1-weighted spin-echo sequence (10-mm slice thickness, 20-mm intersection interval, TR 360 ms, TE 28 ms, 256×256 matrix, FOV 240 mm, FA 90°). Abdominal cross-sectional images were obtained between L4 and L5 vertebrae using a conventional T1-weighted spin-echo sequence (10-mm slice thickness, 20-mm intersection interval, TR 510 ms, TE 30 ms, 256×256 matrix, FOV 320 mm, FA 90°).

Total area, thigh muscle, thigh subcutaneous adipose tissue (TSAT), and thigh IMAT were measured from a single cross-sectional image at 50% of the right femur length. In the present study, IMAT was defined as adipose tissue area visible between muscle groups and beneath the muscle fascia (Ruan et al., 2007). Abdominal subcutaneous adipose tissue (ASAT) and visceral adipose tissue (VAT) were measured from a single cross-sectional image between the L4 and L5 vertebrae. All cross-sectional images were analyzed by a single trained investigator using SliceOmatic 5.0 image analysis software (Tomovision, Montreal, Canada). The coefficient of variation for thigh muscle, TSAT, and IMAT were $\pm 0.24\%$, $\pm 0.45\%$, and $\pm 0.53\%$, respectively, whereas those for ASAT and VAT were $\pm 0.40\%$ and $\pm 0.57\%$, respectively.

2.4. MetS components and risk factor

MetS risk factors were determined according to the Japanese Diagnosis Criteria (Matsuzawa, 2005) as follows: (1) abdominal obesity, waist circumference of ≥ 85 cm in men and ≥ 90 cm in women; (2) hypertension, systolic blood pressure (SBP) of ≥ 130 mm Hg and/or diastolic blood pressure (DBP) of ≥ 85 mm Hg; (3) dyslipidemia, triglyceride (TG) levels of ≥ 150 mg/dL and/or high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) levels of < 40 mg/dL; and (4) hyperglycemia, fasting glucose (FG) levels of ≥ 110 mg/dL. Additional MetS risk factor criteria included those receiving drug treatments for hypertension, dyslipidemia, or hyperglycemia.

Waist circumference was measured three times to the nearest 0.1 cm at the midpoint between the lower costal margin and iliac crest using a calibrated measuring tape. Blood pressure was measured twice using an electronic digital blood pressure monitor (HEM-780, Omron Healthcare Co., Ltd., Kyoto, Japan) with individuals in a seated position after a 10-min rest period. Fasting TG, HDL-C, and FG levels were obtained from blood samples drawn after an overnight fast.

2.5. Covariates

Daily physical activity was measured using a pedometer (HJ-730IT, Omron Healthcare Co., Ltd., Kyoto, Japan). Participants were directed to wear the pedometer on a belt around the waist from waking up in the morning until going to bed at night for 14 days, except during sleeping and bathing. In addition, participants were asked to record their physical activity in detail using a physical activity diary to exclude unusual physical activity, such as travel or business trips, from daily physical activity. The number of steps recorded daily was calculated from the average number of steps per day measured by the pedometer and the physical activity diary.

Daily intake of total energy, in addition to carbohydrates, fat, and protein, were assessed using 3-day dietary records. Dietary intake data were analyzed by a nutritionist using Eiyokun Ver 4.0 software (Kenpakusya Co., Ltd., Tokyo, Japan). Estimated energy requirement (EER) values were calculated for each participant based on height, weight, and physical activity levels (Sasaki, 2008). Total energy intake was evaluated to determine the EER usage ratio as the total energy intake per EER. Participants also completed a postmenopausal health questionnaire. All female participants were postmenopausal and were not receiving hormone replacement therapy during the present study period.

2.6. Statistical analysis

Patients were divided into quartiles according to IMAT (Q1, < 2.7 cm²; Q2, 2.7–3.7 cm²; Q3, 3.8–5.5 cm²; Q4, > 5.5 cm²) to examine the number of MetS risk factors in each IMAT quartile. The mean differences in continuous variables between IMAT quartiles were tested using one-way analyses of variance, and categorical variables were tested using the χ^2 test. Relationships between IMAT accumulation and number of MetS risk factor were determined using partial correlation coefficients adjusted for age and sex. Multiple regression analysis models were used to determine whether IMAT was independently associated with the number of MetS risk factors. Analyses were adjusted for age, sex, physical activity, energy intake, and thigh muscle CSA (Model 1), and further adjusted for BMI (Model 2) and VAT (Model 3), as these variables have been shown to be strongly associated with MetS in several previous studies as well as the present study. All statistical analyses were performed using SPSS 21.0 software (SPSS Inc., Tokyo, Japan); *p* values < 0.05 were considered statistically significant.

3. Results

Participant characteristics according to IMAT quartiles are shown in Table 1. Overall, 31.9% participants were men. No significant differences in age or height were observed between quartiles; however, body weight and BMI were significantly higher in Q4 than in Q1 and Q2. Moreover, thigh muscle and abdominal CSA values, except for TSAT, were significantly greater in Q4 than in Q1–Q3. No significant differences in physical activity or dietary intake were observed between quartiles.

The number of MetS risk factors and components according to IMAT quartiles are shown in Table 2. The number of MetS risk factors was significantly higher in Q4 than in Q1 ($p < 0.001$). IMAT quartiles were significantly associated with the frequency of abdominal obesity ($p < 0.001$) and hyperglycemia ($p < 0.01$); however, no significant difference in frequencies of hypertension and dyslipidemia were observed between IMAT quartiles. In addition, among the components of MetS, IMAT quartiles were significantly positively associated with waist circumference ($p < 0.001$) and FG ($p < 0.05$). No significant difference in SBP, DBP, TG, and HDL-C were observed between IMAT quartiles (Table 2).

Table 3 shows the partial correlation, controlled for age and sex, between body composition variables, physical activity, energy intake, and MetS components. IMAT was significantly correlated with the number

Table 1
Characteristics of participants according to IMAT quartile.

Characteristics	All participants	Quartiles of IMAT				P-value
		Q1 (≤ 2.7 cm ²)	Q2 (2.8–3.7 cm ²)	Q3 (3.8–5.5 cm ²)	Q4 (≥ 5.6 cm ²)	
N	166	41	42	42	41	
Male (%)	31.9	29.3	31.0	31.0	36.6	0.504
Age (years)	68.9 \pm 5.5	68.1 \pm 5.3	69.4 \pm 5.5	68.4 \pm 5.9	69.7 \pm 5.5	0.486
Height (cm)	154.0 \pm 8.0	153.9 \pm 6.8	153.4 \pm 8.1	154.7 \pm 8.7	154.2 \pm 8.5	0.883
Weight (kg)	57.1 \pm 9.3	51.7 \pm 7.1 ^{§,¶}	56.4 \pm 7.4	59.3 \pm 11.4 [†]	60.9 \pm 8.1 [†]	<0.001
BMI (kg/m ²)	24.0 \pm 3.0	21.8 \pm 2.3 ^{§,¶}	24.0 \pm 2.6 ^{†,§}	24.6 \pm 3.2 [†]	25.6 \pm 2.5 ^{†,§}	<0.001
Physical activity (steps/day)	6761.78 \pm 3202.4	7446.1 \pm 3498.0	6896.2 \pm 2852.8	6491.7 \pm 3740.8	6216.5 \pm 2550.2	0.332
Dietary intake						
Total energy intake (kcal/day)	2096.6 \pm 382.2	2121.7 \pm 413.1	2102.0 \pm 363.6	2072.1 \pm 391.1	2091.1 \pm 371.7	0.948
Energy intake (% of EER)	114.8 \pm 24.5	110.6 \pm 22.7	115.6 \pm 27.4	115.7 \pm 21.9	117.2 \pm 25.9	0.654
Protein (g/day)	83.5 \pm 16.4	84.0 \pm 18.1	87.9 \pm 17.9	81.4 \pm 13.6	80.5 \pm 15.1	0.160
Fat (g/day)	54.7 \pm 15.5	56.9 \pm 17.1	55.9 \pm 15.3	53.2 \pm 13.8	52.8 \pm 16.0	0.572
Carbohydrate (g/day)	302.2 \pm 58.9	306.3 \pm 67.9	300.8 \pm 55.2	295.1 \pm 59.7	306.9 \pm 53.2	0.784
Thigh cross-sectional areas						
Total thigh (cm ²)	156.1 \pm 27.7	141.9 \pm 21.1 ^{§,¶}	152.7 \pm 24.2 [†]	161.5 \pm 30.1 [†]	168.2 \pm 28.2 ^{†,§}	<0.001
Thigh muscle (cm ²)	99.0 \pm 18.5	93.7 \pm 16.8	96.9 \pm 15.2	100.8 \pm 21.3	104.4 \pm 18.9	<0.05
TSAT (cm ²)	53.0 \pm 23.9	46.1 \pm 20.5	52.4 \pm 25.1	56.2 \pm 24.3	57.0 \pm 24.7	0.149
IMAT (cm ²)	4.1 \pm 1.9	2.0 \pm 0.7 ^{§,¶}	3.4 \pm 0.2 ^{§,¶}	4.5 \pm 0.5 ^{†,§}	6.7 \pm 1.3 ^{†,§}	<0.001
IMAT (% of thigh muscle)	4.2 \pm 1.9	2.2 \pm 0.8 ^{§,¶}	3.6 \pm 0.6 ^{§,¶}	4.6 \pm 0.9 ^{†,§}	6.6 \pm 1.6 ^{†,§}	<0.001
IMAT (% of total thigh)	2.7 \pm 1.1	1.4 \pm 0.5 ^{§,¶}	2.3 \pm 0.3 ^{§,¶}	2.9 \pm 0.5 ^{†,§}	4.1 \pm 0.9 ^{†,§}	<0.001
Abdominal cross-sectional areas						
ASAT (cm ²)	160.2 \pm 63.5	127.5 \pm 61.2 ^{§,¶}	167.1 \pm 67.5 [†]	178.4 \pm 60.0 [†]	167.5 \pm 54.6 [†]	<0.01
VAT (cm ²)	64.8 \pm 33.9	46.2 \pm 28.1 ^{§,¶}	66.2 \pm 30.3 [†]	65.1 \pm 29.3 [†]	81.8 \pm 38.3 [†]	<0.001

Values are means \pm standard deviation and percentage. BMI, body mass index; EER, estimated energy requirement; TSAT, thigh subcutaneous adipose tissue; IMAT, intermuscular adipose tissue; ASAT, abdominal subcutaneous adipose tissue; VAT, visceral adipose tissue.

[†] A significant difference for the Q1.

[‡] A significant difference for the Q2.

[§] A significant difference for the Q3.

[¶] A significant difference for the Q4.

of MetS risk factors, waist circumference, HDL-C, and FG. IMAT, normalized according to thigh muscle CSA and total thigh adipose tissue was significantly correlated with the number of MetS risk factors. In addition, other body composition factors, such as BMI, total thigh volume, thigh muscle, TSAT, IMAT, ASAT, and VAT, were significantly correlated with number of MetS risk factors. Physical activity was significantly correlated with number of MetS risk factor; however, no significant correlation was observed with energy intake (Table 3).

The results of the multiple regression analysis are shown in Table 4. The results indicate IMAT as significantly associated with the number of MetS risk factors after adjusting for age, sex, physical activity, energy intake, thigh muscle CSA (Model 1, $\beta = 0.304$; $R^2 = 0.276$; $p < 0.001$), and

increasing IMAT accumulation was associated with the number of MetS risk factors. The association between IMAT accumulation and number of MetS risk factors persisted after adjustment for BMI (Model 2, $\beta = 0.204$; $R^2 = 0.325$; $p < 0.01$) and VAT (Model 3, $\beta = 0.177$; $R^2 = 0.349$; $p < 0.05$).

4. Discussion

In the present study, we determined whether thigh IMAT accumulation is associated with the number of MetS risk factors in middle-aged and older Japanese adults, independent of sex, objectively measured physical activity, and energy intake. The results of the present study

Table 2
MetS components and risk factors of participants according to IMAT quartile.

	All participants	Quartiles of IMAT				P-value
		Q1 (≤ 2.7 cm ²)	Q2 (2.8–3.7 cm ²)	Q3 (3.8–5.5 cm ²)	Q4 (≥ 5.6 cm ²)	
Number of MetS risk factor (n)	1.6 \pm 1.1	1.1 \pm 0.9 [‡]	1.6 \pm 1.0	1.6 \pm 1.1	2.2 \pm 1.1 [†]	<0.001
Percentage of MetS risk factor						
Abdominal obesity (%)	45 (27.1)	2 (4.9)	11 (26.2)	12 (28.6)	20 (48.8)	<0.001
Hypertension (%)	127 (76.5)	27 (65.9)	34 (81.0)	31 (73.8)	35 (85.4)	0.171
Dyslipidemia (%)	58 (34.9)	10 (24.4)	14 (33.3)	16 (38.1)	18 (43.9)	0.297
Hyperglycemia (%)	39 (23.5)	4 (9.8)	8 (19.0)	10 (23.8)	17 (41.5)	<0.01
MetS components						
Waist circumference (cm)	81.9 \pm 9.6	75.4 \pm 6.6 ^{§,¶}	81.6 \pm 9.3 [†]	83.6 \pm 10.8 [†]	86.6 \pm 7.8 [†]	<0.001
SBP (mmHg)	136.3 \pm 17.9	131.8 \pm 16.1	140.0 \pm 21.1	135.1 \pm 17.3	138.2 \pm 16.3	0.168
DBP (mmHg)	80.8 \pm 12.8	80.8 \pm 10.6	80.2 \pm 11.5	79.5 \pm 10.2	82.9 \pm 17.9	0.655
TG (mg/dl)	107.2 \pm 49.3	103.9 \pm 54.4	101.4 \pm 44.3	114.0 \pm 51.0	109.4 \pm 48.0	0.653
HDL-C (mg/dl)	57.4 \pm 13.5	61.1 \pm 14.5	58.2 \pm 14.3	55.4 \pm 12.8	55.0 \pm 11.7	0.140
Fasting glucose (mg/dl)	105.4 \pm 23.6	98.3 \pm 9.7 [‡]	101.3 \pm 13.4	109.5 \pm 28.8	112.3 \pm 32.2 [†]	<0.05

Values are means \pm standard deviation and percentage. MetS, metabolic syndrome; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; TG, Triglycerides; HDL-C, high density lipoprotein cholesterol.

[†] A significant difference for Q1.

[‡] A significant difference for Q2.

[§] A significant difference for Q3.

[¶] A significant difference for Q4.

Table 3
Partial correlation coefficients between IMAT accumulation and MetS components.

	Number of MetS risk factor	Waist circumference	SBP	DBP	TG	HDL-C	Fasting glucose
BMI (kg/m ²)	0.445***	0.565***	0.217**	0.119	0.209**	−0.355***	0.169*
Physical activity (steps/day)	−0.190*	−0.176*	−0.047	0.035	−0.202**	0.193*	−0.201*
Energy intake (% of EER)	0.034	−0.048	0.038	0.019	0.168*	−0.108	0.093
Thigh cross-sectional areas							
Total thigh (cm ²)	0.358***	0.425***	0.210**	0.110	0.233**	−0.226**	0.052
Thigh muscle (cm ²)	0.243**	0.296***	0.140	0.016	0.254**	−0.224**	0.135
TSAT (cm ²)	0.271***	0.321***	0.173*	0.129	0.123	−0.129	−0.040
IMAT (cm ²)	0.391***	0.416***	0.091	0.050	0.153	−0.198*	0.202**
IMAT (% of thigh muscle)	0.333***	0.357***	0.059	0.049	0.056	−0.128	0.181*
IMAT (% of total thigh)	0.285***	0.302***	0.035	0.007	0.048	−0.117	0.214**
Abdominal cross-sectional areas							
ASAT (cm ²)	0.338***	0.444***	0.163*	0.155*	0.178*	−0.191*	0.161*
VAT (cm ²)	0.419***	0.445***	0.271***	0.136	0.323***	−0.257**	0.165*

Controlling for age and sex. MetS, metabolic syndrome; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; TG, triglycerides; HDL-C, high density lipoprotein cholesterol. BMI, body mass index; EER, estimated energy requirement; TSAT, thigh subcutaneous adipose tissue; IMAT, intermuscular adipose tissue; ASAT, abdominal subcutaneous adipose tissue; VAT, visceral adipose tissue.

* $p < 0.05$.
** $p < 0.01$.
*** $p < 0.001$.

demonstrate thigh IMAT accumulation as independently associated with the number of MetS risk factors, after adjusting for age, sex, daily physical activity, energy intake, and thigh muscle CSA.

Therkelsen et al. (2013) reported that for each standard deviation increase in intramuscular fat in the paraspinal muscle, there was a 1.2-fold increase in the odds of MetS incidence in women, but not in men, after adjusting for age, smoking status, alcohol use, physical activity, menopausal status, BMI, and VAT. Goodpaster et al. (2003) reported that individuals with normal weight and higher thigh IMAT were at approximately 2.3-fold increased risk of MetS than those with normal weight and lower thigh IMAT, regardless of race, smoking status, and physical activity, but not obesity.

To the best of our knowledge, this is the first study to report the relationship between IMAT accumulation and the number of MetS risk factors. Notably, IMAT has been found to be associated with MetS after adjusting for sex, BMI, and objectively measured physical activity in middle-aged and older Japanese adults with normal weight (average BMI, 24.0 kg/m²). Although Japanese individuals are less likely to have a BMI greater than 30, compared with European and American individuals, the prevalence of diabetes and metabolic disorders is reportedly higher in Japanese individuals than in European and American individuals (Kodama et al., 2013). In the present study population, 1.8% participants had a BMI greater than 30. The results of the present study indicate that IMAT in addition to BMI, could be associated with the number of MetS risk factors in Japanese individuals.

Taken together, the results of the present study and previous studies indicate IMAT accumulation is associated with not only the incidence of MetS but also the number of MetS risk factors in healthy individuals without severe metabolic disease. IMAT accumulation likely increases

susceptibility to MetS. Although previous studies have reported IMAT as associated with the incidence of MetS, the sex difference in the relationship between IMAT and MetS has been inconsistent. This discrepancy among the results of previous studies may be attributable to differences in age, race, or site of IMAT measurement.

The results of the present study indicate that IMAT is associated with MetS, although the mechanisms underlying the association between IMAT and MetS in older adults remain unclear. Low expression of the fatty acid transporter, FABPpm, is reportedly associated with low insulin sensitivity, with greater fat accumulation in muscle cells, in men (Kawaguchi et al., 2014). Expression of FABPpm is associated with increased fatty acid oxidation and increased expression of PPAR- α , leading to increased insulin sensitivity. Accordingly, FABPpm may be one of the factors contributing to fat accumulation within the muscle cells and insulin resistance (Kawaguchi et al., 2014). Furthermore, significant enrichment of inflammation (miR-21, miR-101)- and diabetes (miR-30a, miR-103)-related miRNAs has been reported in IMAT compared with subcutaneous adipose tissue in a animal model (Ma et al., 2013). Because IMAT measured by MRI in the present study was unable to distinguish accumulation of fat within muscle cells, future studies should investigate the association between accumulation of fat within muscle cells measured by muscle biopsy sample or magnetic resonance spectroscopy and fatty acid oxidation capacity and inflammatory markers of skeletal muscle at the molecular level.

The present study has some limitations. First, participants of the present study were aged ≥ 60 years; therefore, the results of the present study may not apply to those < 60 years old. Second, although we controlled for multiple confounders, we were unable to exclude the possible influence of unmeasured or potentially confounding variables,

Table 4
Regression coefficients between IMAT accumulation and number of MetS risk factors.

Variables	Model 1			Model 2			Model 3		
	β	S.E.	P-value	β	S.E.	P-value	β	S.E.	P-value
IMAT (cm ²)	0.304	0.043	<0.001	0.204	0.045	<0.01	0.177	0.045	<0.05
Age (years)	0.167	0.016	<0.05	0.143	0.016	0.074	0.124	0.016	0.119
Sex	−0.125	0.228	0.196	−0.264	0.241	<0.05	−0.272	0.238	<0.01
Physical activity (steps/day)	−0.141	0.000	0.066	−0.090	0.000	0.232	−0.086	0.000	0.251
Energy intake (% of EER)	−0.032	0.004	0.688	0.002	0.004	0.983	−0.017	0.004	0.828
Thigh-muscle CSA (cm ²)	0.202	0.006	<0.05	0.005	0.007	0.965	−0.017	0.007	0.878
BMI (kg/m ²)				0.301	0.033	<0.01	0.209	0.036	<0.05
VAT (cm ²)							0.198	0.003	<0.05
R ²	0.276			0.325			0.349		

EER, estimated energy requirement; CSA, cross-sectional area; BMI, body mass index; VAT, visceral adipose tissue. Model 1, adjusted for age, sex, physical activity, energy intake, thigh muscle. Model 2, adjusted for model 1 and BMI. Model 3, adjusted for model 2 and VAT.

such as other lifestyle factors including current smoking and alcohol consumption, genetic factors, and hormonal factors. Finally, the cross-sectional design of the present study was unable to determine a causal relationship between MetS and IMAT. Further studies are required to determine the mechanism responsible for the association between IMAT and MetS.

In conclusion, the results of the present study demonstrate a significant association between thigh IMAT accumulation and number of MetS risk factors in middle-aged and older Japanese adults, independent of age, sex, BMI, daily physical activity, energy intake, thigh muscle CSA, and VAT. Therefore, IMAT may be a factor associated with increased numbers of MetS risk factors. Further studies are required to determine the mechanisms underlying the association between thigh IMAT accumulation and MetS.

Conflicts of interest

The authors report no conflict of interest.

Acknowledgments

We thank the participants and staff of the Kuno laboratory at the University of Tsukuba.

References

- Baumgartner, R.N., Wayne, S.J., Waters, D.L., Janssen, I., Gallagher, D., Morley, J.E., 2004. Sarcopenic obesity predicts instrumental activities of daily living disability in the elderly. *Obes. Res.* 12, 1995–2004.
- Doherty, T.J., 2003. Invited review: aging and sarcopenia. *J. Appl. Physiol.* 95, 1717–1727.
- Gallagher, D., Kelley, D.E., Yim, J.-E., Spence, N., Albu, J., Boxt, L., Pi-Sunyer, F.X., Heshka, S., 2009. Adipose tissue distribution is different in type 2 diabetes. *Am. J. Clin. Nutr.* 89, 807–814.
- Goodpaster, B.H., Krishnaswami, S., Resnick, H., Kelley, D.E., Haggerty, C., Harris, T.B., Schwartz, A.V., Kritchevsky, S., Newman, A.B., 2003. Association between regional adipose tissue distribution and both type 2 diabetes and impaired glucose tolerance in elderly men and women. *Diabetes Care* 26, 372–379.
- Goodpaster, B.H., Thaete, F.L., Kelley, D.E., 2000. Thigh adipose tissue distribution is associated with insulin resistance in obesity and in type 2 diabetes mellitus. *Am. J. Clin. Nutr.* 71, 885–892.
- Hilton, T.N., Tuttle, L.J., Bohnert, K.L., Mueller, M.J., Sinacore, D.R., 2008. Excessive adipose tissue infiltration in skeletal muscle in individuals with obesity, diabetes mellitus, and peripheral neuropathy: association with performance and function. *Phys. Ther.* 88, 1336–1344.
- Janssen, I., Heymsfield, S.B., Ross, R., 2002. Low relative skeletal muscle mass (sarcopenia) in older persons is associated with functional impairment and physical disability. *J. Am. Geriatr. Soc.* 50, 889–896.
- Kawaguchi, M., Tamura, Y., Kakehi, S., Takeno, K., Sakurai, Y., Watanabe, T., Funayama, T., Sato, F., Ikeda, S., Ogura, Y., Saga, N., Naito, H., Fujitani, Y., Kanazawa, A., Kawamori, R., Watada, H., 2014. Association between expression of FABPpm in skeletal muscle and insulin sensitivity in intramyocellular-lipid-accumulated non-obese men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 99, 3343–3352.
- Kim, T.N., Park, M.S., Yang, S.J., Yoo, H.J., Kang, H.J., Song, W., Seo, J.A., Kim, S.G., Kim, N.H., Baik, S.H., Choi, D.S., Choi, K.M., 2010. Prevalence and determinant factors of sarcopenia in patients with type 2 diabetes: The Korean Sarcopenic Obesity Study (KSOS). *Diabetes Care* 33, 1497–1499.
- Kodama, K., Tojjar, D., Yamada, S., Toda, K., Patel, C.J., Butte, A.J., 2013. Ethnic differences in the relationship between insulin sensitivity and insulin response: a systematic review and meta-analysis. *Diabetes Care* 36, 1789–1796.
- Lim, S., Kim, J.H., Yoon, J.W., Kang, S.M., Choi, S.H., Park, Y.J., Kim, K.W., Lim, J.Y., Park, K.S., Jang, H.C., 2010. Sarcopenic obesity: prevalence and association with metabolic syndrome in the Korean longitudinal study on health and aging (KLOSHA). *Diabetes Care* 33, 1652–1654.
- Ma, J., Yu, S., Wang, F., Bai, L., Xiao, J., Jiang, Y., Chen, L., Wang, J., Jiang, A., Li, M., Li, X., 2013. MicroRNA transcriptomes relate intermuscular adipose tissue to metabolic risk. *Int. J. Mol. Sci.* 14, 8611–8624.
- Matsuzawa, Y., 2005. Metabolic syndrome—definition and diagnostic criteria in Japan. *J. Atheroscler. Thromb.* 12, 301.
- Morley, J.E., 2008. Diabetes, sarcopenia, and frailty. *Clin. Geriatr. Med.* 24, 455–469.
- Nakamura, T., Tsubono, Y., Kameda-Takemura, K., Funahashi, T., Yamashita, S., Hisamichi, S., Kita, T., Yamamura, T., Matsuzawa, Y., 2001. Magnitude of sustained multiple risk factors for ischemic heart disease in Japanese employees: a case-control study. *Jpn. Circ. J.* 65, 11–17.
- Reaven, G.M., 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 37, 1595–1607.
- Rosenberg, I.H., 1997. Symposium: sarcopenia: diagnosis and mechanisms sarcopenia: origins and clinical relevance. *J. Nutr.* 990–991.
- Ruan, X.Y., Gallagher, D., Harris, T., Albu, J., Heymsfield, S., Kuznia, P., Heshka, S., 2007. Estimating whole body intermuscular adipose tissue from single cross-sectional magnetic resonance images. *J. Appl. Physiol.* 102, 748–754.
- Ryan, A.S., Buscemi, A., Forrester, L., Hafer-Macko, C.E., Ivey, F.M., 2011. Atrophy and intramuscular fat in specific muscles of the thigh: associated weakness and hyperinsulinemia in stroke survivors. *Neurorehabil. Neural Repair* 25, 865–872.
- Ryan, A.S., Dobrovolsky, C.L., Smith, G.V., Silver, K.H., Macko, R.F., 2002. Hemiparetic muscle atrophy and increased intramuscular fat in stroke patients. *Arch. Phys. Med. Rehabil.* 83, 1703–1707.
- Sasaki, S., 2008. Dietary reference intakes (DRIs) in Japan. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 17, 420–444.
- Therkelsen, K.E., Pedley, A., Speliotes, E.K., Massaro, J.M., Murabito, J., Hoffmann, U., Fox, C.S., 2013. Intramuscular fat and associations with metabolic risk factors in the Framingham heart study. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 33, 863–870.
- Yim, J.-E., Heshka, S., Albu, J., Heymsfield, S., Kuznia, P., Harris, T., Gallagher, D., 2007. Intermuscular adipose tissue rivals visceral adipose tissue in independent associations with cardiovascular risk. *Int. J. Obes.* 31, 1400–1405.
- Yum, K.S., Oh, M.J., Lee, K.K., Jung, J.H., 2012. Relationships between sarcopenia and metabolic syndrome in the Korean elderly population. *Obes. Facts* 5, 82.



Effects of daily walking on intermuscular adipose tissue accumulation with age: a 5-year follow-up of participants in a lifestyle-based daily walking program

Eunji Bang¹ · Kai Tanabe² · Noriko Yokoyama³ · Shoko Chijiki¹ · Takuya Tsuruzono⁴ · Shinya Kuno^{1,4}

Received: 28 August 2017 / Accepted: 6 January 2018
© Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2018

Abstract

Purpose Intermuscular adipose tissue (IMAT) accumulates with age. However, there has been no long-term intervention study examining whether daily walking prevents or decreases the age-related IMAT accumulation. The purpose of this study was to determine effects of a long-term lifestyle-based daily walking program on age-related IMAT accumulation after a 5-year follow-up.

Methods Using a pedometer, daily step count was evaluated for 5 years in 24 middle-aged and elderly male and female participants. Using magnetic resonance imaging, thigh muscle, thigh subcutaneous adipose tissue, IMAT, abdominal subcutaneous adipose tissue, and visceral adipose tissue were examined at baseline and after 5 years.

Results After 5 years, there was no significant increase in IMAT in all participants. In addition, IMAT significantly decreased in participants with a daily step count of > 9000 (4.0 ± 2.1 vs. 3.1 ± 1.6 cm²; $p < 0.05$). Moreover, changes in IMAT within 5 years correlated with changes in daily step counts, even after adjusting for confounding factors ($p < 0.05$).

Conclusions Long-term lifestyle-based daily walking program prevented the age-related IMAT accumulation in middle-aged and elderly adults. Furthermore, increased daily walking correlated with decreased IMAT over 5 years.

Keywords Intermuscular adipose tissue · Aging · Daily walking · Skeletal muscle mass

Abbreviations

ANOVA Analysis of variance
ASAT Abdominal subcutaneous adipose tissue
BMI Body mass index
CSA Cross-sectional area
IMAT Intermuscular adipose tissue

MRI Magnetic resonance imaging
TSAT Thigh subcutaneous adipose tissue
VAT Visceral adipose tissue

Introduction

Sarcopenia, the decline in muscle mass with age (Rosenberg 1997), is related to impaired activities of daily living (Janssen et al. 2002; Delmonico et al. 2007) and decreased quality of life (Doherty 2003) and is associated with metabolic diseases, such as metabolic syndrome (Yum et al. 2012). Reportedly, sarcopenic obesity, defined as the presence of both sarcopenia and obesity (Baumgartner et al. 2004), is associated with a higher incidence of metabolic syndrome than obesity alone (Lim et al. 2010).

In the elderly with sarcopenia, intermuscular adipose tissue (IMAT) accumulates in the skeletal muscle. IMAT constitutes adipocytes that accumulate beneath the deep fascia of muscles as well as fat accumulated within the muscles (intramuscular adipose tissue) and between muscle groups (intermuscular adipose tissue). (Ruan et al. 2007;

Communicated by Jean-René Lacour.

✉ Shinya Kuno
kuno.shinya.gb@u.tsukuba.ac.jp

¹ Department of Sports Medicine, Graduate School of Comprehensive Human Sciences, University of Tsukuba, 1-1-1 Tennodai, Tsukuba, Ibaraki 305-8577, Japan

² Faculty of Human Health Department of Health and Nutrition Sciences, Komazawa Women's University, 238 Sakahama, Inagi, Tokyo 206-8511, Japan

³ Sport and Health Promotion, Graduate School Master's Program, University of Tsukuba, 3-29-1 Otsuka, Bunkyo-ku, Tokyo 112-0012, Japan

⁴ Tsukuba Wellness Research Co., Ltd, 178-4 Wakashiba, Kashiwa, Chiba 277-8519, Japan

Addison et al. 2014). Compared with healthy individuals, patients with metabolic diseases, such as type 2 diabetes (Goodpaster et al. 2000; Gallagher et al. 2009) or stroke (Ryan et al. 2011), have been shown to have greater IMAT amounts. Moreover, increased IMAT in middle-aged and elderly adults increases the risk of metabolic syndrome independent of age, sex, body mass index (BMI), daily physical activity, energy intake, thigh muscle, and visceral adipose tissue (Bang et al. 2016). The results of animal experiments with mice have shown that when fat accumulation is induced in muscles due to the overexpression of lipoprotein lipase, insulin resistance is developed in skeletal muscles (Kim et al. 2001), indicating that IMAT may have some effect on metabolic diseases. Thus, investigating methods to prevent IMAT accumulation are necessary.

Longitudinal studies have reported that thigh IMAT in the elderly significantly increases with age (Song et al. 2004) regardless of weight gain (Delmonico et al. 2009). Compared with young people, no significant difference in IMAT has been reported in the elderly with higher physical function (Buford et al. 2012) or who regularly exercise (Wroblewski et al. 2011). Thus, physical activity is considered an important factor in preventing or decreasing IMAT accumulation in the elderly. However, only approximately 30% of Japanese adults attain the recommended level of physical activity (Ministry of Health, Labor and Welfare of Japan 2010). The main reasons for failure to engage in the recommended level of exercise include the lack of time, inability to develop a habit of exercising, poor access to exercise facilities, and dislike toward vigorous exercise. In addition, elderly individuals find it generally difficult to continuously engage in moderate-to-vigorous exercise, and to the best of our knowledge, no investigations of exercises that can be easily integrated into daily life exist to determine whether relatively low-intensity exercises, which are preferable because they are both safe and easy to perform, suppress IMAT accumulation in such individuals.

For elderly individuals, walking is a type of exercise that is both safe and easy to perform and can be continued in their daily lives. Consequently, increased step counts are effective for reducing fat content, preventing lifestyle-related diseases, and improving the quality of life. In addition, measurements of step counts using a pedometer provide an index that can be used to assess the level of physical activity as well as provide users with real-time feedback regarding their daily level of physical activity. Thus, this approach is effective for motivating the users to engage in physical activity (Peterson et al. 2012). When investigating the effect of long-term physical activity on IMAT in middle-aged and elderly participants, a lifestyle intervention mainly focused upon walking is considered an appropriate method. Previous research using cross-sectional data has reported that walking is correlated with IMAT (Tuttle et al. 2011). However, to

the best of our knowledge, no long-term intervention studies have been conducted to investigate whether daily walking prevents age-related IMAT accumulation. Therefore, the purpose of the present study was to determine effects of a long-term lifestyle-based daily walking program on age-related IMAT accumulation in middle-aged and elderly participants. We hypothesized that a lifestyle-based daily walking program mainly focusing on walking would prevent age-related IMAT accumulation.

Methods

Participants and study design

This study included middle-aged and elderly male and female participants who participated in a lifestyle-based daily walking program for 5 years at the University of Tsukuba, Japan, from 2000 to 2016. The participants were recruited through advertisement in local community newspapers in Tsukuba. Inclusion criteria were people aged 60–85 years, without regular exercise habits; exercise limitations; or severe diseases, such as type 1 diabetes, myocardial infarction, cerebral infarction, osteoporosis, osteoarthritis, and cancer. In total, 46 subjects participated in this program that continued for 5 years. After excluding those with missing data for body composition, daily step counts, and magnetic resonance imaging (MRI) ($n = 12$) and those whose MRI data were impossible to analyze ($n = 10$), 24 middle-aged and elderly Japanese adults (age, 60–74 years; 11 males and 13 females) were ultimately analyzed.

This study was a long-term interventional study conducted in a single group over a 5-year period. The lifestyle-based intervention was assessed using data collected at baseline and 5 years after the training commenced. All measurements were performed by staff members who underwent training at baseline and 1 year later.

All participants provided written informed consent, and the study was approved by the Ethical Committee of the Institute of Health and Sport Sciences and the Institute of Clinical Medicine at the University of Tsukuba and was conducted in accordance with the guidelines of the Declaration of Helsinki.

Lifestyle-based daily walking program

The lifestyle-based daily walking program aimed to promote daily living activities during which the participants performed strength training and bike training twice a week (Yoshizawa et al. 2016). The walking program, which was conducted while wearing an internal pedometer with an acceleration sensor (HJ-730IT, Omron Healthcare Co., Ltd., Kyoto, Japan), was set at approximately 3000 steps per day;

this value was greater than that recorded from the daily step counts prior to program participation. Participants' daily step counts were regularly monitored using pedometer data that were uploaded at least once a month using designated computers within the university. The program administrator provided monthly feedback reports to the participants regarding their individual daily step counts and the frequency of strength training.

The strength training program involved seven muscle training exercises, each involving 1–3 sets of ten repetitions, using their own weight or a tube, and performed either in a university facility or at home. Training included squats, leg extensions, push-ups, sit-ups, back extensions, leg curls, and hip extensions. Strength training intensity was set by the number of sets and the color of the tube according to the individual's physical strength level evaluated prior to study participation.

Strength training had no fixed place or time and was performed according to the individual's lifestyle. Participants who performed strength training recorded the frequency by pressing the confirm button on the pedometer. Moreover, participants used a bicycle ergometer for 30 min depending on a target heart rate; this bicycle ergometer was available at the university facility.

Body composition

Body composition was measured before participating in the study and after the 5-year exercise program.

Anthropometrics

Height and weight were measured to the nearest 0.1 cm and 0.1 kg using a wall-mounted stadiometer and weighing scale (HBF-354 IT-2, Omron Healthcare Co., Ltd. Kyoto), respectively. Then, BMI was calculated as weight divided by height squared (kg/m^2).

Measurement of thigh and abdominal cross-sectional areas (CSA)

Thigh and abdominal CSA were obtained using MRI facility (0.25 T, AIRIS mate; Hitachi Medical Co., Tokyo, Japan) at the University of Tsukuba. Thigh cross-sectional images were obtained at 50% of the right femur length using a conventional T1-weighted spin-echo sequence [slice thickness, 10 mm; intersection interval, 20 mm; repetition time (TR), 360 ms; echo time (TE), 28 ms; matrix, 256×256 ; field of view (FOV), 240 mm; flip angle (FA), 90°]. Abdominal cross-sectional images were obtained at the L4–L5 vertebral level using a conventional T1-weighted spin-echo sequence (slice thickness, 5 mm; intersection interval, 13 mm; TR, 510 ms; TE, 30 ms; matrix, 256×256 ; FOV, 320 mm; FA,

90°). The participants were instructed not to breathe deeply during the imaging of their abdomen to ensure quiet, unlabored breathing.

Total area, thigh muscle, thigh subcutaneous adipose tissue (TSAT), and thigh IMAT were evaluated from a single cross-sectional image that included 50% of the right femur length. IMAT was defined as adipose tissue visible between muscle groups and beneath the muscle fascia (Song et al. 2004). Abdominal subcutaneous adipose tissue (ASAT) and visceral adipose tissue (VAT) were measured from a single cross-sectional image at the L4–L5 vertebral level. A single trained investigator analyzed all cross-sectional images using image analysis software (SliceOmatic 5.0; Tomovision, Montreal, Canada). All tissues were divided using the thresholding method. For the thighs, thresholds were determined for the adipose tissue signal intensity in each image using the region grow function; then, the portion that corresponded to the definition of IMAT was manually selected, and the corresponding area was calculated. Then, areas for subcutaneous fat and quadriceps muscle were obtained using the watershed algorithm. Using the same algorithm for the abdomen, the subcutaneous fat was separated from the visceral fat and the pixels within the visceral fat that corresponded to non-fat areas were manually deleted. The intratester reliability of repeated measurements of CSA was as follows: intraclass correlation coefficient = 0.98 – 1.00 ($p < 0.05$). In addition, high validity (0.99) was confirmed for our transverse area measurements of muscle, fat, and IMAT using MRI on the basis of an investigation using cadaver analysis (Mitsiopoulos et al. 1998). Coefficients of variation for thigh muscle, TSAT, and IMAT were $\pm 0.2\%$, $\pm 0.1\%$, and $\pm 0.5\%$, respectively, while those for the psoas major muscle, ASAT, and VAT were $\pm 0.6\%$, $\pm 0.4\%$, and $\pm 0.8\%$, respectively.

Daily walking

Daily step count was evaluated using a pedometer (HJ-730IT, Omron Healthcare Co., Ltd., Kyoto, Japan). To measure baseline daily step counts, participants were required to wear the pedometer on the right or left side at the front side of the waist for 2 weeks from waking up in the morning until going to bed at night, except in instances where wearing the device was impossible, such as when sleeping or bathing. Moreover, participants were required to record their physical activity on paper. Except for unusual physical activity, such as travel or business trips, daily step counts were determined using the average number of steps from 7 days of activity. Even after study participation, participants were required to wear the pedometer on the waist from waking up in the morning until going to bed at night, including training hours. Participants uploaded their pedometer data at least once a month using designated computers within the

university. Daily step counts after 5 years were measured by calculating the total number of daily steps at 5 years and the average of daily step count (total daily steps at 5 years/365).

Statistical analysis

Changes in characteristics, physical activity, and the body composition of all participants were analyzed using paired *t* tests and χ^2 test. In addition, to elucidate the effect of daily walking on IMAT, analyses were conducted according to the recommendation of the Ministry of Health, Labor, and Welfare of Japan (2006). The recommendation is that the daily step count target should be between 8000 and 10,000 steps (2006), with a mean of 9000 steps, because it has been shown effective for the prevention of lifestyle-related diseases (Park et al. 2008). Thus, on the basis of the average 5-year step count, the participants were divided into a group for which the count was at least 9000 steps (≥ 9000 group) or another group for which the count was less than 9000 steps (< 9000 group). Mean differences in continuous variables between both groups were tested using one-way analyses of variance (ANOVA). A two-way ANOVA was conducted with time (baseline and 5 years) and daily step counts (≥ 9000 and < 9000) as independent factors used to compare differences of dependent variables. The relationship between changes in IMAT and changes in the number of daily step counts over 5 years was examined using a single regression and stepwise multiple regression analysis. Stepwise multiple regression analyses included age, gender, BMI, the frequency of strength training, thigh muscle, TSAT, ASAT, VAT, and psoas major muscle because these

variables were strongly associated with IMAT in several previous studies as well as in the present study. Values were expressed as means \pm standard deviation or as percentages. All statistical analyses were performed using the SPSS 21.0 software (SPSS Inc., Tokyo, Japan), and *p* values < 0.05 were considered statistically significant.

Results

The body composition and physical activity of all participants at baseline and after 5 years are summarized in Table 1. No significant changes were found in weight, BMI, thigh muscle, TSAT, psoas major muscle, ASAT, or VAT before and after 5 years of walking program. Moreover, no significant increase was observed in IMAT. In terms of physical activity, no significant change was observed in daily step counts, and the frequency of muscular strength training significantly increased (Table 1).

To determine effects of the lifestyle-based daily walking program on IMAT accumulation, the daily step counts after 5 years were classified into two groups: ≥ 9000 and < 9000 steps. Figure 1 shows the changes in daily step count for both groups within 5 years. The ≥ 9000 group showed a significant increase in the number of steps after 5 years than the baseline ($p < 0.05$), whereas the < 9000 group showed significant decrease in the number of steps after 5 years than the baseline.

Changes in the body composition of both groups after 5 years are summarized in Table 2. No significant differences were observed in age and body composition variables

Table 1 Characteristics of participants at baseline and follow-up

	Baseline	5 years	Change	<i>p</i> value
Male/female	11/13	–	–	
Age, years	68.2 \pm 0.7	73.2 \pm 0.7	–	
Weight, kg	56.6 \pm 2.2	55.3 \pm 1.9	– 1.2 (– 1.6%)	0.053
BMI, kg/m ²	22.7 \pm 0.6	22.4 \pm 0.4	– 0.4 (– 1.2%)	0.205
Daily step counts, steps/day	7788 \pm 485	8200 \pm 2953	411.6 (5.3%)	0.469
Frequency of strength training, time/month	0.0 \pm 0.0	13.8 \pm 1.6	13.8	<i>P</i> < 0.001
Thigh cross-sectional areas				
Thigh muscle, cm ²	98.3 \pm 4.1	96.4 \pm 3.8	– 1.9 (– 1.4%)	0.189
TSAT, cm ²	45.6 \pm 4.1	45.6 \pm 3.8	0.0 (4.4%)	0.985
IMAT, cm ²	4.7 \pm 0.4	4.3 \pm 0.5	– 0.4 (– 6.3%)	0.230
Abdominal cross-sectional areas				
Psoas major muscle, cm ²	16.9 \pm 1.2	16.4 \pm 1.1	– 0.5 (– 2.3%)	0.059
ASAT, cm ²	135.1 \pm 10.9	138.2 \pm 10.0	3.1 (9.9%)	0.683
VAT, cm ²	47.5 \pm 4.5	47.9 \pm 4.6	0.4 (8.7%)	0.904

Values are presented as mean \pm standard deviation and percentages

BMI body mass index, *TSAT* thigh subcutaneous adipose tissue, *IMAT* intermuscular adipose tissue, *ASAT* abdominal subcutaneous adipose tissue, *VAT* visceral adipose tissue

Fig. 1 Follow-up changes in daily step count. ^an=8, ^bn=12

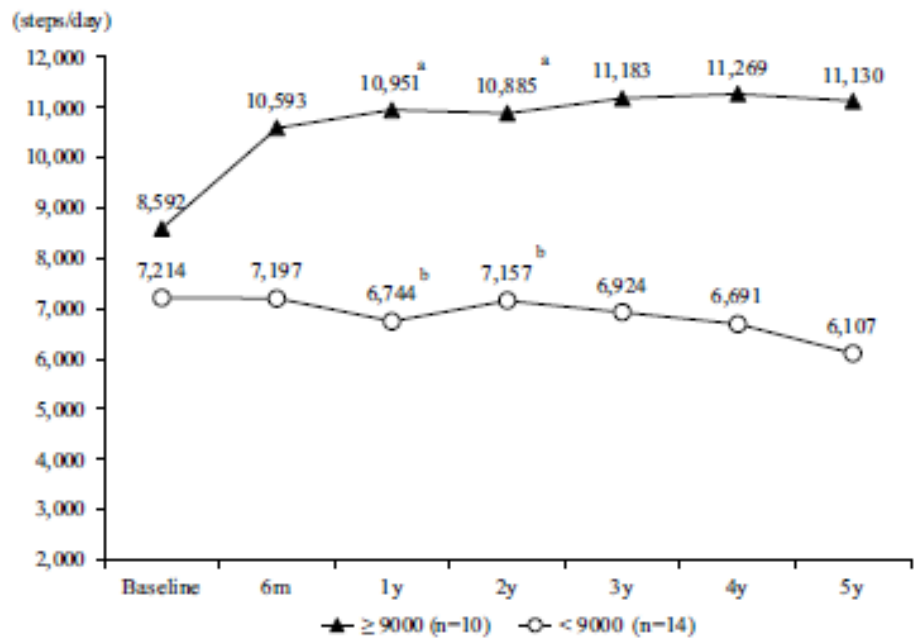


Table 2 Change in body composition according to level of daily step counts

	< 9000 group (n= 14)			≥ 9000 group (n= 10)			Group × time
	Baseline	5 years	Change	Before	5 years	Change	
Male/female	8/6			3/7			
Age, years	68.8 ± 3.2	73.8 ± 3.2	–	67.4 ± 3.9	72.4 ± 3.9	–	–
BMI, kg/m ²	22.8 ± 3.0	22.6 ± 2.3	– 0.2 (– 0.9%)	22.6 ± 2.6	22.0 ± 2.1	– 0.6 (– 2.8%)	0.474
Daily step counts, steps/day	7214 ± 1820	6107 ± 1206*	– 1107 (– 15.3%)	8592 ± 2896	11130 ± 1958*	2538 (29.5%)	p < 0.001
Frequency of strength training, time/month	0.0 ± 0.0	12.0 ± 6.6***	–	0.0 ± 0.0	16.3 ± 8.5***	–	0.177
Thigh cross-sectional areas							
Thigh muscle, cm ²	101.3 ± 23.3	100.5 ± 21.2	– 0.8 (– 0.8%)	94.1 ± 14.9	90.7 ± 12.9	– 3.4 (– 3.6%)	0.376
TSAT, cm ²	45.8 ± 23.6	47.3 ± 21.6	1.5 (3.2%)	45.2 ± 15.5	43.2 ± 13.5	– 2.0 (– 4.4%)	0.363
IMAT, cm ²	5.3 ± 2.1	5.2 ± 2.6	– 0.1 (– 1.3%)	4.0 ± 2.1	3.1 ± 1.6*	– 0.9 (– 21.8%)	0.237
Abdominal cross-sectional areas							
Psoas major muscle, cm ²	17.6 ± 5.4	17.1 ± 4.8	– 0.5 (– 2.8%)	16.0 ± 6.1	15.4 ± 5.8	– 0.6 (– 3.9%)	0.827
ASAT, cm ²	134.6 ± 59.7	133.1 ± 47.2	– 1.5 (– 1.0%)	135.9 ± 46.5	145.3 ± 53.1	9.4 (6.9%)	0.489
VAT, cm ²	50.0 ± 22.5	51.9 ± 21.7	1.9 (3.9%)	44.0 ± 21.6	42.3 ± 23.6	– 1.7 (– 3.8%)	0.615

Values are presented as means ± standard deviation and percentages

BMI body mass index, TSAT thigh subcutaneous adipose tissue, IMAT intermuscular adipose tissue, ASAT abdominal subcutaneous adipose tissue, VAT visceral adipose tissue

*p < 0.05 for within group change, ***p < 0.01 for within group change

at baseline between both the groups. The < 9000 group showed no significant changes in BMI, thigh muscles, TSAT, psoas major muscle, ASAT, VAT, and IMAT after 5 years. Although the ≥ 9000 group did not show significant changes in thigh muscle, TSAT, psoas major muscle, ASAT, and VAT after 5 years, it showed a significant decrease in IMAT (p < 0.05). However, there was no significant interaction. Figure 2 shows the association between changes in IMAT

and daily step counts for all participants within 5 years. Change in IMAT showed a significant negative correlation with daily step counts (r = – 0.446, p < 0.01). Moreover, a stepwise multiple regression analysis was performed with change in IMAT as the dependent variable, and age, sex, BMI, daily step counts, the frequency of strength training, change in thigh muscle, TSAT, psoas major muscle, ASAT, and VAT as independent variables (Table 3). Results

Fig. 2 Relationship between 5-year change in IMAT and daily step count

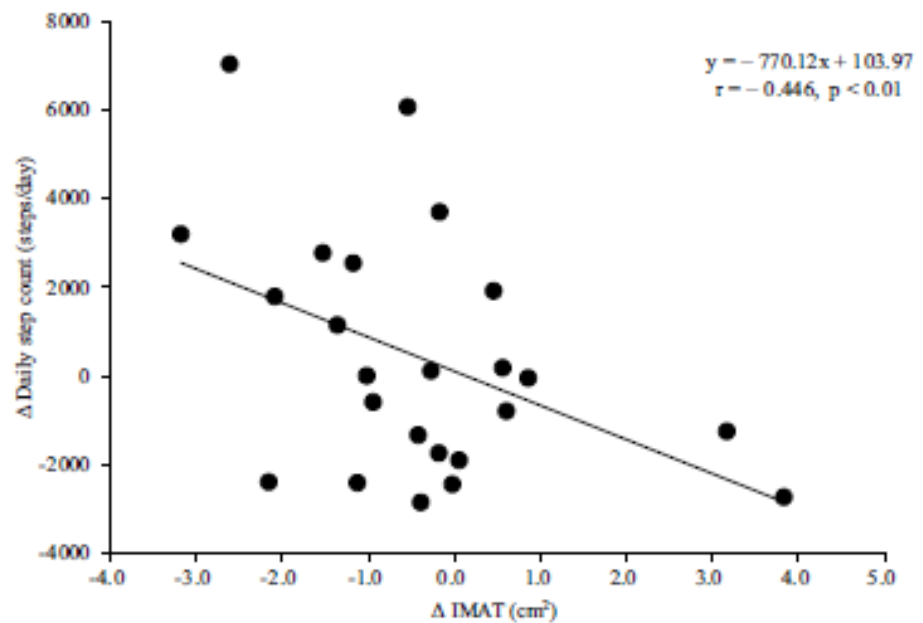


Table 3 Stepwise multiple regression analysis related to changes in IMAT

Independent variable	β	t	p value
Δ Daily step counts	-0.446	-2.336	$p < 0.05$ (Adjusted $R^2 = 0.199$)
Sex	-0.034	-0.170	0.866
Age	-0.096	-0.492	0.628
Δ BMI	0.266	1.427	0.168
Δ Frequency of strength training	-0.147	-0.760	0.455
Δ Thigh muscle	0.027	0.137	0.893
Δ TSAT	0.363	2.011	0.057
Δ ASAT	0.263	1.390	0.179
Δ VAT	0.239	1.253	0.224
Δ Psoas major muscle	-0.139	-0.706	0.488

BMI Body Mass Index, *TSAT* thigh subcutaneous adipose tissue, *ASAT* abdominal subcutaneous adipose tissue, *VAT* visceral adipose tissue, *IMAT* intermuscular adipose tissue

indicated that an increase in daily step counts predicted an increase in IMAT ($p < 0.05$).

Discussion

In the present study, the lifestyle-based exercise program, primarily comprising long-term walking, resulted in the maintenance of IMAT in middle-aged and elderly adults and decreased IMAT accumulation in individuals who could maintain a high step count while engaging in muscle strength training. It has been reported that increase in IMAT

is associated with aging and insufficient daily step counts. When a subject is not engaged in exercise training, IMAT can be expected to increase after 5 years. Nonetheless, the present study is the first to demonstrate the suppression of IMAT accumulation with the long-term lifestyle-based daily walking program.

Change of IMAT over 5 years

Aging is an important factor influencing IMAT accumulation. According to longitudinal studies reporting age-related IMAT accumulation over 5 years, thigh IMAT in the elderly is estimated to increase by 6.4% per year in males and 3.1% per year in females, regardless of weight loss (Delmonico et al. 2009). However, elderly people with higher physical function (Buford et al. 2012) or those who regularly exercise (Wroblewski et al. 2011) show no significant difference in IMAT compared with young people. Therefore, physical inactivity is related to IMAT accumulation regardless of age, and physical activity may be effective in preventing IMAT accumulation.

In the present study, we observed that although not statistically significant, IMAT decreased by 0.4 cm^2 (6.3%) as a result of the long-term lifestyle-based physical activity program that primarily involved walking exercise implemented over a 5-year period. One limitation of this study was the lack of a control group; hence, we compared our results with those of previous studies. The results of a previous study indicated that men experienced a decrease in IMAT of 0.55 cm^2 (7.2%) and women experienced a decrease of 0.55 cm^2 (5.6%) as a result of moderate-to-vigorous aerobic physical activity involving 65–80% VO_2

peak aerobic exercise over a period of 9 months (Durheim et al. 2008). Therefore, the results of this study indicated that the decrease in IMAT was almost equal to that achieved through moderate-to-vigorous physical activity. Goodpaster et al. (2008) have reported that their combined training group focusing on walking showed no significant increase in thigh IMAT over 1 year, but the control group showed a significant increase in thigh IMAT. Gallagher et al. (2014) have also reported that IMAT was significantly increased in the health education group including middle-to-old-aged male and female individuals (age, 45–76 years), whereas the group that performed lifestyle-based physical activity, such as brisk walking or home aerobics exercise for 1 year, showed no significant increase.

The results of this study support the findings of previous studies (Goodpaster et al. 2008; Gallagher et al. 2014) showing that physical activity suppresses the increase in IMAT. However, although previous studies have not found a statistically significant change, they have reported that IMAT tended to increase. IMAT has been reported to increase by approximately 7% per year with age; however, whether daily walking suppresses age-related IMAT accumulation remains unclear. Therefore, to elucidate this phenomenon, utilizing the long-term lifestyle-based daily walking program is necessary. To the best of our knowledge, this is the first study to elucidate whether the long-term lifestyle-based exercise program mainly focused on walking suppresses age-related IMAT accumulation.

Furthermore, to clarify effects of daily walking on IMAT, we classified the participants into two groups and examined changes in IMAT. As a result, we demonstrated that after 5 years, IMAT was significantly decreased in the ≥ 9000 group and that the increase in IMAT was suppressed even in the < 9000 group. Although the reason for this remains unclear, one possible explanation could be the maintenance of muscle mass by strength training. The < 9000 group showed maintained thigh muscle and psoas major muscle by performing strength training exercises at an average of 12.1 times per month (approximately 3 times a week) for 5 years. IMAT is correlated with muscle mass (Manini et al. 2007; Akima et al. 2015), with studies on the elderly showing that thigh IMAT significantly decreases through muscle training (Nicklas et al. 2015). Therefore, maintaining muscle mass through regular muscle training for 5 years could possibly suppress the increase in IMAT with aging.

Association between changes in IMAT and changes in daily step counts

We showed that an increase in the number of daily step counts for 5 years was associated with a decrease in IMAT even after adjusting for confounding factors. According to a cross-sectional study regarding the association between step

count and IMAT among elderly men and women with type 2 diabetes, the number of steps was negatively correlated with IMAT ($r = -0.44$, $p < 0.05$) (Tuttle et al. 2011). The present long-term intervention study revealed that an increase in daily step counts independently reduced IMAT.

We evaluated daily step counts measured using a pedometer. Step count is correlated with hourly energy consumption regardless of work (Kashiwazaki et al. 1986). In addition, given its negative correlation with time spent sitting (Tudor-Locke et al. 2002), the effectiveness of using step counts to assess the level of physical activity has been verified. Moreover, a pedometer can assess physical activity as well as provide the users with the real-time feedback regarding their level of daily physical activity. Thus, it is effective for the improvement of motivation to engage in physical activity (Peterson et al. 2012). However, the level of physical activity assessed using a pedometer primarily includes physical activity in the form of walking. As a result, a pedometer cannot assess activities, such as bicycle riding and water exercises. In particular, one limitation of the pedometer is that it cannot provide an assessment of the total level of physical activity. In addition, it may also underestimate exercises that primarily involve the upper body. Therefore, the results of this study must be analyzed with careful attention to the fact that the data are limited to step count evaluations. The detailed mechanism through which physical activity decreases IMAT remains unclear. However, one possible mechanism is the enhancement of muscle fat oxidation through physical activity (Manini et al. 2007). Inactivity decreases levels of enzyme 3-hydroxyfuran CoA dehydrogenase in the mitochondria, which plays important roles during fat oxidation. The binding of this enzyme to the mitochondria decreases the ability to oxidize muscle fat, causing muscles to use glucose instead of fat for energy. The decrease in fat oxidation causes unoxidized fat to accumulate between and within the muscles, leading to IMAT accumulation. Therefore, maintaining or increasing long-term physical activity possibly enhances fat oxidation and suppresses or decreases IMAT accumulation. However, because MRI examination used in this study could not clearly distinguish between intermuscular and intramuscular fat, investigating whether a decrease in IMAT caused by intramuscular mitochondria can be extrapolated to intermuscular fat is imperative.

The present study has several limitations. First, the study participants only included the long-term lifestyle-based daily walking program participants. Thus, to make the results of this study more meaningful, observing a control group is necessary. Second, although the lifestyle-based daily walking program in this study included a bicycle exercise, there was a lack of specific data regarding the intensity and duration of this exercise; thus, we have not included any data related to bicycle exercise-associated physical activity in

the analyses. Therefore, the efficacy of lifestyle-based daily walking program was assessed on the basis of step counts and number of repetitions by the participants engaged in muscle strength training only. Third, no data regarding dietary habits, such as energy intake, alcohol drinking, smoking, and medication of participants over the 5 years were available; therefore, our study does not consider the effects of eating habits on IMAT. Further studies are required to account for limitations, such as ingested energy and dietary habits.

In conclusion, the lifestyle-based daily walking program, which mainly involved walking exercise implemented over a 5-year period, suppressed the age-related IMAT accumulation in the thigh. In particular, individuals who maintained a high daily step count while engaging in muscle strength training over the 5-year period experienced significant decrease in IMAT. Increase in daily step count was related to the decrease in IMAT. Taken together, our findings suggest that the long-term lifestyle-based daily walking program suppresses age-related IMAT accumulation and that the maintenance of high daily step counts facilitates a decrease in IMAT.

Acknowledgements We thank the participants and the staff of the Kuno laboratory, University of Tsukuba.

Author Contributions Study concept and design: EB, KT, SK. Carried out the experiment: EB, KT, NY, SC, TT. Acquisition of subjects and/or data: EB, KT, NY, SC, TT. Analysis and interpretation of data: EB, KT, NY, SC, TT, SK. Preparation of manuscript: EB, KT, SK.

Compliance with ethical standards

Conflict of Interest The authors report no conflict of interest.

References

- Addison O, Marcus RL, Lastayo PC, Ryan AS (2014) Intermuscular fat: a review of the consequences and causes. *Int J Endocrinol* 2014:309570
- Akima H, Yoshiko A, Hioki M, Kanehira N, Shimaoka K, Koike T, Sakakibara H, Oshida Y (2015) Skeletal muscle size is a major predictor of intramuscular fat content regardless of age. *Eur J Appl Physiol* 115:1627–1635
- Bang E, Tanabe K, Yokoyama N, Chijiki S, Kuno S (2016) Relationship between thigh intermuscular adipose tissue accumulation and number of metabolic syndrome risk factors in middle-aged and older Japanese adults. *Exp Gerontol* 79:26–30
- Baumgartner R, Wayne S, Waters D, Janssen I, Gallagher D, Morley J (2004) Sarcopenic obesity predicts instrumental activities of daily living disability in the elderly. *Obes Res* 12:1995–2004
- Buford T, Lott D, Marzetti E, Wohlgeuth S, Vandenberg K, Pahor M, Leeuwenburgh C, Manini T (2012) Age-related differences in lower extremity tissue compartments and associations with physical function in older adults. *Exp Gerontol* 47:38–44
- Delmonico M, Harris T, Lee J, Visser M, Nevitt M, Kritchevsky S, Tyllavsky F, Newman A (2007) Alternative definitions of sarcopenia, lower extremity performance, and functional impairment with aging in older men and women. *J Am Geriatr Soc* 55:769–774
- Delmonico MJ, Harris TB, Visser M, Park SW, Conroy MB, Velasquez-Mieyer P, Boudreau R, Manini TM, Nevitt M, Newman AB, Goodpaster BH (2009) Health, aging, and body. Longitudinal study of muscle strength, quality, and adipose tissue infiltration. *Am J Clin Nutr* 90:1579–1585
- Doherty TJ (2003) Invited review: aging and sarcopenia. *J Appl Physiol* 95:1717–1727
- Durheim MT, Slentz CA, Bateman LA, Mabe SK, Kraus WE (2008) Relationships between exercise-induced reductions in thigh intermuscular adipose tissue, changes in lipoprotein particle size, and visceral adiposity. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 295:E407–E412
- Gallagher D, Kelley D, Yim J, Spence N, Albu J, Bost L, Pi-Sunyer F, Heshka S (2009) Adipose tissue distribution is different in type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr* 89:807–814
- Gallagher D, Heshka S, Kelley D, Thornton J, Bost L, Pi-Sunyer F, Patricio J, Mancino J, Clark J, Janumala I, Davidson L (2014) Changes in adipose tissue depots and metabolic markers following a 1-year diet and exercise intervention in overweight and obese patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 37:3325–3332
- Goodpaster B, Thaete F, Kelley D (2000) Thigh adipose tissue distribution is associated with insulin resistance in obesity and in type 2 diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr* 71:885–892
- Goodpaster B, Chomentowski P, Ward B, Rossi A, Glynn N, Delmonico M, Kritchevsky S, Pahor M, Newman A (2008) Effects of physical activity on strength and skeletal muscle fat infiltration in older adults: a randomized controlled trial. *J Appl Physiol* 105:1498–1503
- Janssen I, Heymsfield S, Ross R (2002) Low relative skeletal muscle mass (sarcopenia) in older persons is associated with functional impairment and physical disability. *J Am Geriatr Soc* 50:889–896
- Kashiwazaki H, Inaoka T, Suzuki T, Kondo Y (1986) Correlations of pedometer readings with energy expenditure in workers during free-living daily activities. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 54:585–590
- Kim JK, Fillmore JJ, Chen Y, Yu C, Moore IK, Pypaert M, Lutz EP, Kako Y, Velez-Carrasco W, Goldberg JJ, Breslow JL, Shulman GI (2001) Tissue-specific overexpression of lipoprotein lipase causes tissue-specific insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:7522–7527
- Lim S, Kim J, Yoon J, Kang S, Choi S, Park Y, Kim K, Lim J, Park K, Jang H (2010) Sarcopenic obesity: prevalence and association with metabolic syndrome in the Korean longitudinal study on health and aging (KLoSHA). *Diabetes Care* 33:1652–1654
- Manini T, Clark B, Nalls M, Goodpaster B, Ploutz-Snyder L, Harris T (2007) Reduced physical activity increases intermuscular adipose tissue in healthy young adults. *Am J Clin Nutr* 85:377–384
- Ministry of Health, Labor and Welfare of Japan (2006) Exercise and physical activity guide for health promotion 2006. http://www.nibiohn.go.jp/eiken/english/research/pdf/exercise_guide.pdf. Accessed 26 Nov 2017
- Ministry of Health, Labor and Welfare of Japan (2010) Result of national health and nutrition examination survey in 2010. <http://www.mhlw.go.jp/stf/houdou/2r98520000020qbb-att/2r98520000021c0o.pdf>. Accessed 26 Nov 2017
- Mitsiopoulos N, Baumgartner RN, Heymsfield SB, Lyons W, Gallagher D, Ross R (1998) Cadaver validation of skeletal muscle measurement by magnetic resonance imaging and computerized tomography. *J Appl Physiol* 85:115–122
- Nicklas B, Chmelo E, Delbono O, Carr J, Lyles M, Marsh A (2015) Effects of resistance training with and without caloric restriction on physical function and mobility in overweight and obese older adults: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 101:991–999

- Park S, Park H, Togo F, Watanabe E, Yasunaga A, Yoshiuchi K, Shephard R, Aoyagi Y (2008) Year-long physical activity and metabolic syndrome in older Japanese adults: cross-sectional data from the Nakanojo Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 63:1119–1123
- Peterson JC, Charlson ME, Hoffman Z, Wells MT, Wong SC, Hollenberg JP, Jobe JB, Boschert KA, Isen AM, Allegriante JP (2012) A randomized controlled trial of positive-affect induction to promote physical activity after percutaneous coronary intervention. *Arch Intern Med* 172:329–336
- Rosenberg I (1997) Sarcopenia: origins and clinical relevance. *J Nutr* 127:990–991
- Ruan XY, Gallagher D, Harris T, Albu J, Heymsfield S, Kuznia P, Heshka S (2007) Estimating whole body intermuscular adipose tissue from single cross-sectional magnetic resonance images. *J Appl Physiol* 102:748–754
- Ryan A, Buscemi A, Forrester L, Hafer-Macko C, Ivey F (2011) Atrophy and intramuscular fat in specific muscles of the thigh: associated weakness and hyperinsulinemia in stroke survivors. *Neurorehabil Neural Repair* 25:865–872
- Song M, Ruts E, Kim J, Janumala I, Heymsfield S, Gallagher D (2004) Sarcopenia and increased adipose tissue infiltration of muscle in elderly African American women. *Am J Clin Nutr* 79:874–880
- Tudor-Locke C, Williams JE, Reis JP, Pluto D (2002) Utility of pedometers for assessing physical activity: convergent validity. *Sports Med* 32:795–808
- Tuttle L, Sinacore D, Cade W, Mueller M (2011) Lower physical activity is associated with higher intermuscular adipose tissue in people with type 2 diabetes and peripheral neuropathy. *Phys Ther* 91:923–930
- Wroblewski A, Amati F, Smiley M, Goodpaster B, Wright V (2011) Chronic exercise preserves lean muscle mass in masters athletes. *Phys Sportsmed* 39:172–178
- Yoshizawa Y, Kim J, Kuno S (2016) Effects of lifestyle-based physical activity intervention on medical expenditure in Japanese adults: a community-based retrospective study. *Biomed Res Int*. <https://doi.org/10.1155/2016/7530105>
- Yum K, Oh M, Lee K, Jung J (2012) Relationships between sarcopenia and metabolic syndrome in the Korean elderly population. *Obes Facts* 5:82