

2013年度聖隷クリストファー大学大学院
リハビリテーション科学研究科 博士論文

自転車エルゴメータの回転数の解析を用いた
骨格筋代謝能力の評価方法の開発
—軽症Ⅱ型糖尿病患者における検討—

11DR08 矢部広樹

Abstract

Pedal rate variability to assess muscle metabolism during cycle ergometer exercise in patients with type 2 diabetes mellitus

[Back ground]

It has been observed that in addition to insulin resistance and metabolic abnormalities, a prominent pathophysiological feature of T2DM is skeletal muscle dysfunction. In exercise therapy in T2DM, we might have to evaluate skeletal muscle dysfunction in T2DM measuring muscle metabolism rather than analyzing expired gases, which is used to determine whole body metabolism.

Assessment of exercise tolerance using anaerobic threshold (AT) has long been used to determine exercise load in patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM). However, the use of expiration gas analyzer for assessing AT poses practical difficulties in clinical practice. We need a simplified method for evaluation of skeletal muscle dysfunction in patients with T2DM.

[Purpose]

The purpose of this study was to investigate the usefulness of pedal rate variability (PRV: fluctuation of cycle to cycle duration) in determining skeletal muscle metabolism in patients with T2DM.

[Method]

Thirty healthy men (age, 21 ± 4 year; height, 169.5 ± 5.6 cm; body mass, 60.7 ± 6.8 kg; BMI, 21.1 ± 1.9 kg/cm²) and twenty patients with T2DM (9 men and 11 female; age, 58 ± 7 year; height, 161.4 ± 8.8 cm, body mass, 65.8 ± 9.1 kg, BMI, 25.3 ± 3.5 kg/cm²) participated to this study. The study consisted of four sections. In sections 1–3, we designed a model for assessing muscle metabolism using PRV in healthy young subjects. In section 4, we examined the physiological validity of the model by applying it in patients with T2DM. Each subject performed some incremental cycling tests until exhaustion on an electrically braked cycle ergometer. The oxygen uptake ($\dot{V}O_2$), integrated electromyogram activity (iEMG), and PRV were measured continuously during exercise. The methods and all procedure approved by the ethical committee of seirei christopher university.

[Results]

In section 1, we compared skeletal muscle metabolism in individuals exposed to either a multistep exercise load incremental test (Load-t) or multistep pedal rate incremental test (RPM-t). RPM-t was found to be associated with a higher $\dot{V}O_2$ and iEMG in turn of Load-t.

In section 2, we investigated the association of PRV with muscle metabolism [measured using ventilator threshold (VT)], electromyographic fatigue threshold (EMGth), and peak oxygen uptake ($\dot{V}O_{2peak}$) during incremental exercise testing (ramp test). Pedal rate variability threshold (inflection point of PRV and PRVth) was determined mathematically. Using a multiple liner regression analysis, we concluded that EMGth was the only significant contributor to PRVth.

Section 3 describes changes in PRV and muscle metabolism during a freely chosen pedal rate exercise test (FCPR-t). Increase in PRV corresponded to an increase in metabolic response. In addition, analysis of receiver operating characteristic curve proved that PRV could be discriminated from EMGth.

Section 4 demonstrates the relationship of PRV with VT or $\dot{V}O_{2peak}$ during FCPR-t in patients with T2DM. PRVth was identified as having a significant correlation with VT.

[Discussion and conclusion]

This study demonstrated that PRV is associated with changes in muscle metabolism. Similarly, PRVth is associated with AT and EMGth. These result suggest that PRV might detect over recruitment of type II fiber during incremental exercise. PRV might indicate change of peripheral metabolism during incremental exercise. Therefore, we suggest PRV as a simplified method for evaluation of skeletal muscle metabolism in patients with T2DM. Furthermore, this evaluation model for assessing exercise tolerance in patients with T2DM promises to be widely applicable in clinical practice and has the potential to eliminate the practical difficulties posed by the use of expiration gas analyzer.

目次

I 章：序論.....	6
1. 背景：Ⅱ型糖尿病に対する運動療法の現状と問題点.....	6
2. 文献検討：骨格筋における DM の病態と評価.....	6
3. 概念枠組み.....	8
II 章：実験方法.....	10
1. 実験方法の概要.....	10
2. 対象.....	10
3. 測定方法.....	10
4. 測定項目.....	12
(1) 回転数および PRV.....	12
(2) 呼気ガス分析と換気性作業閾値.....	12
(3) 筋活動量と骨格筋疲労閾値.....	13
(4) 回転数変動閾値.....	14
(5) 筋肉量と体脂肪率.....	14
5. 解析.....	14
6. 倫理的配慮.....	15
III 章：結果.....	17
1. RPM-t と Load-t の比較.....	17
2. Ramp-t の結果.....	18
3. FCPR-t と Load-t の比較.....	21
4. DM 患者における Ramp-t と Load-t の比較.....	24
IV 章：考察.....	27
1. 測定項目の生理学的妥当性.....	27
(1) 筋収縮速度の生理学的背景.....	27
(2) 筋収縮速度とカルシウムイオンの関係.....	27
(3) Pint とエネルギー代謝反応.....	28
(4) PRV の生理学的妥当性.....	28
2. PRV による骨格筋の代謝評価の妥当性.....	29
(1) 検討課題 1. 回転数負荷に対する生体反応.....	30
(2) 検討課題 2. エネルギー代謝反応と PRV の関係.....	30
(3) 検討課題 3. 回転数を変数とした自転車運動における PRV の生理学的意義.....	32

(4) 検討課題 4. DM 患者に対する PRV の生理学的意義	33
V 章：統括.....	35
1. 本研究の成果.....	35
2. PRV の臨床応用.....	36
3. 研究の限界	37
V 章：結語.....	38
謝辞.....	39
引用文献	40
付録.....	エラー! ブックマークが定義されていません。

I 章：序論

1. 背景：Ⅱ型糖尿病に対する運動療法の現状と問題点

Ⅱ型糖尿病(Type II diabetes mellitus, DM)患者は、厚生労働省の「国民健康・栄養調査の概要」(Health Labour and Welfare Ministry, 2007)や、世界保健機関(World Health Organization, n.d.)のいずれの報告においても、今後増加することが予測されており、薬物療法・食事療法に加えて、積極的な運動療法によって DM のリスクを軽減させる必要がある。DM 患者に対する有酸素運動の効果は、血糖コントロール (Umpierre, Ribeiro, Kramer, Leitão, Zucatti, Azevedo, Gross, Ribeiro, & Schaan, 2011; Orozco, Buchleitner, Gimenez-Perez, Roqué I Figuls, Richter, & Mauricio, 2008), インスリン抵抗性と内臓脂肪 (Orozco et al., 2008), LDL-コレステロール(Kelley, & Kelley, 2007)等において、メタアナリシスから有意な改善が示されている。しかし上記の先行研究で示されている有意な運動の効果量を得るためには、嫌気性代謝閾値(Anaerobic threshold, AT)レベルもしくは最大酸素摂取量(Peak oxygen uptake, $\dot{V}O_{2peak}$)の 50-60%程度の運動負荷強度が必要であり、運動負荷試験による体力評価が必須となる。

運動負荷試験により求められる心肺機能(AT や $\dot{V}O_{2peak}$)は、心血管系疾患の危険因子であると共に、DM やメタボリックシンドロームを含む慢性疾患の危険度の増加と関連することから(Lakka, Laaksonen, Lakka, Mannikk, Niskanen, Rauramaa, & Salonen, 2003; Sawada, Matsuzaki, Lee, Blair, & Muto, 2003), 呼吸循環系の機能ばかりでなく、代謝機能の体力要素も含むと考えられる。しかしながら、心肺機能は主に活動筋への酸素供給能力を評価する指標であると考えられ、DM の主な病態である骨格筋の代謝障害を十分に反映する尺度とはなり得ないと言われている(Hirkaiba, 2007)。さらに、日本リハビリテーション医学会の調査(Sumita, Senda, Ochi, Ishii, Oki, Takatsuka, Chin, & Furukawa, 2008)によれば、リハビリテーション専門医の研修施設における呼気ガス分析装置の所有率は 30%未満であり、使用率も「非常によく使用する」が 10%未満と低い。これは呼気ガス分析装置が非常に高価な機械であることが原因の一つとして考えられる。また医療機関に併設しない民間の運動施設において、運動負荷試験により運動処方をされた対象は、全体のわずか 2.7%であった(Kawamura, Oikawa, Naya, Kawamura, Mori, Ito, Kouzuki, 2013)。上記に示した現状に対して、DM 患者の運動療法と体力評価をより普及させるためには、骨格筋の代謝障害を、呼気ガス分析装置等の特別な機械を使用することなく、簡便、非侵襲的かつ適切に評価する方法を明らかにする必要がある。

2. 文献検討：骨格筋における DM の病態と評価

DM をはじめとする生活習慣病において、過度な脂肪蓄積により脂肪酸代謝が充分できない場合、組織内には過剰な脂肪蓄積とともにインスリン抵抗性が惹起される。特にインス

リン抵抗性を有する患者や肥満患者は、Type I 線維の減少と Type II 線維の増加という筋線維組成の変化がみられ (Coen, Dubé, Amati, Stefanovic-Racic, Ferrell, Toledo, & Goodpaster, 2010; Malenfant, Joanisse, Thériault, Goodpaster, Kelley, & Simoneau, 2001), Type I 線維への脂肪蓄積により, 有酸素代謝能力が低下すると報告されている (Coen et al., 2010). さらに DM ラットは Type I 線維の収縮速度が低下するとの報告もある (Stephenson, O'Callaghan, Stephenson, 1994). 一方, 筋線維組成の加齢による変化に関する研究では, Type I 線維は減少せず, Type II 線維が減少することが報告されている (Lexell, Taylor, Sjöström, 1988). さらに疾患への罹患がない健常な高齢者は, 健常中年成人と比較すると, 筋肉内の脂肪組織に有意差が認められず, 筋線維組成の変化もみられない (Reid, Doros, Clark, Patten, Carabello, Cloutier, et al. 2012). 同様に, 筋線維当たりの収縮特性についても, 高齢者は健常中年成人と比較して, Type I 線維と Type II 線維の筋収縮力と収縮速度において有意差を認めなかった (Lexell, et al. 1988). 以上の先行研究から, DM における筋線維組成と収縮特性の変化は, 加齢による変化とは独立した特異的な病態であるため, DM 患者を対象とした運動療法における評価対象になると考えられる.

本研究では, 上記に述べた DM 特有の病態の評価について, 自転車エルゴメータ運動における回転数の解析に着目した. 自転車エルゴメータは, 運動療法の運動種目として用いられ, 多くの施設において設置されている. 自転車エルゴメータにおける仕事量は, ペダルに加えられる力(負荷量)と速度(回転数)から決定される. 速度を一定として仕事量を増加させた場合, 心拍数や酸素摂取量(Oxygen uptake, $\dot{V}O_2$)などの生理変数が直線的に増加することはよく知られた事実であるが, 仕事量が同一水準の自転車運動中においても, $\dot{V}O_2$ はペダル回転数に依存することが報告されている (Ferreira, Townsend, Lutjemeier, & Barstow, 2005; Gotshall, Bauer, & Fahrner, 1996; Kang, Hoffman, Wendell, Walker, & Hebert, 2004). さらに筋の収縮速度を反映するペダル回転速度が, 自転車エルゴメータ運動中の代謝コストの主な決定要素であるとの報告もあり (McDaniel, Durstine, Hand, & Martin, 2002), 回転数の変化を観察することで, 骨格筋のエネルギー代謝状態を評価できる可能性がある. 筆者らの先行研究 (Yabe, Nishida, 2013) では, 健常成人を対象とした回転数負荷に対する血糖値の低下について, 運動後に血糖値が低下するか否かの判別評価が, 内的仕事率 (Percentage of internal power to total power; PIT) によって可能であった. 内定仕事率とは, 運動中の総仕事量の割合に対する内的仕事量 (Internal power, Pint) の割合であり, Pint とは, 骨格筋自身が活動するために必要な仕事量を示す (Winter, 2003). つまり Pint の測定により回転数負荷に対する無酸素代謝の動員の程度を評価できることが示されており, 運動負荷に対する回転数と Pint の変化を測定することで, DM 患者の骨格筋における筋収縮速度の変化とエネルギー代謝反応を評価できる可能性がある.

3. 概念枠組み

本研究では、疾患が有する病態(機能異常)を評価する方法を明らかにすることを主眼に置いている。そのため疾患を「正常な生体機能から逸脱した状態」として捉え、正常な代謝反応のメカニズム(健康成人の筋線維組成に対する運動時の代謝反応)に対して、疾患に至る病態(脂肪蓄積による筋線維組成の変化に伴う運動時の反応)を評価することを、研究の目的とした。特に本研究では、自転車エルゴメータの回転数の出力様式に着目し、回転数の変動性(Pedal rate variability, PRV)の測定によって、簡便かつ適切な骨格筋の代謝能力の評価方法を明らかにすることを目的とした。

研究全体の概念枠組みとして(図 1)、はじめに骨格筋の代謝反応に伴う回転数の出力についての正常な生理学的メカニズムを評価するために、健康成人を対象とした実験において、運動負荷に伴う代謝変化に対する回転数の出力様式を明らかにした(検討課題 1-3)。それによって、PRV の生理学的な意義と測定の妥当性を検討した。次に、糖尿病患者の骨格筋を、正常な代謝反応が破綻した状態として捉え、DM によって筋線維組成と有酸素代謝が障害された骨格筋に対して、検討課題 1-3 で明らかにしたモデルを応用し検討した(検討課題 4)。以上の過程によって、PRV が正常な骨格筋の代謝反応、および DM の病態に伴う正常から逸脱した代謝反応を捉える評価方法として妥当であることを証明した。

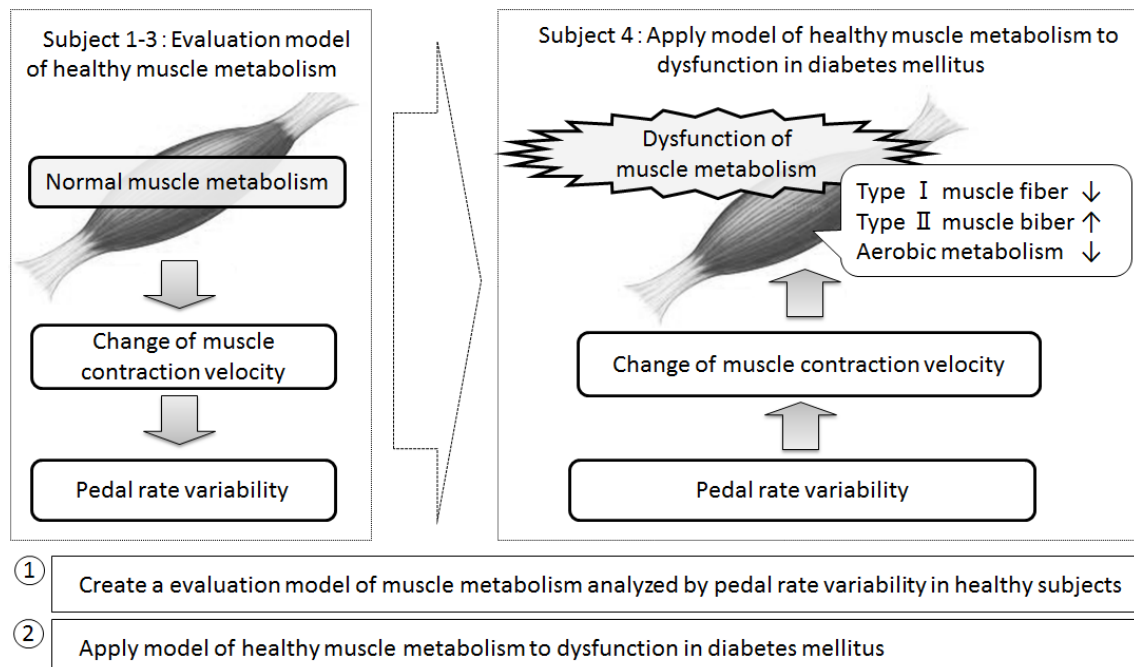


Fig.1. Study concept of this study

次に、本研究における各検討課題の位置づけを述べる(図 2)。本研究では、PRV を用いて骨格筋の生理学的なメカニズムの評価を行うために、回転数、エネルギー代謝反応、および PRV の関係について検討する必要がある。そこで検討課題 1 では、漸増的に回転数と負荷量をそれぞれ上昇させた運動負荷試験の比較によって、回転数による負荷がエネルギー代謝反応に与える影響について検討した。検討課題 2 では、回転数一定での運動負荷試験を行うことで、エネルギー代謝の変化に伴う PRV の変化について検討した。また、PRV の出力様式の変化と対象者の体力指標との関連についても検討した。検討課題 3 では、自由選択回転数における運動負荷試験と、回転数一定での運動負荷試験を比較することで、回転数を運動条件ではなくエネルギー代謝反応に伴う変数として用いた際の、PRV の測定意義について検討した。上記の検討課題 1-3 において、骨格筋の代謝反応を評価するための方法として PRV を確立した後、検討課題 4 において PRV と DM 患者の有酸素能力との関係について検討した。重篤な合併症が無く運動の実施に制限の無い軽症 DM 患者を対象に、運動負荷試験を実施し PRV と代謝反応の関係を検討することで、骨格筋における代謝障害の評価指標としての、PRV の妥当性を明らかにした。

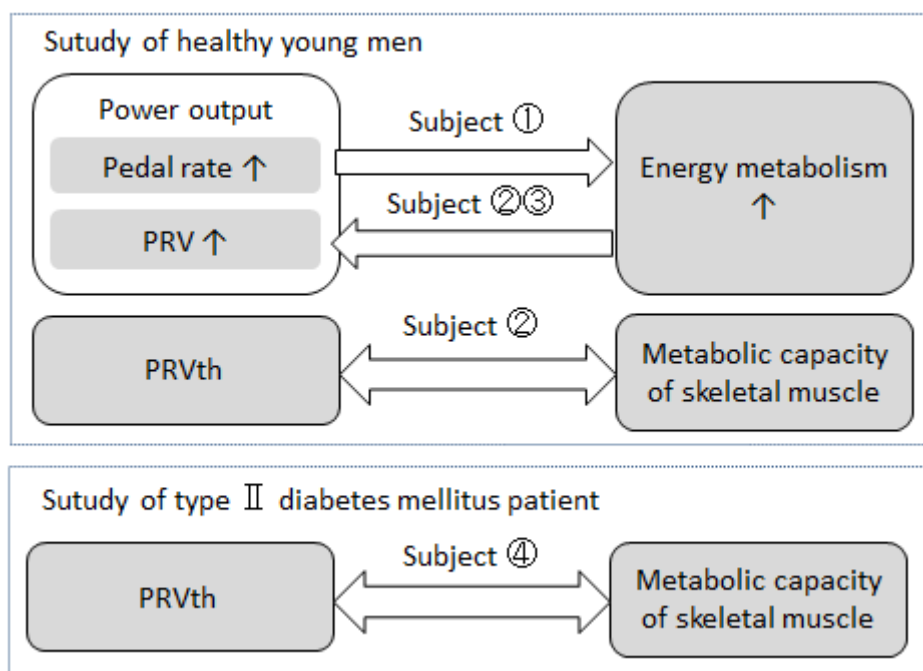


Fig.2. Examination subjects

II 章：実験方法

1. 実験方法の概要

本研究では、まず健常成人を対象に、自転車エルゴメータ運動における負荷量と回転数の条件を変化させた4つの運動負荷試験を実施し、PRVとエネルギー代謝反応の関係について検討した。次に、DM患者を対象とした運動負荷試験を実施し、PRVと体力指標との関係について検討した。

2. 対象

対象は、肥満・糖尿病・循環器疾患の既往と喫煙歴のない健常成人男性32名(年齢 21 ± 4 歳、身長 170 ± 5.4 cm、体重 60.8 ± 6.8 kg、BMI 21 ± 2 kg/cm²)と、重篤な合併症がなく運動に制限の無い軽症DM患者20名(男性9名、女性11名、年齢 58 ± 7 歳、身長 161.4 ± 8.8 cm、体重 65.8 ± 9.1 kg、BMI 25.3 ± 3.5 kg/cm²)とした。DM患者は全て内服にて血糖値をコントロール中であり、インスリン治療をしている者はいなかった。HbA1cの平均は $7.3 \pm 1.0\%$ (国際標準値)であった。対象者は全て自転車に対する特別な競技経験が無い者とした。

3. 測定方法

まず健常成人を対象に電子制御式の自転車エルゴメータ(エアロバイク 75XL II, コンビ株式会社)を用いて、4つの運動負荷試験を実施した(表1)。電子制御式の自転車エルゴメータにおける重さ(W)は研究者が決定し機械的に一定量が加わる反面、回転数は研究者が設定した条件(一定の回転数)に対して被験者が随意的にペダリングのリズムを合わせることで決定される。回転数による負荷は被験者の随意的な調整の影響が反映されるため、重さによる負荷と比較して身体への負荷量を一定にし難いという特徴がある。そこで回転数一定の条件では、メトロノームの音と自転車エルゴメータの液晶に表示される回転数に合わせてペダリングを実施するよう対象者に指示した。また自由選択回転数(Freely chosen pedal rate, FCPR)の条件では、被験者には回転数の指示を行わず、対象者自身が快適であると感じる回転数でペダリングを行わせた。FCPRの条件ではメトロノームの音は鳴らさず、エルゴメータの液晶画面も対象者に見えないようにして実施した。

漸増運動負荷試験(Ramp load exercise test, Ramp-t)では、対象者の運動耐容能を測定するために、一般的に用いられているプロトコルにて実施した。多段階運動負荷試験(Multistep load incremental test, Load-t)と多段階回転数負荷試験(Multistep pedal rate incremental test, RPM-t)は、負荷量と回転数をそれぞれ増加させた場合の生体反応を比較するために、回転数を50rpm一定として負荷量が50Wから3分毎に10W上昇する条件(Load-t)と、負荷量を50W一定として、回転数が50rpmから3分毎に10rpmずつ上昇する条件(RPM-t)を設定した。自由選択回転数-多段階運動負荷試験(Freely chosen pedal rate

exercise test, FCPR-t)は、回転数を変数とした条件を設定するために、FCPRにてペダリングを実施させた。FCPR-tでは回転数を一定とした条件と比較するために、Load-tと同様の負荷プロトコルにて実施した。

次に、DM患者を対象に、電子制御式の自転車エルゴメータ(エアロバイク STB1400 II, コンビ株式会社)を用いて、2つの運動負荷試験を実施した(表2)。漸増運動負荷試験(Ramp load incremental test, Ramp-t)では、対象者の運動耐容能を測定するために、一般的に用いられているプロトコルにて実施した。自由選択回転数-漸増運動負荷試験(Freely chosen pedal rate exercise test, FCPR-t)では、回転数を変数とした条件を設定するために、FCPRにてペダリングを実施させた。FCPR-tでは回転数を一定とした条件と比較するために、Load-tと同様の負荷プロトコルにて実施した。

健常成人とDM患者共に、自転車エルゴメータのサドルの高さはペダルの最下点から大転子の長さとし、各施行間で同一になるようにした。すべての運動負荷試験においてエンドポイントは症候限界とし、Borgスケールによる自覚的疲労度が18以上、予測最大心拍数の80%とした。各試行の間隔は最低でも2日以上開けて実施し、運動の順番は対象ごと無作為に決定した。

Table 1. Exercise condition for healthy subjects.

Name	Abbrev.	W-up	Load	Constant
Ramp load exercise test (漸増運動負荷試験)	Ramp-t	3min 20W 60rpm	25W/min (Ramp)	Pedal rate (60rpm)
Multistep load incremental test (多段階運動負荷試験)	Load-t	5min 10W 50rpm	10W/3min (Multistep)	Pedal rate (50rpm)
Multistep pedal rate incremental test (多段階回転数負荷試験)	RPM-t	5min 10W 50rpm	10rpm/3min (Multistep)	Load (50W)
Freely chosen pedal rate exercise test (自由選択回転数-多段階運動負荷試験)	FCPR-t	5min 10W FPCR	10W/3min (Multistep)	FCPR

FCPR = freely chosen pedal rate; Abbrev = abbreviated name of exercise; W-up = warning up;

Load = incremental load protocol, Constant = exercise condition

Table 2. Exercise condition for Type II diabetes patients.

Name	Abbrev.	W-up	Load	Constant
Ramp load incremental test (漸増運動負荷試験)	Ramp-t	3min 20W 50rpm	10W/min (Ramp)	Pedal rate (50rpm)
Freely chosen pedal rate exercise test (自由選択回転数・漸増運動負荷試験)	FCPR-t	3min 20W FPCR	10W/min (Ramp)	FCPR

FCPR = freely chosen pedal rate; Abbrev = abbreviated name of exercise; W-up = warming up; Load = incremental load protocol, Constant = exercise condition

4. 測定項目

以下に本研究で測定した分析項目について、その概要と算出方法について述べた。

(1) 回転数および PRV

回転数および Pint の算出に必要なペダル周波数は、自転車エルゴメータのペダルに装着した磁石と IC-hall センサー(竹井機器社製)からなる電磁スピードメータにて測定した。測定は W-up から運動終了まで実施した。電磁スピードメータにより測定された信号は、A/D 変換器を通してパソコンに出力され、解析ソフト(Chart 5 for windows, ADINSTRUMENTS)を用いて 1 回転毎のペダル周波数を算出した。Pint はペダル周波数を用いた Minetti, Pinkerton, and Zamparo (2001) の式により計算した。

$$\text{Pint(W/kg)} = 0.153 \cdot f^3 \quad (f, \text{ペダル周波数[Hz]})$$

PRV は、回転数の変動性(Standard deviation of pedal rate, RPM-sd)と Pint の変動性(Standard deviation of internal power, Pint-sd)の二つから検討した。RPM-sd と Pint-sd は一定時間の回転数および Pint の標準偏差とした(Padulo, Capua, and Viggiano, 2012)。

(2) 呼気ガス分析と換気性作業閾値

呼気ガス分析は、呼気ガス分析装置(AE-300, ミナト医科学)を用いて、プロトコル開始から終了まで、breath by breath 法により測定した。測定値はパソコンに出力され、 $\dot{V}O_2$ と呼吸商(respiratory quotient, RQ)の値を求めた。

換気性作業閾値(Ventilator threshold, VT)は、全身の代謝反応が有酸素系から無酸素系へ

シフトするポイントとして、1) 二酸化炭素排出量(CO_2 emission, $\dot{V}\text{CO}_2$)の $\dot{V}\text{O}_2$ に対する上昇点、2) 分時換気量(expiratory minute volume, $\dot{V}\text{E}$) と $\dot{V}\text{CO}_2$ の比($\dot{V}\text{E} / \dot{V}\text{CO}_2$)が変化せず $\dot{V}\text{E}$ と $\dot{V}\text{O}_2$ との比($\dot{V}\text{E} / \dot{V}\text{O}_2$)が増加する点、3) RQ が急激に増加する点から総合的に決定した。

(3) 筋活動量と骨格筋疲労閾値

運動中の筋活動量の測定は、筋電図システム(Tele Myo G2, Noraxon 社製)を用いた。サンプリング周波数は 1500Hz とした。被検筋は外側広筋とし、研磨剤およびアルコール綿による皮膚処理後、電極中心距離を 30mm とし、電極(Blue sensor, Ambu 社)を貼付した。電極から導出されたアナログ信号は A/D 変換器を介しパーソナルコンピュータに取り込んだ。解析は筋電図解析ソフトウェア(Myo Research XP)により 10 秒の Time window の二乗平均平方根 (root mean square; RMS) にて平滑化した後、積分値 (Integrated electromyography, iEMG) を求めた。

さらに健常成人を対象とした Ramp-t では、任意の点で区切った二つの回帰直線から骨格筋疲労閾値(Electromyographic fatigue threshold, EMGth)を算出した。まず 10 秒毎の筋電図の iEMG と対応する負荷量とをプロットし、1 目目の回帰直線を、最初の測定ポイントと任意点の間で引き、2 目目の回帰直線を任意点の次のポイントと最後の測定ポイントの間で引いた。そして全ての測定ポイントにおいて二つの回帰直線の合計残差平方和が最小になる点を、EMGth として算出した (Lucía et al., 1999; Osawa, Kime, Hamaoka, Katsumura, & Yamamoto, 2011)(図 3)。

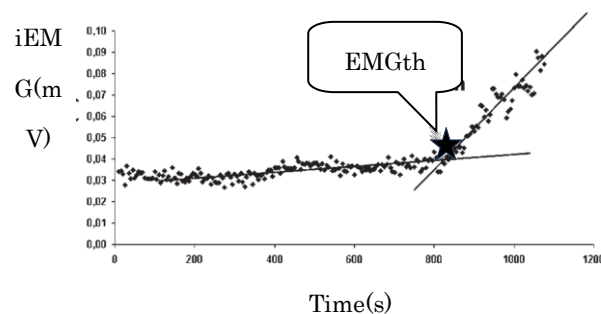


Fig.3. Determination of electromyographic fatigue threshold.

また健常成人を対象とした FCPR-t では、各ステージの 2-3 分における 10 秒毎の iEMG を求め、それぞれの時間変化に対するプロットから回帰直線の勾配を求めた。そしてステージ毎に求められた iEMG の回帰直線の傾きと、各ステージの負荷量(W)とのプロットから回帰直線を引き、y 軸との切片を EMGth とした(図 4)。

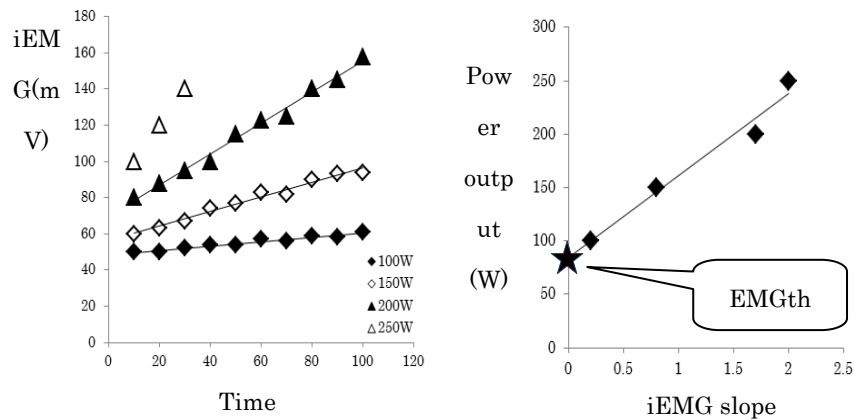


Fig. 4. Concept of determination of EMGth during constant load exercise

(4) 回転数変動閾値

回転数変動閾値(Pedal rate variability threshold, PRVth)は, Ramp-t の EMGth の求め方に準じて測定した. 10 回転毎の回転数および Pint の標準偏差と対応する負荷量をプロットし, 1 つ目の回帰直線を, 最初の測定ポイントと任意点の間で引き, 2 つ目の回帰直線を任意点の次のポイントと最後の測定ポイントの間で引いた. そして全ての測定ポイントにおいて二つの回帰直線の合計残差平方和が最小になる点を PRVth とした.

(5) 筋肉量と体脂肪率

DM 患者に対しては, 身体組成計(BoCAx1, クラブクリエイト社)を用い, 生体インピーダンス法によって筋肉量と体脂肪率を求めた. 筋肉量は, 身長²にて補正して解析した.

5. 解析

表 3,4 に運動負荷試験別の測定項目の解析方法を示す. Ramp 負荷を用いた運動負荷試験では, 運動終了を 100%として 10%毎の運動期間において各測定項目を平均して求めた. 多段階負荷を用いた運動負荷試験では, 各ステージの 2-3 分の平均値を代表値として解析した.

Table 3. Measurement and analysis of each exercise test for healthy subjects.

Exercise	Measurement	Period	Analysis of threshold
Ramp-t	PRV	Each 10% of whole ex.	VT, PRVth, EMGth, $\dot{V}O_{2peak}$
Load-t	$\dot{V}O_2$, RQ, iEMG, PRV	Last 2min at each ex. stage	
RPM-t	$\dot{V}O_2$, RQ, iEMG, PRV	Last 2min at each ex. stage	
FCPR-t	$\dot{V}O_2$, RQ, iEMG, PR, PRV	Last 2min at each ex. stage	EMGth

PR = pedal rate

Table 4. Measurement and analysis of each exercise test for type II diabetes patients.

Exercise	Measurement	Period	Analysis of threshold
Ramp-t	$\dot{V}O_2$, RQ, PRV	Each 10% of whole ex.	VT, $\dot{V}O_{2peak}$
FCPR-t	$\dot{V}O_2$, RQ, PRV, PR	Each 10% of whole ex.	PRVth

PR = pedal rate

統計学的検討として、全ての運動負荷試験において、条件間の各ステージにおける測定値の比較には対応のある t 検定を用いた。各条件の測定項目における経時的変化の検討には、多重比較検定を Tukey 法にて行った。

健常成人における Ramp-t では、PRVth と VT, EMGth, $\dot{V}O_{2peak}$ の相関を、Pearson の積率相関分析を用いて検討した。また PRV を従属変数、EMGth, VT, $\dot{V}O_{2peak}$ を独立変数とした重回帰分析を行った。健常成人における FCPR-t では、PRV と $\dot{V}O_2$, iEMG の関係を Pearson の積率相関分析を用いて検討した。さらに、負荷量の増加に伴い骨格筋が EMGth を超えたか否かを判別するために、EMGth 以上、以下に対する PRV の値について ROC 分析を行い、カットオフポイントを作成した。有意性の判定は全て危険率 5%未満とした。

DM 患者を対象とした FCPR-t では、PRV と $\dot{V}O_2$ の関係を Pearson の積率相関分析を用いて検討した。また FCPR-t で求めた PRVth と、Ramp-t で求めた VT と $\dot{V}O_{2peak}$, および筋肉量と体脂肪率の関係は、Pearson の積率相関分析を用いて検討した。有意性の判定は全て危険率 5%未満とした。統計学的解析には、全て統計解析ソフト(IBM SPSS Statistics 11, IBM 社)を用いて検討した。

6. 倫理的配慮

本研究は聖隷クリストファー大学の倫理委員会の承認を得て行った(承認番号 11057)。また DM 患者に対する運動の倫理的配慮については、本学の倫理委員会に加えて名古屋共立

病院の倫理委員会の承認の元で行った。対象患者の選定は主治医の判断で行い、日本糖尿病学会および日本心臓リハビリテーション学会が定める運動基準を満たす者を対象とした。対象者には研究の概要および参加することの利益・不利益等を十分に説明した後、研究参加が強制とならないように配慮した。各運動負荷試験は十分なリスク管理の下、医師との連絡が取れる環境にて実施した。

III章：結果

1. RPM-t と Load-t の比較

図 5 に、各運動負荷試験における仕事量の結果を示した。ステージの増加に伴い、回転数を漸増させた RPM-t では Load-t よりも Pint が大きく増加した。図 6 に、各運動における代謝反応の結果を示した。 $\dot{V}O_2$ は Load-t ではステージの増加に伴って直線的に増加したのに対し、RPM-t ではステージ 6 辺りから傾きが上昇した。そのためステージ 3 からステージ 6 までは Load-t の方が RPM-t よりも高値を示したが、ステージ 8 では RPM-t の方が高値を示した($p < 0.05$, 図 6A)。iEMG も同様に、RPM-t におけるステージ 4-5 辺りで傾きが増加し、ステージ 2 から 6 で RPM-t の方が Load-t よりも有意に低値を示した($p < 0.05$, 図 6C)。RQ は運動条件間で有意な変化を示さなかった(図 6B)。図 7 に、仕事量と $\dot{V}O_2$ 、iEMG の関係を示す。 $\dot{V}O_2$ と iEMG 共に Pint の増加と共に大きく上昇することが示された。

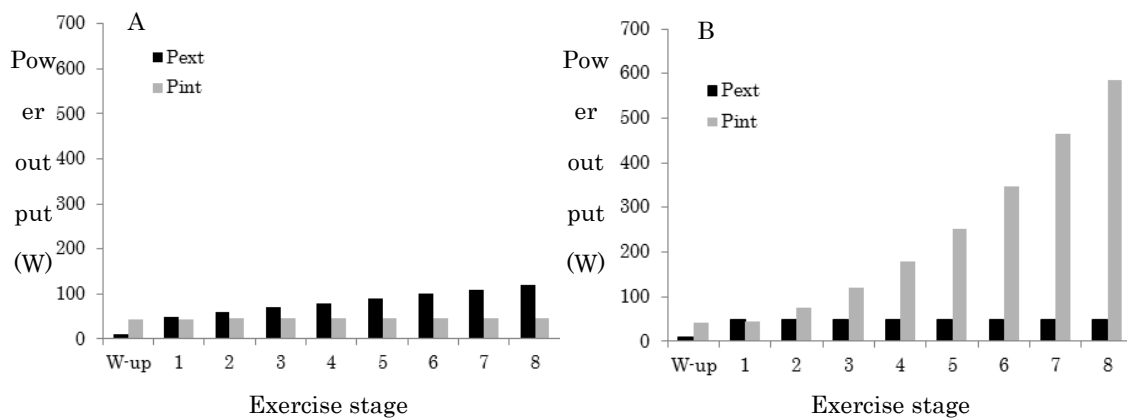


Fig. 5. Result of power output during Load-t (A) and RPM-t (B)

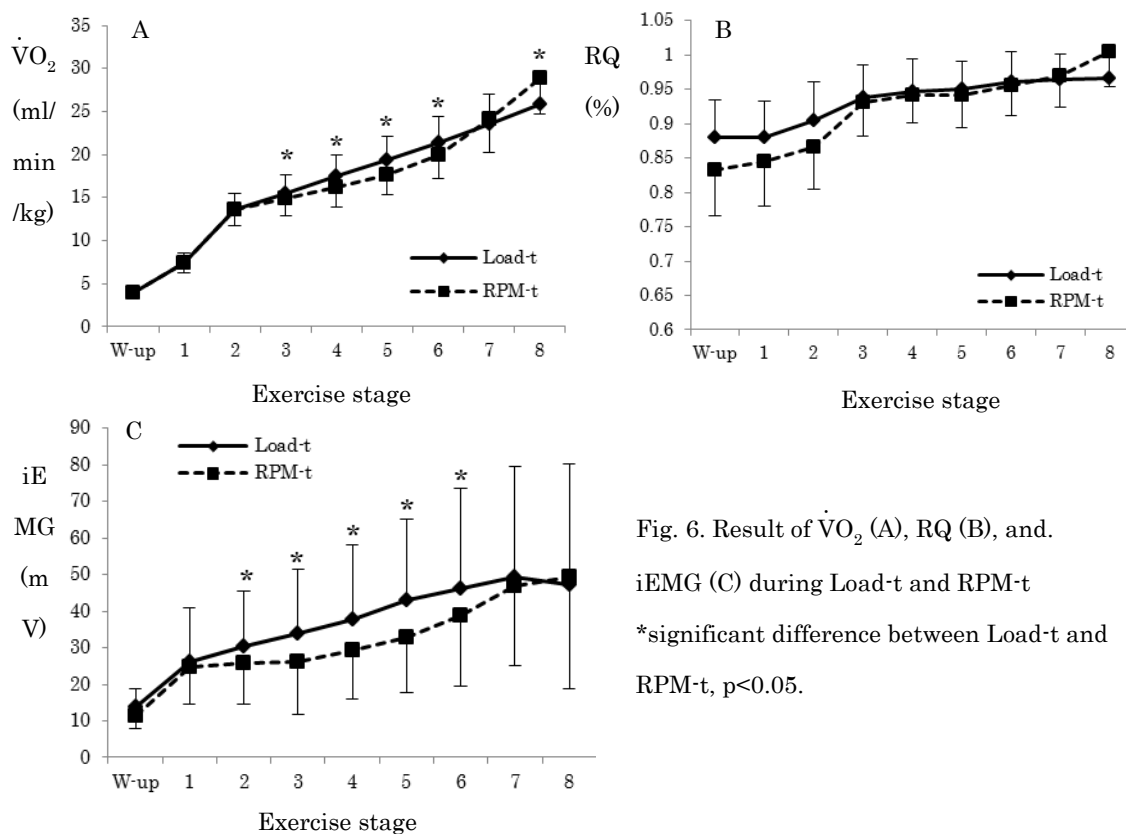


Fig. 6. Result of $\dot{V}O_2$ (A), RQ (B), and iEMG (C) during Load-t and RPM-t
*significant difference between Load-t and RPM-t, $p < 0.05$.

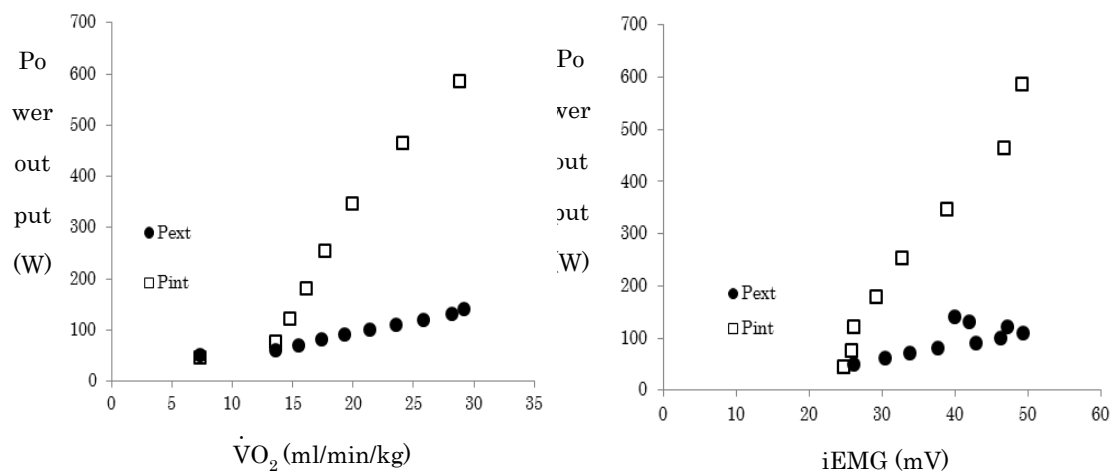


Fig. 7. Relationship between power output and $\dot{V}O_2$ (A) or iEMG (B)

2. Ramp-t の結果

図 8 に、Ramp-t における回転数の変化(図 8A), 10 回転毎の RPM-sd の時系列変化(図 8B), および 10 回転毎の RPM-sd と対応する負荷量(W)のプロット(図 8C)の代表例を示す。回転数の平均は概ね 60rpm で一定であるにもかかわらず(図 8A), PRV は負荷量の増加に伴

って徐々に増加した(図 8B). 図 9 に, 各負荷強度における PRV の経時的変化の結果を示す. 負荷量の増加に伴い, RPM-sd(図 9A)と Pint-sd(図 9B)共に徐々に増加し, 高強度での PRV は低強度と比較して有意に高値を示していた($p<0.05$). 10 回転毎の RPM-sd と対応する負荷量(W)をプロットし(図 7C), 2 本の回帰直線から PRVth を算術的に求めた結果, 32 名の対象のうち, 30 名に PRVth が確認された. PRVth は EMGth($r=0.61$)とのみ有意な正の相関関係を認め($p<0.05$), VT($r=0.38$)と $\dot{V}O_{2peak}$ ($r=0.32$)とは有意な関係を示さなかった(図 10). PRVth を従属変数とした重回帰分析の結果, PRVth は RPM-sd(表 5)と Pint-sd(表 6)のいずれにおいても, EMGth とのみ有意な関係を認めた($p<0.05$).

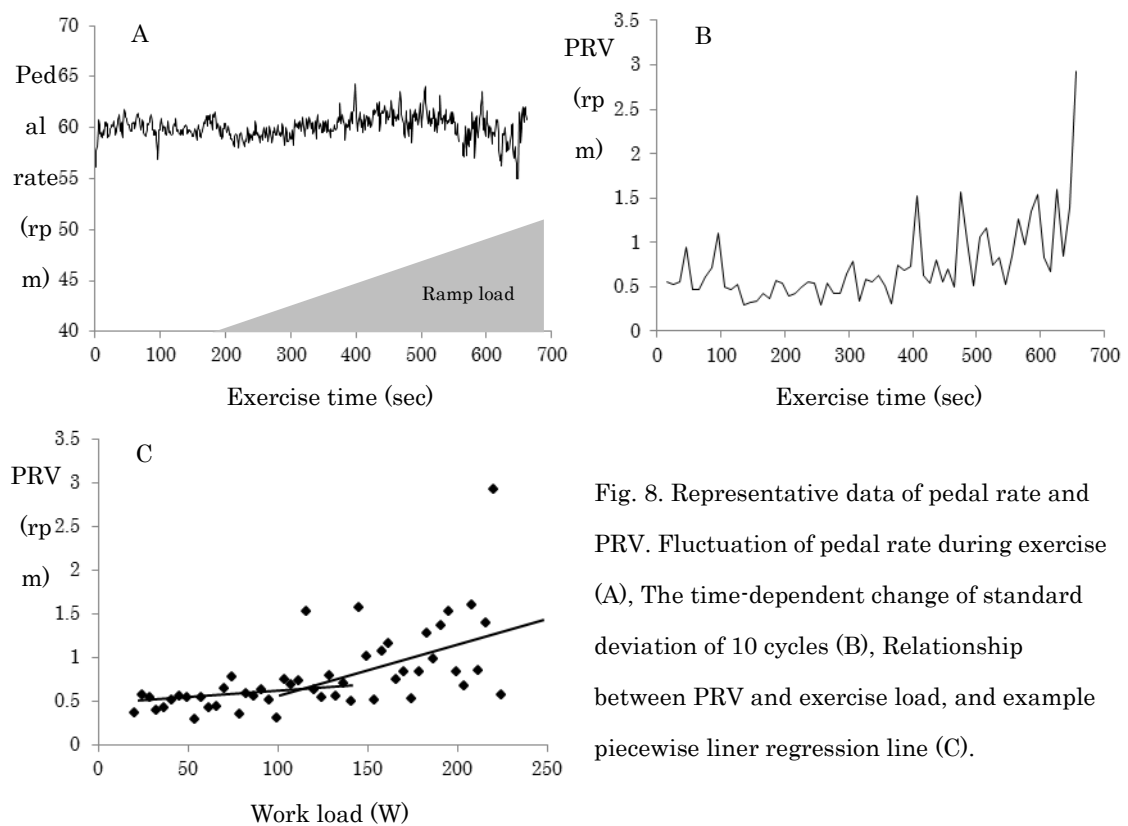


Fig. 8. Representative data of pedal rate and PRV. Fluctuation of pedal rate during exercise (A), The time-dependent change of standard deviation of 10 cycles (B), Relationship between PRV and exercise load, and example piecewise liner regression line (C).

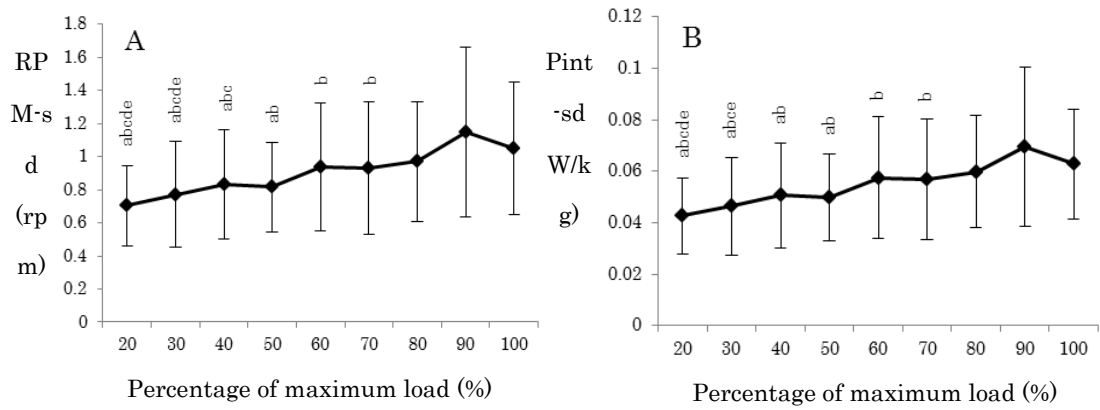


Fig. 9. Result of PRV during incremental ramp load cycling, RPM-sd (A) and Pint-sd (B) significant difference between 100%(a), 90%(b), 80%(c), 70%(d), 60%(e) of exercise load, $p < 0.05$.

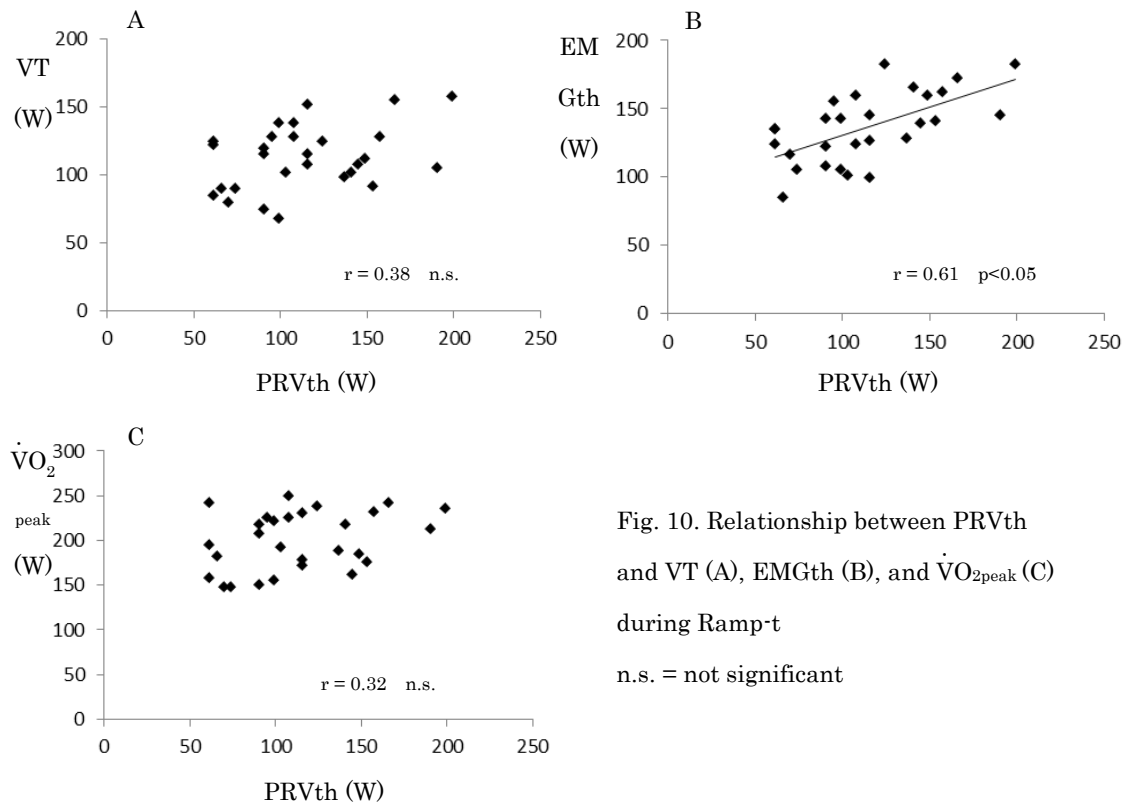


Fig. 10. Relationship between PRVth and VT (A), EMGth (B), and $\dot{V}O_{2peak}$ (C) during Ramp-t
n.s. = not significant

Table 5. Results of multiple regression analysis of PRVth (RPM-sd)

	Partial regression coefficient	Standard partial regression coefficient	Significance probability	95% confidence interval	
				Lower bound	Higher bound
(Constant)	18.85		0.917	-9.694	8.745
EMGth (ml/min/kg)	0.67	0.54	<0.05	0.547	1.223

$R^2 = 0.37$, p value of analysis of variance was < 0.05.

Table 6. Results of multiple regression analysis of PRVth (Pint-sd)

	Partial regression coefficient	Standard partial regression coefficient	Significance probability	95% confidence interval	
				Lower bound	Higher bound
(Constant)	18.85		0.917	-9.694	8.745
EMGth (ml/min/kg)	0.67	0.54	<0.05	0.547	1.223

$R^2 = 0.29$, p value of analysis of variance was < 0.05.

3. FCPR-t と Load-t の比較

図 11 に回転数および PRV の結果を示す。FCPR-t では Load-t と比較して全てのステージにおいて回転数と Pint が有意に大きかった(図 11A,B, $p < 0.05$)。同様に, Pint-sd も, Load-t と比較して FCPR-t の方が, 全てのステージにおいて有意に大きかった(図 11D, $p < 0.05$)。回転数, Pint, Pint-sd は負荷量の増加に伴って上昇し, 多重比較検定の結果, 低強度での値と比較して高強度の値の方が有意に大きかった(図 11A,B,D, $p < 0.05$)。RPM-sd は 100W を除いて条件間で有意な差を認めず, 多重比較検定の結果も有意差を認めなかった(図 11C)。図 12 に運動中の生理学的指標の結果を示す。 $\dot{V}O_2$ と RQ は条件間で有意な差を認めなかった(図 12A,B)が, iEMG は 60W から 110W のステージにおいて, FCPR-t の方が有意に低値を示した(図 12C)。図 13 に PRV と $\dot{V}O_2$, iEMG の相関の結果を示す。 $\dot{V}O_2$ と PRV の関係では, RPM-sd($r=0.21$)と Pint-sd($r=0.31$)のいずれにおいても有意な正の相関関係を認めた(図 13A, B, $p < 0.05$)。iEMG と PRV の関係では, RPM-sd とは有意な関係を認めず($r=-0.0004$, $p > 0.05$, 図 13C), Pint-sd と iEMG の間には有意な正の相関関係を認めた($r=0.21$, $p < 0.05$, 図 13D)。

ROC 解析の結果, Pint-sd は ROC 曲線の曲線下面積(area under curve, AUC)が 0.76 と高く, カットオフ値 0.069W において感度 73%, 特異度 68%であった($p < 0.05$)。RPM-sd の AUC は 0.65 であり, カットオフ値 1.12rpm において感度 73%, 特異度 51%であった(図 14)。

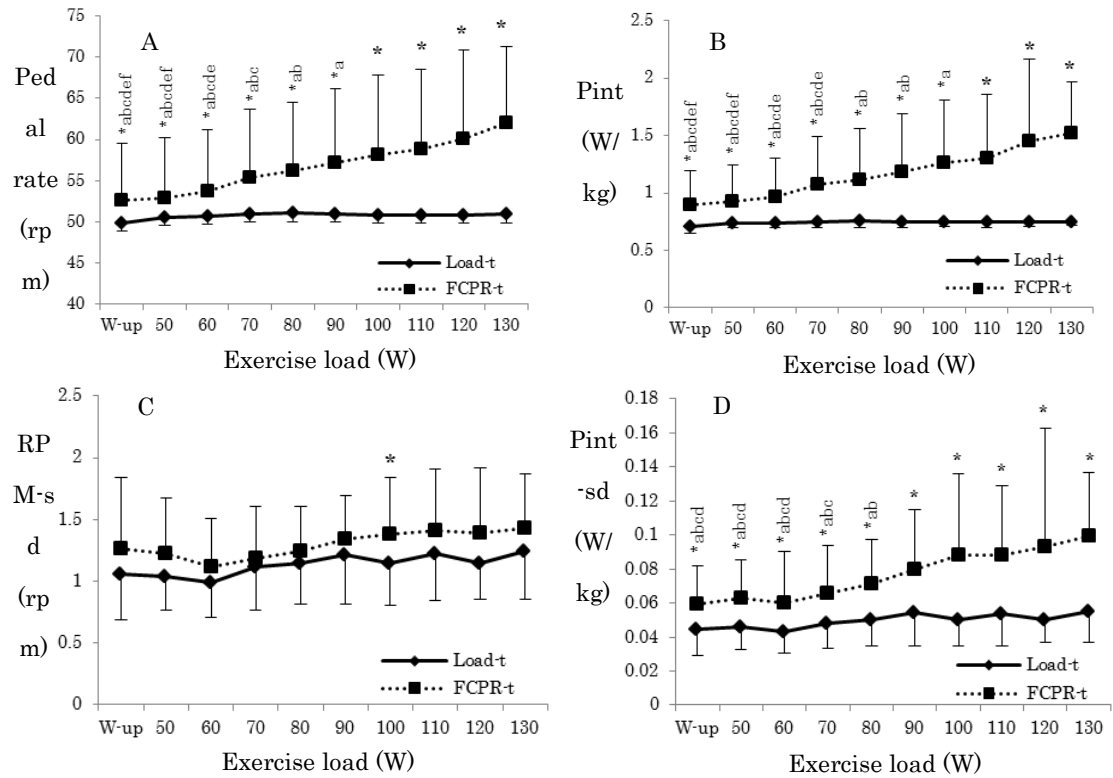


Fig. 11. Result of pedal rate (A), RPM-sd (B), and Pint-sd (D), during FCPR-t and Load-t. Significant difference between Load-t and FCPR-t (*), 130W (a), 120W (b), 110W (c), 100W (d), 90W (e), and 80W (f) of exercise load, $p < 0.05$.

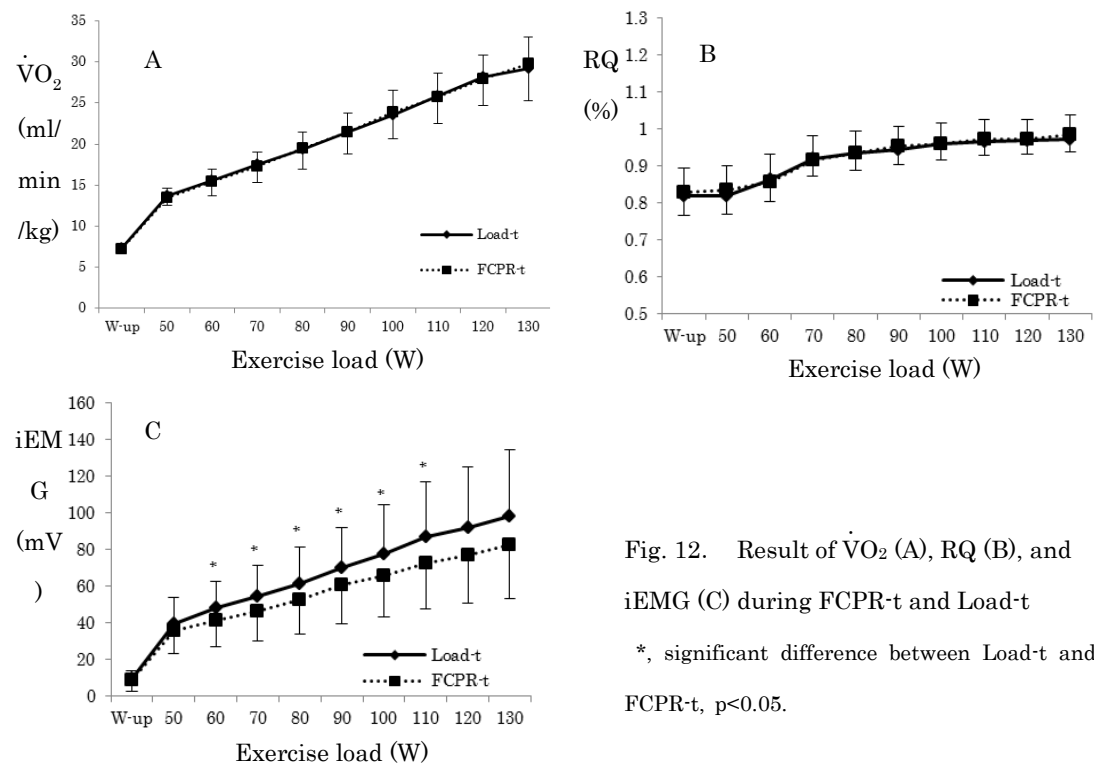


Fig. 12. Result of $\dot{V}O_2$ (A), RQ (B), and iEMG (C) during FCPR-t and Load-t. *, significant difference between Load-t and FCPR-t, $p < 0.05$.

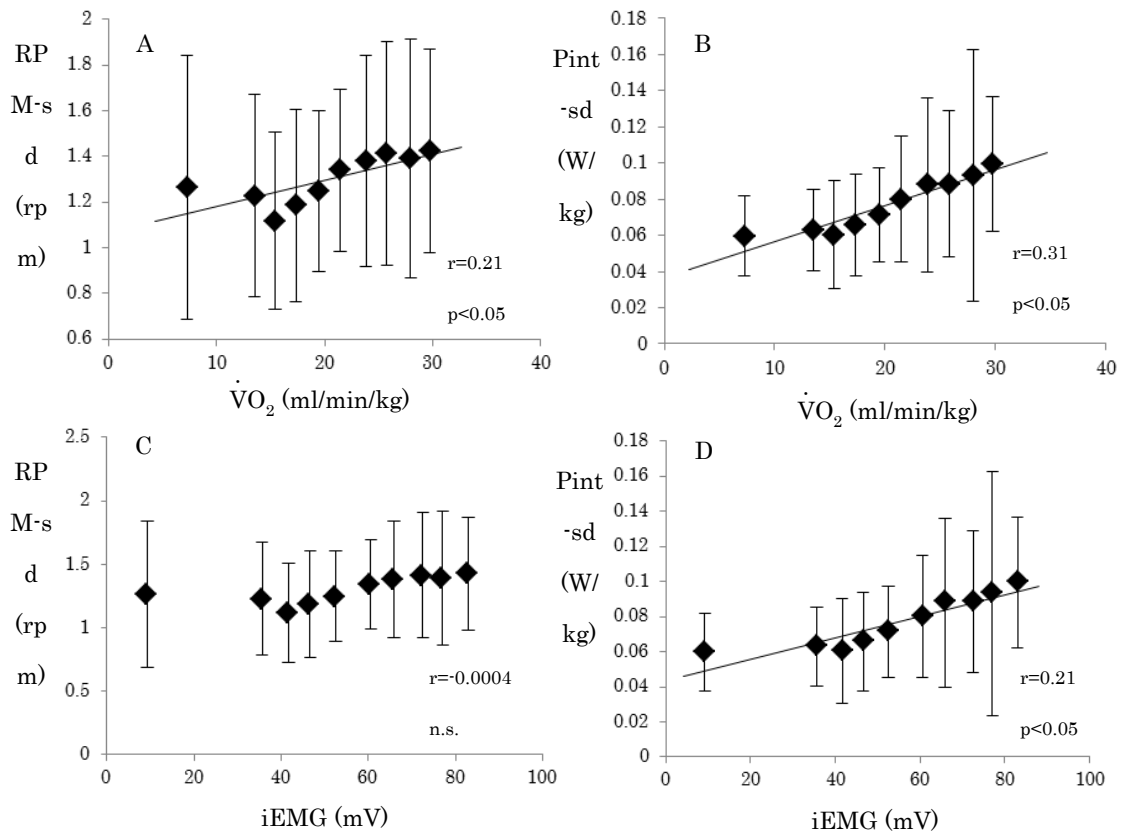


Fig. 13 . Relationship between PRV and $\dot{V}O_2$ at each exercise stage during FCPR-t
n.s. = not significant

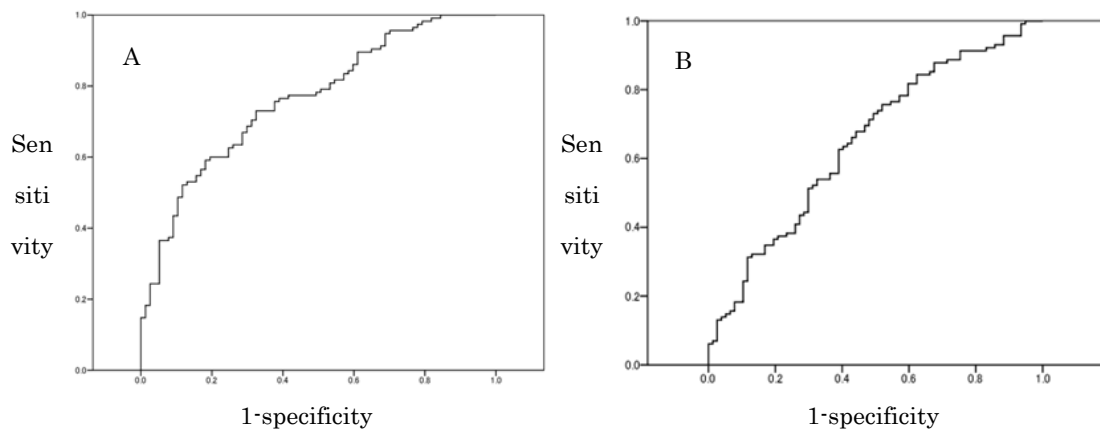


Fig. 14. ROC curve of Pint-sd (A) and RPM-sd (B)

4. DM 患者における Ramp-t と Load-t の比較

図 15 に、仕事出力および PRV の経時的変化の結果を示す。回転数、Pint は条件間で有意な差を認めず、負荷量の増加に対する有意な増加も認められなかった(図 15A,B)。RPM-sd は、多重比較検定の結果、FCPR-t における 30%と 90%、30%と 100%、50%と 100%との間のみで有意な差を認めた($p < 0.05$, 図 15C)。さらに RPM-sd は、W-up のみで FCPR-t と Load-t の条件間に有意差を認め、それ以外では運動中のどの負荷強度の間にも有意な差は認めなかった(図 15C)。Pint-sd は条件間で有意な差を認めず、W-up を除いたどの負荷強度においても、負荷強度の間に有意差は認めなかった(図 15D)。図 14 に、各条件における $\dot{V}O_2$ と RQ の結果を示す。 $\dot{V}O_2$ は 70%の負荷強度にて条件間で有意差を認めたものの、その他のどの負荷強度でも有意差は認めなかった(図 16A)。RQ は全ての負荷強度における条件間で有意な差を認めなかった(図 16B)。図 17 に負荷強度毎の PRV と $\dot{V}O_2$ の関係について示す。RPM-sd($r=0.45$)と Pint-sd($r=0.40$)共に $\dot{V}O_2$ との間に有意な正の相関関係を認めた($p < 0.05$)。図 18 に PRVth と体力指標との相関関係を示す。PRVth は 20 名中 18 名において確認され、VT($r=0.62$)、筋肉量($r=0.69$)との間に有意な正の相関関係を認め($p < 0.05$, 図 18A,C)、PRVth は体脂肪率と有意な負の相関関係を認めた($r=-0.52$, $p < 0.05$, 図 18C)。PRVth と $\dot{V}O_{2peak}$ との間には有意な相関関係は認められなかった($r=0.62$, $p > 0.05$, 図 18B)。

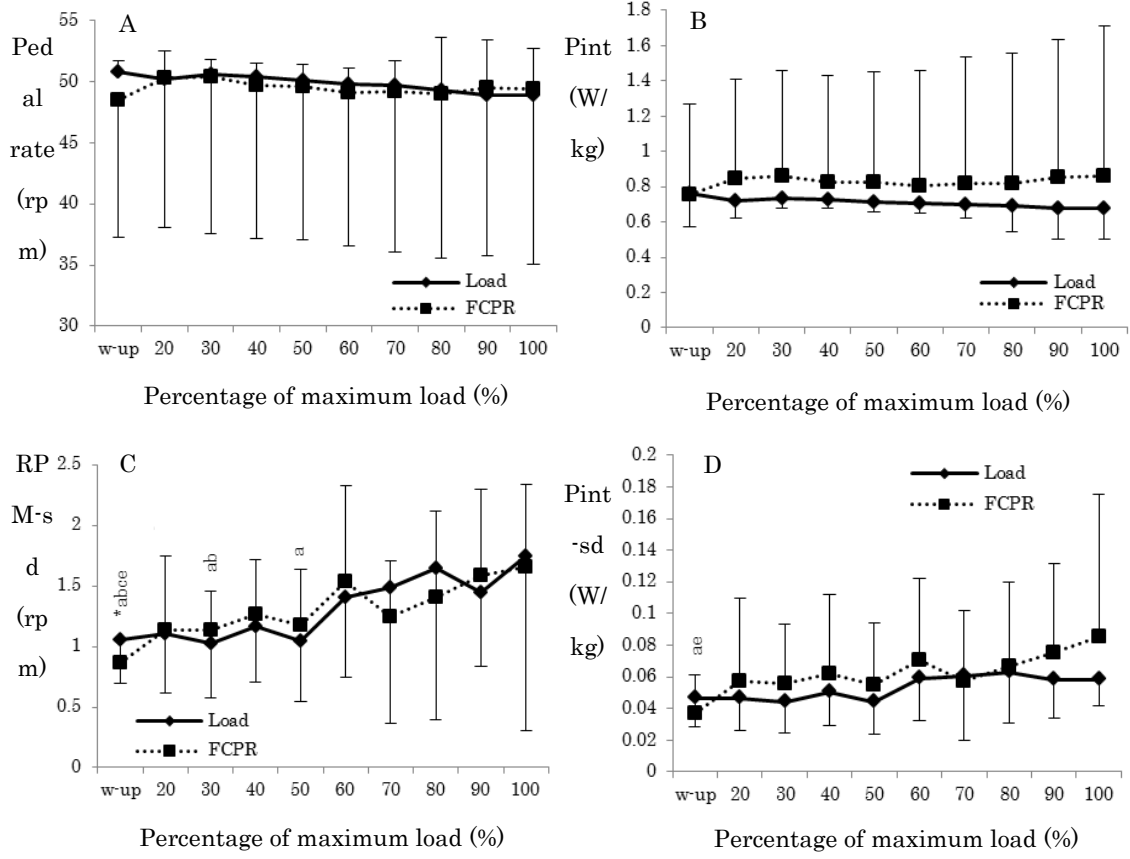


Fig. 15. Result of pedal rate (A), Pint (B), RPM-sd, (C), and Pint-sd, (D) during FCPR-t and RPM-t. Significant difference between Load-t and FCPR-t(*), 100%(a), 90%(b), 80%(c), 70%(d), and 60%(e) of maximum exercise load, $p < 0.05$.

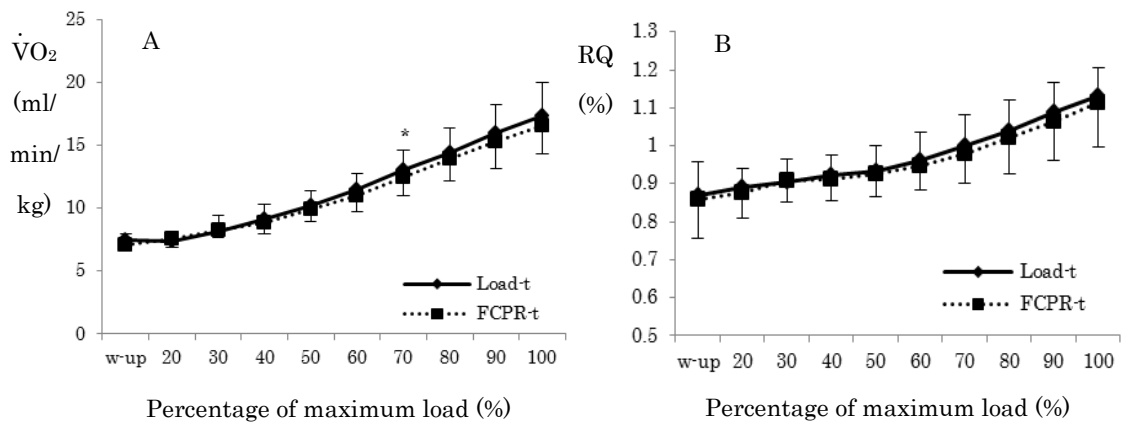


Fig. 16. Result of $\dot{V}O_2$ (A) and RQ (B) during FCPR-t and RPM-t. *, significant difference between Load-t and FCPR-t, $p < 0.05$.

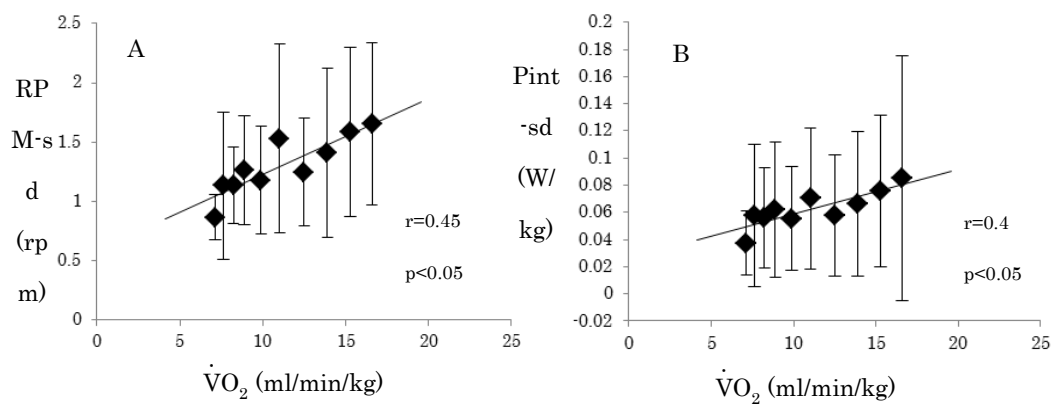


Fig. 17. Relationship between PRV and $\dot{V}O_2$ each exercise stages

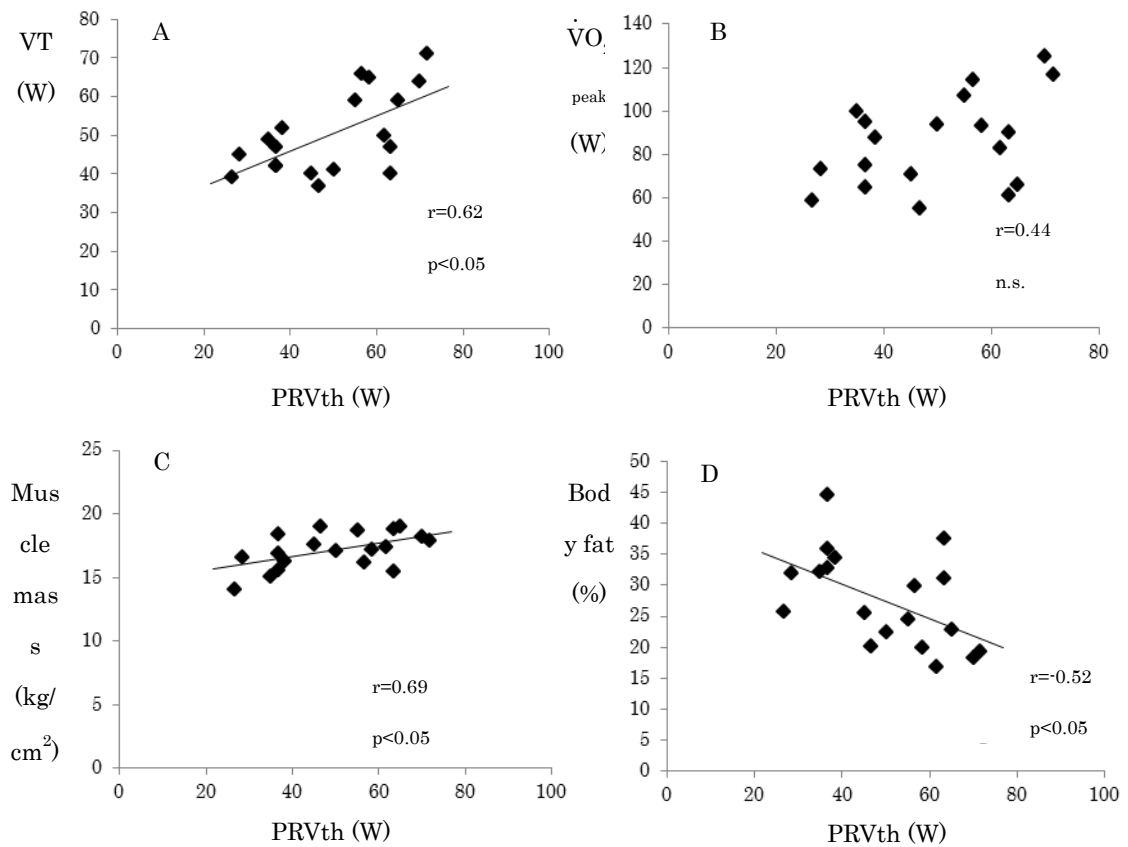


Fig.18. Relationship between PRVth and VT (A), $\dot{V}O_{2peak}$ (B), muscle mass (C), and body fat (D)

n.s. = not significant

IV章：考察

本稿では、PRV を骨格筋の代謝状態を評価する方法として確立するために、まず測定項目の生理学的妥当性について文献的に考察し、次に本研究の結果から PRV による骨格筋の代謝評価の妥当性について言及した。

1. 測定項目の生理学的妥当性

本稿では回転数の変化を筋収縮速度の変化として捉え、筋収縮速度の変化とそれに伴うエネルギー代謝反応の変化を、Pint から捉えることの生理学的な妥当性を文献的に考察した。

(1) 筋収縮速度の生理学的背景

一般的に、筋収縮速度の発揮能力は張力-速度関係により表され、特に最大筋収縮速度(V_{max})が筋の速度発揮の指標として用いられる。しかし双曲線から推定する最大収縮速度は非現実的な値となるため、張力-速度関係による収縮速度は、一定の速さの範囲内に限るとされている(Desplantez, & Goubel, 2002)。一方、無負荷最大収縮速度(V_0)は、筋線維端に設置したバネを筋収縮に合わせて解放(quick release)し筋線維を滑走させた場合に得られる収縮速度であり、筋の張力発揮の影響を除外して求めることができる(Edman, 1979)。そして V_0 の構成要素は、クロスブリッジの結合数(Number of attached and cycling crossbridge)よりもクロスブリッジ分離率(Cross bridge dissociation rate)とミオシンヘッドの power stroke size が重要であると言われている(Edman, 1979)。自転車エルゴメータ運動における負荷量の変化を伴わない回転数の変化は、サルコメアへの機械的な仕事負荷が増加せず、クロスブリッジの分離を増加させ、筋収縮速度が増加すると考えられるため、 V_0 の影響を反映すると考えられる。

(2) 筋収縮速度とカルシウムイオンの関係

筋収縮は、活動電位が神経終末に到達することで、筋小胞体のカルシウムイオン(Calcium ion, Ca^{2+})が放出され、アクチンとミオシンのフィラメントが滑走することで起こる。筋収縮後は、能動的に Ca^{2+} が筋小胞体に取り込まれる事で、筋が弛緩する。つまり筋収縮速度は大きく分けて筋の収縮速度と、弛緩速度に分けることができる。

通常、静止状態の細胞において細胞質の遊離 Ca^{2+} 濃度は 100nM 程度と非常に低く保たれており、細胞外に存在する数 mM の Ca^{2+} に対して 10,000 倍以上もの濃度勾配が形成されている。そのため Ca^{2+} の放出速度は基本的に濃度勾配に従うこととなる。また活動電位と筋収縮は基本的に全か無かの法則に支配されるため、 Ca^{2+} の放出は、on-off の調節のみであると言える。そのため、特別なパフォーマンスを必要としない単純な動作であれば、

筋の収縮速度は主に神経調節レベルで決定されると考えられる。

一方、筋の弛緩速度に関与する Ca^{2+} の取り込みは、ATP (adenosine triphosphate) を使用して能動的に行われる。筋小胞体(sarcoplasmic reticulum, SR)のカルシウム輸送 ATP アーゼ(Ca^{2+} ATPase)が 1mol の ATP を分解すると 2mol の Ca^{2+} が内腔へと輸送される(Tupling, 2004)。高強度運動後は、 Ca^{2+} ATPase が酸化修飾を受けることで、 Ca^{2+} の取り込みが低下することを示している(Matsunaga, Inashima, Yamada, Watanabe, Hazama, & Wada, 2003)。この Ca^{2+} ATPase の活性低下が、筋疲労に関与すると考えられており(Matsunaga, Mihima, Yamada, & Wada, 2008)、自転車エルゴメータ運動における筋収縮速度の出力の変化に関わると考えられる。

(3) Pint とエネルギー代謝反応

仕事は力と速度の積として表出される。つまり、身体の外に力を発揮し対象物に速度を与えるものであり、この仕事出力を P_{ext} と呼ぶ。一方で、 $P_{ext}=0$ である無負荷運動であっても、筋は収縮と弛緩を繰り返し、エネルギーは消費される。この作業筋自身が重心周りの運動のために出力する仕事は、Pint と定義されている(Winter, 2005)。また筋収縮の興奮収縮連関に関するエネルギー代謝反応は、クロスブリッジを形成し張力発揮に直接関連する contractile process(CP)と、張力発揮に直接的には関与せず、イオン交換に必要なエネルギー代謝に関与する non contractile process(NCP)の二つから研究されている。NCP のエネルギー代謝の特徴として、酸素利用速度が遅く、総エネルギー消費の 58%が利用されることが明らかになっている(Walsh, Howlett, Stary, Kindig, & Hogan, 2006)。同様に NCP では筋収縮全体に必要なエネルギー量の 46%が消費され、そのうち 61%が無酸素系により供給されることから、NCP は無酸素系によるエネルギー供給が優位であるといえる(Sandström, Zhang, Westerblad, & Katz, 2007; Baker, Brandes, Schendel, Trocha, Miller, & Weiner, 1994)。CP は、ミオシンヘッドの滑走により、エネルギーを身体外部へ仕事として出力する過程であるため、 P_{ext} は CP に関連した代謝過程を評価していると考えられる。一方、Pint は身体外部への仕事出力には関与せず、高回転の自転車運動により Pint が増加し、無酸素エネルギー消費量が亢進することが示されていることから(Tokui, 2008)、Pint は NCP による代謝過程に関連した評価項目であると定義できる。

(4) PRV の生理学的妥当性

自転車運動中において一定の回転数の出力を維持することは、筋収縮速度を一定に保つことを意味する。前項で述べた通り、筋収縮速度の発揮には、 V_0 の発揮と Ca^{2+} の取り込みが必要であり、 Ca^{2+} の取り込みは NCP における無酸素エネルギーが関与すると考えられる。筋線維組成と Ca^{2+} の取り込みについての研究では、Type I 線維が多い対象は、運動時の Ca^{2+} の取り込みが低下しにくいことや(Li, Wang, Fraser, Carey, Wrigley, & McKenna,

2002), 運動後の Ca^{2+} ATPase 活性は Type I 線維で超回復することが示されており, Type I 線維の方が Ca^{2+} の取り込み速度は早期に回復することが報告されている (Mishima, Yamada, Sakamoto, & Wada, 2006). つまり一回の収縮と弛緩における Ca^{2+} の取り込み速度は, Type II 線維の方が速い半面, 速度の低下が大きく, 逆に収縮と弛緩を繰り返す持続的な運動では, Ca^{2+} の取り込み速度が回復しやすい Type I 線維の方が, 安定して筋収縮速度の発揮を維持できると考えられる. さらに筋線維組成別に筋収縮速度の発揮について検討した論文によれば, V_{\max} は全ての筋線維から出力される反面, V_0 は Type II 線維の関与が大きいと報告されている (Sasaki, Ishii 2010; Bottinelli, Canepari, Pellegrino, & Reggiani, 1996). 運動強度の増加に伴って Type II 線維の動員が充進するため (Wasserman, Beaver, & Whipp, 1990), 回転数および Pint の変動性を表す PRV の測定によって, V_0 に関連した, Ca^{2+} の取り込みに必要なエネルギー代謝反応の変化を評価できると考えられる(図 19).

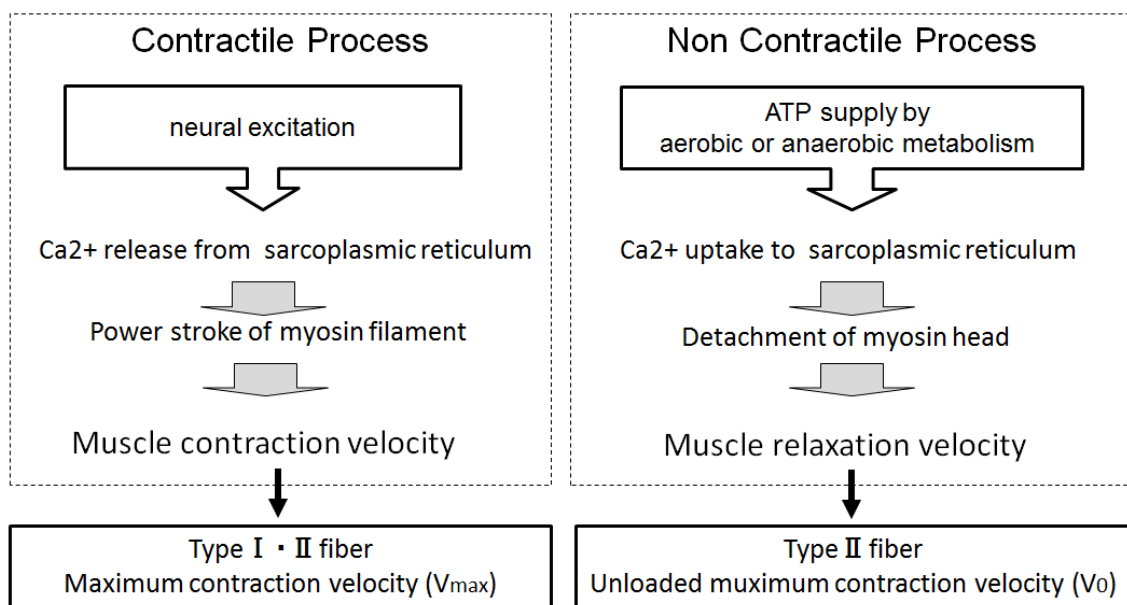


Fig.19. Physiological concept of muscle contraction velocity.

2. PRV による骨格筋の代謝評価の妥当性

本研究では, PRV とエネルギー代謝反応の関係について, 1) 回転数の変化がエネルギー代謝反応に影響する, 2) PRV と体力には関連がある, 3) エネルギー代謝反応の変化に伴って PRV が増加する, 4) DM 患者においても PRV とエネルギー代謝は関連があるという仮説について, 本研究の結果と文献検討から, 生理学的な妥当性をもって証明した. なお, 本稿では上記の仮説について, 研究結果を 4 つの検討課題から考察した.

(1) 検討課題 1. 回転数負荷に対する生体反応

はじめに、回転数と $\dot{V}O_2$ の変化がエネルギー代謝反応に影響することを示すために、速度を一定にしてペダルの負荷量を漸増する運動(Load-t)と、ペダルの負荷を一定にして回転数を漸増する運動(RPM-t)の生体反応を比較検討した。結果、RPM-tにおいて $\dot{V}O_2$ を増加させる条件を設定できた(図 4)。そのため、本課題は $\dot{V}O_2$ の変化が代謝反応に与える影響について検討することができたと考えられる。

$\dot{V}O_2$ は Load-t で直線的に増加するのに比べて、RPM-t ではステージ 6 以降で急激に増加する様子が確認された(図 4A)。Tokui(2008)は、ペダルに負荷をかけずに回転数を増加させた運動により、80rpm 以上のペダル回転数で $\dot{V}O_2$ が急激に増加することを示している。また $\dot{V}O_2$ に対する代謝反応として、NCP によるエネルギー代謝の関与が示唆されており(Tokui, 2008)、CP よりも NCP でのエネルギー代謝量が大きいことが示されている(Sandström et al., 2007; Baker et al., 1994)。つまり本研究も先行研究と同様に、回転数の増加に対する筋収縮速度の増加によって、NCP での Ca^{2+} の取り込みに必要なエネルギー代謝が亢進した結果、 $\dot{V}O_2$ が大きく増加したと考えられる。また RPM-t は Load-t と比較し、ステージ 6 まで iEMG が有意に低かった(図 4C)。Migita, Tokui, Hirakiba,(2011)らは、負荷漸増と速度漸増の運動負荷試験の違いについて、速度漸増の運動終了時の $\dot{V}O_2$ は負荷漸増の約 70%である一方、乳酸蓄積量は 30%程度であったことを報告している。そのため速度漸増運動は、全身の代謝ストレスの側面から高い代謝受容を課す反面、脚自体への負担度は大きくない可能性を示唆している。本研究も同様に、RQ は条件間で変化が無く(図 4B)、iEMG は RPM-t において低値を示していたため(図 4C)、回転数の負荷は仕事負荷と同様に全身のエネルギー代謝を要求する反面、下肢への負担は Load-t よりも小さいと考えられる。さらに、仕事出力と $\dot{V}O_2$ 、iEMG の関係をみると、 $\dot{V}O_2$ は $\dot{V}O_{2max}$ よりも代謝状態の変化に対する増加が大きいことが分かる(図 5)。これは $\dot{V}O_2$ がペダル周波数の 3 乗から求められ、ペダル周波数の変化を大きく反映する指標であることが原因として考えられる。この特性から、 $\dot{V}O_2$ は $\dot{V}O_{2max}$ よりも生体内の代謝状態を鋭敏に反映する指標であると考えられる。

(2) 検討課題 2. エネルギー代謝反応と PRV の関係

Ramp-t の結果、回転数が一定であるにも関わらず、PRV は運動負荷の増加に伴い上昇し、さらに増加の閾値を PRVth として求めることが可能であった(図 6)。また PRVth とエネルギー代謝を表す体力指標との間に有意な関連性が認められた(図 8)。

先行研究では、AT 以上の負荷強度では、骨格筋における乳酸の蓄積と同時に、Type II 線維の動員が亢進するため(Wasserman, Beaver, & Whipp, 1990)、EMGth は AT 以上での代謝変化に伴う Type II 線維の動員増加を表すとされている(Moritani, & deVries, 1978)。一

一般的な Type II 線維の特徴として、収縮力と収縮速度が Type I 線維より大きいことが知られており、 Ca^{2+} の取り込みに必要な ATP も、Type I 線維よりも多い(Li et al., 2002). しかし筋収縮後の Ca^{2+} の取り込みの速度の回復は、Type I 線維よりも低く(Mishima et al., 2006), Type I 線維が多い対象ほど運動時の Ca^{2+} の取り込みが低下しにくいことが報告されている(Li et al., 2002). 以上のことから、AT 以下の運動では主に Type I 線維が動員されることで、安定して筋収縮速度の発揮を維持できた結果、PRV の増加が緩やかだったと考えられる. 一方、AT 以上では、 Ca^{2+} の取り込み能力が低い Type II 線維の動員が亢進することで、一回の筋収縮における筋の弛緩速度が変動した結果、PRV の増加が亢進したと考えられる.

これまでの PRV に関する先行研究では、2012 年に Padulo ら(2012)が自転車エルゴメータのハンドルの位置を変化させ、姿勢を変化させた場合、PRV が変化したと報告している. しかし運動中の心拍数と心拍変動(Hart rate variability, HRV)に差がなかったため、PRV は、1 サイクル毎のリズムを修正するための、セントラルコマンドの調整が関与していると結論付けている. しかし同論文は運動強度の記載が無く、運動中の心拍数が概ね 100bpm 程度であるため、それ以外の強度での PRV とエネルギー代謝反応との関係について言及できない. 一方、FCPR の構成因子に関する研究では、FCPR は中枢神経因子に加えてエネルギー代謝が関与することが報告されている. $52\% \dot{V}\text{O}_{2\text{max}}$ での定常運動における FCPR のリズムは、指のタッピング動作のリズムと酷似することが報告されており、セントラルパターンジェネレータの関与が示唆されている(Hansen, Ohnstad, 2007). 一方、最大強度の 65%の定常運動では、神経筋疲労が最小になる回転数として FCPR が選択されることが報告されている(Bessot, Moussay, Laborde, Gauthier, Sesboué, & Davenne, 2008). さらに高強度運動(Brisswalter, Hausswirth, Smith, Vercruyssen, & Vallier, 2000)や長時間の運動 (Vercruyssen, Hausswirth, Smith, & Brisswalter, 2001; Lepers, Hausswirth, Maffioletti, Brisswalter, & van Hoecke, 2000; Argentin, Hausswirth, Bernard, Bieuzen, Leveque, Couturier, & Leper, 2006) では、FCPR は代謝が最適となる回転数(Energistically optimal cadence, EOC)に近づくと報告されている. この FCPR から EOC へのシフトは、末梢の骨格筋が酸素需要の低下に対して適応していることを示す(Vercruyssen, & Brisswalter, 2010). つまり負荷量の増加に伴って、FCPR の構成要素が中枢神経因子から末梢因子へ変化すると考えられる. Ramp-t における PRV の増加は、FCPR と同様に、骨格筋にかかる負荷を最適にしようとする生体の反応を、PRV が反映した結果であると考えられる.

本課題では、PRVth と EMGth 間にのみ有意な正の相関関係を認め、重回帰分析の結果も PRVth には EMGth が主に寄与することが明らかとなった. 先行研究では、VT と EMGth との間に有意な相関関係があることが報告されており (deVries, Moritani, Nagata, & Magnussen, 1982; Lucia, Sánchez, Carvajal, & Chicharro, 1999;

Hug, Faucher, Kipson, Jammes, 2003), EMGth は代謝変化に伴う Type II 線維の動員亢進を表すため, PRVth も骨格筋の代謝の変化に伴う Type II 線維の動員の亢進を表していると考えられる. PRVth は VT, $\dot{V}O_{2peak}$ よりも EMGth との関連が強いことが示されたことから, PRVth は全身の代謝状態よりも, 末梢骨格筋の代謝反応の変化を表す指標であると考えられる.

(3) 検討課題 3. 回転数を変数とした自転車運動における PRV の生理学的意義

FCPR-t の結果, 負荷量の増加によるエネルギー代謝の亢進によって, PRV が徐々に増加することが示された(図 9). そして PRV とエネルギー代謝の間に有意な相関関係が示された(図 11). 本検討におけるエネルギー代謝の亢進に伴う PRV の増加は, 検討課題 2 と同様, 筋収縮後の Ca^{2+} の取り込みの速度の回復が遅い(Mishima et al, 2006)とされる Type II 線維の動員亢進(Wasserman et al. 1990)によって, 一回の筋収縮における筋の弛緩速度が変動した結果, PRV の増加が亢進したと考えられる.

また FCPR-t の iEMG は Load-t と比較して有意に低値であることが示された(図 10C). 中等度の定常運動では, FCPR は神経筋疲労が最小になる回転数(80-95rpm)が選択されると報告されている(Bessot et al. 2008). また負荷量の増加に対する回転数の反応として, EOC が負荷量の増加と共に上昇することが報告されている(Foss, Hallén, 2004). さらに Type I 線維と Type II 線維を同じ仕事量で収縮させた場合, 高い収縮速度では, Type II 線維の方が Type I 線維よりもエネルギー効率が良く(Helund, Cavagna, 1987), Type II 線維の多い対象の方が, Type I 線維が多い対象よりも, EOC が高くなることも示されている(Umberger, 2006). FCPR-t において負荷量の増加に対して FCPR と PRV が増加したのは, Type II 線維の動員亢進と EOC の上昇により, 神経筋疲労を最適にした結果であると考えられ, 結果として iEMG が低値を示していたと考えられる.

FCPR-t では, PRV と $\dot{V}O_2$, PRV と iEMG との間に有意な正の相関関係を認めた(図 11). 先行研究では, 高強度運動中の FCPR と $\dot{V}O_{2peak}$ (Nesi, Bosquet, Pelayo, 2005)や, AT 強度での運動中の FCPR と $\dot{V}O_{2max}$ (Nesi et al., 2005), FCPR と最大仕事量(Hansen, Andersen, Nielsen, Sjøgaard, 2002)に相関関係を認めることが報告されており, 高強度運動中の FCPR と, 最大体力との間に関連を認めることが示唆されている. 以上の先行研究は, 最大に近い負荷において, FCPR が末梢骨格筋の仕事出力とエネルギー需要に適応した結果であると考えられる. 一方で, AT レベルの FCPR と AT での $\dot{V}O_2$ に相関が無いことや(Nesi et al., 2005), FCPR は Type I 線維の割合と運動効率とは相関を認めないことが示されている(Hansen et al., 2002). これらの報告は, AT 程度までの負荷強度では, FCPR が骨格筋のエネルギー代謝に依存しないことを示唆している. しかし本課題では, PRV が運動中のエネルギー代謝反応と関連することを示した(図 11). これは PRV が Type II 線維の動員と Ca^{2+} の取り込みに関するエネルギー代謝反応を反映する指標であることが原因として考え

られ、FCPR ではなく PRV により体力評価が行える可能性を示唆するものである。特に、 $\dot{V}O_2$ との相関は RPM-sd よりも Pint-sd の方が高いことや(図 11A, B), iEMG との関係は Pint-sd のみ有意性があつたことから(図 11B, C), Pint-sd を用いて PRV を測定した方が、エネルギー代謝反応を評価できる可能性がある。これは Pint がクロスブリッジにおける NCP でのエネルギー代謝反応を反映するためであり、 Ca^{2+} を取り込むために必要な無酸素エネルギー消費を評価していることが原因として考えられる。

そこで、運動中の骨格筋が EMGth により評価される末梢の AT を超えているか否かを、PRV から評価できるか検討するために、ROC 解析を実施した。結果、Pint-sd によって、EMGth を超えたか否かを判別することが可能であつた(図 12)。筆者の先行研究から、健常者を対象とした回転数負荷の運動において、血糖低下の亢進が起こるか否かの判別について検討した結果、内的仕事率(Percentage of internal power to total power; PIT)によって判別が可能であることが明らかになつた(Yabe, Nishida, 2013)。先行研究から高回転運動で Pint が増加することが示されており、NCP に由来した無酸素エネルギー消費の関与が示唆されている(Tokui, 2008)。そのため回転数の変化に伴う Pint-sd の上昇によって、筋の収縮速度の変化に伴う NCP による無酸素エネルギー代謝を評価した結果、EMGth の判別評価が可能であつたと考えられる。

(4) 検討課題 4. DM 患者に対する PRV の生理学的意義

DM 患者に対する FCPR-t では、検討課題 3 において健常成人で確認された、運動負荷の増加に伴う回転数と Pint の増加、および PRV の亢進が確認されなかつた(図 13)。Han, Proctor, Geiger, Sieck,(2001)らは、低回転運動では Type I 線維の効率は Type II 線維より高く、逆に高回転運動では Type II 線維の効率が Type I 線維よりも高くなると述べている。また Type I 線維の割合が低い対象者ほど高回転運動での効率が悪いと報告されている(Hansen, and Sjøgaard, 2007)。本研究における健常群は、低強度では Type I 線維を動員し、負荷量の増加に伴って回転数を増加させ Type II 線維を動員することで、効率よくエネルギーを供給できていたと考えられる。一方 DM 群は、健常群よりも Type I 線維数の減少と Type I 線維における有酸素代謝能力の低下(Coen et al., 2010)、Type II 線維の増加(Coen et al., 2010; Malenfant et al., 2001)が示されているため、運動初期から Type II 線維が動員されてしまい、負荷量の増加に対して Type II 線維の動員の亢進が惹起されにくく、PRV も運動初期から亢進した状態であつたと考えられる。

DM 患者では、PRV が健常成人と異なる反応を示していたが、 $\dot{V}O_2$ と PRV は健常成人と同様に有意な正の相関関係を認め(図 15)、PRVth と VT の間にも有意な相関関係を認めた(図 16)。健常成人における $\dot{V}O_2$ と RPM-sd の相関係数が 0.21、 $\dot{V}O_2$ と Pint-sd が 0.31 であつたのに対し、DM 患者では相関係数がそれぞれ 0.45、0.40 と高い値を示していた。つまり DM 患者における PRV は運動中増加しにくい反面、エネルギー代謝の状態を強く反映

する指標であると捉えることができる。これは先に述べた PRV が運動初期から増加しているという考察を支持する結果であると考えられる。

DM をはじめとする生活習慣病において、過度な脂肪蓄積により脂肪酸代謝が充分できない場合、組織内には過剰な脂肪蓄積とともにインスリン抵抗性が惹起される。肥満患者は健常者と比較しインスリン抵抗性が高く、筋内のセラミド蓄積量が多い (Adams, Pratipanawatr, Berria, Wang, DeFronzo, Sullards, Mandarino, 2004)。同様に、肥満患者は Type I 線維に多く筋内脂肪を含んでいることが示されており (Malenfant, Tremblay, Doucet, Imbeault, Simoneau, Joanisse, 2001)、インスリン抵抗性を示す対象者は、筋内トリグリセリドが Type II 線維よりも Type I 線維で多く含まれ、Type I 線維内の筋内トリグリセリドとインスリン抵抗性に強い相関関係を示すことが報告されている (Coen et al., 2010)。さらにインスリン抵抗性を有する患者や肥満患者は、Type I 線維の減少と Type II 線維の増加という筋線維組成の変化がみられ (Coen, Dubé, Amati, Stefanovic-Racic, Ferrell, Toledo, & Goodpaster, 2010; Malenfant, Joanisse, Thériault, Goodpaster, Kelley, & Simoneau, 2001)、Type I 線維への脂肪蓄積により、有酸素代謝能力が低下すると報告されている (Coen et al., 2010)。本研究において、DM 群における Ramp-t では、健常群と同様に PRV_{th} が確認され、PRV_{th} と VT、身体組成との関連が認められた (図 16)。上記の先行研究の通り、DM 患者は筋内脂肪の蓄積によって、骨格筋のエネルギー代謝反応が障害されているため、運動中の筋線維組成の動員が変化した結果、自転車エルゴメータにおける PRV が変化したものと考えられる。

以上のことから、DM 患者における PRV の測定によって、骨格筋の筋組成の変化と有酸素代謝能力に起因する、筋の収縮速度を評価できると考えられる。

V章：統括

1. 本研究の成果

本研究の成果は、PRV によって骨格筋の代謝状態及びその機能異常を評価することが可能であることを証明したことである。骨格筋の機能異常は、正常な状態から脂肪の蓄積により徐々に機能が悪化し、最終的に糖尿病への罹患に繋がる (Coen, et al., 2010; Malenfant, et al., 2001)。そのため本研究では、疾患の病態を「正常な生体機能から逸脱した状態」として捉え、正常な代謝反応のメカニズム(健常成人の筋線維組成に対する運動時の代謝反応)に対して、疾患に至る病態(脂肪蓄積による筋線維組成の変化に伴う運動時の反応)を評価することを、研究の目的とした。健常成人を対象とした検討課題 1-3 の結果、運動負荷に伴う代謝変化と PRV の関係が明らかとなり、PRV の生理学的な意義と測定の妥当性を証明した。次に重篤な合併症のない軽症 DM 患者を対象にした検討課題 4 では、筋線維組成と有酸素代謝が障害された骨格筋に対して、検討課題 1-3 で明らかにしたモデルを応用し検討した結果、健常成人と同様に PRV とエネルギー代謝反応との間に関係性を見出すことができた。

自転車運動中において一定の回転数の出力を維持することは、筋収縮速度を一定に保つことを意味する。筋収縮速度は主に収縮速度と弛緩速度に分けられ、特に筋の弛緩速度は、筋の興奮収縮連関において NCP における Ca^{2+} の取り込みとクロスブリッジの分離が必要である。本研究において確認されたエネルギー代謝反応の増加に伴う PRV の亢進は、運動負荷強度の増加に伴って Type II 線維の動員が亢進した際の、 Ca^{2+} の取り込み速度とそれによる V_0 の出力の変動を反映したものであると考えられる(図 20)。対象者の筋線維組成の変化により、上記に示した筋収縮様式が変化したため、PRV と骨格筋代謝能力、および各種の体力指標との間に関連を認めたものと考えられる。

以上の実験検討および文献考察から、本研究では PRV が正常な骨格筋の代謝反応、および DM の病態に伴う正常から逸脱した代謝反応を捉える評価方法として妥当であることを証明できたと考えられる。

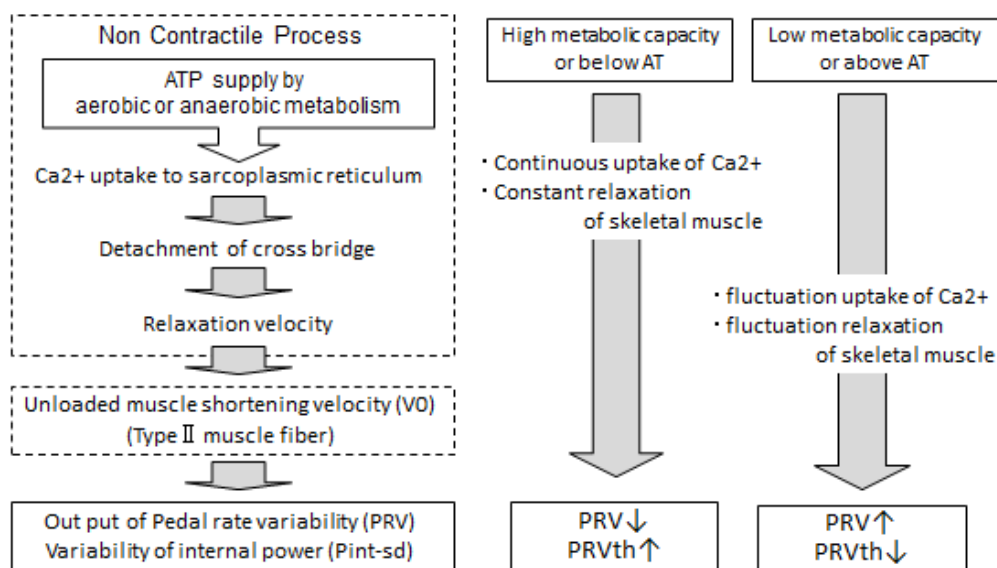


Fig.20. Physiological coherence between PRV and energy expenditure

2. PRV の臨床応用

日本リハビリテーション医学会の調査(Sumita, et al., 2008)によれば, リハビリテーション専門医の研修施設における呼気ガス分析装置の所有率は 30%未満であり, 使用率も「非常によく使用する」が 10%未満と低い. 介護施設等も含めると運動負荷試験の実施が困難な施設は非常に多いことが予想される. 一方, 同調査によれば自転車エルゴメータの所有率は約 90%であり, 使用率も「非常によく使用」が 70%以上と高い. 本研究で用いた PRV は自転車エルゴメータの回転数を解析することで求められる指標であり, 自転車エルゴメータの設置とペダル周波数の測定が可能であれば測定が可能である. そのため呼気ガス分析装置等の特別な機械を用いずに, 簡便に体力測定が可能であると考えられる.

また対象患者についても, PRV が骨格筋の代謝能力を評価できる指標として確立できたことから, 骨格筋の機能異常が病態にあるメタボリックシンドロームの患者にも応用することが可能であると考えられる.

さらに, 本研究では骨格筋が嫌気性代謝閾値を超えたか否かの判別を, PRV から判別することが可能であった. これは運動中の回転数の出力様式を観察することで, 設定した負荷量に対する骨格筋の反応を常に評価できることを意味する. 通常運動負荷試験は 3 ヶ月から半年に一回測定するものであり, 次の評価までの期間は評価で決定した一定の負荷量で実施する. PRV を用いて毎回の運動療法における負荷量を適切に設定することで, 有効なトレーニング方法へ応用できると考えられる.

3. 研究の限界

本研究は健常高齢群における検討を行っていないため、加齢に伴う PRV の変化については検討できていない。しかし加齢による骨格筋の変化は DM 患者とは異なり、骨格筋への脂肪蓄積と筋線維組成の変化は DM に特異的な病態である。そのため DM 患者への応用を目的とした本研究においては、PRV に対する加齢の影響を検討することは絶対条件ではなく、今後の検討にて明らかにする必要があると考えられる。また本研究は健常成人において測定した正常メカニズムを、DM 群へ応用するというモデルにて PRV の生理学的な妥当性を検討した。さらに DM 群は全て軽症群を対象とした。そのため骨格筋の機能異常に伴う PRV の変化について、量・反応関係(骨格筋の機能異常に対する PRV の反応)の証明は不十分であった。今後は対象の重症度を広げて検討することで、PRV の生理学的な意義を高められると考えられる。本研究では、PRV の変化に影響するその他の交絡因子(中枢神経系等)については言及できておらず、PRV とエネルギー代謝反応の関連における特異性の証明は不十分であった。また健常成人を対象とした検討においては、PRV と末梢骨格筋の代謝反応について関連を認めたが、DM 群では筋電図の測定を行っておらず、DM 群における代謝反応の評価は、呼気ガス分析による全身的な代謝反応を評価したに留まっている。上記については、今後の研究にてさらに検討する必要があると考えられる。

V章：結語

本研究では、DM患者の骨格筋の代謝異常に対して、骨格筋の機能に特化した評価を、呼気ガス分析装置等の特別な機械を使用することなく実施する方法について、特に自転車エルゴメータにおけるPRVから明らかにした。

健常成人を対象としたLoad-tとRPM-tでは、回転数の変化がエネルギー代謝反応に影響することを明らかにするために、速度を一定にしてペダルの負荷量を漸増する運動と、ペダルの負荷を一定にして速度を漸増する運動時の生体反応を比較した。結果、回転数の変化はエネルギー代謝反応を変化させることが明らかになり、回転数とPintの出力様式を観察することによって、エネルギー代謝反応を評価できる可能性が示唆された。

Ramp-tでは、対象者毎のエネルギー代謝反応の違いとPRVの関係を明らかにするために、運動負荷試験中のPRVと体力指標の関係について検討した。結果、PRVが亢進する閾値をPRVthとして求めることができ、PRVthはEMGthと最も関連があった。そのためPRVは骨格筋のエネルギー代謝状態と関連する指標であることが示された。

FCPR-tでは、回転数の出力様式とエネルギー代謝反応の関係を明らかにするために、回転数を変数となる条件下での生体反応について検討した。負荷量増加によるエネルギー代謝の亢進によって、PRVが増加することが示され、PRVとエネルギー代謝の間に有意な相関関係を認めた。またROC解析の結果、骨格筋がEMGthを超えたか否かの判別を、PRVから評価することが可能であった。以上の事から、PRVは骨格筋のエネルギー代謝反応の変化を評価する指標であることが示された。

軽症DM患者を対象とした運動負荷試験では、回転数を変数としたFCPRにおける漸増運動負荷試験と、同様の負荷で回転数を一定にした漸増運動負荷試験を比較検討し、PRVとエネルギー代謝反応の関係について言及した。結果DM患者も健常成人と同様に、 $\dot{V}O_2$ とPRVは有意な正の相関関係を認め、さらにPRVthとVT、筋肉量、脂肪量などの身体組成とも関連を認めた。以上の事から、DM患者におけるPRVの測定によって、エネルギー代謝状態を評価することが可能であると示された。

PRVは自転車エルゴメータとペダル周波数を測定するための電磁センサーがあれば、非侵襲的かつ簡便に測定が可能である。電磁センサーは呼気ガス分析装置よりも安価であるため、DM患者に対する体力測定の方法として、広く臨床で用いることができると考えられる。さらに本研究の結果から、PRVとエネルギー代謝反応の間にあることが示されたため、PRVはDM患者における骨格筋のエネルギー代謝の障害に対して、適切な評価方法として用いることができると考えられる。

謝辞

本論文を作成するにあたり、指導教官である聖隷クリストファー大学 西田裕介教授には、研究全般にわたり多大なご指導を賜りましたことを心より深謝いたします。また、研究データの測定の際には、同ゼミの大学院生である高橋大生君、石田武希君、および同大学の学部生の皆様に、に多くのご協力を頂いたことにお礼申し上げます。

名古屋共立病院においては、研究被験者のリクルートにご協力いただいた、春日弘毅医師、青山徹医師、高橋亮医師、松原千恵子医師と、看護師の皆様にも心より深謝いたします。またデータ測定において多大なご配慮頂いた、リハビリテーション診療科の皆様にも、心よりお礼申し上げます。

引用文献

- Adams, J. M. 2nd., Pratipanawatr, T., Berria, R., Wang, E., DeFronzo, R. A., Sullards, M. C., et al. (2004). Ceramide content is increased in skeletal muscle from obese insulin-resistant humans. *Diabetes*, *53*(1), 25-31.
- Ahlquist, L. E., Bassett, D. R. Jr., Sufit, R., Nagle, F. J., Thomas, D. P. (1992). The effect of pedaling frequency on glycogen depletion rates in type I and type II quadriceps muscle fibers during submaximal cycling exercise. *European journal of applied physiology and occupational physiology*, *65*(4), 360-4.
- Baker, A. J., Brandes, R., Schendel, T. M., Trocha, S.D., Miller, R. G., Weiner, M. W. (1994). Energy use by contractile and noncontractile processes in skeletal muscle estimated by ³¹P-NMR. *American Journal of Physiology*, *266*(3 Pt 1), 825-31.
- Bessot, N., Moussay, S., Laborde, S., Gauthier, A., Sesboüé, B., Davenne, D. (2008). The role of the slope of oxygen consumption and EMG activity on freely chosen pedal rate selection. *European Journal of Applied Physiology*, *103*(2), 195-202.
- Bottinelli, R., Canepari, M., Pellegrino, M. A., Reggiani, C. (1996 Sep). Force-velocity properties of human skeletal muscle fibres: myosin heavy chain isoform and temperature dependence. *Journal of Physiology*, *1:495* (Pt 2), 573-86.
- Bouchard, C., Shephard, R. J., Stephens, T. (1994). The model and key concepts. Physical activity, fitness, and health: International Proceedings and Consensus Statement, 1ST Ed, 77-88, Human Kinetics Publishers, United States.
- Brisswalter, J., Hausswirth, C., Smith, D., Vercruyssen, F., Vallier, J.M. (2000). Energetically optimal cadence vs. freely-chosen cadence during cycling: effect of exercise duration. *International journal of sports medicine*, *21*(1), 60-4.
- Coen, P. M., Dubé, J. J., Amati, F., Stefanovic-Racic, M., Ferrell, R. E., Toledo, F. G., et al. (2010). Insulin resistance is associated with higher intramyocellular triglycerides in type I but not type II myocytes concomitant with higher ceramide content. *Diabetes*, *59*(1), 80-8.
- Crow, M. T., Kushmerick, M. J. (1982, January). Chemical energetics of slow- and fast-twitch muscles of the mouse. *The Journal of General Physiology*, *79*(1), 147-66.
- deVries, H. A., Moritani, T., Nagata, A., Magnussen, K. (1982). The relation between critical power and neuromuscular fatigue as estimated from electromyographic data. *Ergonomics*, *25*(9), 783-91.

- Desplantez, A., Goubel, F. (2002 Dec). In vivo force-velocity relation of human muscle: a modelling from sinusoidal oscillation behaviour. *Journal of Biomechanics*, *35*(12), 1565-73.
- Edman, K. A. (1979 Jun). The velocity of unloaded shortening and its relation to sarcomere length and isometric force in vertebrate muscle fibres. *Journal of Physiology*, *291*, 143-59.
- Fenn, W. O. (1923, December). A quantitative comparison between the energy liberated and the work performed by the isolated sartorius muscle of the frog. *Journal of Physiology*, *28*, 58(2-3), 175-203
- Ferreira, L. F., Townsend, D. K., Lutjemeier, B. J., Barstow, T. J. (2005, May). Muscle capillary blood flow kinetics estimated from pulmonary O₂ uptake and near-infrared spectroscopy. *Journal of Applied Physiology*, *98*(5), 1820-1828.
- Foss, Ø., Hallén, J. (2004). The most economical cadence increases with increasing workload. *European Journal of Applied Physiology*, *92*(4-5), 443-51.
- Gotshall, R. W., Bauer, T. A., Fahrner, S. L. (1996, January). Cycling cadence alters exercise hemodynamics. *International Journal of Sports Medicine*, *17*(1), 17-21.
- Graef, J. L., Smith, A. E., Kendall, K. L., Walter, A. A., Moon, J. R., Lockwood, C. M., et al. (2008). The relationships among endurance performance measures as estimated from VO₂PEAK, ventilatory threshold, and electromyographic fatigue threshold: a relationship design. *Dynamic medicine*, *10*, 7-15.
- Han, Y. S., Proctor, D. N., Geiger, P. C., Sieck, G. C. (2001). Reserve capacity for ATP consumption during isometric contraction in human skeletal muscle fibers. *Journal of Applied Physiology*, *90*(2), 657-64.
- Hansen, E. A., Andersen, J. L., Nielsen, J. S., Sjøgaard, G. (2002). Muscle fibre type, efficiency, and mechanical optima affect freely chosen pedal rate during cycling. *Acta physiologica Scandinavica*, *176*(3), 185-94.
- Hansen, E. A., Ohnstad, A. Z. (2007). Evidence for freely chosen pedalling rate during submaximal cycling to be a robust innate voluntary motor rhythm. *Experimental brain research*, *186*(3), 365-73.
- Health, Labour and Welfare Ministry. (2008). 国民健康・栄養調査結果の概要について. Retrieved December 24, 2009, from <http://www.mhlw.go.jp/houdou/2008/12/h1225-5.html>
- Heglund, N. C., Cavagna, G. A. (1987). Mechanical work, oxygen consumption, and efficiency in isolated frog and rat muscle. *American Journal of Physiology*, *253*(1 Pt 1), 22-9.

- Hirakiba, K. (2007). Respiratory Gas Exchange Parameters Associated with Metabolic Fitness: A Brief Review. [Metabolic Fitness を反映した呼気ガス代謝変量]. *Kurume journal of health and sports science*, 15, 1-11.
- Hug, F., Faucher, M., Kipson, N., Jammes, Y. (2003). EMG signs of neuromuscular fatigue related to the ventilatory threshold during cycling exercise. *Clinical physiology and functional imaging*, 23(4), 208-14.
- Hug, F., Laplaud, D., Lucia, A., Grelot, L. (2006 Jun). EMG threshold determination in eight lower limb muscles during cycling exercise: a pilot study. *International Journal of Sports and Medicine*, 27(6), 456-62
- Kang, J., Hoffman, J. R., Wendell, M., Walker, H., Hebert, M. (2004, February). Effect of contraction frequency on energy expenditure and substrate utilization during upper and lower body exercise. *British Journal of Sports Medicine*, 38(1), 31-5.
- Kelley, G. A., Kelley, K. S. (2007 Sep). Effects of aerobic exercise on lipids and lipoproteins in adults with type 2 diabetes: a meta-analysis of randomized-controlled trials. *Public Health*, 121(9), 643-55.
- Lakka, T. A., Laaksonen, D. E., Lakka, H. M., Mannikko, N., Niskanen, L. K., Rauramaa, R., et al. (2003) Sedentary lifestyle, poor cardiorespiratory fitness, and the metabolic syndrome. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 35, 1279-86.
- Lepers, R., Hausswirth, C., Maffiuletti, N., Brisswalter, J., van, Hoecke, J. (2000). Evidence of neuromuscular fatigue after prolonged cycling exercise. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 32(11), 1880-6.
- Lexell, J., Taylor, C. C., Sjöström, M. (1988). What is the cause of the ageing atrophy? Total number, size and proportion of different fiber types studied in whole vastus lateralis muscle from 15- to 83-year-old men. *Journal of the Neurological Sciences*, 84(2-3), 275-94.
- Li, J. L., Wang, X. N., Fraser, S. F., Carey, M. F., Wrigley, T. V., McKenna, M. J. (2002). Effects of fatigue and training on sarcoplasmic reticulum Ca(2+) regulation in human skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*, 92(3), 912-22.
- Lucia, A., Sánchez, O., Carvajal, A., Chicharro, J. L. (1999). Analysis of the aerobic-anaerobic transition in elite cyclists during incremental exercise with the use of electromyography. *British Journal of Sports Medicine*, 33(3), 178-85.
- Malenfant, P., Joanisse, D. R., Thériault, R., Goodpaster, B. H., Kelley, D. E., Simoneau, J. A. (2001). Fat content in individual muscle fibers of lean and obese subjects. *International journal of obesity and related metabolic disorders*, 25(9), 1316-21.
- Malenfant, P., Tremblay, A., Doucet, E., Imbeault, P., Simoneau, J. A., Joanisse, D. R.

- (2001). Elevated intramyocellular lipid concentration in obese subjects is not reduced after diet and exercise training. *American journal of physiology*, 280(4), 632-9.
- Matsunaga, S., Inashima, S., Yamada, T., Watanabe, H., Hazama, T., Wada, M. (2003). Oxidation of sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase induced by high-intensity exercise. *Pflügers Archiv European Journal of Physiology*, 446(3), 394-9.
- Matsunaga, S., Mihima, T., Yamada, T., Wada, T. (2008). Effect of high intensity training and acute exercise on Ca²⁺ sequestering function of sarcoplasmic reticulum: role of oxidative modification. [高強度トレーニングおよび一過性の運動が筋小胞体のCa²⁺取り込み機能に及ぼす影響：酸化修飾との関連]. *Japanese Journal of Physical Fitness and Sports Medicine*, 57(3), 327-338.
- McDaniel, J., Durstine, J. L., Hand, G. A., Martin, J. C. (2002). Determinants of metabolic cost during submaximal cycling. *Journal of Applied Physiology*, 93(3), 823-8.
- Migita, T., Tokui, M., Hirakoba, K. (2011) Responses of oxygen uptake to load-incremental and frequency-incremental exercises during cycling (jointly worked), [自転車駆動における負荷漸増および頻度漸増運動に対する酸素摂取量応答] *Kurume Journal of Health and Sports Science*, 19, 1-7.
- Minetti, A. E., Pinkerton, J., Zamparo, P. (2001, July). From bipedalism to bicyclism: evolution in energetics and biomechanics of historic bicycles. *Proceedings Biological sciences*, 7, 268(1474), 1351-60.
- Mishima, T., Yamada, T., Sakamoto, M., & Wada, M. (2006). Changes in sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-sequestering capacity during recovery following high-intensity exercise: comparisons between fast- and slow-twitch muscles. *Japanese Journal of Physical Fitness and Sports Medicine*, 55(5), 503-511.
- Moritani, T., deVries, H. A. (1978). Reexamination of the relationship between the surface integrated electromyogram (IEMG) and force of isometric contraction. *American journal of physical medicine*, 57(6), 263-77.
- Nesi, X., Bosquet, L., Pelayo, P. (2005), Preferred pedal rate: an index of cycling performance. *International journal of sports medicine*, 26(5), 372-5.
- Orozco, L. J., Buchleitner, A. M., Gimenez-Perez, G., Roqué, I., Figuls, M., Richter, B., et al. (2008). Exercise or exercise and diet for preventing type 2 diabetes mellitus. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 16(3), CD003054.
- Osawa, T., Kime, R., Hamaoka, T., Katsumura, T., Yamamoto, M. (2011). Attenuation of muscle deoxygenation precedes EMG threshold in normoxia and hypoxia.

- Medicine & Science in Sports & Exercise* 43(8), 1406-13.
- Padulo, J., Di, Capua. R., Viggiano, D. (2012). Pedaling time variability is increased in dropped riding position. *European Journal of Applied Physiology*, 112(8), 3161-5.
- Reid, K. F., Doros, G., Clark, D. J., Patten, C., Carabello, R. J., Cloutier, G. J., et al. (2012). Muscle power failure in mobility-limited older adults: preserved single fiber function despite lower whole muscle size, quality and rate of neuromuscular activation. *European Journal of Applied Physiology*, 112(6):2289-301.
- Sandström, M. E., Zhang, S. J., Westerblad, H., Katz, A. (2007). Mechanical load plays little role in contraction-mediated glucose transport in mouse skeletal muscle. *Journal of Physiology*, 1,579(Pt 2), 527-34.
- Sasaki, K., Ishii, N. (2005). Shortening velocity of human triceps surae muscle measured with the slack test in vivo. *Journal of Physiology*, 15, 567(Pt 3):1047-56.
- Sasaki, K., Ishii, N. (2010). Unloaded shortening velocity of voluntarily and electrically activated human dorsiflexor muscles in vivo. *PLoS One*, 27, 5(9), e13043.
- Sawada, S., Matsuzaki, K., Lee, I. M., Blair, S., Muto, T. (2003). Cardiorespiratory fitness and the incidence of type2 diabetes – Prospective study of Japanese men. *Diabetes Care* 26, 2918-22.
- Smoking and Health: Report of the Advisory Committee to the Surgeon General of the public health service, US Department of Health, Education, and Welfare. Public Health Service. (1964) downloaded from:<http://profiles.nlm.nih.gov/ps/retrieve/ResourceMetadata/NNBBMQ>
- Stephenson, G. M., O'Callaghan, A., Stephenson, D. G. (1994). Single-fiber study of contractile and biochemical properties of skeletal muscles in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes*, 43(5), 622-8.
- Sumita, M., Senda, M., Ochi, F., Ishii, M., Oki, S., Takatsuka, H., et al. (2008). [運動療法機器・作業療法機器の使用頻度およびその効果]に関するアンケート調査結果]. *The jpanease journal of Rehabilitaion Medicine*, 45(9), 559-568.
- Tokui, M. (2008). 内的パワー水準に着目した筋の機械的効率の解析. Unpublished doctoral dissertation, university of Kyushu institute of technology, Japan.
- Tokui, M., Hirakoba, K. (2008). Estimation of oxygen cost of internal power during cycling exercise with changing pedal rate. *Journal of Physiological Anthropology*, 27(3), 133-8.
- Tupling, A. R. (2004). The sarcoplasmic reticulum in muscle fatigue and disease: role of

- the sarco(endo)plasmic reticulum Ca²⁺-ATPase. *Canadian journal of applied physiology*, 29(3), 308-29.
- Umberger, B. R., Gerritsen, K. G., Martin, P. E. (2006). Muscle fiber type effects on energetically optimal cadences in cycling. *Journal of Biomechanics*. 39(8), 1472-9.
- Umpierre, D., Ribeiro, P. A., Kramer, C. K., Leitão, C. B., Zucatti, A. T., Azevedo, M. J., et al. (2011, May). Physical activity advice only or structured exercise training and association with HbA1c levels in type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *The Journal of the American Medical Association*, 4, 305, 17, 1790-9.
- Vercruyssen, F., Brisswalter, J. (2010). Which factors determine the freely chosen cadence during submaximal cycling? *Journal of science and medicine in sport*, 13(2), 225-31.
- Vercruyssen, F., Hausswirth, C., Smith, D., Brisswalter, J. (2001). Effect of exercise duration on optimal pedaling rate choice in triathletes. *Canadian journal of applied physiology*, 26(1), 44-54.
- Wasserman K, Beaver WL, Whipp BJ (1990) Gas exchange theory and the lactic acidosis (anaerobic) threshold. *Circulation* 81(1), 14-30.
- Walsh, B., Howlett, R. A., Stary CM, Kindig, C. A., Hogan, M. C. (2006). Measurement of activation energy and oxidative phosphorylation onset kinetics in isolated muscle fibers in the absence of cross-bridge cycling. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, 290(6), R1707-13.
- Wang, L., Yoshikawa, Y., Hara, T., Nakao, H., Suzuki, T., Fujimoto, S. (2005). 回転数・トルク数の調節が活動筋内の酸素動態およびエネルギー代謝に及ぼす影響. [Effect of pedal rate and torque on muscle oxygenation and energy metabolism]. *Japanese journal of physical fitness and sports medicine*, 54, 229-235.
- Winter, D. A. (2005). Biomechanics and motor control of human movement (3rd ed.). New York: Wiley.
- World Health Organization. (n.d.). Retrieved December 24, 2009, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/index.html>
- Yabe, H., Yusuke, Nishida. (2013). 内的仕事量の測定による運動後の血糖低下反応の判別評価に関する研究. [Evaluation of blood glucose response after cycle ergometer exercise using internal power.] *Japan Society of Exercise and Sports Physiology*, 20(2), 47-54.