

早稲田大学審査学位論文
博士(スポーツ科学)

ヒトを対象とした朝と夕方の運動実施時間帯の相違が脂質代謝
応答に及ぼす影響

The effects of morning and evening exercise on
lipid metabolic responses in young men

2016年1月

早稲田大学大学院 スポーツ科学研究科
金 鉉基

KIM, Hyeon-Ki

研究指導教員：坂本静男 教授

目次

第 1 章 序論	1
1-1 背景	1
第 2 章 文献研究	5
2-1 運動実施時間帯と代謝応答	5
2-2 炎症性サイトカインと代謝応答	6
2-3 運動強度と代謝応答	8
第 3 章 検討課題	10
第 1 節 運動実施時間帯が異なる一過性持久性運動時におけるホルモ ン応答が脂質代謝応答に及ぼす影響(検討課題 I)	10
1-1 緒言	10
1-2 方法	11
1-2-1 対象者	11
1-2-2 最大酸素摂取量の測定	12
1-2-3 実験プロトコール	12
1-2-4 安静時、運動中および運動終了後の基質酸化測定	13
1-2-5 血液採取	14
1-2-6 血液測定項目の濃度補正	14
1-2-7 統計処理	15
1-3 結果	17
1-3-1 酸素摂取量と心拍数	17
1-3-2 エネルギー基質酸化	17
1-3-3 ホルモンおよび代謝関連指標	17
1-4 考察	23
1-5 結論	25

第 2 節 朝と夕方の一過性持久性運動が炎症性サイトカインに及ぼす影響(検討課題Ⅱ).....	26
2-1 緒言	26
2-2 方法	27
2-2-1 対象者	27
2-2-2 最大酸素摂取量の測定	28
2-2-3 実験プロトコール	28
2-2-4 血液採取	29
2-2-5 血液測定項目の濃度補正	30
2-2-6 統計処理	30
2-3 結果	31
2-3-1 ホルモン応答	31
2-3-2 サイトカインおよび CRP	31
2-3-3 脂質分解	32
2-4 考察	36
2-5 結論	39
第 3 節 異なる運動強度における朝と夕方の一過性持久性運動が脂質代謝応答に及ぼす影響(検討課題Ⅲ).....	40
3-1 緒言	40
3-2 方法	43
3-2-1 対象者	43
3-2-2 最大酸素摂取量の測定	43
3-2-3 実験プロトコール	44
3-2-4 エネルギー基質酸化の測定	45
3-2-5 血液採取	45

3-2-6	血液測定項目の濃度補正	46
3-2-7	統計処理	46
3-3	結果	48
3-3-1	$\dot{V}O_{2max}$ 、最大脂質酸化量および Fat_{max}	48
3-3-2	エネルギー消費量	48
3-3-3	酸素摂取量および心拍数	48
3-3-4	ホルモン応答	48
3-3-5	呼吸交換比(RER)	49
3-3-6	脂質分解および脂質酸化量	49
3-4	考察	59
3-5	結論	62
第4章	総合討論	63
4-1	本研究の成果	63
4-2	本研究結果の応用、限界点および今後の課題	66
第5章	結論	71
	謝辞	73
	参考文献	74

第 1 章 序論

1-1 背景

肥満は欧米を中心に年々増加しており、深刻な社会問題となっている。2010 年経済協力開発機構(organisation for economic co-operation and development : OECD)において発表された報告書によると、約半数の OECD 諸国において 2 人に 1 人が過体重または肥満であると報告されている(1)。また、平成 25 年国民健康・栄養調査では日本の成人肥満者のデータが示されており、男性の 28.6%、女性の 20.3%が肥満であり、日本でも 3~5 人に 1 人が肥満であることがわかる(2)。肥満の原因は、運動不足や過剰なエネルギー摂取による脂肪の蓄積であり、主に内臓脂肪の蓄積が問題となっている(3)。さらに肥満はⅡ型糖尿病や脂質異常症など多くの慢性疾患と関連しており、心血管系疾患のリスクを高めることが知られている(4)。これらの増加は個人の健康だけでなく、医療費増加などの要因にもなっており、肥満を効果的に予防・改善する方策を確立することは急務である。

運動療法は健康の維持・増進や肥満予防に有効である(5-8)。定期的な運動はエネルギー消費量を増加させ、肥満を予防・改善する(9)。そのため、健康や肥満の予防に有効な運動指針やガイドラインが示されている。厚生労働省は平成 25 年に身体活動(安静している状態よりも多くのエネルギーを消費するすべての活動)、運動指針「エクササイズガイド 2013」を発表した。このエクササイズガイドでは、週 23 メッツ・時間[身体活動の強度(メ

メッツ：安静時の何倍に相当するかを表す単位)×身体活動の実施時間]以上の活発な身体活動を推奨しており、23メッツ・時間のうち、4メッツ・時間は運動の実践を推奨している(10)。アメリカスポーツ医学会(american college of sports medicine：ACSM)や世界保健機構(world health organization：WHO)などの身体活動・運動指針ガイドラインでは、1週間に5日以上、1回30分以上の運動を推奨している(9,11)。ただし、これらの運動指針では、推奨される運動量や運動継続時間を示しているものの、運動実施時間帯に関する記述はなされていない。

生活様式や勤務形態の多様化により各個人の運動実施可能な時間帯は異なる。運動を実施している時間帯を調査した日本国内の様々な地域の報告書によると、朝または夕方の時間帯で運動を行っているヒトの割合が高い(12-14)。青森県の調査では、午前中に運動を行うヒトの割合は21.2%、夕方以降に運動を行うヒトの割合は32.1%で、約53%のヒトが朝または夕方で運動を行っていると答えており、朝または夕方以降の時間帯で運動を行うヒトの割合が高いことがわかる(12)。運動を行っている人々の主な狙いは、健康の維持・体力づくりや肥満の予防・改善などと考えられる。平成25年文部科学省の体力・スポーツに関する世論調査によると、運動を実施する目的として回答者の約60%が健康の維持や改善のためであると答えており(15)、運動を通じた健康の維持・改善効果を期待している。しかしながら、朝と夕方の運動実施時間帯の違いが健康の維持・改善効果に与える影響については不明な点が多い。特に、肥満の予防や改善には運動による代謝応答が重要であるが、朝と夕方の運動が代謝応答に及ぼす影響は明

らかでない。肥満の予防や改善のためにより効果的な運動実施時間帯を検討する上で、朝と夕方の運動実施時間帯の違いが代謝応答に及ぼす影響を検討することは重要である。

代謝応答に関連する内分泌系および神経系は日内変動を示す(16,17)。その中には肥満の発症に重要な役割を果たす種々のサイトカインや、エネルギー代謝に関連するカテコラミンやコルチゾールなどが含まれている(18-20)。先行研究においてコルチゾール濃度は、早朝起床前に最大となり、その後一日を通して徐々に減少することが示されている(19)。さらに、カテコラミンは日内変動の影響を受け、朝と比較して日中にかけて濃度が高くなることが報告されている(18)。これらは安静時ならびに運動時のエネルギー代謝に影響を与える。そのため、異なる運動実施時間帯において代謝応答に違いが見られる可能性がある。

運動における肥満の予防・改善効果を高めるためには、運動強度の再現や運動の遂行が容易であり、持続できる運動が重要である。先行研究において、運動習慣を持っていないヒトにとって高強度での運動は、実行や継続が困難であり(21,22)、心血管系のリスクの上昇や整形外科的障害に繋がる可能性がある(23)。そのため、運動療法を通じた肥満の予防・改善のためには、取り組みやすく、安全に行うことができる中等度強度を考慮する必要があると考えられる。

朝と夕方の運動実施時間帯の違いが中等度強度時の代謝応答に及ぼす影響を解明することは、よりの確かつ効果の高い運動療法作成のために極めて重要であると考えられる。また、本研究が完成することにより様々な運動ガイドラインにおいて運動実施

時間帯を考慮する必要性を提言でき、また異なる運動実施時間帯における効果や有益性の理解が深まると考えられる。

そこで、本研究では運動実施時間帯に着目し、朝と夕方の運動実施時間帯の違いが持久性運動時における効果および有益性について検討することを目的とし、以下の検討課題Ⅰ～Ⅲを実施した。

検討課題Ⅰ 運動実施時間帯が異なる一過性持久性運動時におけるホルモン応答が脂質代謝応答に及ぼす影響

検討課題Ⅱ 朝と夕方の一過性持久性運動が炎症性サイトカインに及ぼす影響

検討課題Ⅲ 朝と夕方の異なる運動強度の一過性持久性運動が脂質代謝応答に及ぼす影響

第 2 章 文献研究

2-1 運動実施時間帯と代謝応答

代謝応答に影響を与えるコルチゾールやカテコラミンなどの種々の生理学的変数において日内変動が示されている(18-20)。コルチゾールは早朝の起床前に最大となり、一日を通して徐々に減少する(19,24,25)。一方、カテコラミンは朝から日中にかけて上昇する日内変動を有することが報告されている(17,18,25)。これらは運動に反応して血中濃度が増加し、脂質代謝の亢進や抗炎症作用をもつことが示されている(26,27)。先行研究において、朝と夕方の運動実施時間帯の違いにおけるコルチゾールの反応は、夕方に比べ朝の方が大きくなることが報告されている(28)。しかしながら、他の先行研究では朝と夕方の運動に対するコルチゾールの反応に異なる変動は認められておらず(29,30)、一致した見解は得られていない。一方、朝と夕方の異なる運動実施時間でのカテコラミンの反応は、朝と比較して夕方で運動に対する変動が大きくなることが示されている(18)。また、カテコラミンはエネルギー基質代謝に重要な役割を果たしている(31,32)。先行研究において、カテコラミンは特異的な受容体と結合して筋肉や脂肪組織などに作用して血中へケトン体や遊離脂肪酸(free fatty acids: FFA)などを放出し、生体組織での利用を促進させることが示されている(27,32)。そのため、異なる運動実施時間帯における脂質分解作用などの代謝反応において相違が見られる可能性がある。しかしながら、朝と夕方といった運動実施時間帯の違いにおける

生体への影響についての詳細な検討はなされていない。カテコラミンは代謝応答に重要な役割を担っているため、朝と夕方の運動実施時間帯の違いにおける代謝応答の違いを明らかにすることは重要な課題である。

運動実施時間帯の違いが代謝応答に及ぼす影響を検討した研究は、これまでに少数報告されてきた(33,34)。しかしながら、それらの結果は一致しておらず、運動実施時間帯の違いが代謝応答に及ぼす影響はいまだ明確になっていない。この理由として、運動実施時間帯以外の要因、つまり被験者の身体的特徴や食事摂取などが影響していると推測される。運動実施時間帯の相違が持久性運動に及ぼす効果を明確にするためには、それらの違いを統制した検討が必要となる。そこで、異なる運動実施時間帯の影響を明らかにする方法の一つとして考えられたのが、運動前のエネルギー摂取量を統一した一過性持久性運動時の代謝応答の検討である。この方法を用いることで、異なる運動実施時間帯に対する運動の効果をより正確に検証することができると考えられる。

2-2 炎症性サイトカインと代謝応答

これまで、脂肪組織は余剰なエネルギーを中性脂肪として蓄積する貯蔵臓器と考えられてきたが、サイトカインと総称される様々な生理活性物質を活発に産生・分泌する内分泌器官としても認識されるようになってきている(35,36)。肥満では、脂肪細胞の肥大化により、腫瘍壊死因子(Tumor Necrosis Factor : TNF)- α やインターロイキン(Interleukin : IL)-1 β などの炎症性サイトカ

インの産生調節の破綻が起こり、肝臓や筋肉などの受容体に作用し、インスリン抵抗性や脂質異常症などを惹起させる(37)。TNF- α は炎症カスケードによって生成される最初のサイトカインであり、インスリンシグナル伝達の阻害と直接関連している(38)。実際に TNF- α の増加は、インスリン抵抗性と関連することが示されている(39)。一方、IL-6 は炎症・抗炎症作用を有する多機能サイトカインとして知られている(38)。健常者を対象とした先行研究において、運動における IL-6 の増加は、抗炎症サイトカインの分泌刺激などの生理的に有益な役割を果たしていることが示されている(40)。さらに、IL-6 は運動時の筋収縮作用により筋細胞から放出され、エネルギー基質代謝に影響を与えることが示されている(41)。実際に一過性運動における IL-6 濃度の増加は、脂質分解を促進させることが明らかになっている(42)。しかしながら、ヒトを対象とした IL-6 のエネルギー基質代謝応答に及ぼす影響を検討した先行研究は注入による検討がほとんどであり(43,44)、運動における IL-6 の変動が代謝応答に及ぼす影響を検討した研究は少ない。さらに注入における血漿 IL-6 濃度の増加はかなり大きく、運動療法で推奨されている運動強度では同様の増加を得られることは難しい(40)。それゆえ、運動ガイドラインにおいて推奨されている中等度強度以下での IL-6 の変動が生体に及ぼす影響を検討することは重要であると考えられる。

TNF- α および IL-6 は、日内変動を有しており、コルチゾールと類似した変動を示すことが報告されている(45)。しかしながら、異なる運動実施時間帯におけるそれらの応答の違いについての

検討はなされていない。先行研究において、IL-6の増加はカテコラミンによって媒介されることが示されている(46)。運動実施時間帯の違いにおけるカテコラミンの応答が異なることから、IL-6の運動実施時間帯の違いにおけるその応答はカテコラミンの影響を受けて異なる変動を示す可能性がある。そのため、朝と夕方の運動実施時間帯の違いにおける炎症性サイトカインの変動を検討することは、カテコラミンなどとの関連を明らかにする上で重要である。

2-3 運動強度と代謝応答

定期的な運動は生活習慣病や肥満の予防・改善のための方法として用いられている(5-8)。運動がそれらの予防・改善に有効な理由の一つとして、運動により引き起こされるエネルギー消費量の増加が考えられる。運動において消費されるエネルギー基質は主に糖質や脂質であり、酸化されるエネルギー基質の割合は運動強度によって異なることが示されている(47,48)。先行研究において、低強度($25\% \dot{V}O_2\max$)、中等度強度($65\% \dot{V}O_2\max$)、高強度運動($85\% \dot{V}O_2\max$)のグルコースと脂質酸化について比較検討を行ったところ、運動中に酸化されるグルコースは運動強度が高くなるにつれ増加し、脂質酸化量は中等度強度運動において低強度および高強度運動に比べ最も高値を示すことが示唆された(47)。他の先行研究においても異なる運動強度における運動中のエネルギー基質酸化量を検討し、ほぼ同様の結果が得られている(48)。すなわち、中等度強度以下での運動が運動中に最も効率よく脂質

を酸化させることを示している。したがって運動中に最も脂質を効率よく利用できる運動強度は肥満の運動療法として有効であると考えられ、様々な運動ガイドラインにおいて中等度強度以下の運動が推奨されている(6,8)。しかしながら、中等度強度以下という強度範囲は広く、中等度強度範囲内でも強度に応じて基質代謝応答は異なる可能性がある(49)。

肥満の予防・改善のための運動の効果エネルギー基質酸化量、特に脂質酸化量において評価する際、近年では漸増運動負荷試験中において脂質酸化量の最大値を示す運動強度である最大脂質酸化量時運動強度(Fat_{max})が注目を浴びており、その強度は換気性作業閾値以下、もしくは乳酸性閾値とほぼ一致する(50-52)。 Fat_{max} での運動は運動中の脂質酸化量が最大値を示すため、 Fat_{max} は肥満の予防・改善に最も効果的であると推測される(53,54)。しかしながら、漸増運動負荷試験において算出された Fat_{max} が長時間運動時においても最大脂質酸化量を示すかどうかは明らかでない。したがって、中等度強度以下での運動強度の違いがエネルギー基質酸化に及ぼす影響について検討することは、肥満の予防・改善により有効な運動強度を明らかにするための重要な課題である。

第 3 章 検討課題

第 1 節 運動実施時間帯が異なる一過性持久性運動時におけるホルモン応答が脂質代謝応答に及ぼす影響(検討課題 I)

1-1 緒言

定期的な運動は肥満に関連する疾患の予防・改善に有用である(7,54)。特に肥満の予防・改善には中等度強度で一日 30 分以上の有酸素運動が効果的であることが、様々な運動指針やガイドラインにおいて示されている(9)。しかしながら、これらのガイドラインでは推奨される運動量や運動継続時間は示されているが、運動実施時間帯にまでは言及していない。この理由の一つとして、運動実施時間帯の違いが生体に与える影響について十分な検討がされていないことがあげられる。現代の社会では、生活様式や勤務形態の多様化により各個人の運動実施可能な時間帯は異なる。よって、運動実施時間帯の違いが代謝関連指標ならびにホルモン応答に及ぼす影響について検討することは、よりの確かつ効果の高い運動処方を考える上で重要であると考えられる。

神経系ならびに内分泌系は日内変動を有するため(16)、運動に対する代謝系の応答は朝と夕方異なる可能性がある。カテコラミン濃度は朝と比較して夕方高くなる日内変動を示し(55)、運動刺激によっても著しく増加し、脂質分解を促進することから(27)、夕方の運動は朝より脂質分解を促進する可能性がある。しかしながら、朝あるいは夕方の運動によるカテコラミンの応答ならびに代謝系の応答は明らかではない。

これまでに運動実施時間帯の違いが代謝に及ぼす影響を検討した研究がいくつか報告されているが、結果は一致していない(33,34)。また、先行研究では朝および夕方に運動を実施する前の食事の管理がされているものが少ない。運動中のエネルギー代謝は食事の影響を受けるため(56)、朝および夕方の運動時の脂質酸化量を比較する上で、食事の統制は必須である。

そこで本研究では、運動前のエネルギー摂取量および栄養成分を統一して朝と夕方に中等度強度の一過性持久性運動を実施し、運動前、運動負荷時、運動負荷終了後の血液代謝関連指標、ホルモン応答ならびに基質酸化に及ぼす影響について検討することを目的とした。朝と夕方の運動時における代謝関連指標ならびにホルモン応答に相違が認められるならば、肥満の予防や改善に有効な運動実施時間帯を提言する基礎資料となることが期待される。

1-2 方法

1-2-1 対象者

対象者は喫煙習慣および定期的な運動習慣のない健康な若年男性 10 名とした。対象者の身体特性を Table 1 に示す。実験に先立ち、対象者全員に本研究の概要および安全性について十分な説明をおこない、書面により参加の同意を得た。なお、本研究は早稲田大学のヒトを対象とする研究に関する倫理委員会の承認(2011-096)を得ておこなわれた。

1-2-2 最大酸素摂取量の測定

すべての対象者に漸増式心肺運動負荷試験をおこない最大酸素摂取量($\dot{V}O_2\max$)を算出した。 $\dot{V}O_2\max$ の測定は、午前9時~10時に実施した。運動負荷試験はトレッドミル(FUKUDA電子社製 MAT-2700)を用い、1分毎に傾斜と速度が増加するトレッドミル用ランプ負荷法により実施した。運動負荷試験中の呼気ガス分析には呼気ガス分析器(ミナト医科学社製 AEROMONITOR AE300S)を用い、ブレスバイブレス法で30秒ごとの平均値を算出した。 $\dot{V}O_2\max$ は、1)酸素摂取量のプラトー、2)呼吸交換比(respiratory exchange ratio: RER)が1.1以上、3)心拍数が年齢別予測最高心拍数(220-年齢)の90%に到達することの3つの条件のうち2つ以上を満たすことを条件とした(57)。

1-2-3 実験プロトコール

対象者は実験2日前からの激しい運動の実施、アルコール類及びカフェイン類の摂取を禁止するよう指示した。また対象者には実験開始3時間前に規定の食事を摂るよう指示し、提供した食事、水以外の飲食を禁止した。規定の食事は580kcalとし、エネルギーに占めるタンパク質、脂質、糖質の割合はそれぞれ、5.7%、34.4%、59.9%であった。本実験は、2つの異なる運動条件(朝試行および夕方試行)からなり、すべての対象者に対し2試行を実施した。2試行は無作為化交差比較試験とし、少なくとも1週間以上の間隔をあけて実施した。朝試行では9:00、夕方試行では

17:00 に運動を開始し、運動強度は $60\% \dot{V}O_2\max$ とした。運動強度の設定は負荷開始から 5~10 分間にトレッドミルの傾斜を調整することによりおこなった。運動負荷前の安静時の 5 分間、運動負荷中の 60 分間、運動負荷終了後(60 分間)に呼気ガス分析および心拍数測定をおこない、酸素摂取量($\dot{V}O_2$)、二酸化炭素排出量($\dot{V}CO_2$)、RER、脂質酸化量ならびに糖質酸化量を算出した。また、安静時、運動負荷終了直後ならびに運動負荷終了 2 時間後に採血をおこない、代謝関連指標およびホルモンの濃度を測定した(Figure 1)。

1-2-4 安静時、運動中および運動終了後の基質酸化測定

安静時、運動中および運動終了後の呼気ガスを経時的に採取し、呼気ガス分析器(ミナト医科学社製 AERO MONITOR AE300S)を用いて $\dot{V}O_2$ および $\dot{V}CO_2$ を測定した。運動負荷終了後は椅子に座ってもらい、そのまま 2 時間の座位安静を保ち、運動負荷終了後の回復期とした。それらをもとに朝試行および夕方試行における、運動負荷前の座位安静時の 5 分間、運動負荷中の 60 分間、運動負荷終了後の 60 分間の RER を 30 秒間の平均値で求めた。また、毎分の脂質酸化量および糖質酸化量は下記の式から算出した(58)。

- ・ 脂質酸化量 (g/min) = $1.67 \times \dot{V}O_2$ (L/min) - $1.67 \times \dot{V}CO_2$ (L/min)
- ・ 糖質酸化量 (g/min) = $4.55 \times \dot{V}CO_2$ (L/min) - $3.21 \times \dot{V}O_2$ (L/min)

1-2-5 血液採取

各試行の運動前、運動負荷終了直後、運動負荷終了 2 時間後に肘静脈から採血をおこなった。血液採取後、血清分析用血液は 30 分間室温で静置し、血漿分析用血液はただちに遠心分離機 (KUBOTA 社製卓上小型遠心分離機) にて 3500rpm で 10 分間遠心分離した。遠心分離後、それぞれの採血管から血清、血漿を抽出し、測定まで冷蔵もしくは冷凍 (-80°C) 保存した。

得られた血漿から、アドレナリンおよびノルアドレナリンは HPLC 法、コルチゾールは RIA 固相法、グリセロールは比色法を用いて分析した。

血清からは、総コレステロールはコレステロール脱水素酵素法、high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C)、low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) はアガロース電気泳動法、中性脂肪、FFA は酵素法、インスリンは CLEIA 法、成長ホルモンは RIA 固相法にて分析をおこなった。すべての項目は SRL (Tokyo, Japan) に依頼して分析をおこなった。

1-2-6 血液測定項目の濃度補正

血漿ならびに血清から測定した各項目における運動負荷終了直後、運動負荷終了 2 時間後の濃度は、すべて運動後の血漿量の変化率で補正し、その補正值を統計処理した。なお、血漿量の補正は Dill と Costill (1974) の方法に準じて算出した (59)。

1-2-7 統計処理

全ての測定値は、平均値 \pm 標準誤差で示す。すべての測定項目で試行と時間を要因とする繰り返しのある二元配置分散分析を用いて、post hoc テストには Bonferroni 法を用いた。また、脂質および糖質酸化量の試行間の比較には対応のある t 検定を用いた。すべての統計処理は統計ソフト PASW Statistics 18.0 を用い、有意水準は 5%未満とした。

Table 1. Baseline physical characteristics. (N=10)

	Mean \pm SE
Age (years)	23.0 \pm 0.67
Height(cm)	173.6 \pm 2.09
Body mass(kg)	71.9 \pm 3.63
%fat	16.9 \pm 1.51
BMI(kg/m ²)	23.7 \pm 0.75
Waist circumference(cm)	81.2 \pm 2.64
$\dot{V}O_2\text{max}$ (ml/min)	3622 \pm 167
$\dot{V}O_2\text{max}$ (ml/kg/min)	51.0 \pm 2.6

Data represent the mean \pm standard error, BMI, body mass index.

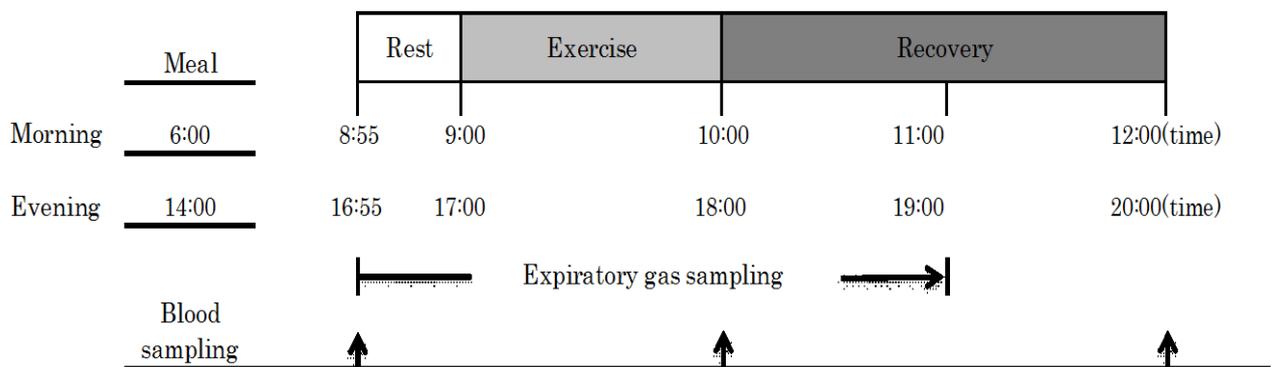


Figure 1. Protocol for exercise and blood sampling in the morning and evening trials.

1-3 結果

1-3-1 酸素摂取量と心拍数

運動前、運動負荷終了直後および運動負荷終了 1 時間後の $\dot{V}O_2$ と心拍数は朝および夕方の両試行間に有意差は認められなかった (Table 2)。

1-3-2 エネルギー基質酸化

朝試行の運動負荷終了後 40 分 ($P < 0.05$)、夕方試行の運動負荷終了後 30 分 ($P < 0.05$) の RER は、各試行の安静時の値より有意に低かった (Figure 2)。しかしながら、安静時、運動負荷時、および運動負荷終了後の RER には両試行間に有意差は認められなかった。また、脂質酸化量と糖質酸化量においても朝試行と夕方試行で有意差は認められなかった (Figure 3)。

1-3-3 ホルモンおよび代謝関連指標

アドレナリン濃度において有意な交互作用が認められ ($P < 0.05$)、運動負荷終了直後 (朝試行 : $176.8 \pm 29.3 \text{ pg/ml}$; 夕方試行 : $344.2 \pm 61.0 \text{ pg/ml}$) において朝試行と比較して夕方試行で有意に高値を示した ($P < 0.05$, Figure 4a)。成長ホルモン濃度には有意な交互作用が認められ ($P < 0.01$)、運動負荷終了直後 (朝試行 : $7.2 \pm 1.6 \text{ ng/ml}$; 夕方試行 : $23.3 \pm 4.3 \text{ ng/ml}$) と運動負荷終了 2 時間

後(朝試行 : $0.1 \pm 0.0\text{ng/ml}$; 夕方試行 : $0.5 \pm 0.2\text{ng/ml}$)において朝試行と比較して、夕方試行で有意に高い値が認められた ($P < 0.01$, Figure 4b)。FFA 濃度は有意な交互作用が認められ ($P < 0.001$)、両試行で運動負荷終了直後に有意な増加が認められた(朝試行 : $P < 0.01$, 夕方試行 : $P < 0.001$)。さらに、夕方試行においてのみ運動負荷終了直後から運動負荷終了 2 時間後にかけて FFA 濃度の有意な増加が認められ ($P < 0.05$)、運動負荷終了 2 時間後(朝試行 : $608.2 \pm 64.0\mu\text{Eq/l}$; 夕方試行 : $1075.6 \pm 125.5\mu\text{Eq/l}$)においてのみ試行間で有意差が認められた ($P < 0.01$, Figure 4c)。

コルチゾール濃度にも試行間において交互作用が認められ ($P < 0.01$)、夕方試行で運動負荷終了直後に比較して運動負荷終了 2 時間後において有意な減少が認められた ($P < 0.001$, Table 3)。しかしながら、ノルアドレナリン、グルコース、インスリン、中性脂肪、総コレステロール、HDL-C、LDL-C は試行間に有意差は認められなかった (Table 3)。

Table 2. Oxygen consumption and HR in the morning and evening.

	Morning			Evening		
	Pre	Post	Post 1 h	Pre	Post	Post 1 h
Oxygen consumption (ml/min)	251.3 ± 10.2	2329.4 ± 133.1	249.8 ± 16.2	245.1 ± 17.4	2364.3 ± 110.9	273.1 ± 20.3
HR (beat/min)	62.6 ± 3.6	161.3 ± 2.2	79.2 ± 2.0	63.2 ± 3.6	160.2 ± 3.7	79.0 ± 3.4

Data represent the mean ± standard error, HR, heart rate, Post 1 h, 1 hour post exercise.

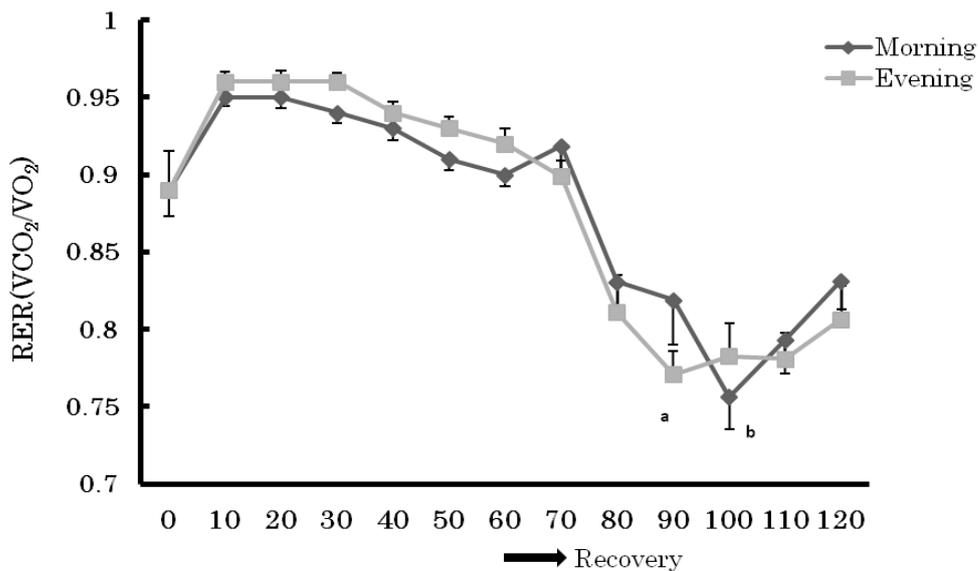


Figure 2. Respiratory exchange ratio (RER) during and after exercise for the morning and evening trial. Data represent the mean ± standard error. ^a $P < 0.05$, significantly different from rest values in the morning trial. ^b $P < 0.05$, significantly different from rest value in the evening trial. The other time points were not significantly.

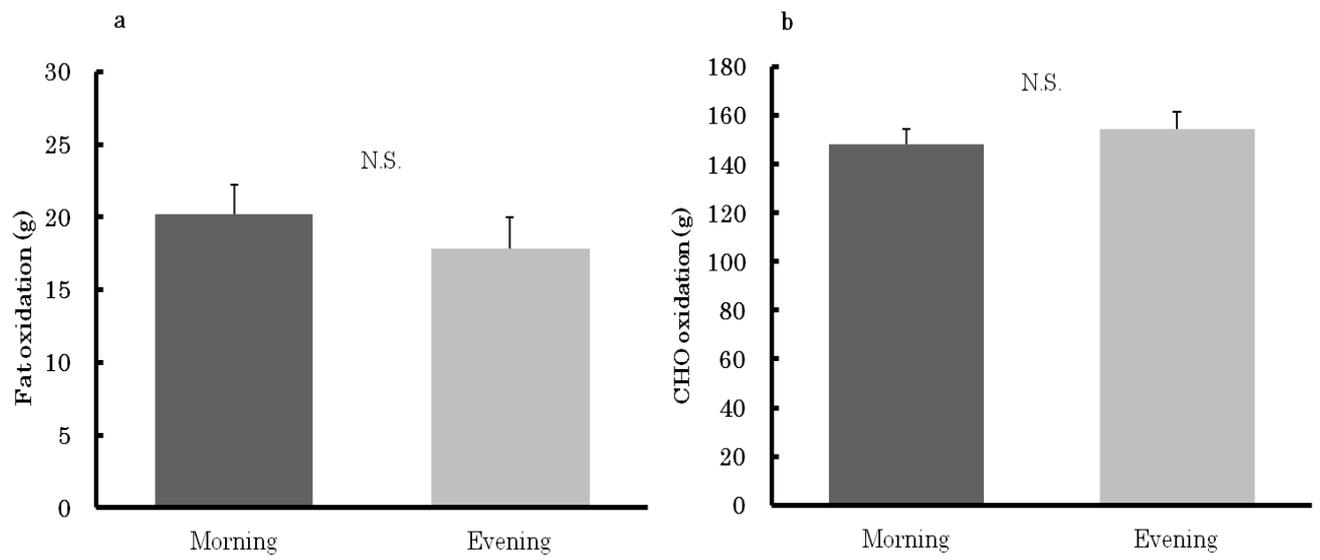


Figure 3. Fat oxidation (a) and Carbohydrate (CHO) oxidation (b) in each trial. Data represent the mean \pm standard error. N.S., not significant.

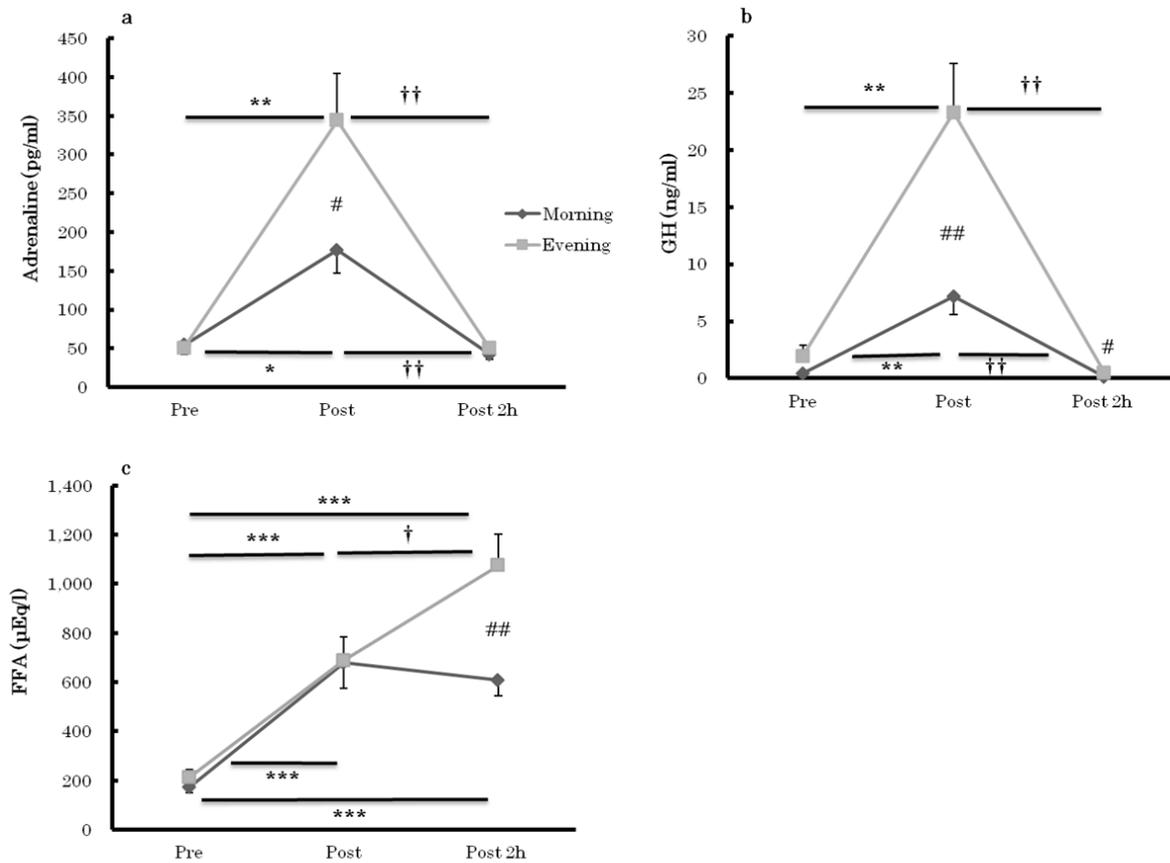


Figure 4. Plasma concentrations of adrenaline (a), growth hormone (GH) (b) and free fatty acids (FFA) (c) before, immediately after and 2 h after exercise. Data represent the mean \pm standard error. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, compared with value at rest. † $P < 0.05$, †† $P < 0.01$, compared with values immediately after exercise. # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, significantly different between the morning and evening values.

Table 3. Changes in blood parameters in the morning and evening.

	Morning			Evening		
	Pre	Post	Post 2 h	Pre	Post	Post 2 h
TG (mg/dl)	157.7 ± 27.6	149.4 ± 41.2	104.0 ± 42.9	132.2 ± 24.3	129.9 ± 21.5	102.8 ± 19.0
Glycerol (mg/l)	18.0 ± 4.2	31.4 ± 2.4	10.8 ± 1.2	16.6 ± 3.4	32.6 ± 3.1	16.9 ± 2.8
T-cho (mg/dl)	172.0 ± 7.9	183.2 ± 23.5	180.1 ± 25.2	173.7 ± 7.2	198.9 ± 13.3	216.5 ± 19.3
HDL-c (mg/dl)	55.8 ± 4.5	57.1 ± 3.8	54.7 ± 3.6	60.1 ± 5.2	67.9 ± 6.7	77.0 ± 9.4
LDL-c (mg/dl)	98.6 ± 8.4	106.7 ± 17.5	99.5 ± 17.4	100.5 ± 7.8	116.9 ± 10.1	129.6 ± 13.8
Glucose (mg/dl)	84.0 ± 3.6	81.2 ± 5.3	86.0 ± 6.4	87.1 ± 3.2	90.7 ± 6.5	105.2 ± 9.8
Insulin (µU/ml)	10.1 ± 1.8	2.7 ± 0.5	4.5 ± 1.2	9.8 ± 2.5	2.4 ± 1.0	3.3 ± 0.6
Cortisol (µg/dl)	16.5 ± 1.8	14.5 ± 2.1	11.3 ± 1.0	12.4 ± 1.8	18.0 ± 1.9	10.1 ± 1.4 ^{†††}
Noradrenalin (pg/ml)	343.7 ± 50.1	1041.6 ± 124.8	378.8 ± 58.1	298.5 ± 33.7	1372.7 ± 178.2	377.7 ± 41.7

Data represent the mean ± standard error, TG, triglyceride, T-cho, total cholesterol, HDL-c, high density lipoprotein cholesterol, LDL-c, low density lipoprotein cholesterol, Post 2 h, 2 hour post exercise. ^{†††} $P < 0.001$ compared with level in immediately after exercise.

1-4 考察

本研究では、一過性持久性運動が代謝関連物質、ホルモン応答および基質酸化に及ぼす影響について、運動実施時間帯(朝と夕方)の違いに着目し研究をおこなった。本研究の主な結果は、運動負荷終了直後におけるアドレナリン、成長ホルモン濃度が夕方試行で高値を示したこと、FFA濃度は運動負荷終了2時間後において夕方試行で高値を示したことである。しかしながら、脂質酸化量には両試行間で相違は認められなかった。

夕方の運動は朝の運動より運動負荷終了後の脂質分解を促進させる可能性がある。成長ホルモンは、ホルモン感受性リパーゼなど脂質分解酵素の活性を刺激することや脂肪細胞でのカテコラミンに対する β -アドレナリン受容体の感受性を高めることなどにより、脂質分解に関与することが報告されている(60)。さらに、成長ホルモンの放出は2~3時間後に脂質代謝関連物質を60~250%上昇させると報告されている(61)。また、ホルモン感受性リパーゼを刺激する成長ホルモンの効果は1~2時間の遅れがあることが報告されている(62)。それゆえ、夕方試行の運動後の脂質分解の亢進に成長ホルモンが関連している可能性が考えられる。

先行研究において、運動に対する成長ホルモンの応答は神経伝達物質の活性変化によって媒介される可能性があり、カテコラミン上昇のような交感神経系の活性化が急性運動に対する成長ホルモンの分泌応答に貢献することが示唆されている(63)。一方、成長ホルモン分泌は運動強度依存的に調節されることが知られ

ている(64)。本研究では朝試行と夕方試行で同等の強度である $60\% \dot{V}O_2\max$ の運動を負荷したにもかかわらず、成長ホルモン濃度が朝試行と比較して夕方試行の運動負荷終了直後に高値を示した。したがって、夕方試行における成長ホルモンの上昇には運動実施時間帯およびカテコラミンの亢進が影響を与えた可能性が考えられる。

カテコラミンは朝と比較して夕方で高くなる日内変動を有している(65)。しかしながら、カテコラミンの日内変動の成因については十分に明らかにされていないところが多く、日内変動の成因は外因性と内因性が両方とも関係していると推測されている(17)。さらに、カテコラミンは代謝調節因子として重要な役割を果たしており(66)、体位変換、運動、ストレスなどの環境の変化や活動により上昇することが報告されている(67)。本研究では夕方試行でアドレナリンが朝試行より運動負荷終了直後に高値を示したが、先行研究においても同様の結果が示されている(27)。ただし、運動実施時間帯によりアドレナリン分泌が異なるメカニズムは明らかでないため、今後の更なる検討が必要である。

血中および筋肉中の FFA は持久性運動時の重要なエネルギー源として知られており(68)、運動中の脂質酸化は FFA 濃度の増加とともに徐々に増加することが知られている(49)。本研究における運動前から運動直後までにおいて両試行とも FFA と脂質酸化量の増加は見られたが、試行間の有意差は認められなかった。また、脂質酸化量は運動負荷終了後 1 時間においても朝試行と夕方試行の間で差は認められなかった。したがって、少なくとも運動前から運動負荷終了後 1 時間までの一過性持久性運動時の脂質

酸化量は運動実施時間帯の影響を受けない可能性が考えられる。しかしながら、先行研究において運動負荷終了後 3 時間まで脂質酸化が亢進することが報告されている(69)。また、本研究では運動負荷終了後 2 時間で FFA 濃度が朝試行と比較して夕方試行で有意に高値を示した。したがって、運動負荷終了後 1 時間以降に脂質酸化量が朝試行に比べ夕方試行で高値を示す可能性が推測される。

1-5 結論

異なる運動実施時間帯に一過性持久性運動を実施し、代謝関連指標ならびにホルモン応答に及ぼす影響について検討した結果、朝と比較して夕方の運動後において脂質代謝亢進に作用するホルモンの分泌が高まり、遊離脂肪酸の血中濃度を増加させることが示唆された。これらのことから、朝と比べて夕方の方が脂質代謝亢進のためにより好ましい運動実施時間帯となる可能性が推測される。

第 2 節 朝と夕方の一過性持久性運動が炎症性サイトカインに及ぼす影響(検討課題Ⅱ)

2-1 緒言

アドレナリンやコルチゾールは運動に応答して濃度が増加し、免疫を調節する効果を有する(70,71)。ヒトを対象としたいくつかの先行研究において IL-6 の分泌は、運動中に増加したカテコラミンによって刺激されることが報告されている(72,73)。さらに、白血球の急性運動による増加はカテコラミンによって媒介される(74,75)。リンパ球の運動後の減少はカテコラミンやコルチゾールの影響を受ける(75)。これらの知見は、運動が交感神経系および視床下部-下垂体-副腎系の活性化により炎症反応や免疫内分泌応答を刺激することを示唆している(76)。

神経内分泌および免疫系などの生理的機能のすべては、日内変動によって影響を受ける(18,77,78)。最近では、TNF- α 、IL-6 および IL-1 β を含む炎症性サイトカインは、日内変動を示すことが報告されている(20,79)。さらに、血漿 IL-6 の増加は基質代謝を促進させることが報告されている(80)。先行研究において、IL-6 注入による血漿 IL-6 濃度の増加は脂質分解および脂質酸化を促進させることが示された(80)。またカテコラミンおよびコルチゾール濃度は急性持久性運動によって増加するが、その応答は朝と夕方の運動において異なる(18,28,81)。カテコラミンは IL-6 分泌の刺激または阻害に関与することが知られている(46,82,83)。したがって、朝と夕方の一過性持久性運動によるカテコラミンと

IL-6 の関連を検討する必要がある。

これらのことから、異なる運動実施時間帯におけるホルモン応答は炎症性サイトカインの変動に影響を与えるかもしれない。しかしながら、運動実施時間帯の違いにおける一過性持久運動の炎症性サイトカイン応答への効果は明らかにされていない。したがって、朝と夕方の運動実施時間帯における一過性持久性運動が炎症性サイトカイン応答に及ぼす影響について比較検討することを本研究の目的とした。

2-2 方法

2-2-1 対象者

対象者は喫煙習慣および定期的な運動習慣のない健康な若年男性 14 名とした(年齢 24.3 ± 0.8 歳; 身長 174.8 ± 1.7 cm; 体重 71.6 ± 2.7 kg; 体脂肪率 $17.5 \pm 1.3\%$; means \pm SE)。実験に先立ち、対象者全員に本研究の概要および安全性について十分な説明を行い、書面により参加の同意を得た。なお、本研究は早稲田大学のヒトを対象とする研究に関する倫理委員会の承認(2011-096)を得ておこなわれた。対象者は全員、BMI < 30 kg/m² であり、疾患・障害を抱えている者、常備薬を服用している者、喫煙歴のある者はいなかった。検討課題 II では検討課題 I のデータに新たなデータを追加して検討をおこなった。

2-2-2 最大酸素摂取量の測定

すべての対象者に漸増式心肺運動負荷試験をおこない $\dot{V}O_2\max$ を算出した。 $\dot{V}O_2\max$ の測定は、午前 9 時~10 時に実施した。運動負荷試験はトレッドミル (FUKUDA 電子社製 MAT-2700) を用い、1 分毎に傾斜と速度が増加するトレッドミル用ランプ負荷法により実施した(84)。運動負荷試験中の呼気ガス分析には呼気ガス分析器 (ミナト医科学社製 AEROMONITOR AE300S) を用い、ブレスバイブレス法で 30 秒ごとの平均値を算出した。 $\dot{V}O_2\max$ の確定には、1) 酸素摂取量のプラトー、2) RER が 1.1 以上、3) 心拍数が年齢別予測最高心拍数(220-年齢)の 90%に到達することの 3 つの条件のうち 2 つ以上を満たすことを条件とした(85)。

2-2-3 実験プロトコール

対象者に対して、実験 2 日前から激しい運動の実施、アルコール類及びカフェイン類の摂取を禁止するように指示した。また対象者には実験開始 3 時間前に規定の食事を摂るように指示し、提供した食事、水以外の飲食を禁止した。規定の食事は 580kcal とし、エネルギーに占めるタンパク質、脂質、糖質の割合はそれぞれ、5.7 %、34.4 %、59.9 %であった。本実験は、2 つの異なる運動条件(朝試行および夕方試行)からなり、すべての対象者に対し 2 試行を実施した。2 試行は無作為化交差比較試験とし、少なくとも 1 週間以上の間隔をあけて実施した。朝試行では 9:00、

夕方試行では 17:00 に運動を開始し、運動強度は $60\% \dot{V}O_2\max$ とした。運動強度の設定は負荷開始から 5~10 分の間にトレッドミルの傾斜を調整することによりおこなった。運動負荷前の安静時の 5 分間、運動負荷中の 60 分間、運動負荷終了後に呼気ガス分析および心拍数測定をおこない、 $\dot{V}O_2$ ならびに $\dot{V}CO_2$ を算出した (ミナト医科学社製 AERO MONITOR AE300S)。

2-2-4 血液採取

各試行の運動前、運動負荷終了直後、運動負荷終了 2 時間後に肘静脈から採血をおこなった。血液採取後、血清分析用血液は 30 分間室温で静置し、血漿分析用血液はただちに遠心分離機 (KUBOTA 社製卓上小型遠心分離機) にて 3500rpm で 10 分間遠心分離した。遠心分離後、それぞれの採血管から血清、血漿を抽出し、測定まで冷蔵もしくは冷凍 (-80°C) 保存した。

得られた血漿から、TNF- α 、IL-6 および IL-18 は ELISA 法、アドレナリンおよびノルアドレナリンは HPLC 法、コルチゾールは RIA 固相法を用いて分析した。

血清からは、C 反応性タンパク (C-reactive protein : CRP) はラテックス免疫比濁法、FFA は酵素法にて分析をおこなった。アドレナリン、ノルアドレナリン、コルチゾール、CRP、FFA は SRL (Tokyo, Japan) に依頼して分析をおこなった。

2-2-5 血液測定項目の濃度補正

血漿ならびに血清から測定した各項目における運動負荷終了直後、運動負荷終了 2 時間後の濃度は、すべて運動後の血漿量の変化率で補正し、その補正值を統計処理した。なお、血漿量の補正は Dill と Costill (1974) の方法に準じて算出した(59)。

2-2-6 統計処理

全ての測定値は、平均値 ± 標準誤差で示した。すべての測定項目に対して試行と時間を要因とする繰り返しのある二元配置分散分析を用い、post hoc テストには Bonferroni 法を用いた。また、ピアソン相関係数を用いて、IL-6 と FFA 間の関連を算出した。すべての統計処理は統計ソフト PASW Statistics 18.0 を用いて行い、有意水準は 5%未満とした。

2-3 結果

2-3-1 ホルモン応答

血漿アドレナリン、ノルアドレナリン、コルチゾールの濃度において試行間で有意な交互作用が認められた($P < 0.01$, $P < 0.05$, and $P < 0.05$, respectively)。さらに、アドレナリンにおいてのみ運動負荷終了直後(朝試行: 161.6 ± 22.7 pg/ml; 夕方試行: 297.3 ± 47.9 pg/ml)で朝試行と比較して夕方試行で有意に高値を示した($P < 0.05$)。一方、運動負荷終了直後の血漿ノルアドレナリンは試行間で有意差は認められなかった。コルチゾール濃度においては、朝試行が夕方試行と比べて運動前有意に高い値が認められた($P < 0.05$) (Figure 5 a,b,c)。

2-3-2 サイトカインおよび CRP

血漿 IL-6 および TNF- α において有意な交互作用が認められた($P < 0.05$, both)。血漿 IL-6 における運動負荷終了直後において朝試行と比べて夕方試行で有意に高い濃度が認められた($P < 0.01$) (Figure 5d)。一方、血漿 TNF- α において夕方試行に比較して朝試行で運動前、有意に高い濃度が認められた($P < 0.05$)。血漿 IL-1 β および血清 CRP においては有意な交互作用が認められなかった(Table 4)。

2-3-3 脂質分解

FFA 濃度は有意な交互作用が認められ ($P < 0.05$)、両試行で運動負荷終了直後に有意な増加が認められた(朝試行 : $P < 0.001$, 夕方試行 : $P < 0.001$)。さらに、夕方試行においてのみ運動負荷終了直後から運動負荷終了 2 時間後にかけて FFA 濃度の有意な増加が認められ ($P < 0.05$)、運動負荷終了 2 時間後(朝試行 : $657.9 \pm 61.2 \mu\text{Eq/l}$; 夕方試行 : $986.3 \pm 101.3 \mu\text{Eq/l}$)においてのみ試行間で有意差が認められた ($P < 0.05$)。さらに、夕方試行における運動負荷終了直後の血漿 IL-6 と運動負荷終了 2 時間後の FFA の間において有意な正相関が認められた ($r = 0.68$; $P < 0.01$) (Figure 6)。

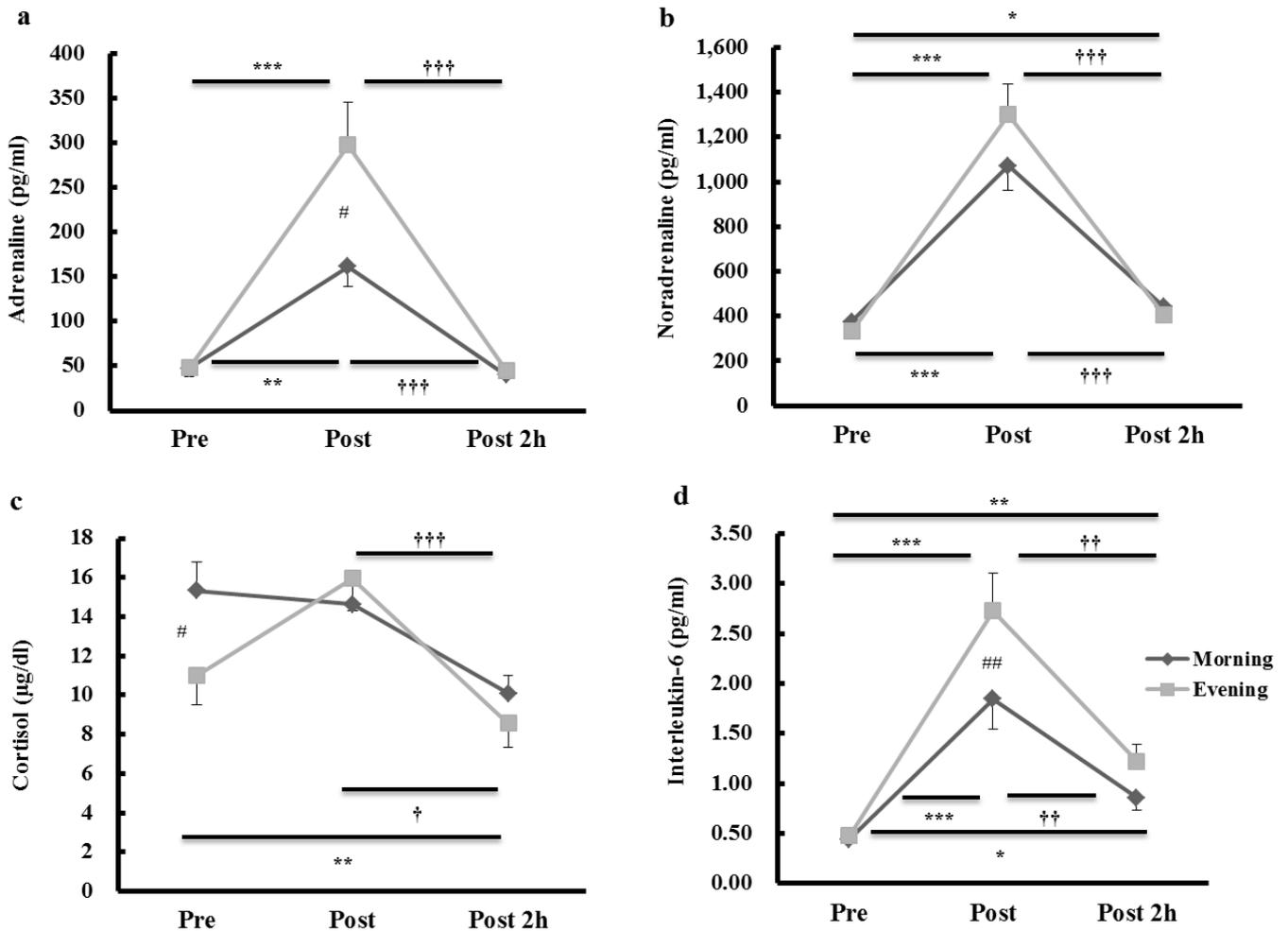


Figure 5. Changes in plasma hormones and IL-6 during morning and evening of acute endurance exercise. Plasma concentrations of adrenaline (a), noradrenaline (b), cortisol (c) and interleukin-6 (d) before (Pre), immediately after (Post), and 2 h after (Post 2 h) exercise. Data represent the mean \pm standard error. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, and *** $P < 0.001$, compared with values at pre-exercise. † $P < 0.05$, †† $P < 0.01$, and ††† $P < 0.001$, compared with values immediately after exercise. # $P < 0.05$ and ## $P < 0.01$, significant difference between the morning and evening values.

Table 4. Changes in plasma cytokines and serum CRP in the morning and evening (N = 14).

	Morning			Evening		
	Pre	Post	Post 2h	Pre	Post	Post 2h
TNF- α (pg/ml)	0.59 \pm 0.14 [#]	0.56 \pm 0.13	0.60 \pm 0.12	0.52 \pm 0.12	0.60 \pm 0.12	0.62 \pm 0.14
IL-1 β (pg/ml)	0.18 \pm 0.05	0.14 \pm 0.03	0.14 \pm 0.02	0.14 \pm 0.02	0.19 \pm 0.04	0.16 \pm 0.03
CRP (mg/dl)	0.04 \pm 0.01	0.04 \pm 0.01	0.04 \pm 0.01	0.05 \pm 0.01	0.05 \pm 0.01	0.05 \pm 0.01

Data represent the mean \pm standard error, TNF- α , Tumour necrosis factor-alpha; IL-1 β , Interleukin-1 β ; CRP, C-reactive protein. [#] $P < 0.05$ compared with level (Pre) in the Evening trial.

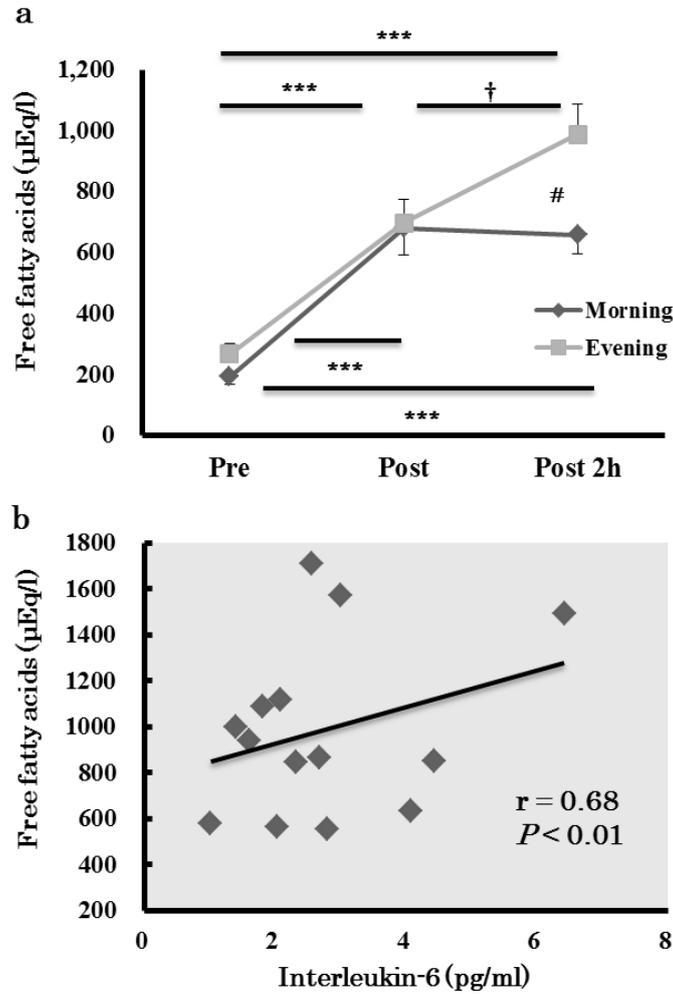


Figure 6. (a) The relationship between the free fatty acids and IL-6 during morning and evening of acute endurance exercise. Serum concentrations of free fatty acids before (Pre), immediately after (Post), and 2 h after (Post 2 h) exercise. Data represent the mean \pm standard error. *** $P < 0.001$, compared with values at pre-exercise. † $P < 0.05$, compared with values immediately after exercise. # $P < 0.05$, significant difference between the morning and evening values. (b) The relationship between levels of interleukin-6 immediately after exercise and free fatty acids 2 h post exercise in the evening ($r = 0.68$, $P < 0.01$).

2-4 考察

本研究は、異なる運動実施時間帯における一過性持久性運動が血中ホルモンおよびサイトカインの応答に及ぼす影響を検討した研究である。本研究の主な結果は、朝と夕方の 60 分間の一過性持久性運動における血漿 IL-6 の濃度は朝試行と比べて夕方試行において運動負荷終了直後で有意に高い濃度が認められたこと、血漿アドレナリン濃度において夕方試行が朝試行と比較して運動負荷終了直後で有意に高い濃度が認められたこと、夕方試行において運動負荷終了 2 時間後の FFA と運動負荷終了直後の血漿 IL-6 との間に正相関が認められ、夕方試行の運動負荷終了後において脂質分解が朝試行より亢進されることが示された。これらの知見から、一過性持久性運動におけるサイトカインおよびホルモン応答において朝と比較して夕方で亢進されることが示され、一過性持久性運動を朝に行うか、夕方に行うかによって運動負荷終了後の脂質分解反応が影響される可能性を示唆している。

本研究における 60 分間の一過性持久性運動において、血漿アドレナリンおよび IL-6 の濃度が朝試行と比べて夕方試行で運動負荷終了直後に有意に高値を示した。アドレナリンは IL-6 の放出を促すが(46,82)、ノルアドレナリンは IL-6 の放出抑制および促進の作用を同時に持っている(83)。さらに、カテコラミン(アドレナリン、ノルアドレナリン)の朝と夕方の運動に対する応答は異なることが示されており、朝と比べて夕方でその応答は高いことが報告されている(18)。本研究における血漿アドレナリンの濃度は朝と比べて夕方で運動負荷終了直後において有意に高値を

示し、先行研究と一致した結果が得られた(18)。しかしながら、血漿ノルアドレナリンにおいては両試行で有意な違いは認められなかった。しかしながら血漿アドレナリンの朝と夕方の一過性持久性運動における応答の違いは明らかにされておらず、今後更なる検討が必要である。

IL-6 は炎症および免疫調節に重要な役割を持っている多機能サイトカインとして知られており、運動強度や運動継続時間に応じて運動中および運動負荷終了後に増加することが示されている(38)。IL-6 は運動中の骨格筋の収縮作用によって筋細胞および脂肪組織から分泌され、基質代謝に影響を与えると考えられている(40,86)。先行研究において血漿 IL-6 の増加は、FFA の濃度を増加させ、脂質分解の亢進に影響を与えていることが報告されている(42,43)。また、脂質分解の亢進は IL-6 注入後 2 時間まで維持されることが示されている(42,43)。本研究における FFA は朝と比べて夕方で運動負荷終了 2 時間後に有意に高い濃度を呈していた。さらに夕方においてのみ、運動負荷終了直後の IL-6 と運動負荷終了 2 時間後の FFA の間で有意な相関が認められた。しかしながら、朝の運動負荷終了直後との間では有意な相関が認められなかった。したがって、一過性持久性運動による血漿 IL-6 増加の脂質代謝亢進への寄与は朝と比べて夕方で高いと推測される。また一過性持久性運動における血漿 IL-6 濃度の増加は、TNF- α の炎症性カスケードに依存せず、骨格筋の収縮によって産生される(87)。実際、本研究では朝と夕方の一過性持久性運動において TNF- α 応答に有意な変化は認められなかった。したがって一過性持久性運動における IL-6 応答は、部分的に骨格筋の収

縮作用に起因している可能性が考えられる。これらのことから、朝と夕方の一過性持久性運動における血漿アドレナリンおよびIL-6の濃度は朝と比べて夕方で有意に高く、アドレナリンはIL-6の変動に関与していることが示唆された。また、一過性持久性運動による血漿IL-6増加は脂質分解亢進に影響を与えている可能性がある。

朝と夕方の一過性持久性運動における血漿コルチゾール応答において違いは認められなかった。コルチゾールは、抗炎症作用を有する免疫系および神経内分泌調節における主要な因子であることが示されており、多数の炎症性サイトカインと負の相関を示すことが報告されている(88)。さらに運動に対するコルチゾールの応答は、夕方に比べて朝で有意に高いことが報告されている(28)。しかしながら、他の先行研究では試行間で有意な変化は認められなかった。運動に対するコルチゾールの応答は、運動強度、運動継続時間および食事などの要因によって影響されることが示されている(29,30)。先行研究では、食事の統制が行われておらず、コルチゾールの応答に影響を与えた可能性が推測される。一方、本研究では運動前の食事だけでなく、運動強度および運動継続時間を統制している。したがって、一過性持久性運動に対するコルチゾールの応答は、朝と夜のような異なる時間帯に影響されないことが示唆された。

2-5 結論

夕方の一過性持久性運動は、朝の一過性持久性運動に比較して血漿 IL-6 およびアドレナリン濃度を亢進させることが示唆された。また、血漿 IL-6 は脂質代謝亢進に作用するホルモンとして働き、運動負荷終了後の FFA の血中濃度を増加させる可能性が示唆された。これらの結果から、朝と比べて夕方の方が脂質代謝亢進に及ぼす運動の有益な効果は高いかもしれない。

第 3 節 異なる運動強度における朝と夕方の一過性持久性運動が脂質代謝応答に及ぼす影響(検討課題Ⅲ)

3-1 緒言

運動中に脂質酸化量が最大値になる運動強度は Fat_{max} と呼ばれており、 Fat_{max} は最大脂質酸化量を示す運動強度であることから、体重減少や脂質代謝に最も効果的であると推測されている(50,53,89)。また、 Fat_{max} は中等度強度以下で示されることが報告されている(50,51)。しかしながら、漸増運動負荷試験により求めた Fat_{max} が長時間運動時にも最大の脂質酸化を得られる運動強度になるとは限らない。 Fat_{max} とそれ以下および以上の運動強度で長時間運動時の脂質酸化量を比較した先行研究では、各運動強度間に脂質酸化量の差は認められず、 Fat_{max} が長時間運動時にも脂質酸化量を最大にする運動強度であるか否かは議論の余地があると指摘している(90)。肥満を予防・改善する上で、運動により多くの脂質を酸化させることは重要である。それゆえ、長時間運動時に最も脂質を酸化させる運動強度を明らかにすることは重要な課題である。

エネルギー基質代謝に影響を与えるホルモンの分泌は、運動強度に依存する(27,48,60,64)。脂質分解を促進するホルモンであるカテコラミンは高強度で分泌が増大し、 Fat_{max} では運動強度が比較的低いいため増加しないことが示されている(27,48,60,91)。しかしながら、ホルモンの影響を受け増大した血中脂質の全てが酸化されるわけではなく、脂質酸化量は強度に依存して変化する

(47,92)。先行研究において、高強度運動では主に糖質がエネルギー基質として利用されるが、中等度強度以下での運動においては、脂質がエネルギー基質として利用される割合が高く、中等度強度以下の運動を頂点とし減少することが報告されている(47,48)。しかしながら、中等度強度以下という強度範囲は広く、中等度強度範囲内でも強度に応じて基質代謝応答は異なる可能性がある(49)。

さらに、運動によるエネルギー消費量は運動強度と運動継続時間によって規定される。それゆえ、異なる運動強度で同じ時間の運動をおこなった場合、より高強度の運動でエネルギー消費量が大きくなる。先行研究では、 Fat_{\max} より $+10\% \dot{V}\text{O}_{2\text{peak}}$ の強度で脂質酸化量が大きくなる可能性が報告されている(84)。しかしながら、その先行研究では運動継続時間が同様であったため、 Fat_{\max} より $+10\% \dot{V}\text{O}_{2\text{peak}}$ の強度で運動時のエネルギー消費量が大きくなり、運動時の脂質酸化量が過大評価された可能性がある。したがって、運動強度の違いにおける脂質酸化量を評価するためには運動時のエネルギー消費量を統制して検討する必要がある。

運動中の脂質酸化量は、朝と比べて夕方で多くなる可能性がある。先行研究において、漸増運動負荷試験により求めた Fat_{\max} での脂質酸化量は朝と比べて夕方有意に高い値を示し、運動中の脂質酸化量は、朝と比べて夕方大きくなる可能性を示している(33)。その理由として、運動中の酸素摂取量およびエネルギー消費量は朝と比べて夕方高くなるため、脂質酸化量は夕方高くなると推測されている(33,93)。しかしながら、実際に Fat_{\max} において朝と夕方長時間運動をおこなった場合、夕方脂質酸

化量が多くなるか否かは不明なままである。それゆえ長時間運動時に最も脂質を酸化させる運動強度および運動実施時間帯を明らかにすることは重要な課題である。

それゆえ朝と夕方の異なる運動実施時間帯における運動強度の違いが血中ホルモン応答ならびにエネルギー基質酸化に及ぼす影響について検討することを本研究の目的とした。

3-2 方法

3-2-1 対象者

対象者は定期的な運動習慣のない健康な若年男性 9 名とした (年齢 25.6 ± 0.6 歳; 身長 171.3 ± 1.4 cm; 体重 67.5 ± 2.5 kg; 体脂肪率 $15.6 \pm 1.6\%$; means \pm SE)。検討課題Ⅲでは、新たに対象者を募集して検討をおこなった。実験に先立ち、対象者全員に本研究の概要および安全性について十分な説明を行い、書面により参加の同意を得た。なお、本研究は早稲田大学のヒトを対象とする研究に関する倫理委員会の承認(2013-079)を得て実施した。

3-2-2 最大酸素摂取量の測定

すべての対象者に漸増運動負荷試験をおこない、 $\dot{V}O_2\max$ を算出した。 $\dot{V}O_2\max$ の測定は、朝と夕方の運動試行に合わせた運動強度を算出するため、被験者ごとに午前 9 時~10 時、午後 17 時~18 時においてランダムで 2 回実施した。各試行は 1 週間以上間隔をあけておこなった。運動負荷試験はトレッドミル (FUKUDA 電子社製 MAT - 2700) を用い、3 分毎に傾斜と速度が増加する Bruce 法により実施した。運動負荷試験中の呼気ガス分析には呼気ガス分析器 (ミナト医科学社製 AERO MONITOR AE300S) を用い、ブレスバイブレス法で 30 秒ごとの平均値を算出した。 $\dot{V}O_2\max$ は、1) 酸素摂取量のプラトー、2) RER が 1.1 以上、3) 心拍数が年齢別予測最高心拍数 (220-年齢) の 90% に到達す

ることの 3 つの条件のうち 2 つ以上を満たすことを条件とした (57)。

3-2-3 実験プロトコール

対象者には、実験 2 日前から激しい運動の実施、アルコールおよびカフェインの摂取を禁止するよう指示した。また対象者には実験開始 3 時間前に規定の食事 580kcal (タンパク質: 5.7%、脂質: 34.4%、糖質: 59.9%) を摂るよう指示し、提供した食事、水以外の飲食を禁止した。本実験は、4 つの異なる運動条件(朝試行および夕方試行)・(60% $\dot{V}O_2\max$ 試行および Fat_{\max} 試行)からなり、すべての対象者に対し 4 試行を実施した。4 試行は無作為化交差比較試験とし、少なくとも 1 週間以上の間隔をあけて実施した。朝試行では 9 時、夕方試行では 17 時に運動を開始し、運動強度は 60% $\dot{V}O_2\max$ および Fat_{\max} とした。また、最大脂質酸化量は 40 秒ごとにプロットされた脂質酸化量曲線の頂点とし、最大脂質酸化量が示された強度を Fat_{\max} とした。

運動継続時間は、60% $\dot{V}O_2\max$ 試行を 1 時間に設定し、 Fat_{\max} 試行では運動中のエネルギー消費量が 60% $\dot{V}O_2\max$ 試行と等しくなるように調整した時間を被験者それぞれで決定した。エネルギー消費量は、ACSM のガイドラインに基づいて計算された(94)。

運動強度の設定は、負荷開始から 5~10 分間にトレッドミルの傾斜を調整することによりおこなった。また朝試行および夕方試行の 60% $\dot{V}O_2\max$ と Fat_{\max} は、朝と夕方のそれぞれの漸増運動試験から得られた $\dot{V}O_2\max$ を用いて設定をおこなった。運動負

荷前の安静時の 5 分間、運動負荷中、運動負荷終了後(120 分間)に呼気ガス分析および心拍数測定をおこない、 $\dot{V}O_2$ 、 $\dot{V}CO_2$ 、RER、脂質・糖質酸化量を算出した。また安静時、運動負荷終了直後、運動負荷終了 1 時間後ならびに運動負荷終了 2 時間後に採血をおこない、血中ホルモンの濃度を測定した(Figure 7)。

3-2-4 エネルギー基質酸化の測定

安静時、運動中および運動終了後の呼気ガスを経時的に採取し、呼気ガス分析器(ミナト医科学社製 AERO MONITOR AE300S)を用いて $\dot{V}O_2$ および $\dot{V}CO_2$ を測定した。運動負荷終了後は椅子に座ってもらい、そのまま 2 時間の座位安静を保ち、運動負荷終了後の回復期とした。それらをもとに各試行における、運動負荷前の座位安静時の 5 分間、運動負荷中、運動負荷終了後の 120 分間の RER を 30 秒間の平均値で求めた。また、毎分の脂質酸化量および糖質酸化量は下記の式から算出した(58)。

- ・ 脂質酸化量 (g/min) = $1.67 \times \dot{V}O_2$ (L/min) - $1.67 \times \dot{V}CO_2$ (L/min)
- ・ 糖質酸化量 (g/min) = $4.55 \times \dot{V}CO_2$ (L/min) - $3.21 \times \dot{V}O_2$ (L/min)

3-2-5 血液採取

各試行の運動前、運動負荷終了直後、運動負荷終了 1 時間後、運動負荷終了 2 時間後に肘静脈から採血をおこなった。血液採取後、血清分析用血液は 30 分間室温で静置し、血漿分析用血液は

ただちに遠心分離機(KUBOTA 社製卓上小型遠心分離機)にて 3500rpm で 10 分間遠心分離した。遠心分離後、それぞれの採血管から血清、血漿を抽出し、測定まで冷蔵もしくは冷凍(-80°C)保存した。

得られた血漿から、アドレナリンおよびノルアドレナリンは HPLC 法、コルチゾールは RIA 固相法を用いて分析した。

血清からは、FFA は酵素法、成長ホルモンは RIA 固相法にて分析をおこなった。すべての項目は SRL (Tokyo, Japan)に依頼して分析をおこなった。

3-2-6 血液測定項目の濃度補正

血漿ならびに血清から測定した各項目における運動負荷終了直後、運動負荷終了 1 時間後、運動負荷終了 2 時間後の濃度は、すべて運動後の血漿量の変化率で補正し、その補正值を統計処理した。なお、血漿量の補正は Dill と Costill (1974)の方法に準じておこなった(59)。

3-2-7 統計処理

全ての測定値は、平均値 ± 標準誤差で示した。すべての測定項目において繰り返しのある二元配置分散分析を用いた。Post-hoc テストは Bonferroni 法を用いた。統計処理は統計ソフト PASW Statistics 18.0 を用い、有意水準は 5%未満とした。

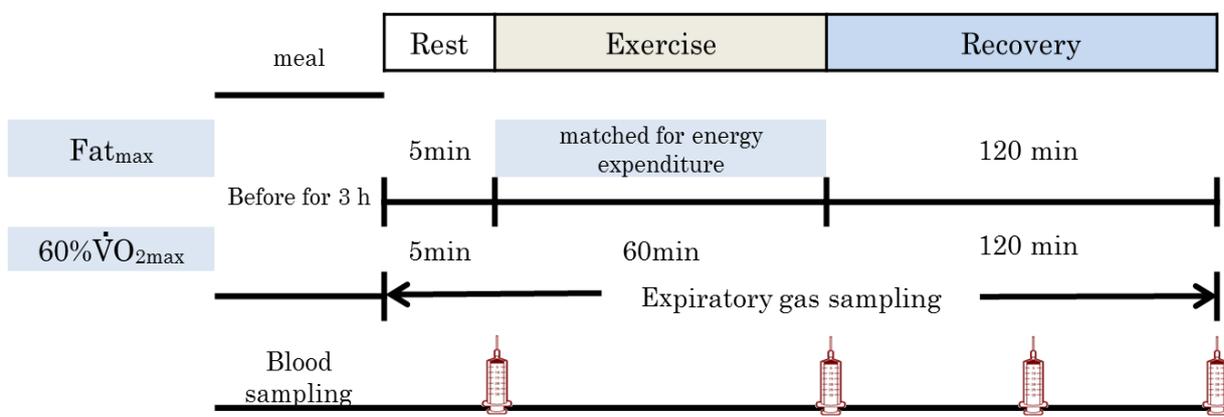


Figure 7. Protocol for exercise and blood sampling in the Fat_{max} and $60\% \dot{V}O_{2max}$.

3-3 結果

3-3-1 $\dot{V}O_2\text{max}$ 、最大脂質酸化量および Fat_{max}

すべての対象者において、漸増運動負荷試験における $\dot{V}O_2\text{max}$ 、最大脂質酸化量や Fat_{max} は朝と夕方間で有意差は認められなかった (Table 5)。

3-3-2 エネルギー消費量

朝と夕方の Fat_{max} 試行および $60\%\dot{V}O_2\text{max}$ 試行において、運動前から回復期までの総エネルギー消費量に有意差は認められなかった (Table 6)。

3-3-3 酸素摂取量および心拍数

運動前、運動負荷終了直後および運動負荷終了 2 時間後の $\dot{V}O_2$ と心拍数は、 Fat_{max} 試行および $60\%\dot{V}O_2\text{max}$ 試行において朝と夕方との間で有意差は認められなかった (Table 7)。

3-3-4 ホルモン応答

それぞれの運動強度の運動前、運動負荷終了直後、運動負荷終了 1 時間後および運動負荷終了 2 時間後のアドレナリン、ノルアドレナリン、成長ホルモン、コルチゾール濃度において有意な交

相互作用は認められず、 Fat_{max} (Figure 8)および $60\%\dot{\text{V}}\text{O}_2\text{max}$ (Figure 9)の朝試行と夕方試行において両試行間で有意差は認められなかった。

3-3-5 呼吸交換比(RER)

RER は、 Fat_{max} 試行および $60\%\dot{\text{V}}\text{O}_2\text{max}$ 試行において朝試行と夕方試行で有意な交互作用は認められなかった(Figure 11)。一方、 Fat_{max} 試行と $60\%\dot{\text{V}}\text{O}_2\text{max}$ 試行の異なる運動強度における RER は、朝試行と夕方試行とも有意な交互作用が認められ、朝試行では Fat_{max} 試行が $60\%\dot{\text{V}}\text{O}_2\text{max}$ 試行に比べて運動負荷終了直後および運動負荷終了 1 時間後で有意に低い値が認められた(Figure 11a)。また、夕方試行では Fat_{max} 試行が $60\%\dot{\text{V}}\text{O}_2\text{max}$ 試行と比べて運動開始 30 分後および運動負荷終了直後において有意に低い値が認められた(Figure 11b)。

3-3-6 脂質分解および脂質酸化量

Fat_{max} の朝と夕方および $60\%\dot{\text{V}}\text{O}_2\text{max}$ の朝と夕方において試行間で運動負荷終了直後 FFA 濃度の有意差は認められなかった(Figure 12)。また、エネルギー基質酸化量を検討した結果、運動実施時間帯および運動強度において有意な交互作用は認められなかった。しかし、脂質酸化量は朝試行と夕方試行とも Fat_{max} 試行が $60\%\dot{\text{V}}\text{O}_2\text{max}$ 試行に比べて有意に高値を示した(Figure 13a)。また、糖質酸化量においては、朝試行と夕方試行とも

60% $\dot{V}O_2\text{max}$ 試行が Fat_{max} 試行に比較して有意に高値を示した (Figure 13b)。

Table 5. Baseline physical characteristics.

	Morning	Evening
$\dot{V}O_{2\max}$ (ml/kg/min)	47.5 ± 1.6	47.5 ± 1.0
Fat _{max} (% $\dot{V}O_{2\max}$)	36.1 ± 1.7	38.2 ± 2.2
MFO (mg/min)	414.0 ± 50.2	457.0 ± 38.4

Data represent the mean ± standard error, MFO, maximal fat oxidation.

Table 6. Total energy utilized CHO oxidation and Fat oxidation during exercise and post exercise in each trial.

	Morning		Evening	
	Fat _{max} (kcal)	60% $\dot{V}O_{2\max}$ (kcal)	Fat _{max} (kcal)	60% $\dot{V}O_{2\max}$ (kcal)
Total energy	787.2 ± 35.8	816.6 ± 27.5	814.5 ± 30.8	818.2 ± 31.5
Energy from CHO	533.7 ± 35.6 [*]	681.9 ± 28.7	566.3 ± 12.1 [#]	683.1 ± 23.4
Energy from Fat	235.5 ± 30.1 [§]	134.7 ± 12.4	248.2 ± 27.6 [†]	135.0 ± 13.2

Data represent the mean ± standard error, CHO, Carbohydrate.

* $P < 0.01$ Fat_{max} VS 60% $\dot{V}O_{2\max}$ in Morning, # $P < 0.01$ Fat_{max} VS 60% $\dot{V}O_{2\max}$ in Evening.

§ $P < 0.01$ Fat_{max} VS 60% $\dot{V}O_{2\max}$ in Morning, † $P < 0.001$ Fat_{max} VS 60% $\dot{V}O_{2\max}$ in Evening.

Table 7. Oxygen consumption and HR in the morning and evening.

60% $\dot{V}O_2$ max	Morning			Evening		
	Pre	Post	Post 2 h	Pre	Post	Post 2 h
Oxygen consumption (ml/min)	270.9 ± 8.9	2080.7 ± 76.9	291.7 ± 16.7	268.0 ± 11.5	2055.4 ± 85.7	296.2 ± 12.5
HR (beat/min)	72.0 ± 2.6	159.7 ± 2.9	83.7 ± 3.9	67.4 ± 2.9	160.8 ± 4.3	82.0 ± 3.9
Fat_{max}						
Oxygen consumption (ml/min)	257.6 ± 5.6	1265.8 ± 103.9	292.0 ± 22.8	277.5 ± 12.7	1427.2 ± 90.1	293.4 ± 17.9
HR (beat/min)	69.7 ± 3.0	122.5 ± 6.9	77.1 ± 3.2	68.5 ± 4.5	126.1 ± 6.9	73.4 ± 5.5

Data represent the mean ± standard error. HR, heart rate, Post 2 h, 2 hour post exercise.

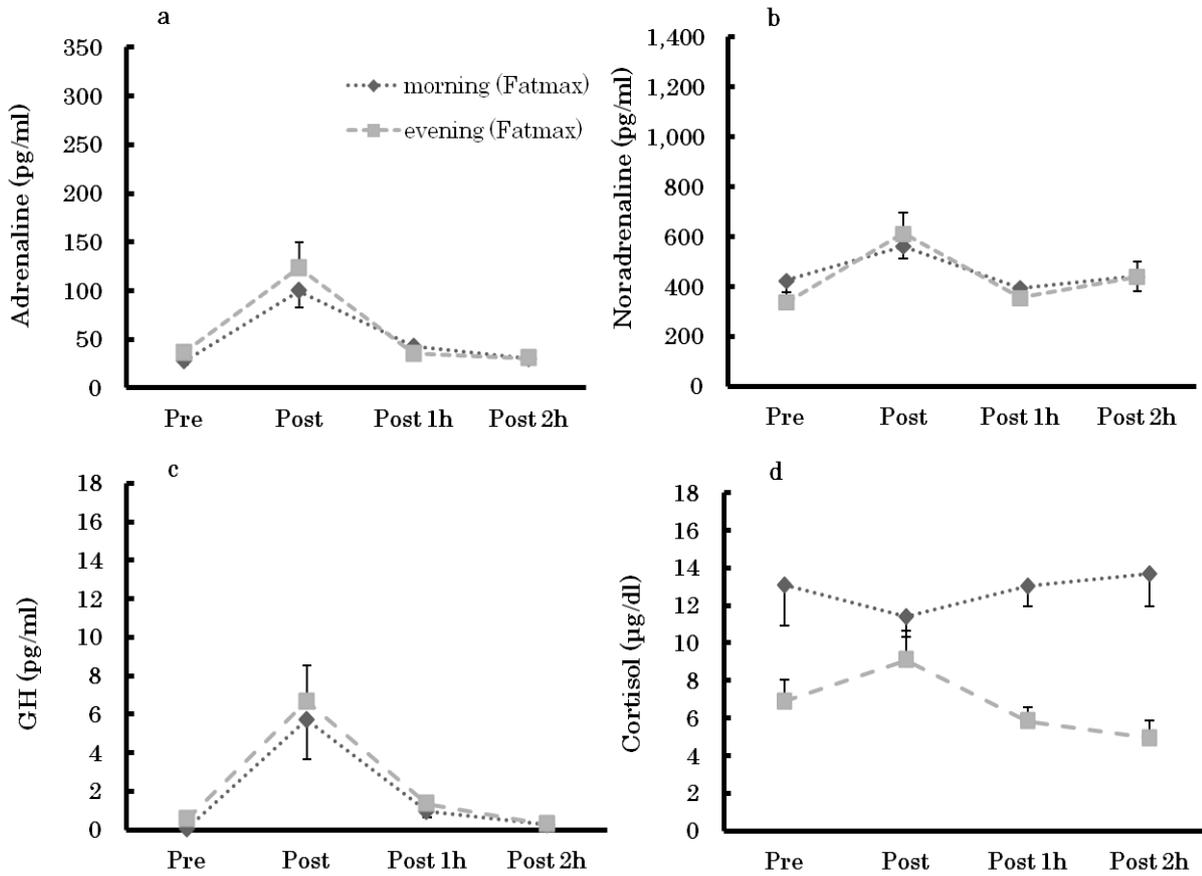


Figure 8. Changes in plasma hormones during morning and evening of Fat_{max} trial. Plasma concentrations of adrenaline (a), noradrenaline (b), growth hormone (c) and cortisol (d) before (Pre), immediately after (Post), 1 h after (Post 1 h) exercise, and 2 h after (Post 2 h) exercise. Data represent the mean ± standard error.

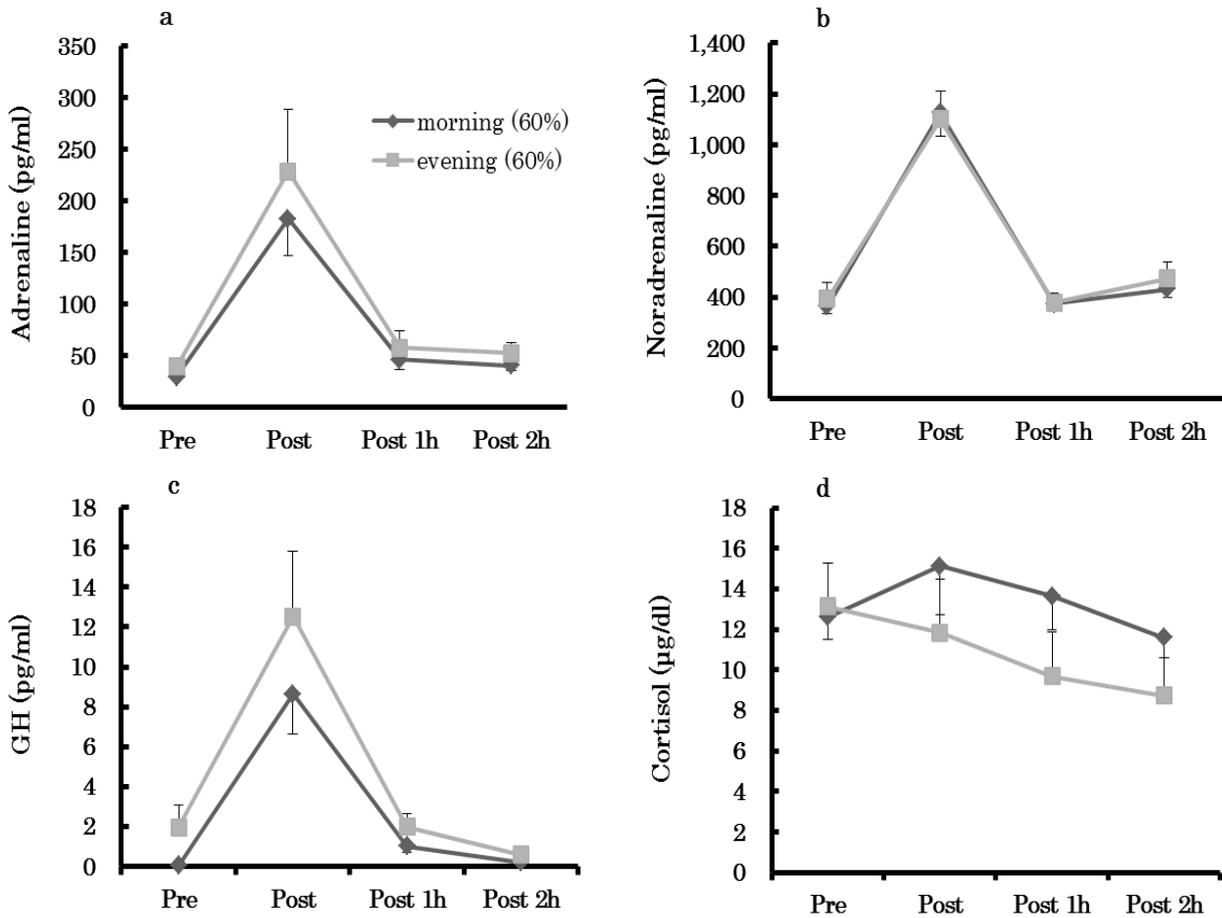


Figure 9. Changes in plasma hormones during morning and evening of 60% $\dot{V}O_2$ max trial. Plasma concentrations of adrenaline (a), noradrenaline (b), growth hormone (c) and cortisol (d) before (Pre), immediately after (Post), 1 h after (Post 1 h) exercise, and 2 h after (Post 2 h) exercise. Data represent the mean \pm standard error.

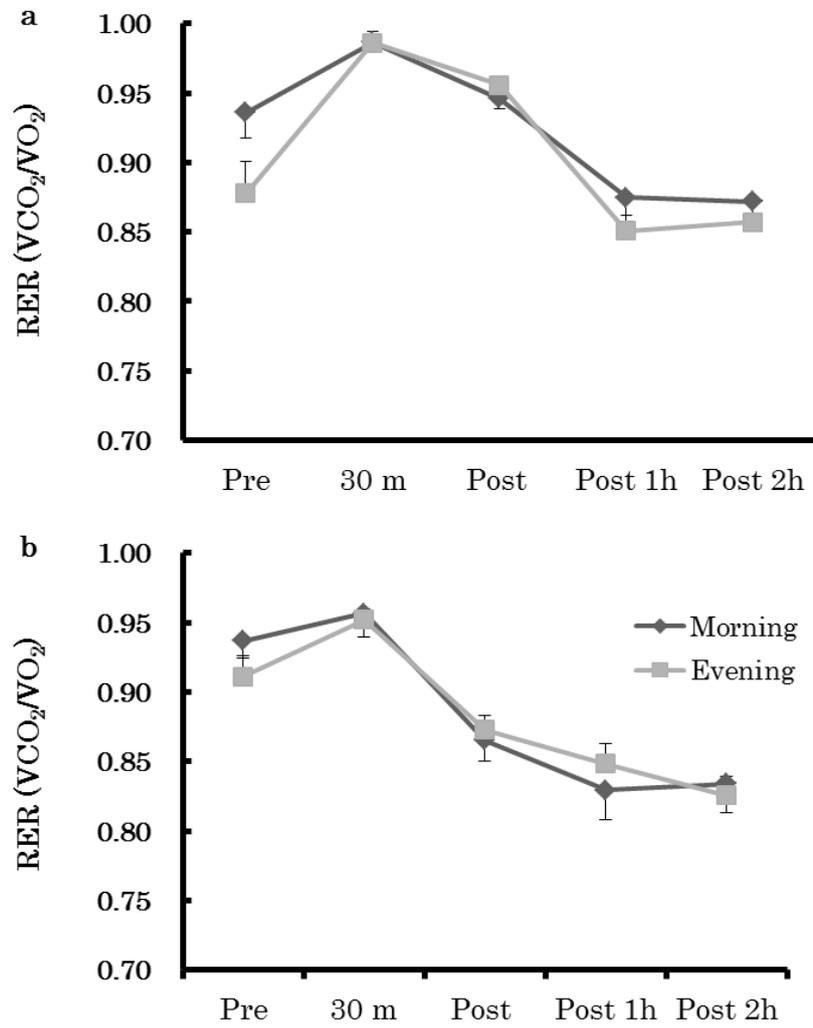


Figure 10. Respiratory exchange ratio (RER) during and after exercise for the 60% $\dot{V}O_{2\max}$ (a) and Fat_{\max} (b) in the morning and evening trial. Data represent the mean \pm standard error.

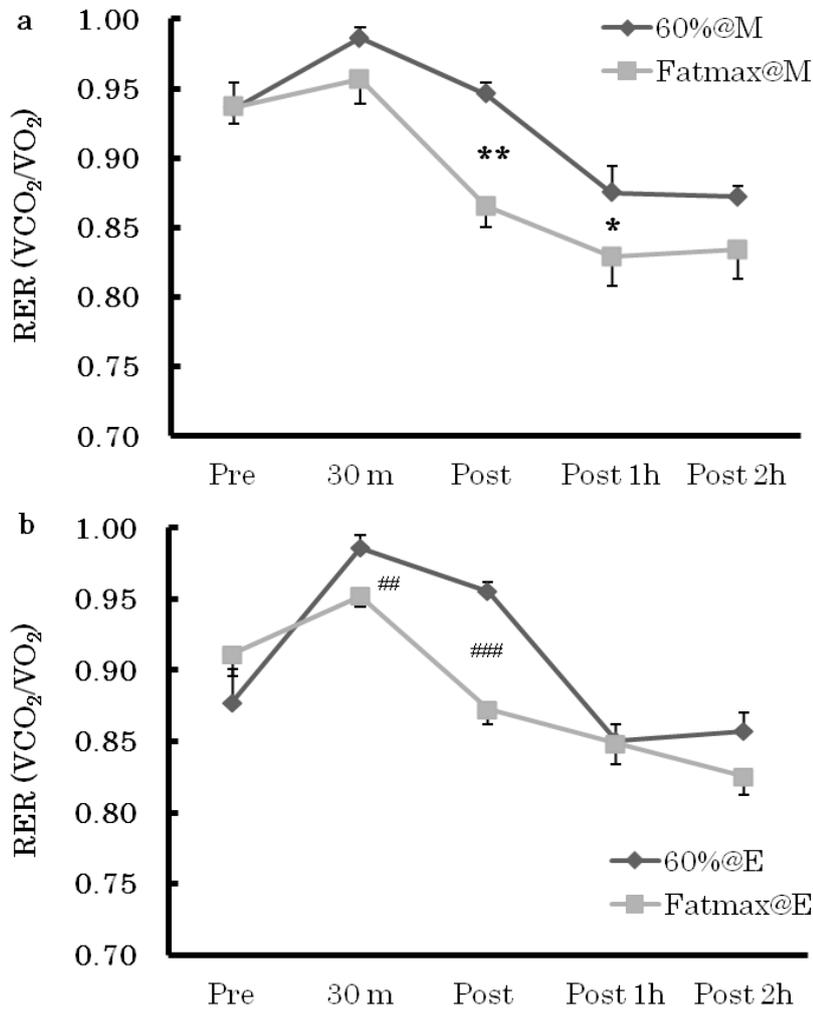


Figure 11. Respiratory exchange ratio (RER) during and after exercise for the 60% $\dot{V}O_2\text{max}$ and Fat_{max} in the morning (a) and evening (b) trial. Data represent the mean \pm standard error. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, significantly different from 60% $\dot{V}O_2\text{max}$ values in the morning of Fat_{max} trial. ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$, significantly different from 60% $\dot{V}O_2\text{max}$ values in the evening of Fat_{max} trial.

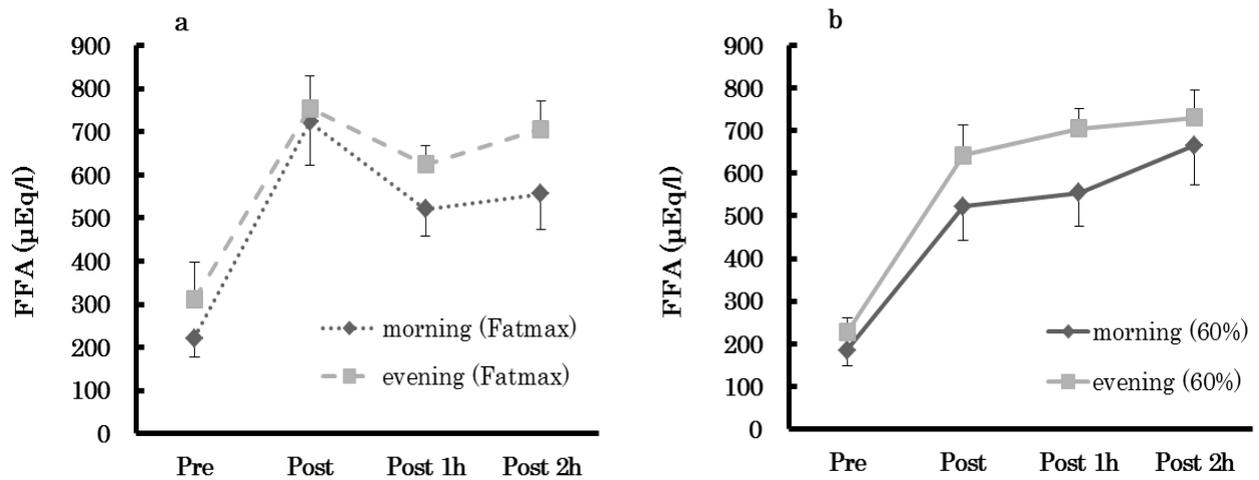


Figure 12. Changes in serum free fatty acids (FFA) during morning and evening of Fat_{max} (a) and $60\% \dot{V}O_2max$ (b) trial. Serum concentrations FFA before (Pre), immediately after (Post), 1 h after (Post 1 h) exercise, and 2 h after (Post 2 h) exercise. Data represent the mean \pm standard error.

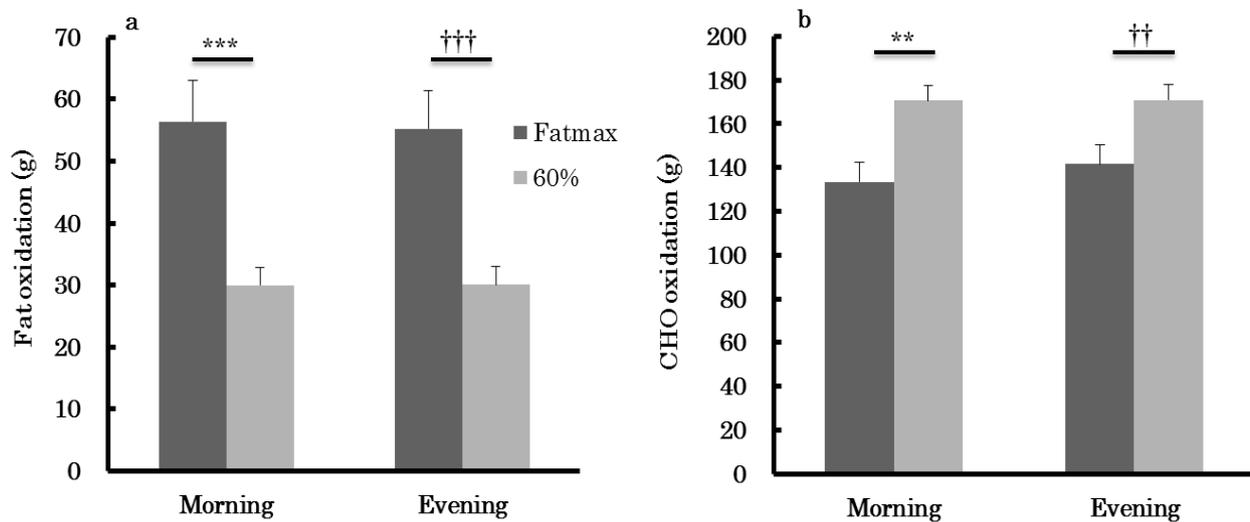


Figure 13. Fat oxidation (a) and Carbohydrate (CHO) oxidation (b) in each trial. Data represent the mean \pm standard error.

** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ Fat_{max} VS 60% $\dot{V}O_2$ max in Morning,

†† $P < 0.01$, ††† $P < 0.001$ Fat_{max} VS 60% $\dot{V}O_2$ max in Evening.

3-4 考察

本研究では、一過性持久性運動が血中ホルモン応答およびエネルギー基質酸化に及ぼす影響について運動実施時間帯(朝と夕方)および運動強度($60\%\dot{V}O_2\max$ と Fat_{\max})に着目し、研究をおこなった。本研究の主な結果は、異なる運動強度($60\%\dot{V}O_2\max$ と Fat_{\max})において、朝と夕方の運動実施時間帯を問わず Fat_{\max} が $60\%\dot{V}O_2\max$ に比較して総脂質酸化量が高値を示したことである。また、それぞれの運動強度における血中ホルモン応答は、運動実施時間帯(朝と夕方)の違いによって有意な変化は認められなかった。

Fat_{\max} は長時間運動において、 $60\%\dot{V}O_2\max$ と比較して脂質をより効率よく酸化させる運動強度である可能性がある。先行研究では、 Fat_{\max} と異なる運動強度におけるエネルギー基質酸化量の比較で有意な相違は認められず、 Fat_{\max} が運動における脂質酸化の割合を増加させるためのより有効な運動強度であることは議論の余地があると指摘している(90)。しかしながら先行研究では、各運動試行におけるエネルギー消費量は揃えておらず、運動継続時間が同等であった。絶対的なエネルギー基質酸化量は高い運動強度で総エネルギー消費量が大きくなるため、エネルギー基質酸化量の評価に影響を与えた可能性がある。そのため本研究では、エネルギー消費量を等しくして検討をおこなった。その結果、朝試行と夕方試行ともに Fat_{\max} の方が $60\%\dot{V}O_2\max$ より総脂質酸化量は多かった。したがって、エネルギー消費量を揃えた場合、 Fat_{\max} での長時間運動時の単位時間当たりの脂質酸化量が多く

なる可能性がある。

脂質酸化量は、運動実施時間帯に依存せず、運動強度の影響を受ける。本研究における総脂質酸化量は、 Fat_{max} で $60\% \dot{V}O_{2max}$ と比較して有意に高値を示した。しかしながら、総脂質酸化量には運動実施時間帯の影響は認められなかった。運動中における脂質酸化量の増加は、酸素摂取量の増加および RER の低下で説明される。脂質は炭素分子が多く含まれており、エネルギー基質として利用されるためには糖質より多くの酸素が必要となる(95)。また RER は二酸化炭素の排出量と酸素摂取量の比から算出され、エネルギー基質としての脂質の割合が多くなる場合、二酸化炭素の排出量に対する酸素摂取量の比が大きくなり、RER の値は低くなる(95)。そのため、先行研究では、運動時における最大酸素摂取量は朝と比較して夕方が高い値を示し、一方 RER は朝と比較して夕方値が低くなることから、夕方が多い脂質酸化量が示された可能性を示唆している(33,93,96,97)。しかしながら、本研究では運動中の酸素摂取量および RER は Fat_{max} および $60\% \dot{V}O_{2max}$ において朝と夕方有意な相違が認められなかった。さらに、運動強度の違いにおける RER は Fat_{max} が $60\% \dot{V}O_{2max}$ に比較して有意に低値を示した。したがって、脂質酸化量は運動実施時間帯より運動強度の違いによって大きく影響されると考えられる。

異なる運動強度における脂質酸化量の相違は、脂肪酸動員の違いによって生じたかもしれない。FFA は長時間運動時におけるエネルギー源として重要な役割を果たしている(68)。運動中に酸化される FFA の供給源は、運動強度によって変化する(47,48)。低

強度運動において酸化される脂質の大部分は血中 FFA であり、中等度強度以上の運動になると血中 FFA とともに筋内脂肪から供給される FFA の酸化が増加する(47,48)。一方、 $60\% \dot{V}O_2\max$ 以上の運動では筋細胞への FFA の動員が抑制され、脂質酸化量が低下することが報告されている(98,99)。本研究において、 Fat_{\max} と $60\% \dot{V}O_2\max$ の長時間運動時における運動負荷終了直後の血中 FFA 濃度は、両試行間で有意差が認められなかった。それゆえ、血中 FFA 動員による脂質酸化亢進は Fat_{\max} と $60\% \dot{V}O_2\max$ で類似していたと推測される。ただし、本研究での Fat_{\max} は、朝試行で $36.1 \pm 1.7\% \dot{V}O_2\max$ 、夕方試行で $38.2 \pm 2.2\% \dot{V}O_2\max$ の中等度強度に近い低強度で示された。そのため、骨格筋へ供給される FFA 動員の運動強度による抑制作用は Fat_{\max} で $60\% \dot{V}O_2\max$ に比較して少なかった可能性がある。したがって、 Fat_{\max} および $60\% \dot{V}O_2\max$ の運動強度の違いにおける骨格筋での FFA 動員の違いが脂質酸化量の変動に影響を与えた可能性が考えられる。

カテコラミンの一つであるアドレナリンは長時間運動において朝と比べて夕方で高い値を示すことが検討課題 I・II で明らかとなった。先行研究においても朝と夕方の運動におけるカテコラミンの応答は朝と比べて夕方で高くなる可能性を示している(18)。それゆえ、本研究においても同様の結果が得られると推測されたが、朝と夕方で有意な相違は示されなかった。先行研究においてカテコラミンは、姿勢や活動の変化または休息や活動サイクルにおいて、その応答が異なることが示唆されている(100,101)。さらに、カテコラミンの変動は、ストレスや不安な

どの特定の心理的影響との関連も示唆されている(102)。そのため、それぞれの試行間での活動サイクルの変化や実験当日の心理的要因などが運動に対する応答の変動に影響を与えた可能性が考えられる。ただし本研究では対象者に各試行間でできるだけ同様の活動パターンを維持するように指示しており、さらに、各試行は同じ実験室条件下での検討であったため、それらによる影響は少ないと推察されるが、その一方で厳密な評価法による検討は行っていないため、それらによる影響がないとは必ずしもいえない。したがって、身体活動や睡眠時間など生活習慣を厳密にコントロールしてそれらの評価および検討をおこなった場合、朝と夕方の運動実施時間帯の違いにおけるカテコラミン応答でより明確な違いが得られるかもしれない。

3-5 結論

朝と夕方の異なる運動実施時間帯における運動強度の違いが代謝応答に及ぼす影響について検討した結果、朝と夕方とも $60\% \dot{V}O_2\max$ に比べて Fat_{\max} で総脂質酸化量が高値を示した。また、長時間運動における脂質酸化量において運動実施時間帯(朝と夕方)の影響を受けないことが示唆された。

第 4 章 総合討論

4-1 本研究の成果

本研究では、肥満の予防・改善により効果的な運動実施時間帯の解明を目指し、朝と夕方の持久性運動が代謝応答に及ぼす影響の相違を明らかにするべく、検討課題 I~III を実施した。

朝と夕方の運動実施時間帯の違いがホルモン応答にどのように影響を及ぼすかを明確にすることは、異なる運動実施時間帯における代謝応答の相違を明らかにする上で重要である。そこで検討課題 I では、運動実施時間帯の違いがホルモンおよびエネルギー基質酸化に及ぼす影響について検討することを目的とし、血中ホルモンおよび呼気ガス分析を用いた検討をおこなった。その結果、朝と夕方の運動実施時間帯の違いにより運動負荷終了直後のアドレナリンおよび成長ホルモン濃度が朝と比較し夕方で有意に高値を示し、運動負荷終了後の脂質分解を亢進させることが明らかとなった。

次に朝と夕方の運動実施時間帯の違いが炎症性サイトカインに及ぼす影響について検討した。近年、IL-6 や IL-18 などを含む炎症性サイトカインは、日内変動を示すこと(20,79)、カテコラミンは IL-6 分泌の刺激または阻害に関与することが報告されている(46,82,83)。それゆえ、朝と夕方の運動実施時間帯の違いにおいて炎症性サイトカインの応答が異なる可能性がある。サイトカインは免疫や代謝応答などに影響するため、運動実施時間帯の影響を検討することが重要である。そこで検討課題 II において朝と

夕方の運動実施時間帯の相違が炎症性サイトカインに及ぼす影響について検討した。その結果、血漿 TNF- α および IL-1 β において朝と夕方の運動実施時間帯の相違で有意な変動は認められなかったが、血漿 IL-6 においてのみ運動負荷終了直後で朝と比べて夕方で有意に高値を示した。さらに、夕方試行では運動負荷終了直後の血漿 IL-6 と運動負荷終了後 FFA の間で正の相関が認められ、一過性持久性運動における血漿 IL-6 の増加は脂質代謝亢進に作用するホルモンとして働き、運動負荷終了後の脂質分解亢進に関与していることが示唆された。

検討課題 I および II では、60% $\dot{V}O_2\max$ の単一強度での検討だったため、他の運動強度でも同様の結果が生じるか否かは不明である。運動療法は中等度強度で実施されることが多いが、中等度強度の示す範囲は広い。漸増運動負荷試験で求められる最も脂質を酸化させる強度である Fat_{\max} は 33~65% $\dot{V}O_2\text{peak}$ で示される(103)。代謝応答に影響を与える血中ホルモンおよびエネルギー基質酸化は、運動強度によってその応答は異なる(47,48,64)。さらに、 Fat_{\max} での脂質酸化量は朝と比べて夕方で有意に高い値を示し、肥満の予防・改善に対してより有効な運動実施時間帯は夕方である可能性が報告されている(33)。しかしながら、長時間運動時にも Fat_{\max} が朝より夕方で高い脂質酸化を示すか否かは明らかでない。また朝と夕方の Fat_{\max} での長時間運動がホルモン応答に異なる変動をもたらす可能性がある。そこで、検討課題 III では 60% $\dot{V}O_2\max$ と Fat_{\max} の異なる運動強度を用いて、朝と夕方の持久性運動が代謝応答に及ぼす影響について検討した。その結果、異なる運動強度における朝と夕方の運動実施時間帯の相違

では脂質酸化量で有意差は認められず、朝と夕方ともに Fat_{max} が $60\% \dot{V}\text{O}_2\text{max}$ に比較して有意に多い脂質酸化量を示した。したがって朝と夕方という時間帯にかかわらず、 Fat_{max} が $60\% \dot{V}\text{O}_2\text{max}$ より脂質酸化を亢進させるためにより効率の良い運動強度であることが示唆された。

本研究は、様々な運動ガイドラインにおいて運動実施時間帯を考慮する必要性を実験によって示した初めての研究である。これまでの先行研究において、朝と夕方の運動実施時間帯が代謝応答に及ぼす影響については一致した見解が得られていない(33,34)。本研究では、朝と夕方の運動実施時間帯の違いが血中ホルモン応答にどのような影響を与えるか、カテコラミンの変動と関連が示されている炎症性サイトカインにおいて運動実施時間帯の違いによってどのように変動するか、さらに、異なる運動強度における朝と夕方の一過性持久性運動においてエネルギー基質代謝がどのような影響をうけるか、一連の研究としてこれらの課題を検討した。その結果、朝と夕方の運動実施時間帯の違いは、代謝関連ホルモンであるアドレナリンおよび成長ホルモンにおいて朝と比較して夕方が高値を示し、運動負荷終了後の脂質分解に影響を与えることを示唆したが、脂質酸化に時間帯の影響は認められなかった。さらに炎症・抗炎症サイトカインである IL-6 はアドレナリンおよび成長ホルモンと同様の変動を示し、夕方の運動負荷終了後の脂質分解亢進との関連が示唆された。最後に、運動における脂質酸化の亢進は朝と夕方の運動実施時間帯に依存せず、運動強度の影響を受ける可能性が示唆され、 Fat_{max} が $60\% \dot{V}\text{O}_2\text{max}$ より脂質酸化亢進に関してより有効な運動強度であ

ることが示唆された。すなわち、異なる運動実施時間帯における代謝応答は夕方が朝と比べて運動負荷終了後において脂質分解を亢進させる可能性はあるものの、エネルギー基質酸化の亢進に運動実施時間帯の影響は少ない。しかしながら、先行研究において朝型および夜型の生活習慣の形態によって最大酸素摂取量が朝と夕方で異なる可能性が示唆されているため(104,105)、対象者の生活習慣が相違する場合には異なる運動実施時間帯によって代謝応答が異なる変動を示すかもしれない。本研究の知見は、よりの確かつ効果の高い運動処方作成のために、朝と夕方の運動実施時間帯の相違が脂質代謝応答に及ぼす影響に関する重要なエビデンスになると考えられる。

4-2 本研究結果の応用、限界点および今後の課題

本研究の結果は、肥満の予防や改善によりの確かつ効果の高い新たな運動処方作成のための一助になると考えられる。本研究の結果を総合的に応用することにより、運動実施時間帯を考慮した運動処方が作成できる可能性がある。

肥満の予防・改善のための脂質代謝亢進を考えていく際には、運動実施時間帯を考慮する必要がある。肥満者は脂質異常症などをともなう者が多く含まれている(106)。それゆえ、肥満を予防・改善する上で、運動により脂質酸化を亢進させることは重要である。本研究では、運動実施時間帯の相違によっておこる血中ホルモンやサイトカイン変動を用いて脂質代謝応答への影響を検討した。その結果、アドレナリン、成長ホルモンおよび IL-6 にお

いて朝と比較して夕方有意に高値を示し、運動負荷終了後の脂質分解亢進に運動実施時間帯の相違が影響を与えることが示唆された。したがって、朝に比べて夕方での運動がより脂質代謝亢進に有効かもしれない。さらに心血管系疾患を有する者を対象とした先行研究において、朝の運動と比べて夕方の運動で心血管系疾患リスクに関連するコレステロール改善により有効であることが報告されていることから、目的に応じて運動実施時間帯を考慮する必要があると考えられる(107)。一方、朝と夕方の運動実施時間帯の相違によって脂質酸化量に有意差は認められなかった。本研究は一過性持久性運動であったため、対象者の脂質酸化能力を向上させるまでには至らなかったと推察される。それゆえ、異なる運動実施時間帯における代謝応答への影響をより明確にするためには、介入研究による慢性的な検討が必要であろう。

肥満を予防・改善する上で、運動強度を考える必要がある。様々な運動ガイドラインでは、エネルギー基質として脂質が多く利用される中等度強度以下での運動が推奨されている(9,11)。しかしながら中等度強度範囲は広く、中等度強度範囲内でも運動強度に応じて脂質代謝応答は異なる可能性がある(49)。それゆえ、本研究では近年注目を浴びている Fat_{max} を用いて検討をおこなった。その結果、 Fat_{max} は $60\% \dot{V}O_{2max}$ に比べて運動時の脂質酸化量が有意に多くなることが示された。それゆえ、脂質代謝亢進には Fat_{max} がより有効な運動強度であると考えられる。さらに、肥満の予防・改善効果を高めるためには、運動強度の再現や運動の遂行が容易であり、持続できる運動が重要である。先行研究では運動習慣を持っていない者を対象として 1 時間の運動を持続可

能な運動は $65\% \dot{V}O_2\text{peak}$ までと報告しているが、このような対象者の場合には $65\% \dot{V}O_2\text{peak}$ でも強度が高すぎて取り入れにくいことが指摘されている(21,22)。したがって、運動療法を通じた肥満の予防・改善のためには、運動の効果および持続可能な運動強度を考慮することは重要であると考えられる。

本研究では、運動実施時間帯の相違が代謝応答に及ぼす影響を明らかにする上で重要な成果は得られたが、いくつかの限界点および今後の課題が認められた。以下に朝と夕方の運動実施時間帯の相違が代謝応答に及ぼす影響を明らかにする上での限界点を挙げる。

本研究の対象者は健康な若年男性であったので得られた結果を肥満男性および女性、そして慢性炎症を伴っている者には必ずしも適用できないかもしれない。先行研究において、糖尿病患者や肥満者では酸素摂取量の増加反応が遅いこと、女性は男性に比べて Fat_{max} が高いことが報告されている(50,108)。さらに、カテコラミンや成長ホルモンなどの運動に対する血中ホルモンの応答に関して、カテコラミンは肥満者で鈍く、成長ホルモンは男性と比較して女性で大きいことが示されている(32,60,64)。それゆえ、本研究の結果をすべての対象に適応できるとは限らない。したがって、様々な代謝特性を持つ者を対象にしてさらなる検討が必要である。

$\dot{V}O_2\text{max}$ の日内変動を調べた先行研究は存在するものの、一致した見解は得られていない(65,109)。検討課題 I・II では $\dot{V}O_2\text{max}$ は朝にのみ測定しており、夕方では $\dot{V}O_2\text{max}$ が異なっていた可能性がある。しかしながら、検討課題 I・II における運動前と運動

終了直後において $\dot{V}O_2$ と心拍数に朝試行と夕方試行で差がなかったことから、身体への生理的負荷は同等であったと推測される。検討課題Ⅲではすべての対象者に朝と夕方での $\dot{V}O_{2max}$ の測定をおこなったが、朝と夕方での $\dot{V}O_{2max}$ に有意差は認められなかった。また、最大酸素摂取量は生活習慣の影響を受けることが示されている(105)。先行研究において、朝型生活習慣を持つ者は朝と夕方の最大酸素摂取量に相違は認められなかったものの、夜型生活習慣を持つ者では夕方が高くなることが示されている(105)。したがって、異なる生活習慣が $\dot{V}O_{2max}$ やエネルギー基質代謝などに影響を与える可能性が考えられるため、より詳細な検討のためには生活習慣を考慮して検討する必要がある。

本研究ではコントロール試行（運動しない条件）を設定していなかった。朝と夕方の運動における血中ホルモンおよびサイトカインの応答は日内変動による影響を否定できないため、朝と夕方の運動しない条件を設定し、朝と夕方の運動に対する影響をより厳密に検討する必要がある。しかしながら、本研究におけるホルモンやサイトカインの応答は日内変動によって見られる変動の大きさより朝と夕方の一過性持久性運動による応答が大きかったため、本研究の結論は妥当なものと考えられる。

最後に、本研究では実験前の食事の統制はおこなったものの、実験前日の睡眠時間の正確な評価は行っていない。睡眠不足は内分泌、代謝、心血管系、免疫系などの機能に負の影響を与えることが報告されている(110)。また睡眠不足は IL-6、TNF- α および CRP などの循環レベルの増加を誘導することが示されている(111,112)。したがって、血中ホルモンやサイトカイン応答に対す

る睡眠時間の影響が考えられるため、睡眠時間の統制を実施した
上での更なる検討も必要と考えられる。

第 5 章 結論

本研究では、朝と夕方の運動実施時間帯の相違が持久性運動時の代謝応答に及ぼす影響を解明するための基礎データを蓄積することを目的とし、1)運動実施時間帯の相違の一過性持久性運動時におけるホルモン応答が脂質代謝応答に及ぼす影響、2)朝と夕方の一過性持久性運動が炎症性サイトカインに及ぼす影響、3)朝と夕方の異なる運動強度の一過性持久性運動が脂質代謝応答に及ぼす影響、を検討した。

1) 朝と夕方の運動実施時間帯の相違により、運動負荷終了直後においてアドレナリンおよび成長ホルモン濃度が朝と比較し夕方で有意に高値を示し、運動負荷終了後の脂質分解が亢進されていることが明らかとなった。この結果から、朝と夕方の運動実施時間帯の相違によって代謝関連ホルモンおよび脂質分解応答は夕方でより高くなることが示唆された。

2) 朝の一過性持久性運動に比較して夕方の一過性持久性運動は、血漿 IL-6 濃度を亢進させることが示唆された。また血漿 IL-6 は脂質代謝亢進に作用するホルモンとして働き、運動負荷終了後の FFA の血中濃度を増加させることが示唆された。この結果から、朝と比べて夕方の方が脂質代謝亢進に及ぼす有益な運動の効果はより高いと推測される。

3) 異なる運動強度($60\% \dot{V}O_{2max}$ と Fat_{max})において、朝と夕方の

運動実施時間帯とは関係なく、 Fat_{max} の方が $60\% \dot{V}O_{2max}$ に比較して総脂質酸化量がより高値を示していた。この結果より、 Fat_{max} の方が $60\% \dot{V}O_{2max}$ に比較して脂質酸化亢進により有効な運動強度であることが示唆された。

以上の結果は、朝と夕方異なる運動実施時間帯における持久性運動時の代謝応答の相違を解明する一助として、重要なエビデンスを提供すると考えられる。

謝辞

稿を終えるに当たり、本研究の内容に関して深い理解を示し研究の機会を与えてくださり、種々にわたりご指導ご鞭撻を賜りました早稲田大学スポーツ科学学術院 坂本静男教授に深く感謝いたします。また、大変お忙しい中快く副査を引き受けてくださいました、同スポーツ科学学術院樋口満教授、赤間高雄教授、鈴木克彦教授に心より感謝の意を表します。また、博士論文のみならず投稿論文執筆に関して多くのご助言をいただきましたスポーツ科学学術院 助教 小西真幸先生、理工学術院 次席研究員(研究員助教) 高橋将記先生には心よりお礼申し上げます。そして全ての実験にご参加・協力いただいた早稲田大学の学生、院生、坂本研究室の皆様に深く感謝の意を表します。

私と共に歩むことを決断し、一緒に付いてきて支えたくれた妻(金莉沙)に心より敬意を表します。あなたがいてくれなければ、今の私はこれほど頑張れなかったと思います。本当にありがとうございました。これからもよろしくお願いします。

마지막으로 사랑하는 우리 가족들 유학하는 저를 위해 항상 아낌없는 지원과 응원해 주신 점에 심심한 경의를 표합니다. 우리 가족들이 있어 지금까지 달려올 수 있었습니다. 앞으로는 의지할 수 있는 막내아들 동생이 될 수 있도록 더욱더 열심히 노력하겠습니다. 항상 지켜봐 주시고 응원해 주세요. 너무너무 사랑합니다.

参考文献

1. Organisation for economic Co-operation and development.
OBESITY AND THE ECONOMICS OF PREVENTION: FIT
NOT FAT. 2010. 1-270 p.
2. 厚生労働省. 平成25年度国民健康・栄養調査結果の概要.
2013. p. 0-31.
3. Yang X, Smith U. Adipose tissue distribution and risk of
metabolic disease: does thiazolidinedione-induced
adipose tissue redistribution provide a clue to the
answer? *Diabetologia*. 2007;50(6):1127-39.
4. Medeiros NDS, de Abreu FG, Colato AS, de Lemos LS,
Ramis TR, Dorneles GP, et al. Effects of Concurrent
Training on Oxidative Stress and Insulin Resistance in
Obese Individuals. *Oxid Med Cell Longev*. 2015;2015:1-6.
5. Jakicic JM, Otto AD. Treatment and Prevention of
Obesity: What is the Role of Exercise? *Nutrition*.
2006;64(2):57-61.
6. Haskell WL, Lee I-M, Pate RR, Powell KE, Blair SN,
Franklin BA, et al. Physical activity and public health:
updated recommendation for adults from the American

- College of Sports Medicine and the American Heart Association. *Med Sci Sports Exerc.* 2007 Aug;39(8):1423–34.
7. Thompson D, Karpe F, Lafontan M, Frayn K. Physical Activity and Exercise in the Regulation of Human Adipose Tissue Physiology. *Physiol Rev.* 2012;92:157–91.
 8. O'Donovan G, Blazeovich AJ, Boreham C, Cooper AR, Crank H, Ekelund U, et al. The ABC of Physical Activity for Health: a consensus statement from the British Association of Sport and Exercise Sciences. *J Sports Sci.* 2010;28(6):573–91.
 9. Haskell WL, Lee IM, Pate RR, Powell KE, Blair SN, Franklin BA, et al. Physical activity and public health: Updated recommendation for adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. *Med Sci Sports Exerc.* 2007;39(8):1423–34.
 10. 厚生労働省. 健康づくりのための身体活動基準. 2013. 1-70 p.
 11. World Health Organization. Global recommendations on

- physical activity for health. 2010.
12. 青森県教育委員会. 県民の健康・スポーツに関する意識調査報告書. 2015. p. 1-123.
 13. 練馬区. 練馬区運動・スポーツに関する区民意識意向調査報告書. 2013. p. 1-33.
 14. 津市. スポーツに関する住民意識調査報告書. 2009. p. 1-33.
 15. 文部科学省. 平成25年度体力・スポーツに関する世論調査. 2013. p. 1-115.
 16. Bray MS, Young ME. Circadian rhythms in the development of obesity: potential role for the circadian clock within the adipocyte. *Obes Rev.* 2006;8:169-81.
 17. Journal E, Investigation C. Circadian rhythms in the secretion of cortisol, adrenaline and noradrenaline. *Eur J Clin Investifation.* 1978;8:57-8.
 18. Scheer FAJL, Hu K, Evoniuk H, Kelly EE, Malhotra A, Hilton MF. Impact of the human circadian system , exercise , and their interaction on cardiovascular function. *Proc Natl Acad Sci U S A.*

2010;107(47):20541–6.

19. Kanaley JA, Weltman JY, Pieper KS, Weltman A, Hartman ML, Endocrinology D. Cortisol and Growth Hormone Responses to Exercise at Different Times of Day. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86(6):2881–9.
20. Rahman SA, Castanon-Cervantes O, Scheer FAJL, Shea SA, Czeisler CA, Davidson AJ, et al. Endogenous circadian regulation of pro-inflammatory cytokines and chemokines in the presence of bacterial lipopolysaccharide in humans. *Brain Behav Immun.* 2015 Jul;47:4–13.
21. Schrauwen P, Van Aggel-Leijssen DPC, Hul G, Wagenmakersa. JM, Vidal H, Saris WHM, et al. The effect of a 3-month low-intensity endurance training program on fat oxidation and acetyl-CoA carboxylase-2 expression. *Diabetes.* 2002;51(7):2220–6.
22. LaForgia J, Withers RT, Gore CJ. Effects of exercise intensity and duration on the excess post-exercise oxygen consumption. *J Sports Sci.* 2006;24(12):1247–64.

23. Thompson PD, Franklin B a., Balady GJ, Blair SN, Corrado D, Estes N a M, et al. Exercise and acute cardiovascular events: Placing the risks into perspective. *Med Sci Sports Exerc.* 2007;39(5):886–97.
24. Galliven EA, Singh A, Michelson D, Bina S, Gold PW, Deuster PA, et al. Hormonal and metabolic responses to exercise across time of day and menstrual cycle phase. *J Appl Physiol.* 2011;83(6):1822–31.
25. Hansen M, Helene A, Theil L. Seasonal and biological variation of urinary epinephrine , norepinephrine , and cortisol in healthy women. *Clin Chim Acta.* 2001;
26. Miles MP, Andring JM, Pearson SD, Gordon LK, Kasper C, Depner CM, et al. Diurnal variation, response to eccentric exercise, and association of inflammatory mediators with muscle damage variables. *J Appl Physiol.* 2008 Feb;104(2):451–8.
27. Zouhal H, Jacob C, Delamarche P, Gratas- A. Catecholamines and the Effects of Exercise , Training and Gender. *Sports Med.* 2008;38(5):401–23.

28. Zelazowska EB, Singh A, Raybourne RB, Sternberg EM, Gold PW, Deuster PA. Lymphocyte subpopulation expression in women: effect of exercise and circadian rhythm. *Med Sci Sports Exerc.* 1997 Apr;29(4):467–73.
29. Brandenberger G, Follenius M, Hietter B. Feedback from meal-related peaks determines diurnal changes in cortisol response to exercise. *J Clin Endocrinol Metab.* 1982 Mar;54(3):592–6.
30. Davies CT, Few JD. Effects of exercise on adrenocortical function. *J Appl Physiol.* 1973 Dec;35(6):887–91.
31. Jabbour G, Lemoine-morel S, Casazza GA, Hala Y, Moussa E, Zouhal H. Catecholamine Response to Exercise in Obese, Overweight, and Lean Adolescent Boys. *Med Sci Sport Exerc.* 2011;43(7):408–15.
32. Zouhal H, Lemoine-Morel S, Mathieu M-E, Casazza G, Jabbour G. Catecholamines and obesity: effects of exercise and training. *Sports Med.* 2013 Jul;43(7):591–600.
33. Mohebbi H, Azizi M. Maximal fat oxidation at the

- different exercise intensity in obese and normal weight men in the morning and evening. *J Hum Sport Exerc.* 2011;6(1):49–59.
34. 豊岡示朗, 吉川潔, 足立哲司. 朝と夕方のジョギングにおける血中基質の動態と代謝特性. *体力科学.* 1995;44(4):419–30.
35. Galic S, Oakhill JS, Steinberg GR. Adipose tissue as an endocrine organ. *Mol Cell Endocrinol.* 2010 Mar 25;316(2):129–39.
36. Antuna-Puente B, Fève B, Fellahi S, Bastard J-P. Adipokines: the missing link between insulin resistance and obesity. *Diabetes Metab.* 2008 Feb;34(1):2–11.
37. Weisberg SP, Mccann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest.* 2003;112(12):1796–808.
38. Petersen AMW, Pedersen BK. The anti-inflammatory effect of exercise. *J Appl Physiol.* 2005;98:1154–62.
39. Bruunsgaard H, Bjerregaard E, Schroll M, Pedersen BK.

- Muscle Strength after Resistance Training Is Inversely Correlated with Baseline Levels of Soluble Tumor Necrosis Factor Receptors in the Oldest Old. *J Am Geriatr Soc.* 2004;52(2):237–41.
40. Fischer CP. Interleukin-6 in acute exercise and training: What is the biological relevance? *Exerc Immunol Rev.* 2006;12(115):6–33.
41. Steensberg A, Keller C, Starkie RL, Osada T, Febbraio M a, Pedersen BK. IL-6 and TNF- α expression in, and release from, contracting human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2002;283(6):E1272–8.
42. Wolsk E, Mygind H, Grøndahl TS, Pedersen BK, Hall G Van. IL-6 selectively stimulates fat metabolism in human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2010;299(5):E832–40.
43. Hall GVAN, Steensberg A, Sacchetti M, Fischer C, Keller C, Schjerling P, et al. Interleukin-6 Stimulates Lipolysis and Fat Oxidation in Humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(7):3005–10.

44. Carey AL, Steinberg GR, Macaulay SL, Thomas WG, Holmes AG, Ramm G, et al. Interleukin-6 increases insulin-stimulated glucose disposal in humans and glucose uptake and fatty acid oxidation in vitro via AMP-activated protein kinase. *Diabetes*. 2006;55(10):2688–97.
45. Miles MP, Keller JM, Kordick LK, Kidd JR. Basal, circadian, and acute inflammation in normal versus overweight men. *Med Sci Sports Exerc*. 2012;44:2290–8.
46. Keller P, Keller C, Robinson LE, Pedersen BK. Epinephrine infusion increases adipose interleukin-6 gene expression and systemic levels in humans. *J Appl Physiol*. 2004 Oct;97(4):1309–12.
47. Romijn JA, Gastaldelli A, Horowitz JF, Endert E, Wolfe RR. Regulation in relation of endogenous fat and carbohydrate to exercise intensity and duration metabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 1993;265(28):E380–91.
48. Van Loon L, Greenhaff P, Constantin-Teodosiu D, Saris W, Wagenmakers A. The effects of increasing exercise

- intensity on muscle fuel utilisation in humans. *J Physiol.* 2001;536(Pt 1):295–304.
49. Horowitz JF, Klein S. Lipid metabolism during endurance exercise. *Am J Clin Nutr.* 2000 Aug;72(2 Suppl):558S – 63S.
50. Venables MC, Achten J, Jeukendrup AE. Determinants of fat oxidation during exercise in healthy men and women: a cross-sectional study. *J Appl Physiol.* 2005;98(1):160–7.
51. Jeukendrup AE. Relation Between Plasma Lactate Concentration and Fat Oxidation Rates Over a Wide Range of Exercise Intensities. *Int J Sports Med.* 2004;25(1):32–7.
52. Nordby P, Saltin B, Helge JW. Whole-body fat oxidation determined by graded exercise and indirect calorimetry: A role for muscle oxidative capacity? *Scand J Med Sci Sport.* 2006;16(3):209–14.
53. Jeukendrup A, Achten J. Fatmax: A new concept to optimize fat oxidation during exercise? *Eur J Sport Sci.* 2001;1(5):1–5.

54. Venables MC, Jeukendrup AE. Endurance training and obesity: Effect on substrate metabolism and insulin sensitivity. *Med Sci Sports Exerc.* 2008;40(3):495–502.
55. Sudo A, Miki K. Circadian Rhythm of Catecholamine Excretion in Rats after Phase Shift Light-Dark Cycle. *Ind Health.* 1995;33:57–66.
56. De Bock K, Richter EA, Russell AP, Eijnde BO, Derave W, Ramaekers M, et al. Exercise in the fasted state facilitates fibre type-specific intramyocellular lipid breakdown and stimulates glycogen resynthesis in humans. *J Physiol.* 2005;564(Pt 2):649–60.
57. Pillard F, Wymelbeke V Van, Garrigue E, Moro C, Crampes F, Guillard J, et al. Lipid oxidation in overweight men after exercise and food intake. *Metabolism.* Elsevier Inc.; 2010;59(2):267–74.
58. Achten J, Jeukendrup AE. Maximal Fat Oxidation During Exercise in Trained Men. *Int J Sports Med.* 2003;24(8):603–8.
59. Dill DB, Costill DL. Calculation of percentage changes in

- volumes of blood, plasma, and red cells in dehydration. *J Appl Physiol.* 1974 Aug;37(2):247–8.
60. Hansen D, Meeusen R, Mullens A, Dendale P. Effect of acute endurance and resistance exercise on endocrine hormones directly related to lipolysis and skeletal muscle protein synthesis in adult individuals with obesity. *Sports Med.* 2012 May 1;42(5):415–31.
61. Møller N, Jørgensen JO, Schmitz O, Møller J, Christiansen J, Alberti KG, et al. Effects of a growth hormone pulse on total and forearm substrate fluxes in humans. *Am J Physiol.* 1990 Jan;258(1 Pt 1):E86–91.
62. Fain JN. Studies on the role of RNA and protein synthesis in the lipolytic action of growth hormone in isolated fat cells. *Adv Enzyme Regul.* 1967;5:39–51.
63. Weltman A, Pritzlaff CJ, Wideman L, Weltman JY, Blumer JL, Abbott RD, et al. Exercise-dependent growth hormone release is linked to markers of heightened central adrenergic outflow. *J Appl Physiol.* 2000;89(2):629–35.

64. Wideman L, Weltman JY, Hartman ML, Veldhuis JD, Weltman A. Growth hormone release during acute and chronic aerobic and resistance exercise: recent findings. *Sports Med.* 2002;32(15):987–1004.
65. Atkinson G, Reilly T. Circadian variation in sports performance. *Sports Med.* 1996 Apr;21(4):292–312.
66. Marker JC, Arnall DA, Conlee RK, Winder WW. Effect of adrenomedullation on metabolic responses to high-intensity exercise. *Am J Physiol.* 1986 Sep;251(3 Pt 2):R552–9.
67. Dimsdale JE, Moss J. Plasma catecholamines in stress and exercise. *JAMA.* 1980 Jan 25;243(4):340–2.
68. Desk R, Williams L, Health K. Fatty Acids as Substrates for Heart and Skeletal Muscle. *Circ Res.* 1976;38:459–63.
69. Kuo CC, Fattor JA, Henderson GC, Brooks GA, Calvin C. Lipid oxidation in fit young adults during postexercise recovery. *J Appl Physiol.* 2005;99(1):349–56.
70. Gagnon DD, Gagnon SS, Rintamäki H, Törmäkangas T, Puukka K, Herzig K-H, et al. The Effects of Cold

- Exposure on Leukocytes, Hormones and Cytokines during Acute Exercise in Humans. PLoS One. 2014 Jan;9(10):e110774.
71. Gleeson M. Immune function in sport and exercise. J Appl Physiol. 2007 Aug;103(2):693–9.
72. Papanicolaou DA, Petrides JS, Tsigos C, Bina S, Kalogeras KT, Wilder R, et al. Exercise stimulates interleukin-6 secretion: inhibition by glucocorticoids and correlation with catecholamines. Am J Physiol. 1996 Sep;271(3 Pt 1):E601–5.
73. Giraldo E, Garcia JJ, Hinchado MD, Ortega E. Exercise intensity-dependent changes in the inflammatory response in sedentary women: role of neuroendocrine parameters in the neutrophil phagocytic process and the pro-/anti-inflammatory cytokine balance. Neuroimmunomodulation. 2009 Jan;16(4):237–44.
74. Steensberg A, Toft AD, Schjerling P, Halkjær-kristensen J, Pedersen BK, Schjerling P, et al. Plasma interleukin-6 during strenuous exercise: role of epinephrine. Am J Physiol Cell Physiol. 2001;281(3):C1001–4.

75. Pedersen BK, Adam P, Keller P, Keller C, Fischer C, Hiscock N, et al. Muscle-derived interleukin-6: lipolytic, anti-inflammatory and immune regulatory effects. *Eur J Physiol.* 2003;446(1):9–16.
76. Martín-Cordero L, García JJ, Hinchado MD, Ortega E. The interleukin-6 and noradrenaline mediated inflammation-stress feedback mechanism is dysregulated in metabolic syndrome: effect of exercise. *Cardiovasc Diabetol.* BioMed Central Ltd; 2011 Jan;10(1):1–9.
77. Shephard RJ, Shek PN. Interactions between sleep, other body rhythms, immune responses, and exercise. *Can J Appl Physiol.* 1997 Apr;22(2):95–116.
78. Trine MR, Morgan WP. Influence of time of day on psychological responses to exercise. A review. *Sports Med.* 1995 Nov;20(5):328–37.
79. Born J, Lange T, Hansen K, Mölle M, Fehm HL. Effects of sleep and circadian rhythm on human circulating immune cells. *J Immunol.* 1997;158(9):4454–64.
80. Petersen EW, Careya L, Sacchetti M, Steinberg GR,

- Macaulay SL, Febbraio MA, et al. Acute IL-6 treatment increases fatty acid turnover in elderly humans in vivo and in tissue culture in vitro. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2005;288(1):E155–62.
81. Dimitriou L, Sharp NCC, Doherty M. Circadian effects on the acute responses of salivary cortisol and IgA in well trained swimmers. *Br J Sports Med.* 2002;36:260–4.
82. Helge JW, Stallknecht B, Pedersen BK, Galbo H, Kiens B, Richter E. The effect of graded exercise on IL-6 release and glucose uptake in human skeletal muscle. *J Physiol.* 2003;546:299–305.
83. Nance DM, Sanders VM. Autonomic innervation and regulation of the immune system (1987-2007). *Brain, Behavior, and Immunity.* 2007. p. 736–45.
84. Takagi S, Sakamoto S, Midorikawa T, Konishi M. Determination of the exercise intensity that elicits maximal fat oxidation in short-time testing. *J Sports Sci.* 2014;32(2):175–82.
85. Midgley AW, Mcnaughton LR, Polman R, Marchant D.

- Criteria for Determination of Maximal Oxygen Uptake A
Brief Critique and Recommendations for Future Research.
Sports Med. 2007;37(12):1019–28.
86. Pedersen BK, Febbraio MA. Muscles, exercise and
obesity: skeletal muscle as a secretory organ. Nat Rev
Endocrinol. 2012 Aug;8(8):457–65.
87. Keller C, Hellsten Y, Steensberg A, Klarlund Pedersen B.
Differential regulation of IL-6 and TNF- α via calcineurin
in human skeletal muscle cells. Cytokine.
2006;36(3-4):141–7.
88. Hermann C, von Aulock S, Dehus O, Keller M, Okigami H,
Gantner F, et al. Endogenous cortisol determines the
circadian rhythm of lipopolysaccharide-but not
lipoteichoic acid-inducible cytokine release. Eur J
Immunol. 2006 Mar;36(2):371–9.
89. Sakamoto S, Konishi M, Kim HK, Endoh N, Takahashi M,
Takagi S, et al. Exercise prescription for fat metabolism
disorder - From the viewpoint of fat oxidation rate. J
Phys Fit Sport Med. 2012;1(3):499–504.

90. Schwindling S, Kindermann W, Meyer T. Limited Benefit of Fat max -Test to Derive Training Prescriptions. *Int J Sports Med.* 2014;35:280–5.
91. Mohebbi H, Nourshahi M, Ghasemikaram M, Safarimosavi S. Effects of exercise at individual anaerobic threshold and maximal fat oxidation intensities on plasma levels of nesfatin-1 and metabolic health biomarkers. *J Physiol Biochem.* 2015 Mar;71(1):79–88.
92. Klein S, Coyle EF, Wolfe RR. Fat metabolism during low-intensity exercise in endurance-trained and untrained men. *Am J Physiol.* 1994 Dec;267(6 Pt 1):E934–40.
93. Azizi M, Rahmani-nia F, Mohebbi H. Cortisol Responses and Energy Expenditure at Different Times of Day in Obese Vs Lean Men. *World J Sport Sci.* 2012;6(3):314–20.
94. David S, Brian L. Exercise Prescription- A case study approach to the ACSM guidelines-second edition. 2007. 1-189 p.

95. Frayn KN. Calculation of substrate oxidation rates in vivo from gaseous exchange. *J Appl Physiol.* 1983;55(2):628-34.
96. Hill DW. Effect of time of day on aerobic power in exhaustive high-intensity exercise. *J Sports Med Phys Fitness.* 1996 Sep;36(3):155-60.
97. Hill DW, Borden DO, Darnaby KM, Hendricks DN, Hill CM. Effect of time of day on aerobic and anaerobic responses to high-intensity exercise. *Can J Sport Sci.* 1992 Dec;17(4):316-9.
98. Achten J, Jeukendrup AE. Optimizing fat oxidation through exercise and diet. *Nutrition.* 2004;20(7-8):716-27.
99. Stephens FB, Constantin-Teodosiu D, Greenhaff PL. New insights concerning the role of carnitine in the regulation of fuel metabolism in skeletal muscle. *J Physiol.* 2007;581(Pt 2):431-44.
100. Carmen OG, Curtis GC, Zelnik T, Mccann D, Roth T, Guire K, et al. Circadian fluctuation of plasma

- epinephrine in supine humans.
Psychoneuroendocrinology. 1987;12(1):41–51.
101. Schöfl C, Becker C, Prank K, von zur Mühlen A, Brabant G. Twenty-four-hour rhythms of plasma catecholamines and their relation to cardiovascular parameters in healthy young men. Eur J Endocrinol. 1997;137(6):675–83.
102. Ward MM, Mefford IN, Parker SD, Chesney M a, Taylor CB, Keegan DL, et al. Epinephrine and norepinephrine responses in continuously collected human plasma to a series of stressors. Psychosom Med. 1983;45(6):471–86.
103. Achten J, Gleeson M, Jeukendrup AE. Determination of the exercise intensity that elicits maximal fat oxidation. Med Sci Sports Exerc. 2002;34(1):92–7.
104. Bailey SL, Heitkemper MM. Circadian rhythmicity of cortisol and body temperature: morningness-eveningness effects. Chronobiol Int. 2001;18(2):249–61.
105. Hill DW, Cureton KJ, Collins MA, Grisham SC. Diurnal variations in responses to exercise of “morning types” and

- “evening types”. *J Sports Med Phys Fitness*. 1988
Sep;28(3):213–9.
106. Stuart CA, South MA, Lee ML, McCurry MP, Howell ME, Ramsey MW, et al. Insulin responsiveness in metabolic syndrome after eight weeks of cycle training. *Med Sci Sports Exerc*. 2013;45(11):2021–9.
107. Lian XQ, Zhao D, Zhu M, Wang ZM, Gao W, Zhao H, et al. The influence of regular walking at different times of day on blood lipids and inflammatory markers in sedentary patients with coronary artery disease. *Prev Med (Baltim)*. 2014;58(1):64–9.
108. Regensteiner JG, Bauer TA, Reusch JE, Brandenburg SL, Sippel JM, Vogelsong AM, et al. Abnormal oxygen uptake kinetic responses in women with type II diabetes mellitus. *J Appl Physiol*. 1998;85(1):310–7.
109. Faria IE, Drummond BJ. Circadian changes in resting heart rate and body temperature, maximal oxygen consumption and perceived exertion. *Ergonomics*. 1982;25(5):381–6.

110. Wright KP, Drake AL, Frey DJ, Fleshner M, Desouza CA, Gronfier C, et al. Influence of sleep deprivation and circadian misalignment on cortisol, inflammatory markers, and cytokine balance. *Brain Behav Immun.* Elsevier Inc.; 2015;47:24–34.
111. Irwin MR, Carrillo C, Olmstead R. Sleep loss activates cellular markers of inflammation: sex differences. *Brain Behav Immun.* 2010;24(1):54–7.
112. Meier-Ewert HK, Ridker PM, Rifai N, Regan MM, Price NJ, Dinges DF, et al. Effect of sleep loss on C-Reactive protein, an inflammatory marker of cardiovascular risk. *J Am Coll Cardiol.* 2004;43(4):678–83.