

早稲田大学審査学位論文

博士（スポーツ科学）

安静時および運動時における
呼気アセトン排出量と脂肪酸化量の関連

Relation between expired acetone excretion and
amount of fat oxidation during rest and exercise

2020年1月

早稲田大学大学院 スポーツ科学研究科

藤井 亮輔

FUJII, Ryosuke

研究指導教員： 村岡 功 教授

目次

第1章 研究の背景と目的	1
第2章 文献考証.....	5
1. エネルギー代謝と運動による影響	5
1-1. 運動強度および時間がエネルギー代謝に与える影響	5
1-2. 先行運動の実施が脂質代謝に与える影響	7
2. 呼気アセトン排出と運動による影響.....	8
2-1. 脂質代謝指標としての呼気アセトンの利用	8
2-2. 安静時および運動時の呼気アセトン排出	9
第3章 先行研究における問題点と本研究の課題.....	11
第4章 研究課題 I 「安静時における呼気アセトン排出と脂肪酸化量の関係」	12
1. 緒言	12
2. 方法	13
2-1. 被験者	13
2-2. 測定手順.....	14
2-3. 測定方法.....	14
2-4. 統計処理.....	15
3. 結果	16
3-1. 日間変動.....	16
3-2. アセトン濃度およびアセトン排出量と脂肪酸化量および $\dot{V}E$ との関係	18
4. 考察	19
4-1. 測定値の妥当性.....	19
4-2. アセトンデータと脂肪酸化量の関係.....	20
4-3. 測定の日間変動.....	22
4-4. 研究の限界.....	22
5. まとめ.....	23
第5章 研究課題 II 「漸増負荷運動および中等度強度の有酸素性運動における呼気アセトン排出と脂肪酸化量の関係」	24
1. 緒言	24
2. 方法	26
2-1. 被験者の同意	26
2-2. 実験 1	26
2-2-1. 被験者	26
2-2-2. 測定手順.....	26
2-2-3. 測定方法.....	27
2-3. 実験 2	28
2-3-1. 被験者	28
2-3-2. $\dot{V}O_{2peak}$ の測定および換気閾値 (Ventilatory Threshold: VT) の決定	28

2-3-3. 測定手順.....	28
2-3-4. 測定方法.....	29
2-4. 統計処理.....	30
3. 結果	30
3-1. 実験 1	30
3-2. 実験 2	33
4. 考察	35
4-1. 実験 1	35
4-2. 実験 2	38
4-3. 研究の限界.....	40
5. まとめ.....	41
第 6 章 研究課題Ⅲ「異なる先行運動がその後の持久運動時の呼気アセトン排出および 脂肪酸化量に及ぼす影響」	42
1. 緒言	42
2. 方法	44
2-1. 被験者	44
2-2. 測定手順.....	46
2-3. 測定方法.....	48
2-4. 統計処理.....	49
3. 結果	50
3-1. 呼気ガス指標	50
3-2. 血液指標.....	55
3-3. 呼気ガス指標と血液指標の関連.....	57
4. 考察	57
5. 研究の限界.....	62
6. まとめ.....	63
第 7 章 本研究のまとめと今後の課題.....	64
1. 本研究のまとめ	64
2. 今後の課題.....	66
3. 結語	67
参考文献	69

謝辞

略語一覧

略語	英語	日本語
ATP	adenosine triphosphate	アデノシン三リン酸
ADP	adenosine diphosphate	アデノシン二リン酸
CHO	carbohydrates	糖質
CoA	coenzyme A	補酵素 A
FFA	free fatty acids	遊離脂肪酸
H ₂ O	hydrogen oxide	水
ICC	intra-class correlation coefficients	級内相関係数
IMTG	intra-muscular triglycerides	筋肉内トリグリセリド
Pi	phosphoric acid	リン酸
RER	respiratory exchange ratio	呼吸交換比
RM	repetition maximum	最大反復回数
RQ	respiratory quotient	呼吸商
TCA	tricarboxylic acid	トリカルボン酸
$\dot{V}CO_2$	carbon dioxide output	二酸化炭素排出量
$\dot{V}E$	minutes ventilation	分時換気量
$\dot{V}O_2$	oxygen uptake	酸素摂取量
$\dot{V}O_{2max}$	Maximal oxygen uptake	最大酸素摂取量
$\dot{V}O_{2peak}$	Peak oxygen uptake	最高酸素摂取量
VT	ventilatory threshold	換気閾値

圖一覽

Figure 2-1. Maximum contribution to energy expenditure from fatty acids and carbohydrates (CHO) in relation to exercise intensity..... 6

Figure 2-2. Whole body fatty acids and carbohydrate oxidation estimated from respiratory exchange ratio (RER) during prolonged (240 minute) exercise at a moderate intensity ($55\% \dot{V}O_{2max}$)..... 7

Figure 4-1. Relationship between acetone concentration, acetone excretion and fat oxidation. 19

Figure 5-1. Changes in a) Acetone concentration, b) Acetone excretion and c) Fat oxidation during graded exercise..... 31

Figure 5-2. Changes in a) HR and b) $\dot{V}E$ during graded exercise. 32

Figure 5-3. The effects of VT (■) and 80%VT (▲) on a) Acetone concentration, b) Acetone excretion and c) Fat oxidation during rest, exercise and recovery. 34

Figure 5-4. The effects of VT (■) and 80%VT (▲) on $\dot{V}E$ during rest, exercise and recovery. 35

Figure 6-1. Protocols for exercise and blood sampling in three exercise regimens. 47

Figure 6-2. Acetone concentration, minutes ventilation and acetone excretion during three exercise regimens..... 52

Figure 6-3. Fat oxidation during three exercise regimens..... 53

Figure 6-4. Relationships between acetone concentration, acetone excretion and fat oxidation. 54

表一覽

Table 4-1. Characteristics of subjects.	13
Table 4-2. Time course change of acetone concentration, acetone excretion, fat oxidation, minutes ventilation, hart rate, and energy expenditure..	17
Table 4-3. Mean value of acetone concentration, acetone excretion, fat oxidation, minutes ventilation, heart rate, and energy expenditure at 1st and 2nd measurements.	17
Table 6-1. Physical and physiological characteristics of subjects.....	45
Table 6-2. Average cardiorespiratory and metabolic responses during subsequent endurance exercise with and without a preceding exercises.	50
Table 6-3. Hormone responses during the three exercise regimens.	55
Table 6-4. Energy substrates and lactate during the three exercise regimens.	56

第1章 研究の背景と目的

肥満は体内に脂肪が過剰に蓄積した状態のことであり、糖尿病、心血管疾患、肝機能障害および呼吸器疾患などの発症と深く関わっていることが知られている。また、近年では内臓に脂肪が蓄積した肥満（メタボリック・シンドローム：内臓脂肪症候群）がより生活習慣病の発症リスクを高めるとして問題視されている。肥満は、単純性肥満とある種の疾患によって引き起こされる症候性（二次性）肥満に大別されるが、その多く（約90%）は単純性肥満が占めている。単純性肥満の主な原因は、エネルギー摂取量がエネルギー消費量を上回ることであるため（Okay et al., 2009）、これを予防あるいは解消するためには運動によるエネルギー消費の増加と食事量の減少による摂取エネルギー抑制の両方から対策を講じなければならないと考えられる。

運動の実施は、エネルギー消費量を増加させ、脂肪が蓄積されやすい代謝状態を改善するだけでなく、肥満症の合併症の予防および冠動脈硬化性心疾患のリスクを軽減させるため、肥満症の重要な治療法の1つとして推奨されている（Okay et al., 2009）。脂肪をエネルギー源として利用（燃焼）するのに相応しい運動は、一般に低～中等度強度（心拍数で100~120bpm/min）で、少なくとも20~30分間以上続く有酸素性運動であると言われている。一方、60分間に及ぶ持続的運動の20分前あるいは120分前にレジスタンス運動を行うと、持続的運動を単独で行った場合と比較して、血清中の遊離脂肪酸濃度や運動中に利用される総エネルギーに対する脂質の寄与率が高くなったとの報告もなされている（Goto et al., 2007a）。

安静時や運動時の脂肪酸化量を知るのに一般に良く用いられるのは、酸素摂取量の測定と同時に呼吸交換比（Respiratory exchange ratio : RER ; $\dot{V}CO_2 / \dot{V}O_2$ ）を求めて算出する方法

である (Bursztein et al., 1980)。しかし、RER から脂肪酸化量を求める場合には、その前提として運動において定常状態 (酸素需要量=酸素摂取量) が成立していることが条件であり、定常状態が成立しない状況下では利用できないという問題が存在している (石河および杉浦, 1989)。

これに対して近年、新たな脂質代謝の指標としてアセトンに注目が集まっている。アセトンはケトン体 (アセト酢酸、 β -ヒドロキシ酪酸、アセトン) の一種であり、ケトン体は糖尿病、飢餓時および高脂肪食摂取時に上昇することが知られている (Henderson et al., 1952、Levey et al., 1964、Musa-Veloso et al., 2002)。このケトン体の多くは、脂肪組織から動員された遊離脂肪酸が肝臓に取り込まれた際に、ミトコンドリア内での不完全燃焼により生じる (Rooth and Ostenson, 1966)。トリカルボン酸回路 (Tricarboxylic acid cycle : TCA サイクル) で利用されるアセチルコエンザイム A (Coenzyme A : CoA) そのものは肝臓から血中へ移行することが出来ないため、ケトン体として血中に放出される (Manolis, 1983)。そのうちアセト酢酸と β -ヒドロキシ酪酸は、肝臓を除く組織に取り込まれてアセチル CoA を経てエネルギー源として利用されるが、アセトンは揮発性が高いため呼吸や皮膚あるいは尿中へと排出される (Martin and Wick., 1943、Nose et al., 1996)。

ケトン体は糖利用障害によってアセチル CoA が不足している組織においてエネルギー源として利用されることや (Kalapos, 1999)、脳において糖に代わる代替エネルギーとしても役立つことが示唆されている (Owen et al., 1982)。しかし、肝臓以外の組織での除去能力を超えてケトン体が生成された場合には、血中への過剰な蓄積によってアシドーシスとなり、様々な問題を引き起こす (Mitchell et al., 1995)。このように、ケトン体は脂質代謝において重要な役割を果たしており、その多くの経路で生成されるケトン体と並行してアセトンが

生成されるのであれば、アセトンの排出を知ることで脂質代謝を類推することが出来るものと考えられる。

実際にこれまでの先行研究では、肥満糖尿病患者で早朝空腹時にアセトン濃度が高くなり、体脂肪率との間に有意な正の相関関係があったこと (Samar et al., 1993)、安静時において個人差が見られたこと (垣津ら, 2010)、運動強度に応じてアセトン排出量が増えたこと (Yamai et al., 2009) や、有酸素運動や無酸素運動によって上昇したことが報告されている (垣津ら, 2011)。

これらのことから、呼気中のアセトン濃度あるいはアセトン排出量が脂質代謝の指標として有用であるとは言われているものの、実際に脂肪酸化量とアセトン濃度との関連を報告した研究は知る限り 1 編存在するのみであり (Sasaki et al., 2011)、呼気アセトン排出量と脂肪酸化量との関連を報告した研究はみられない。

アセトンは一部皮膚や尿中へも排出されるが、量的には呼気への排出が数倍多いことや (Naitoh et al., 2002)、呼気と皮膚への排出の間には高い正の相関関係が見られること (Yamai et al., 2009)、また、呼気中のアセトン濃度と血中のアセトン濃度との間には高い正の相関関係があることが知られている (Crofford et al., 1977)。しかし、呼気中のアセトン濃度測定では換気量は考慮されておらず、呼吸の方法や呼吸数、1 回換気量の変化によっては、アセトンの総排出量に影響を及ぼす可能性がある (Anderson et al., 2006、King et al., 2011)。そのため、アセトン濃度ではなくアセトン排出量を用いる方が、より脂肪酸化量を正確に反映するものと考えられる。

そこで本研究では、①安静時における脂肪酸化量と呼気アセトン排出の関係 (研究課題 I)、および②運動時における脂肪酸化量と呼気アセトン排出の関係 (研究課題 II および III)

について検討することで、呼気アセトン排出量が脂肪酸化量の指標となり得るかどうかを明らかにすることとした。本研究の課題は以下の3つである。

【研究課題Ⅰ】

安静時における呼気アセトン排出と脂肪酸化量の関係

【研究課題Ⅱ】

漸増負荷運動および中等度強度の有酸素性運動における呼気アセトン排出と脂肪酸化量の関係

【研究課題Ⅲ】

異なる先行運動がその後の持久運動時のアセトン排出と脂肪酸化量に及ぼす影響

第2章 文献考証

1. エネルギー代謝と運動による影響

1-1. 運動強度および時間がエネルギー代謝に与える影響

運動中には、糖質および脂肪のエネルギー源としての利用が混在している (Burke et al, 2009)。運動中に利用される総エネルギーに対する脂質の寄与率は、運動時間および強度を含む様々な要因により変化する。Christensen and Hansen (1939) は、運動強度の増加に伴い、糖質の酸化への依存度が高まり、エネルギー産生のための脂肪酸酸化が減少することを報告した。Romijn et al. (1993) は、低強度運動 ($25\% \dot{V}O_{2max}$) では血中の遊離脂肪酸および筋中の中性脂肪からのエネルギー供給が多く、中強度運動 ($65\% \dot{V}O_{2max}$) では、筋グリコーゲンおよび血糖のような糖質と脂質からのエネルギー供給がそれぞれ約 50 %ずつ、高強度運動 ($85\% \dot{V}O_{2max}$) では、エネルギー供給のほとんどが糖質であり、脂質の利用率は約 20 %にとどまることを示している (Figure 2-1)。また、呼気ガス分析の酸素摂取量 ($\dot{V}O_2$) および二酸化炭素排出量 ($\dot{V}CO_2$) より推定される脂肪酸化量では、33~65 $\% \dot{V}O_{2max}$ 強度において最大となることが報告されている (Achten et al., 2002)。

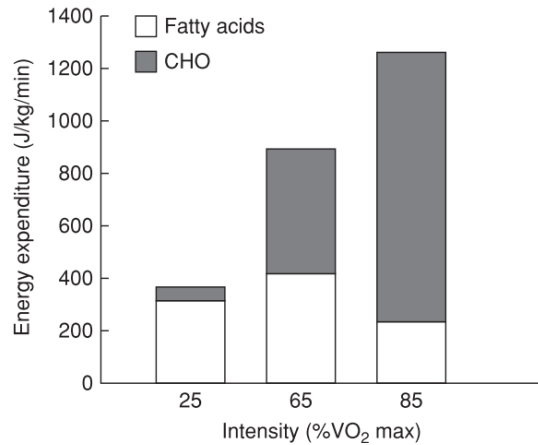


Figure 2-1. Maximum contribution to energy expenditure from fatty acids and carbohydrates (CHO) in relation to exercise intensity. Romijn et al. (1993).

運動時間に関しては、Christensen and Hansen (1939) は、中等度強度での持久運動を1～1.5時間以上持続した場合に、運動中の脂肪酸酸化が徐々に増強することを示した。また Watt et al. (2002) は、運動開始から1.5時間以降で脂肪酸酸化量が有意に上昇し、糖質酸化量が有意に低下することを示した (Figure 2-2)。さらに、鍛錬者と非鍛錬者を比較した場合でも、運動持続時間が1～1.5時間未満では糖質と脂質の酸化の比に違いは見られないことが示唆されている (Mendenhall et al., 1994、Helge et al., 1996、Roepstorff et al., 2002)。したがって、中等度強度での持久運動時における糖質から脂質への基質酸化のシフトは、運動時間が1～1.5時間を超える場合に重要であると考えられている。

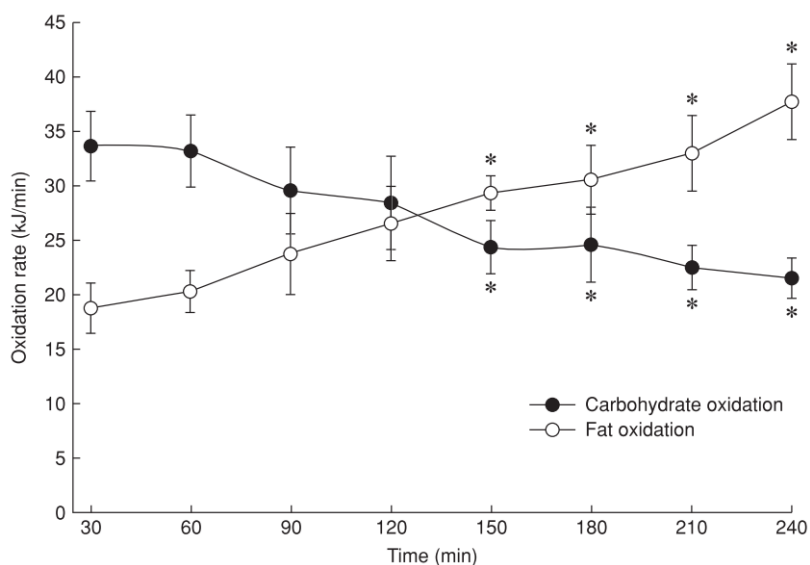


Figure 2-2. Whole body fatty acids and carbohydrate oxidation estimated from respiratory exchange ratio (RER) during prolonged (240 minute) exercise at a moderate intensity (55 % $\text{VO}_{2\text{max}}$). Values are means \pm SE. * : $p < 0.05$. Watt et al. (2002).

1-2. 先行運動の実施が脂質代謝に与える影響

運動中の脂質代謝は、先行運動の実施により影響を受けることが報告されている。Goto et al. (2007a) は、有酸素性運動の先行運動として1最大反復回数 (repetition maximum : RM) の75%強度でのレジスタンス運動を実施した場合、有酸素性運動のみを行った場合と比較して、有酸素性運動中に利用される総エネルギーに対する脂質の寄与率が高まったことを報告した。一方、Kang et al. (2009) によると、先行運動としてのレジスタンス運動は、高強度 (8RM の90%) で実施した場合には、有酸素性運動中に利用される総エネルギーに対する脂質の寄与率および脂肪酸化量を亢進させるが、低強度 (8RM の60%) ではその後の有酸素性運動時の脂質代謝を亢進しないことを報告している。

レジスタンス運動は、成長ホルモンやカテコールアミンなどの分泌を増加させる。成長ホルモンおよびカテコールアミンは強力な脂肪分解作用を有している (Moller et al., 1990、

Quisth et al., 2005)。そのため、レジスタンス運動によって脂肪の分解が促進され、遊離脂肪酸やケトン体の血中濃度を上昇させることで、その後の持久運動時の脂質の利用性を高め、脂質代謝を亢進させたものと考えられている (Stich et al., 2000)。また、有酸素性運動の先行運動として有酸素性運動を実施した場合にも、運動中の脂質分解が亢進することが報告されている (Stich et al., 2000、Goto et al., 2007b)。持久運動中に脂質代謝を亢進させる主な刺激としては、インスリン濃度の低下と運動誘発性のカテコールアミン分泌の増加であると考えられている (Bulow, 1998、Stallknecht et al., 2001、Lange et al., 2002)。

インスリンは脂肪合成の促進に作用する、つまり脂肪分解に対して抑制効果を示すホルモンである。持久運動を繰り返した際には、持続的に持久運動を行った場合と比較して、インスリン濃度を低下させることが確認されている (Stich et al., 2000、Goto et al., 2007b)。また、先行研究において持久運動の実施によりエピネフリン、ノルエピネフリンおよび成長ホルモンの増加が観察されている (Stich et al., 2000、Goto et al., 2007b)。このように、持久運動を繰り返した際には、脂肪分解を促進するカテコールアミンおよび成長ホルモンの増加および脂肪分解を抑制するインスリンの低下により、脂質代謝が亢進するものと考えられている。

2. 呼気アセトン排出と運動による影響

2-1. 脂質代謝指標としての呼気アセトンの利用

ヒトの呼気ガス中には数千種類の化合物が排出されており、アセトンはヒトの呼気ガス中に含まれる豊富な化合物の一つである。1900年代の直前には、糖尿病患者の呼気アセトン濃度の測定方法が確立されたと言われており、1920年には Hubbard および Widmark が、健常なヒトの呼気アセトン濃度を測定することに成功した (Hubbard, 1920、Widmark, 1920)。

その後の研究により、血中のアセトン濃度と呼気のアセトン濃度には強い相関関係が報告され (Owen et al., 1982)、呼気アセトンは非侵襲的に脂質の代謝をモニタリングするための良い指標として、代謝障害および肺または消化器疾患の臨床診断に用いられてきた。しかしながら、呼気から検出されるアセトン濃度は非常に低濃度であるために、正確に測定するためには、ガスクロマトグラフィー質量分析法などの基本的に大規模な装置や熟練した技術が必要とされるため、病院などの専門機関でしか利用することができなかった。

近年、食事、運動、喫煙や飲酒などの生活習慣が発症原因に深く関与しているとされる生活習慣病（癌、心疾患、脳血管疾患 etc...）の増加が問題となっている。また、その発症には、肥満や脂肪が内臓に蓄積した肥満（メタボリック・シンドローム；内臓脂肪症候群）が深く関わっていることが知られており、このような状態を未然に防ぐためには日々の脂肪代謝の状況を把握しながら、自己管理を行うことが必要である。そこで近年では、運動や食事制限を行った際の脂質の燃焼状況のモニタリングとして、呼気アセトン濃度を応用することが試みられるようになってきた。そして、従来のように大規模な装置や熟練した技術を必要とせず、簡便かつ手軽に呼気アセトン濃度の測定が可能な計測機器の開発が進められている (Toyooka et al., 2013、藤井ら, 2017)。

2-2. 安静時および運動時の呼気アセトン排出

血液中と呼気中のアセトン濃度との間には強い相関関係があることが知られている (Owen et al., 1982)。ケトン体の生成が、絶食や運動によって増加することは周知の事実であるが (Féry and Balasse, 1983、Wahren et al., 1984、Balasse and Féry, 1989)、Naito et al. (2002) は、呼気アセトン濃度は絶食期の長さに比例して増加することを報告している。また、Schwarz et al. (2009) は、健常な成人における通常安静時の呼気アセトン濃度の範囲は

0.28~1.25 ppm にあり、一晩絶食後の呼気アセトン濃度の範囲は 0.2~2.4 ppm であったことを報告した。さらに、垣津ら（2010）は、安静時の呼気アセトン濃度には個人差があることを報告している。

一方、Senthilmohan et al.（2000）は、安静時と比較して運動中の呼気アセトン濃度が上昇したことを示し、Yamai et al.（2009）は、3段階（360、720 および 990 kgm/min）の漸増負荷での自転車エルゴメーター運動を行った際に、安静時と比較して 990 kgm/min の運動で有意に高い呼気アセトン濃度、720 および 960 kgm/min の運動で有意に高い呼気アセトン排出量（呼気アセトン濃度×換気量）を示したことを報告した。また、Sasaki et al.（2011）は、漸増負荷運動において比較的低強度（34.3 % $\dot{V}O_{2max}$ ）から呼気アセトン濃度の上昇が始まることや、持続的な運動中では、運動の継続に伴い呼気アセトン濃度が上昇することを報告している。

第3章 先行研究における問題点と本研究の課題

先行研究では、呼気アセトン濃度は脂質代謝を反映するとされている。しかし、実際に脂肪酸化量とアセトン濃度との関連を報告した研究は、知る限り1編存在するのみである (Sasaki et al., 2011)。また、呼気中のアセトン濃度測定では換気量は考慮されておらず、呼吸の方法や呼吸数、1回換気量の変化によっては、アセトンの総排出量に影響を及ぼす可能性がある (Anderson et al., 2006、King et al., 2011)。従って、アセトン濃度ではなく、アセトン排出量を用いる方がより脂肪酸化量を反映すると考えられる。しかし、脂肪酸化量と呼気アセトン排出量との関連を報告した研究はみられない。

そこで、研究課題Ⅰでは、安静時における脂肪酸化と呼気アセトン排出の測定を行い、これらの関連性を検討することとした。また、研究課題Ⅱでは、漸増負荷運動および一定負荷運動を行わせ、運動中の呼気アセトン排出の応答を検討することとした。さらに、研究課題Ⅲでは、持久運動中の脂肪酸化量を亢進させると考えられる2種類（有酸素性運動およびレジスタンス運動）の先行運動を実施した後の、持久運動中の脂肪酸化量およびアセトン排出量を、持久運動のみを実施した場合と比較検討することとした。

第4章 研究課題 I

「安静時における呼気アセトン排出と脂肪酸化量の関係」

1. 緒言

アセトンは脂肪組織から動員された遊離脂肪酸が肝臓に取り込まれた際に、ミトコンドリア内での不完全燃焼により生じるケトン体（アセト酢酸、 β -ヒドロキシ酪酸およびアセトン）の一種である (Samar et al., 1993)。アセト酢酸と β -ヒドロキシ酪酸は血中へと放出され、肝臓を除く組織に取り込まれ、アセチル CoA を経てエネルギー源として利用されるが、アセトンは揮発性が高いために血中から呼気や皮膚あるいは尿中へと排出される (Martin et al., 1943、Nose et al., 1996)。そのため、アセトンは非侵襲的かつ非観血的に脂質代謝を推定することのできる指標として利用されている。

これまでの研究から、呼気中のアセトン濃度と血中のアセトン濃度との間には高い正の相関関係があること (Crofford et al., 1977)、運動強度に応じてアセトン濃度が増えること (Yamai et al., 2009)、脂肪の減少とアセトン濃度に相関関係が見られること (Samar et al., 1993) などが報告されている。これらのことから、呼気中のアセトン濃度が脂質代謝の指標として有用であると言われている。しかし、実際に脂肪酸化量とアセトン濃度との関連を報告した研究は、知る限り 1 編存在するのみである (Sasaki et al., 2011)。

また、呼気中のアセトン濃度測定では換気量は考慮されておらず、呼吸の方法や呼吸数、1 回換気量の変化によっては、アセトンの総排出量に影響を及ぼす可能性がある (King et al., 2011)。さらに、安静時における呼気アセトン濃度には呼吸ごとに変動性があり、その原因には換気流量の変動に起因する可能性が指摘されている (Anderson et al., 2006、King et al., 2011)。従って、アセトン濃度ではなく、アセトン排出量を用いる方がより脂肪酸化量を正

確に反映すると考えられる。しかし、脂肪酸化量と呼気アセトン排出量との関連を報告した研究はみられない。

そこで本研究では、安静時の呼気アセトン排出量と呼気ガス分析より求めた脂肪酸化量との関係を明らかにすることを目的とした。

2. 方法

2-1. 被験者

被験者は年齢 20 歳以上の健常な日本人男女 17 名（男性 7 名、女性 10 名）とし、糖尿病あるいは脂質異常症の治療を受けている者、質問票によるチェックにおいて問題となる既往歴あるいは症状を持つ者は除外した。被験者の年齢および身体的特徴を Table 4-1 に示した。被験者に対して実験の目的・方法や実験に参加することによって生じる危険性などを、説明文書を用いて十分に説明し、被験者の自由意思による実験参加への同意を文書により得た。なお、本実験は早稲田大学の「人を対象とする研究に関する倫理委員会」の承認を得て行った（承認番号：2013-291）。

Table 4-1. Characteristics of subjects.

	Male (7)			Female (10)		
Age (yr)	23	±	3.4	23	±	1.5
Height (cm)	169.7	±	5.8	161.3	±	1.8
Weight (kg)	67.4	±	10.9	54.0	±	5.5 *
Body fat percentage (%)	18.1	±	8.6	24.1	±	5.0 *
Body mass index (kg/m ²)	23.4	±	4.3	20.7	±	1.9

Values are represented means ± SD. * : $p < 0.05$, Male vs. Female.

2-2. 測定手順

被験者には実験期間中の激しい運動、実験開始 24 時間前からの飲酒、実験室来室 60 分前からの喫煙を禁止した。被験者は 12 時間以上の絶食状態で来室し、年齢、身長、体重、体組成分析装置 (InBody 720、Biospace、日本) による体脂肪率の測定および質問票による既往歴と症状の調査を受けた。その後、呼気採集用マスクと心電図用電極を装着し、実験室 (室温 23.1 ± 0.3 °C、湿度 51.3 ± 1.8 %) において、10 分間の椅座位安静を保った後、30 分間に亘って安静時の酸素摂取量 ($\dot{V}O_2$)、心拍数 (Heart Rate: HR) および呼気アセトン濃度を測定した。測定はいずれも 9 時~12 時の間に行った。また、測定値の日間変動を確認するために、身体測定を除く同様の測定を、2 日間~14 日間の間隔をおいて別の日の同時刻に行った。

2-3. 測定方法

HR の測定は双極誘導法によりモニター心電計 (OEC-8108、日本光電社製、日本) を用いて、分時換気量 ($\dot{V}E$)、 $\dot{V}O_2$ および二酸化炭素排出量 ($\dot{V}CO_2$) 等の呼気ガスデータはエネルギー代謝分析器 (エアロモニタ AE-310S、ミナト医科学社製、日本) を用いて測定した。脂肪酸化量およびエネルギー消費量はエネルギー代謝分析器より測定した $\dot{V}O_2$ および $\dot{V}CO_2$ のデータを用い、以下の計算式に沿って算出した (Bursztein et al., 1989)。

$$\text{Fat oxidation} = 1.689 \times (\dot{V}O_2 - \dot{V}CO_2)$$

$$\text{Energy expenditure} = 3.581 \times \dot{V}O_2 + 1.448 \times \dot{V}CO_2$$

アセトン濃度の測定は、同一サンプルを複数回測定するためにダグラスバッグに採集した呼気ガスよりアセトンプロト機（東芝社製、日本）を用いて行った。この装置では、ガスセルに取り込まれた呼気に量子カスケードレーザー光源（Quantum Cascade Laser：QCL）を照射し、呼気を通過した後の光（透過光）の出力強度を検出している。アセトンガスは3,6,7 および8 μm の波長に吸収を持つため、アセトンプロト機内で照射される8 μm 波長のQCL光源は、アセトンガスの濃度に依存して透過光の光出力強度を変化させる。もしアセトン濃度が高ければ検出される光出力強度は低下するが、アセトンプロト機では、化学ガスや水蒸気を除外した大気を透過光強度の基準値として測定した上で、呼気の透過光の強度値との比によってアセトン濃度を算出している。なお、この分析機によるアセトン濃度は、後述するように、その精度が証明されている（高木ら, 2014）。

30 分間の安静時測定において、HR および呼気ガスデータは連続測定する一方で、アセトン濃度は、ダグラスバッグへの採集期間を0~10分、10~20分および20~30分の3ステージに分け、1ステージにつき4回（合計12回）の測定を行った。4回の測定値からステージごとの平均値を算出した。呼気アセトン排出量($\mu\text{L}/\text{min}$)は各ステージのアセトン濃度(ppm)と $\dot{V}\text{E}$ (L/min)との積より算出した。呼気は、呼気採取用マスクから蛇管を経て、エネルギー代謝分析器の流量計を通り、接続されたダグラスバッグに採集された。

2-4. 統計処理

値は全て平均±標準偏差(SD)で示した。各測定項目の時間経過に伴う平均値の差の検定には、反復測定による一元配置の分散分析を行い、F値が有意であった場合には、Scheffe法により多重比較検定を行った。各測定項目の1回目および2回目の平均値の差の検定には、対応のあるt検定を用いた。

アセトン排出量、アセトン濃度と脂肪酸化量の間を、ピアソンの積率相関係数を用いて解析した。アセトン排出量とアセトン濃度の測定の日間変動を級内相関係数（Intraclass Correlation Coefficients : ICC）を用いて検定した。

有意水準は全て危険率 5%未満とした。統計処理には SPSS（IBM SPSS Statistics 22.0 for Windows、IBM、日本）を用いた。

3. 結果

3-1. 日間変動

男女併せた 30 分間の 3 ステージにおける安静時測定によって得られた結果を Table 4-2 に示した。すべての測定項目において経時変化は認められなかった。経時変化が認められなかったため、すべてにおいて 30 分間の平均値を求めたところ、別の日に測定した 1 回目と 2 回目の測定値に有意な差は認められなかった（Table 4-3）。この時のアセトン濃度とアセトン排出量の ICC は、アセトン濃度では 0.59、アセトン排出量では 0.74 であった。また、V E の ICC は 0.87、脂肪酸化量の ICC は 0.89、HR の ICC は 0.95、エネルギー消費量の ICC は 0.97 であった。

Table 4-2. Time course change of acetone concentration, acetone excretion, fat oxidation, minutes ventilation, hart rate, and energy expenditure.

	Stage		
	1	2	3
Acetone concentration (ppm)	0.8 ± 0.4	0.7 ± 0.3	0.7 ± 0.3
Acetone excretion (µL/min)	5.3 ± 3.2	4.8 ± 2.8	4.7 ± 2.9
Fat oxidation (mg/min)	66.2 ± 22.4	66.3 ± 22.4	69.5 ± 23.9
Minutes ventilation (L/min)	6.4 ± 1.1	6.4 ± 1.2	6.5 ± 1.1
Heart rate (bpm)	67.4 ± 10.3	67.9 ± 10.8	68.2 ± 10.3
Energy expenditure (cal/min)	918.0 ± 64.0	925.2 ± 76.8	939.3 ± 65.4

Values are means ± SD.

Table 4-3. Mean value of acetone concentration, acetone excretion, fat oxidation, minutes ventilation, heart rate, and energy expenditure at 1st and 2nd measurements.

	1st	2nd
Acetone concentration (ppm)	0.7 ± 0.4	0.7 ± 0.3
Acetone excretion (µL/min)	4.9 ± 2.9	5.0 ± 3.0
Fat oxidation (mg/min)	67.7 ± 20.3	67.0 ± 20.8
Minutes ventilation (L/min)	6.4 ± 1.1	6.5 ± 1.0
Heart rate (bpm)	68.0 ± 10.9	67.6 ± 10.3
Energy expenditure (cal/min)	929.2 ± 66.4	925.8 ± 73.0

Values are means ± SD.

3-2. アセトン濃度およびアセトン排出量と脂肪酸化量および $\dot{V}E$ との関係

経時変化、および全ステージにおける1回目と2回目の測定値に有意差が認められなかったことから、アセトン濃度およびアセトン排出量と脂肪酸化量との関係の検討には、被験者ごとに1回目と2回目を併せて、それぞれの30分間の平均値を用いることとした。

アセトン濃度と脂肪酸化量およびアセトン排出量と脂肪酸化量との関係を Figure 4-1 へ示した。アセトン濃度と脂肪酸化量の間には有意な正の相関関係 ($r = 0.79$ 、 $p < 0.05$) が認められた。アセトン排出量と脂肪酸化量の間にも、有意な正の相関関係 ($r = 0.84$ 、 $p < 0.05$) が認められた。

一方、アセトン濃度と $\dot{V}E$ の間には相関関係は認められなかった ($r = 0.28$ 、 $p = 0.12$)。しかし、アセトン排出量と $\dot{V}E$ の間には有意な正の相関関係 ($r = 0.63$ 、 $p < 0.05$) が認められた。

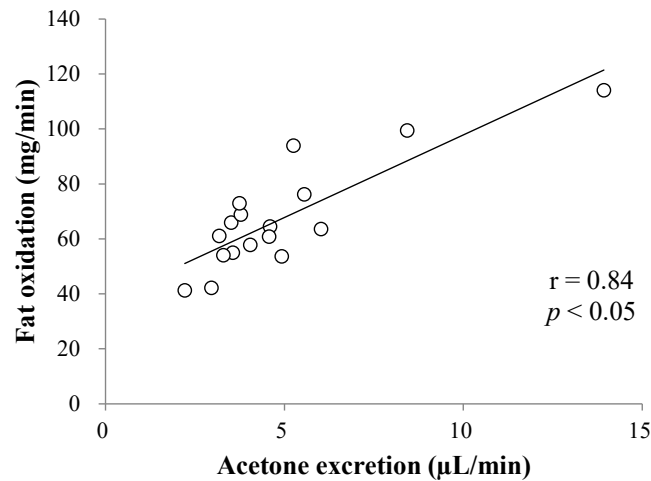
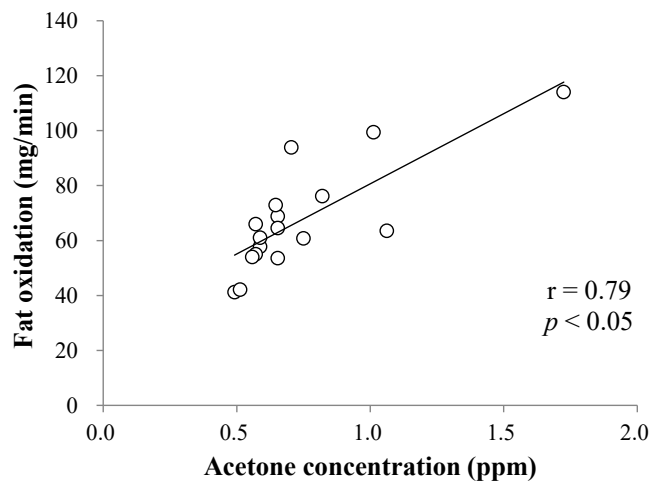


Figure 4-1. Relationship between acetone concentration, acetone excretion and fat oxidation.

4. 考察

本研究では安静時における脂肪酸化量と呼気アセトン濃度およびアセトン排出量の測定を行なった。その結果、脂肪酸化量と呼気アセトン濃度およびアセトン排出量には有意な正の相関関係が認められた。このことは、安静時における呼気アセトン濃度あるいはアセトン排出量は脂肪酸化量を反映する有用な指標となり得ることを示唆している。

4-1. 測定値の妥当性

本研究で用いたアセトンプロト機の精度は、基準となるアセトンガスをアセトンプロト機により測定すること、および人の呼気を採取し、そのアセトン濃度をガスクロマトグラフィーによる測定値とアセトンプロト機の測定値を比較することで、その精度が証明されている（高木ら., 2014）。

通常安静時の呼気アセトン濃度の範囲は 0.28~1.25 ppm であること、健常な成人における一晩絶食後の呼気アセトン濃度の範囲が 0.2~2.4 ppm であったことが先行研究により報告されている（Schwarz et al., 2009）。本研究で測定された呼気アセトン濃度の範囲は 0.38~1.88 ppm と、通常安静時の値よりはやや高いものの、一晩絶食後の測定値の範囲に入っていた。絶食中は脂肪の異化が亢進し、ケトン体が過剰に生成されることで、血中、尿中および呼気ガス中のアセトン濃度が上昇することが報告されている（Reichard et al., 1979）。これらのことから、本研究におけるアセトン濃度は正常に測定されていたと考えられる。

4-2. アセトンデータと脂肪酸化量の関係

今回測定を行ったアセトン濃度およびアセトン排出量と脂肪酸化量との関係について検討した結果、ともに有意な正の相関関係が認められた。この結果から、アセトン濃度およびアセトン排出量はともに脂肪酸化量を反映する指標となり得ることが示唆された。上述した通り、絶食時には脂肪の異化が亢進し呼気アセトン濃度は上昇することが報告されている。

大中ら（1974）は、一晩絶食後の臥位安静時において、脂質代謝の指標である血中 FFA 濃度と血中ケトン体濃度との間に高い正の相関を、血中 FFA 濃度と呼吸商（Respiratory quotient : RQ）との間に高い負の相関関係があることを報告している。RQ の低下は脂肪酸

化の亢進を示すことから、血中 FFA 濃度と脂肪酸化量の間には、血中ケトン体濃度と同様に正の相関関係があると考えられる。また、先行研究において、Sasaki et al. (2011) は、運動中における脂肪酸化量とアセトン濃度に正の相関関係があることを報告している。

今回我々は、安静時においても同様に正の相関関係があることを示し、アセトン濃度を測定することで脂肪酸化量を推定できる可能性を示唆した。アセトンは、運動や空腹時に体脂肪が分解されることによって産生される代謝産物であり、肺胞を通じて呼気ガス成分の1つとして放出されている (Manolis et al., 1983)。また、呼気中のアセトン濃度は、血中のアセトン濃度と密接に相関し、血液を採取せずとも呼気を使って空腹の度合いや脂肪燃焼の状況を、客観的に繰り返し計測することが可能である。

さらに我々は、安静時におけるアセトン排出量と脂肪酸化量との間には有意な正の相関関係があることを示した。本研究では、アセトン濃度と $\dot{V}E$ の積によりアセトン排出量を算出している。呼気ガス測定器で算出される脂肪酸化量は RQ をもとに求められているが、 $\dot{V}O_2$ および $\dot{V}CO_2$ に影響を及ぼす体格と換気量の影響も受ける。また、安静時における呼気アセトン濃度には呼吸ごとに変動性があり、その原因は換気流量の変動に起因する可能性が指摘されている (Anderson et al., 2006, King et al., 2011)。

そのためアセトン濃度よりも、 $\dot{V}E$ との積により算出したアセトン排出量の方が、呼吸の方法や呼吸数、1回換気量の変化による影響を受けずに、より脂肪酸化量を反映した指標になり得るものと考えられる。実際に本研究で得られた相関関係をみると、アセトン排出量との相関係数 ($r=0.84$) は、アセトン濃度とのそれ ($r=0.79$) よりも若干高い値を示していた。

また、アセトン濃度と $\dot{V}E$ の間には相関関係は見られなかったが、アセトン排出量と $\dot{V}E$ の間には有意な正の相関関係が確認された。このことから、アセトン濃度と $\dot{V}E$ は独立した

指標であり、換気量を反映したアセトン排出量の方が、より脂肪酸化量を反映する指標となり得る可能性があると考えられる。

4-3. 測定の日間変動

測定値の日間変動を、ICC を用いて検討した。Landis et al. (1983) の基準に従えば、アセトン濃度 (ICC = 0.59) で moderate (0.41~0.60)、アセトン排出量 (ICC = 0.74) では substantial (0.61~0.80) となり、十分な信頼性が得られたこととなる。アセトン濃度には変動性があることや、性別や運動習慣に拘らず個人差があること (Yamai et al., 2009)、同様の食事を摂取しても個人により呼気アセトン濃度は異なることが報告されている (Anderson et al., 2006)。

これらのことから、ICC の値に基づくと、アセトン濃度よりもアセトン排出量でより少ない日間変動を示す可能性が示唆された。また、VE (ICC = 0.87)、脂肪酸化量 (ICC = 0.89) HR (ICC = 0.95) およびエネルギー消費量 (ICC = 0.97) の ICC の値では、almost perfect となり、かなり高い信頼性が得られたことから、測定は高い再現性を持つ可能性が考えられた。

4-4. 研究の限界

本研究では呼気中のアセトン濃度のみの測定を行っており、尿中および皮膚へのアセトン排出量は測定していない。そのため全身でのアセトン排出量は不明であった。しかし、先行研究では呼気アセトン濃度と血中アセトン濃度 (Crofford et al., 1977)、および皮膚でのアセトン濃度 (Nose et al., 1996) と相関があることや、血中アセトン濃度と尿中アセトン濃

度に正の相関があることが報告されている (Martin et al., 1943)。それゆえ、呼気のアセトン濃度およびアセトン排出量の測定は、脂肪酸化量を知る手がかりになると考えられる。

また、本研究では安静時の測定のみを行っており、運動時や高糖質食摂取後の脂肪燃焼低下時などに、アセトン排出量と脂肪酸化量がどのような関係を示すかは明らかではない。その他の実験条件におけるアセトン排出量と脂肪酸化量との関係については、今後検討していく必要がある。

5. まとめ

本研究では、30 分間の安静時における呼気アセトン濃度と脂肪酸化量 ($r=0.79$ 、 $p<0.05$) および呼気アセトン排出量と脂肪酸化量 ($r=0.84$ 、 $p<0.05$) との間には有意な高い相関関係が認められた。このことから、呼気アセトン濃度あるいはアセトン排出量は安静時における脂肪酸化量を反映する有用な指標になり得ると思われた。また、アセトン濃度よりもアセトン排出量の方が、より脂肪酸化量を反映する指標となり得る可能性が示唆された。

第5章 研究課題Ⅱ

「漸増負荷運動および中等度強度の有酸素性運動における呼気アセトン排出と脂肪酸化量の関係」

1. 緒言

ケトン体は古くは代謝産物とされ、有用な生理学的役割はないと考えられていた。しかし、絶食時や低血糖時といったグリコーゲンが枯渇している際には、ケトン体はグルコースの枯渇を補償し、末梢組織にてエネルギー源として用いられることが明らかになっている (Owen et al., 1967)。

また、ケトン体は脂質代謝を反映することでも注目されるようになった (Pezzagno et al., 1986, Prabhakar et al., 2014, Mannisto et al., 2015)。先述したように、ケトン体は肝臓において脂肪酸が β 酸化される際に生じるアセチルコエンザイム A (Coenzyme A: CoA) より産生されるアセトン、アセト酢酸および β -ヒドロキシ酪酸の総称であるが、アセトンは揮発性が高いために体内でほとんど代謝されることはなく、呼気、皮膚および尿中へ排出される (Pezzagno et al., 1986, Yamai et al., 2009, Prabhakar et al., 2014)。中でも、呼気からの排出が圧倒的に多く、皮膚および尿中の数倍になることが報告されている (Yamai et al., 2009)。最近では呼気から排出されるアセトン (呼気アセトン) が、脂質代謝の指標となることから注目されており、また、呼気アセトンは尿中のケトン体と正の相関関係にあり、ケトン体と並行して排出されていることが示唆されている (Prabhakar et al., 2014, 2015)。

垣津ら (2010, 2011) は、運動中の脂質代謝を簡便に知る目的で、様々な運動様式における呼気アセトンの応答について検討している。その中では、有酸素性運動だけではなくレジスタンス運動を行った際の検討も行い、無酸素性運動であるレジスタンス運動では主に

糖質が利用されるために有意な増加が認められないものの、レジスタンス運動後に有酸素性運動を行った場合には呼気アセトンが増加することを示唆している。

さらに、Sasaki et al. (2011) は、最大脂肪酸化量を示す強度（最高酸素摂取量「Peak oxygen uptake: $\dot{V}O_{2peak}$ 」の 39.6 %での強度）にて 2 時間の運動を行った際の、呼気アセトンと $\dot{V}O_2$ および $\dot{V}CO_2$ より推定した脂肪酸化量との間に正の相関関係があることを報告した。また、この研究では漸増負荷運動時の呼気アセトン濃度についても検討しており、 $\dot{V}O_{2max}$ の 70~80 %時に最大値を示すことが報告されている。

以上のように、様々な運動を行った際の呼気アセトンの応答や脂肪酸化量との関連性が報告されているものの、これらは呼気アセトン濃度のみに着目したものである。先行研究において、呼気アセトン濃度は呼吸毎に変動しており、換気量の変化に影響される可能性が指摘されている (Anderson et al., 2006)。仮に、安静時のようにアセトンの産生が安定している状態で換気量を増加させた場合、呼気アセトン濃度は換気量の増加に伴って低くなる。それゆえ、呼気アセトン濃度だけの評価ではアセトンの産生量、あるいは脂肪の代謝量を正確に評価できない可能性も考えられる。そして、運動時には呼気アセトン濃度は増加するが (Yamai et al., 2009、垣津ら, 2010, 2011、Sasaki et al., 2011)、著しい換気亢進も生じるため、アセトン産生量が増加したとしても呼気アセトン濃度には正しく反映されない場合も考えられる。

したがって、呼気アセトン濃度だけではなく、換気量を考慮した呼気アセトン排出量が運動時にどのような応答を示すのかを検討することが必要と思われるが、呼気アセトン排出量を検討しているのは Yamai et al. (2009) のみである。しかも、この研究では漸増負荷運動のみを用いており、一定負荷運動による応答については確認していない。呼気から排

出されるアセトンを評価する際に呼気アセトン排出量が有用か否かを検討する上で、一定負荷運動時の呼気アセトン排出量を検討することも必要である。

そこで本研究では、男性被験者を対象として、運動中の呼気アセトン排出量の応答を明らかにすること、および脂肪酸化量との関係を検討することを目的とした。

2. 方法

2-1. 被験者の同意

実験に先立って、被験者に対して実験の目的・方法や実験に参加することによって生じる危険性などを説明文書を用いて十分に説明し、被験者の自由意思による実験参加への同意を文書により得た。なお、本実験は早稲田大学の「人を対象とする研究に関する倫理委員会」の承認を得て行われた（承認番号：2013-291）。

2-2. 実験 1

2-2-1. 被験者

被験者は年齢 20 歳以上の健常な日本人男性 10 名（年齢: 23.7 ± 2.6 歳、身長: 171.2 ± 6.5 cm、体重: 67.8 ± 6.0 kg、体脂肪率: 14.0 ± 3.8 %、BMI: 21.9 ± 2.1 kg/m²）であった。糖尿病あるいは脂質異常症の治療を受けている者、質問票によるチェックにおいて問題となる既往歴あるいは症状を持つ者、および実験担当者によって本実験への参加が不適當であると認められる者は除外した。

2-2-2. 測定手順

被験者を2時間以上に亘って食事を摂取しない状態で来室させ、年齢、身長、体重、体脂肪率の測定を行った。また、安静12誘導心電図および質問票による既往歴と症状の調査を行い、運動負荷試験を行っても問題が無いことを確認した。その後、室温 ($20.2 \pm 0.4^{\circ}\text{C}$) および湿度 ($50.6 \pm 1.8\%$) が統制された実験室において、10分間の安静後に $\dot{V}\text{O}_{2\text{peak}}$ の測定を行った。

$\dot{V}\text{O}_{2\text{peak}}$ の測定は自転車エルゴメーター (AEROBIKE75XL II、コンビウエルネス社製、日本) を用いて行い、漸増負荷による運動を毎分60回転のペダリング頻度で、負荷を0Wから開始し、2分毎に40Wずつ漸増させ疲労困憊に至るまで行わせた (上岡ら, 2000)。疲労困憊の判断は以下に示す基準により決定した。1) 年齢から推定した最高心拍数の90%以上、2) 呼吸交換比 (RER) が1.10以上、3) 主観的運動強度が18以上にあり、検者の叱咤激励にも拘わらずペダリング頻度についていけなくなった時点とした。

2-2-3. 測定方法

HRの測定は双極誘導法によりモニター心電計 (OEC-8108、日本光電社製、日本) を用いて、 $\dot{V}\text{E}$ 、 $\dot{V}\text{O}_2$ および $\dot{V}\text{CO}_2$ の測定はエネルギー代謝分析器 (エアロモニタ AE-310S、ミナト医科学社製、日本) を用いて行った。呼気アセトン濃度の測定はダグラスバッグに採集した呼気ガスよりアセトンプロト機 (東芝社製、日本) を用いて行った。なお、この分析機の精度は研究課題 I により確認されている

本実験を通して、HR、 $\dot{V}\text{E}$ 、 $\dot{V}\text{O}_2$ 、 $\dot{V}\text{CO}_2$ は1分毎に連続的に測定した。ダグラスバッグへの呼気採集時間は、安静時では椅座位開始から5~10分の時点 (rest) の5分間、運動時では運動開始から3~4分 (低強度: 40W 時の1~2分)、7~8分 (中等度: 120W 時の1~2分)、11~12分 (高強度: 200W 時の1~2分) 時の1分間であり、それぞれにおいて呼気アセトン

濃度の測定を行った。呼気アセトン濃度の測定は各時点につき 2 回行い、2 回の測定値から各時点の平均値を算出した。

脂肪酸化量はエネルギー代謝分析器より測定した $\dot{V}O_2$ および $\dot{V}CO_2$ のデータを用いて、呼気アセトン排出量 ($\mu\text{L}/\text{min}$) は各時点のアセトン濃度 (ppm) と $\dot{V}E$ (L/min) の平均値の積より、研究課題 I と同様に算出した。

2-3. 実験 2

2-3-1. 被験者

被験者は年齢 20 歳以上の健常な日本人男性 10 名 (年齢: 23.4 ± 2.3 歳、身長: $173.2 \pm 6.5\text{cm}$ 、体重: $67.8 \pm 6.0\text{ kg}$ 、体脂肪率: $15.3 \pm 2.8\%$ 、BMI: $22.6 \pm 1.7\text{ kg}/\text{m}^2$) であり、除外基準は実験 1 と同様であった。なお、実験 1 と実験 2 の両実験へ参加した者は 1 名であった。

2-3-2. $\dot{V}O_{2\text{peak}}$ の測定および換気閾値 (Ventilatory Threshold: VT) の決定

実験 2 で用いる運動強度を決定するために、 $\dot{V}O_{2\text{peak}}$ の測定を行った。室温 ($20.4 \pm 0.7^\circ\text{C}$) と湿度 ($43.7 \pm 3.0\%$) が統制された実験室内にて、実験 1 の漸増負荷運動と同様の手順および方法で疲労困憊まで運動を行わせた。また、VT は $\dot{V}O_{2\text{peak}}$ の測定時に得られたデータから、先行研究にならい V-slope 法にて決定した (Beaver et al., 1986)。

2-3-3. 測定手順

本実験は、 $\dot{V}O_{2\text{peak}}$ 測定から 1 週間以上の間隔を空けて行った。実験 1 では呼気アセトン濃度および排出量と運動強度の関係性を検討するために 2 時間以上の食事制限としたが、実験 2 では呼気アセトン濃度や排出量が脂質代謝と同様の動態を示すのかを確認するため

に、脂質代謝の検討を行った先行研究にならい被験者を 12 時間以上の絶食状態で来室させた (Sasaki et al., 2011)。その後、呼気採集用マスクおよび心電図用電極を装着した。実験室 (室温 $22.8 \pm 0.8^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $46.8 \pm 3.7\%$) において、椅座位にて 15 分間の安静を保った。その後、安静時の $\dot{V}\text{O}_2$ 、HR および呼気アセトン濃度を 10 分間に亘って測定した。

安静時測定後、被験者は自転車エルゴメーターにて、 $\dot{V}\text{O}_{2\text{peak}}$ 測定データより求めた定常状態が成立すると考えられる VT を基準とし、その 100% の運動強度 (VT 条件) または VT の 80% の運動強度 (80%VT 条件) のいずれかでの自転車運動をそれぞれ 60 分間行った。運動終了後、約 5 分間のクールダウンを行った後に再び椅座位安静にて 10 分間の回復期測定を行った。

本実験はいずれも 9 時~13 時の間に実施し、実験当日は被験者に対して、カフェインや糖が含まれる飲料の摂取および激しい運動を禁止するとともに、来室の 24 時間前より飲酒を、12 時間前より食事を禁止した。なお本実験での両運動条件の実施順序についてはランダムとし、被験者は一週間以上の間隔をおいて、両条件での実験を完遂した。

2-3-4. 測定方法

HR、 $\dot{V}\text{E}$ 、 $\dot{V}\text{O}_2$ 、 $\dot{V}\text{CO}_2$ 、呼気アセトン濃度、呼気アセトン排出量および脂肪酸化量の測定は、実験 1 と同様の方法および機器を用いて行った。

ダグラスバッグへの呼気採集時間は、安静時では椅座位開始から 15~25 分の時点 (pre) の 10 分間、運動時では運動開始から 8~10 分、18~20 分、38~40 分および 58~60 分の時点の各 2 分間、および回復期では椅座位開始から 5~10 分時点 (post) の 5 分間とした。アセトン濃度の測定は各時点につき 2 回行い、2 回の測定値から各時点の平均値を算出した。

2-4. 統計処理

値は全て平均±標準偏差で示した。実験1においては、繰り返しのある一元配置の分散分析を行い、強度ごとの比較は Bonferroni 法にて行った。また、実験2においては、時間および運動条件を要因とする繰り返しのある二元配置の分散分析を行い、交互作用の有意性について検定した。その後の下位検定を Bonferroni 法にて行った。有意水準は全て危険率5%未満とした。統計処理には SPSS (IBM SPSS Statistics 22.0 for Windows、IBM、日本) を用いた。

3. 結果

3-1. 実験1

$\dot{V}O_{2peak}$ の平均値は 49.0 ± 7.3 ml/kg/min であり、また、 $\dot{V}O_{2peak}$ 到達時の運動強度は 236 ± 31 W であった。一方、本研究における $\% \dot{V}O_{2peak}$ の平均値は、40W 時で 24.6 ± 3.1 $\% \dot{V}O_{2peak}$ 、120W 時で 53.3 ± 5.8 $\% \dot{V}O_{2peak}$ 、200W 時で 86.3 ± 11.2 $\% \dot{V}O_{2peak}$ であった。

呼気アセトン濃度は安静時および40W時よりも200W時で有意 ($p < 0.05$) に高値を示した (Figure 5-1a)。しかしながら、その他の強度間に有意差は認められなかった。呼気アセトン排出量は全ての強度で安静時よりも有意 ($p < 0.05$) に増加した (Figure 5-1b)。また、強度間に有意差が認められ、強度の増加に伴い呼気アセトン排出量も有意 ($p < 0.05$) に増加した。

呼気ガスより求めた脂肪酸化量は40Wおよび120W時で安静時よりも有意 ($p < 0.05$) に増加した (Figure 5-1c)。一方、200W時では安静時および40W時と比較して有意 ($p < 0.05$) に低下した。

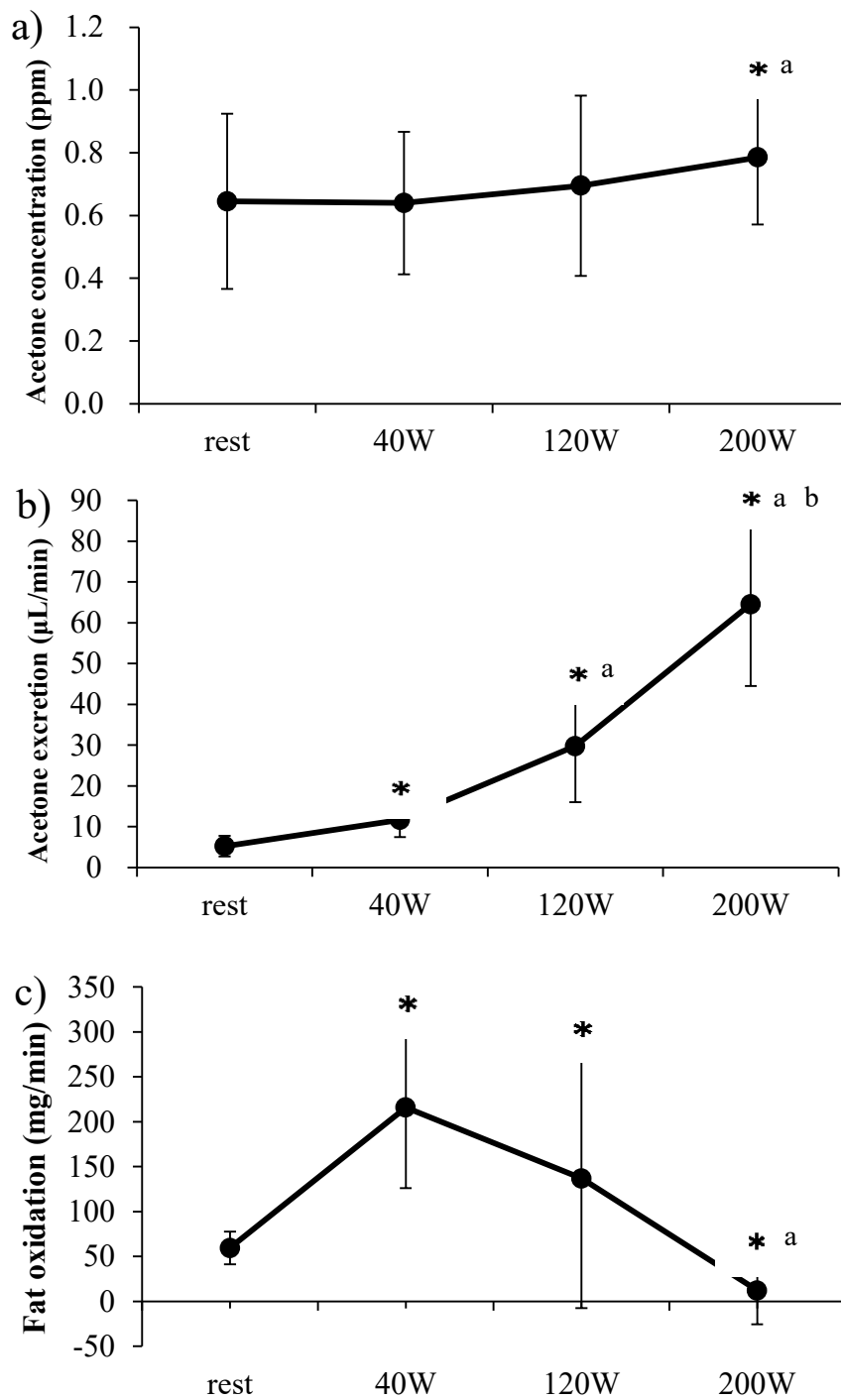


Figure 5-1. Changes in a) Acetone concentration, b) Acetone excretion and c) Fat oxidation during graded exercise. Data are mean±SD. *: $p < 0.05$ vs. rest, a: $p < 0.05$ vs. 40W, b: $p < 0.05$ vs. 120W.

HR および $\dot{V}E$ は全ての強度で安静時よりも有意 ($p < 0.05$) に増加した (Figure 5-2a, b)。また、強度間に有意差が認められ、強度の増加に伴い、HR および $\dot{V}E$ は有意 ($p < 0.05$) に増加した。

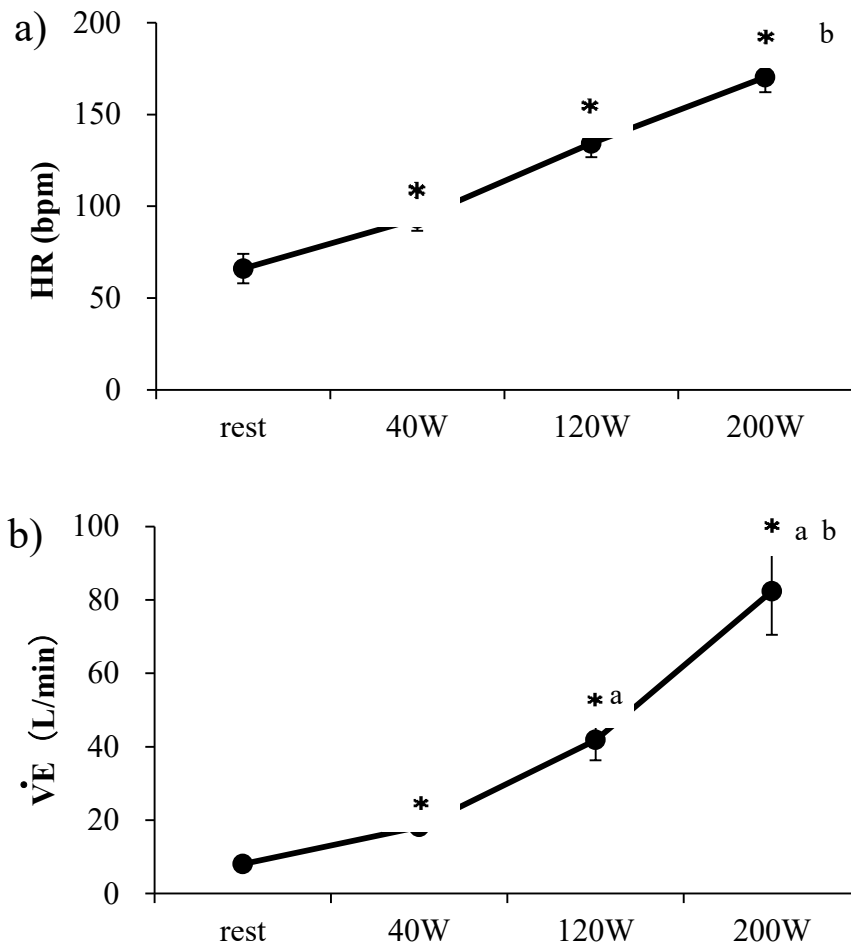


Figure 5-2. Changes in a) HR and b) $\dot{V}E$ during graded exercise. Data are mean \pm SD. *: $p < 0.05$ vs. rest, a: $p < 0.05$ vs. 40W, b: $p < 0.05$ vs. 120W.

3-2. 実験 2

10名の被験者のうち、呼気ガスの安定したデータ取得が困難であった2名の被験者については、データから除外した。したがって、実験2では8名分のデータに基づいて解析を行った。

実験2における被験者の $\dot{V}O_{2peak}$ の平均値は 52.1 ± 5.6 ml/kg/minであった。また、VTおよび80%VT強度は、それぞれ $56.7\% \dot{V}O_{2peak}$ および $46.9\% \dot{V}O_{2peak}$ に相当した。さらに、VT時および80%VTの運動強度は、それぞれ 129 ± 24 W および 102 ± 14 W であった。

Figure 5-3 に各運動条件における測定データの経時変化を示した。運動中の全時点において、呼気アセトン濃度、呼気アセトン排出量および脂肪酸化量は安静時と比べて有意 ($p < 0.05$) に増加した。

運動時において各データの最高値はすべて運動終了直前である58~60分時点で現れたが、各時点の間に統計的な有意差は認められなかった。また、運動条件間にも有意な差は認められなかった。運動後の回復期においても、安静時と比較して有意 ($p < 0.05$) に高い値を示したものの、運動条件間に差は認められなかった。

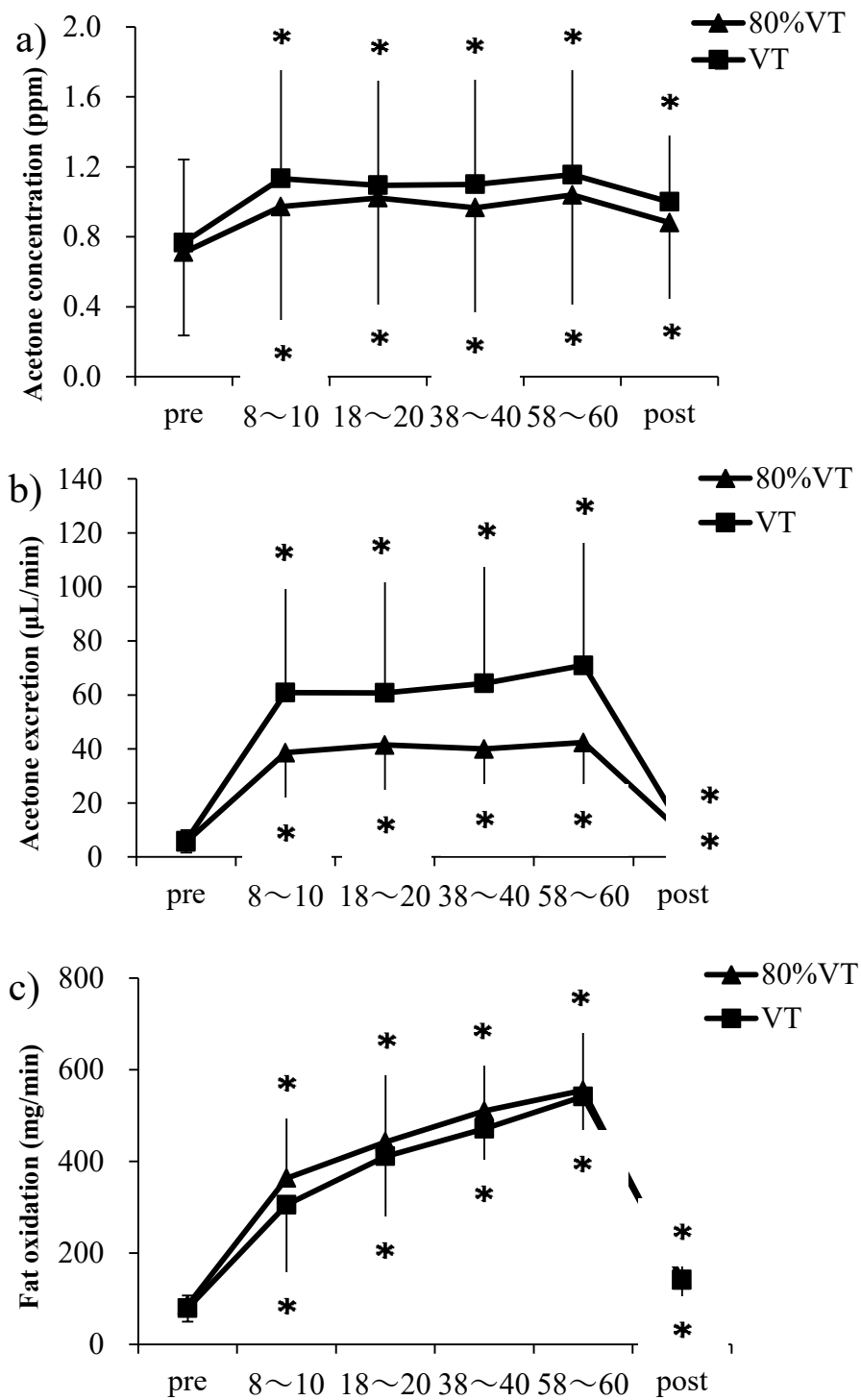


Figure 5-3. The effects of VT (■) and 80 %VT (▲) on a) Acetone concentration, b) Acetone excretion and c) Fat oxidation during rest, exercise and recovery. Data are mean±SD. *: $p < 0.05$ vs. rest.

Figure 5-4 に $\dot{V}E$ の経時変化を示した。 $\dot{V}E$ は運動中の全時点および運動終了後において、安静時と比較して有意 ($p < 0.05$) に増加した。

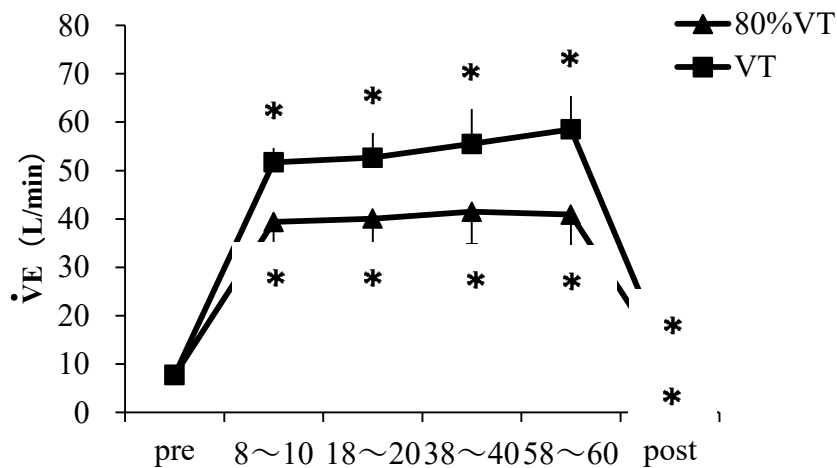


Figure 5-4. The effects of VT (■) and 80%VT (▲) on $\dot{V}E$ during rest, exercise and recovery. Data are mean±SD. *: <0.05 vs. rest.

4. 考察

本研究では、漸増負荷運動時（実験 1）および中等度強度での有酸素性運動時（実験 2）の呼気アセトン濃度および排出量の応答および脂肪酸化量との関連を検討した。

4-1. 実験 1

漸増負荷運動時において、呼気アセトン濃度は 200W 時でのみ安静時よりも有意に増加したが、呼気アセトン排出量は全ての運動強度で安静時よりも有意に増加し、その増加は運動強度に依存していた。呼気アセトン濃度および排出量については、先行研究（Yamai et al., 2009、Sasaki et al., 2011）と同様に、漸増負荷運動によって増加することが観察されたが、

呼気アセトン排出量では呼気アセトン濃度よりも顕著な増加が認められた。この結果は、呼気アセトン排出量は呼気アセトン濃度よりも呼気からのアセトン排出を正確に評価している可能性を示唆するものである。

呼気アセトン排出量は全ての運動強度で安静時よりも有意に増加し、強度に依存していた。一方、呼気アセトン濃度は40W および120W において安静時からの増加を認めず、強度に依存した増加も観察されなかった。Yamai et al. (2009) は、360kgm/min (60W)、720 kgm/min (120W) および990kgm/min (165W) の3段階の漸増負荷運動を行わせ、呼気のアセトン濃度および排出量の応答を検討しているが、720 kgm/min (120W) および990kgm/min (165W) 時に呼気アセトン排出量は安静時よりも有意に増加したことを報告している。しかしながら、720 kgm/min (120W) 時点での呼気アセトン濃度には安静時からの増加を認めていない。この結果は、呼気アセトン濃度はアセトンの排出量が増加している状況でも、それを必ずしも反映するとは限らないことを示すものである。

呼気アセトン濃度がアセトンの排出を正しく反映しない要因として、運動時の換気量の増加が挙げられる。安静時の結果ではあるが、Anderson et al. (2006) は呼吸の深さなどを変化させた際の呼気アセトン濃度の変化を検討し、呼気を多く排出した際に、呼気アセトン濃度が過小評価されることを明らかにした。この結果は呼吸数や一回換気量の変化によって呼気アセトン濃度が正確に評価できていないことを示唆している。つまり、本研究のように、呼吸数および一回換気量が著しく増加する運動時では、呼吸毎に変動性がより大きくなり、呼気アセトン濃度はアセトン排出を正しく反映しなかったものと考えられる。

本研究では、呼気アセトン排出量を呼気アセトン濃度と $\dot{V}E$ の積により算出した。したがって、呼気アセトン排出量の増加にはそれぞれの増加が反映される。しかし、40W 時および120W 時においては、呼気アセトン濃度には安静時からの有意な変化がみられなかった。

一方、 $\dot{V}E$ は 40W 時では約 2 倍、120W 時には約 4 倍へと、それぞれ安静時から有意に増加していた。つまり、40W 時および 120W 時での呼気アセトン排出量の有意な増加は、 $\dot{V}E$ の増加によってもたらされたと考えられる。

また、200W 時においては、呼気アセトン濃度および $\dot{V}E$ がともに安静時よりも有意に増加しているため、両要因が呼気アセトン排出量の増加に影響していたと言える。しかし、それぞれの増加の程度は呼気アセトン濃度が約 15 % 程度の増加であったのに対して、 $\dot{V}E$ の増加は約 8 倍であった。このことから、200W 時においても呼気アセトン排出量の増加には呼気アセトン濃度の増加よりも $\dot{V}E$ の増加が大きく影響したと考えられる。

呼気アセトン濃度は 200W で最大となり、唯一安静時よりも有意に増加していた。Sasaki et al. (2011) は、本研究と同様に漸増負荷運動を行い、呼気アセトン濃度が $80\% \dot{V}O_{2max}$ 程度で最大値となったことを報告している。本研究における 200W 時の強度は $86\% \dot{V}O_{2peak}$ であり、本結果は Sasaki et al. (2011) の結果よりもやや高い強度ではあるが、同様の結果であったと言える。呼気アセトン濃度は脂質代謝の亢進に伴い増加することが報告されている (Pezzagno et al., 1986、Prabhakar et al., 2014)。また、動物実験において漸増負荷運動によって血中の FFA 濃度も 80 % 強度まで増加することが示唆されている (Leite et al., 2009)。このことから、脂質代謝の指標の一つである血中 FFA 濃度および呼気アセトン濃度は、ともに高強度運動であっても増加すると考えられる。

脂肪酸化量は 40W 時および 120W 時においては安静時よりも有意に増加したが、200W 時では安静時および 40W よりも有意な低値を示した。脂肪酸化量は低～中等度強度までは強度に依存して増加するが、それ以上の強度では徐々に低下することが報告されている (Stisen et al., 2006)。これは中等度強度までは脂質代謝が亢進しているが、それ以上の強度では糖代謝が脂質代謝を上回ることで生じると考えられている (Bergman and Brooks, 1999、Lazzer et

al., 2010)。一方、一般的に VT とほぼ等しい無酸素性作業閾値を超えるような強度では、エネルギー代謝で生じる CO₂に加えて重炭酸緩衝系の働きにより過剰な CO₂が産生される(伊藤ら, 2001)。呼気ガスにて計算される脂肪酸化量は、 $\dot{V}O_2$ と $\dot{V}CO_2$ から算出されており、 $\dot{V}CO_2$ が増加すると脂肪酸化量は低く算出される。したがって、高強度運動時には脂肪酸化量が過小評価される可能性も考えておかなければならない。

また、血中 FFA 濃度は強度に依存して増加する一方で、脂肪酸化量は高強度運動では低下することや、血中 FFA 濃度が増加しても、脂肪酸化量は増加しないことが報告されている (Hansen et al., 2005)。このことには脂肪酸を酸化する能力が関係しており、脂肪酸が血中へ多く放出されたとしても、それを酸化できる上限が決まっているためであると考えられている (Bergman et al., 1999、Horowitz and Klein, 2000)。近年では、血中 FFA 濃度と脂肪酸化量は脂質代謝の指標ではあるものの、脂肪分解能と脂肪酸化能というように、それぞれ異なる脂質代謝の指標であることが示唆されている (Horowitz and Klein, 2000)。したがって、今後は血中 FFA 濃度と脂肪酸化量および呼気アセトン濃度や排出量との関連についても検討していくことが必要である。

4-2. 実験 2

中等度強度の有酸素性運動においては、運動中の全時点において、呼気アセトン濃度および排出量は安静時と比べて有意に増加した。しかし、それらには経時的にも条件間でも差は認められず、このことから、60 分間の自転車運動によって呼気アセトン濃度および排出量は増加するものの、本研究で行った時間や強度による変化はないものと考えられた。

VT および 80 %VT 強度の運動時に、呼気アセトン濃度、アセトン排出量および脂肪酸化量は安静時よりも増加した。先行研究においても、呼気アセトン濃度、アセトン排出量お

よび脂肪酸化量は中等度強度の有酸素性運動では安静時よりも増加することが報告されており (Stisen et al., 2006、Yamai et al., 2009、Sasaki et al., 2011)、本研究の結果はこれらを支持するものである。中等度強度の有酸素性運動では脂肪が優先的にエネルギー源として利用される。つまり、脂質代謝の亢進が生じた結果、呼気アセトン濃度と排出量も増加したと考えられる。

呼気から排出されるアセトンは血中および尿中のケトン体濃度と正の相関関係が認められており、ケトン体の産生を反映することが示唆されている (Pezzagno et al., 1986、Prabhakar et al., 2014)。また、ケトン体の産生は絶食時や高脂肪食摂取時といった脂質代謝が亢進することで増加することも明らかになっている (Pezzagno et al., 1986、Prabhakar et al., 2014)。さらに、脂質代謝が亢進すると考えられている中等度強度の運動によっても、血中のケトン体濃度は増加することが報告されている (Fery and Balasse, 1983)。

本研究で用いた VT および 80 %VT 強度は、それぞれ $56.7\% \dot{V}O_{2peak}$ および $46.9\% \dot{V}O_{2peak}$ に相当していたことや、両条件において脂肪酸化量が増加していたことから、本研究においても運動時に血中のケトン体濃度は増加していた可能性があり、その結果、呼気アセトン濃度が運動時に増加したと考えられる。

しかし、実験 1 において示した通り、呼気アセトン濃度および排出量が脂肪酸化量と同様の応答を示すのは定常状態が成立する強度までであることから、呼気アセトン濃度および排出量が必ずしも脂肪酸化量と同様の応答を示すとは限らないと考えられる。また、本研究では血中のケトン体濃度を測定していないため、今後、運動時の呼気から排出されるアセトンと血中のケトン体濃度との関連を検討する必要がある。

一方、呼気アセトン濃度、アセトン排出量および脂肪酸化量に、運動強度間で有意な差は認められなかった。その要因として、条件間での運動強度が近かったことが挙げられる。

条件間での運動強度の差は 10 %程度 ($56.7\% \dot{V}O_{2peak}$ vs. $46.9\% \dot{V}O_{2peak}$) であった。先行研究において、脂肪酸化量は $40\% \dot{V}O_{2max}$ まで徐々に増加し、 $60\% \dot{V}O_{2max}$ までにはほぼ定常状態となり、それ以降は徐々に低下していくことが報告されている (Acten and Jeukendrup, 2004、Stisen et al., 2006、Haufe et al., 2010)。本研究における両条件の強度は、ともに脂肪酸化量が増加し、定常状態をむかえる強度であったため、両条件間に脂肪酸化量の差が認められなかったものと考えられる。

Valizadeh et al. (2011) の研究では、 55% 、 65% および $75\% \dot{V}O_{2max}$ 強度でそれぞれ 60 分間のランニングを行わせたところ、 $75\% \dot{V}O_{2max}$ での運動による脂肪酸化量は $55\% \dot{V}O_{2max}$ での運動よりも有意に高値を示した。しかしながら、 55% と 65% あるいは 65% と 75% の強度間では有意な差はみられなかった。この結果は、 10% の運動強度の差では脂肪酸化量に有意な差は認められず、運動強度がそれよりも離れている場合には、脂肪酸化量に有意な差が認められることを示唆するものである。

また、呼気アセトン排出量にも条件間で有意な差は認められなかった。呼気アセトン排出量には実験 1 と同様に、呼気アセトン濃度の増加よりも換気量の増加が大きく影響していたと考えられる。換気量は運動強度に依存して増加するが、その増加は直線的ではなく、VT 以上の強度では急激な増加を示す。つまり、本研究における両強度ともに換気量を著しく増加させる強度ではなかったことが、呼気アセトン排出量においても条件間で差が認められなかった要因であると考えられる。

4-3. 研究の限界

本研究では呼気中のアセトンのみを測定した。呼気アセトン濃度と血中アセトン濃度 (Musa-Veloso et al., 2002) あるいは血中アセトンと尿中アセトン濃度に正の相関関係がある

ことが報告されている (Turner et al., 2008) もの、これらはすべて安静時での検討である。今後は運動によりそれぞれへのアセトン放出がどのように変化するのかを、呼気アセトン排出とともに検討する必要がある。

実験 2 においては、条件間の運動強度の差が 10 %程度しか異なっていなかった。脂肪酸化量、呼気アセトン濃度またはアセトン排出量は強度に依存して変化することが報告されており (Stisen et al., 2006、Yamai et al., 2009、Sasaki et al., 2011)、運動強度の違いによるアセトン応答を検討するためには、より差が出ると思われる運動強度にて更なる検討が必要である。

5. まとめ

本研究では漸増負荷運動時および中等度強度での有酸素性運動時の呼気アセトン濃度および排出量を検討した。漸増負荷運動において呼気アセトン濃度および排出量は高強度運動時で上昇し、中等度強度の有酸素性運動でも呼気アセトン濃度および排出量は増加することが明らかになった。一方、漸増負荷運動においては、呼気アセトン濃度の有意な増加を認めなかった 40W および 120W 時において、呼気アセトン排出量は有意な増加を認めた。呼気アセトン排出量は呼気より排出されるアセトン量をアセトン濃度よりも正確に反映していると思われることから、運動時の呼気からのアセトン量を評価する際には、呼気アセトン排出量の方がより適切であると考えられた。また、呼気アセトン排出が脂肪酸化量と同様の応答を示すのは定常状態が成立する強度までであり、それ以上では呼気アセトン排出は必ずしも脂肪酸化量と同様の応答を示すとは限らない可能性が示唆された。

第 6 章 研究課題Ⅲ

「異なる先行運動がその後の持久運動時の呼気アセトン排出および脂肪酸化量に及ぼす影響」

1. 緒言

習慣的な運動の実施は、糖尿病、高血圧症および脂質異常症などの肥満関連疾患を予防、改善し、心血管の健康状態を改善するための有力な刺激である (Bahr et al. 1991, Pescatello et al. 2004)。しかしながら、運動を習慣化することは難しく、実際に厚生労働省が実施している国民健康・栄養調査では、運動習慣者 (1 回 30 分以上の身体活動を週 2 回以上実施し、1 年間継続している者) は男性で 35.1 %、女性で 27.4 %と、決して高いとは言えない現状にある (厚生労働省、2016)。運動習慣を持たない人が運動習慣を獲得するためや、運動習慣を持つ人の運動意欲の低下を抑制するためには、運動効果を可視化することが非常に有用であると考えられる。

近年、非侵襲的かつ非観血的に脂質代謝を推定することのできる指標として、呼気などに排出されるアセトンが注目されている。先述したように、アセトンはケトン体 (アセト酢酸、 β -ヒドロキシ酪酸およびアセトン) の一種であるが、揮発性が高いために血中から呼気や皮膚あるいは尿中へと排出される (Martin et al., 1943, Nose et al., 1996)。特に、呼気からのアセトンの排出が圧倒的に多く、皮膚および尿中の数倍になることが報告されている (Yamai et al., 2009)。

運動中の呼気アセトンを測定した先行研究では、有酸素運動や無酸素運動によって上昇したこと (垣津ら, 2011) や、運動強度に応じてアセトン濃度が増えること (Ohkuwa et al., 2011, 中村ら, 2018 「研究課題Ⅱ」) が報告されている。また、呼気アセトン排出と呼気ガ

ス分析による RER から算出される脂肪酸化量との関連について検討した先行研究では、最大脂肪酸化量を示す強度 ($\dot{V}O_{2peak}$ の 39.6% での強度) にて 2 時間の持久運動を行った際の、呼気アセトン濃度と脂肪酸化量に正の相関関係があること、持久運動時に呼気アセトン排出が脂肪酸化量と同様の応答を示すのは定常状態が成立する強度までであることが報告されている (中村ら, 2018 「研究課題 II」)。従って、定常状態が成立する低～中等度強度での持久運動を実施する際には、呼気アセトン排出は非侵襲的かつ非観血的に脂質代謝を推定することのできる指標として用いることが可能であると考えられる。

一方、最近の研究では、持久運動の前に先行運動を実施すると、持久運動のみを実施した場合と比較して、持久運動中の脂質代謝が亢進することが明らかになっている (Goto et al., 2007a, Kang et al., 2009)。Goto et al. (2007a) は、持久運動のみを実施した場合と比較して、先行運動としてレジスタンス運動を行い、その 20 分後に持久運動を実施した場合では、RER の低下およびエネルギー消費に占める脂質の利用率の増加を観察している。また、Kang et al. (2009) は、持久運動のみを実施した場合と比較して、レジスタンス運動を行い、その 5 分後に持久運動を実施した場合では、RER の低下および脂肪酸化量の増加を観察している。

さらに、Stich et al. (2000) は、間に 60 分間の休憩を挟んで、60 分間の持久運動を繰り返した場合には、1 度目の運動時よりも 2 度目の運動時に脂肪の分解が亢進し、RER が有意に低下することを報告している。また、これと類似した研究として、Goto et al. (2007b) は、60 分間の持久運動を行った場合と、間に 20 分間の休憩を挟んで 30 分間の持久運動を 2 回繰り返した場合とを比較している。その結果、間に休憩を挟んだ場合では、総運動時間が同一であるにも拘わらず、血中のカテコールアミン、成長ホルモンおよびインスリン濃度が異なる応答を示すとともに、脂肪の分解がより亢進したことを報告している。これらの

研究結果は、先行運動として持久運動を行った場合でも、レジスタンス運動を行った場合と同様に、その後の持久運動時の脂質代謝を亢進させる可能性を示唆するものである。

呼気アセトン排出についても、垣津ら（2011）は、持久運動のみを実施した場合と比較して、先行運動としてレジスタンス運動を行い、その15分後に持久運動を実施した場合には、呼気中のアセトン濃度が増加したことを報告している。しかしながら、呼気アセトン排出が、先行運動の実施によって亢進した持久運動時の脂質代謝を反映しているかどうかについての検討はなされていない。

そこで、本研究では持久運動のみと持久運動中の脂肪酸化量を亢進させると考えられる2種類（有酸素性運動およびレジスタンス運動）の先行運動を実施した後の、持久運動中の呼気アセトン排出および脂肪酸化量を測定し、関連性を検討することとした。

2. 方法

2-1. 被験者

被験者の特性を Table 6-1 に示した。被験者は年齢 20 歳以上の健常な日本人男性 9 名とし、糖尿病あるいは脂質異常症の治療を受けている者、質問票によるチェックにおいて問題となる既往歴あるいは症状を持つ者は除外した。被験者に対して実験の目的および方法や実験に参加することによって生じる危険性などを、説明文書を用いて十分に説明し、被験者の自由意思による実験参加への同意を文書により得た。なお、本実験は早稲田大学の「人を対象とする研究に関する倫理委員会」の承認を得て行った（承認番号：2013-291）。

Table 6-1. Physical and physiological characteristics of subjects.

Variables	Subjects (N = 9)
Physical characteristics	
Age	23.9 ± 2.7
Weight (kg)	63.0 ± 5.6
Height (cm)	170.7 ± 4.0
Body fat (%)	13.7 ± 4.0
BMI (kg/m ²)	21.5 ± 1.7
$\dot{V}O_{2max}$ test	
$\dot{V}O_{2max}$ (L/min)	3.1 ± 0.2
$\dot{V}O_{2max}$ (mL/kg/min)	49.1 ± 7.7
HR _{max} (bpm/min)	177 ± 6
PPO (W)	231 ± 27
RER _{max}	1.2 ± 0.1
1RM test	
Squat (kg)	95.5 ± 17.9
Bench press (kg)	62.3 ± 11.7
Barbell row (kg)	65.3 ± 11.7
Shoulder press (kg)	33.5 ± 4.7
Arm curl (kg)	14.2 ± 3.0
Side lateral raise (kg)	7.7 ± 1.0

Values are means ± SD. BMI: Body mass index. $\dot{V}O_{2max}$: maximal oxygen uptake. HR: heart rate. PPO: peak power output. RER: respiratory exchange ratio. 1RM: one repetition maximum.

2-2. 測定手順

被験者には実験期間中の激しい運動、実験開始 24 時間前からの飲酒、実験室来室 60 分前からの喫煙を禁止した。被験者は事前測定のために 12 時間以上の絶食状態で来室し、年齢、身長、体重、体組成分析装置 (InBody 720、Biospace、日本) による体脂肪率の測定および質問票による既往歴と症状の調査を受けた。その後、温度および湿度が統制された実験室 (室温 $20.4 \pm 0.7^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $43.7 \pm 3.0\%$) において、 $\dot{V}\text{O}_{2\text{max}}$ の測定とサイドレイズ、アームカール、スクワット、ベンチプレス、バーベルロウおよびショルダープレスの 1RM の測定を行った。

$\dot{V}\text{O}_{2\text{max}}$ の測定では自転車エルゴメーター (エアロバイク 75XLIII : コンビウエルネス株式会社、日本) を用いて負荷漸増法によるペダリングを疲労困憊に至るまで行わせた。ペダリング頻度は 60 rpm とし、負荷を 0 watt (W) から開始し、2 分毎に 40 W ずつ漸増させた。なお、疲労困憊の判断は、研究課題 II と同様とした。

1RM の測定では、1 回挙上できる最大重量の測定を行った。それぞれの種目にて、被験者の運動歴や体重および身長により、1 セット目には 3~5 回の挙上ができることを予測した重量にて運動を行わせた。挙上回数や被験者からのフィードバックを基に 1RM を予測し、計 5 セット以内で 1RM を決定した。

本実験のプロトコルを Figure 6-1 に示す。本実験は $\dot{V}\text{O}_{2\text{max}}$ 測定および 1RM 測定から 1 週間以上の間隔を空けて行った。被験者を 12 時間以上の絶食状態で来室させ、呼吸採集用マスクと心電図用電極を装着し、実験室 (室温 $20.2 \pm 0.4^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $50.6 \pm 1.8\%$) において、椅座位にて 10 分間の安静を保たせ、その後 10 分間に亘って安静時の $\dot{V}\text{O}_2$ および HR を測定した。安静時測定後、被験者はミネラルウォーターを 200 mL 摂取し、安静試行 (安静+持

久運動：E 試行)、持久運動試行 (持久運動+持久運動：E+E 試行)、あるいはレジスタンス運動試行 (レジスタンス運動+持久運動：R+E 試行) のいずれかを行った。

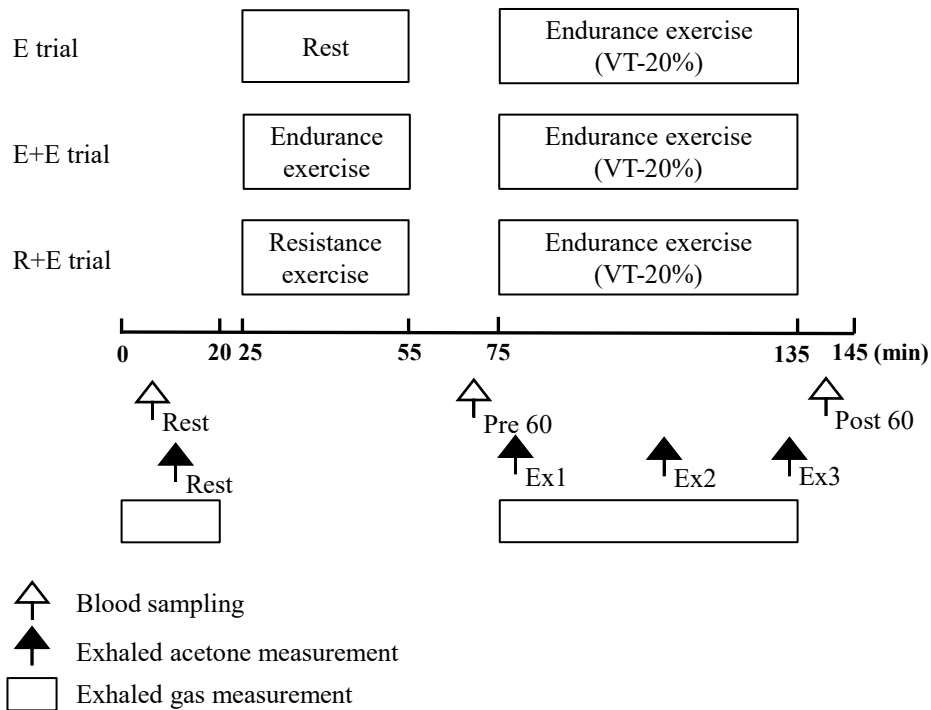


Figure 6-1. Protocols for exercise and blood sampling in three exercise regimens.

E 試行では、持久運動の前に 30 分間の椅座位安静を保たせた。E+E 試行では、持久運動の前に自転車エルゴメーターにて、 $\dot{V}O_{2max}$ 測定時に求めた VT に相当する運動強度 (55.4 % $\dot{V}O_{2max}$ 、 $126.7 \pm 10.0W$) にて自転車運動を 30 分間行わせた。R+E 試行では、先行研究 (Goto et al., 2007a) に倣い、持久運動の前に 1RM の約 75 % に相当する重量にて、ショルダープレス、サイドレイズ、アームカール、スクワットを各 3 セットずつと、ベンチプレスとバーベルロウを各 4 セットずつ行わせた。セット間および種目間には、それぞれ 1 分間の休息を挟んだ。レジスタンス運動に要した時間は約 30 分であった。

先行運動実施後、20 分間の休息を取り、その間にミネラルウォーターを 300 mL 摂取させた。休息後、VT の -20 % (80 %VT) に相当する運動強度 ($45.2\% \dot{V}O_{2\max}$ 、 $103.3 \pm 5.0W$) にて 60 分間の自転車運動を行わせた。運動終了後、再び椅座位安静にて 10 分間の回復期測定を行った。運動中および回復期中に $\dot{V}E$ 、 $\dot{V}O_2$ 、 $\dot{V}CO_2$ および HR を連続して測定した。また、安静時測定 (Rest)、先行運動終了 15 分後 (Pre 60) および 60 分間の自転車運動終了 5 分後 (Post 60) の各時点で、肘前静脈よりそれぞれ 12 mL の採血を行った。

本実験では全被験者に上記の 3 試行を実施させたが、それぞれの試行間には 1 週間以上の間隔をおいた。3 条件の群分けおよび順番はランダムとし、試行はクロスオーバー法にて行った。本実験はいずれも 9 時~13 時の間に行われ、実験当日は被験者に対して、カフェインと糖含有飲料の摂取および激しい運動を禁止するとともに、来室の 24 時間前より飲酒を、12 時間前より食事を禁止した。

2-3. 測定方法

HR の測定は双極誘導法によりモニター心電計 (BSM-2401、日本光電工業株式会社製、日本) を用いて、 $\dot{V}E$ 、 $\dot{V}O_2$ および $\dot{V}CO_2$ の測定はエネルギー代謝分析器 (エアロモニタ AE-310S、ミナト医科学社製、日本) を用いて行った。採血により得られた血液サンプルから、FFA、総ケトン体 (アセト酢酸および β -ヒドロキシ酢酸)、成長ホルモン、インスリン、エピネフリン、ノルエピネフリン、乳酸および血糖の各濃度を測定した。なお、血中乳酸濃度は乳酸測定器 (ラクテート・プロ TM、Arkray 社製、日本) にて、その他の血液生化学成分に関しては株式会社ビー・エム・エルに分析を委託した。

糖質酸化量、脂肪酸化量およびエネルギー消費量はエネルギー代謝分析器より測定した $\dot{V}O_2$ および $\dot{V}CO_2$ を用いて算出した。算出に用いた計算式は以下の通りであった (Bursztein et al., 1989)。

$$\text{Carbohydrate oxidation (g/min)} = 4.144 \times \dot{V}CO_2 - 2.908 \times \dot{V}O_2 - 2.534$$

$$\text{Fat oxidation (g/min)} = 1.689 \times (\dot{V}O_2 - \dot{V}CO_2)$$

$$\text{Energy expenditure (kcal/min)} = (3.581 \times \dot{V}O_2 + 1.448 \times \dot{V}CO_2) / 1000$$

持久運動時のアセトン濃度を分析するために、ダグラスバッグへの呼気採集を安静時、60分間の持久運動時の2~3分 (Ex1)、29~30分 (Ex2) および59~60分 (Ex3) に行い、各時点のアセトン濃度 (ppm) と $\dot{V}E$ (L/min) の平均値の積から呼気アセトン排出量 ($\mu\text{L}/\text{min}$) を算出した。呼気アセトン濃度の測定は、研究課題 I においてその精度が証明されているアセトンプロト機 (東芝社製、日本) を用いて行った。

2-4. 統計処理

値は全て平均値±標準偏差 (SD) で示した。60分間の自転車運動時の呼気ガスパラメーター、糖質酸化量、脂肪酸化量、エネルギー消費量、呼気アセトン排出量および RER の平均値の差の検定には、反復測定による一元配置の分散分析を行い、F 値が有意であった場合には、Bonferroni の事後検定により多重比較検定を行った。その他の測定項目の試行間の差の検定においては、時間および運動条件を要因とする繰り返しのある二元配置の分散分析を行い、交互作用の有意性について検討した。F 値が有意であった場合には、Bonferroni の事後検定により各時点の比較を行った。また、各測定項目間の関係性を、ピアソンの積率

相関係数を用いて解析した。有意水準は全て危険率 5 %未満とした。これらの統計解析は、SPSS (IBM SPSS Statistics 22.0 for Windows、IBM、日本) を用いて行った。

3. 結果

3-1. 呼気ガス指標

先行運動に続く 60 分間の持久運動中の呼気ガス指標、HR、呼気アセトン排出量、RER、糖質酸化量、脂肪酸化量およびエネルギー消費量の平均値を Table 6-2 に示した。RER および糖質酸化量において、E 試行と比較して R+E 試行および E+E 試行で有意に低い値を示した ($p < 0.05$)。また、R+E 試行と比較して E+E 試行で有意に低い値を示した ($p < 0.05$)。脂肪酸化量においては、E 試行と比較して R+E 試行および E+E 試行で有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。また、R+E 試行と比較して E+E 試行で有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。

Table 6-2. Average cardiorespiratory and metabolic responses during subsequent endurance exercise with and without a preceding exercises.

Variables	E	R+E	E+E
$\dot{V}O_2$ (L/min)	1.57 ± 0.11	1.66 ± 0.09	1.65 ± 0.07
$\dot{V}CO_2$ (L/min)	1.39 ± 0.10	1.44 ± 0.09	1.38 ± 0.06
VE (L/min)	39.1 ± 3.5	42.4 ± 4.0 a	39.9 ± 3.8 b
HR (bpm/min)	126.4 ± 11.8	139.4 ± 8.4 a	134.4 ± 9.9
Acetone concentration (ppm)	1.06 ± 0.40	1.09 ± 0.22	1.07 ± 0.36
Acetone excretion (μ L/min)	40.6 ± 16.1	45.4 ± 11.4	41.3 ± 16.2
RER	0.88 ± 0.02	0.86 ± 0.02 a	0.84 ± 0.03 a, b
Carbohydrate oxidation (g/min)	1.14 ± 0.14	1.08 ± 0.14 a	0.91 ± 0.16 a, b
Fat oxidation (g/min)	0.31 ± 0.06	0.38 ± 0.05 a	0.44 ± 0.08 a, b
Energy expenditure (kcal/min)	7.63 ± 0.55	8.04 ± 0.60	7.90 ± 0.59

Values are means ± SD. a: $p < 0.05$ vs E. b: $p < 0.05$ vs R+E.

各試行におけるアセトン濃度、 $\dot{V}E$ およびアセトン排出量の推移を Figure 6-2 に示した。アセトン濃度では主効果および交互作用ともに認めなかった。 $\dot{V}E$ およびアセトン排出量では、全ての試行において Rest と比較して Ex1、Ex2 および Ex3 で有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。一方で、すべての運動時のポイントにおいて、アセトン濃度、 $\dot{V}E$ およびアセトン排出量の平均値に試行間で有意な差は認められなかった。

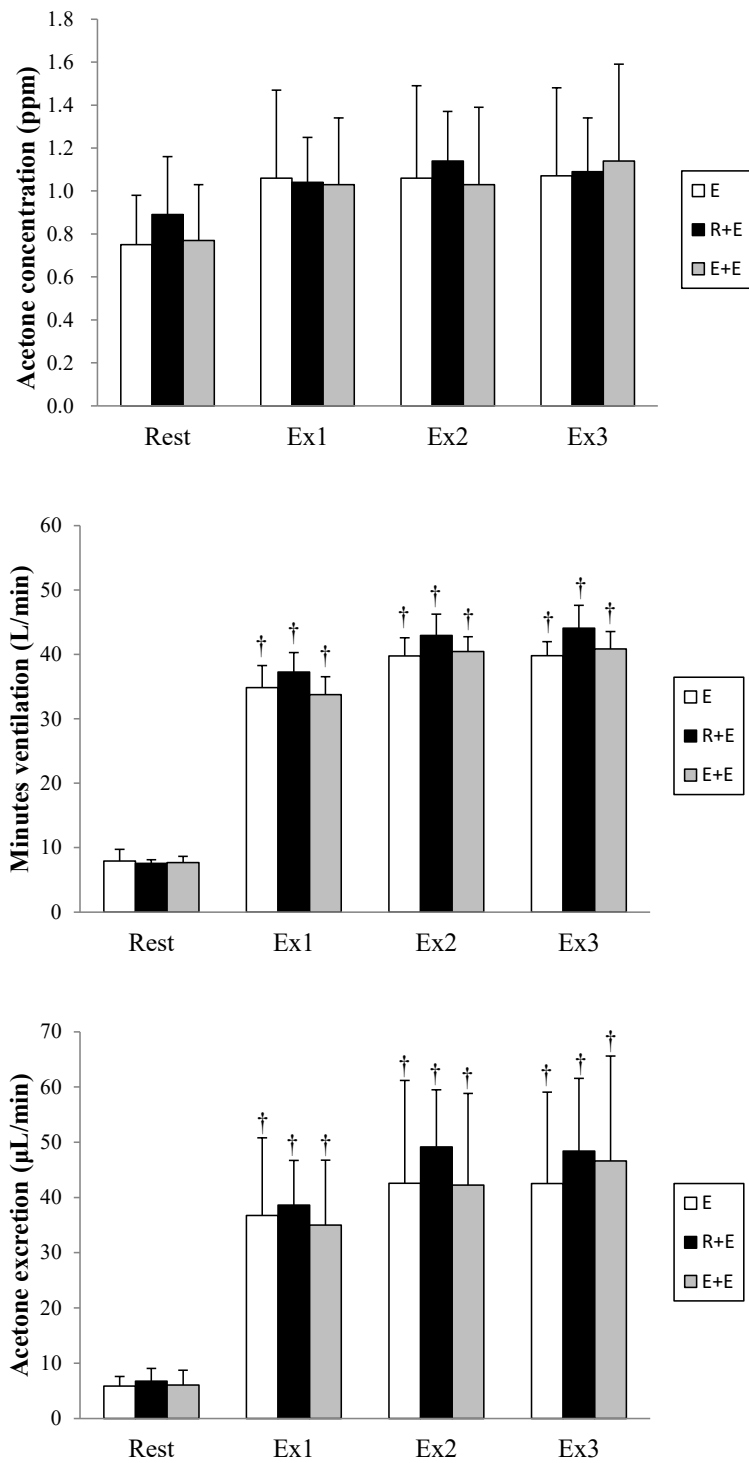


Figure 6-2. Acetone concentration, minutes ventilation and acetone excretion during three exercise regimens. Values are means \pm SD. †: $p < 0.05$ vs Rest.

各試行における $\dot{V}O_2$ および $\dot{V}CO_2$ から求めた脂肪酸化量の推移を Figure 6-3 に示した。全ての試行において Rest と比較して Ex1、Ex2 および Ex3 で有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。Ex1 では、E 試行と比較して E+E ($p < 0.05$) および R+E 試行 ($p < 0.05$) で有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。Ex2 および Ex3 では、E 試行と比較し E+E 試行で有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。先述したように (Table 6-2)、60 分間の脂肪酸化量には R+E 試行と E+E 試行の間に有意差がみられたが、各時間ごとに見ると R+E 試行と E+E 試行の間に差はみられなかった。

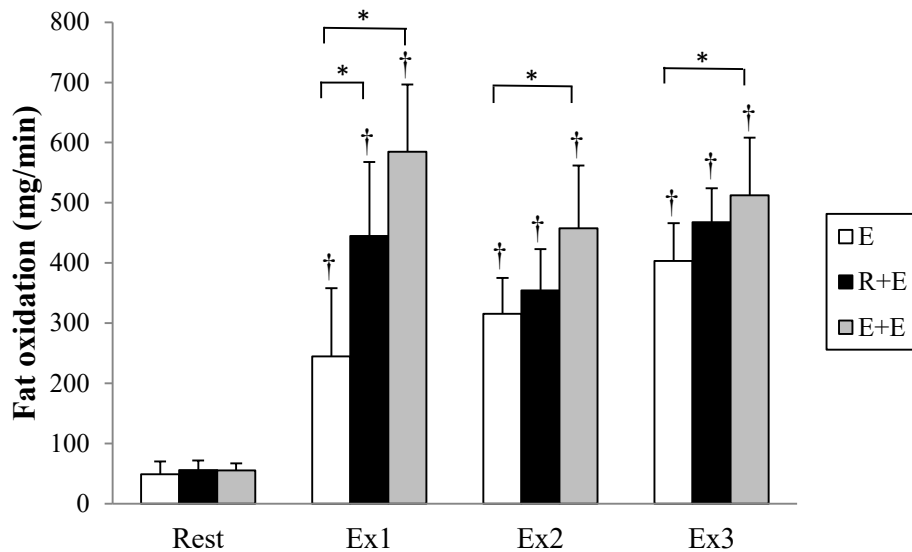


Figure 6-3. Fat oxidation during three exercise regimens. Values are means \pm SD. †: $p < 0.05$ vs Rest. *: $p < 0.05$ between trial.

Rest、Ex1、Ex2 および Ex3 で測定したアセトン濃度、アセトン排出量と脂肪酸化量の関係を Figure 6-4 へ示した。各試行ともにアセトン濃度と脂肪酸化量 (E ; $r = 0.42$ 、 $p < 0.05$ 、R+E ; $r = 0.41$ 、 $p < 0.05$ 、E+E ; $r = 0.43$ 、 $p < 0.05$) およびアセトン排出量と脂肪酸化量 (E ;

$r = 0.74$ 、 $p < 0.05$ 、R+E ; $r = 0.84$ 、 $p < 0.05$ 、E+E ; $r = 0.76$ 、 $p < 0.05$) の間に、有意な正の相関関係が認められた。また、すべての試行でのデータをまとめて示した場合でも、アセトン濃度と脂肪酸化量 ($r = 0.39$ 、 $p < 0.05$) およびアセトン排出量と脂肪酸化量 ($r = 0.70$ 、 $p < 0.05$) の間には、有意な正の相関関係が認められた。

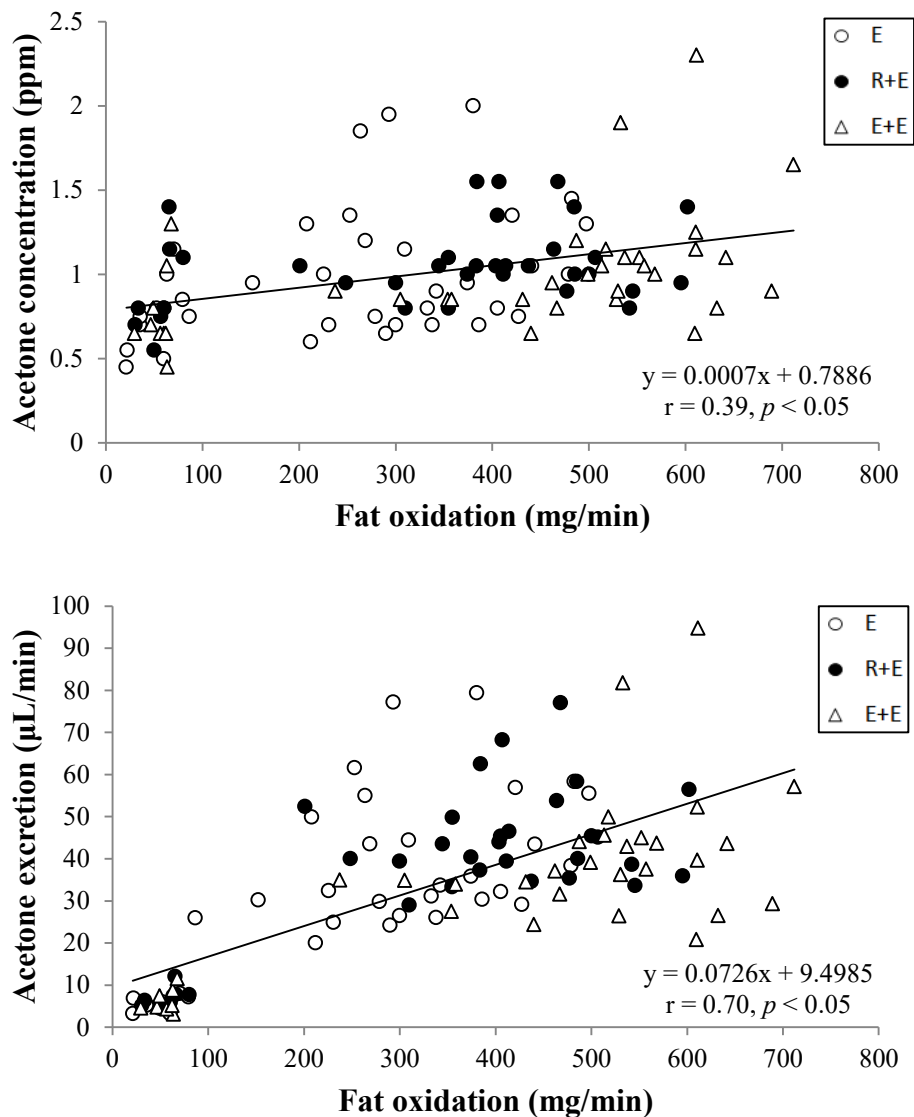


Figure 6-4. Relationships between acetone concentration, acetone excretion and fat oxidation.

3-2. 血液指標

血中における成長ホルモン、エピネフリン、ノルエピネフリンおよびインスリン濃度の変化を Table 6-3 に示した。成長ホルモン濃度においては、E 試行では Rest と比較して Post 60 で有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。R+E 試行および E+E 試行では、Rest と比較して Pre 60 および Post 60 で有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。試行間での比較では、Pre 60 において R+E 試行および E+E 試行で E 試行と比較して有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。

Table 6-3. Hormone responses during the three exercise regimens.

Variables		Rest	Pre 60	Post 60
Growth hormone (ng/mL)	E	1.24 ± 3.37	0.45 ± 0.80	6.97 ± 4.17 a
	R+E	0.32 ± 0.44	14.32 ± 8.95 a, b	3.05 ± 1.11 a
	E+E	0.45 ± 0.86	6.81 ± 4.88 a, b	3.20 ± 1.08 a
Epinephrine (ng/mL)	E	0.03 ± 0.02	0.02 ± 0.01 a	0.06 ± 0.04
	R+E	0.03 ± 0.01	0.07 ± 0.03 a, b	0.04 ± 0.02
	E+E	0.04 ± 0.03	0.05 ± 0.02 b	0.10 ± 0.06
Norepinephrine (ng/mL)	E	0.19 ± 0.07	0.23 ± 0.09	0.33 ± 0.11 a
	R+E	0.18 ± 0.05	0.42 ± 0.18 a	0.40 ± 0.13 a
	E+E	0.18 ± 0.06	0.22 ± 0.05 c	0.37 ± 0.12 a
Insulin (μU/L)	E	5.59 ± 1.76	4.68 ± 1.79	6.79 ± 2.74
	R+E	7.36 ± 2.76	10.42 ± 5.08 b	7.88 ± 2.19
	E+E	6.17 ± 2.11	4.46 ± 3.00 c	7.28 ± 3.08

Values are means ± SD. a: $p < 0.05$ vs Rest. b: $p < 0.05$ vs E. c: $p < 0.05$ vs R+E.

エピネフリン濃度では、E 試行において Rest と比較して Pre 60 で有意に低い値が示された ($p < 0.05$)。一方、R+E 試行においては Rest と比較して Pre 60 で有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。試行間での比較では、Pre 60 において R+E 試行および E+E 試行で E 試行と比較して有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。ノルエピネフリン濃度では、R+E 試行の Pre 60

において Rest と比較して有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。また、全ての試行において Post 60 では Rest と比較して有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。試行間での比較では、Pre 60 において R+E 試行では E+E 試行と比較して有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。インスリン濃度では、Pre 60 において E 試行および E+E 試行と比較して R+E 試行で有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。

血中の FFA 濃度、血糖値、乳酸濃度および総ケトン体濃度の変化をそれぞれ Table 6-4 に示した。血中 FFA 濃度では、Post 60 においてすべての試行で Rest の値と比較して有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。しかし、試行間で差は認められなかった。血糖値では交互作用は

Table 6-4. Energy substrates and lactate during the three exercise regimens.

Variables		Rest	Pre 60	Post 60	
FFA (mEq/L)	E	0.36 ± 0.14	0.29 ± 0.18	1.17 ± 0.74	a
	R+E	0.38 ± 0.19	0.28 ± 0.12	1.76 ± 0.62	a
	E+E	0.45 ± 0.15	0.57 ± 0.32	2.05 ± 0.67	a
Glucose (mg/dL)	E	87.6 ± 4.5	85.0 ± 6.2	85.9 ± 9.8	
	R+E	85.7 ± 7.9	82.2 ± 10.8	88.3 ± 7.2	
	E+E	87.1 ± 5.5	83.1 ± 8.4	90.9 ± 9.9	
Lactate (mmol/L)	E	1.04 ± 0.27	0.97 ± 0.25	1.39 ± 0.28	a
	R+E	1.08 ± 0.28	7.77 ± 2.03	2.00 ± 0.31	a, b
	E+E	1.10 ± 0.25	1.89 ± 0.61	1.30 ± 0.23	a, b, c
Total ketone body (μmol/L)	E	58.0 ± 51.7	52.2 ± 68.2	183.0 ± 208.2	
	R+E	44.9 ± 14.3	51.4 ± 13.5	225.3 ± 137.5	a
	E+E	42.0 ± 15.0	110.7 ± 107.7	518.0 ± 361.2	a

Values are means ± SD. a: $p < 0.05$ vs Rest. b: $p < 0.05$ vs E. c: $p < 0.05$ vs R+E.

見られず、時間及び試行間の主効果も認められなかった。血中乳酸濃度では、E+E 試行の Pre 60 において Rest と比較して有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。R+E 試行では Rest と比較して Pre 60 および Post 60 それぞれで有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。試行間の比較で

は、Pre 60 において E 試行と比較して R+E 試行および E+E 試行で有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。また、Post 60 においては、E 試行および E+E 試行と比較して R+E 試行で有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。

血中の総ケトン体濃度の変化では、Post 60 において Rest の値と比較して R+E 試行および E+E 試行で有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。しかし、試行間で差は認められなかった。

3-3. 呼気ガス指標と血液指標の関連

60 分間の持久運動中の呼気アセトン排出量および脂肪酸化量と Post 60 の血中 FFA および総ケトン体濃度の関連性においては、呼気アセトン排出量と FFA ($r = 0.60$ 、 $p < 0.05$) および総ケトン体濃度 ($r = 0.58$ 、 $p < 0.05$) との間に有意な相関関係が認められた。また、脂肪酸化量と FFA ($r = 0.56$ 、 $p < 0.05$) および総ケトン体濃度 ($r = 0.66$ 、 $p < 0.05$) との間にも有意な相関関係が認められた。

4. 考察

本研究では、先行運動としてレジスタンス運動 (R+E 試行) または持久運動 (E+E 試行) を実施した後の、持久運動中の呼気アセトン排出および脂肪酸化量を測定し、関連性を検討した。その結果、先行運動の違いは、その後の持久運動中の脂肪酸化量に違いをもたらしたが、呼気アセトン排出 (濃度および排出量) には影響を及ぼさなかった。

先行研究において、先行運動の実施がその後の持久運動時の脂質代謝を高めることが報告されている (Kang et al., 2009、Goto et al., 2007a)。これらの結果と同様に、本研究では、持久運動のみを行った試行と比較して、先行運動を行った両試行では、60 分間の持久運動時において有意に高い脂肪酸化量が示された。また、持久運動を先行運動として実施した

E+E 試行の方でより高いという知見が得られた (Table 6-2)。このことは、先行運動の種類を直接比較した研究がない現状において、新しい知見であると言える。

先行運動を実施した両試行 (R+E 試行および E+E 試行) において、その後の持久運動時に脂質代謝が亢進した理由としては、先行運動後の血中成長ホルモン濃度およびカテコールアミン濃度の上昇が関与していた可能性が考えられる (Table 6-3)。先行研究では、先行運動としてレジスタンス運動を実施した場合、運動後に脂肪分解作用を有する成長ホルモン濃度およびカテコールアミン濃度が上昇したことを報告している (Goto et al., 2007a)。本研究の R+E 試行においても、先行研究と同様にレジスタンス運動後 15 分時点の Pre 60 において、運動前 (Rest) と比較して血中の成長ホルモン濃度およびカテコールアミン濃度の有意な上昇が観察された。そのため、本研究の R+E 試行においては、これらのホルモンの上昇により脂肪分解が高まり、脂肪酸化量を高めた可能性が考えられる。

同様に、持久運動を行った場合にも、血中の成長ホルモン濃度およびカテコールアミン濃度が上昇することが示されている (Ronsen et al., 2001、Stich et al., 2001、Goto et al., 2007、2011)。本研究でも、E+E 試行の Pre 60 時点においてカテコールアミン濃度に有意な変化は見られなかったものの、成長ホルモン濃度が先行研究と同様に有意に上昇していた (Table 6-3)。Goto et al. (2007b) の研究では、60% $\dot{V}O_{2max}$ 強度で運動を行うと、運動直後のカテコールアミン濃度が上昇するが、この上昇は運動後 20 分の時点で消失することが示唆されている。本研究では運動後 15 分後 (Pre 60) に採血を行っており、また、Goto et al. (2007b) の研究と比べて運動強度が低かった (55.4% $\dot{V}O_{2max}$) ために、カテコールアミン濃度の上昇は確認されなかった可能性が考えられる。

脂肪酸化量に先行運動を行った 2 試行間で差が生じた要因としては、乳酸生成が関与していた可能性も考えられる。本研究の R+E 試行では、E+E 試行と比較して Pre 60 および Post

60 時点での血中乳酸濃度に有意な上昇が確認された (Table 6-4)。先行研究において、血中乳酸濃度の上昇は、脂肪分解および脂肪酸化の減少を引き起こすことが報告されている

(Achten and Jenkendorf, 2004、Cai et al., 2008、Liu et al., 2009、Ahmed et al., 2010、San-Millan and Brooks 2017)。San-Millan and Brooks (2017) は、約 4 mmol/L 以上の血中乳酸濃度において脂肪酸化が抑制されたことを報告しており、一方で Ferrannini et al. (1993) は、血中乳酸濃度が低値 (2.4 mmol/L) の場合では、脂肪分解に影響を及ぼさないことを報告している。本研究における R+E 試行の Pre 60 時点での血中乳酸濃度は 7.77 ± 2.03 mmol/L に達しており、脂肪分解および脂肪酸化に影響を与えた可能性が考えられる。

その他の要因としては、インスリンの関与が挙げられる。先行研究では、1 度目の持久運動時に血中インスリン濃度の低下と、休憩を挟んだ 2 度目の持久運動時にはさらに大きな血中インスリン濃度の低下が観察されている (Stich et al., 2000、Goto et al., 2007b)。本研究においても、E+E 試行では休憩を挟んで持久運動を行ったことにより、運動中の血中インスリン濃度の低下が同様に起こり、その結果、脂肪酸化を高めるように影響していた可能性が考えられる。一方で、本研究の Pre 60 時点における R+E 試行では、E+E 試行と比較して血中インスリン濃度が有意に高値を示していた (Table 6-3)。レジスタンス運動後に血中インスリン濃度が上昇することは既に報告されているが (Goto et al., 2007a)、インスリンによる脂肪分解の抑制作用により、R+E 試行では持久運動時の脂肪酸化が E+E 試行と比べて抑制された可能性も考えられる。

脂肪酸化量とは異なり、呼気アセトン排出 (濃度および排出量) については、先行運動による違いは認められず (Table 6-2、Figure 6-2)、また先行運動試行と E 試行との間にも差は認められなかった。差が見られなかった理由としては、運動中の呼気アセトン濃度が試行間で同様であり、また、換気量は R+E 試行で有意に高かったものの、E+E 試行では E 試

行と同等であり、アセトン排出量においても統計的な有意差にまでは至らなかったものと考えられる。このことから、本研究における 60 分間の持久運動中のわずかな脂肪酸化量の差は、アセトン排出に敏感に反映しなかった可能性が示唆される。

このように、先行運動による違いによって、60 分間に及ぶ持久運動時の脂肪酸化量とアセトン排出との間に一致した結果は得られなかったものの、アセトン排出量と脂肪酸化量の間には有意な正の相関関係 (Figure 6-4) が認められた。また、アセトン排出量と脂肪酸化量はともに血中の脂質代謝指標と有意な正の相関関係を示した。これらの結果は、アセトン排出量は脂質代謝を反映する有用な指標となり得る可能性を示唆するものである。

一般に、呼気アセトン排出は、中等度強度の持久運動時に、安静時と比較して増加すると言われている (Sasaki et al., 2011)。しかしながら、本研究における持久運動中の呼気アセトン濃度は、Rest と比較して有意な変化を示さなかった。本研究の 60 分間の持久運動で用いた負荷は 103.3 ± 5.0 W であり、研究課題 2 においても同程度の負荷 (120 W) で持久運動を実施した場合には、呼気アセトン濃度の上昇は観察されていない。一方で、VE および呼気アセトン排出量ではすべての試行で Rest と比較して、60 分間の持久運動時に有意な増加が確認された (Figure 6-2)。このことから、本研究においても研究課題 2 と同様にアセトン排出量の増加は、VE の増加によってもたらされたと考えることができる。

長時間の持久運動中の呼気アセトン濃度は、脂肪酸化量と有意な正の相関関係があると報告されている (Sasaki et al., 2011)。本研究においても呼気アセトン濃度と脂肪酸化量の間には有意な正の相関関係が認められた ($r = 0.39$, $p < 0.05$)。さらに、呼気アセトン排出量と脂肪酸化量の間にも有意な正の相関関係が示されるとともに、より高い相関係数が観察された ($r = 0.70$, $p < 0.05$)。このことは、先行運動による脂質代謝への影響があった場合でも、呼気アセトン排出は、脂肪酸化量を反映する指標になり得ることを示唆するものである。

また、研究課題 1 および 2 の結果と同様に、アセトン濃度よりもアセトン排出量のほうが脂肪酸化量をより正確に反映する可能性が考えられた。

運動に伴う脂質代謝の亢進はケトン体の生成を亢進させる。また、先行運動を実施した場合にはケトン体の生成がより亢進することが報告されている。Goto et al. (2007b) は、先行運動として持久運動を実施した場合に、持久運動のみを行った場合と比較して、血中のアセト酢酸および β -ヒドロキシ酪酸濃度が有意に高い値を示したことを報告した (Goto et al., 2007b)。本研究においても、先行運動を行った試行でのみ、Rest と比較して Post 60 において血中総ケトン体濃度が有意に高い値を示していた (Table 6-4)。この結果は、先行研究の結果 (Goto et al., 2007b、Tsuchiya et al., 2015) を支持するものであった。また、本研究では先行運動の違いがケトン体生成に及ぼす影響についても検討を行ったが、先行運動の違いによる差は見られなかった。

先行研究では、ケトン体生成と肝グリコーゲンの貯蔵量との間に関連性があることが報告されている (Baldwin et al., 1975、Robinson & Williamson, 1980)。本研究では、E 試行と比較して先行運動を行った試行では、より多くのエネルギーを消費したため、肝グリコーゲンの貯蔵量を低下させ、運動前と比較してケトン体生成を増加させた可能性が考えられる。また、先行運動時のエネルギー消費量を測定していないために明らかではないが、本研究で用いた 2 種類の先行運動によるグリコーゲン貯蔵量の低下の度合いには差は見られず、そのため先行運動の違いによるケトン体生成の差が生じなかった可能性も考えられる。

先行研究では、呼気から排出されるアセトンが、血中および尿中のケトン体濃度と正の相関関係を示すことが認められている (Pezzagno et al., 1986、Prabhaka et al., 2014)。本研究においても、持久運動時の呼気アセトン排出量と運動終了 5 分後の血中総ケトン体濃度と

の間に、有意な正の相関関係 ($r = 0.58$, $p < 0.05$) が確認されており、呼気アセトン排出はケトン体産生を反映していたと言える。

5. 研究の限界

本研究では、呼気ガスの測定を持久運動終了時点までしか行わなかった。先行研究では、レジスタンス運動後 48 時間に亘り継続してエネルギー消費が増加すること、中強度 (60 % $\dot{V}O_{2max}$) での持久運動を繰り返した場合では、終了後 180 分間に亘って脂質代謝が亢進することが報告されている (Jamurtas et al., 2004, Goto et al., 2011)。また、高強度 (70-90 % $\dot{V}O_{2max}$) での持久運動を繰り返した場合では、実施後 24~48 時間に亘りエネルギー消費が増加することも報告されている (Pohlman et al., 1989, 1990, Treuth et al., 1996)。さらに、呼気アセトン濃度においても、持久運動終了後約 90 分間に亘り上昇がみられたことや、先行運動としてレジスタンス運動を行った後に持久運動を行うと、持久運動後約 30 分間に亘り上昇がみられたことなどが報告されている (垣津ら, 2012)。これらの知見から、先行運動の違いが運動中だけでなく回復期の脂質代謝にも影響を及ぼしている可能性が考えられる。そのため、今後の研究においては、運動後の長時間に亘り継続して脂質代謝の変化を観察し、どの運動の組み合わせが脂肪の減少に有効であるのかを検討することが必要であると思われる。

また、本研究では先行運動の運動時間は統一されていたが、運動中のエネルギー消費量は統一されていなかった。先行研究では、運動前の全身のグリコーゲン枯渇量が運動中の脂肪酸化量に影響することが示唆されている (Iwayama et al., 2015a, b)。今後の研究では、先行運動のエネルギー消費量を統一して、先行運動の種類がその後の持久運動中の脂質代謝に及ぼす影響を検討する必要があると考えられる。さらに、本研究では一晩の絶食後に

運動を実施しているため、脂質代謝が亢進した状態であった可能性も考えられる (Bouhlef et al., 2006)。今後は、食事のタイミングが脂質代謝に及ぼす影響も考慮して検討を行う必要もあろう。

6. まとめ

本研究では、先行運動なしで持久運動のみを行った場合と、持久運動中の脂肪酸化量を亢進させると考えられる 2 種類の先行運動を実施した後の、持久運動中の呼気アセトン排出および脂肪酸化量を測定して、関連性を検討した。その結果、先行運動の違いは脂肪酸化量に差を生じたが、アセトン排出量に影響はみられなかった。一方で、先行運動の実施の有無に拘わらず、呼気アセトン排出と脂肪酸化量との間には有意な正の相関関係が示された。また、呼気アセトン排出には脂肪酸化量と同様に血中の脂質代謝指標が反映されていることが示唆された。以上により、先行運動を実施した場合でも、呼気アセトン排出は脂質代謝を反映するものと考えられた。

第7章 本研究のまとめと今後の課題

1. 本研究のまとめ

本研究では、研究課題Ⅰにおいて安静時のアセトン排出と呼気ガス分析より求めた脂肪酸化量との関係の検討を、研究課題ⅡおよびⅢにおいては、運動時における脂肪酸化量と呼気アセトン排出の関係の検討を行った。

研究課題Ⅰでは、年齢20歳以上の健常な日本人男女17名（男性7名、女性10名）を対象として、30分間の椅座位安静時における脂肪酸化量、呼気のアセトン濃度およびアセトン排出量の測定を行い、その関連性を検討した。その結果、安静時には呼気アセトン濃度および排出量はともに脂肪酸化量を反映するが、アセトン排出量のほうが脂肪酸化量とより高い相関を示すことが明らかとなった。これらの知見から、安静時には呼気アセトン濃度よりもアセトン排出量の方が、より脂肪酸化量を反映した指標になり得る可能性が示唆された。

アセトンはヒトの呼気ガス中に含まれる豊富な化合物の一つであり、呼気中のアセトン濃度と血中のアセトン濃度との間には高い正の相関関係があることから、脂質代謝の指標として有用であると言われている（Crofford et al. 1977）。しかし、実際に脂肪酸化量と呼気アセトン濃度との関連を報告した研究は、これまでほとんどなされていない。また、呼気中のアセトン濃度には変動性があり、アセトンの総排出量に影響を及ぼす可能性があることが指摘されていた（Anderson et al., 2006、King et al., 2011）。従って、アセトン濃度ではなく、アセトン濃度と換気量の積より算出されるアセトン排出量を用いる方が、より脂肪酸化量を正確に反映すると考えられた。実際に、研究課題Ⅰによる結果から、アセトン濃度よりもアセトン排出量のほうがより脂肪酸化量を反映した指標であると考えられた。

研究課題Ⅱでは、年齢 20 歳以上の健常な日本人男性 10 名を対象として、漸増負荷運動時及び中等度強度での有酸素性運動時の呼気アセトン濃度および排出量を検討した。その結果、定常状態が成立する強度での運動時では、呼気アセトン濃度よりも呼気アセトン排出量の方が、より脂肪酸化量を反映した指標になり得る可能性が示唆された。

漸増負荷運動においては、呼気アセトン濃度は 40W と 120W の強度では変化しなかったが、200W 時でのみ安静時よりも有意に増加した。一方、呼気アセトン排出量は全ての運動強度で安静時よりも有意に増加し、その増加は運動強度に依存していた。このことから、運動時の呼気アセトン排出量は呼気アセトン濃度よりも呼気からのアセトン排出を正確に評価している可能性が示唆された。

呼気アセトン濃度は、安静時において換気流量の変動に起因して測定値が変動する可能性が指摘されており (Anderson et al., 2006、King et al., 2011)、呼吸数および一回換気量が著しく増加する運動時では、呼吸毎に変動性がより大きくなり、呼気アセトン濃度はアセトン排出を正しく反映しなかったものと考えられる。一方、脂肪酸化量は、40W 時および 120W では安静時よりも有意に増加したが、200W 時では安静時及び 40W よりも有意な低値を示した。脂肪酸化量は低～中等度強度までは強度に依存して増加するが、それ以上の強度では徐々に低下することから、一定の強度を超えた場合には呼気アセトン排出は必ずしも脂肪酸化量と同様の応答を示すとは限らないことを示唆するものである。

中等度強度の有酸素性運動を行わせた場合には、運動中の呼気アセトン濃度、アセトン排出量および脂肪酸化量は安静時と比べて有意に増加した。本研究では、VT および 80%VT の 2 種類の強度での、運動強度の違いによる脂肪酸化量および呼気アセトン排出の変化を検討したが、運動強度による差は見られなかった。VT および 80%VT の運動強度の差は 10%

$\dot{V}O_{2max}$ 程度であったため、脂肪酸化量および呼気アセトン排出に影響を及ぼさなかった可能性が考えられる。

研究課題Ⅲでは、年齢 20 歳以上の健常な日本人男性 9 名を対象に、先行運動としてレジスタンス運動または持久運動をそれぞれ実施し、先行運動を実施しない場合と比較して、その後の持久運動時における脂肪酸化量および呼気アセトン排出を測定した。その結果、先行運動の違いにより、60 分間に及ぶ持久運動時の脂肪酸化量に差は見られたが、呼気アセトン排出への影響は観察されなかった。しかしながら、すべてのデータを用いて脂肪酸化量と呼気アセトン排出との関係を確認したところ、両者の間には有意な正の相関関係が認められた。それゆえ、呼気アセトン排出は、先行運動によってその後の持久運動時の脂肪代謝に影響を及ぼした場合においても、脂肪酸化量を反映する指標となる可能性が示唆された。また、安静時や定常状態が成立する強度での運動時と同様に、呼気アセトン濃度よりも呼気アセトン排出量のほうが脂質代謝をより正確に反映することが示された。

本研究から、安静時、定常状態が成立する強度での運動時および先行運動後の一定強度で行われる運動時には、呼気アセトン排出は脂質代謝を反映すると考えられる。一方で、運動が一定の強度を超えた場合では呼気アセトン排出量は必ずしも脂肪酸化量を反映しない可能性が示唆された。

2. 今後の課題

本研究では呼気中のアセトン濃度のみの測定を行っており、尿中および皮膚へのアセトン排出量は測定していない。そのため全身でのアセトン排出量は不明であり、今後は、脂肪酸化量と全身でのアセトン排出量の関係について検討していく必要があると考える。また、本研究では絶食状態での検討のみを行った。安静時の栄養状態が変化した場合でも、

本研究で観察されたアセトン排出と脂肪酸化量の関係性が維持されるのか否かを明らかにする必要がある。

研究課題ⅡおよびⅢでは、呼気ガスの測定を持久運動終了時点までしか行わなかった。先行研究では、レジスタンス運動後 48 時間に亘り継続してエネルギー消費が増加すること、中強度 ($60\% \dot{V}O_{2max}$) での持久運動を繰り返した場合では、終了後 180 分間に亘って脂質代謝が亢進すること (Jamurtas et al. 2004、Goto et al. 2011) や、高強度 ($70\sim 90\% \dot{V}O_{2max}$) での持久運動を繰り返した場合では、実施後 24~48 時間に亘りエネルギー消費が増加することも報告されている (Poehlman et al. 1989, 1990、Treuth et al. 1996)。呼気アセトン排出においても、持久運動終了後の約 90 分間に亘り呼気アセトン濃度の上昇がみられたことや、先行運動としてレジスタンス運動を行った後に持久運動を行うと、持久運動後の約 30 分間に亘り呼気アセトン濃度の上昇がみられたことなど、運動後の呼気アセトン濃度の上昇にはタイムラグが生じる可能性が報告されている (垣津ら、2011)。これらの知見から、先行運動の違いが運動中だけではなく回復期の脂質代謝にも影響を及ぼしている可能性が考えられる。そのため、今後の研究においては運動後も継続して脂質代謝の変化を観察する必要があると考える。

習慣的な運動の実施は健康の維持や体力の向上、生活習慣病の予防に効果的である。しかしながら、運動を習慣化することは難しく、運動習慣を持たない人が運動習慣を獲得するためや、運動習慣を持つ人の運動意欲の低下を抑制するために、運動効果を可視化することは非常に重要であると考えられる。そのため、今後は、呼気アセトン排出量の測定を、運動を習慣化するためのツールの 1 つとして組み込むことを考慮すべきと思われる。

3. 結語

本研究では、①安静時における脂肪酸化量と呼気アセトン排出の関係（研究課題Ⅰ）、②運動時における脂肪酸化量と呼気アセトン排出の関係（研究課題ⅡおよびⅢ）を明らかにすることを目的とした。その結果、呼気アセトン濃度あるいはアセトン排出量は、安静時、定常状態が成立する強度での運動時および先行運動後の一定強度で行われる運動時には、脂肪酸化量を反映する有用な指標になり得ることが示唆された。また、呼気アセトン濃度よりも呼気アセトン排出量の方がより脂肪酸化量を反映した指標になり得ると考えられた。

参考文献

Achten J, Gleeson M, Jeukendrup AE. Determination of the exercise intensity that elicits maximal fat oxidation. *Med Sci Sports Exerc* 34: 92-97, 2002.

Achten J, Jeukendrup AE. Relation Between Plasma Lactate Concentration and Fat Oxidation Rates Over a Wide Range of Exercise Intensities. *Int J Sports Med* 25 (1): 32-37, 2004.

Ahmed K, Tunaru S, Tang C, Müller M, Gille A, Sassmann A, Hanson J, Offermanns S. An autocrine lactate loop mediates insulin-dependent inhibition of lipolysis through GPR81. *Cell Metab* 11: 311-319, 2010.

Anderson HU, Edin F, Pedersen A, Madsen K. Whole-body fat oxidation increases more by prior exercise than overnight fasting in elite endurance athletes. *Appl Physiol Nutr Metab* (4): 430-7, 2016.

Anderson JC, Lamm WJ, Hlastalaa MP. Measuring airway exchange of endogenous acetone using a single-exhalation breathing maneuver. *J Appl Physiol* 100: 880-889, 2006.

Askew EW, Dohm GL & Huston RL. Fatty acid and ketone body metabolism in the rat: response to diet and exercise. *J Nutr* 105: 1422-1432, 1975

Bahr R, Høstmark AT, Newsholme EA, Grønnerød O, Sejersted OM. Effect of exercise on recovery changes in plasma levels of FFA, glycerol, glucose and catecholamines. *Acta Physiol Scand* 143 (1):105-115, 1991.

Balasse EO, Féry F. Keton body production and disposal: effects of fasting, diabetes, and exercise. *Diabetes Metab Rev* 5: 247-270, 1989.

Baldwin KM, Fitts RH, Booth FW, Winder WW & Holloszy JO Depletion of muscle and liver glycogen during exercise. Protective effect of training. *Pflugers Arch* 354: 203-212, 1975.

Beaver WL, Wasserman K, Whipp BJ. A new method for detecting anaerobic threshold by gas exchange. *J Appl Physiol* 60 (6): 2020-2027, 1986.

Berggren JR, Boyle KE, Chapman WH, Houmard JA. Skeletal muscle lipid oxidation and obesity: influence of weight loss and exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 294: E726-732, 2008.

Bergman BC and Brooks GA. Respiratory gas-exchange ratios during graded exercise in fed and fasted trained and untrained men. *J Appl Physiol* 86: 479-487, 1999.

Brooks GA, J Mercier. Balance of carbohydrate and lipid utilization during exercise: the “crossover” concept. *Journal of Applied Physiology* 76 (15): 2253-2261, 1994.

Bulow J. Lipid Mobilization & Utilization. (ed) Poortmans JR; Principles of Exercise Biochemistry. Med Sport Sci Basel: 140-163, 1998.

Burke LM, Angus DJ, Cox GR, Cummings NK, Febbraio MA, Gawthorn K, Hawley JA, Minehan M, Martin DT, Hargreaves M. Effect of fat adaptation and carbohydrate restoration on metabolism and performance during prolonged cycling. J Appl Physiol 89(6): 2413-21, 2000.

Burke L, Deakin V. Clinical Sports Nutrition Fourth edition. McGraw-Hill Book Company Australia. 1-17, 2009.

Bursztein S, Glaser P, Trichet B, Taitelman U, Nedey R. Utilization of protein, carbohydrate and fat in fasting and post absorptive subjects. Am J Clin Nutr 33: 998-1001, 1980.

Bursztein S, Elwyn D, Askanazi J, Kinney J. Energy Metabolism, Indirect Calorimetry, and Nutrition. Baltimore: Williams & Wilkins: 58, 1989.

Cai TQ, Ren N, Jin L, Cheng K, Kash S, Chen R. Role of GPR81 in lactate-mediated reduction of adipose lipolysis. Biochem Biophys Res Commun 377: 987-991, 2008.

Chenevière X, Borrani F, Droz D, Gojanovic B, Malatesta D. Effects of 2 different prior endurance exercises on whole-body fat oxidation kinetics: light vs. heavy exercise. Appl Physiol Nutr Metab 37(5): 955-64, 2012.

Christensen EH & Hansen O. Respiratorischer quotient und O_2 – aufnahme. Skand Arch Physiol 81: 160-171, 1939.

Crofford OB, Mallard R.E, Winton R.E, Rogers NL, Jackson JC, Keller U. Acetone in Breath and Blood. Trans Am Clin Climatol Assoc 88: 128-139, 1977.

Ferrannini E, Natali A, Brandi LS, Bonadonna R, De Kreutzenberg SV, DelPrato S, Santoro D. Metabolic and thermogenic effects of lactate infusion in humans. Am J Physiol 265: 504-512, 1993.

Féry F, Blasse EO. Ketone body turnover during and after exercise in overnight-fasted and starved humans. Am J Physiol 245: E318-E325, 1983.

Frayn KN. Calculation of substrate oxidation rates in vivo from gaseous exchange. J. Appl. Physiol 55(2): 628-34, 1983.

藤井亮輔, 中村宣博, 池村司, 村岡功. 安静時における呼気アセトン排出と脂肪酸化量の関係, 日本運動生理学雑誌 24 (1); 1-6, 2017.

Garber CE, Blissmer B, Deschenes MR, Franklin BA, Lamonte MJ, Lee IM, et al. ; American College of Sports Medicine. American College of Sports Medicine position stand. Quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory, musculoskeletal, and

neuromotor fitness in apparently healthy adults: guidance for prescribing exercise. *Med Sci Sports Exerc* 43(7): 1334-59, 2011.

Goto K, Ishii N, Sugihara S, Yoshioka T, Takamatsu K. Effects of resistance exercise on lipolysis during subsequent submaximal exercise. *Med Sci Sports Exerc* 39: 308-315, 2007a.

Goto K, Ishii N, Mizuno A, Takamatsu K. Enhancement of fat metabolism by repeated bouts of moderate endurance exercise. *J Appl Physiol* 102: 2158-2164, 2007b.

Goto K, Tanaka K, Ishii N, Uchida S, Takamatsu K. A single versus multiple bouts of moderate-intensity exercise for fat metabolism. *Clin Physiol Funct Imaging* 31: 215 -220, 2011.

Guyton AC and JE Hall. *Textbook of Medical Physiology*. WB Saunders, Philadelphia. 2000.

Hansen M, Morthorst R, Larsson B, Dall R, Flyvbjerg A, Rasmussen MH, Orskow H, Lange KH. No effect of growth hormone administration on substrate oxidation during exercise in young, lean men. *J Physiol* 15; 567 (Pt 3): 1035-1045, 2005.

Haufe S, Engeli S, Budziarek P, Utz W, Schulz-Menger J, Hermsdorf M, Wiesner S, Otto C, Fuhrmann JC, Luft FC, Boschmann M, Jordan J. Determinants of exercise-induced fat oxidation in obese women and men. *HormMetab Res* 42: 215-221, 2010.

Helge JW, Richter EA, Kiens B. Interaction of training and diet on metabolism and endurance during exercise in man. *Journal of Physiology* 492 (Pt 1), 293-306, 1996.

Helge JW, PW Watt, EA Richter, MJ Rennie and B Kiens. Fat utilization during exercise: adaptation to a fat rich diet increases utilization of plasma fatty acids and very low density lipoproteins-triacylglycerol in humans. *Journal of Physiology* 537 (3): 1009-1020, 2001.

Henderson MJ, Karger BA, Wrenshall GA. Acetone in the breath. *Diabetes* 1:188-193, 1952.

Horowitz JF, Klein S. Lipid metabolism during endurance exercise. *Am J Clin Nutr* 72: 558S-563S, 2000.

Hubbard, R. S. Determination of Acetone in Expired Air. *J. Biol. Chem.* 43: 57-65, 1920.

石河利寛, 杉浦正輝. 運動生理学 (11), 岩垣丞恒, 第3章 運動と代謝・栄養; 129-143, (株) 建帛社, 東京, 1989.

伊藤 穰, 鈴木 康弘, 蒲原 一之, 高松 薫. 漸増負荷運動中における非代謝性 CO₂ 排出量の評価の信頼性. *体力科学* 50: 129-138, 2001.

Iwayama K, Kawabuchi R, Park I. Transient energy deficit induced by exercise increases 24-h fat oxidation in young trained men. *J. Appl. Physiol* 118: 80-85, 2015a.

Iwayama K, Kurihara R, Nabekura Y, Kawabuchi R, Park I, Kobayashi M, Ogata H, Kayaba M, SSatoh M, Tokuyama K. Exercise increases 24-h fat oxidation only when it is performed before breakfast. *EBioMedicine* 2: 2003-2009, 2015b.

Jamurtas AZ, Koutedakis Y, Paschalis V, Tofas T, Yfanti C, Tsiokanos A, Koukoulis G, Kouretas D, Loupos D. The effects of a single bout of exercise on resting energy expenditure and respiratory exchange ratio. *Eur J Appl Physiol* 92: 393-398, 2004.

垣津奈美, 永嶋康一郎, 近藤孝晴, 下内章人, 野瀬和利, 加賀谷みえ子. 呼気中アセトン濃度の変動についての基礎的データの検討, *安定同位体と生体ガス医学* 2 (1): 40-46, 2010.

垣津奈美, 永嶋康一郎, 近藤孝晴, 下内章人, 野瀬和利, 加賀谷みえ子. 運動による呼気中アセトン濃度の変動, *安定同位体と生体ガス医学* 3 (1): 23-30, 2011.

Kalapos MP. Possible physiological roles of acetone metabolism in humans. *Med Hypotheses* 53: 236-242, 1999.

上岡方士, 伊東元, 鈴木政登, 換気性作業閾値(VO_2GET)の算出に適した運動負荷法およびGET判定法に関する研究. *体力科学* 49: 393-402, 2000.

Kang J, Rashti SL, Tranchina CP, Ratamess NA, Faigenbaum AD, Hoffman JR. Effect of preceding

resistance exercise on metabolism during subsequent aerobic session. *Eur J Appl Physiol* 107 (1): 43-50, 2009.

King J, Unterkofler K, Teschl G, Teschl S, Koc H, Hinterhuber H, Amann A. A mathematical model for breath gas analysis of volatile organic compounds with special emphasis on acetone. *J Math Biol*: 959-999, 2011.

厚生労働省, 平成 28 年国民健康・栄養調査結果の概要. 24, 2016.

Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 33: 159-174, 1977.

Lange KH, Larsson B, Flyvbjerg A, Dall R, Bennekou M, Rasmussen MH, Ørskov H, Kjaer M. Acute growth hormone administration causes exaggerated increases in plasma lactate and glycerol during moderate to high intensity bicycling in trained young men. *J Clin Endocrinol Metab* 87: 4966-4975, 2002.

Lazzer S, Lafortuna C, Busti C, Galli R, Tinozzi T, Agosti F, Sartorio A. Fat oxidation rate during and after a low- or high-intensity exercise in severely obese Caucasian adolescents. *Eur J Appl Physiol* 108: 383-391, 2010

Leite LH, Lacerda AC, Balthazar CH, Marubayashi U, Coimbra CC. Central angiotensin AT1

receptors are involved in metabolic adjustments in response to graded exercise in rats. *Peptides* 30: 1931-1935, 2009.

Levey S, Balchum OJ, Medrano V, Jung R. Studies of metabolic products in expired air: II. Acetone. *J Lab Clin Med.*63: 574-584, 1964.

Liu C, Wu J, Zhu J, Kuei C, Yu J, Shelton J, et al. Lactate inhibits lipolysis in fat cells through activation of an orphan G-protein-coupled receptor, GPR81. *J Biol Chem* 284: 2811-2822, 2009.

Mannisto VT, Simonen M, Hyysalo J, Soininen P, Kangas AJ, Kaminska D, Matte AK, Venesmaa S, Kakela P, Karja P, Arola J, Gylling H, Cederberg H, Kuusisto J, Laakso M, Yki-Jarvinen H, Ala-Korpela M, Pihlajamaki J. Ketone body production is differentially altered in steatosis and non-alcoholic steatohepatitis in obese humans. *Liver Int* 35: 1853-1861, 2015

Manolis A. The diagnostic potential of breath analysis. *Clin Chem* 29: 5-15, 1983.

Martin HE, Wick AN. Quantitive relationships between blood and urine ketone levels in diabetic ketosis. *J Clin Invest* 22: 235-241, 1943.

Mendenhall, L.A., Swanson, S.C., Habash, D.L., et al. Ten days of exercise training reduces glucose production and utilization during moderate-intensity exercise. *American Journal of Physiology* 266: E136-E143, 1994.

Miles JM, Ellman MG, McClean KL, Jensen MD. Validation of a new method for determination of free fatty acid turnover. *Am J Physiol* 252: 431-8, 1987.

Mitchell GA, Kassovska-Bratinova S, Boukaftane Y, Robert MF, Wang SP, Ashmarina L, Lambert M, Lapierre P, Potier E. Medical aspects of ketone body metabolism. *Clin Invest Med* 18 (3): 193-216, 1995.

Moller N., JO Jorgensen, KG Alberti, A Flyvbjerg, and O. Schmitz. Short-term effects of growth hormone on fueloxidation and regional substrate metabolism in normal man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 70:1179-1186, 1990.

Musa-Veloso K, Likhodii SS, Cunnane SC. Breath acetone is a reliable indicator of ketosis in adults consuming ketogenic meals. *Am J Cli Nutr* 6: 65-70, 2002.

中村宣博, 藤井亮輔, 池村司, 村岡功. 漸増負荷運動および中強度の有酸素性運動における呼気アセトン排出, *日本運動生理学雑誌* 25 (2): 31-40, 2018.

Naitoh K, Tuda T, Nose K, Kondo T, Takatu A, Hirabayashi T. New measurement of hydrogen gas and acetone vapor in gases emanating from human skin. *Instrumental Sci Technol* 30: 267-280, 2002.

Nebblthau A. Ein Beitrag zur Kenntnis der Acetonurie. *Centr. Inn. Med.* 18: 977-982, 1897.

Nose K, Mizuno T, Yamase N, Kondo T, Ohtani H, Araki S, Tsuda T. Identification of ammonia in gas emanated from human skin and its correlation with that in blood. *Anal Sci* 21: 1471-1474, 1996.

Ohkuwa T, Funada T, Tsuda T. Acetone Response with Exercise Intensity. *Adv Exerc Sports Physiol* 16: 97-100, 2011.

大中政治, 毛利高次, 白井史生. 臥位安静時代謝の逐次的変化について, *栄養と食糧* 27: 13-19, 1974.

Okay DM, Jackson PV, Marcinkiewicz M, Papino MN. Exercise and obesity. *Prim Care* 36: 379-393, 2009.

Owen OE, Morgan P, Kemp HG, Sullivan JM, Herrera MG, Cahill GF. Brain Metabolism during Fasting. *J Clin Invest* 46: 1589-1595, 1967.

Owen OE, Trapp VE, Skutches CL, Mozzoli MA, Hoeldtke RD, Boden G, Reichard GA Jr. Acetone metabolism during diabetic ketoacidosis. *Diabetes* 31: 242-248, 1982.

Pescatello LS, Franklin BA, Fagard R, Farquhar WB, Kelley GA, Ray CA; American College of Sports Medicine. *Med Sci Sports Exerc* 36 (3):533-553, 2004

Petters W. Untersuchungen über die Honigharnruhr. Vierteljahresschr. Prak-tische Heilkunde 3: 81, 1857.

Pezzagno G, Imbriani M, Ghittori S, Capodaglio E, Huang J. Urinary elimination of acetone in experimental and occupational exposure. Scand J Work Environ Health 12(6):603-608, 1986.

Poehlman ET, Horton ES. The impact of food intake and exercise on energy expenditure. Nutr Rev 47: 129-137, 1989.

Poehlman ET, McAuliffe T, Danforth E. Effects of age and level of physical activity on plasma epinephrine kinetics. Am J Physiol 258: E256-E262, 1990.

Prabhakar A, Quach A, Wang D, Zhang H, Terrera Mirna, Jackemeyer D, Xian X, Tsow F, Tao N, Forzani ES. Breath acetone as biomarker for lipid oxidation and early ketone detection. Global J Obesity Diabetes Metab Syndrome 1 (1): 12-19, 2014.

Prabhakar A, Quach A, Wang D, Zhang H, Terrera Mirna, Jackemeyer D, Xian X, Tsow F, Tao N, Forzani ES. Acetone as biomarker for ketosis buildup capability- a study in healthy individuals under combined high fat and starvation diets. NutrJ 14 (41): doi.org/10.1186/s12937-015-0028-x, 2015.

Quisth VS, NOKSSON E, LAAK EB, AGSTROM -TOFT EH, RNER PA and OLINDER JB .

Major differences in noradrenaline action on lipolysis and blood flow rates in skeletal muscle and adipose tissue in vivo. *Diabetologia* 48:946-953, 2005.

Raymakers JA, HJH Kreutzer and MJ Haverkorn. Interpretatie van laboratorium onderzoek in de geneeskunde. Bohn Stafleu Van Loghum, Houten. 1982.

Reichard GA Jr, Haff AC, Skutches CL, Paul P, Holroyde CP, Owen OE. Plasma acetoacetyl metabolism in the fasting Human. *J Clin Invest* 63: 619-626, 1979.

Robinson AM Williamson DH. Physiological roles of ketone bodies as substrates and signals in mammalian tissues. *Physiol Rev* 60: 143-87, 1980.

Roepstorff C, Steffensen CH, Madsen M, Stallknecht B, Kanstrup IL, Richter EA, Kiens B. Gender differences in substrate utilization during submaximal exercise in endurance-trained subjects. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism* 282: E435–E447, 2002.

Rollo J. Cases of the Diabetes Mellitus; with the Results of the Trials of Certain Acids, and Other Substances, in the Cure of the Lues Venerea. Printed by T. Gillet for C. Dilly, in the Poultry, Second Edition, London, 1798.

Romijn JA, Coyle EF, Sidossis LS, Gastaldelli A, Horowitz JF, Endert E, Wolfe RR . Regulation of

endogenous fat and carbohydrate metabolism in relation to exercise intensity and duration. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 265: E380–E391, 1993.

Romijn JA, EF Coyle, LS Sidossis, XJ Zhang, RR Wolfe. Relationship between fatty acid delivery and fatty acid oxidation during strenuous exercise. *Journal of Applied Physiology* 79: 1939-1945, 1995.

Ronsen O, Haug E, Pedersen BK, Bahr R. Increased neuroendocrine response to a repeated bout of endurance exercise. *Med Sci Sports Exerc* 33: 568-575, 2001.

Rooth G, Ostenson S. Acetone in alveolar air, and the control diabetes. *Lancet* 2: 1102-1105, 1966.

Samar K Kundu, James A Bruzek, Radhakrishnan Nair, Anna M Judilla. Breath Acetone Analyzer: Diagnostic Tool to Monitor Dietary Fat Loss. *CLIN. CHEM.* 39: 87-92, 1993.

San-Millán I, Brooks GA. Assessment of metabolic flexibility by means of measuring blood lactate, fat, and carbohydrate oxidation responses to exercise in professional endurance athletes and less-fit individuals. *Sports Med* 48(2): 467-79, 2017.

Sasaki H, Ishikawa S, Ueda H, Kimura Y. Response of acetone in expired air during graded and prolonged exercise. *Adv Exerc Sports Physiol* 16: 97-100, 2011.

Schwarz K, Pizzini A, Arendacka B, Zerlauth K, Filipiak W, Schmid A, Dzien A, Neuner S, Lechleitner M, Scholl-Burgi S, Miekisch W, Schubert J, Unterkofler K, Witkovsky V, Gastl G, Amann A. Breath acetone-aspects of normal physiology related to age and gender as determined in a PTR-MS study. *J Breath Res* 3: 027003, 2009.

Senthilmohan ST, Milligan DB, McEwan M], Freeman CG, Wilson PF. Quantitative analysis of trace gases of breath during exercise using the new SIFT-MS technique. *Redox Rep* 5: 151-153, 2000.

Shimada K, Yamamoto Y, Iwayama K, Nakamura K, Yamaguti S, Hibi M, Nabekura Y, Tokuyama K. Effect of exercise performed before or after breakfast on 24h fat oxidation. *Metabolism* 62: 793-800, 2013.

Smith D, Spanel P, Davies S. Trace gases in breath of healthy volunteers when fasting and after a protein-calorie meal: a preliminary study. *J Appl Physiol* 87: 1584-1588, 1999.

Stallknecht B, Lorentsen J, Enevoldsen LH, Bulow J, Biering-Sørensen F, Galbo H, Kjaer M. Role of the sympathoadrenergic system in adipose tissue metabolism during exercise in humans. *J Physiol* 536: 283-294, 2001.

Stich V, de Glisezinski I, Berlan M, Bulow J, Galitzky J, Harant I, Suljkovicova H, Lafontan M, Riviere D, Crampes F. Adipose tissue lipolysis is increased during a repeated bout of aerobic

exercise. *J Appl Physiol* 88: 1277-1283, 2000.

Stisen AB, Stougaard O, Langfort J, Helge JW, Sahlin K, Madsen K. Maximal fat oxidation rates in endurance trained and untrained women. *Eur J Appl Physiol* 98: 497-506, 2006.

高木茂行, 塩見康友, 角野努, 前川陽, 豊島直穂子. 量子カスケードレーザー (QCL) を用いた革新的呼気分析装置, 第 16 回先進レーザー応用技術セミナー資料: 4-10, 2014.

Treuth MS, Hunter GR, Williams MJ. Effects of exercise intensity on 24-h energy expenditure substrate oxidation. *Med Sci Sport Exerc* 2: 1138-1143, 1996.

Toyooka T, Hiyama S, Yamada Y. A prototype portable breath acetone analyzer for monitoring fat loss. *J Breath Res* 7: 036005, 2013.

Tsuchiya Y, Ando D, Takamatsu K, Goto K. Resistance exercise induces a greater irisin response than endurance exercise. *Metabolism* 64 (9): 1042 -1050, 2005.

Turner C, Parekh B, Walton C, Spanel P, Smith D, Evans M. An exploratory comparative study of volatile compounds in exhaled breath and emitted by skin using selected ion flow tube mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 22: 526-532, 2008.

Valizadeh A, Khosravi A, Azmoon HR. Fat oxidation rate during after three exercise intensities in

non-athlete young men. *World ApplSci J* 15: 1260-1266, 2011.

Wahren I., Sato Y., Ostman J., Hagenfeldt L., Felig P. Turnover and splanchnic metabolism of free fatty acids and ketones in insulin-dependent diabetics at rest and in response to exercise. *J Clin Invest* 73: 1367-1376, 1984.

Watt MJ, GJF Heigenhauser, DJ Dyck and LL Spriet Intramuscular triacylglycerol, glycogen and acetylgroup metabolism during 4 hour of moderate exercise in man. *Journal of Physiology* 541 (3): 969-978, 2002

Widmark EMP. Studies in the Acetone Concentration in Blood, Urine, and Alveolar Air. III: The Elimination of Acetone, Through the Lungs. *Biochem. J.* 14: 379-394, 1920.

Yamai K, Ohkuwa T, Itoh H, Yamazaki Y, Tsuda T. Influence of cycle exercise on acetone in expired air and skin gas. *Redox Report* 14: 285-289, 2009.

謝辞

本論文は、筆者が早稲田大学大学院スポーツ研究科スポーツ科学専攻博士後期課程に在籍中の研究成果をまとめたものです。

指導教員として、本研究の実施の機会を与えて戴き、その遂行にあたって、常にご懇篤なる御指導ならびに御校閲を賜りました、本研究科の村岡功教授に深甚なる謝意を表します。本研究科の坂本静男教授、並びに、鈴木克彦教授には副査として御助言を戴くとともに本論文の細部にわたり御指導を戴きました。ここに深謝の意を表します。

本研究の遂行にあたり、先輩として、研究の進め方や悩みについて親身になって相談に乗って頂きましたスポーツ科学学術院の河村拓史助教に深くお礼申し上げます。本研究を進めるにあたり終始あたたかい御指導、御協力ならびに激励を賜りました野中利子博士、駿河台大学大森一伸教授ならびに横浜商科大学商学部池村司専任講師に心から感謝の意を表します。同期として、研究を通じて活発な議論にお付き合い頂き、数多くの御助言、御協力を頂きました横浜商科大学商学部中村宣弘専任講師に心より感謝申し上げます。実験に御協力頂いた運動生理学研究室の皆様と、実験へ参加して下さった多くの方々に深謝いたします。実験においては、このような研究のチャンスを与えて頂いた株式会社東芝および、数多くの御助言、御指導を頂いた株式会社東芝生産技術センター光技術研究部の皆様に心より感謝申し上げます。

最後に、博士課程に進学する機会を与えてくださり、温かく見守りそして辛抱強く支援して下さった両親に深い感謝の意を表して謝辞といたします。