

## 機能性食品アンセリンの抗疲労効果に関する研究

|       |                                                                                                        |
|-------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| メタデータ | 言語: ja<br>出版者: 静岡大学<br>公開日: 2015-06-26<br>キーワード (Ja):<br>キーワード (En):<br>作成者: 貴志, 浩久<br>メールアドレス:<br>所属: |
| URL   | <a href="https://doi.org/10.14945/00008783">https://doi.org/10.14945/00008783</a>                      |

静岡大学 博士論文

# 機能性食品アンセリンの抗疲労効果に関する研究

2014 年 12 月

大学院 自然科学系教育部  
情報科学専攻

貴志浩久

## 要旨

近年、働く人々が常にストレスを受け、疲労を蓄積させている事が社会問題になっている。それに超高齢化も伴い近年医療費が上昇して保険医療財政が逼迫している。そのような中で身体的疲労を軽減して健康を維持することは、精神的疾病に対しても効果があり、財政支出の削減にもつながる。このような背景から、機能性食品の研究・開発が推し進められており、その中でも抗疲労物質としてアンセリンが注目されている。抗疲労効果について多くの報告があるが、動物実験や生化学的評価、主観評価、運動継続時間による評価がほとんどである。それぞれ一長一短があるが、簡便且つ非侵襲で信頼性のある評価手法は見当たらない。そこで本研究では海洋性アンセリンに着目し、ヒトにおいてその抗疲労効果を簡便、且つ直接検証することを目的とした。

実験デザインは、一人の被験者が一定の期間を空けて 2 回（アンセリンと水）行うクロスオーバープラセボ比較対照試験とした。筋疲労の評価法には表面筋電図からスペクトルを解析、疲労に伴いそれが低周波側に移行する事を利用する。スペクトルの数値化の為、指標として中心周波数（MDF）を用いた。大腿直筋を被験筋とし等尺性収縮運動である静的な足あげ維持運動を採用。そこで 1 回の評価試験につき 2 度足上げ運動を行い、それぞれの運動の MDF の時系列データの回帰直線の傾きを求める。それぞれの運動から得られた二本の直線の傾きの差を角度で表し、角度疲労指標（Angle Fatigue Index、AFI）とし、筋疲労の指標とした。アンセリンの血中濃度は摂取後約 40 分で最大になるため、この時点で 2 回目の運動を行う事によってその効果を判断する。1 回の評価試験につき運動を 2 度行いその差で 2 度の運動の疲労差を評価し、これを別の日に別の物質で繰り返して疲労の差を比較する事により、個人内変動、個人間の差を従来よりも低減させることが可能な評価法である。

健康な成人男性 17 名(平均年齢 35.5±5 歳)を対象にアンセリン(11 mg/kg)と対照(水)で試験を行った。その結果、アンセリン摂取の場合の AFI の値は水摂取に比べて小さく(paired t-test、 $p<0.01$ )、疲労が少ない結果となった。これは他の観血的生理学的評価などの結果と同じである。また、解析周波数を変化させながら AFI を算出し平均した結果、解析区間 50 Hz 程度からアンセリンと水で AFI に大きな差が現れた。アンセリンの AFI 値はほぼ一定値を保つが、水では次第に低下するという結果もえられ、アンセリンは特定の筋のタイプに影響するのではないかと考えられる。

本研究から疲労評価に関して、表面筋電図を用いた新たな簡便で、且つ個人内変動の影響を低減できる評価が可能となると共に、アンセリンの抗疲労効果をヒトにおいて非観血的に直接証明できた。

## 目次

|                                                 |    |
|-------------------------------------------------|----|
| 第1章 序論.....                                     | 1  |
| 1.1 研究の背景.....                                  | 1  |
| 1.2 目的.....                                     | 3  |
| 参考文献.....                                       | 4  |
| 第2章 機能性食品アンセリン .....                            | 5  |
| 2.1 機能性食品 .....                                 | 5  |
| 2.2 アンセリン .....                                 | 7  |
| 2.3 アンセリンと抗疲労効果.....                            | 10 |
| 2.3.1 筋疲労の概要.....                               | 10 |
| 2.3.2 生化学からの筋疲労 .....                           | 11 |
| 参考文献.....                                       | 16 |
| 第3章 角度疲労指標 (AFI Angle Fatigue Index) .....      | 19 |
| 3.1 機能性食品の抗疲労評価法 .....                          | 19 |
| 3.2 筋疲労の評価法 .....                               | 22 |
| 3.3 筋電図を用いた筋疲労評価法.....                          | 23 |
| 3.4 周波数解析法 .....                                | 26 |
| 3.5 角度指標 AFI (Angle Fatigue Index) を用いた評価法..... | 27 |
| 参考文献.....                                       | 32 |
| 第4章 被験者実験.....                                  | 35 |
| 4.1 測定システム.....                                 | 35 |
| 4.2 被験者 .....                                   | 37 |
| 4.3 測定方法.....                                   | 37 |
| 4.4 測定結果.....                                   | 39 |
| (A) 筋電図 .....                                   | 39 |
| (B) STFT の解析結果.....                             | 41 |
| (C) 時系列 MDF とその回帰直線の結果.....                     | 49 |
| (D) 傾きの結果 .....                                 | 53 |
| (E) AFI の結果 .....                               | 54 |
| (F) 両摂取時 AFI の差.....                            | 55 |
| (G) AFI による抗疲労効果 .....                          | 56 |
| (H) 解析周波数変化させた場合の結果.....                        | 57 |
| 参考文献.....                                       | 58 |
| 第5章 考察 .....                                    | 59 |

|                                   |    |
|-----------------------------------|----|
| 第 6 章 結論.....                     | 62 |
| 参考文献.....                         | 63 |
| 謝辞.....                           | 64 |
| 本研究に関する論文及び学会発表.....              | 65 |
| 付録.....                           | 66 |
| 付録 1 スペクトル評価法 Wavelet と STFT..... | 66 |
| 1.1 ウェーブレット解析.....                | 66 |
| 1.2 スペクトル解析法の違いによる検出精度比較.....     | 69 |
| a) STFT の結果.....                  | 69 |
| b) Wavelet 解析.....                | 72 |
| c) 比較結果.....                      | 76 |
| 付録 2 MDF と MPF.....               | 77 |
| 付録 3 解析時間.....                    | 78 |

## 第1章 序論

### 1.1 研究の背景

近年、社会は大きな変革を迎えて、グローバル化、格差、不況など雇用をとりまく状況は厳しくなり且つ常に変動している。そういった雇用状況を背景に、人々は常に高いストレスにさらされている。疲労の蓄積は身体に影響し重篤な場合は疾病を招くだけでなく、そこからさらに精神的な疾患へと発展する事が知られている[1]。日本の精神疾患の発症率は非常に高くなってきているが、身体的疲労を軽減し、健康を維持することは精神的にも良い。一方で日本では図 1.1.1 にあるよう高齢化が進み 65 歳以上は約 25%に達しており[2]、4 人に一人は 65 歳以上の割合である。高齢者の多くは肉体機能が低下しており、その結果様々な疾病を招いている。その中でも糖尿病、高血圧、高脂血症、肥満などは生活習慣病であり、これらは食事、運動、休息、及び精神的ストレスと密接に関係している。特に食事はその原因としての割合が高くなっており、食事改善による効果は大きい。食事改善によりそれらの疾病を未病の段階にとどめる事ができると考えられている。

そのような背景から有効な食品成分の研究・開発が推し進められ、国家プロジェクトにもなっている[3][4]。その生体調節機能食品プロジェクトの成果を受けて 1991 年に特定保健用食品[4]が栄養改善法によって規定された。これにより国が医学的、栄養学的に評価し、その結果を消費者に伝えることが出来るようになり、機能性食品認知が人々に一挙に広がった。また、労働者健康状況調査では、「普段の仕事で疲れる」と答えた労働者が 72%にのぼり[5]、常にストレスを受け、疲労を蓄積させている社会になっていることが明らかになった。また近年社会的に医療費が上昇して財政が逼迫している。そのような背景の中で機能性食品が注目されている[6][7]。

機能性食品は、医薬品、医薬部外品、保健機能食品、及び一般食品に分かれている。また保健機能食品は特定保健用食品（認可あり）と栄養機能食品（認可なし）に分かれる[4]。この機能性食品の分野は、高齢化、生活習慣病予防、健康志向が伴いさらにマーケットが拡大すると予測されている。様々な生理活性をもつ機能性食品が開発されているが、とりわけ抗疲労食品が実現できれば上記問題の緩和に繋がり得るため現在研究が多くなされている分野である。

様々な物質が抗疲労物質として報告されているがその中でもイミダゾールペプチドが注目されている[8]。イミダゾールペプチドは、アミノ酸であるヒスチ

ジンとアラニンが結合したものを指す。その基本結合物質以外の物質によってカルノシン、アンセリン、バレニンという名前がついている。人の筋肉にはカルノシンが多く存在しているがアンセリンとバレニンはあまり含有されていない。バレニンは鯨に、アンセリンは常に遊泳をしている大型回遊魚の筋肉に多く含まれている[9]。アンセリンは古くから研究されているおり、その効能に関する多くの報告がある。しかし、その報告の多くはラットでの動物実験が多く[10]~[12]、またヒトでの実験でも生化学的評価[13]、アンケート[14]、運動継続時間[13]などが主流である。ラットは確かに遺伝的、生活的条件を揃える事ができるが、一方その結果をもって本当にヒトにも同様に作用するのかという疑問がある。ヒトでの試験においてはラットと違い被験者の生活を厳重に管理し、かつ病歴を含む遺伝的特徴をも揃えることは現実的に不可能に近い。また、実験日を含む相当な期間の個人の体調を管理し、考慮に入れる事も非常に困難である。多くの場合、対照試験で評価するためアンケートや運動継続時間といった手法はその日の精神的影響や個人内変動の影響を受けやすく、その物質を服用したことによる効果なのかどうかは分からない。血液や組織成分の分析であれば人体を直接測定した数値であって信頼性はあるが、侵襲的であり人体に苦痛やストレスを与える事になる。そこで簡便且つ非侵襲な評価手法があれば、機能性食品の抗疲労効果測定に際し非常に有益である。電氣的に評価できれば非常に簡便であると考えられ、そのため筋電図を用いる事とした。筋電図を用いて被験者から直接抗疲労を評価した報告は見当たらない。

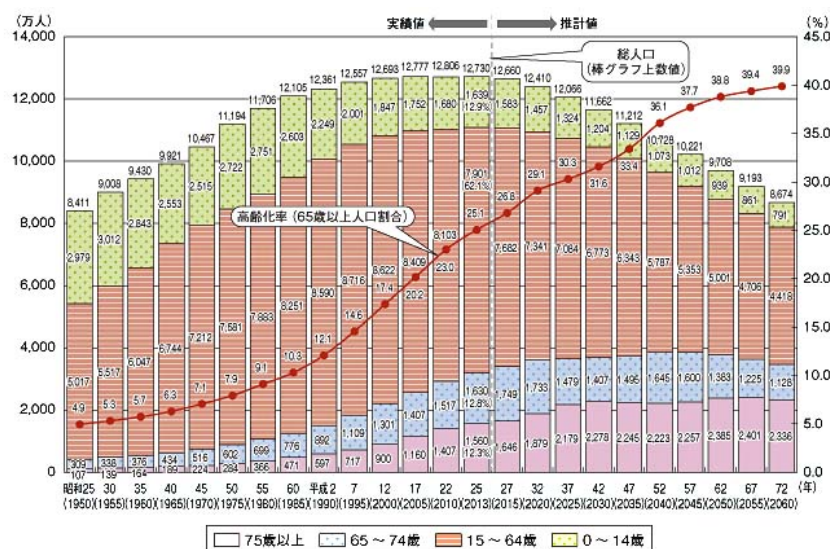


図 1.1.1 高齢者人口の推移と予想([2]より改変)

## 1.2 目的

本研究の目的は、機能性食品であるアンセリンの抗疲労効果を筋電図から直接証明することである。

本論文は 7 章からなる。第 1 章は序論であり、本研究の背景と目的を述べる。第 2 章は機能性食品の概要とアンセリン抗疲労効果について、第 3 章は筋疲労の評価方法に関する従来の方法と本論文で提案する評価法について述べる。第 4 章は実験、結果について述べる。第 5 章は考察、第 6 章は結論である。

## 参考文献

- [1] 今西次郎, 代替療法と疲労回復「疲労の科学」, 講談社, 東京, 169-174, 2001
- [2] 平成 26 年版高齢社会白書, 高齢化の状況及び高齢社会対策の実施状況, 2, 2014
- [3] 抗疲労臨床評価ガイドライン, 日本疲労学会, 3, 2012
- [4] 機能性食品, 特許流通チャート一般 7, 2002
- [5] 厚生労働省, 平成 14 年労働者健康状況調査, 厚生労働省統計情報, 2003
- [6] 越阪部緒美, 企業における機能性食品の開発, 日本薬学会ファルマシア, 42(9), 929-932, 2006
- [7] 田島眞, 機能性食品, 日本家政学会誌, 57(10), 713-714, 2006
- [8] 西谷真人, 新規抗疲労成分イミダゾールジペプチド, 日本補完代替医療学会誌, 6(3), 123-129, 2009
- [9] 畑中寛, 鯨肉に含まれるバレニンについて, 鯨研通信, 429, 1-4, 2006
- [10] 原田理恵, 田口靖希, 浦島浩司ら, トリ胸肉抽出物(チキンエキス)のマウス遊泳持久力に対する効果, 日本栄養・食糧学会誌, 55(2), 73-78, 2002
- [11] 菊池数晃, 渡辺一浩, カツオ煮汁から得られるアンセリン含有粉末「マリニアクティブ」の特性と機能, New Food Industry, 43(9), 15-20, 2001
- [12] 若松純一, 長尾哲二, 沼田正寛ら, 牛肉の抗疲労効果について, 日畜会報, 68 (6) , 579-586, 1997
- [13] TAKAHASHI Yoshinori, Salmon Muscle Extract Containing Anserine as a Suressor of Fatigue in Humans, Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology, 55 (9), 428-431, 2008
- [14] Kikuchi K, Matahira Y, Okada M, Contious Ingestion of the Health Food Containing an Anserine, "Marine Active" Reduces the Tiredness which Test Subjects Feel, J, New Rem, & Clin, 51(6), 525-530, 2002

## 第2章 機能性食品アンセリン

この章では機能性食品とそのなかでも抗疲労効果の生理活性が報告されているアンセリン、筋疲労の研究状況について述べる。近年ストレスや疲労が大きな社会問題になってきているため抗疲労などの生体にとってプラスとなる生理活性の研究がさかんに行われており、そのなかでもイミダゾールペプチドは注目されている。そのイミダゾールペプチドであるアンセリンについて最近の研究を踏まえて述べる。

### 2.1 機能性食品

機能性食品とは、食品が持っている栄養機能（第1次機能）、や味香りなどの感覚機能（第2次機能）に加えて、生体防御や疾病の防止・回復、体調のリズムの調整、老化抑制などの生体調節機能（第3次機能）がある事に注目し、これらの生体調節機能を科学的に証明し、機能を発揮できるように設計・加工された食品を指す。

機能性食品は保健用食品、特別用途食品（認可あり）、健康食品で1991年に始まり、2001年に保健用食品は、認可ありの特定保健用食品、認可なしの栄養機能食品に集約されている。また同時にサプリメントや健康志向食品なども登場した。97年から始まった機能性食品の市場規模は、2269億円でその後マーケットは図2.1.2の様に拡大し続け2015年には1兆9164億円との予測も出ており、機能性食品のマーケットは非常に大きく、今後も商品開発が盛んに行われると予測されている[1][2]。医薬品に比べて非常に認可は簡単ではあるが、それでも機能性物質を市場に送り出すには様々な検証が必要で、生体への吸収、生体組織への影響、生体への安全性等に関連して摂取時の血液成分などの生化学的検証をしなければならない。

日本は、高齢化社会が進んでおり65歳以上は25%に達している[3]。高齢者は、加齢とともに肉体的機能が低下し、糖尿病、高血圧、高脂血症、肥満などの生活習慣病が増加している。これらの疾患は食事からの影響が大変大きく、食生活を改善する事で進行を大きく抑制、予防する事が可能である。また、そういった疾患に加えて老人医療費、介護費用、若年層の生活習慣病なども増大して大きな社会問題になっている。そうした中、生活習慣病を食事により抑制、予防できれば有益であり、近年食品の生理機能、代謝、吸収の研究が進んでいる。さらに、ITによる労働環境のスピード化などに伴い、労働者の環境は変わってきており、疲労を訴える人が増加している。こういった状況で過労防止や経済の活性化のためにもその対処は急務である。「疲労定量化及び抗疲労食品開発プロジェクト」など大規模なプロジェクトも組まれている。そのプロジェクトの中で抗疲労の生理活性をもつ食品としてアップルフェノン、アスコルビン

酸（ビタミン C）、コエンザイム Q10、D-リボース、クエン酸、茶カテキン、クロセチン、ビタミン B1 誘導体、イミダゾールジペプチド（カルノシン、アンセリン）が報告されている[4]。

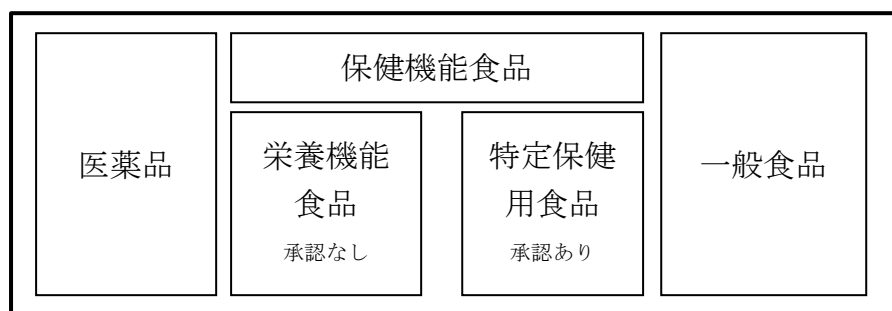
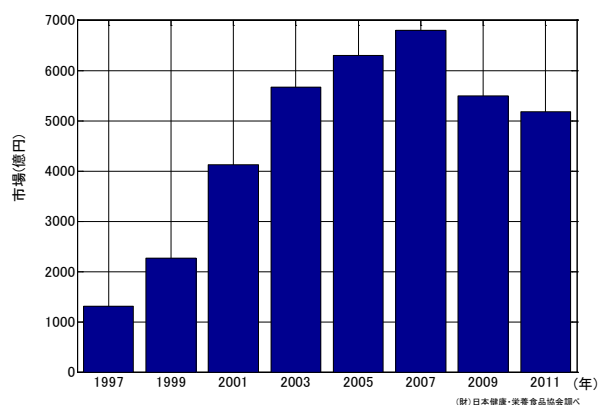
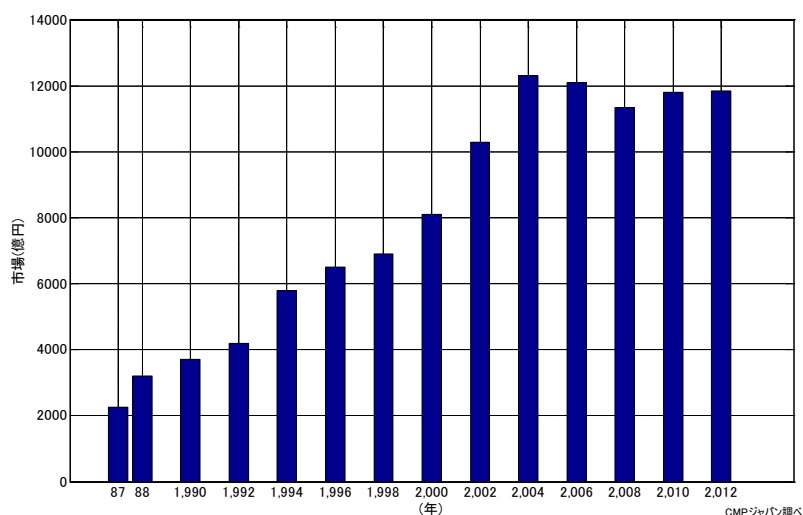


図 2.1.1 機能性食品の分類[2]



a) 特定保健用食品（トクホ）市場の推移



b) トクホ除く健康食品市場の推移

図 2.1.2 機能性食品の市場規模

## 2.2 アンセリン

古来沖縄では、カツオだしのスープを疲労回復剤として利用している歴史があり、アンセリンは科学的に証明される以前より人々に用いられてきた[5]。アンセリンは、近代カルノシンとともに動物の筋肉中に存在する物質として昔から知られている。カルノシンは、表 2.2.1 に示すようにヒト、サル、ブタ、ウシなど陸上系動物の筋肉に多く含まれており、アンセリンは、鶏、カジキ、カツオなど遊泳能力の高い回遊魚、鳥類及び魚類に多く含まれている [6][7][8]。また表 2.2.2 に示すように食品によっても含量は異なっている。主にカツオ料理に多く成分が含有されていて比較的に摂取しやすい。アンセリンは魚類ならどの魚も含有しているわけではなく、とりわけ高速遊泳魚に多く含まれている。この種の魚は泳ぎを止めると鰓に酸素が供給できなくなり死んでしまうため絶えず遊泳を続けなければならず、常時筋肉を動かし続けなければならない。そのような種に多く含有されているため、筋肉の抗疲労効果があると予測・研究されてきた。

表 2.2.1 アンセリンとカルノシンの生物の含量 (mg/100g)

| 種類    | カルノシン   | アンセリン    |
|-------|---------|----------|
| ヒト    | 45～180  | ～48      |
| サル    | 385～520 | ～34      |
| ブタ    | 270～475 | 24～96    |
| ウシ    | 226～452 | 24～96    |
| ニワトリ  | ～294    | 120～1033 |
| クロカジキ | 60      | 2523     |
| カツオ   | 86      | 1228     |
| マグロ   | 少       | 656      |
| イルカ   | 592     | 166      |
| 青灰色サメ | 0       | 872      |

( [9]より改変)

表 2.2.2 食品におけるイミダゾールジペプチドの含量 (mg/100g)

| 食品      | アンセリン    | カルノシン  |
|---------|----------|--------|
| マグロ刺身   | 317      | 63     |
| カツオ刺身   | 539～672  | 22～45  |
| 鰹節（荒節）  | 174～1315 | 14～78  |
| 鰹節（枯節）  | 726～892  | 43～169 |
| 手羽      | 476      | 88     |
| ツナ缶詰    | 212～468  | 16～38  |
| サケ切り身   | 538      | n.d.   |
| 鶏生肉（手羽） | 476      | 88     |
| ポークハム   | 11       | 343    |

（[10]より改変）

アンセリンとカルノシンはイミダゾール基を含んだアミノ酸がジペプチド結合したものである。（図 2.2.1 図 2.2.2） $\beta$ -アラニンとヒスチジンで構成されているものをカルノシン、 $\beta$ -アラニンと 1-メチルヒスチジンで構成されるものをアンセリンと呼んでいる。

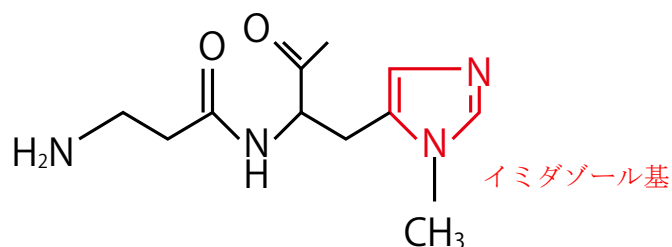


図 2.2.1 アンセリン

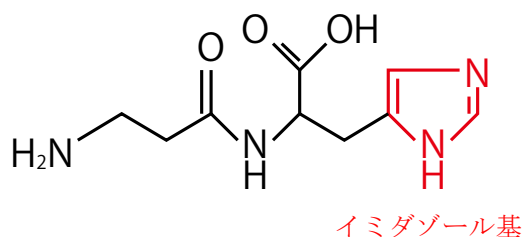


図 2.2.2 カルノシン

カルノシンは、1900 年に Gulewitsch らによって哺乳類の骨格筋中から、アンセリンは、1929 年に Akermann らによって鳥類の骨格筋中からそれぞれ発見された。その後研究は進み表 2.2.2 のように生物の種類による構成比が報告された [11]。また、このイミダゾールジペプチドは、抗酸化作用を持っている事が 1988

年に報告された[12]。

アンセリンは現在様々な効果を持つ食品として研究・実用化されている。アンセリンとカルノシンは、アミノ酸が結合したジペプチドで脳、心臓、肝臓、腎臓、神経系や骨格筋中などに広く存在している。特に骨格筋中に多く存在しているため、運動に関連するのではないかと古くから研究されてきた。すでに経口摂取においてラットでの急性経口毒性試験[13]や、遺伝毒性試験[14]から高い安全性が確認されており、人間における経口でも毒性の報告はなく[15]、安全である。

現在確認されている生理活性はさまざまである。高強度な運動時疲労と共に pH が低下するがその生理的 pH 付近の緩衝作用[16]がある。筋肉収縮を促すミオシン ATP アーゼの活性[17]、ATP 生産のための解糖反応の促進[18]、外部ストレスなどによって様々な疾病の原因となる活性酸素に対する活性酸素消去能[19][20]、金属キレート作用 [21]、血糖値調節[22]、眼精疲労や老視にも有効[23]などが明らかになっている。また脳内における生理学的な研究もされており、学習能向上、鎮静、鬱行動の減少[24]なども報告されている。

## 2.3 アンセリンと抗疲労効果

アンセリンは抗疲労効果があるとされてその報告も多いが、精神的な疲労というより肉体的な疲労の検証報告が多くを占めている[25]。つまり、アンセリンには筋疲労を抑制する働きがあるということであるが、現状では筋疲労の生化学的なメカニズムとして ATP(アデノシン三リン酸、Adenosine Triphosphate) が欠乏する事までは分かっているが、ATP の生成などを抑制している物質等について実はまだ諸説あり確実には判明していない。疲労に効果がある、という報告の多くは、エネルギー代謝の効率化とその代謝に関わる物質、組織などの活性化の結果である事を示唆している。アンセリンが化学的にどのような機序で作用しているかはまだ完全には分かっている。以下に、筋疲労を引き起こす要因とアンセリンの活性について述べる。

### 2.3.1 筋疲労の概要

重量挙げや 100 m 競争に見られるように、収縮持続あるいは収縮と弛緩を繰り返す筋が一時的に機能不全に陥り、定められた収縮レベルを維持できなくなる現象、つまり「最大筋力の低下」を“筋の疲労”と定義している[26]。ヒトは最大筋力を発揮できる時間は非常に短く、運動強度に半比例して時間が長くなる[27]。最大等張性収縮筋は疲労時に筋電図活動は弱く、直接神経刺激して得られた運動単位の筋活動電位の振幅も小さくなっている。このことは筋疲労では神経筋間での興奮の伝導伝達に障害が起こっていることを示唆しており、伝達物質の減少、或いは運動単位内の神経分岐部でのインパルスの消滅、の一方、或いは両方がその原因となり得る。筋疲労は筋繊維の断裂といった組織損傷だけで起こっているわけではなく、非常に複雑なメカニズムによって起きており、大きく中枢性疲労と末梢性疲労に分けられる。

中枢性疲労は神経系の疲労であり、それには精神的モチベーションの低下、中枢神経系の伝達不全などがある。具体的な変化として、筋疲労により筋から脊髄への求心性インパルスの中で脊髄運動ニューロンプールを興奮させる Ia 繊維のインパルス減少、それに伴って脊髄運動ニューロンプールの興奮性を抑制する III、IV 繊維のインパルスの増加、さらに Renshaw (レンショウ) 細胞も活性して、全体として筋活動を抑制する方向に働く[28]。図 2.3.1 に筋構造と疲労を誘発する部位について示す。

末梢性疲労は末梢神経、神経筋伝達機能、筋繊維の電氣的活動、筋繊維間の活性過程に不全がある疲労の事である。具体的な変化として、高頻度で神経を電気刺激すると特に軸索の分岐部や軸索直径が細い場合、活動電位の伝導不全ひいては伝導ブロックが起こる。神経筋接合部では運動神経終末部からアセチルコリンの遊離が十分に起こらなくなり、終板ではアセチルコリンに対する感

受性が低下し不全が起こる。図 2.3.2 にその模式を示す。筋繊維鞘、T 管では膜の興奮性が低下、筋小胞体からの  $\text{Ca}^{2+}$  の遊離が低下する。筋原線維ではミオシンクロスブリッジの不全が起こり、筋原線維の筋力の生産能力が低下する。

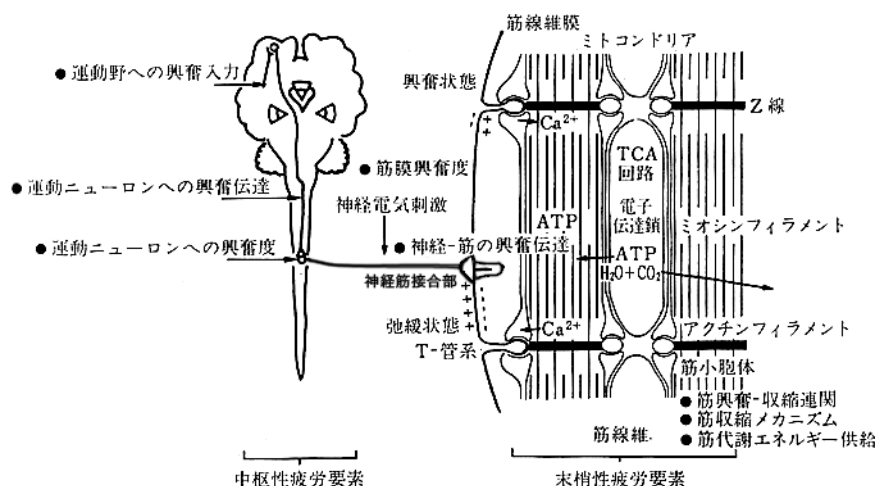


図 2.3.1 筋の構造と疲労誘発部位 ([29]より改変)

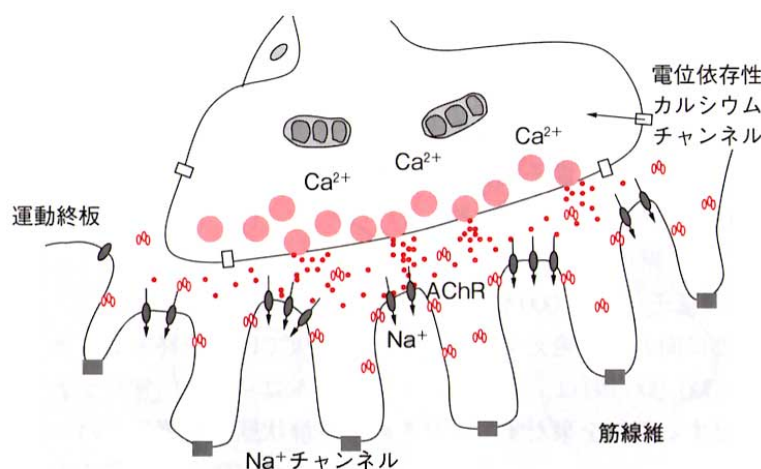


図 2.3.2 神経筋伝達 ([30]より改変)

## 2.3.2 生化学からの筋疲労

生化学的に見ると安静時の筋肉には一定量の ATP、CP (クレアチンリン酸、PhosphoCreatine)、グリコーゲンが蓄えられている。筋の運動や張力発生のエネルギーは、筋細胞内の高エネルギーのリン酸である ATP を ADP (アデノシン二リン酸、Adenosine Diphosphate) とリン酸に分解するときに放出される化学的エネルギーを機械的エネルギーに変換したものである。ATP 分解はミオシン分子頭部にある ATP 分解酵素 (ATPase) の働きによって行われている。筋形質

中には消費された ATP の補給源となるもう一つの高エネルギーリン酸であるクレアチンリン酸 (CP) が存在する。CP の持つ高エネルギーは ATP 分解で生じた ADP を ATP に再合成するのに用いられる。こういったサイクルを続けて筋肉は収縮をしている[31]。

ATP を分解することによって、ADP とリン酸が、またクレアチンリン酸が分解されリン酸ができる。そのリン酸は比較的簡単に  $\text{Ca}^{2+}$  と結合してしまう。活動電位による筋小胞体からの  $\text{Ca}^{2+}$  の放出は、その結合の機会を増やすことになり、筋小胞体のカルシウムの出入りを悪くしてしまうことで筋収縮を阻害している。

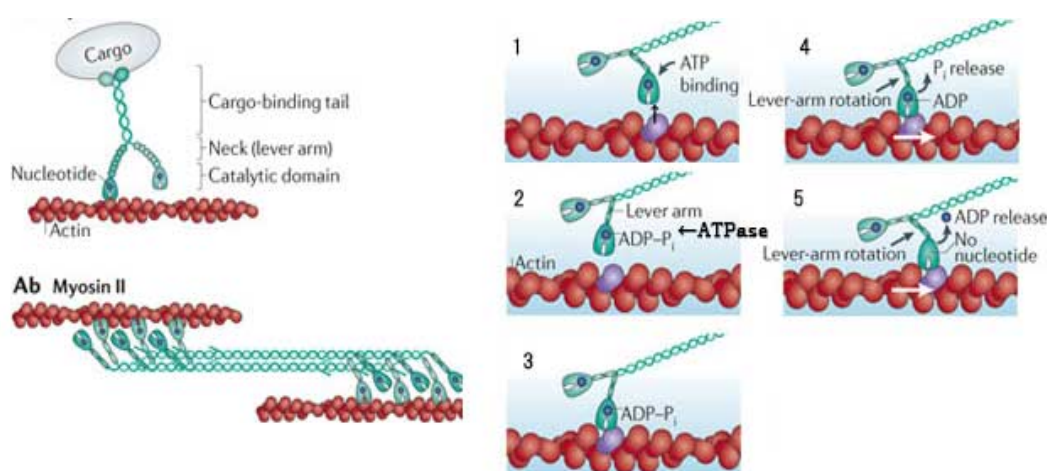


図 2.3.3 アクチンとミオシン ([32]より改変)

筋疲労の代謝からみた要因は、エネルギー枯渇や疲労物質の蓄積（水素イオン、無機リン酸、アンモニア）など諸説あり未だ明確に解明されていない[33]。

#### a) 酸化説

近年は運動などによる身体の酸化も疲労の原因の一つと考えられている。運動負荷により生体内で発生した活性酸素はタンパク質や脂質、DNA、白血球を分解・損傷させ、ミトコンドリアでの ATP の生産を阻害する。運動強度が大きいとき、乳酸は重炭酸系によって緩衝され筋中の水素イオン ( $\text{H}^+$  プロトン) 濃度が上昇して筋細胞の pH が低下してしまう。水素イオンが増えると PFK 酵素活性[33]やホスホリラーゼ (phosphorylase) の働きを抑制するため ATP の合成を阻害する[33]。またこの結果クレアチンリン酸濃度を下げることになり ATP 再合成を更に抑制する。筋組織 pH の低下により筋小胞体からの  $\text{Ca}^{2+}$  の放出低下やトロポニンに対する結合定数が低下し、それによりアクトミオシン ATPase 活性を阻害し筋収縮力が低下してしまう[33]。このように筋活動において細胞の pH は重要な疲労の原因の一つとされる。

## b) 乳酸説

また、グルコースや蓄えられているグリコーゲンの解糖反応が進むとピルビン酸が生成される。そこで酸素があればミトコンドリアで TCA サイクルに入り ATP が生成される。アンセリンには解糖作用を促進する生理活性作用があるという報告もある[34]。運動強度にともなって呼吸が速くなり酸素の摂取量、供給量は増え、筋肉に関しては有酸素運動になる[35]。ミトコンドリアは遅筋に多く存在しており速筋には少ない。しかし、グリコーゲンの貯蔵量は速筋の方が多いため、速筋では糖分解は進むもののミトコンドリアが少ないため乳酸が作られやすい。そしてモノカルボン輸送体 (MonoCarboxylate Transporter, MCT) が生成された乳酸を輸送する働きをし、それを心筋などの遅筋が利用している。

図 2.3.1 に筋肉内部の代謝サイクルを示す。乳酸のできる過程は以下のようになっている。ミトコンドリア内での ATP 生成量には限界があり（制御されている）解糖系の反応よりも遅い[35][36]。そのためピルビン酸が余ってしまうことになる。その過剰分のピルビン酸が乳酸となる。1 段階の反応によりピルビン酸になりミトコンドリアの反応系に入る事ができ、乳酸は非常に使いやすい代謝中間物である。しかし、結局ミトコンドリアでの ATP 生成は時間を要し筋収縮の為のエネルギーは、常に充足しているわけではない。

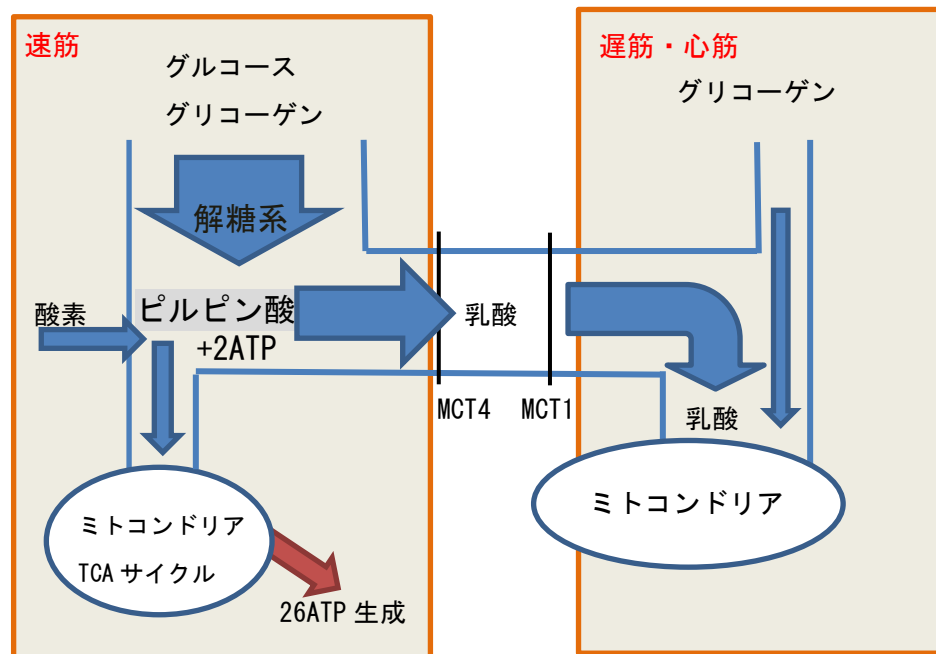


図 2.3.1 筋のエネルギー代謝サイクル ([37]より改変)

### c) 活性酸素説[29]

運動負荷により生体内で発生した活性酸素であるヒドロキシラジカル (HO) 及び一重項酸素 ( $^1\text{O}_2$ ) はタンパク質や脂質、DNA、白血球を分解・損傷させ、ミトコンドリアでの ATP 生産を阻害する。そのため疲労が発生する。

### 2.3.3 アンセリンと抗疲労

前節において述べた筋疲労の原因などに対してアンセリンの生理活性が報告されており、以下に述べる。

- ・アンセリンにはミオシン-ATPase 活性があるとの報告があり[20][38]34]、ATP のサイクル効率を促す働きを通して筋収縮の持続を高めていると考えられる。

- ・アンセリンを含むイミダゾールは、生理的 pH 付近の緩衝作用[39]が報告されている。これは運動に伴って生成するプロトンによる pH 低下を生理的 pH (6.5~7.5) 付近に緩衝するものであり、アンセリンの酸性度指数 pk 値は 7.15、カルノシンの pk 値は 7.01 でこの範囲内に収まっている。pH の低下を抑制する事でアンセリンは筋疲労を軽減させていると考えられる。

- ・アンセリンには乳酸の抑制機能があるため[40] [25]、ミトコンドリアを活性化させ、ピルビン酸の余剰生成を抑制している可能性がある。また、MCT による乳酸の搬送を活性化させ、遅筋などの部分での乳酸使用を促進している可能性があるが、その詳細な生化学的機序はまだ分っていない。現在、乳酸値は運動強度の指標と考えられている。アンセリン摂取によって乳酸値が減少するということは、より強い運動強度、或いはより長い運動持続時間を実現することが可能になることを意味している。

- ・アンセリン・カルノシンを含むイミダゾールジペプチドは抗酸化作用を有しており酸化ストレスを抑制する働きがある[8][32]。また、アンセリンは生体内で発生する活性酸素種によるタンパク質分解を抑制し、さらに 4 種の活性酸素種 ( $\text{ClO} \cdot \text{OH} \cdot \text{ONOO} \cdot \text{H}_2\text{O}_2$ ) による DNA 分解すべてを抑制したとの報告もある[41]。

- ・心理的ストレスや身体的負荷により副腎皮質から放出されるコルチゾールという物質がある[42][43]。運動後、血中濃度の変化量の減少がアンセリン摂取の方が有意になるという報告もあり、アンセリンは肉体的以外に精神的に

もそのストレスを軽減しているのではないかと考えられている[44]。またクレアチンホスキナーゼは、筋肉の損傷時に血液中に増加するとされている。そのクレアチンフォスフォキナーゼ (Creatine PhosphoKinase, CPK) もアンセリン摂取の場合に有意に減少するという報告[44]もあり運動による筋肉損傷の抑制にもなっている。

以上より、アンセリンを含むヒスチジンは様々な生化学的生理活性を持ち、それぞれが総合的に末梢性疲労や中枢性疲労にも作用して、運動負荷の軽減に作用していると考えられる。

参考文献

- [1] 高橋貞三, フードトピックス 14, AzeronSystemConsultant Co.Ltd., Apr, 2012
- [2] 機能性食品, 特許流通チャート一般 7, 5, Jan, 2002
- [3]
- [3] 平成 26 年版高齢社会白書, 高齢化の状況及び高齢社会対策の実施状況, 2, 2014
- [4] 大阪市立大学イノベーションセンターwebsite, 6. 抗疲労食品素材・製品の開発
- [5] 大屋文代, 又平芳春, 海洋性アンセリンの抗疲労効果と応用開発, FOOD STYLE21, 10(1), 60-62, 2006
- [6] 畑中寛. 鯨肉に含まれるバレニンについて. 鯨研通信第 429 号, 日本鯨類研究所, 1-4, 2006
- [7] TAKAHASHI Yoshinori, Salmon Muscle Extract Containing Anserine as a Suppressor of Fatigue in Humans, Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology 55(9), 428-431, 2008
- [8] 菊池数晃, 渡辺一浩, カツオ煮汁から得られるアンセリン含有粉末「マリンアクティブ」の特性と機能, New Food Industry, 43(9), 15-20, 2001
- [9] 阿部広喜, 魚の科学事典(谷内透), 朝倉書店, 459-468, 2005
- [10] 菊池数晃, スポーツ時における海洋性アンセリンの利用と効果, Food Style 21, 7(10), 2003
- [11] KGCrush, Carnosine and related substances in animal tissues, Comp Biochem Physiol, 34(1), 3-30, 1970
- [12] Kohen R, Yamamoto Y, Cundy KC. Antioxidant activity of carnosine, homocarnosine, and anserine present in muscle and brain, Proc Natl Acad Sci U S A. 1988 May;85(9), 3175-3179, 1988
- [13] Sato M, Karasawa N, Shimizu M, et al. Safety evaluation of chicken breast extract containing carnosine and anserine. Food Chem Toxicol, 46, 480-489, 2008
- [14] 赤塚謙一, 橋本孝雄, 竹内幸一ら. L-Carnosine(N-2-M)の催奇性に関する研究ラット, マウスの胎仔および新生仔におよぼす影響. 応用薬理, 8, 1219-1228, 1974
- [15] 青柳さやか, 杉野友啓, 梶本佳孝ら. 健常者を対象とした CBEX-Dr 配合飲料の過剰摂取における安全性. 薬理と治療, 36: 225-235, 2008
- [16] Ave H, Dobson GP, Hoeger U, Parkhouse WS, Role of histidine-related compounds to intracellular buffering in fish skeletal muscle, American

- Journal of Physiology, 249, 449-454, 1985
- [17] Avena RM, Bowen WJ, Effects of carnosine and anserine on muscle adenosine triphosphatases, The Journal of Biological Chemistry, 244(6), 1600 -1604, 1969
  - [18] Davey CL, The effects of carnosine and anserine on glycolytic reactions in skeletal muscle, Archives of Biochemistry and Biophysics, 89, 296-302, 1960
  - [19] Boldyrev A, Bulygina E, Leinsoo T, Pertrushanko I, Tsubone S, Abe H, Protection of neuronal cells against reactive oxygen species by carnosine and related compounds, Comparative Biochemistry and Physiology, B137, 81-88, 2004
  - [20] 又平芳春, 魚肉ペプチドの抗疲労効果, Food style21, 5(9), 52-55, 2001
  - [21] Miller DJ, O'Dowd A, Vascular smooth muscle actions of carnosine as its zinc complex are mediated by histamine H(1)and H(2)receptors, Biochemistry, 65(7), 938-948, 2000
  - [22] Kubomura D, Matahira Y, Nagai K, Nijima A, Effect of anserine ingestion on the hyperglycemia and autonomic nerves in rats and humans, Nutritional Neuroscience, 3(3), 123-128, 2010.
  - [23] 棟田裕一, 河原正貴, アンセリン含有サケエキスの眼精疲労及び老視に対する効果. アミノ酸研究, 4, 75-77, 2010
  - [24] 友永省三,  $\beta$ アラニン関連ジペプチドの脳内機能, 化学と生物, 45(12), 2007
  - [25] 西谷真人, 新規抗疲労成分イミダゾールジペプチド, 日本補完代替医療学会誌, 6(3), 123-129, 2009
  - [26] Ritchie BB, Changes in muscle contractile properties and neural control during human muscular fatigue. Muscle Nerve 7:691-699, 1984
  - [27] Tyler B, Human critical power-oxygen uptake relationship at different pedaling frequencies. Exp Physiol 91(3):621-632, 2006
  - [28] 内山靖, 計測法入門—計り方, 計る意味, 協同医書出版社, 85, 2001
  - [29] 森谷敏夫, スポーツ生理学, 朝倉書店, 87-94, 1994
  - [30] 木村淳, 神経伝導検査と筋電図を学ぶ人のために第 2 版, 医学書院, 29, 2010
  - [31] 宮村実晴, 最新運動生理学—身体パフォーマンスの科学的基礎, 真興交易医書出版, 12, 1996
  - [32] Claudia Veigel, Moving into the cell: single-molecule studies of molecular motors in complex environments, Nature Reviews Molecular

- Cell Biology, 12, 163-176, 2011
- [33] 宮村実晴, 最新運動生理学—身体パフォーマンスの科学的基礎, 真興交易医書出版, 39-55, 1996
  - [34] Boldyrev A, Bulygina E, Leinsoo T, Pertrushanko I, Tsubone S, Abe H, Protection of neuronal cells against reactive oxygen species by carnosine and related compounds, *Comparative Biochemistry and Physiology*, B137, 81-88, 2004
  - [35] 八田秀雄 エネルギー代謝を生かしたスポーツトレーニング, 講談社, 2001
  - [36] KEMPER, W.F., S.L.Lindstedt, L.A.Hartzler, JW.Hicks, and K.E.Conley:Shaking up glycolysis: Sustail during aerobic rattling. andhaking up glycolysis: Sustail during aerobic rattling.*proc.Nath.Acd.Sci.*, 98, 723-728, 2001
  - [37] 八田秀雄, エネルギー源としての乳酸, *New Food Industry*, 46(11), 12-16, 2004
  - [38] Parker.Cj, A comparative study of the effect of carnosine on myofibrillar ATPase activity of activity of vertebrate and invertebrate muscle, *Comp Biochem Physiol*, 37, 413-429, 1970
  - [39] Avena RM, Bowen WJ, Effects of carnosine and anserine on muscle adenosine triphosphatases, *The Journal of Biological Chemistry*, 244(6), 1600 -1604, 1969
  - [40] 又平芳春, 魚肉ペプチドの抗疲労効果, *Food style*21, 5(9), 52-55, 2001
  - [41] 高橋 真介, 活性酸素種による DNA 分子切断と食物由来の天然抗酸化剤によるその抑制作用, *日本食品科学工学会誌*, 58(5), 208-215, 2011
  - [42] Kirwchbaum.C, Salivary cortisol in psychoboilocial research, *Neuropsychobiology*, 22, 150-169, 1989
  - [43] Dickerson .S.S , Acute steressors and cortisol responses, *Physchol Bull*, 130, 355-391, 2004
  - [44] 高橋義宣, アンセリン含有サケエキスの疲労低減効果, *日本食品科学工学会誌*, 55(9), 2008

## 第3章 角度疲労指標 (AFI Angle Fatigue Index)

本章では、機能性食品における抗疲労効果の評価法、筋疲労の評価法、及び考案した角度疲労指標 AFI を用いた筋疲労評価法について述べる。

### 3.1 機能性食品の抗疲労評価法

前章で述べたように機能性食品の生理活性には様々なものがあり、生活習慣病の抑制、体調調節、抗疲労、美容、アンチエイジング、など多岐に及ぶと共にそれぞれに対する評価法も多く存在している[1][2]。疲労には精神的な疲労と肉体的な疲労がある。本来“疲労”といえはその両方を指す事が多く、精神疲労と肉体的疲労は相互に深く関わりあっている。ストレスとも密接に関係しているため、疲労を直接的、且つ簡便に評価する事は非常に難しい。一方で昨今の経済や社会をとりまく状況によってストレスと疲労は非常に大きな問題になってきており、ストレス測定とその指標化ニーズは非常に高い。実際に診断に使われている評価法として、アンケートなどの主観的ストレス測定、生体信号からの生理学的評価法、血液、唾液、尿などの生化学的評価などがある。代表的なストレス評価法について表 3.1.1 に示す。しかし、未病のストレス状態などは現在でも定量的に評価できるものは確立されていない[3]。

ストレスを受けると大脳皮質から大脳辺縁系、視床下部に伝わる。これらストレス反応系という。さらにその反応は視床下部→交感神経→副腎髄質系 (SAM 系 Sympathetic-Adrenal-Medullary axis) という経路と、視床下部→下垂体前葉→副腎皮質系 (HPA 系 Hypothalamic-Pituitary-Adrenal axis) がある。SAM 系が活性化すると、アドレナリン、ノルアドレナリンが分泌され、血圧上昇、血統上昇、発汗、闘争反応、覚醒などの反応を起こす。また HPA 系が活性すると血中にグルコルチコイド (コルチゾールなど) が分泌され、血圧上昇、血統上昇、心収縮力の上昇、免疫系調節などの反応が起こる。SAM 系の活性により、コルチゾールが分泌され血液にそして唾液に交じるが、これは昔からストレスの指標として使われている。コルチゾールは血液と唾液から採取できるが、血液採取は医療行為であるとともに穿針採血という侵襲的なものであるため被験者に負担がかかる (ストレスがかかる) 事から本当に目的とするストレスが評価できているか疑わしい。また、尿による評価では現在のストレス反応を検出する事は難しく、また、代謝物質も測定しなければならない。そこで唾液が注目されている。唾液はストレスフリーで、コルチゾールや交感神経系の活性によるアミラーゼなどで評価できる。しかし唾液の分泌は個人差が非常に大きく、あらかじめ健常時の分泌などを計測しておかなければならない。

先に述べたように、疲労には筋疲労以外に精神的な要因もあるため評価が困難であり、曖昧な疲労感などのメカニズムは完全には解明されていない。短期

的肉体的疲労は生理学的手法で評価する事ができるが、長期的な疲労評価には免疫力からの指標が有効ではないかと考えられている[3]。疲労の評価方法を表3.1.2に示す。ヒトヘルペスウイルスは感染すると一時的に増殖するが、その後潜伏してしまう。そしてストレスや疲労の蓄積により免疫力が低下してくると再び増殖活性し口内ヘルペスを発症させる。口内の唾液のなかのヘルペスウイルスの DNA の量によりウイルスの増殖度合を測って指標に用いる事ができるのではないかと実用化も含め研究が進められている。

表 3.1.1 代表的なストレス評価法[3]

| 分類          | 検査項目             |                  | 測定・評価内容                  |
|-------------|------------------|------------------|--------------------------|
| 心理学的<br>評価法 | 精神健康調査(GHQ)      |                  | 身体的症状、不安と不眠社             |
|             | 気分プリフィール検査(POMS) |                  | 気分状態(緊張、抑うつ、怒り、活気、疲労、混乱) |
|             | うつ病自己評価尺度(SDS)   |                  | うつ傾向                     |
|             | 状態・特性不安検査(STAI)  |                  | 不安状態                     |
|             | 職業性簡易ストレス調査票     |                  | 仕事のストレス要因、ストレス反応、修飾要因    |
|             | ライフペイント調査        |                  | 日常生活の出来事によるストレスの原因とその度合い |
| 生理学的<br>評価法 | 脳波( $\alpha$ 波)  |                  | リラックス度                   |
|             | 心拍変動             |                  | 自律神経活動                   |
|             | 加速度脈波            |                  | 自律神経機能                   |
|             | 光トポグラフィー         |                  | 大脳皮質の血流の変化               |
| 生化学的<br>評価法 | 血液<br>検査         | カテコールアミン         | 交換神経活動                   |
|             |                  | コルチゾール           | ホルモン分泌量                  |
|             |                  | DHEA-S           |                          |
|             |                  | NK細胞活性           |                          |
|             |                  | T細胞系表面マーカー       | 免疫能                      |
|             |                  | サイトカイン類          |                          |
|             | 尿<br>検査          | カテコールアミン及び代謝物質   | 交感神経活動                   |
|             |                  | 17-KS-S/17OHCS比  | 代謝産物による生体の修復・摩損のバランス     |
|             |                  | 8-OHdG、8-イソプロスタン | DNA損傷                    |
|             | 唾液<br>検査         | コルチゾール           | ホルモン分泌量                  |
|             |                  | アミラーゼ活性          | 交感神経活動                   |
|             |                  | クロモグラニンA         |                          |
|             |                  | イムノグロブリンA        |                          |
|             |                  | ヒトヘルペスウイルス6型活性   | 免疫能                      |

(ストレスと疲労のバイオマーカーより[3]より改変掲載)

表 3.1.2 疲労評価の候補[3]

| 分類       | 評価法              | 検体   |
|----------|------------------|------|
| 酸化ストレス指標 | 8-ヒドロキシデオキシグアノシン | 血液、尿 |
|          | 8-イソプロスタン        | 血液、尿 |
|          | 過酸化水素            | 尿    |
| 自律神経系指標  | アミラーゼ活性          | 唾液   |
|          | バニルマンデル酸         | 尿    |
|          | ホモバニリン酸          | 尿    |
|          | $\alpha$ -MSH    | 尿    |
| 免疫系指標    | ヒトヘルペスウイルス6型活性   | 唾液   |
|          | TGF- $\beta$     | 血液   |
| 代謝系指標    | アシルカルニチン         | 血液   |
|          | アミノ酸             | 血液   |

(ストレスと疲労のバイオマーカー[3]より改変掲載)

しかし機能性食品や普通の食品などの摂取による抗疲労という言葉の意味は肉体的な疲労、すなわち筋疲労を指すことが多い[2][4]。第一節で述べたように未病の状態でのストレスや疲労を評価する事は難しいためであると考えられる。

機能性食品の評価として、まずは毒性、反復投与毒性、変異原性、催奇形性などを調査するためにラットなどの動物実験からヒトへと移行する。生理活性を調査する場合に対象がヒトでも動物であってもプラセボ（偽薬）対照比較試験で検証される事が多い[2]。その比較試験には大きく分け並行群間比較試験とクロスオーバー比較がある。並行群間比較では一斉に実験できるため短期間で終える事ができるが、被験者が多く必要である。加えてその被験者が多いがためデータのばらつきが多くなってしまう。クロスオーバー比較試験では、同被験者が被験食品と対象食品を摂取し評価するためばらつきは低減されるが、試験期間が長くなりその間の体調、食事、生活環境などを統一させる事は非常に困難になってしまう。また、ヒトを対象とした場合、摂取した食品を被験者や関係者がわからない二重盲検法や、被験者のみ摂取食品が知らない単盲検法も組み合わせて試験される。どの試験法であっても遺伝形質、生活環境、生活習慣、食事、疾病、個体差、体調などの問題はついて回る。その点、ラット(動物)では遺伝的特徴や生活などを比較的簡単に一律にそろえることができ、また体組織を直接調べることもできるためヒトに比べ非常に使い勝手の良い検体である。抗疲労効果の試験として生化学的な体組織、血液を分析する他、運動生理的な強制遊泳の継続時間[4]や強制跳躍[5]、水侵負荷疲労[6]などがあるが、強制遊泳がもっともポピュラーに行われている。ラットでの実験は以上のような利点もあるが実際ヒトで同様の生理活性が起こるという確証はない。

抗疲労を評価するヒトへの試験の種類として、高強度間欠的運動パフォーマンス

ンス[7]、短時間高強度運動パフォーマンス[8]、身体作業負荷による疲労評価[9]、日常作業による疲労[10]、運動継続時間[11]などが挙げられる。機械運動や、ランニング、エルゴメーターを使用する場合は回転数、負荷、平均パワー、継続時間などから評価可能である。また、前述の酸化ストレス指標や血液化学検査、VAS (Visual Analogue Scale) やアンケートによる主観的評価、運動継続時間(遊泳など) などによっても抗疲労効果の評価が行われている。また、被験食品の単回摂取、継続摂取も考慮しなければいけない。

機能性食品を含めた抗疲労製品の評価に関しては、疲労学会より抗疲労臨床評価ガイドラインが示されている[12]。

### 3.2 筋疲労の評価法

筋疲労の推定には生化学的評価や生理学的評価、侵襲的方法、非侵襲的方法などがあり、それぞれ一長一短がある。生化学的に血中の酸素動態や乳酸を計測する事、被験筋からの体液などを組織から直接採取できれば、正確な疲労評価をする事ができる。しかしそれは侵襲的であり、被験者に負担がかかるうえ、運動などのリアルタイム計測ができない。非侵襲的な方法として、筋張力、筋音、筋電図、近赤外線分光法、磁気共鳴分光法などがある。

筋張力は疲労と共に小さくなるため、最大筋張力 (Maximal Voluntary Contraction, MVC) を測定することで疲労を推定することができる[13]。筋音は、被験筋に加速度センサ、マイクなどを取り付け、収縮時における筋の震え振動を音としてとらえることにより疲労を計測する[14]。筋電図は筋肉状態の観察、筋、神経疾患の診断など非侵襲な測定法であり、非常にポピュラーで昔から用いられている[15]～[18]。近赤外線分光法、磁気共鳴分光法では、以前侵襲的にしかできなかった酸素動態や成分の分析が非侵襲に可能である。近赤外線分光法 (Near Infrared Spectroscopy, NIRS) は、生体組織内のヘモグロビンが酸素との結合状態により近赤外光の吸収特性が異なることを利用して非観血的に血中酸素動態や組織酸素消費状態などを計測する光計測法である[19]。磁気共鳴分光法 (Magnetic Resonance Spectroscopy, MRS) は、均一な強磁場内に被験体をおき、核の共鳴周波数に相当する電磁波を照射したときの吸収スペクトルを観察する。生体には  $^{31}\text{P}$ -MRS がよく使われており[20]、非接触で細胞内のクレアチンリン酸、ATP、pH、 $\text{H}^+$ 、 $\text{Pi}$  の測定に用いる事ができ、これを応用して筋疲労の評価ができる。非侵襲で局所的に測定でき、且つ運動中でも可能なため今後安価になれば評価法の主流になると思われる。

### 3.3 筋電図を用いた筋疲労評価法

筋電位には針筋電図という方法があり、被験筋を直接測る事ができるが侵襲的であるため疾患の診断以外あまり用いられていない。非侵襲で簡便な表面筋電図が多く用いられる。表面筋電図は、皮膚下にある収縮しているすべての筋肉の電気信号が重畳した信号をとらえており、局所的に筋肉の信号をとらえる事はできない。皮膚から深い筋肉の信号は周波数の低い信号として、皮膚表面に近い筋肉は、周波数の高い信号として現れる。ヒトの皮膚は誘導を拾ったりするため非常にノイズが多い。そのため双極差動導出で電源の雑音や電極に同相で入ってくる雑音を取り除いた信号を表面筋電図として用いる。

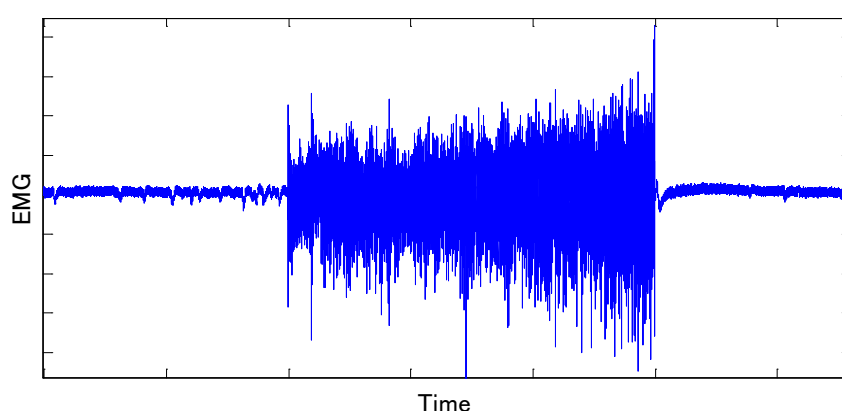


図 3.3.1 筋電図一例

計測された筋電位の一例を図 3.3.1 に示す。筋電位の振幅の大きさと収縮力は比例しており、図では徐々に収縮力が大きくなってきている。筋電位は細かい重畳した波形であるため全体の特徴量を把握した方がよい。その特徴量として RMS、ARV、積分筋電図 (IEMG) などが用いられる。IEMG はある時間区間における整流波の積分値で総放電量となる。電圧×時間で求められる。式 3.3.1 に示す RMS は決められた時間区間の筋電位信号を二乗して範囲内の平均を求め平方根を取った量を指す。ARV は振幅の絶対値を求めそれを積分もしくはローパスフィルタをかけて平滑化したものであり、式 3.2.2 に示す。RMS と ARV は性質が同じであるのでどちらでもよいが、ARV を用いた文献が多くみられる。図 3.3.1 の筋電位データから ARV を算出したものを図 3.3.2 に示す。

$$RMS(t) = \sqrt{\frac{1}{2T} \int_{-T}^T h(\tau) e^2(t + \tau) d\tau} \quad (3.3.1)$$

$$ARV(t) = \int_{-\infty}^{\infty} h(\tau) |e(t + \tau)| d\tau \quad (3.3.2)$$

$e(t)$  は、筋電位信号で  $T$  が計算区間であるここで  $\int_{-\infty}^{\infty} h(\tau) d\tau = 1$  となるような  $h(\tau)$  を設定するのが一般的である。

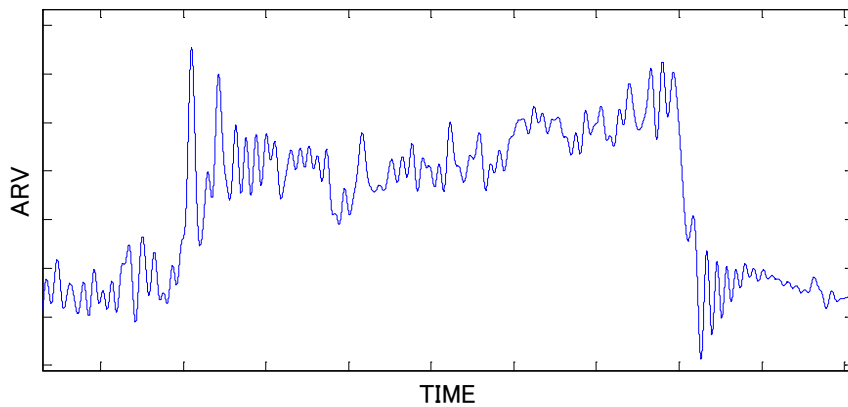


図 3.3.2 ARV の一例

筋収縮を続けていると筋電位が緩やかな波形になってくるこれは筋疲労の影響と言われている。そのような波形の特徴力を定量化するために用いるのがスペクトル解析である。疲労に伴ってスペクトルが低周波側に移行する事が分っている[21]。その原因について研究されているがまだ解明されていない。現在有力な説は、筋肉が疲労しても同じ収縮強度を保たなければならないため、筋発火の同期化が起こり結果として、高周波成分が減少し低周波に移行するのではないかとされている。概念図を図 3.2.3 に示す。スペクトルの山が低周波側に移行しているのが分かる。

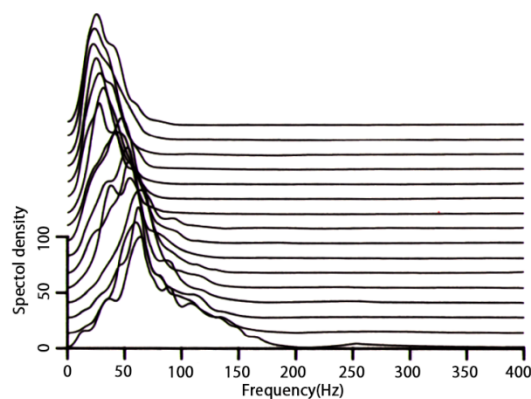


図 3.3.3 疲労にともなうスペクトルの時間変化の概念図

スペクトルが移行するとしてもその指標がないと定量的な比較はできない。そういうスペクトルの特徴量を、平均周波数 (Mean Power Frequency, MPF) 、

周波数中央値 (MeDian power Frequency, MDF) を用いる事が多い。それぞれの式を式 3.3.3、式 3.3.4 に示す。

$$MPF = \frac{\int_{-\infty}^{\infty} f \cdot P(f) df}{\int_{-\infty}^{\infty} P(f) df} \quad (3.3.3)$$

$P(f)$  はパワースペクトル、 $f$  は周波数を表している。これは、スペクトルの重心を求めている事になる。

$$\int_0^{MDF} P(f) df = \int_{MDF}^0 P(f) df \quad (3.3.4)$$

MDF は単にスペクトルの中央値を表している。MPF は分母の項に周波数  $f$  を乗算しているため高周波の影響を大きく受けるが、MDF にはそれがなく影響を受けにくいとされている。しかしこの両者を用いて疲労解析を行った場合あまり差はなくむしろ MDF を用いた方が良いとの結果もある[22]。

これらの特徴量を算出する事で疲労に伴い MPF や MDF の値が時間に疲労に伴って減少する。

また、このスペクトル算出にも、いくつかの解析法がある。代表的なものとして FFT、ウェーブレットがある。等尺性収縮のような定常的な波形がでるような場合は FFT でよいが、短縮性収縮のような運動の場合 FFT はあまり適さず Wavelet 解析を用いる事が多い[23]。しかしこの評価法は、すべての運動に対して有効でない。FFT は時間軸を周波数軸に変換するものであり、変換した場合時間が失われてしまい。短縮性収縮運動のような、収縮と休憩を繰り返すような運動に対してはあまり有効ではなく、等尺性収縮のような静的、持続的な収縮運動に向いている。最近、短縮性収縮のような動的で非定常的な運動には、Wavelet が使われている[24]~[27]。

また、カオス手法、フラクタルを用いた疲労評価法などもあるがスペクトルによる筋疲労評価が使用され一般的である。

### 3.4 周波数解析法

フーリエ変換について述べる。フーリエ変換は、時間成分がないため実際には時間を区切って解析を行う **STFT** 短時間フーリエ変換を用いる。**STFT** の原理を述べる。

筋肉の収縮を始めると全運動単位が同時に動員されるわけではない。それは、サイズの理論や筋疲労による動員される筋肉の変化などによって、筋電位はそれらの重畳波形となってランダムな変化を示す。筋電波形のみを観察していてもそのような変化をとらえるのは非常に難しい。そういった波形を定量化するに当たり非常によく用いられるのがスペクトル解析である。そのスペクトルの計算にはフーリエ変換を用いる。フーリエ変換とは、時間軸から周波数軸に変換を行うことである。フーリエ変換は次式 3.4.1 で表される。

$$X(f) = \int_{-\infty}^{\infty} x(t)e^{-i2\pi ft} dt \quad (3.4.1)$$

信号 $x(t)$ , ( $-\infty < t < \infty$ ) をフーリエ変換したものが $X(f)$ となり周波数スペクトルが求められる。しかし、このフーリエ変換は、解析区間全体に渡り定常的である必要がある。そのため筋電位が測定できる実験条件は限られる。静的な等尺性収縮で一定時間安定した筋肉収縮を行うものに向いている。したがって動的な筋収縮を行うような解析では向いておらずそのような場合は、短時間フーリエ変換を用いる。

短時間フーリエ変換 (**Short Time Fourier Transform**) は、解析区間をフーリエ変換のように $-\infty < t < \infty$ で行うのではなく有限長の短時間に区切り、その区間でフーリエ変換を行いその区間をシフトさせながら変換する方法である。その式を式 (3.4.2) に示す。

$$X(f, b) = \int_0^T w(t - b) x(t) e^{-i2\pi ft} dt \quad (3.4.2)$$

$w(t - b)$  は窓関数であり、 $b$  は時間シフトパラメータである。フーリエ変換する場合その信号は定常的である必要がある、つまり無限にその信号成分が繰り返すと仮定している。従って、信号を短時間に区切った場合、信号の最初と最後は同じ値になってなければならない、そうでないと不連続になり信号の持つ周期性が満足されなくなり、スペクトルに影響を与え本来の信号の成分とは違う成分が現れる。そのような不都合を防ぐために窓関数を用いる。その窓関数にはいくつかの関数がある。代表的なものに、ハニング (**Hanning**)、ハミ

ング (Hamming) などがある。短時間フーリエは、時間分解能と周波数分解能がトレードオフの関係が生じてしまう。周波数分解能を高くすると周波数窓を小さくするとそれにより時間窓が長くなり時間分解能は低くなってしまう。その反対に、時間分解能を高くすると時間窓が短くなり結果、周波数窓が大きくなり周波数分解能が低くなってしまう。そのような関係を不確定性原理という。

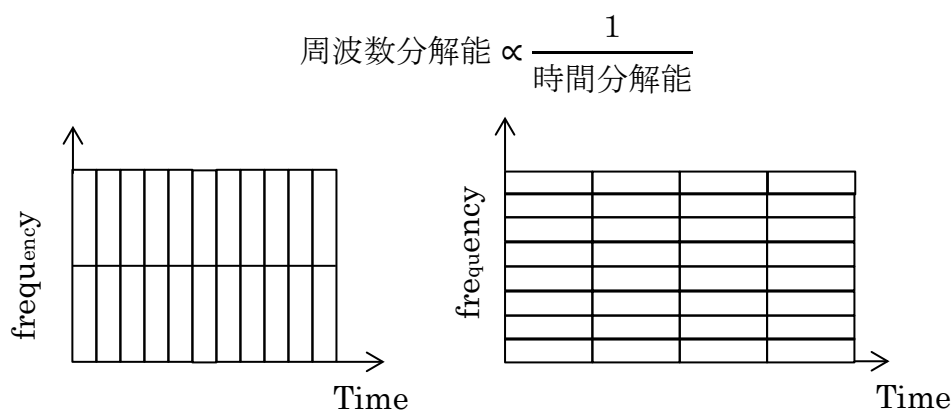


図 3.4.1 時間分解能と周波数分解能の関係

尚、実際解析する場合はデータ個数を  $2^n$  の個数とし、足りない場合は 0 詰めを行った。

### 3.5 角度指標 AFI (Angle Fatigue Index) を用いた評価法

機能性食品であるアンセリンの抗疲労効果の評価は昔から行われてきたが、近年、ストレス、疲労などが社会問題として大きく取り上げられるようになり 2003 年産学連携「疲労定量化及び、抗疲労食薬開発プロジェクト」が立ち上がった。その結果として、イミダゾールペプチドは活発に研究され抗疲労効果などの様々な生理活性が、ラットなどの動物実験、ヒトで評価がおこなわれて証明されている。その証明手法は、生化学的評価、アンケートのような心理的・主観的評価、運動継続時間等によるものである。生理学的評価は、体組織、血液など直接調べることができ信頼性の高いものであるが、被験者に負担がかかるものも多く、あまり簡便でないといえるだろう。またラットの様にヒトを解剖し直接組織を観察・分析できるわけではない。次に、抗疲労効果の評価で多くみられるのが運動の継続時間である。これはラットでもヒトでも行われており、プラセボ比較評価などで被験食品摂取の方がとコントロールに比べ運動継続時間がどうなるかという評価法である。ヒト対象の場合ラットの様に生活すべてをコントロールできるわけではなくその日の体調などに影響される事が多い。ラットの様に生死にかかわる強制運動試験はヒトでは不可能であり、結局

精神的な影響も大きいと思われる。あまり被験者に負担を掛けない方法としてアンケート、VAS のような心理的・主観的評価も生体に対する直接的な測定ではなく、これも精神的・感情的な影響の側面が大きいと考えられる。このように、現在の抗疲労評価法で電気的な生体信号から直接評価した報告はない。本研究では筋電位から簡便で信頼性の高い評価法を考案した。

筋電位を用いるにしても、効果の比較であるからプラセボ比較評価法は外せない。その中でも同一被験者で 2 回試験を行わなければならないクロスオーバー評価法[12]が最も適しており信頼性も高いと考えた。アンセリンの摂取回数に関しては、被験者の生活の全てをコントロールすることは難しいため試験時にだけ摂取する単回摂取とした。

前節でも挙げたようにスペクトルによる筋疲労評価が一般的に生体工学分野では用いられることが多い。スペクトルの除波化により低周波側へ移行する事は知られており、また運動強度の増加と共にその減少率は大きくなる[28]。その減少率を疲労の指標として用いる事を考えたが、二重盲検クロスオーバー比較において評価を行う場合、その指標は被験者のその時の体調や肉体的及び精神的疲労度合いに大きく影響するものと考えられた。藤村らの研究[29]から運動前と疲労後の運動においてスペクトルの減少率は疲労後の方が大きくなったと報告がある。また、予備実験にて、2 度運動を行った際、1 回目に比べ 2 回目の方がその減少率は高くなった。1 回目の運動により疲労しているため 2 回目の運動では同様の運動であっても運動強度が大きく感じられ、減少率が大きくなったものと思われる。筋疲労により、最大筋力が減少する事から、疲労すると運動強度が相対的に大きくなり、減少率が大きくなると思われる。そこで 1 回の評価試験の中で 2 度運動を行い、その差による疲労指標を用いる事で試験当日の被験者の体調、筋疲労の影響をできる限り少なくできるであろうと考えた。それはたった一度の運動による減衰率で疲労を評価した場合、その減衰率は前日からの疲労の蓄積に大きく影響されると考えられるからである。試験前は運動を控えてもらうように依頼し、当日の 2 回の運動による筋の疲労（減衰率）を比較する。そうする事でプラセボ比較試験毎における疲労の蓄積の影響は、筋力がその間にとてつもなく増強される事がない限り、その影響を可能な限り小さく留められると思われる。その懸念される一回目の試験日（アンセリンかプラセボ）と二回目の試験日（プラセボかアンセリン）の間での筋力、筋持久力の向上であるが、通常は最低 3 週間以上、長期的には 3 か月はかかるとされ、喫緊のトレーニングでは効果は出ないとされる[30]。したがってその期間以内に試験を行えば良いと思われる。また先行研究を参考に[31] 1 週間～3 週間以内の間隔で 2 回の試験を実施する事とした。

運動負荷として一般的に自転車エルゴメーターなどを用いる事が多いが、そ

の場合運動が短縮性収縮となる。運動と休憩が小刻みに繰り返すような運動では FFT を使った解析では観察されにくいとされている[23][25]。従って本研究では運動は静的な等尺性収縮運動とした。被験筋として上腕と大腿筋が考えられたが大腿筋の方が筋電図の振幅が大きいため[32]、外乱ノイズも考慮し大腿筋とした。また大腿四頭筋のなかでも大腿直筋が他の筋よりも疲労が速いことから[28]、主被験筋を大腿直筋とした。大腿筋を使用する簡便な等尺性収縮運動として座位状態での足あげ維持運動を採用した。それには大掛かりな機器も必要なく椅子と足置きさえあればよい。図 3.5.1 のような運動姿勢となる。

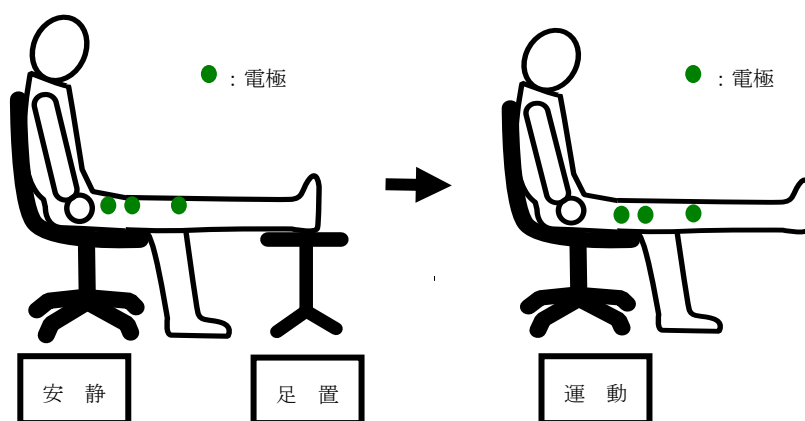


図 3.5.1 運動姿勢

本研究で用いる被験食品であるアンセリンの血中最大濃度が最大になる時間は摂取後 40 分である[33]。そのため運動の 2 回目をその時間に割り当てるのが適当であろうと判断し、試験プロトコルは表 3.5.1 に様に設定した。

表 3.5.1 プロトコル

|     |      |      |      |      |      |
|-----|------|------|------|------|------|
| 0 分 | 20 分 | 5 分  | 15 分 | 3 分  | 5 分  |
| 摂取  | 安静 1 | 運動 1 | 安静 2 | 運動 2 | 安静 3 |

1 回目の運動（運動 1）の時間は 5 分に設定した。予備実験にて運動 2 を 5 分で行った際、被験者から辛いとの申し出があったため、運動 2 は 3 分間とした。運動後 15 分程度でスペクトル指標の値が運動前の値まで回復するとの報告がありその時間を適用した[34]。

等尺性収縮運動だから筋電波形が常に定常であるというという事はないと考えられ、スペクトル解析法として STFT と Wavelet 解析の解析を行った（付録 1）。結果、静的な等尺性収縮運動には STFT の方が有効であったため STFT を採用した。算出したスペクトルの指標として高周波のノイズに強いとされる MDF を使用する事にした[35]。10 秒毎にハニング窓を適用してスペクトルを求

め MDF を算出する。MDF の時系列から一次回帰直線を導き、その傾きをスペクトルの減少率とした。図 3.5.2 に一例を示す。横軸が時間で縦軸が MDF となっている。MDF が大きくなっている所が運動時であり、運動と共に疲労し MDF が低下している事が分かる。また運動の 1 回目と 2 回目を比べた場合、後者の方が低下が大きい。

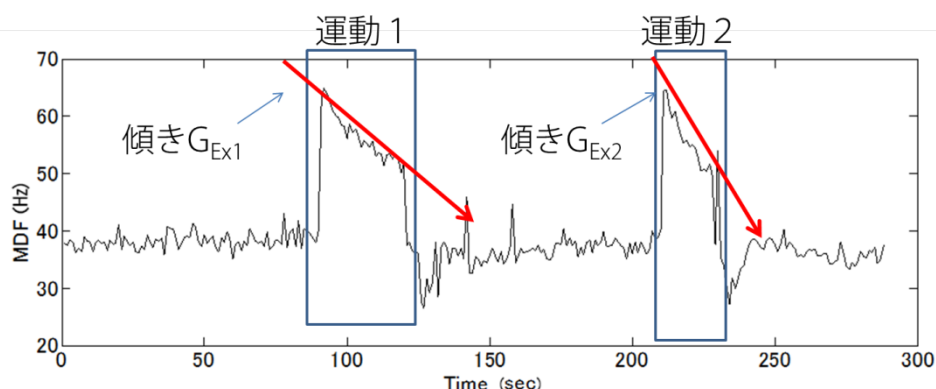


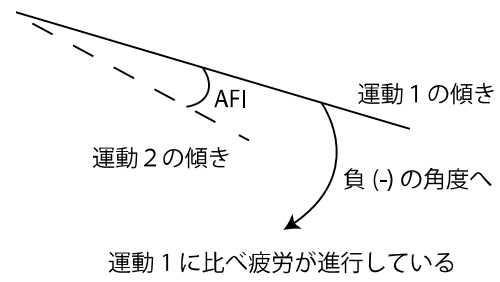
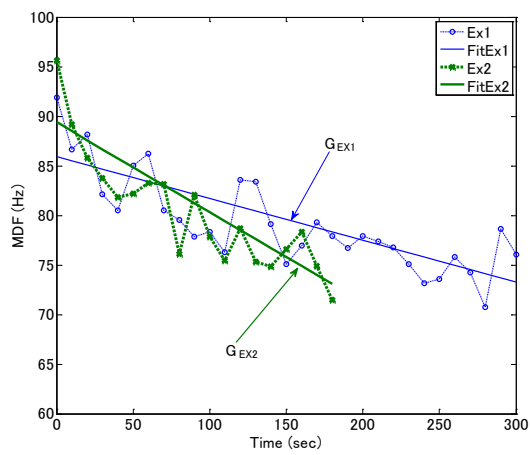
図 3.5.2 MDF の時系列とその傾きの一例

当初は運動 1 の減少率を運動 2 で除算した減少率の比を疲労指標として求めたが、被験者によっては傾きが正になる事があること、運動強度が 40% よりも低い場合は周波数スペクトルの低周波側への移行は見られない場合が多いため [36]、本研究では減少率の比ではなく、二本の回帰直線間の角度を用いる事とし、それを角度疲労指標 AFI (Angle Fatigue Index) と定義した (式 3.5.1)。

$$AFI = \cos^{-1} \frac{(1 \times 1) + (G_{EX1}^2 + G_{EX2}^2)}{\sqrt{1^2 + G_{EX1}^2} \times \sqrt{1^2 + G_{EX2}^2}} \text{ [deg]} \quad (3.5.1)$$

ここで、 $G_{EX1}$  は運動 1 の傾き、 $G_{EX2}$  は運動 2 の傾きを表している。AFI の単位は [deg] である。AFI は運動 1 回目と運動 2 回目の回帰直線間の角度であり、また、運動 2 の (負の) 傾きの方が大きい場合は角度の値に負の符号をつけ、逆の場合には正の値になるようにした。従って、負の角度の絶対値が大きくなるほど疲労が大きいと判断できる。

図 3.5.3 に AFI の算出例を示す。左の図は横軸が時間、縦軸が MDF である。実線の青が運動 1、点線が運動 2 の MDF の時系列で、黒の実線が運動 1 の一次回帰直線、黒の点線が運動 2 の一次回帰直線である。その傾きをそれぞれ算出し、両直線の角度差を AFI とする (右図)。基本的に疲労している為、負の角度へ変化するが、しばしば後述の結果の様に正の方向に変化する場合もある。その場合は筋活動がより活発化していると考えられる。尚、このプロトコルは摂取する物質の血中濃度が最大になる時間が異なる物質の場合は、安静 1 の時間を変化させる事により対応できる。



AFI=負へ大きい → 疲労大  
AFI=正に大きい → 疲労小

図 3.5.3 角度疲労指標 AFI

## 参考文献

- [1] 三浦健人, 新生代のポリフェノール Oligonol(オリゴノール)の機能, 5(3), 163-171, 2008
- [2] 西谷真人. 新規抗疲労成分イミダゾールジペプチド. 日本補完代替医療学会誌, 6(3), 123-129, 2009
- [3] 田中喜秀、脇田慎一、ストレスと疲労のバイオマーカー, 日薬理誌, 137, 185-188, 2011
- [4] 原田 理恵, 田口 靖希, 浦島 浩司, トリ胸肉抽出物(チキンエキス)のマウス遊泳持久力に対する効果, 日本栄養・食糧学会誌, 55, 209-214, 2004
- [5] 只野武、滋養強壮ドリンク剤の抗疲労効果に関する行動薬理学的研究, 日薬理誌 100, 423-431.1992
- [6] 鈴木康弘, 佐藤三佳子, 森松文毅ら. トリ胸肉抽出物(CBEX™)の経口摂取が高強度間欠的運動パフォーマンスに及ぼす影響, 体育学研究, 49, 159-169, 2004
- [7] Tanaka M, Establishment and assessment of a rat model of fatigue. Neurosci Lett, 352, 159-162, 2003
- [8] 佐藤三佳子, 鈴木康弘, 森松文毅ら, トリ胸肉抽出物(CBEX™)長期摂取が骨格筋中カルノシン濃度と短時間高強度運動パフォーマンスに及ぼす影響, 体力科学, 52, 255-264, 2003
- [9] 田中雅彰, 嶋原良仁, 藤井比佐子ら. CBEX-Dr 配合飲料の健常者における抗疲労効果. 薬理と治療, 36, 199-212, 2008
- [10] 清水恵一郎, 福田正博, 山本晴章. イミダゾールジペプチド配合飲料の日常的な作業のなかで疲労を自覚している健常者に対する継続摂取による有用性—第一次エントリー207 名の解析結果報告—. 薬理と治療, 37, 255-263, 2009
- [11] 高橋 義宣, 河原崎 正貴, アンセリン含有サケエキスの疲労低減効果, 55(9), 428-431, 2008
- [12] 日本疲労学会, 抗疲労臨床評価ガイドライン, 第5版作成平成23年7月22日
- [13] 宮下 充正, 加賀谷 淳子, からだの「仕組み」のサイエンス—運動生理学の最前線(体育の科学選書), 杏林書院, 28, 1997
- [14] Malek MH, Coburn JW. The utility of electromyography and mechanomyography for assessing neuromuscular function a noninvasive approach. Physical Medicine and Rehabilitation Clinics of North America, 23(1), 23-32, 2012

- [15] Hanae Yoshida. The estimation of fatigue using chaos analysis. Journal of Biomechanisms , 28(4), 201-212, 2004
- [16] Komi p.V, Tesch.p, EMG frequency spectrum musclestructure and fatigue during dynamic contractions in man. Eur.J.Appl.Physiol, 42, 41-50, 1979
- [17] Kiryu.T, Saitoh.Y, Ishioka.K. A muscle fatigue index based on the relationship between preceding backgroundactivity and myotatic reflex response(MRR). IEEE Trans Biomed Eng, BME , 39(2):105-111, 1992
- [18] Takayuki Sakurai, Shigeru SAKURAZAWA. Study about detection of multiple muscle fatigue and its transition. IEICE Technical report MBE, 110(399), 109-113, 2011
- [19] 村松 慶紀, 小林 宏, NIRS による筋疲労の評価, 日本機械学会論文集, 80(814), 2014
- [20] 吉岡 芳親, 生体での磁気共鳴イメージング(MRI)と磁気共鳴スペクトロスコピー(MRS)の多様性, 生産と技術, 65(2), 39-48, 2013
- [21] Sadoyama T, Miyao H, Frequency analysis of surface EMG to evaluation of muscle fatigue. Eur. J. Appl Physiol, 43(3), 239-246, 1981
- [22] Ishikawa Yoshinori, Yagi Tohru. Study on contraction of muscle activity monitoring system. IEICE Technical report NC, 110(295), 13-17, 2010
- [23] 長嶺慶明, 三輪浩二, 運動時筋電図の周波数分析による筋特性評価の試み, 電子情報通信学会技術研究報告, ME とバイオサイバネティックス, 104(756), 9-12, 2005
- [24] 山田 英司 , ウェーブレット変換を用いた等速性運動中の筋電図周波数解析 : 30 回反復による筋疲労時の周波数特性, 理学療法学 30(7), 391-396, 2003
- [25] 加藤 浩, 藤野 英次郎, 随意収縮強度別(%MVC)による表面筋電図周波数特性, 理学療法学, 25(7), 425-431, 1998
- [26] 吉田 広行, 土井 邦雄, ウェーブレット変換の基礎とコンピュータ支援診断への応用 第 1 部, 日本放射線技術學會雑誌, 52(1), 18-26, 1996
- [27] 東 登志夫, 鶴崎 俊哉, 動的運動時の筋疲労評価における連続ウェーブレット変換の有用性, 日本エム・イー学会誌, 42(4), 230-235, 2004
- [28] 大畑光司, 大腿四頭筋の筋疲労による筋活動比の変化について, 京都大学医学部保健学科紀要健康科学, 2, 15-19, 2005
- [29] 藤村昌彦, 座位作業における座面の傾動が腰背部に及ぼす影響, 広島大学保健学ジャーナル, 1(1), 65-72, 2001

- [30] 八田秀雄, 乳酸を活かしたスポーツトレーニング, 講談社サイエンティフィック, 106-108, 2001
- [31a] 石崎太一, アンケート方式(POMS)による鰹だし摂取の気分・感情に及ぼす影響の調査, 日本食生活学会誌, 16(1), 39-43, 2005
- [32] 赤星和人, 運動単位活動電位の振幅ならびに持続時間に関する基礎的研究, リハビリテーション医学, 33(3), 1996
- [33] 又平芳春:魚肉ペプチドの抗疲労効果, foodstyle21, 5(9), 52-55, 2001
- [34] 蘭 和真, 持続的等尺性収縮期の発揮張力が筋疲労回復期の表面筋電図に及ぼす影響, 東海女子大学紀要, 7, 1987
- [35] 木塚朝博:表面筋電図, 東京電機大学出版 30-31, 2009
- [36] 佐藤寿晃, 森直樹. 随意収縮及び電気刺激による筋疲労後の筋電図的解析. 山形保健医療研究, 9, 11-14, 2006

## 第4章 被験者実験

本章では、前章での評価法に準じ構築した測定システム、またそのシステムを用いた測定法、その計測された結果について述べる。

### 4.1 測定システム

この評価法の目的として、簡便な評価法を目指しているため測定に大がかりで高価な機器は使用しないよう考えた。生体信号を計測する筋電アンプは電池駆動でコンパクトなものを選んだ。A/D 変換器は、持ち運びが可能で外部電源を必要としないものを考え、当初 PCCARD であったが、現在 USB バスパワーのものにした。前章で大腿直近を被験筋に、運動負荷を座位状態で足の水平を維持する等尺性収縮運動に決定した。休憩している際の足の保持は、下におろすなどのアイデアもあったが、運動の度に足を振り上げねばならずそこでも筋疲労が起こり得るため、足の下に台を測定に使用する機材として、高低が調整できる椅子を用いる事にした。表1に使用した機器・機材について示す。

表 4.1.1 使用機器・機材一覧

| 種類     | 使用機器                                          | 型番                                  | メーカー                         | 備考                           |
|--------|-----------------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| 生体アンプ  | 筋電アンプ                                         | EMG-25                              | 原田電子工業                       | 500 倍<br>(54dB)<br>10～1000Hz |
| 電極     | ディスプレイ電極                                      | F-150S                              | 日本光電                         |                              |
| A/D 変換 | A/D 変換機（以前）                                   | PC-CARD-DA<br>S16/16                | MEASUREMENT<br>COMPUTING     | 16ch,16bit<br>Max100kHz      |
|        | A/D 変換機（現在）                                   | NI USB-6210                         | National<br>instruments      | 16ch,16Bit<br>250kS/sec      |
| PC     | ノート PC                                        | Lets note                           | Panasonic                    |                              |
| ソフト    | Measurement<br>Computing 用取<br>り込みソフト<br>（以前） | BIO SIGNAL<br>SYSTEM<br>VERSION1.20 | Norupro light<br>systems Inc | ノート PC で<br>取り込み             |
|        | NI 製 A/D 変換用<br>取り込みソフト<br>（現在）               |                                     |                              | ノート PC で<br>取り込み<br>自作（c #）  |
| 機材     | 椅子 2 脚                                        |                                     |                              |                              |

筋電図が含む周波数は、他の生体信号に比べ非常に範囲が広く 1 Hz～2 kHz 程度と言われている[1]。また、電位も同様に範囲が広く 1  $\mu$ V～10 mV 程度となっている[1]。筋電アンプは、ノイズの少ない物で、電源には乾電池 4 本で駆動する。周波数範囲についてはこのアンプを用い予備実験を行った際 EMG のスペクトルが 30 Hz～250 Hz 程度に集中しておりそれ以上 400 Hz 以上には微小でノイズ的な信号しか確認できなかった。筋電アンプの周波数特性の仕様が 1k となっているが以上の理由からこの機器で十分実験要件を満足している。以前、MEASUREMENT COMPUTING の A/D 変換器と Norupro light systems Inc の計測ソフトを用いていたが、機器を刷新し、新しく National Instrument の A/D 変換器を購入現在はそれで計測を行っている。どちらも同性能の 16 Bit かつ筋電位の周波数を満たしている。他の筋疲労の評価を行っている先行研究において 16 bit, サンプル周波数 1 kHz 程度で実験をおこなっているものが多くそれを参考にした[2]～[5]。

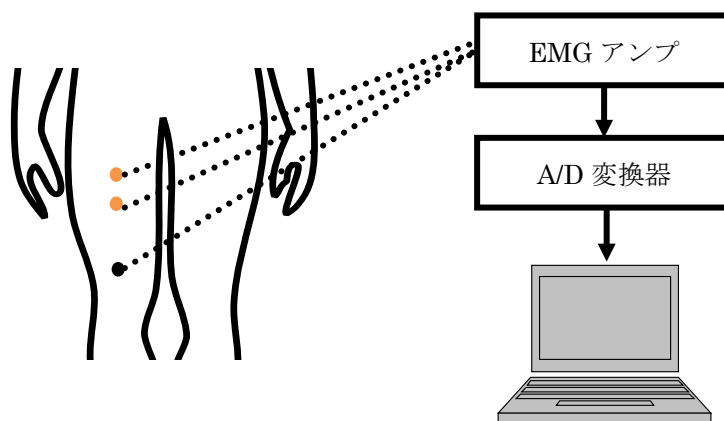


図 4.1.1 測定システム全体

被験筋を大腿直筋としている。股から膝のちょうど中間の地点を中心に両側に 1 cm ずつ離して電極を取り付ける。EMG に接続 A/D 変換にはアースを接続, ノート PC へ接続し測定を行う。サンプリングレートは 1 kHz で計測した。解析はオフラインで MATLAB で行った。

## 4.2 被験者

対象被験者として大腿直近の疲労を行うため、趣味としてマラソン、自転車等の普段から足をトレーニングしているヒトは除外した。また評価プロトコルにおいて運動1と運動2の間が15分空いておりその間で十分回復してしまう懸念もあったため被験者を30歳以上とした。

被験者は健康な男性17名（平均年齢  $35.5 \pm 5$  歳 体重  $75.5 \pm 5$  kg）である。実験の前日は暴飲暴食を避け、また実験当日は朝食を抜く事を指示した。被験者には研究の目的と趣旨、実験方法、参加は自由でありいつでも中止して構わないこと等に関して説明を行い、本人の承諾を得た。被験者に対し本実験は静岡大学倫理委員会の承認の下に行った。

## 4.3 測定方法

抗疲労機能性食品である”アンセリン+水”と”水”の二重盲検クロスオーバー臨床試験とし、表面筋電図を用いて筋肉の活動電位の測定を行い、オフライン解析で筋疲労指標を算出する。実験の最初に、”アンセリン+水”と”水”を摂取してもらう事を被験者に伝えた。アンセリンは単回摂取としアンセリンと水での測定は人体内の残留を鑑みそれぞれ1週間以上開けて測定を行った。アンセリンは焼津水産化学工業から提供して頂いた物を使用した。

被検筋は、大腿直筋を中心とした大腿四頭筋とする。モーションアーティファクトによる基線揺れなどのノイズの低減のため電極を貼付するあたりの皮膚抵抗を低減させなければならない[6]。そのためアルコールを含んだガーゼ等で皮膚表面を強く洗浄し電極を貼付する。電極位置は、図4.3.1の様に股の付け根から膝頭のちょうど中間を中心とし1 cm ずつ離れた位置とする。

アンセリンは200 mL (30℃) の水に11 mg/kg の割合で溶かした。対照となる水も200 mL (30℃) を用意した。被験者及び測定者には摂取する内容が分らないようにした被験食品を溶かした水、もしくはただの水を摂取し直ちに、計測を始める。

実験姿勢は、座位状態測定を行う。足を足置きの上に乗せた状態が安静時とする。運動時にはその足置きを除き、足をそのままの足をできる限り水平を保つ等尺性収縮運動を負荷とした。もし足の水平を維持できなくなったとしても、筋肉に力が入っていれば水平を保てなくても測定継続とした。

プロトコルは、表4.3.1に示すように安静20分、運動5分（運動1）、安静15分、運動3分（運動2）、安静5分の合計48分である。今回用いる被験食品はアンセリンであり、この機能性食品は摂取後40分後に血中濃度が最大になるため[7]、ちょうどその時間に運動の2回目を割り当てている。



図 4.3.1 電極の貼付位置

表 4.3.1 プロトコル

|     |      |      |      |      |      |
|-----|------|------|------|------|------|
| 0 分 | 20 分 | 5 分  | 15 分 | 3 分  | 5 分  |
| 摂取  | 安静 1 | 運動 1 | 安静 2 | 運動 2 | 安静 3 |

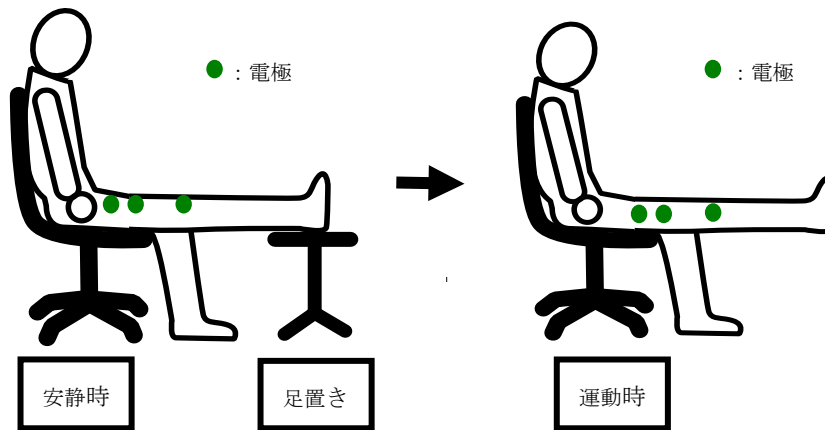


図 4.3.2 足上げ運動



安静時



運動時

図 4.3.3 足上げ運動の様子

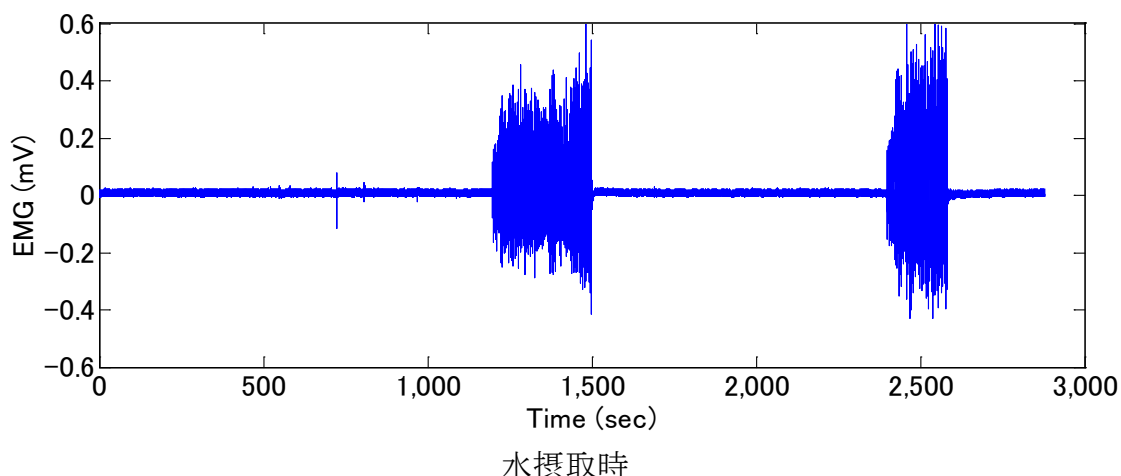
#### 4.4 測定結果

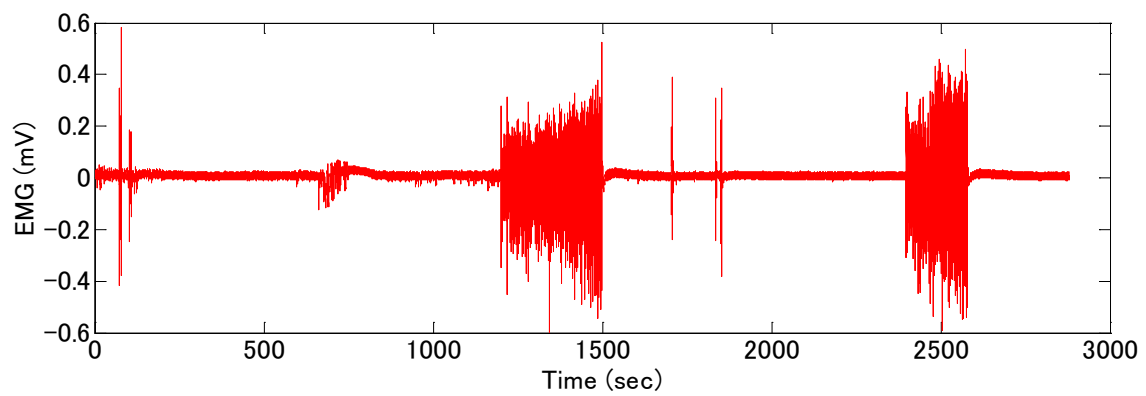
考案した評価法により測定された結果を解析工程も踏まえ以下に述べる。

##### (A) 筋電図

上記測定法に基づいて測定された筋電位の結果の代表的な一例を図 4.4.1～図 4.4.4 に示す。それぞれ横軸が時間 (sec) , 縦軸が EMG (筋電位, 生の A/D 変換値) である。また, 青が水摂取時, 赤がアンセリン摂取時である。プロトコルの合計時間が 48 分であるから 2880 秒となっている。計測開始から 20 分後 (1200 秒後) の運動 1 と 40 分後 (2400 秒) の運動 2 でそれぞれ EMG の振幅が大きくなっていることがわかる。EMG の振幅は, 筋肉の運動単位ごとの活動電位を加算したもので筋出力の増大とともに大きくなる。運動時以外の振幅は被験者が体位変えた時などに生じる筋電位である。図 4.4.1 の被験者 K の結果は, 運動時、次第に筋の動員が増え運動経過にともない振幅が大きくなっていることがわかる。次に, 図 4.4.2 の被験者 M では, 運動 1 ではあまり振幅の変化はなく運動 2 では若干の増大が見られた。被験者 S では, 運動 1 ではあまり振幅の変化はなく運動 2 では振幅の増大が見られた。被験者 T では運動開始時に振幅が最大でありその後減少している。測定結果はだいたいこの 4 タイプに分別される。これは個人の筋肉収縮力や筋の動員順序による違いからくるものかと思われる。

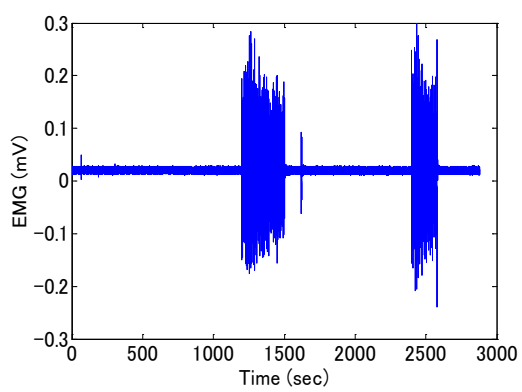
水摂取時とアンセリン摂取時でそれぞれの筋電波形を比較した場合, アンセリン摂取による影響は, 筋電位の波形からはみられなかった。



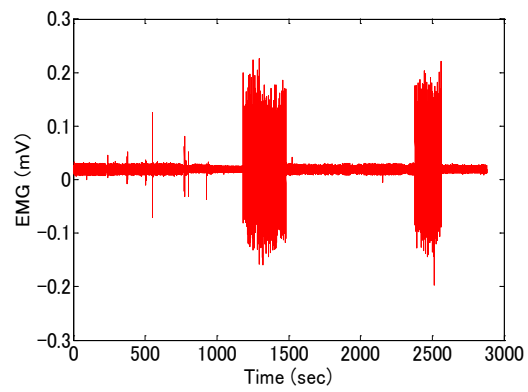


アンセリン摂取時

図 4.4.1 水 (上青) , アンセリン (下赤) 摂取時の生筋電図 (被験者 K)

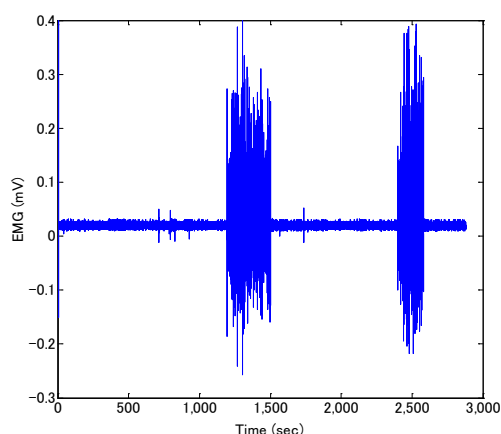


水摂取時

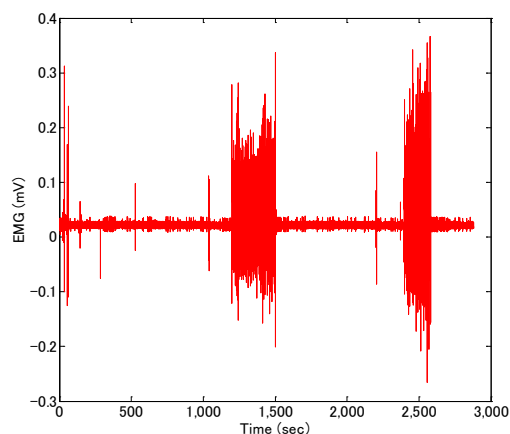


アンセリン摂取時

図 4.4.2 水, アンセリン摂取時の生筋電図 (被験者 M)

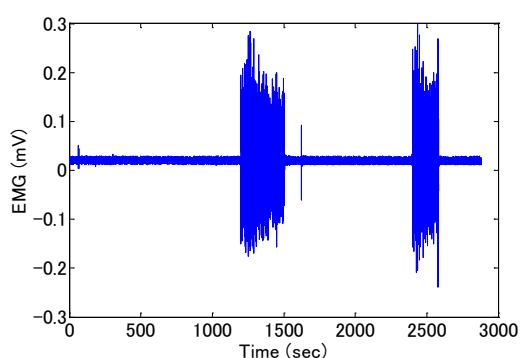


水摂取時

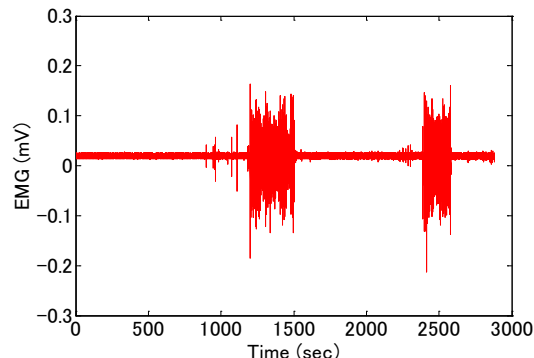


アンセリン摂取時

図 4.4.3 水, アンセリン摂取時の生筋電図 (被験者 S)



水摂取時



アンセリン摂取時

図 4.4.4 水, アンセリン摂取時の生筋電図 (被験者 T)

## (B) STFT の解析結果

それぞれの運動時のデータを 10 s ごとにハニング窓を適用し STFT を行った。解析周波数区間は様々な解析区間で行い結果として良かった 21-214 Hz とした(付録 1 参照)。その結果の一例として 3 名の解析結果を以下に示す。グラフは 10 s ごとのスペクトルの結果を示しており、運動 1 は、5 分間(6 列 5 行)、運動 2 は 3 分(3 行 6 列)となっている。それぞれのグラフは、横軸が周波数 (Hz)、縦軸がパワーである。

図 4.4.5~図 4.4.8 被験者 K の場合、運動時間の経過と共にパワーが大きくなっていく。運動 2 では、運動し始めは運動 1 での最初に比べパワーが高い値から始まっている。また周波数も低周波域から運動時間が経過するごとに若干高周波域にも広がってくる。これは運動による筋疲労による影響により発火頻度の増加と運動単位の動員増加が影響しているものと思われる。アンセリンと水を比べた場合特にこの結果からは違いが見られなかった。

図 4.4.9~図 4.4.12 被験者 M の場合、初期にパワーが大きくなっていき途中でピークを迎え少し減少しそれを維持している傾向が見られた。ウォーミングアップとして発火が増大、その後、足の水平を維持するための運動強度が収縮力と拮抗していると考えられる。周波数スペクトルに関して、特筆するような違いは見られなかった。またアンセリンと水を比べた場合、特にこの結果からは明らかな違いはみられなかった。

図 4.4.13~図 4.4.16 被験者 S の場合では、運動 1 の時は最初パワーが増大し、その後減少したまま運動が終了する。運動 2 の場合、最初から最後まで大きなパワーの変化なかった。この被験者の場合もこの解析結果からは、明確な違いは見られなかった。全被験者のスペクトルからのアンセリンと、水摂取の場合の違いは見られなかった。

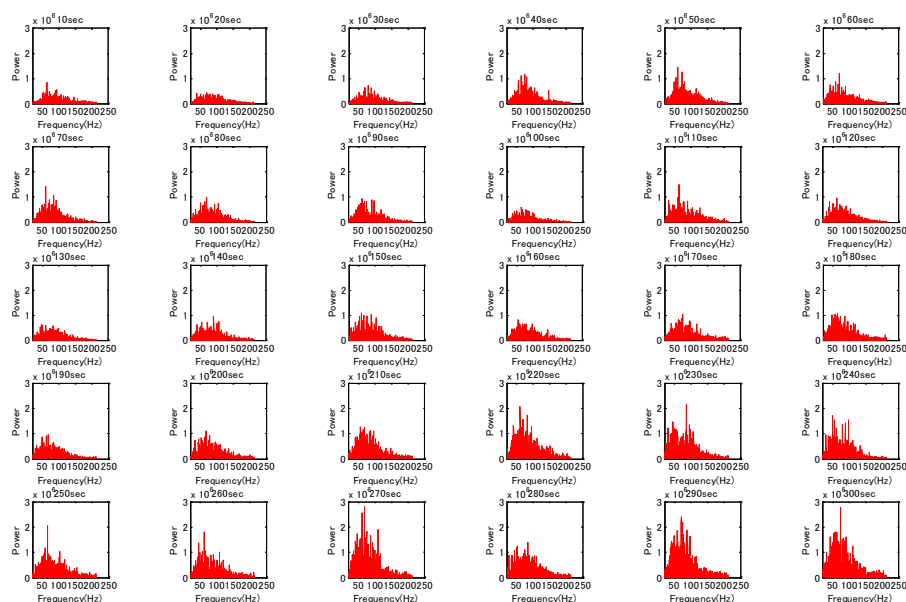


図 4.4.5 アンセリン摂取時運動 1 の解析結果 (被験者 K)

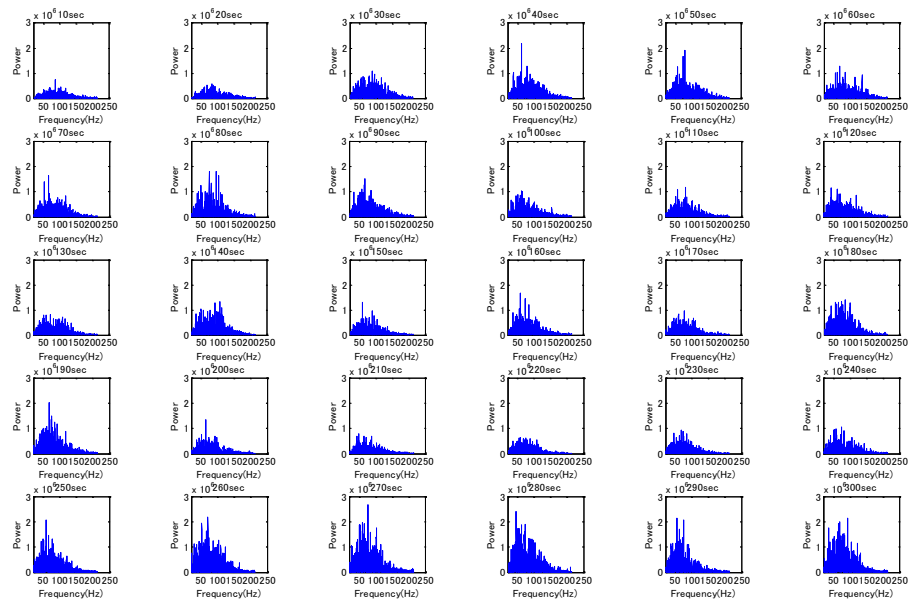


図 4.4.6 水摂取時運動 1 の解析結果 (被験者 K)

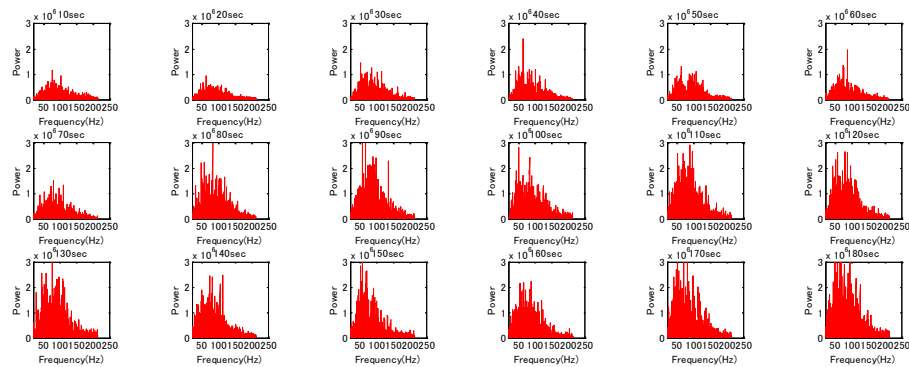


図 4.4.7 アンセリン摂取時運動 2 の解析結果 (被験者 K)

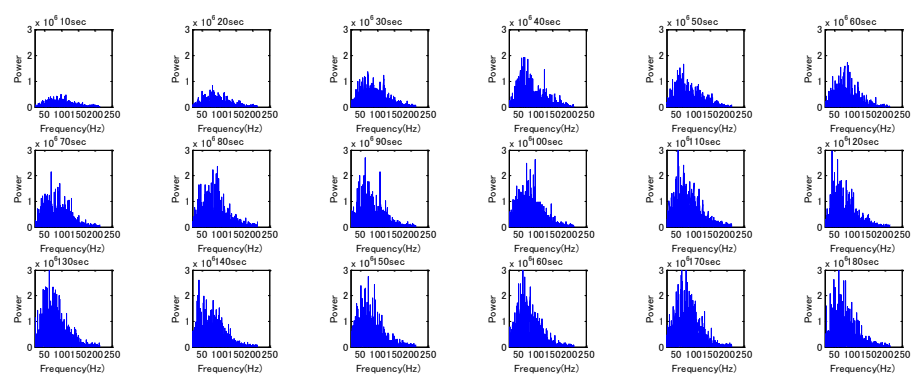


図 4.4.8 水摂取時運動 2 の解析結果 (被験者 K)

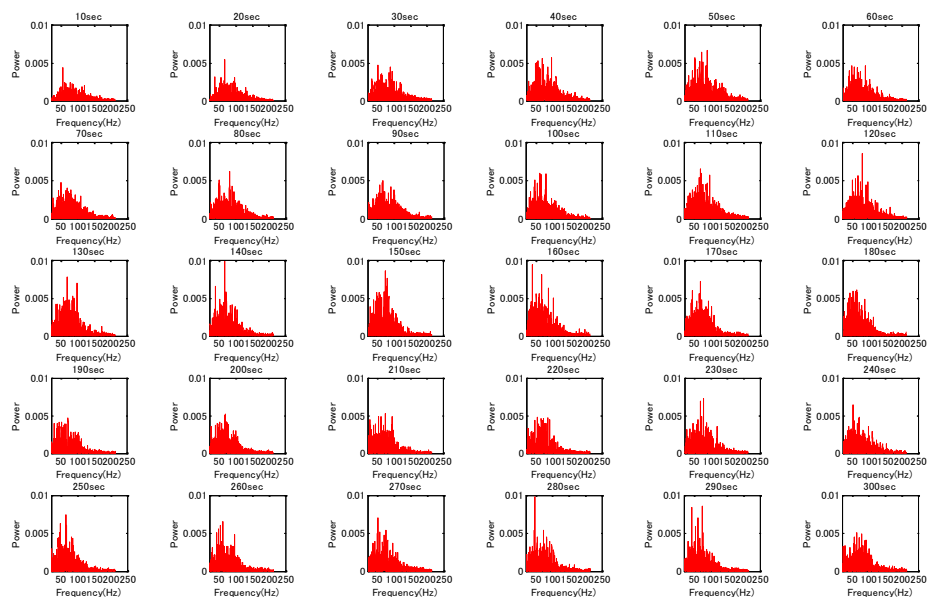


図 4.4.9 アンセリン摂取時運動 1 の解析結果 (被験者 M)

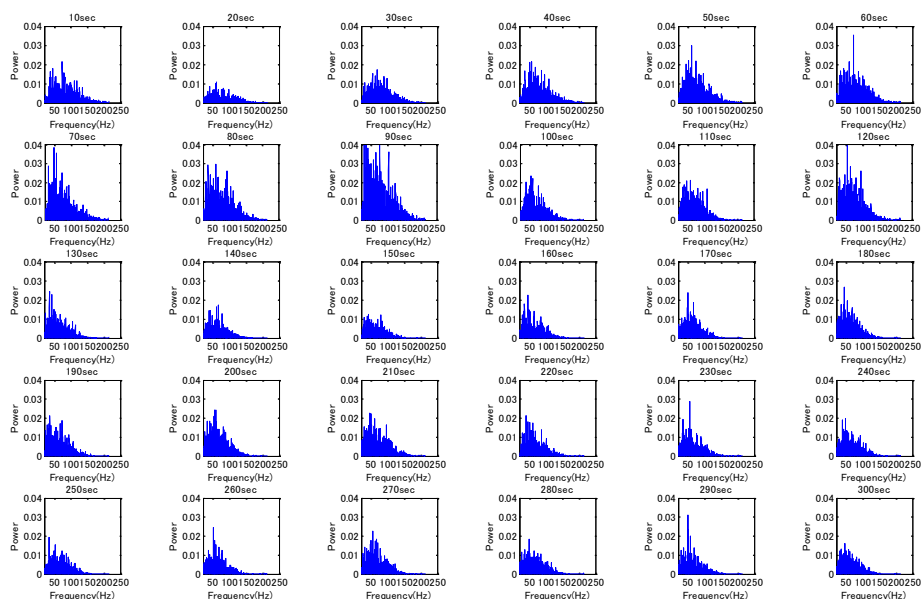


図 4.4.10 水摂取時運動 1 の解析結果 (被験者 M)

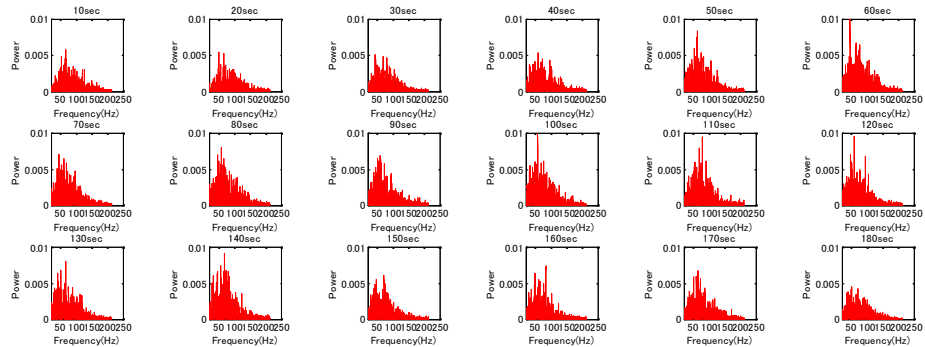


図 4.4.11 アンセリン摂取時運動 2 の解析結果 (被験者 M)

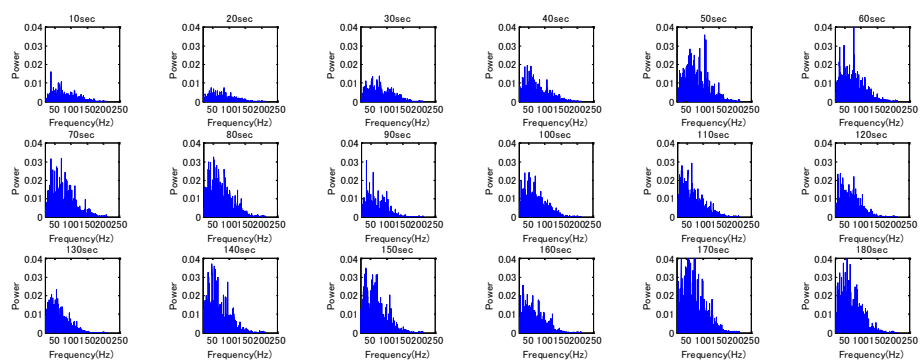


図 4.4.12 水摂取時運動 2 の解析結果 (被験者 M)

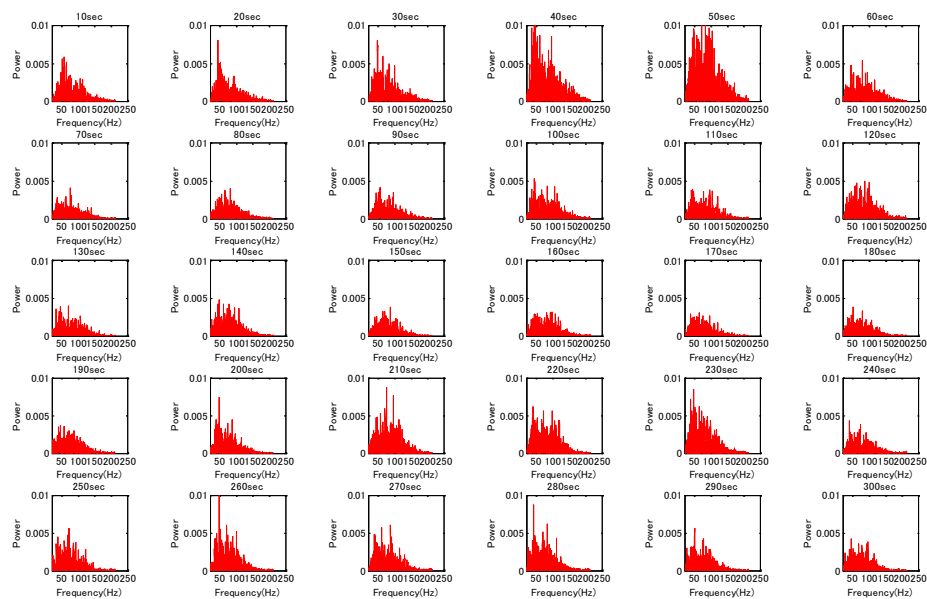


図 4.4.13 アンセリン摂取時運動 1 の解析結果 (被験者 S)

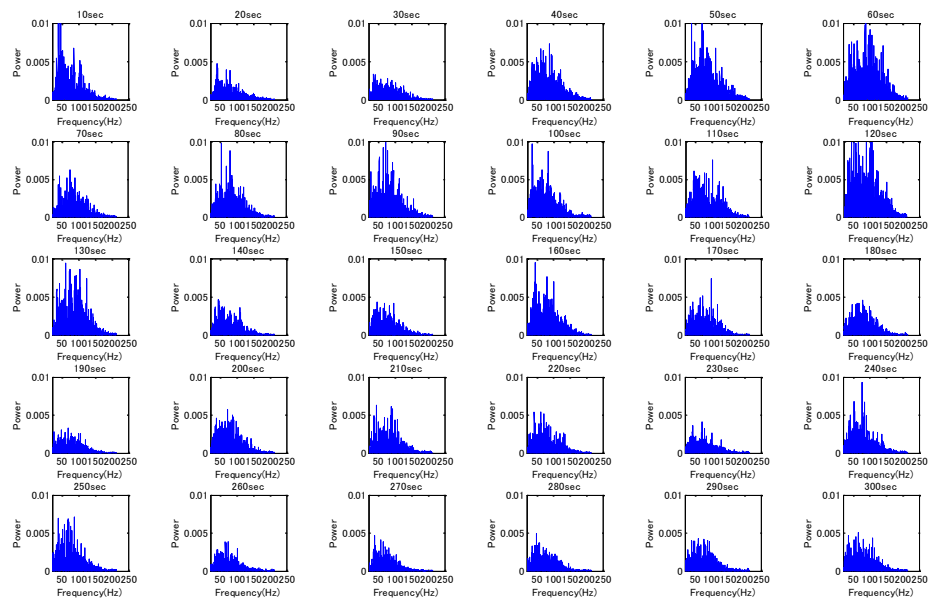


図 4.4.14 水摂取時運動 1 の解析結果 (被験者 S)

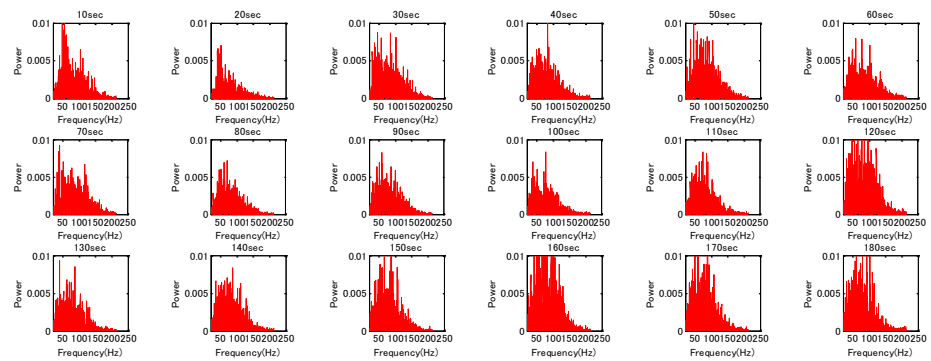


図 4.4.15 アンセリン摂取時運動 2 の解析結果 (被験者 S)

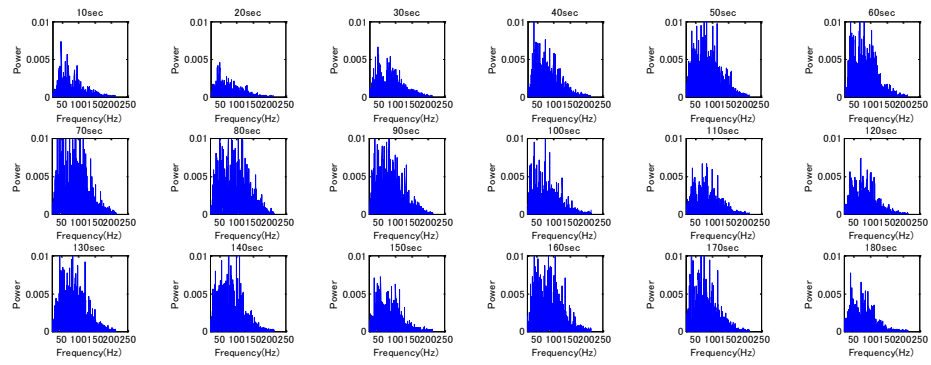


図 4.4.16 水摂取時運動 2 の解析結果 (被験者 S)

### (C) 時系列 MDF とその回帰直線の結果

算出したスペクトルから MDF を算出しさらにそれを一次回帰直線で近似した結果の一例を示す。横軸が時間で縦軸が MDF を表している。赤の点線はアンセリン摂取時の運動 1、青の点線は、水摂取時の運動 1、緑の点線は、それぞれの運動の 2 回目を表している。また実線はそれぞれの一次回帰直線を表している。

図 4.4.17～図 4.4.18 被験者 K の場合、運動 1 の一次回帰直線の結果から徐々に MDF が減少している。さらに疲労後の運動 2 では、傾きが負に大きくなり筋疲労している。それは、アンセリン摂取時、水摂取時でも同様の結果になっている。アンセリン摂取時の方が水摂取時に比べ傾きが小さく、疲労の進行が長い、これはアンセリンの抗疲労効果ではないかと考えられる。

図 4.4.19～図 4.4.20 被験者 S の場合、運動 2 が運動 1 に比べ一次回帰直線の傾きが高くなる結果になった。水摂取時に比べるとアンセリン摂取時の傾きが若干小さい傾向が見られアンセリンの効果ではないかと考えられる。

図 4.4.21～図 4.4.22 被験者 M の場合、運動はすべて一次回帰直線の傾きが負である。水摂取時には K と同様に運動 2 の方が傾きが大きくより疲労している。しかしアンセリン摂取時、運動 2 の傾きが運動 1 の傾きに比べ小さくなっている。アンセリンの抗疲労によるものではないかと思われる。

運動 1 と運動 2 結果として被験者 K のような結果を予想していたが、例に挙げた被験者のような結果もあった。しかし結果として概ねアンセリンと水では、アンセリン摂取時の方が疲労が少ない事を示唆しているのではないかと考えている。

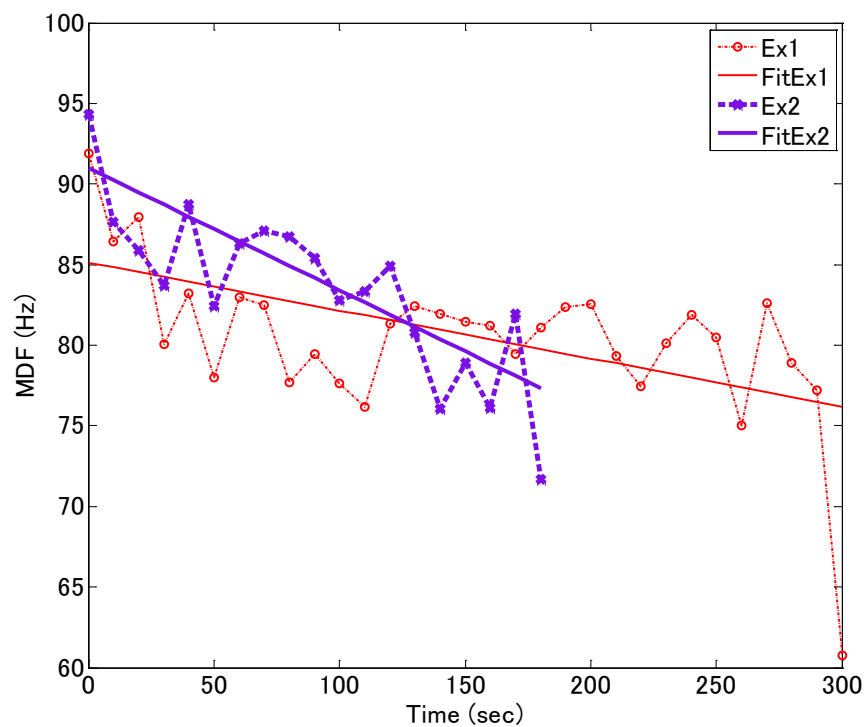


図 4.4.17 アンセリン摂取時運動の解析結果 (被験者 K)

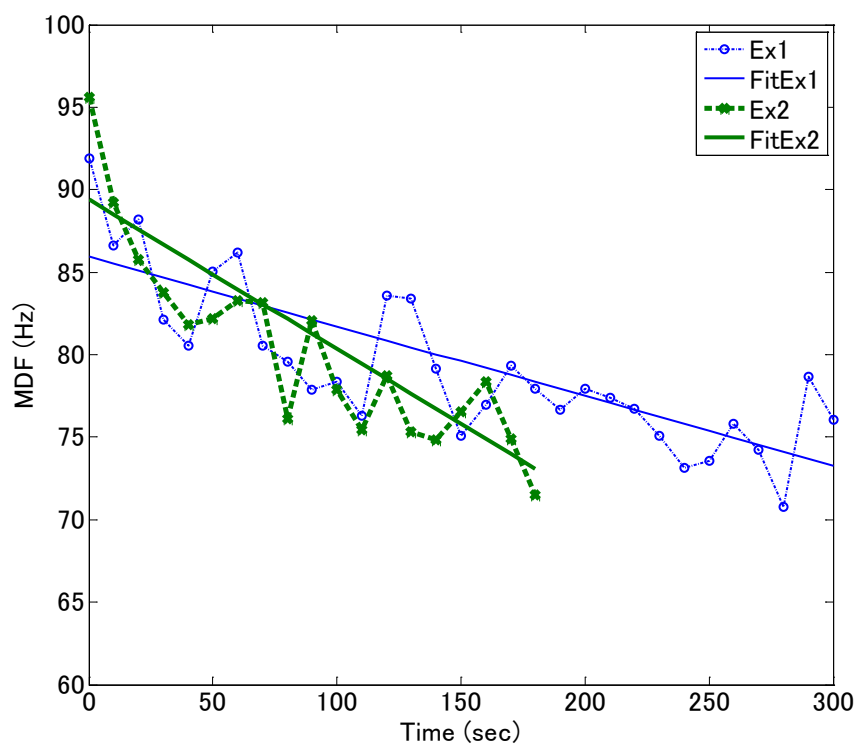


図 4.4.18 水摂取時運動の解析結果 (被験者 K)

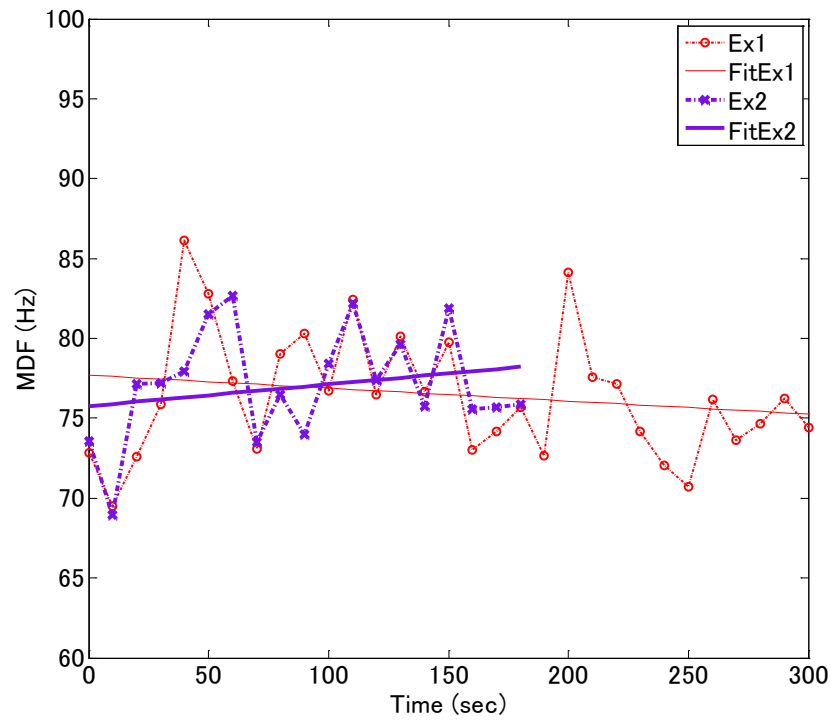


図 4.4.19 アンセリン摂取時運動の解析結果 (被験者 S)

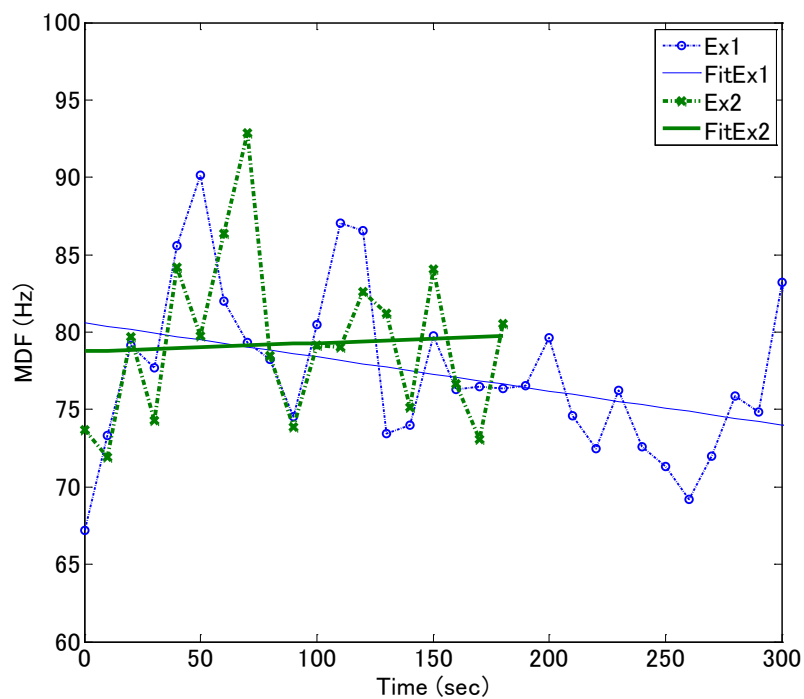


図 4.4.20 水摂取時運動の解析結果 (被験者 S)

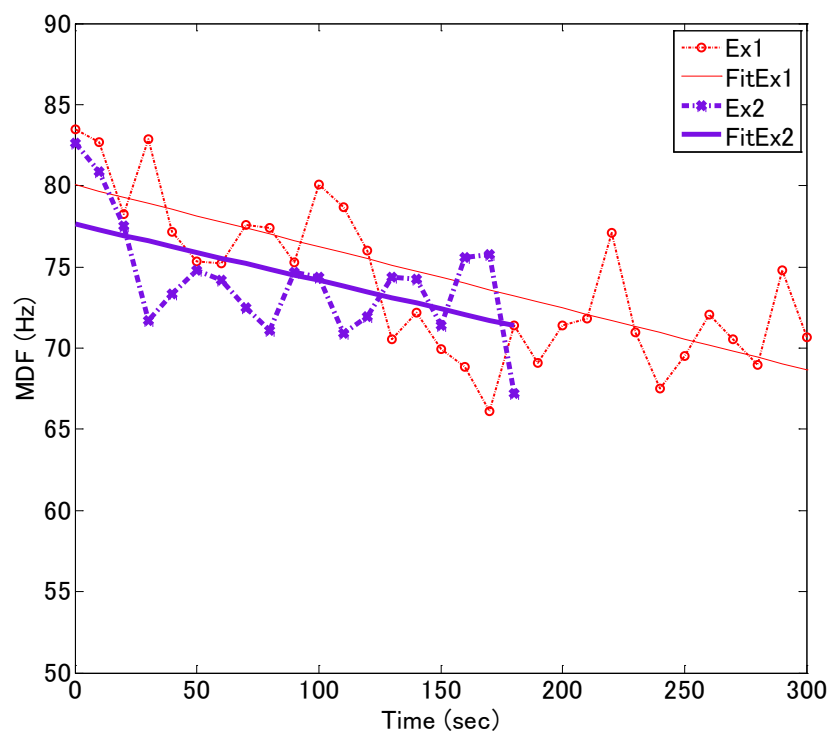


図 4.4.21 アンセリン摂取時運動の解析結果（被験者 M）

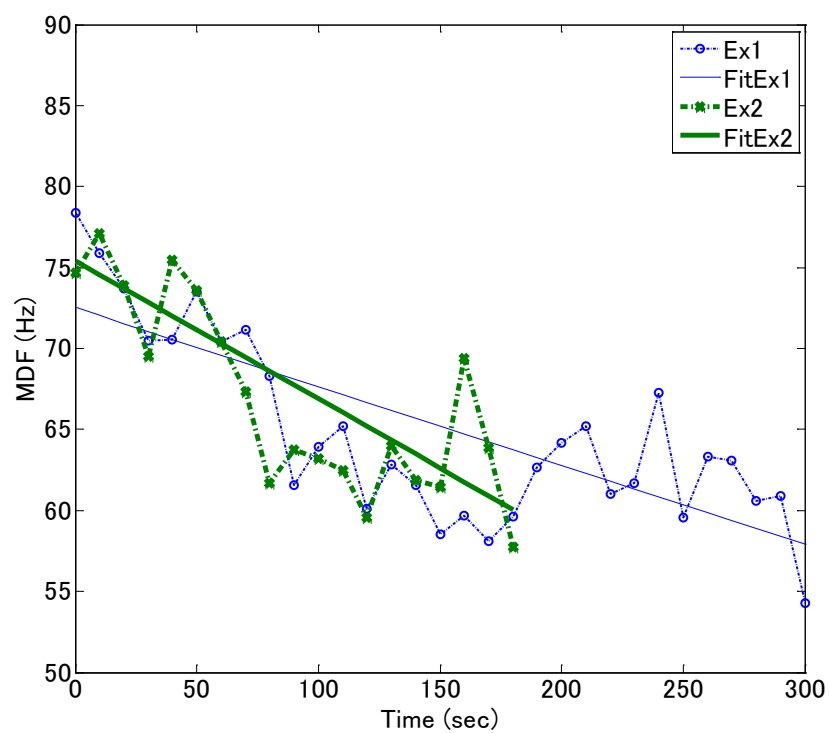


図 4.4.22 水摂取時運動の解析結果（被験者 M）

#### (D) 傾きの結果

被験者 17 名分のアンセリン摂取時と水摂取時の傾きの結果を表 4.4.1 に示す。運動時の MDF の時系列から一次回帰直線で近似、その傾きから AFI を算出している。傾きが負である事は、疲労に伴い MDF が低下していると考えられる。多くの被験者において負の傾きがみられた。また、運動の 1 回目の傾きよりも運動の 2 回目の傾きの方がより負に大きい値となる被験者が多く見られた。これは、運動の 1 回目で疲労し、2 回目ではその疲労を残しているためより MDF の低下が速くなっており、より疲労していると思われる。水摂取に疲労した被験者は、17 名中 16 名。アンセリン摂取時では、17 名中 13 名であった。また 1 回目の傾きよりも 2 回目の傾きの方が少なくなるという、少なくとも疲労していないと考えられる場合もみられた。水摂取時では 1 名、アンセリン摂取時では 4 名みられた。

表 4.4.1 各摂取時の運動ごとの傾き

| 被験者 | アンセリン摂取時      |               | 水摂取時          |               |
|-----|---------------|---------------|---------------|---------------|
|     | 運動1傾き<br>Gex1 | 運動2傾き<br>Gex2 | 運動1傾き<br>Gex1 | 運動2傾き<br>Gex2 |
| H   | -1.29         | -2.18         | -1.44         | -2.47         |
| MS  | -0.41         | -0.55         | -0.26         | -0.40         |
| K   | -0.26         | -0.40         | -0.42         | -0.91         |
| TA  | -0.49         | -0.57         | -0.58         | -0.85         |
| H   | -0.22         | 0.02          | -0.40         | -0.95         |
| MI  | -0.41         | -0.53         | -0.18         | -0.69         |
| MO  | -0.16         | -0.34         | -0.24         | -0.46         |
| M   | -0.38         | -0.35         | -0.49         | -0.85         |
| MA  | -0.59         | -1.29         | -0.47         | -0.97         |
| SH  | -0.31         | -0.37         | -0.18         | -0.38         |
| KA  | -0.22         | -0.41         | -0.30         | -1.21         |
| TAM | -0.35         | -0.39         | -0.49         | -0.75         |
| S   | -0.08         | 0.14          | -0.22         | 0.05          |
| NA  | -0.37         | -0.44         | -0.25         | -0.32         |
| NY  | -0.29         | -0.44         | -0.14         | -0.51         |
| TT  | -0.67         | -0.93         | -0.30         | -0.82         |
| HI  | -0.21         | 0.10          | 0.17          | -0.26         |

### (E) AFI の結果

被験者17名分のアンセリン摂取時と水摂取時のAFIの結果を表4.4.2に示す。AFIが負である意味は、運動の1回目の傾きより2回目の方がより疲労しているとい事である。両摂取時において多くの被験者がAFI負であった。AFIの平均については水摂取時の方が大きい値となった。

表 4.4.2 水摂取時の AFI

| 被験者  | アンセリン摂取時<br>角度疲労指標AFI | 水摂取時<br>角度疲労指標AFI |
|------|-----------------------|-------------------|
| A    | -13.13                | -12.70            |
| B    | -6.60                 | -7.06             |
| C    | -7.06                 | -19.26            |
| D    | -3.58                 | -10.23            |
| E    | 13.24                 | -21.79            |
| F    | -5.71                 | -24.54            |
| G    | -9.98                 | -10.96            |
| H    | 1.59                  | -14.53            |
| I    | -21.87                | -18.73            |
| J    | -3.08                 | -10.57            |
| K    | -9.93                 | -33.99            |
| L    | -2.26                 | -10.93            |
| M    | 12.37                 | 15.50             |
| N    | -3.05                 | -3.53             |
| O    | -7.31                 | -19.01            |
| P    | -9.02                 | -22.53            |
| Q    | 17.72                 | -24.11            |
| 平均   | -3.39                 | -14.64            |
| 標準偏差 | 9.99                  | 10.87             |
| 標準誤差 | 2.42                  | 2.64              |

(F) 両摂取時 AFI の差

アンセリンと水を AFI の値で比べた場合の結果を表 4.4.3 に示す。アンセリン摂取時の AFI の値から水摂取時の AFI の値を引いた結果である。負の値は赤字で示している。この差が正であればアンセリン摂取時の方が少なくとも疲労していないと考えられる。17 名の被験者のうち 3 名を除いて 14 名の被験者が正であった。アンセリン摂取時の方が水摂取時に比べて AFI 値が小さい人が多く、結果アンセリン摂取時の方が運動 1 と運動 2 での疲労による変化量が小さい結果となった。

表 4.4.3 アンセリンと水の AFI の差

|       | アンセリンと水のAFIの差 |
|-------|---------------|
| H     | -4.30E-01     |
| MS    | 4.55E-01      |
| K     | 1.22E+01      |
| TA    | 6.66E+00      |
| H     | 3.50E+01      |
| MI    | 1.88E+01      |
| MO    | 9.80E-01      |
| M     | 1.61E+01      |
| MA    | -3.14E+00     |
| SH    | 7.49E+00      |
| KA    | 2.41E+01      |
| TAM   | 8.66E+00      |
| S     | -3.13E+00     |
| NA    | 4.83E-01      |
| NY    | 1.17E+01      |
| TT    | 1.35E+01      |
| HI    | 4.18E+01      |
| 正の人の数 | 14            |
| 負の人の数 | 3             |

# (G) AFI による抗疲労効果

17 名分のアンセリンと水の AFI のグラフを図 4.4.23 示す。アンセリンと、水の AFI を比べた場合アンセリンの方が水摂取時に比べ高く疲労が少ないことが分かった。また、アンセリンと水の AFI の値で paired-t 検定片側検定で行った。p<0.01 で差が有意となった。

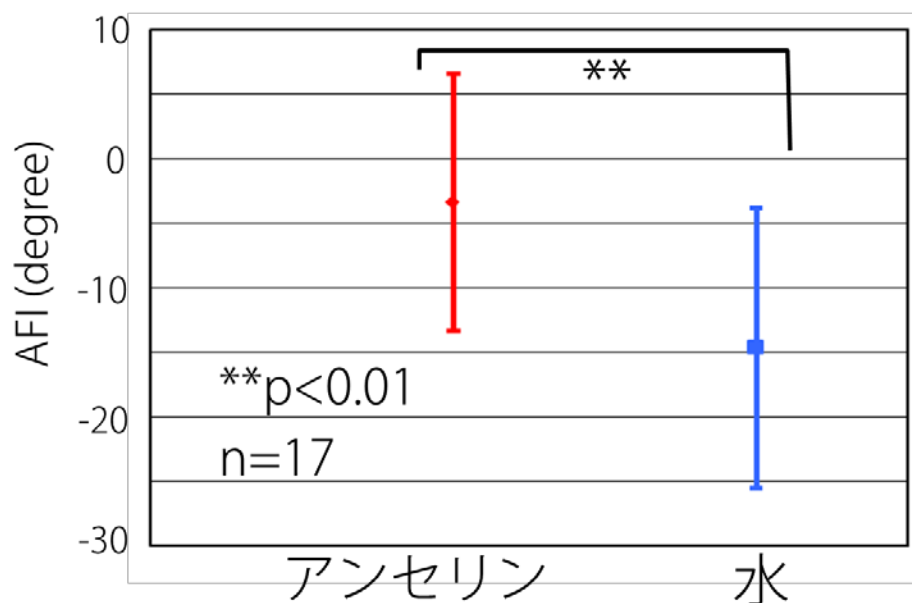


図 4.4.23 アンセリンと水の AFI の比較

表 4.4.4 検定結果

| t-検定：一対の標本による平均の検定ツール |              |              |
|-----------------------|--------------|--------------|
|                       | 変数 1         | 変数 2         |
| 平均                    | -14.64429504 | -3.391680802 |
| 分散                    | 118.0708964  | 99.70192733  |
| 観測数                   | 17           | 17           |
| ピアソン相関                | 0.231030482  |              |
| 仮説平均との差異              | 0.01         |              |
| 自由度                   | 16           |              |
| t                     | -3.5865335   |              |
| P(T<=t) 片側            | 0.001234225  |              |
| t 境界値 片側              | 1.745883669  |              |
| P(T<=t) 両側            | 0.00246845   |              |
| t 境界値 両側              | 2.119905285  |              |

#### (H) 解析周波数変化させた場合の結果

解析周波数の上限を変えながら 17 人分の AFI の平均を算出しアンセリンと水摂取での比較を行った。結果を図 4.4.23 に示す。解析周波数は式 4.4.1 の様に下限 10 Hz から上限を 30 Hz から 250 Hz まで 10 Hz ずつ変化させ、MDF を 17 名分算出し平均した。30 Hz から 60 Hz まではアンセリン摂取時と水摂取時は、ほぼ同じ値を示したが、それ以降値の差が大きくなる傾向がみられた。110 Hz において  $p<0.05$  で有意に差があった。110 Hz 以降は  $p<0.01$  で有意に差があった。これはアンセリンが筋肉の発火を促しているため差が現れていると考えられる。また、永田らの研究[8]から速筋にアンセリンは影響するのではないと思われる。

$$\int_{10}^{MDF} P(f)df = \int_{MDF}^x P(f)df \quad (3) \quad x = 30 \sim 250 \quad (4.4.1)$$

$$\text{平均AFI} = \frac{1}{17} \sum_{n=1}^{17} AFI(n) \quad (4.4.2)$$

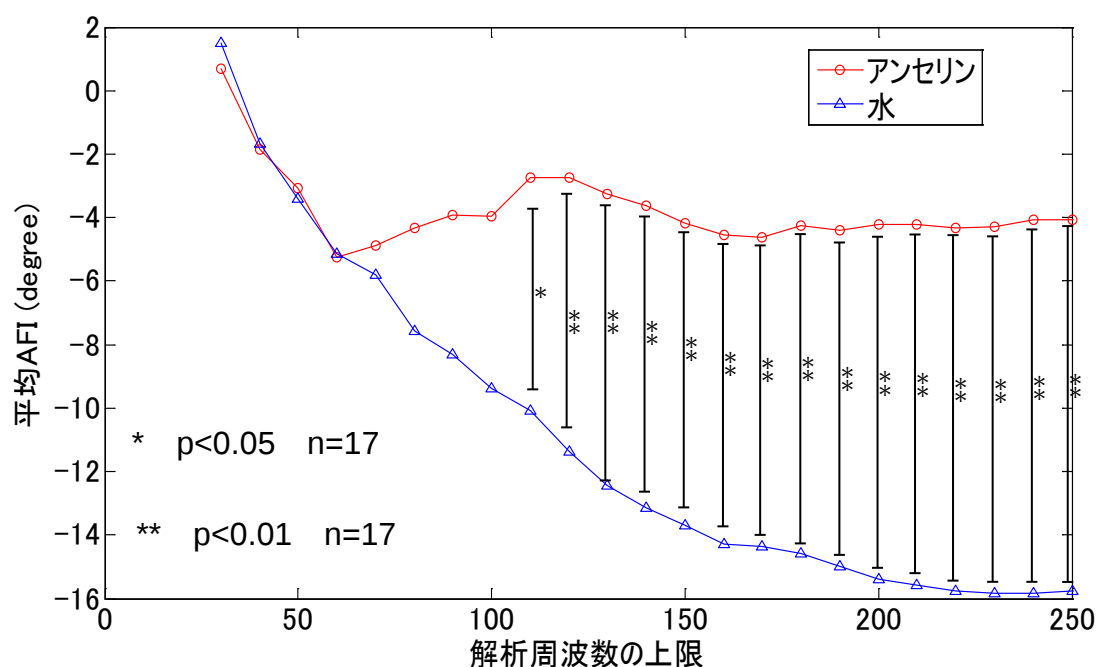


図 4.4.24 解析周波数範囲を変化させた場合のアンセリンと水の AFI

表 4.4.5 検定結果

#### 参考文献

- [1] 牧川方昭, 吉田正樹:ヒト心身状態の計測技術-人にやさしい製品開発のための日常計測”, コロナ社, 86, 2010
- [2] 大畑光司, 市橋則明:大腿四頭筋の筋疲労による筋活動比の変化について, 京都大学医学部保健学科紀要 保健科学, 3, 15-19,2005.
- [3] 阿久津俊彦, 木竜徹:表面筋電図と膝関節角度からみたスキー運動時の筋疲労がパフォーマンスに与える影響の評価, 計測自動制御学会論文集, 44(11), 905-910, 2008
- [4] 佐藤 寿晃, 森 直樹:随意収縮および電気刺激による筋疲労後の筋電図学的解析, 山形保健医療研究, 9, 11-17, 2006
- [5] 佐藤 拓, 岩下 篤司:自転車エルゴメータ運動時における筋電図周波数解析による筋活動の評価, 電子情報通信学会技術研究報告, MBE, ME とバイオサイバネティクス, 110(226), 7-11, 2010
- [6] 木塚朝博:表面筋電図, 東京電機大学出版 30-31, 2009
- [7] 又平芳春:魚肉ペプチドの抗疲労効果, foodstyle21, 5(9),52-55,2001
- [8] 永田晟, 筋と筋力の科学, 不味堂出版, 79-86, 1984

## 第5章 考察

近年、機能性食品についても医薬品とは違って手軽に入手できるため、健康ブーム、高齢化社会における自助努力の傾向、及び医療費の上昇を抑えようとする政府の”未病対策”の方針もあってそのシェアを大きく伸ばしている。また、経済低迷の中のストレス社会の到来で、抗疲労の分野は今まで以上に注目されている。抗疲労効果を有する物質として世間に認知されつつあるイミダゾールペプチドにはカルノシン、アンセリン、バレニンがある事が昔から知られており、古くから研究が行われてきたがアンセリンなどが注目を集め始めたのは最近のことである。機能性食品の抗疲労効果の評価は、有毒性などの調査のため最初は遺伝子、体重、月齢などを調整されたラットを用いる。その後、被験体は、ヒトに変わって引き続き試験を行っていく事になる。ラットの被験体としての長所は、人工的にその個体が持つ条件をそろえやすい。遺伝情報、身体的個体差、生活リズム、食事などを制限・統一が可能なのである。また、直接その臓器などの調査を行う事も容易でそこから得られたデータは信頼性が高い。ヒトの場合、ラットのように条件をそろえる事は非常に難しく、また直接の臓器調査などはできない。しかし、ラットで有効だからといってヒトに同様の効果があるという確証はない。ヒトでの臨床実験は必須であるが、被験者に対して身体的負担、ストレスを与える事になるような方法であればそれ自体がその物質の生理活性効果へ影響してしまいかねない。ヒトにストレスのかからない評価法として、アンケートのような心理的・主観的評価が行われるが、あくまでもヒトの心理状態に基づく回答であるため生理的な評価に比べる乏しいと考えられる。一方で実際の検証試験時においては、個人差をできるだけ少なく且つその当日の体調などもできるだけ除去できる方法が望まれる。本研究では、ヒトにおける検証実験の難しさを踏まえて、評価の信頼性をできる限り高くする方法を考案した。

動物実験やヒトでもこうした生理活性の調査にはプラセボ対照比較試験が行われている。ヒトではこれに加えクロスオーバー比較法も多く使われており本研究ではこれらを採用する事とした。

抗疲労効果の評価は、生化学的な評価と生理学的方法がある。生化学的な方法は血液検査が主に行われているが侵襲的であり、被験者のストレスも大きい。生理学的方法には詳細にみれば、全力ペダリングにおける平均パワーの比較や自転車エルゴメーター漕ぎ回数、片足立ち保持時間、腹筋など運動の継続時間など数種類あるが、抗疲労効果を分かり易く証明するには運動継続時間の評価であろう。しかしながら運動継続時間は被験者の当日の体調や精神的な状態に影響されること、また困憊状態まで行うことが多いため運動後の疲労が大きく、被験者の負担が大きい。期間を空け同様の実験を二回(アンセリン、偽

薬)行うことも大きな負担となる。そこで体育、理学療法、生体工学などでよく用いられる筋電位からの評価を考えた。ヒトは、意識的に力の緩急はつけることはできても、筋の発火までは意識的に制御する事はできない。

筋電位から筋疲労を測定する方法は昔から研究され様々な解析法があるが、一番報告が多く疲労の評価に使用されている STFT を用いる事にした。筋電位のスペクトルは、疲労に伴って除波化して低周波域に移行する事が知られている。その除波化は、運動の種類によって異なり短縮性収縮運動ではそれは観察され難く、静的な運動である等尺性収縮運動では観察されやすい[1]。そのため本研究では足上げ維持運動を採用した。本方法は必要な機材として、筋電図測定装置と椅子及び足置きえあればよく大がかりな機材を必要としないため場所を選定する必要がなく実施する事ができる。

除波化によるスペクトルの移行の指標として MDF・MPF があるが MDF の方が高周波に影響が少ないとされ、MDF と MPF で解析を行った(付録2を参照)。結果、MDF の方が若干良い結果となったが、実質筋電のもつ周波数特性では大きな違いはないと思われ MDF を採用する事とした。MDF 時系列データの一次回帰直線の傾きが多きいほど疲労が大ききことになることを利用して、被験者が一回の測定で行う二回の足あげ運動時から算出される二つの回帰直線の傾きの差を角度に直した、角度疲労指標(AFI)を提案した。同一被験者が二日間に分けて行って得られる二つの AFI を比較し、より小さな AFI を記録した方を疲労が少ないと判断できる。試験の期間は長くかかることになるが、結果的に個人差や個人内変動の影響を少なくでき、本研究の結果は信頼性が高いと考えられる。当初は回帰直線の比用いたが、4 章の結果にあるように被験者によっては、MDF が減少しない場合もみられた。減少しない理由として考えられる事は、大腿直筋は大腿四頭筋のなかでも疲労しやすい。疲労により MDF は低下するが、さらに進むと筋力維持のための補完として内側広筋、外側広筋、中間広筋が活動し、全体の筋活動として活発になり、MDF の値が増加するのではないかとと思われる。また、被験者 K では運動 1 回目の MDF の値が、1 週間以上空けたにもかかわらずほぼ同じ値を示しているが、他の多くの被験者では大きく異なっている事がみられ、1 回だけの運動で疲労を評価する事は難しい事が分かる。

試験プロトコルであるが、アンセリンの血中濃度は摂取後 40 分で最大となるため、その時間を 2 回目の運動に割り当てた。また MPF の値は 15 分程度で運動前の値に戻る事から[2]、本研究でも 1 回目と 2 回目の運動の間はその程度の時間を空けることにしたが、もう少し短い間隔の方が AFI の差がより明確になったかも知れない。

本研究で、解析周波数を変化させた場合、50 Hz 付近からアンセリン摂取における影響が AFI に現れた。筋肉は、遅筋繊維(TYPE I)と速筋繊維 (TYPE II)

に分別される。これらはこの事は永田の研究[3]から、速筋は高周波領域に影響し、遅筋は低周波領域に影響すると述べている。したがってアンセリンは速筋に対してより有効な効果を示す事が推測される。

また、被験者 17 名におけるアンセリンと水の AFI を二重盲検法によって評価した。その結果、アンセリンの方が AFI 大きく、水との差は有意であった ( $p<0.01$ )。

このことから、アンセリンには抗疲労効果があることが証明されたと考えている。ヒトにおけるアンセリンの抗疲労効果は生化学的には既に証明されているが[4]~[6]、表面筋電図という非侵襲的、電氣的、且つ直接的な方法での証明は本研究が初めてである。また、本方法 (AFI) の考え方は、他の機能性食品の評価にも応用できると考えている。

## 第6章 結論

本研究では機能性食品アンセリンのヒトにおける抗疲労効果を評価することを目的として実験を行った。従来は生化学的な評価が主であったが、侵襲的でありまた被験者には大きなストレスがかかる評価法であった。本研究では非侵襲、且つ直接的に被験者を測定し、簡便で大掛かりな装置も必要とせず、個人差、個人内変動の影響も少なくできる信頼性のある方法を考案し、それによりヒトにおけるアンセリンの抗疲労効果を証明した。

その結果をまとめると以下ようになる。

- (1) 1 回の実験で 2 回の負荷をかけることにより個人差や個人内変動の影響をできる限り低減することができた。
- (2) 角度疲労指標 (angle fatigue index, AFI) を考案した。
- (3) 筋電位から簡便な筋疲労推定プロトコルを考えた。
- (4) アンセリンはヒトにおいて抗疲労効果を持つことが筋電図を用いたクロスオーバー試験において証明できた。

### 新しく分かった事

- (1) アンセリンは遅筋よりも速筋に対してより強い抗疲労効果を持つことを示した。
- (2) 筋肉の速筋、遅筋の成分比を推察できる可能性がある。

### 今後の課題

- (1) 本評価法は抗疲労効果の有無については調べることができるが、どのぐらい生理活性があるかという事は分らない。AFI の持つ値は、疲労に関する絶対的な指標であるかどうかは現時点では分らないためである。今後、AFI の持つ値の検証を行い。疲労度合との関係を調べていきたい。

- (2) アンセリンは速筋に対してより有効な効果を示す事が推測されるが、今後速筋優位の前脛骨筋や遅筋優位のヒラメ筋[7]の比較計測を行い、筋肉の種類による周波数の影響について調査を行う事でアンセリンの効果範囲を知ることが出来る。またアンセリンは、速筋にしか効果を示さないとすれば、ヒトの筋肉の速筋、遅筋の構成は、ヒラメ筋(遅筋優位)、前脛骨筋(速筋)を除いて個人差が大きく、その構成を調べる手法の一つになるのではないかと考えている。

#### 参考文献

- [1] 長嶺慶明, 運動時筋電図の周波数分析による筋特性評価の試み. 電子情報通信学会技術研究報告, ME とバイオサイバネティックス, 104(756), 9-12, 2005
- [2] 原田理恵, 田口靖希, 浦島浩司ら. トリ胸肉抽出物 (チキンエキス) のマウス遊泳持久力に対する効果, 日本栄養・食糧学会誌, 55(2), 73-78, 2002
- [3] 永田晟, 筋と筋力の科学, 不味堂出版, 79-86, 1984
- [4] Kikuchi K, Matahira Y, Okada M. Contious Ingestion of the Health Food Containing an Anserine, "Marine Active" Reduces the Tiredness which Test Subjects Feel. J.New Rem. & Clin, 51(6), 525-530, 2002
- [5] 西谷真人. 新規抗疲労成分イミダゾールジペプチド. 日本補完代替医療学会誌, 6(3), 123-129, 2009
- [6] 蘭 和真, 持続的等尺性収縮期の発揮張力が筋疲労回復期の表面筋電図に及ぼす影響, 東海女子大学紀要, 7, 1987
- [7] 永田晟, 筋と筋力の科学, 不味堂出版, 56-57, 1984

## 謝辞

本研究は、筆者が静岡大学創造科学技術大学院在学中に、静岡大学電子工学研究所生体医療計測分野の杉浦敏文教授を指導教官とし、修士課程から学会発表、論文指導、博士のリテラシーに至るまで終始適切なる御指導と御鞭撻を賜りました杉浦敏文教授には深く感謝すると共に心より御礼申し上げます。

本論文を纏めるにあたり、静岡大学工学部・大学院工学研究科教授 中井孝芳先生につきましては、本論文の審査における審査委員長として、静岡大学工学部・大学院工学研究科教授 竹前忠先生、静岡大学工学部・大学院工学研究科准教授 庭山雅嗣先生、静岡大学工学部・大学院工学研究科講師 沖田善光先生につきましては、本論文の審査における審査委員として、貴重な御意見、御指導と御助言を頂きました。深く御礼申し上げます。

アンセリンを提供して下さった焼津水産工業株式会社久保村大樹様なしには取得はありませんでした。心より感謝申し上げます。

被験者として協力してくれた平田寿技術職員、高橋勲技術職員、及び焼津水産工業株式会社の方々、職業能力開発総合大学校の方々に心より感謝いたします。

最後に、大学院に行ってはどうかと勧めて下さった川内職業能力開発大学校長 鎌田修様、それに伴う様々なご配慮をいただいた、職業能力開発総合大学校教授 菅野恒雄先生、職業能力開発総合大学校教授 小野寺理文先生、職業能力開発総合大学校教授 不破輝彦先生、職業能力開発総合大学校准教授玉井瑞又先生、職業能力開発総合大学校准教授 田村仁志先生には、大変ご迷惑をおかけした事をお詫びするとともに、心より感謝を申し上げます。

最後に研究室において日頃からお世話になりました大学院工学研究科講師 沖田善光先生、平田寿技術職員、高橋勲技術職員、水谷陽子学術研究員、及び大学院生・学生に深く感謝お礼申し上げます。

## 本研究に関する論文及び学会発表

### 論文

- [1] Kishi H, Kubomura D, Sugiura T, Verification of anti-fatigue effect of anserine by angle fatigue indicator based on median frequency changes of electromyograms, *Functional Foods in Health and Disease*, 3(10), 389-399, 2013
- [2] 貴志浩久, 不破輝彦, 久保村大樹, 杉浦敏文, 機能性食品の筋疲労効果を評価する新手法の提案, *日本補完代替医療学会誌*, 11(2), 75-80, 2014

### 国際会議

- [1] Kishi H, Kubomura D, Sugiura T, Effect of Oceanic Anserine on Muscle Fatigue- Median Power Frequency Analysis -, 13th International Conference of FFC - First International Symposium of ASFFBC, 291-294, 2013.5

### 国内発表

- [1] 貴志浩久, 久保村大樹, 杉浦敏文, 筋電図中心周波数で検証する機能性食品アンセリンの抗疲労効果, *ME とバイオサイバネティックス研究会*, 2013.7
- [2] 貴志浩久, 久保村大樹, 杉浦敏文, 筋電図による海洋性アンセリンの抗疲労効果の検証, *電気関係学会 東海支部連合大会*, 2013.9
- [3] 貴志浩久, 久保村大樹, 杉浦敏文, 機能性食品アンセリンの有効な抗疲労効果測定の検討, *日本生体医工学会東海支部学術集会*, 2013.10
- [4] Kishi H, Kubomura D, Sugiura T, A Relationship between Oceanic Anserine and Muscle Fatigue, *The 15th Takayanagi Kenjiro Memorial Symposium*, 2013.11
- [5] 貴志浩久, 久保村大樹, 杉浦敏文, 不破輝彦, 機能性食品における抗筋疲労効果の評価手法の提案, *第 53 回日本生体医工学会大会*, 2014.6

## 付録

### 付録 1 スペクトル評価法 Wavelet と STFT

付録 1 では、本研究で考案したプロトコルと AFI を用いて Wavelet と STFT の検出精度について述べる。

#### 1.1 ウェーブレット解析

筋電位をスペクトル解析した場合、理由は未だ不明な所がおおいが、スペクトルが疲労とともに低周波域にシフトする事が知られている。スペクトルを解析する方法としてフーリエ変換がある。短時間フーリエ変換 (STFT) で信号を短時間区分に分割した場合周波数分解能は、分割すればするほど下がっていく。よって

不確定性原理 周波数分解能 = 1/時間分解能

となってしまう。これは分析区間が一定であるためジレンマが起きているが、基本周波数成分自体を伸縮 (分析区間を縮める) をすることでそれは解消される。例えば分析区間を半分 (1/2) すれば、2 倍の周波数をもつ成分波形ができる。このように周波数に反比例して持続時間が短くなる成分波形を作り、その波形 (マザーウェーブレット) と分析する波形との相関を取ることで周波数解析しようとする方法を Wavelet 解析という。動的な運動の信号を見る、非定常信号を解析する場合には、Wavelet 変換をもちいる方が優れている。STFT を用いた解析では、波形が定常的でなければならない。実際ヒトから発せられる生体信号が定常的である事はまれである。筋電位においては、MVC がまた、最大随意収縮 (Maximum Voluntary Contraction, MVC) が 20~30% 程度以下の収縮力の場合は定常的で MVC50% 以上では変化が激しく定常的ではないという報告もある。[1]

しかし数学的に古くから知られていたが、生体信号解析に取り入れられてのは歴史が浅く、報告例も FFT に比べると非常に少ない。またマザーウェーブレットやスケールファクターなどの選定などで結果が変わる、またフーリエ変換に比べ計算に非常に時間がかかる。

Wavelet 変換は、解析信号  $x(t)$  とマザーウェーブレット  $q(t)$  によって定義される。

$$w(b, a) = \frac{1}{\sqrt{a}} \int_{-\infty}^{\infty} x(t) q^* \left( \frac{t-b}{a} \right) dt \quad (1.1.1)$$

$a$  はスケールファクターと呼ばれマザーウェーブレットの伸縮を決めている。また  $b$  はマザーウェーブレットの時間の移動を表している。どちらも正の実数である。ある  $a$  で決められる成分ごとに時間分解能 (持続時間) が異なりその成

分の周波数と周波数分解能は時間分解能の逆数に比例してしまう。つまり、ウェーブレット変換では、周波数の高いものほど時間分解能は小さく（細かく）、周波数分解能は大きい（粗い）。ウェーブレットでは直交性が重要であり、直交ウェーブレットでなければ、ウェーブレット係数を並べたものはスペクトルにはならない。従って正弦波は直交していないためマザーウェーブレットとして用いる事は出来ない。マザーウェーブレットは式2のような条件を満たす必要がある。それら満たす様々なマザーウェーブレット, **HAAR**, **gabor**, **morlet** などが考案された。ウェーブレットで周波数解析を行うには正弦波形をマザーウェーブレットとしなければならない。**Gabor** をマザーウェーブレットに用いる事が一般的である。しかし今回 **MATLAB** で解析を行うためマザーウェーブレットは **Morlet** を用いた。

$$\int_{-\infty}^{\infty} q(t)dt = 0 \quad (1.1.2)$$

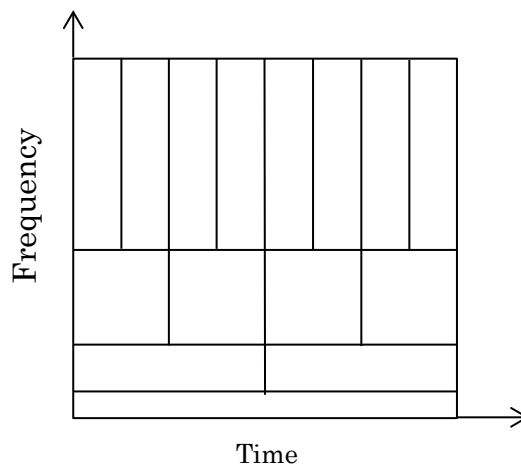


図 1.1.1 ウェーブレットの時間と周波数の関係

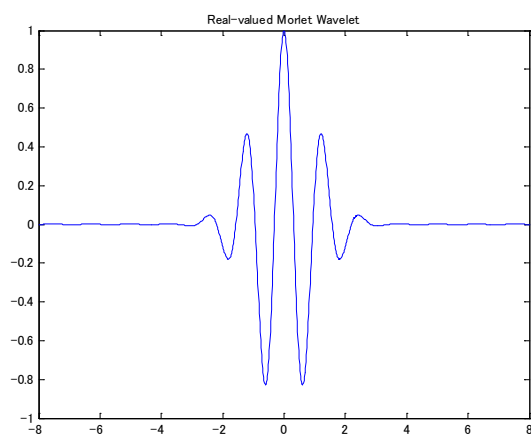


図 1.1.2 Morlet マザーウェーブレット

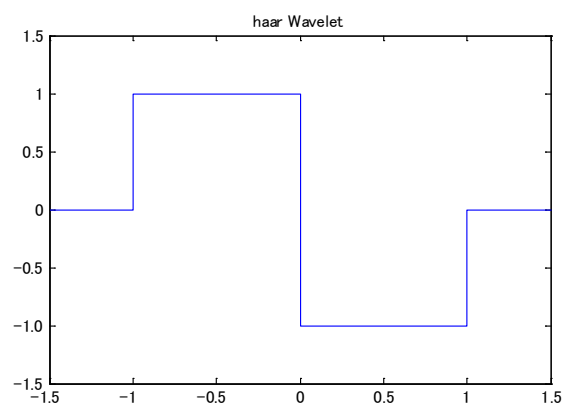


図 1.1.3 Morlet マザーウェーブレット

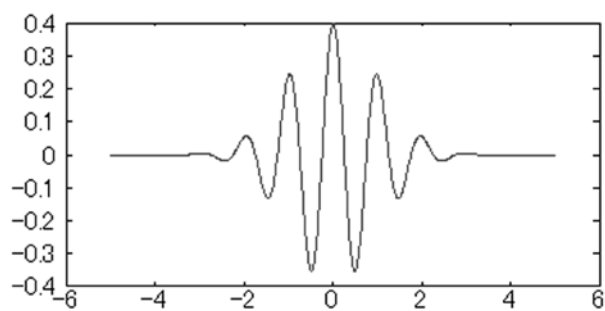


図 1.1.4 Gabor マザーウェーブレット

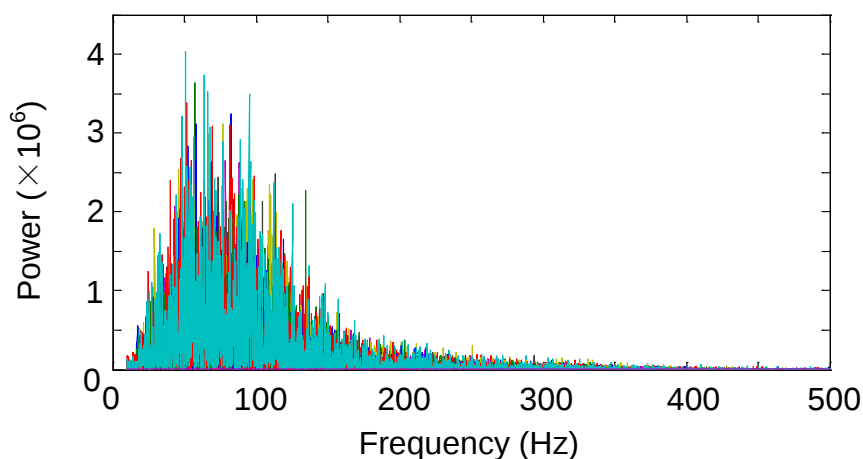
## 1.2 スペクトル解析法の違いによる検出精度比較

筋電位からの疲労測定には、筋電位のスペクトルが疲労により除波化されスペクトルが低周波に移行する事を用いる。そのスペクトルを算出するために Wavelet と STFT で算出し検討を行った。

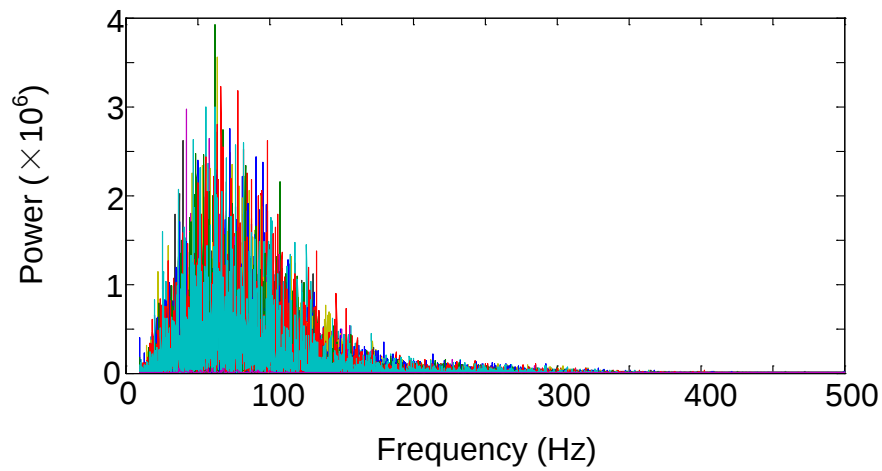
### a) STFT の結果

計測した筋電位波形を 10s ずつ区切りハニング窓を適用し解析周波数 FFT を行った。

サンプリング周波数が 1 kHz であるため解析周波数区間を 10 Hz~500 kHz とした。その時の 10 s ごとの FFT スペクトルの結果を合成したものを図 2.2.1 に示す。おおよそ 350Hz 程度まで観察できるが、ある程度パワーが大きい周波数は 200 Hz 程度であった。一例として解析区間を 10 Hz~100 Hz とした場合の運動時のスペクトルから MDF を算出したものを図 1.2.2 示す。(a) がアンセリン摂取時で (b) が水摂取時である。実線が運動 1、一点鎖線が運動 2 で、赤がアンセリン摂取時の MDF、黒は近似された一次回帰直線、青が水摂取時の MDF を表している。運動により疲労が進行し MDF が減少している。1 回目の運動より 2 回目の運動の方が疲労が進行しているため減少の速くなり傾きが大きくなっている。アンセリン摂取時と水摂取時で 2 回目の運動を比較した場合、アンセリン摂取の場合の方が傾きが小さくなっている。

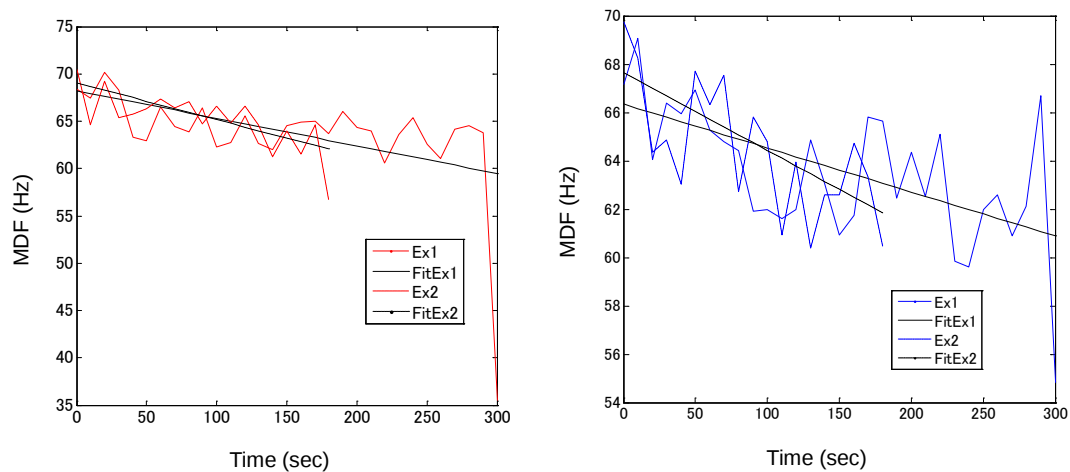


(a) アンセリン摂取



(b) 水摂取

図 1.2.1 アンセリン、水の STFT のスペクトル



a) アンセリン摂取時

b) 水摂取時

図 1.2.2 MDF の時間変化

解析周波数 10~100 Hz で解析算出した傾きの 17 名分のデータを表 1.2.1 に示す。傾きの差が正の値のものはセルを赤く塗りつぶしている。アンセリン摂取時、水摂取時のどちらも運動の一回目は、傾きが負となり **MDF** が減少している。被験者 **M** のアンセリン摂取時の 2 回目のように傾きが正となり **MDF** が増加する場合もあった。また 1 回目と 2 回目の傾きの差を取ると 2 回目の傾きの方が小さくなる被験者もアンセリン摂取時に 5 名、水摂取時に 2 名みられた。これらは、個人の持つ筋の性質によるもので運動強度が適していないからかもしれない。しかしアンセリンと水摂取の人数を比べるとアンセリン摂取時の方が多

くなっている事は、アンセリンの抗疲労効果により運動2の時に筋が活性しているのではないかと考えられる。角度疲労指標 AFI とアンセリンと水の AFI の差を求めたものを表 1.2.2 に示す。AFI の値が大きいほど疲労しているといえる、アンセリンと水の AFI の差を求め、その値が正の数であればアンセリン摂取時に疲労が少なくなったといえる。結果 9 名の人間が正となった。そこで解析周波数を変えて求め有効な周波数解析区間の検討を行った。その結果を表 1.2.3 に示す。100 Hz を境に、値が正になる人数が増加し、それ以降はあまり変化がなかった。解析区間 21~214 Hz が一番良い検出区間となった。

表 1.2.1 各摂取時にける解析した運動時の傾き (10-100Hz)

| アンセリン摂取時 |           |             |           | 水摂取時 |           |             |           |
|----------|-----------|-------------|-----------|------|-----------|-------------|-----------|
|          | 1回目傾き     | 2回目傾き       | 傾きの差      |      | 1回目傾き     | 2回目傾き       | 傾きの差      |
| A        | -5.68E-01 | -1.03E+00   | -4.58E-01 | A    | -6.06E-01 | -9.71E-01   | -3.65E-01 |
| B        | -3.11E-01 | -3.13E-01   | -1.60E-03 | B    | -1.31E-01 | -3.78E-01   | -2.47E-01 |
| C        | -1.31E-01 | -3.78E-01   | -2.47E-01 | C    | -1.82E-01 | -3.22E-01   | -1.40E-01 |
| D        | -2.29E-01 | -3.76E-01   | -1.48E-01 | D    | -3.96E-01 | -4.44E-01   | -4.82E-02 |
| E        | -1.08E-01 | -7.07E-01   | -6.00E-01 | E    | -3.53E-01 | -7.73E-01   | -4.20E-01 |
| F        | -4.70E-01 | -1.70E-01   | 3.00E-01  | F    | -1.34E-01 | -3.99E-01   | -2.65E-01 |
| G        | -1.35E-01 | -2.77E-01   | -1.42E-01 | G    | -2.85E-01 | -3.99E-01   | -1.14E-01 |
| H        | -2.09E-01 | -1.67E-01   | 4.16E-02  | H    | -2.35E-01 | -4.89E-01   | -2.54E-01 |
| I        | -3.23E-01 | -6.85E-01   | -3.61E-01 | I    | -1.19E-01 | -2.95E-01   | -1.76E-01 |
| J        | -3.70E-01 | -1.56E-01   | 2.14E-01  | J    | -1.99E-01 | -2.55E-01   | -5.58E-02 |
| K        | -3.12E-01 | -3.19E-01   | -7.38E-03 | K    | -1.67E-01 | -9.35E-01   | -7.67E-01 |
| L        | -1.10E-01 | -1.11E-01   | -1.09E-03 | L    | -2.15E-01 | -2.58E-01   | -4.29E-02 |
| M        | 9.52E-03  | 1.31E-01    | 1.21E-01  | M    | -2.00E-01 | -2.25E-03   | 1.98E-01  |
| N        | -1.92E-01 | -6.70E-02   | 1.25E-01  | N    | -8.10E-02 | -1.29E-01   | -4.77E-02 |
| O        | -1.72E-01 | -2.39E-01   | -6.68E-02 | O    | -1.33E-01 | -2.33E-01   | -1.00E-01 |
| P        | -4.08E-01 | -6.55E-01   | -2.47E-01 | P    | -1.79E-01 | -1.17E-01   | 6.23E-02  |
| Q        | -1.87E-01 | -2.72E-01   | -8.49E-02 | Q    | -3.48E-02 | -6.22E-01   | -5.88E-01 |
| 平均       |           | 2.36431366  |           | 平均   |           | 2.852001943 |           |
| 標準偏差     |           | 3.256095152 |           | 標準偏差 |           | 4.059965163 |           |
| 標準誤差     |           | 1.329295279 |           | 標準誤差 |           | 1.657473837 |           |

表 1.2.2 アンセリンと AFI の角度差 (10-100Hz)

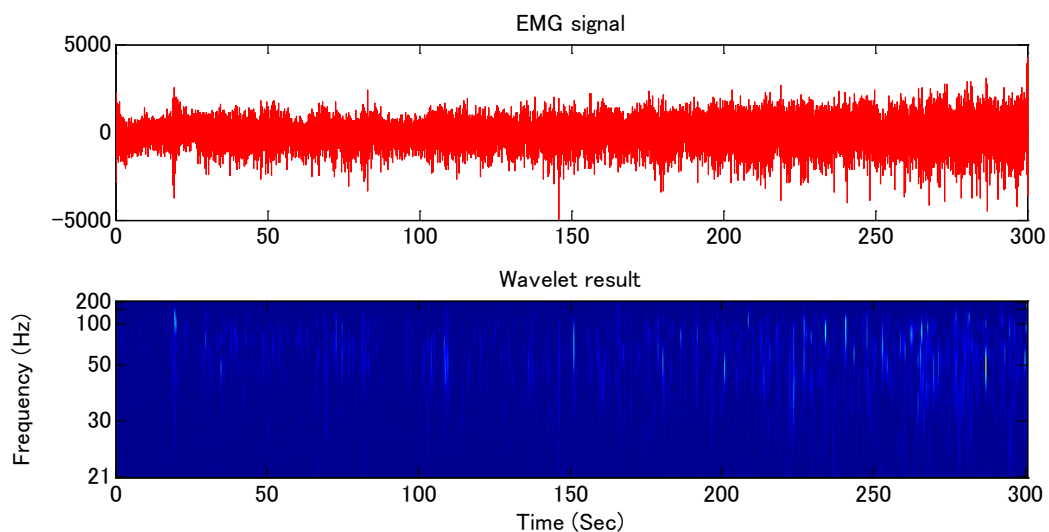
| 被験者 | アンセリン摂取時AFI | 水摂取時AFI | (単位: degree) |
|-----|-------------|---------|--------------|
|     |             |         | アンセリンと水の差    |
| A   | -16.1       | -12.9   | -3.20        |
| B   | -0.1        | -13.2   | 13.14        |
| C   | -13.2       | -7.6    | -5.67        |
| D   | -7.7        | -2.3    | -5.40        |
| E   | -29.1       | -18.3   | -10.86       |
| F   | 15.5        | -14.1   | 29.68        |
| G   | -7.8        | -5.8    | -1.96        |
| H   | 2.3         | -12.8   | 15.14        |
| I   | -16.5       | -9.6    | -6.83        |
| J   | 11.4        | -3.0    | 14.46        |
| K   | -0.4        | -33.6   | 33.19        |
| L   | -0.1        | -2.3    | 2.27         |
| M   | 6.9         | 11.2    | -4.32        |
| N   | 7.0         | -2.7    | 9.72         |
| O   | -3.7        | -5.5    | 1.87         |
| P   | -11.0       | 3.5     | -14.51       |
| Q   | -4.6        | -29.9   | 25.28        |

表 1.2.3 STFT の解析範囲のよる違い

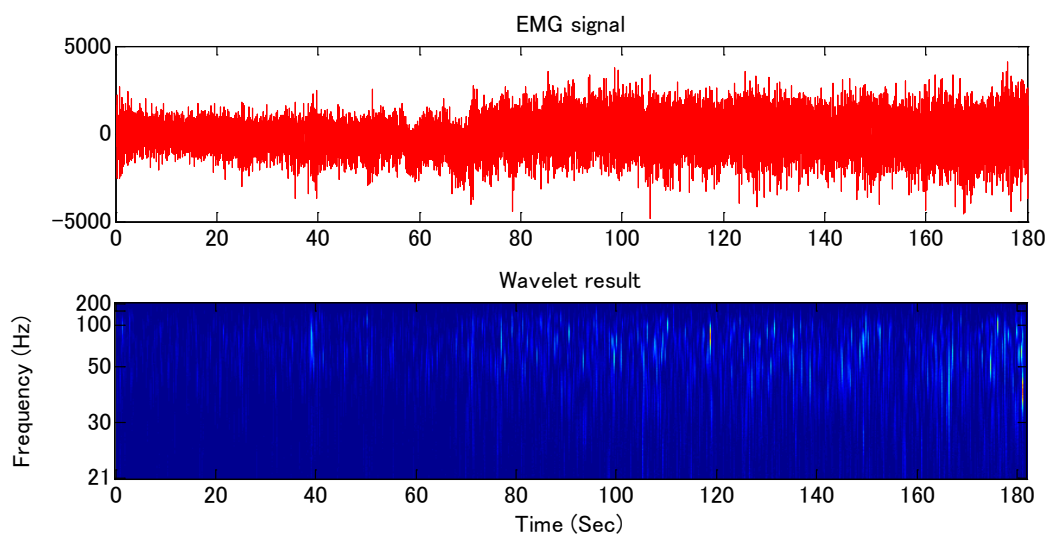
| STFT解析    |       |
|-----------|-------|
| 解析周波数(Hz) | 正の人の数 |
| 10-400    | 13    |
| 10-300    | 12    |
| 20-250    | 13    |
| 10-250    | 12    |
| 21-214    | 14    |
| 10-200    | 12    |
| 10-150    | 13    |
| 10-100    | 9     |
| 10-60     | 5     |
| 10-50     | 8     |
| 10-40     | 8     |

#### b) Wavelet 解析

計測した筋電位からデータの Wavelet 解析を行った。結果の一例を図 1.2.3 に示す。マザーウェーブレットには Morlet 関数を用い解析区間は 21~214 Hz とした。運動時間が経過に伴い、スペクトルの活性が見られた。これは筋電位が運動時間の経過と共に筋の発火が増大しているからだと思われる。また運動 2の方が運動 1に比べスペクトルの活性が顕著に表れており疲労による運動強度が上がっているからだと思われる。水とアンセリンによる違いはこの結果からは見られなかった。図 1.2.4 に Wavelet 解析からの求めた MDF の変化とその一次回帰直線の結果の一例を示す。STFT とは違い MDF の値の変動が非常に大きくなっている。直線で近似を行い一次回帰直線を算出した場合、STFT の結果と同じく傾きは負となり、運動 1 と運動 2 で疲労による差がみられたが STFT のような差の大きさはなかった。

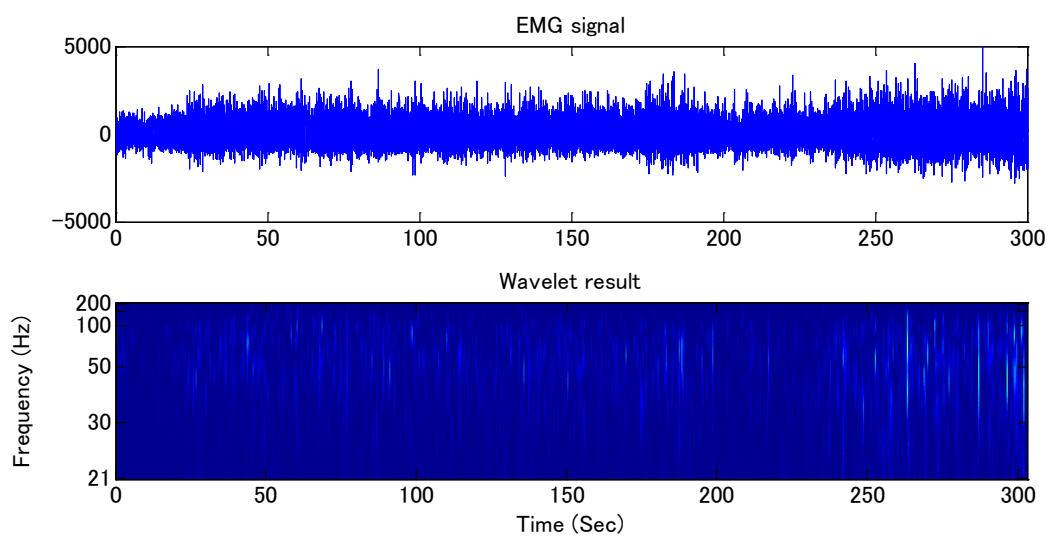


運動 1

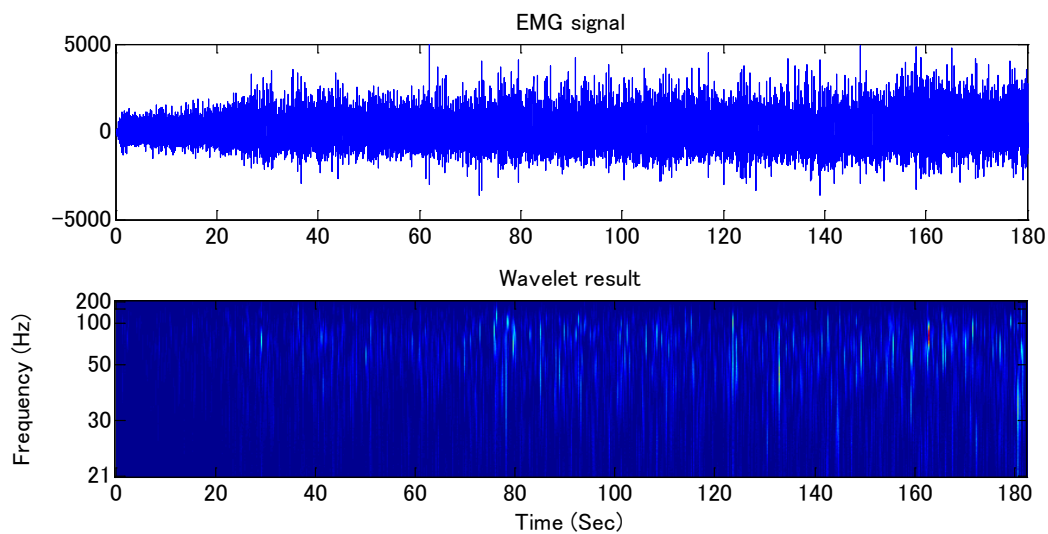


運動 2

(a) アンセリン摂取時



運動 1



運動 2

(b) 水摂取時

図 1.2.3 Wavelet 解析結果 (被験者 K)

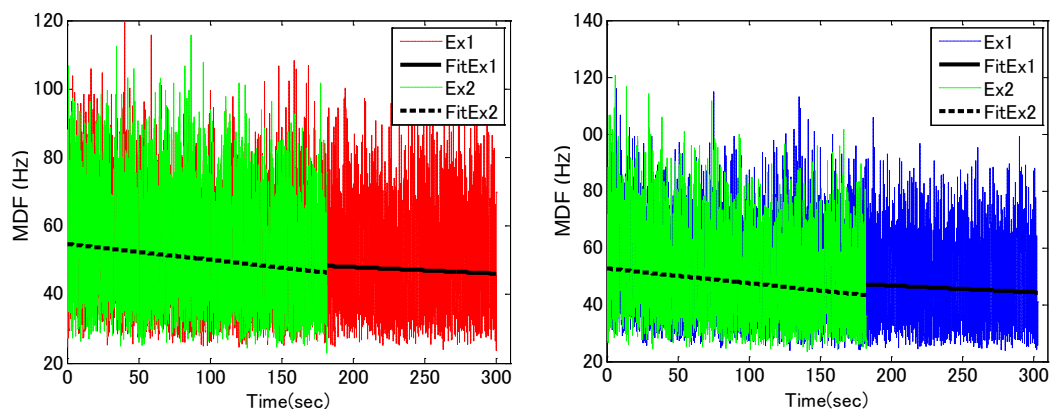


図 1.2.4 Wavelet 解析からの MDF の変化と一次回帰直線 (被験者 K)

STFT の場合と同様に、アンセリン摂取と水摂取時の傾きとその差を表 1.2.4 に示す。傾きの差が正の値のものはセルを赤く塗りつぶしている。傾きの差が正の値 STFT のように傾きが正の値になる被験者はなかった。傾きの差が正になる被験者が若干名みられた。表 1.2.5 に解析区間 21-214 Hz のアンセリンと AFI の角度差を示す。角度差が正になった被験者は 10 名であった。そして、表 1.2.6 に Wavelet における解析範囲による違いを示す。STFT と同様に解析区間が下がるにつれて、正の人の数は少なくなっている。

表 1.2.4 各撮取時にける解析した運動時の傾き (21-214Hz)

| アンセリン撮取時 |           |           |           | 水撮取時 |           |           |           |
|----------|-----------|-----------|-----------|------|-----------|-----------|-----------|
|          | 1回目傾き     | 2回目傾き     | 傾きの差      |      | 1回目傾き     | 2回目傾き     | 傾きの差      |
| A        | -4.06E-05 | -8.19E-05 | -4.13E-05 | A    | -5.49E-05 | -1.02E-04 | -4.67E-05 |
| B        | -2.33E-05 | -1.27E-05 | 1.06E-05  | B    | -1.54E-05 | -3.29E-05 | -1.74E-05 |
| C        | -1.91E-05 | -4.57E-05 | -2.66E-05 | C    | -2.37E-05 | -5.17E-05 | -2.80E-05 |
| D        | -2.14E-05 | -3.79E-05 | -1.65E-05 | D    | -1.45E-05 | -4.67E-05 | -3.22E-05 |
| E        | -1.74E-05 | -5.88E-05 | -4.14E-05 | E    | -2.95E-05 | -6.07E-05 | -3.12E-05 |
| F        | -2.58E-05 | -4.74E-05 | -2.16E-05 | F    | -2.08E-05 | -4.59E-05 | -2.50E-05 |
| G        | -1.52E-05 | -2.72E-05 | -1.20E-05 | G    | -1.61E-05 | -2.77E-05 | -1.16E-05 |
| H        | -1.85E-05 | -2.21E-05 | -3.60E-06 | H    | -1.83E-05 | -3.12E-05 | -1.30E-05 |
| I        | -3.63E-05 | -8.02E-05 | -4.39E-05 | I    | -2.74E-05 | -4.86E-05 | -2.11E-05 |
| J        | -1.51E-05 | -1.38E-05 | 1.35E-06  | J    | -1.72E-05 | -2.14E-05 | -4.26E-06 |
| K        | -1.39E-05 | -3.20E-05 | -1.81E-05 | K    | -2.16E-05 | -3.70E-05 | -1.54E-05 |
| L        | -1.34E-05 | -1.90E-05 | -5.65E-06 | L    | -1.85E-05 | -3.83E-05 | -1.98E-05 |
| M        | -1.37E-05 | -2.06E-05 | -6.84E-06 | M    | -1.05E-05 | -1.93E-05 | -8.79E-06 |
| N        | -2.50E-05 | -3.58E-05 | -1.07E-05 | N    | -1.93E-05 | -1.41E-05 | 5.23E-06  |
| O        | -1.10E-05 | -1.41E-05 | -3.09E-06 | O    | -6.13E-06 | -8.80E-06 | -2.67E-06 |
| P        | -1.97E-05 | -3.06E-05 | -1.09E-05 | P    | -1.31E-05 | -2.75E-05 | -1.44E-05 |
| Q        | -1.56E-05 | -1.73E-05 | -1.71E-06 | Q    | -1.03E-06 | -1.60E-06 | -5.61E-07 |

表 1.2.5 アンセリンと AFI の角度差 (21-214Hz)

| 被験者 | (単位: degree) |           |           |
|-----|--------------|-----------|-----------|
|     | アンセリン撮取時AFI  | 水撮取時AFI   | アンセリンと水の差 |
| A   | -2.37E-03    | -2.68E-03 | 3.10E-04  |
| B   | 6.07E-04     | -1.00E-03 | 1.61E-03  |
| C   | -1.52E-03    | -1.60E-03 | 8.02E-05  |
| D   | -9.45E-04    | -1.84E-03 | 9.00E-04  |
| E   | -2.37E-03    | -1.79E-03 | -5.84E-04 |
| F   | -1.24E-03    | -1.44E-03 | 2.01E-04  |
| G   | -6.88E-04    | -6.65E-04 | -2.29E-05 |
| H   | -2.06E-04    | -7.39E-04 | 5.33E-04  |
| I   | -2.52E-03    | -1.21E-03 | -1.30E-03 |
| J   | 7.45E-05     | -2.41E-04 | 3.15E-04  |
| K   | -1.04E-03    | -8.82E-04 | -1.55E-04 |
| L   | -3.21E-04    | -1.13E-03 | 8.14E-04  |
| M   | -3.95E-04    | -5.04E-04 | 1.09E-04  |
| N   | -6.19E-04    | 2.98E-04  | -9.17E-04 |
| O   | -1.78E-04    | -1.53E-04 | -2.46E-05 |
| P   | -6.25E-04    | -8.25E-04 | 2.01E-04  |
| Q   | -9.74E-05    | -3.26E-05 | -6.48E-05 |

表 1.2.6 Wavelet の解析範囲のよる違い

| Wavelet |       |
|---------|-------|
| 解析周波数   | 正の人の数 |
| 10-300  | 9     |
| 10-250  | 10    |
| 21-214  | 10    |
| 10-150  | 9     |
| 10-100  | 8     |
| 10-60   | 7     |

c) 比較結果

STFT と Wavelet によるスペクトル解析による違いの検討を行った。Wavelet と STFT の解析範囲の違いによる検出結果を表 2.2.7 示す。抗疲労効果が知られているアンセリンの抗疲労検出としては、STFT の方がどの周波数帯域においても正の人の数が多く良い結果となった。現在のところ理由は定かではないが静的な等尺性収縮では STFT の方が有効なのではないかと思われる。

表 1.2.7 Wavelet と STFT の解析範囲の違いによる検出度合

| 解析周波数  | 正の人の数     |        |
|--------|-----------|--------|
|        | WAVELET解析 | STFT解析 |
| 10-300 | 9         | 13     |
| 10-250 | 10        | 12     |
| 21-214 | 10        | 14     |
| 10-150 | 9         | 13     |
| 10-100 | 8         | 9      |
| 10-60  | 7         | 5      |

参考文献

[1] R. Merletti, Electrically evoked myoelectric signals, Crit. Rev. Biomed. Eng , 19, 293-340, 1992

## 付録2 MDF と MPF

スペクトルの特徴量として MDF と MPF がある。MPF はその算出法から高周波の影響を大きく受けるとされている。MDF はそういった周波数の影響を受けないため MDF の方が良いとされる。しかし、MPF と MDF の選定の良否についての報告はない。また MDF よりも MPF の検出精度が高かったという報告もある[1]。今回、新しい評価法を構築するにあたり、前節の解析周波数を変化させる方法を用いて MPF と MDF の検討を行った。結果を表 3.5.9 に示す。高周波成分まで含めば差が出るかと予想したが高い周波数を含めても MPF と MDF で明確な差はあまり見られなかった。若干ではあるが検出人数の合計の差が 10 名あり、MDF の検出精度がよい結果となった。筋電位のような周波数帯域と 100Hz 付近に集中し周波数の途切れのないスペクトルでは、MDF と MPF 明確な差はないと思われる。

表 2.1 MDF と MPF の検出度合

| 解析周波数  | 正の人の数 |     |
|--------|-------|-----|
|        | mdf   | mpf |
| 10-400 | 13    | 12  |
| 10-300 | 12    | 13  |
| 20-250 | 13    | 13  |
| 10-250 | 12    | 11  |
| 21-214 | 14    | 13  |
| 10-200 | 12    | 10  |
| 10-150 | 13    | 9   |
| 10-100 | 9     | 6   |
| 10-60  | 5     | 6   |
| 10-50  | 8     | 7   |
| 10-40  | 8     | 9   |
| 合計     | 119   | 109 |

[1] Ishikawa Yoshinori, Yagi Tohru, Study on contraction of muscle activity monitoring system. IEICE Technical report NC, 110(295), 13-17, 2010

### 付録 3 解析時間

運動 1 回目の解析時間を運動 2 回目と同じ時間、運動開始から 3 分とした結果を表 3.1 に示す。解析周波数範囲は同様に 21~214 Hz である。運動 1 回目の傾きは、概ね 5 分の解析時間の場合と比較すると負に大きくなった。解析時間が 5 分の場合と比べた場合アンセリン摂取時と水摂取時の優位性は見られなかった。しかし平均値は異なり、11 名がアンセリン摂取時に AFI の差の変化が小さい事が確認された。

表 3.1 運動の解析時間を最初から 3 分に揃えた場合の傾きと AFI

| 被験者  | アンセリン摂取時      |               |               | 水摂取時          |               |               |
|------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
|      | 運動1傾き<br>Gex1 | 運動2傾き<br>Gex2 | 角度疲労<br>指標AFI | 運動1傾き<br>Gex1 | 運動2傾き<br>Gex2 | 角度疲労<br>指標AFI |
| A    | -1.83         | -2.31         | -5.21         | -1.82         | -2.76         | -8.87         |
| B    | -0.80         | -0.49         | 12.84         | -0.42         | -0.37         | 2.96          |
| C    | -0.42         | -0.37         | 2.96          | -0.62         | -0.89         | -9.78         |
| D    | -0.65         | -0.57         | 3.32          | -0.25         | -0.76         | -22.84        |
| E    | -0.52         | -0.87         | -13.58        | -0.73         | -1.03         | -9.78         |
| F    | -0.01         | -0.52         | -27.13        | -0.36         | -0.60         | -10.92        |
| G    | -0.31         | -0.32         | -0.73         | -0.16         | -0.40         | -12.93        |
| H    | -0.79         | -0.27         | 22.87         | -1.14         | -0.82         | 9.23          |
| I    | -0.87         | -1.34         | -12.35        | -0.58         | -1.04         | -15.92        |
| J    | -0.42         | -0.43         | -0.68         | -0.40         | -0.26         | 7.09          |
| K    | -0.35         | -0.38         | -1.49         | -0.51         | -0.76         | -9.94         |
| L    | -0.50         | -0.46         | 1.92          | -0.31         | -0.73         | -19.19        |
| M    | 0.12          | 0.18          | 3.56          | 0.06          | 0.04          | -1.43         |
| N    | -0.39         | -0.32         | 3.63          | -0.42         | -0.15         | 14.61         |
| O    | -0.52         | -0.46         | 2.88          | -0.26         | -0.42         | -8.26         |
| P    | -0.43         | -0.64         | -8.97         | -0.86         | -0.82         | 1.45          |
| Q    | -0.02         | 0.02          | 2.23          | -0.08         | 0.25          | 18.31         |
| 平均   |               |               | -0.82         |               |               | -4.48         |
| 標準偏差 |               |               | 10.96         |               |               | 11.79         |
| 標準誤差 |               |               | 2.66          |               |               | 2.86          |

| t-検定: 一対の標本による平均の検定ツール |              |              |
|------------------------|--------------|--------------|
|                        | 変数 1         | 変数 2         |
| 平均                     | -0.819622044 | -4.483733009 |
| 分散                     | 120.17757    | 138.9232483  |
| 観測数                    | 17           | 17           |
| ピアソン相関                 | 0.381368512  |              |
| 仮説平均との差異               | 0            |              |
| 自由度                    | 16           |              |
| t                      | 1.192318133  |              |
| P(T<=t) 片側             | 0.12526026   |              |
| t 境界値 片側               | 1.745883676  |              |
| P(T<=t) 両側             | 0.25052052   |              |
| t 境界値 両側               | 2.119905299  |              |