

## 高強度短時間間欠的運動後の過剰酸素摂取量

分担研究者 田畑 泉（立命館大学スポーツ健康科学部）

研究協力者 街 勝憲（立命館大学スポーツ健康科学研究科）

本研究の目的は、従来、報告されていない高強度（170%VO<sub>2max</sub>）・短時間間欠的運動（20秒間の運動を10秒間の休息を挟み6～7回行い疲労困憊に至る自転車エルゴメータ運動：HIE）による酸素摂取量の増加を、当該運動を行わない条件との差として代謝測定室を用いて明らかにすることであった。

HIE後の翌日、翌々日の安静時代謝及び睡眠時代謝量は、運動前の値と差は無かった。運動条件日の運動に摂取した昼食及び夕食後の酸素摂取量は、非運動日に比べて有意に高い値を示した。本研究の結果より、高強度短時間・間欠的運動は、食事誘発性熱産生（DIT）を高めることが明らかとなった。

### A. 研究目的

運動によるエネルギー消費は、運動中に消費されるエネルギーに加えて、運動後のエネルギー消費量の増加も、体重減少効果を持っている可能性が示唆されている。しかし、高強度運動後のエネルギー消費量の増加はそれほど多くないと考えられており、このような運動では、減量効果は望めないと考えられてきた。ところが最近、減量効果があるというような例が見られている、高強度・短時間・間欠的運動中及び運動後の酸素摂取量を、エネルギー代謝測定室を用いて、高強度・短時間・間欠的運動の運動後のエネルギー消費量に与える影響を明らかにすることを目的とした。

### B. 研究方法

被験者は、平均年齢24歳の健常成人男性7名を用いた。被験者をエネルギー代謝測定室に滞在させ、その中で高強度・短時間・間欠的運動を行った場合と、行わなかった場合の酸素摂取量を測定した。運動前日の睡眠時代謝、運動日の1日の酸素摂取量および運動中の酸素摂取量と総酸素借、運動翌日の睡眠時代謝と、運動翌日、翌々日の基礎代謝の測定を行った。運動は、ウォーミングアップとして最大酸素摂取量の50%の運動強度で10分間、自転車運動（90rpm）を行わせた後、20秒間運動、10秒間休憩を6～7セットで疲労困憊に至るような自転車運動（90rpm）を行わせた。実験開始日の夕食、運動を行う日は朝食・昼食・夕食を、その翌日は朝食・夕食を規定食として提供し、食事管理を行った。規定食は日本人の食事摂取基準（2010年度版）を基に、被験者と同一年齢の

男性の値と体重を加味した一日の推定エネルギー必要量を算出し、決定した。

### C. 研究結果と考察

基礎代謝、睡眠時代謝、睡眠時代謝の内の始めの3時間、最後の3時間、値の低い連続した3時間は、運動を行った場合の値と非運動時の場合の値で、有意な差は認められなかった。運動日の、運動直後から1225分間の総酸素摂取量、運動開始から1230分間の総酸素摂取量は、非運動日に比べて有意に高かった。運動日の運動直後から昼食摂取前まで、昼食摂取後から3時間、夕食摂取後から2時間は、非運動日と比べて酸素摂取量は有意に高かったが、昼食摂取時および夕食摂取時は差が認められなかった。これは、一過性の高強度短時間間欠的運動が食事誘発性熱産生（DIT）を相乗的に亢進させたことを示唆している。運動終了から12時間後までの総酸素摂取量から非運動日の同時間の総酸素摂取量の差、即ち高強度短時間・間欠的運動の過剰酸素摂取量は $18.18 \pm 6.57$  L（約90 kcal）となった。この値は、運動中に消費された総酸素摂取量（7.55L）の約2.4倍と高い値となった。運動開始時から1230分間の総酸素摂取量から非運動日の総酸素摂取量を引いた値は $23.85 \pm 7.06$  L（約116 kcal）となった。また、運動中の総酸素借は $3.99 \pm 0.72$  Lであり、運動後過剰酸素摂取量は総酸素借の約4.6倍となり、この運動後過剰酸素摂取量の大部分が運動中の酸素借（クレアチンリン酸の減少やグリコーゲンの分解）と、別の機序に起因していることが推測された。

### D. 結論

本実験において、高強度・短時間・間欠的運動は、運動後12時間まで、非運動時に対して酸素摂取量が高くなった。その理由として、このような高強度・短時間・間欠的運動が食事誘発性熱産生を増大させた結果であることが明らかになった。しかし、今回の結果からは、運動日と非運動日の総エネルギー消費量の差は110 kcal程度であり、その体重減少効果は限定的と考えられた。

### E. 健康危険情報

該当せず

### F. 研究発表

1. 論文発表  
なし
2. 学会発表  
なし

### G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

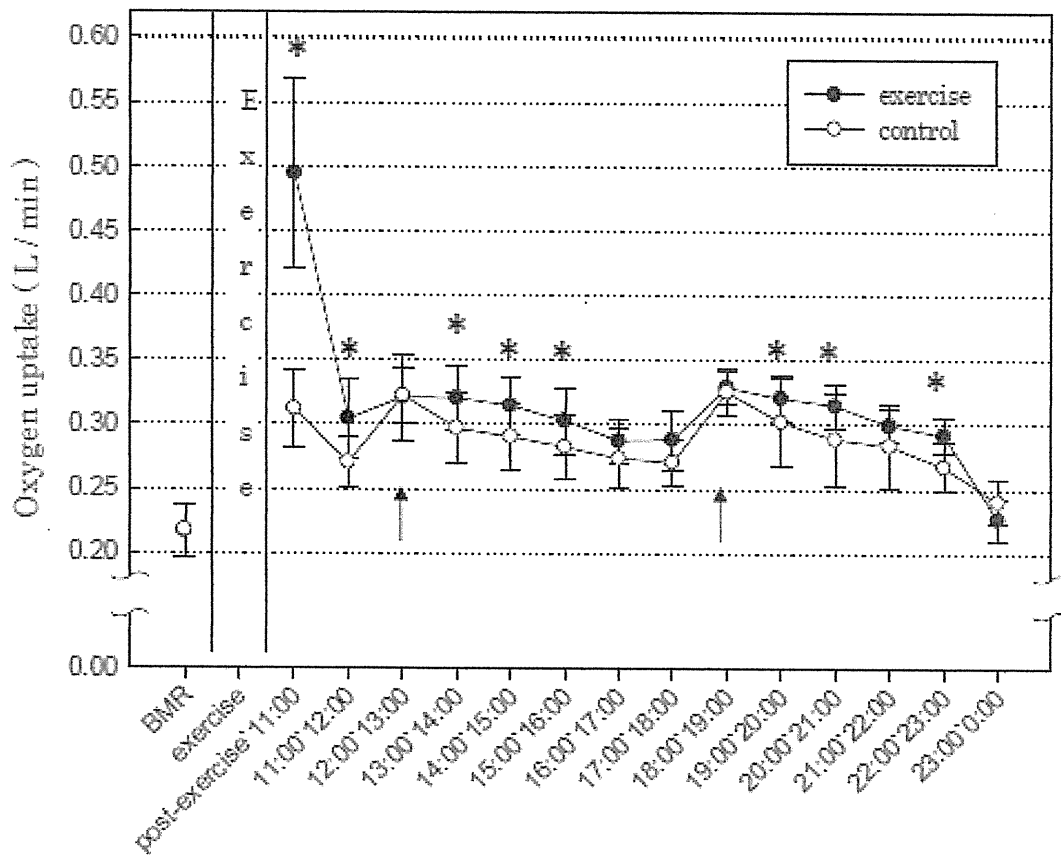


図1. 高強度・短時間・間欠的運動を行った日 (● : Exercise) と、非運動日 (○ : control) の酸素摂取量。\*は運動日と非運動日で有意な差が観察された時点 ( $p < 0.05$ )。

↑は昼食と夕食の時間を示す。

分担研究報告書

身体活動レベル評価法の検討  
-加速度計による装着/未装着時間の判定法-

研究分担者	井上 茂	東京医科大学公衆衛生学	教授
研究協力者	石橋弘子	東京医科大学公衆衛生学	助手
	赤木達規	早稲田大学早稲田大学大学院スポーツ科学研究科	
	田中茂徳	(独) 国立健康・栄養研究所	健康増進研究部 エネルギー代謝研究室室長
	高田和子	(独) 国立健康・栄養研究所	栄養教育研究部 栄養ケア・マネジメント研究室室長
	三宅理江子	(独) 国立健康・栄養研究所	健康増進研究部 技術補助員

【目的】 加速度計・歩数計は身体活動量を客観的に評価する機器として応用範囲が広がっているが、調査での活用には課題が多い。その一つとして有効・無効データの識別の問題がある。近年の研究では、10時間以上の装着をもって有効データと判定するケースが多いが、そのための装着時間の判定方法について、日本の加速度計を用いた方法が十分に確立されていない。そこで、本研究では日本の加速度計を用いて加速度信号から装着時間を判定する方法を検討した。【方法】 成人21名（男性42.9%、21-44歳）に、週末を含む3日間の加速度計装着（OM: オムロン社製 Active style Pro HJA-350IT、SZ: スズケン社製ライフコーダ EX）を依頼した。OMは10秒ごとのデータをOM\_10、60秒ごとのデータをOM\_60とした。加速度計は2台同時に装着し、同じ日に1分単位の装着記録（Log book）の記載を依頼した。記録された加速度データより、連続無信号時間が①5分間、②10分間、③15分間、④20分間、⑤30分間、⑥40分間、⑦50分間、⑧60分間、⑨70分間、⑩80分間、⑪90分間、⑫120分間以上続いた場合を非装着状態と定義して、①から⑫のそれぞれの方法によって算出される装着時間と、Log bookを基に算出した装着時間とを比較した。【結果】 Log bookから計算した平均装着時間は $15.3 \pm 2.3$ 時間/日であった。加速度データは連続する無信号時間の下限値を長くすればするほど、装着と判定された時間が長くなり、平均値がLog bookに最も近い解析方法はOM\_10では30分、OM\_60では40分と50分、SZでは40分であった。Log bookによる装着時間と加速度データによる装着時間とは、どちらの加速度計も全てにおいて有意な正の相関関係が見られた。級内相関係数が0.80以上だったのはOM\_10は無信号時間が5～120分、OM\_60は10～120分SZは20～120分だった。級内相関係数が最も高かったのはOM\_10は30分前後、OM\_60は50分前後、SZは60分前後で、Log bookによる装着時間と同様の値が得られた。【結論】 加速度計のデータ分析にあたり、装着時間を評価する際には、非装着状態を30～60分間程度無信号と定義して解析する方法が妥当であると示唆された。

## A. 研究目的

精度の高い身体活動量の測定法を開発することは、エネルギー必要量の設定、活用に不可欠である。

歩数計、加速度計などの活用が広がるにつれて、これらの機器を用いて身体活動評価を行う際の問題点にも関心が高まっている (Troost et al., 2005)。これらの機器の精度は、トレッドミル歩行等によって、身体活動量や歩数などと高い相関があることが確認されている。しかし、それを実際の調査や健康教育において活用するためには様々な問題がある。例えば、ある個人の平均的な身体活動量を評価するためには何日間の装着が必要なのか、何曜日に測定するのがよいのか、といった問題である。このような、調査実施上の問題の一つに、有効なデータをどのように判定するのかという問題がある。欧米では、この問題に関する議論が盛んであり、現在のところ、対象者が1日10時間以上加速度計を装着した場合に有効データと判定する方法が一般的になりつつある (Troost et al., 2005; 井上ら, 2003)。加速度計の装着時間を判定する方法では、60分以上加速度信号が0の状態(1~2分程度連続する弱い信号: 0-100カウント程度)を非装着と判定する方法が標準的である (Troiano et al., 2008)。この基準は加速度計として欧米で広く用いられている ActiGraph を用いた場合である。日本で広く用いられている加速度計ライフコーダを用いた研究としては、30分無信号の状態を非装着時間と定義し、これが詳細な装着記録 (Log book) により評価した非装着時間とよく一致していたとする報告がみとめられる (井上ら, 2003)。しかし、この研究では無信号時間を30分に限定して検討したのみで、30分が最適値であるかどうかを系統的に検討したものはなかった。ActiGraph と日本で用いられている加速度計では、加速度信号の処理方法が異

なり、欧米の基準をそのまま活用して妥当かどうかの予測は難しい。

そこで、本研究では、日本で広く活用されている加速度計 (スズケン社製ライフコーダ EX およびオムロン社製 Active style Pro HJA-350IT) を用いて、装着時間を判定するための研究を行った。具体的には加速度信号が一定時間以上連続して0を示す状態を無装着と定義する方法を用いる場合、この一定時間をどの程度の長さに設定するのが最も妥当であるのかを検討することとした。

## B. 研究方法

### 1. 被験者

対象者は成人21名 (男性9名、女性12名) とした。

### 2. 測定手順

身体計測は、Lohman らの方法 (1988) に従って行った。身長は0.1 cm 単位 (株式会社ヤガミ, YL-65S, 名古屋, 日本)、体重は0.1 kg 単位株式会社ヤガミ, YK-150D, 名古屋, 日本) で測定した。そして、体重を身長<sup>2</sup>の2乗で割り BMI (kg/m<sup>2</sup>) を算出した。

歩数と活動量の測定には、Active Style Pro HJA-350IT (オムロンヘルスケア社, 京都, 日本, 以下 OM と略す, Oshima et al., 2010; Ohkawara et al., 2011) とライフコーダ EX (スズケン, 東京, 日本, 以下 SZ と略す, Kumahara et al., 2004) を用いた。事前に2台の加速度計の時間を同期させて、時間を正確に把握できるようにした。

対象者には、加速度計が水に浸かる活動 (入浴や水泳など) 以外の全ての時間に加速度計を装着するように指示した。装着部位は身体の前面・腰位置とし、左右のズボンのベルトの高さ、折り目付近に装着することとして、ベルトまた

はズボンをクリップで挟み 2 台同時に装着することとした。

加速度計を装着した日には、Log book を付けるように依頼した。今回の実験では、Log book が装着時間判定の基準となるので、対象者に対しては、装着時間を 1 分単位で正確に記録するように説明した。加速度計、Log book 回収時に、装着時間を正確に記録することができたかどうかを口頭で確認し、Log book による装着時間の判定の質を確保した。

加速度計は平日 2 日、土・日・祝日のいずれか 1 日の合計 3 日間の装着を依頼した。装着後に加速度計を回収し、加速度計それぞれの専用ソフトを用いて解析を行った。

加速度計信号から装着時間を判定する際には、装着している状態、装着していない状態を判定する必要がある。本研究では、この方法として、次の 12 の方法を実施した。

**Method1 (5min)** : 5 分以上無信号状態が続いた場合を非装着の状態、それ以外を装着の状態と判定して装着時間を算出した。

**Method2 (10min)** : 10 分以上〃。

**Method3 (15min)** : 15 分以上〃。

**Method4 (20min)** : 20 分以上〃。

**Method5 (30min)** : 30 分以上〃。

**Method6 (40min)** : 40 分以上〃。

**Method7 (50min)** : 50 分以上〃。

**Method8 (60min)** : 60 分以上〃。

**Method9 (70min)** : 70 分以上〃。

**Method10 (80min)** : 80 分以上〃。

**Method11 (90min)** : 90 分以上〃。

**Method12 (120min)** : 120 分以上〃。

なお、OM においては、Method0 (0min) として加速度計から算出された装着時間を示した。

そして、これらの 12 の方法のうちの、どの方法を用いて計算した装着時間が、最も Log

book から算出した装着時間と相関が良好かを検討した。なお、Log book および加速度計信号から装着時間を求める場合には、Log book に記録された睡眠中のデータは除外して、睡眠時間ではない時間における装着時間を算出した。

活動量のデータは、OM は 10 秒ごとのデータ（以下、OM\_10 と略す）と 60 秒ごとデータ（以下、OM\_60 と略す）を用い、SZ は 2 分ごとのデータを用いた。SZ の 5 分と 15 分のデータは 6 分と 16 分のデータを代用した。

加速度計信号から判定した装着時間と、Log book から判定した装着時間との Pearson 相関関係、級内相関係数（Interclass correlation : ICC）、Bland and Altman plot を検討した。結果は全て平均値±標準偏差で示した。統計解析には SPSS package (18.0 for Windows) を使用し、統計学的有意水準はすべて 5%未満とした。

### 3. 倫理面への配慮

対象者には、実験の目的、方法、対象者の権利等を書面、および口頭の両方で説明し、書面による同意を得た。本実験の実施は独立行政法人国立健康・栄養研究所「研究倫理審査委員会（疫学研究部会）」の承認を得て行った。データは厳重に管理し、外部に流出することがないようにした。測定に伴う危険性はない。

### C. 研究結果

Table1 に対象者の身体的特徴を示した。年齢は  $28.5 \pm 6.3$  歳、Body mass index は  $20.5 \pm 1.9 \text{ kg/m}^2$  であった。

Table 2 に各加速度計の装着時間と歩数を示した。加速度計の装着時間は、Log book による評価では  $15.3 \pm 2.3$  時間/日 (7.8~19.4 時間/日) であった。平均歩数は OM で  $9126 \pm 4862$

歩/日、SZで $10076 \pm 5134$ 歩/日であった。平均装着時間を基に、Log bookによって判定した装着時間と、加速度信号によって判定した装着時間を比較すると、両者が最も近いのは、OM\_10ではMethod5 (30 min)、OM\_60ではMethod6 (40 min)とMethod7 (50 min)、SZではMethod6 (40 min)であった。

各種の方法で判定した加速度計の装着時間とLog bookの装着時間の最も相関係数が高かったのは、OM\_10ではMethod5 (30 min) ( $r = 0.948$ )、OM\_60ではMethod7 (50 min) ( $r = 0.937$ )、SZではMethod8 (60 min) ( $r = 0.960$ )だった (Fig.1)。連続する無信号時間が長くても短くてもLog Bookの装着時間とは一致しにくくなることが明らかとなった。

Table 3に各種の方法で判定した装着時間の級内相関係数を示した。級内相関係数の基準であるLog bookによる装着時間と無信号時間を考慮した装着時間の一致度を検討しており、0.80以上であれば基準と一致しているとみなしてよいと考えられている (久保田ら, 2009; Trost, MSSE, 2005)。本研究では、級内相関係数が0.80以上だったのは、OM\_10はMethod1 (5 min) ~Method12 (120 min)、OM\_60はMethod2 (10 min) ~Method12 (120 min)、SZはMethod3 (15 min) ~Method12 (120 min)だった。最も級内相関係数が高かったのは、OM\_10は30分 (ICC : 0.947)、OM\_60は50分 (ICC : 0.936)、SZは60分 (ICC : 0.954)だった。

Bland and Altman plotで、非装着時間を考慮した装着時間とLog bookによる装着時間に系統的な誤差が無いか検討を行ったところ、OM\_10 Method12 (120min) 除く全てにおいて系統誤差は見られなかった。級内相関係数の最も高かった、OM\_10 Method5 (30min) 前後、OM\_60 Method7 (50min) 前後、

SZ\_Method7 (50min) 前後で、平均値がゼロに近く、標準偏差の幅が小さかった。

#### D. 考察

本研究では、加速度計の測定前の検討事項として非装着時間の検討を行った。

級内相関係数は、0.80以上であれば基準と一致していると考えられていることから (久保田ら, 2009; Trost, MSSE, 2005)、OM\_10はMethod1 (5 min) ~Method12 (120 min)、OM\_60はMethod2 (10 min) ~Method12 (120 min)、SZについてはMethod3 (15 min) ~Method12 (120 min)がLog bookと一致していると考えられたが、最も級内相関係数が高く、Log bookによる平均装着時間と装着時間が近かった30~60分間程度の無信号時間を非装着と定義することが最適である可能性が高いと考えられた。この値は加速度計の種類によって若干異なる可能性があるが、今回使用したOMとSZでは大きな違いはなかった。検討結果は対象者の行動パターン、体型等によっても異なってくる可能性が考えられるが、30~60分間程度の非装着状態を判定のための基準として用いることはおおよそ妥当と考えられた。

先行研究においてSZが30分間以上の無信号を非装着状態と定義した場合に妥当な装着時間の判定が行えることが報告されている (井上ら, 2003)。この先行研究では30分間以外の基準を検討していなかったが、今回の研究では、5分間、10分間、15分間、20分間、30分間、40分間、50分間、60分間、70分間、80分間、90分間、120分間の12の基準を検討した。その結果、30~60分間程度の無信号時間が最も妥当な基準であることが示された。

欧米では、非装着時間について新たな検討が行われているが (Choi et al., 2011)、60分間

以上加速度信号が0の状態（1～2分程度連続する弱い信号：0-100カウント程度）を非装着と判定する方法が一般的になりつつある

(Troiano et al., 2008)。しかし、この基準は加速度計として主に、ActiGraphを用いた場合の基準である。日本で広く用いられている加速度計とActiGraphでは加速度信号の処理方法が大きく異なるので、このような欧米で実施されている方法の適応が可能かどうかは予想が難しかった。たとえば、SZでは、加速度信号は0から9までの10段階で出力されるが、ActiGraphの出力は物理量に近く、時間分解能も自由に設定することができる。加速度信号感知の閾値も異なっている。ActiGraphの分析では、1分単位でデータを収集した場合の活動強度の判定は、0-99カウント：sedentary、100-499カウント：inactive、500-2019カウント：light intensity、2020-5999カウント：Moderate intensity、6000カウント以上：Vigorous intensityといった基準が活用されており、出力は連続変数に近い(Troiano et al., 2008; Tudor-Locke et al., 2009)。また、検出できる加速度の最低値はActiGraphは50mGであるが、それに対して、OMの場合は3mGであり、SZは60mG、OMの場合、他の2機種と比べて、一桁以上小さな加速度でも検出できる。これらのことから、日本の加速度計を用いた場合の非装着の判定プロトコールの検討が必要だと考えられた。今回の検討によって、欧米の解析方針とほぼ同等の基準で、装着時間が評価できることが明らかとなった。

本研究の限界点としては、研究対象者の装着コンプライアンスが良すぎたことがあげられる。Log bookによる装着時間の平均は15.3時間/日であり、データ採用基準として一般的な10時間/日未満のデータ件数は3件(4.8%)のみであった。本来、装着時間の判定はデータの採用・不採用の判定、すなわち、10時間以

上か未満かの判定に用いられることが多い

(Troiano et al., 2008)。したがって、装着時間が10時間/日前後のデータが多く含まれていることが望ましかった。

次に、結果の一般化の問題がある。本検討では日本で最も広く活用されている加速度計を用いたが、機種によって最適値が異なる可能性は否定できない。今後、他の機種においても同様の検討を実施することが望ましいと考えている。

## E. 結論

身体活動量を評価する際に必要な非装着時間は、30～60分間程度の無信号が継続する状態を非装着状態と定義して解析することが妥当であることが示唆された。装着・非装着の判定は、加速度計データを分析する際に必ず必要となるもので、本研究の結果は、客観的で妥当性の高い評価法の開発に資するものと考えられた。

## F. 健康危険情報

該当せず

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Inoue S, Ohya Y, Tudor-Locke C, Yoshiike N, Shimomitsu T. Step-defined physical activity and cardiovascular risk among middle-aged Japanese: the National Health and Nutrition Survey of Japan 2006. *J Phys Act Health*. In press, 2012
- 2) Tudor-Locke C, Craig CL, Brown WJ, Clemes SA, De Cocker K, Giles-Corti B,



- Hatano Y, Inoue S, Matsudo SM, Mutrie N, Oppert JM, Rowe DA, Schmidt MD, Schofield GM, Spence JC, Teixeira PJ, Tully MA, Blair SN. How Many Steps/day are Enough? For Adults. *Int J Behav Nutr Phys Act*, 8: 79, 2011
- 3) Inoue S, Ohya Y, Tudor-Locke C, Tanaka S, Yoshiike N, Shimomitsu T. Time trends for step-determined physical activity among Japanese adults. *Med Sci Sports Exerc*, 43: 1913-1919, 2011
- 4) Inoue S, Sugiyama T, Takamiya T, Oka K, Owen N and Shimomitsu T. Television viewing time is associated with overweight/obesity among older adults, independent of meeting physical activity and health guidelines. *J Epidemiol*. 22(1):50-56, 2011
- 5) Liao Y, Harada K, Shibata A, Ishii K, Oka K, Nakamura Y, Sugiyama T, Inoue S, Shimomitsu T. Joint associations of physical activity and screen time with overweight among Japanese adults. *Int J Behav Nutr Phys Act*. 8:131, 2011
2. 学会発表
- 1) 三宅理江子、井上茂、石橋弘子、赤木達規、高田和子、田中茂穂：加速度計の装着/非装着の判定法，第66回日本体力医学会大会，2011

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

Table 1. Physical characteristics in subjects.

Male / female	9 / 12
Age (y)	28.5 ± 6.3
Height (cm)	166.1 ± 9.6
Weight (kg)	56.8 ± 9.7
Body mass index (kg/ m <sup>2</sup> )	20.5 ± 1.9

Values are means ± standard deviations.

Table 2. Characteristics of wear time and step counts in subjects.

	Log book	OM_10	OM_60	SZ
Wear Time (hours)				
Log book	15.3 ± 2.3			
Method 0 (0 min)		12.7 ± 2.6	13.0 ± 2.6	
Method 1 (5 min)		14.6 ± 2.3	13.9 ± 2.5	13.6 ± 2.4
Method 2 (10 min)		14.9 ± 2.2	14.4 ± 2.4	14.2 ± 2.4
Method 3 (15 min)		15.0 ± 2.2	14.6 ± 2.3	14.6 ± 2.3
Method 4 (20 min)		15.1 ± 2.2	14.7 ± 2.4	14.8 ± 2.3
Method 5 (30 min)		15.4 ± 2.2	15.0 ± 2.4	15.1 ± 2.3
Method 6 (40 min)		15.6 ± 2.1	15.2 ± 2.3	15.3 ± 2.3
Method 7 (50 min)		15.7 ± 2.2	15.4 ± 2.3	15.5 ± 2.4
Method 8 (60 min)		15.8 ± 2.1	15.5 ± 2.2	15.5 ± 2.4
Method 9 (70 min)		15.8 ± 2.1	15.6 ± 2.2	15.6 ± 2.4
Method 10 (80 min)		15.9 ± 2.1	15.8 ± 2.2	15.6 ± 2.4
Method 11 (90 min)		16.0 ± 2.1	15.9 ± 2.1	15.6 ± 2.4
Method 12 (120 min)		16.0 ± 2.0	16.0 ± 2.1	15.6 ± 2.4
Step counts (including sleep) (Steps/day)		9126 ± 4862	9126 ± 4862	10076 ± 5134

Values are means ± standard deviations. TEE: Total energy expenditure, OM\_10: Omron accelerometer 10 sec, OM\_60: Omron accelerometer 60 sec, SZ: Suzuken accelerometer.

Method 0-12: Non-wearing was defined as no acceleration signal for 0, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 120 min.

Table3. Intraclass correlation between Log book and three accelerometer\_Method 0-12.

	OM_10			OM_60			SZ		
	ICC	95% CI		ICC	95% CI		ICC	95% CI	
		lower	upper		lower	upper		lower	upper
Method0 (0 min)	0.295	0.054	0.503	0.385	0.154	0.576	-	-	-
Method1 (5 min)	0.878	0.806	0.924	0.664	0.500	0.782	0.557	0.361	0.706
Method2 (10 min)	0.906	0.849	0.942	0.815	0.712	0.884	0.732	0.593	0.829
Method3 (15 min)	0.924	0.878	0.954	0.860	0.780	0.913	0.862	0.782	0.914
Method4 (20 min)	0.937	0.898	0.961	0.884	0.815	0.928	0.889	0.823	0.931
Method5 (30 min)	0.947	0.914	0.967	0.923	0.876	0.952	0.938	0.900	0.962
Method6 (40 min)	0.922	0.875	0.952	0.921	0.873	0.951	0.943	0.907	0.965
Method7 (50 min)	0.908	0.853	0.943	0.936	0.897	0.961	0.953	0.924	0.971
Method8 (60 min)	0.898	0.837	0.937	0.928	0.885	0.956	0.954	0.926	0.972
Method9 (70 min)	0.884	0.816	0.928	0.917	0.867	0.949	0.947	0.913	0.967
Method10 (80 min)	0.874	0.800	0.921	0.895	0.833	0.935	0.947	0.913	0.967
Method11 (90 min)	0.852	0.768	0.908	0.861	0.781	0.914	0.944	0.909	0.965
Method12 (120 min)	0.845	0.757	0.903	0.863	0.784	0.915	0.944	0.909	0.965

ICC: Interclass correlation. CI: Confidence interval.

OM\_10: Omron accelerometer 10 sec, OM\_60: Omron accelerometer 60 sec, SZ: Suzuken accelerometer.

Method 0-12: Non-wearing was defined as no acceleration signal for 0, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 120 min.

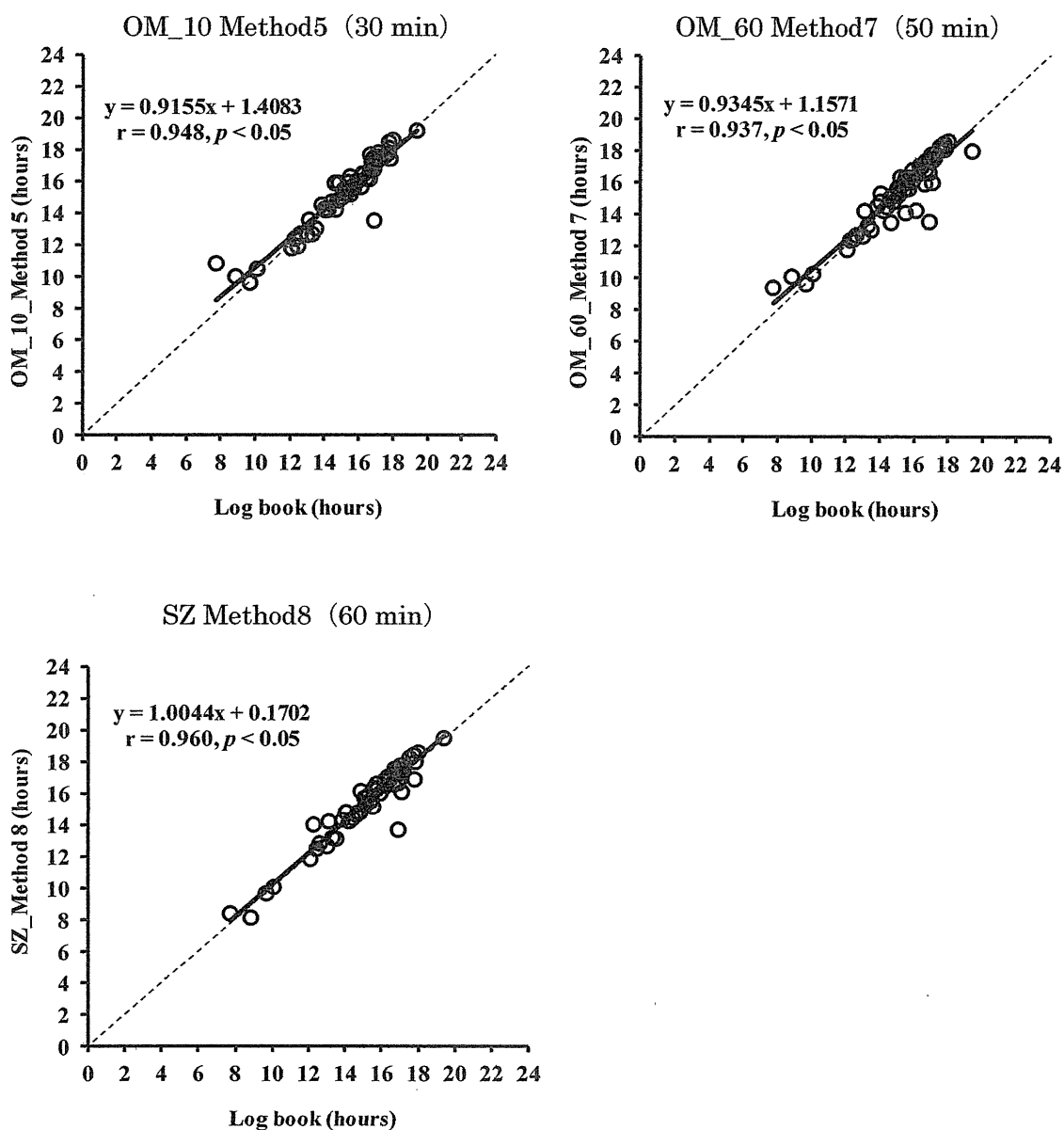


Fig. 1. Relationship between Method 0-12 and Log Book.

dashed line (---); identity line.

OM\_10: Omron accelerometer 10 sec, OM\_60: Omron accelerometer 60 sec, SZ: Suzuken accelerometer

### Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

#### 書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
なし							

#### 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Park J, <u>Ishikawa-Takata K</u> , <u>Tanaka S</u> , <u>Hikihara Y</u> , Ohkawara K, Watanabe S, Miyachi M, Morita A, Aiba N, <u>Tabata I</u>	Relation of body composition to daily physical activity in free-living Japanese adult women	Br J Nutr	106(7)	1117-1127	2011
Park JH, <u>Ishikawa-Takata K</u> , <u>Tanaka S</u> , <u>Mekata Y</u> , <u>Tabata I</u>	Effects of walking speed and step frequency on estimation of physical activity using accelerometers	J Physiol Anthropol	30(3)	119-127	2011
Miyake R, <u>Tanaka S</u> , Ohkawara K, <u>Ishikawa-Takata K</u> , <u>Hikihara Y</u> , Taguri E, Kayashita J, <u>Tabata I</u>	Validity of predictive equations for basal metabolic rate in Japanese adults	J Nutr Sci Vitaminol	57(3)	224-232	2011
Miyake R, Ohkawara K, <u>Ishikawa-Takata K</u> , Morita A, Watanabe S, <u>Tanaka S</u>	Obese Japanese adults with Type 2 diabetes have higher basal metabolic rates than non-diabetic adults	J Nutr Sci Vitaminol	57(5)	348-354	2011

Tudor-Locke C, Craig CL, Beets MW, Belton S, Cardon GM, Duncan S, Hatano Y, Lubans DR, Olds TS, Raustorp A, Rowe DA, Spence JC, <u>Tanaka S</u> , Blair SN	How Many Steps/day are Enough? For Children and Adolescents	Int J Behav Nutr Phys Act	8(1)	78	2011
Tudor-Locke C, Craig CL, Brown WJ, Clemes SA, De Cocker K, Giles-Corti B, Hatano Y, <u>Inoue S</u> , Matsudo SM, Mutrie N, Oppert JM, Rowe DA, Schmidt MD, Schofield GM, Spence JC, Teixeira PJ, Tully MA, Blair SN	How Many Steps/day are Enough? For Adults	Int J Behav Nutr Phys Act	8(1)	79	2011
<u>Inoue S</u> , Ohya Y, Tudor-Locke C, <u>Tanaka S</u> , Yoshiike N, Shimomitsu T	Time trends for step-determined physical activity among Japanese adults	Med Sci Sports Sci	43(10)	1913-1919	2011
Ohkawara K, <u>Ishikawa-Takata K</u> , Park J, <u>Tabata I</u> , <u>Tanaka S</u>	How much locomotive activity is needed for an active physical activity level: analysis of total step counts	BMC Research Notes	4	512	2011
<u>田中茂穂</u>	日本人の代謝基準値の再評価	体育の科学	61(8)	576-582	2011
<u>田中茂穂</u>	エネルギー代謝と加齢	医と食	3(4)	180-182	2011
<u>Inoue S</u> , Sugiyama T, Takamiya T, Oka K, Owen N and Shimomitsu T	Television viewing time is associated with overweight/obesity among older adults, independent of meeting physical activity and health guidelines	J Epidemiol	22(1)	50-56	2012

Liao Y, Harada K, Shibata A, Ishii K, Oka K, Nakamura Y, Sugiyama T, <u>Inoue S</u> , Shimomitsu T	Joint associations of physical activity and screen time with overweight among Japanese adults	Int J Behav Nutr Phys Act	8	131	2011
<u>Inoue S</u> , Ohya Y, Odagiri Y, Takamiya T, Suijo K, Kamada M, Okada S, Tudor-Locke C, Shimomitsu T	Sociodemographic determinants of pedometer-determined physical activity among Japanese adults	Am J Prev Med	40	566-571	2011
Kamada M, Kitayuguchi J, Shiwaku K, <u>Inoue S</u> , Okada S, Mutoh Y	Differences in association of walking for recreation and for transport with maximum walking speed in an elderly Japanese community population	J Phys Act Health	8	841-847	2011
Liao Y, Harada K, Shibata A, Ishii K, Oka K, Nakamura Y, <u>Inoue S</u> , Shimomitsu T	Perceived environmental factors associated with physical activity among normal-weight and overweight Japanese men	Int J Environ Res Public Health	8	931-943	2011
Ohkawara K, Oshima H, <u>Hikihara Y</u> , <u>Ishikawa-Takata K</u> , <u>Tabata I</u> , <u>Tanaka S</u>	Real-time estimation of daily physical activity intensity by triaxial accelerometer and a gravity-removal classification algorithm	British Journal of Nutrition	105	1681-1691	2011

#### IV. 研究成果の刊行物・別刷



## Relation of body composition to daily physical activity in free-living Japanese adult women

Jonghoon Park<sup>1\*</sup>, Kazuko Ishikawa-Takata<sup>1</sup>, Shigeo Tanaka<sup>1</sup>, Yuki Hikiyama<sup>2</sup>, Kazunori Ohkawara<sup>1,3</sup>, Shaw Watanabe<sup>1</sup>, Motohiko Miyachi<sup>1</sup>, Akemi Morita<sup>1</sup>, Naomi Aiba<sup>1</sup> and Izumi Tabata<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Health Promotion and Exercise Program, National Institute of Health and Nutrition, Tokyo, Japan

<sup>2</sup>Faculty of Engineering, Chiba Institute of Technology, Narashino, Japan

<sup>3</sup>Center for Human Nutrition, University of Colorado, Denver, CO, USA

<sup>4</sup>Faculty of Sport and Health Science, Ritsumeikan University, Kusatsu, Shiga 525-8577, Japan

(Received 16 June 2010 – Revised 4 January 2011 – Accepted 14 February 2011 – First published online 17 May 2011)

### Abstract

The objective of the present study was to investigate the relationship between the indices of body size such as BMI, fat-free mass index (FFMI, FFM/height<sup>2</sup>), fat mass index (FMI, FM/height<sup>2</sup>), and body fat percentage (%BF), and physical activities assessed by the doubly-labelled water (DLW) method and an accelerometer in free-living Japanese adult women. We conducted a cross-sectional study in 100 female subjects ranging in age from 31 to 69 years. Subjects were classified in quartiles of BMI, FFMI, FMI and %BF. Daily walking steps and the duration of light to vigorous physical activity were simultaneously assessed by an accelerometer for the same period as the DLW experiment. Only physical activity-related energy expenditure (PAEE)/FFM and PAEE/body weight (BW) decreased in the highest quartile of BMI. Physical activity level, PAEE/FFM and PAEE/BW decreased in the highest quartile of FMI and %BF, whereas they were not different among quartiles of FFMI. Daily walking steps and the duration of moderate- and vigorous-intensity physical activities decreased or tended to decrease in the highest quartile of FMI and %BF, but did not differ among quartiles of FFMI and BMI. These results clearly showed that Japanese adult women with higher fat deposition obviously had a low level of physical activities assessed by both the DLW method and accelerometry, but those with larger BMI had lower PAEE/FFM and PAEE/BW only. Our data suggest that the relationship between obesity and daily physical activities should be discussed using not only BMI but also FMI or %BF.

**Key words:** Body composition; Physical activity; Doubly-labelled water; Accelerometry; Japanese adult women

Obesity is caused by an imbalance between energy intake and energy expenditure. Obese individuals are often considered to be physically less active than normal-weight individuals. However, most cross-sectional studies using the doubly-labelled water (DLW) method, which is known to be the most accurate method of measuring energy expenditure in free-living conditions<sup>(1,2)</sup>, have reported that physical activity level (PAL; the ratio of total energy expenditure (TEE):BMR) did not differ among BMI categories<sup>(3–6)</sup>. The reason for the lack of this association may be partly explained by differences in the distribution of fat-free mass (FFM) and fat mass (FM). PAL appears to be negatively associated with FM<sup>(7,8)</sup>, but not correlated with FFM<sup>(5)</sup>. However, these studies have only reported information on the association between PAL and either FM or FFM, which are not adjusted for body size, such as body height. To our knowledge, no information is

available from thoroughly examining the relationship between BMI or body composition, i.e. FFM index (FFMI, FFM divided by height squared), FM index (FMI, FM divided by height squared) or body fat percentage (%BF) and physical activity in adult women, particularly in Asian populations.

Recently, many cross-sectional studies on adult women in Western countries and Japan reported that BMI and %BF were inversely associated with daily walking steps<sup>(9,10)</sup>. Furthermore, %BF was negatively associated with the duration of vigorous-intensity physical activity assessed by accelerometry<sup>(11)</sup>. Therefore, not only physical activity-related energy expenditure (PAEE) but also the intensity of the physical activity or walking steps should be lower among adult women with higher body mass or fat deposition.

In the present study, we investigated the relationship between various indices of body size such as BMI, FFMI,

**Abbreviations:** %BF, body fat percentage; BW, body weight; DHQ, diet history questionnaire; DMW, doubly-labelled water; FFM, fat-free mass; FFMI, fat-free mass index; FM, fat mass; FMI, fat mass index; METs, metabolic equivalents; PAEE, physical activity-related energy expenditure; PAL, physical activity level; SCOP, Saku Control Obesity Program; TEE, total energy expenditure.

\* **Corresponding author:** Dr Jonghoon Park, fax +81 3 3203 1731, email jonghoonp@hotmail.com

FMI and %BF, and daily physical activities assessed by the DLW method and accelerometry in free-living Japanese adult women.

## Methods

### Subjects

Study participants were recruited through healthcare centres or at workplaces from various prefectures of the Kanto area (central Japan) and the Kyushu area (Western Japan), and from the Saku Control Obesity Program (SCOP). The details of SCOP are described elsewhere<sup>(12)</sup>. In each location, subjects were included according to the following criteria: (a) in good health; (b) not pregnant or breast-feeding; (c) BMI higher than 18.5 kg/m<sup>2</sup>; (d) living in their home prefecture 2 weeks before and during the study; (e) not on a weight-loss or treatment diet; and (f) alcohol consumption less than 40 g/d. As a result, 100 female subjects aged 31 to 69 years participated in the present study. Daily physical activity was estimated over the 14 d study period in free-living conditions using the DLW method and accelerometry. Over the entire assessment period, subjects were carefully instructed to maintain their normal daily activities and eating patterns and to make no conscious effort to lose or gain weight.

### Procedures

The experimental design is shown in Fig. 1. Participants completed two visits to study sites on day 0 and day 15. On the day before the start of measuring physical activity (day 0), urine samples were collected early in the morning, 12 h or longer after the last meal (baseline urine sample), and body weight (BW) and height were measured, BMR was measured in the supine position and then the participants received a dose of DLW. On the day after the physical activity measurement (day 15), BW was measured and we then received back the urine samples, accelerometer and a self-administered diet history questionnaire (DHQ). The present study was conducted according to the guidelines laid down in the Declaration of Helsinki and all procedures involving human subjects were approved by the Ethical Committee of the National Institute of Health and Nutrition in Japan. All subjects gave their written informed consent before the commencement of the investigations.

### Anthropometric measures

Anthropometric measures were obtained in the fasting state on the day before (day 0) and after the 14 d study period (day 15). BW was measured to the nearest 0.1 kg and height to the nearest 0.1 cm, in individuals wearing the lightest clothing, with underwear and no shoes. BMI was calculated as BW (kg) divided by the square of body height (m<sup>2</sup>).

### Diet history questionnaire

The DHQ is a validated sixteen-page structured questionnaire that assesses dietary habits in the preceding 1-month period<sup>(13)</sup>. Well-trained dietitians checked the DHQ to find omissions or errors and corrected them by asking questions of each participant. Details of the DHQ, methods of calculating nutrients and validity are given elsewhere<sup>(13)</sup>. We calculated the food quotient using the data from the DHQ to evaluate TEE.

### Doubly-labelled water

After providing a baseline urine sample, a single dose of approximately 0.06 g <sup>2</sup>H<sub>2</sub>O/kg BW (99.8 atom%; Cambridge Isotope Laboratories, Andover, MA, USA) and 1.4 g H<sub>2</sub><sup>18</sup>O/kg BW (10.0 atom%; Taiyo Nippon Sanso, Tokyo, Japan) was given orally to each subject on day 0. After dose administration, participants were asked to collect urine samples on day 1 (the day after the DLW dose) and on eight additional times during the study period at the same time of the day (Fig. 1). All urine samples except for the baseline one were collected by the participant either at home or their place of work, and the time of sampling was recorded. All samples were first stored by freezing at -30°C in airtight parafilm-wrapped containers, and then analysed in our laboratory.

### Gas analysis

Gas samples for the isotope ratio mass spectrometer were prepared by equilibration of urine samples with a gas. The gas for equilibration of <sup>18</sup>O was CO<sub>2</sub> and that for <sup>2</sup>H was H<sub>2</sub>. Pt catalyst was used for equilibration of <sup>2</sup>H. The urine was analysed by a DELTA Plus isotope ratio mass spectrometer (Thermo Electron Corporation, Bremen, Germany). Each sample and the corresponding reference were analysed in duplicate.

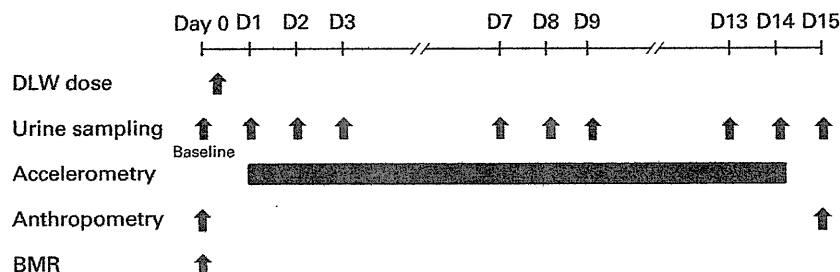


Fig. 1. Schematic representation of the experimental design. On day 0, the <sup>2</sup>H<sub>2</sub><sup>18</sup>O (doubly-labelled water; DLW) dose was given orally to each subject after collecting a baseline urine sample and performing the BMR and anthropometric measurements.

The average standard deviations through the analyses were 0.5‰ for  $^2\text{H}$  and 0.03‰ for  $^{18}\text{O}$ .

#### Calculations of total energy expenditure and body composition

The  $^2\text{H}$  and  $^{18}\text{O}$  zero-time intercepts and elimination rates ( $k_{\text{H}}$  and  $k_{\text{O}}$ ) were calculated by using a least-squares linear regression on the natural logarithm of the isotope concentration as a function of the elapsed time from dose administration. The zero-time intercepts were used to determine the isotope pool sizes. Total body water (TBW) was calculated from the mean value of the isotope pool size of  $^2\text{H}$  divided by 1.041 and that of  $^{18}\text{O}$  divided by 1.007. FFM was calculated assuming a FFM hydration of 0.732<sup>(14)</sup>. FM was calculated as BW minus FFM and %BF was then computed from BW and FFM. The TEE (kJ/d) calculation was performed using a modification of Weir's formula<sup>(15)</sup> based on the  $\text{CO}_2$  production rate ( $\text{rCO}_2$ ) and respiratory quotient.  $\text{rCO}_2$  was calculated as follows:  $\text{rCO}_2 = 0.4554 \times \text{TBW} \times (1.007k_{\text{O}} - 1.041k_{\text{H}})$ . The food quotient calculated from DHQ was used instead of the respiratory quotient. This assumes that under conditions of perfect nutrient balance the food quotient must equal the respiratory quotient<sup>(16,17)</sup>. PAL was estimated by dividing TEE by BMR. PAEE was calculated as  $0.9 \times \text{TEE} - \text{BMR}$ , assuming the thermic effect of food was 10% of TEE<sup>(18)</sup>.

#### BMR

BMR was measured in the supine position in the early morning 12 h or longer after the last meal, as described previously<sup>(19)</sup>. The measurement was performed using a Douglas bag for 10 min  $\times$  2 with 1 min of intermission. After the expired air was sampled, the  $\text{O}_2$  and  $\text{CO}_2$  concentrations were measured using a gas analyser (Arco System, AR-1, Kashiwa, Japan for the participants from the SCOP study, or Arco System, ARCO-1000, Kashiwa, Japan, for the rest of the participants) and the volume of expired air was measured with a certified dry gas meter (DC-5; Shinagawa, Tokyo, Japan). BMR was estimated from  $\text{O}_2$  consumption and  $\text{CO}_2$  production using Weir's equation<sup>(15)</sup>.

#### Accelerometry

The Lifecorder EX (Suzuken Co., Ltd, Nagoya, Japan) is a uniaxial accelerometer widely used in many countries due to its reasonable cost and reliable validity for measuring metabolic equivalents (METs) and step counts<sup>(20–22)</sup>. In the present study, the Lifecorder EX was attached on the left side of the waist at the midline of the left thigh. The movement data are categorised into eleven activity levels (0, 0.5, and 1 to 9). We applied METs for each activity level according to the study of Kumahara *et al.*, and the intensity of activity was divided into light ( $< 3$  METs), moderate ( $\geq 3$  and  $< 6$  METs) and vigorous ( $\geq 6$  METs)<sup>(20)</sup>.

#### Statistics

All values are presented as mean values and standard deviations. BMI was calculated as BW (measured before DLW dose) divided by height squared. FFMI and FMI were calculated as FFM and FM divided by height squared, respectively. Subjects were classified by quartiles of BMI, FFMI, FMI and %BF. Homoscedasticity or homogeneity of variances in physical characteristics did not follow a normal distribution, the non-parametric test of Kruskal–Wallis analysis was used to compare the variables in physical characteristics among quartiles, and the Mann–Whitney *U* test was used for multiple comparisons. In variables that were normally distributed, one-way ANOVA was used to compare the variables among quartiles and Fisher's least square difference was used as a *post hoc* test for multiple comparisons. The associations between physical activities and body size or composition were examined by linear regression analysis. In one-way ANOVA, *post hoc* tests and Kruskal–Wallis tests, differences were considered to be statistically significant if the *P* value was less than 0.05; using the Mann–Whitney *U* test, differences were deemed significant at  $P < 0.0125$  (modification using Bonferroni's inequality). All statistical treatments were done using SPSS for Windows (version 16.0J; SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

#### Results

Of the total 100 women studied, the proportion of normal-weight ( $\text{BMI} \geq 18.5$  to  $< 25 \text{ kg/m}^2$ ) and overweight participants ( $\text{BMI} \geq 25 \text{ kg/m}^2$ ) was 76 and 24%, respectively. The mean age of the subjects was 51.8 (SD 11.2; range 31–69) years. The mean BW and BMI were 57.4 (SD 12.2; range 41.7–109.7) kg and 23.5 (SD 4.4; range 18.8–40.0)  $\text{kg/m}^2$ , respectively. BW did not change during the study (change of BW 0.02 (SD 0.7) kg;  $P = 0.987$ ). The range of PAL was 1.36–2.52, with a mean value of 1.88.

Physical characteristics and physical activity variables among quartiles of BMI, FFMI, FMI and %BF are shown in Tables 1–4, respectively. Among the physical characteristics, age and height were not significantly different among quartiles. BMI increased linearly with FMI ( $r = 0.943$ ) and %BF ( $r = 0.749$ ), whereas FFM increased in the 4th quartiles of FMI and %BF (Tables 3 and 4).

Of energy expenditure components, TEE/BW decreased linearly with BMI, FMI and %BF. On the other hand, TEE/BW decreased only in the 4th quartile of FFMI (Table 2). PAEE/FFM and PAEE/BW decreased in the 4th quartile of BMI, but PAL did not differ among quartiles (Table 1). Among FFMI quartiles, there were no significant differences among PAL, PAEE/FFM and PAEE/BW. However, among FMI quartiles, all PAL, PAEE/FFM and PAEE/BW decreased in the 4th quartile. Among %BF quartiles, PAL and PAEE/FFM were significantly lower in the 3rd and 4th quartiles than in the 2nd quartile, whereas PAEE/BW decreased from the 3rd quartile. Fig. 2 shows that PAL was negatively associated with FMI, but not with BMI and FFMI (Fig. 2). PAEE/FFM and PAEE/BW were

**Table 1.** Participant characteristics, energy expenditure components and physical activity variables by BMI grouping (Mean values and standard deviations)

BMI (kg/m <sup>2</sup> ) quartiles ...	1st (18.6–20.4)		2nd (20.5–22.1)		3rd (22.3–24.7)		4th (24.7–40.0)		P (ANOVA)	r
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD		
<b>Physical characteristics</b>										
Age (years)	49.7	11.9	51.4	11.8	53.9	11.9	52.4	9.4	0.630	0.038
Height (m)	1.55	0.04	1.56	0.06	1.56	0.04	1.56	0.06	0.890	0.133
Weight (kg)¶	47.1	3.1	52.1††	4.2	57.2†††	3.3	73.0†††§§	13.4	<0.001	0.948***
BMI (kg/m <sup>2</sup> )¶	19.5	0.6	21.3††	0.5	23.5†††	0.9	29.8†††§§	3.9	<0.001	1
%BF¶	28.9	5.1	32.3	4.3	36.0†††	5.0	42.0†††§§	4.6	<0.001	0.747***
FFM (kg)¶	33.5	2.5	35.7	3.6	36.3††	3.8	42.2†††§§	6.7	<0.001	0.743***
FM (kg)¶	13.7	2.8	16.9††	2.7	20.6†††	3.3	30.5†††§§	7.7	<0.001	0.930***
<b>Energy expenditure</b>										
TEE (kJ/d)	8441	1149	8534	883	9333††	1244	9939†††	1523	<0.001	0.527***
TEE/BW (kJ/d per kg)	179.8	27.1	164.7†	21.2	163.5†	23.0	138.1†††§§	20.4	<0.001	-0.588***
BMR (kJ/d)	4492	351	4604	462	4777	588	5558†††§§	892	<0.001	0.725***
PAL	1.88	0.23	1.85	0.22	1.97	0.27	1.80	0.18	0.065	-0.187
PAEE (kJ/d)	3105	913	3077	747	3623	1069	3387	886	0.099	0.120
PAEE/FFM (kJ/d per kg)	92.4	24.8	86.8	21.8	100.7†	30.6	81.3§	20.3	0.040	-0.207*
PAEE/BW (kJ/d per kg)	66.2	20.6	59.7	16.0	63.8	19.7	47.5†††§§	13.1	0.001	-0.403***
<b>Accelerometer</b>										
Step counts (per d)	8994	2151	8872	2619	8624	2729	7808	3402	0.427	-0.286**
Light (<3 METs) (min/d)	57.0	15.8	58.4	23.0	62.0	24.8	55.0	20.3	0.691	-0.107
Moderate (≥ 3 and < 6 METs) (min/d)	28.8	12.0	27.1	13.8	23.3	10.2	21.0	13.8	0.122	-0.316**
Vigorous (≥ 6 METs) (min/d)	3.7	3.4	3.0	2.9	2.7	2.7	2.0	2.7	0.246	-0.239*

¶BF, body fat percentage; FFM, fat-free mass; FM, fat mass; TEE, total energy expenditure; BW, body weight; PAL, physical activity level (= TEE/BMR); PAEE, physical activity energy expenditure (= 0.9TEE - BMR); METs, metabolic equivalents.

\* Significant correlation with BMI: \* P<0.05, \*\* P<0.01, \*\*\* P<0.001.

Mean value was significantly different from that for the 1st quartile: † P<0.05, †† P<0.01.

Mean value was significantly different from that for the 2nd quartile: ‡ P<0.05, ‡‡ P<0.01.

Mean value was significantly different from that for the 3rd quartile: § P<0.05, §§ P<0.01.

|| Subjects were categorised by quartile. There are twenty-five subjects in each quartile.

¶ Because some variables in physical characteristics did not follow a normal distribution, Kruskal–Wallis analysis was used to compare the variables among quartiles, and the Mann–Whitney U test was used for multiple comparisons.