

平成 27 年度

日本大学学位請求論文

短時間高強度運動後の生体反応

日本大学大学院文学研究科
教育学専攻博士後期課程

深 田 喜八郎

研究概要

本研究は、12分間全力走を運動課題とし、短時間高強度運動後の生体反応を検討し、以下のことを明らかにした。

- 1) 交感神経の緊張に伴い、白血球数や血糖値が上昇するが、腹部内臓組織に与える影響は軽微である。
- 2) Body mass index (BMI)が25以上の若年男性は炎症準備状態にあり、細胞膜リン脂質への酸化ストレスが増大する。
- 3) 低分子/高分子リポ蛋白コレステロール比(L/H比)が2.0以上の若年男性は、血管内皮細胞活性化が惹起される。
- 4) BMIが25以上の若年男性は炎症準備状態にあり、線溶活性に有意な変化が認められない。

スポーツや体育教育の現場では、少数ではあるが、若年者における運動中突然死が報告されている。運動中突然死は心因性のものが多く、肥大型心筋症など原因疾患が明確な例もあるが、原因を明らかにできない例も存在する。本研究は、BMIが25以上、あるいはL/H比が2.0以上の若年男性において、12分間全力走後に、細胞膜への酸化ストレスが増大し、血管内皮細胞活性化が惹起される一方、線溶活性に有意な変化が認められないことを明らかにした。この事実は、若年男性においても高強度運動中に血管内皮細胞への傷害が生じ、血液の凝固活性が増大しうることを示しており、潜在的に運動中突然死の危険性が存在することを示唆するものである。

これまで、学校やスポーツ施設において、心疾患などの基礎疾患がなければ、肥満者であっても、適正体重の人と同程度の強度で運動処方がなされてきた。本研究で得られた知見は、肥満者が高強度運動を実施する際、潜在的な危険性が存在することを示している。したがって、BMIが25以上あるいはL/H比が2.0以上の人に運動処方を行う際には、十分に注意を払う必要がある。

目次

第 1 章 序論	1
はじめに	2
第 1 節 運動時の血流再配分	5
第 2 節 12 分間全力走	12
第 3 節 本研究の目的	14
第 2 章 12 分間全力走が生理的变化に与える影響	15
はじめに	16
第 1 節 対象と方法	17
第 2 節 統計分析	21
第 3 節 結果	22
第 4 節 考察	40
第 5 節 結語	46
第 2 章のまとめ	47
第 3 章 12 分間全力走が酸化ストレス反応に与える影響	48
はじめに	49
第 1 節 対象と方法	51
第 2 節 統計分析	54
第 3 節 結果	55
第 4 節 考察	63
第 5 節 結語	69
第 3 章のまとめ	70

第 4 章 12 分間全力走が血管内皮細胞活性化に与える影響	71
はじめに	72
第 1 節 対象と方法	74
第 2 節 統計分析	77
第 3 節 結果	78
第 4 節 考察	85
第 5 節 結語	89
第 4 章のまとめ	90
第 5 章 12 分間全力走が線溶活性に与える影響	91
はじめに	92
第 1 節 対象と方法	94
第 2 節 統計分析	97
第 3 節 結果	98
第 4 節 考察	105
第 5 節 結語	109
第 5 章のまとめ	110
第 6 章 総合的考察	111
本研究で得られた知見	112
スポーツ・体育教育現場での応用	113
今後の研究課題	115
参考・引用文献	116

第 1 章 序論

はじめに	2
第 1 節 運動時の血流再配分	5
第 2 節 12 分間全力走	12
第 3 節 本研究の目的	14

はじめに

近年、若年者から中高年者まで運動に親しむ人が増加しており、体育教育や競技スポーツだけではなく、レクリエーションや健康維持を目的としたものなど、様々な環境・状況下で行われている。Caspersen et al. (1985)¹⁾は、運動を「計画的に構成され、反復性のある身体活動であり、ひとつ以上の体力要素を維持・向上させることを目的とするもの」と定義している。アメリカスポーツ医学会(2011)²⁾が提唱した運動処方指針によれば、健康成人に対する一般的な運動推奨量は以下のようにになっている(図 1-1)。中等度の有酸素運動であれば 1 日 30 分以上を週 5 日以上、高強度の有酸素運動であれば 1 日 20 分以上を週 3 日以上、中等度と高強度の有酸素運動の組み合わせであれば 20-30 分以上を週 3-5 日実施すべきとしている(アメリカスポーツ医学会, 2011²⁾)。健康維持のためには短時間の高強度運動を含めた運動を実施する必要があると述べている。

運動は筋収縮を伴うため、運動を継続するためには筋収縮に必要なエネルギーを供給する必要がある。筋細胞は、細胞質とミトコンドリアにおいて、筋収縮を引き起こすエネルギー物質のアデノシン三リン酸(adenosine triphosphate; ATP)を産生している。細胞質ではグルコース 1 分子がピルビン酸まで代謝される過程で 2ATP が産生される。ピルビン酸はミトコンドリアに取り込まれ、酸素を利用した好気性代謝により 36ATP が産生される(池上, 1994³⁾)。運動強度が上昇すると、グルコースと酸素を効率的に供給するため、交感神経機能が亢進する。交換神経機能が亢進すると、アドレナリンおよびノルアドレナリンが分泌され、心拍数および 1 回拍出量、酸素摂取量が増加する(Terjung, 1979⁴⁾)。心拍出量の増加により骨格筋血流量が増大することで、高強度運動時のエネルギー需要に応答している。

しかし、骨格筋血流量が増大する一方で、その他の組織への血流再配分が起きるといわれている(Flamm et al. , 1990⁵⁾)。特に、腎臓や腹部内臓組

1 つの運動プログラムにあてる頻度 (分/日, 日/週)	運動の種類
1 日 30 分以上 週 5 日以上	中等度(VO_2R の 40–60%)の有酸素運動(持久性運動), 体重負荷のかかる運動, 柔軟性運動
1 日 20 分以上 週 3 日以上	高強度(VO_2R の 60%以上)の有酸素運動, 体重負荷のかかる運動, 柔軟性運動
1 日 20–30 分以上 週 3–5 日	中等度と高強度運動の組み合わせ, 体重負荷のかかる運動, 柔軟性運動

図 1-1 健康成人に対する一般的な運動推奨量

VO_2R : Maximum oxygen uptake reserve ; 最大酸素摂取予備能(最大酸素摂取量と安静時酸素摂取量の差)

(アメリカスポーツ医学会, 2011²⁾より一部改変し引用)

織では安静時と比較して血流量が減少すると報告されている(Flamm et al. , 1990⁵⁾). したがって, 短時間高強度運動による血流再配分は生体に多様な影響を及ぼすと考えられる.

本研究は, 短時間高強度運動前後の生体反応を明らかにすることを目的とし, 本章では, 「運動時の血流再配分」および「12 分間全力走」についてまとめることとした.

第1節 運動時の血流再配分

運動強度が上昇するにつれ交感神経機能が亢進すると、心拍数および1回拍出量が上昇する。心拍出量(L/min)は「1回拍出量×心拍数(毎分)」で求められ、安静時心拍出量は約5,000ml/minであるのに対し、軽運動時は約9,500ml/min、中等度運動時は約17,500ml/min、高強度運動時は約25,000ml/minとなり、運動強度に比例して増加すると言われている(中野, 1982⁶⁾)。心拍出量の増加に伴い骨格筋血流量が増加し、筋細胞のエネルギー需要に応答している。一方、骨格筋以外の組織においても血流量の変化が認められ、運動が生体に与える影響として重要と考えられる。本節では、軽運動時の血流再配分(図1-2)、中等度運動時の血流再配分(図1-3)、高強度運動時の血流再配分(図1-4)をもとに、運動時の血流再配分について概説する。

骨格筋への血流配分

骨格筋に供給される血流量は安静時に約1,200ml/minであるのに対し、軽運動時は4,500ml/min、中等度運動時は約12,500ml/min、高強度運動時は約22,000ml/minとなり、運動強度に比例して増加するといわれている(中野, 1982⁶⁾)。骨格筋の血管には α -アドレナリン受容体があり、通常、交感神経の緊張に伴いアドレナリンやノルアドレナリンが分泌されると血管が収縮すると考えられている。しかし、活動筋においては、 α -アドレナリン受容体を介した血管収縮作用が阻害されることが知られている(Buckwalter et al. , 2001⁷⁾; Rosenmeier et al. , 2003⁸⁾)。活動筋の血管収縮を抑制するシステムを「functional sympatholysis」と呼び(Thomas and Segal, 2004⁹⁾)、骨格筋血流量を増大させる要因となっている。したがって、骨格筋血流量は運動により増大すると考えられる。

脳への血流配分

脳に供給される血流量は安静時，軽運動時，中等度運動時，高強度運動時のいずれも約 750ml/min であり，運動により変化しないといわれている(中野，1982⁶⁾). 脳は血流量の自動調節能(*autoregulation*)を有しており，平均血圧が 60–150mmHg の範囲内では，脳血流量を一定に保つ働きがある(Paulson et al. , 1990¹⁰⁾). 最大酸素摂取量の約 50%の運動を 40 分間実施しても脳血流量は変化しないという報告からも(Madsen et al. , 1993¹¹⁾), 運動により脳血流量は変化しないと考えられる.

心臓への血流配分

心臓への血流量は冠状動脈への血流量を指し，安静時に約 250ml/min であるのに対し，軽運動時は約 350ml/min，中等度運動時は約 750ml/min，高強度運動時は約 1,000ml/min となり，運動強度に比例して増加するといわれている(中野，1982⁶⁾). 冠状動脈は，血管拡張作用のある β -アドレナリン受容体を有している(Miyashiro and Feigl, 1993¹²⁾). 運動強度の上昇に伴い心筋の酸素需要が増大すると，交感神経系ホルモンの影響による心拍数および心拍出量の増加だけではなく，冠状動脈の拡張により血流量を増大させることで，酸素需要に応答すると考えられている(Gorman et al. , 2000¹³⁾).

腎臓への血流配分

腎臓に供給される血流量は安静時に約 1,100ml/min であるのに対し，軽運動時は約 900ml/min，中等度運動時は約 600ml/min，高強度運動時は約 250ml/min となり，運動強度に比例して減少するといわれている(中野，1982⁶⁾). 腎臓も脳と同様に血流量の *autoregulation* 機能を有しており，平均血圧が 70–130mmHg の範囲内では血流量が一定に保たれるよう調節されている(Burke et al. , 2014¹⁴⁾). しかし，中野(1982)⁶⁾の報告と同様，運動により腎血流量が減少すると報告されている(Flamm et al. , 1990⁵⁾; Maeda et

al. , 2002¹⁵⁾). Momen et al. (2005)¹⁶⁾は、運動中、腎臓の autoregulation 機能よりも、交感神経系ホルモンの影響による血管収縮が優先され、腎血流量が減少すると述べている。腎血管に、血管収縮作用のある α -アドレナリン受容体が存在するためと推測される。したがって、運動により腎血流量は減少すると考えられる。

内臓への血流配分

内臓に供給される血流量は安静時に約 1,500ml/min であるのに対し、軽運動時は約 1,100ml/min、中等度運動時は約 600ml/min、高強度運動時は約 300ml/min となり、運動強度に比例して減少するといわれている(中野, 1982⁶⁾). Osada et al. (1999)¹⁷⁾は腹大動脈を測定することで、運動により腹部内臓への血流量が減少することを明らかにしている。さらに、ラットを対象にした実験により、脾臓、胃、腸の血流量がそれぞれ運動後に減少することが指摘され(Maeda et al. , 2002¹⁵⁾)、馬を対象にした実験では、肝血流量の減少も認められている(Dyke et al. , 1998¹⁸⁾)。腹部内臓組織では運動中、交感神経系ホルモンの作用により血管収縮が惹起され、血流量が減少するといわれている(McAlister, 1998¹⁹⁾)。したがって、運動により腹部内臓組織への血流量は減少すると考えられる。

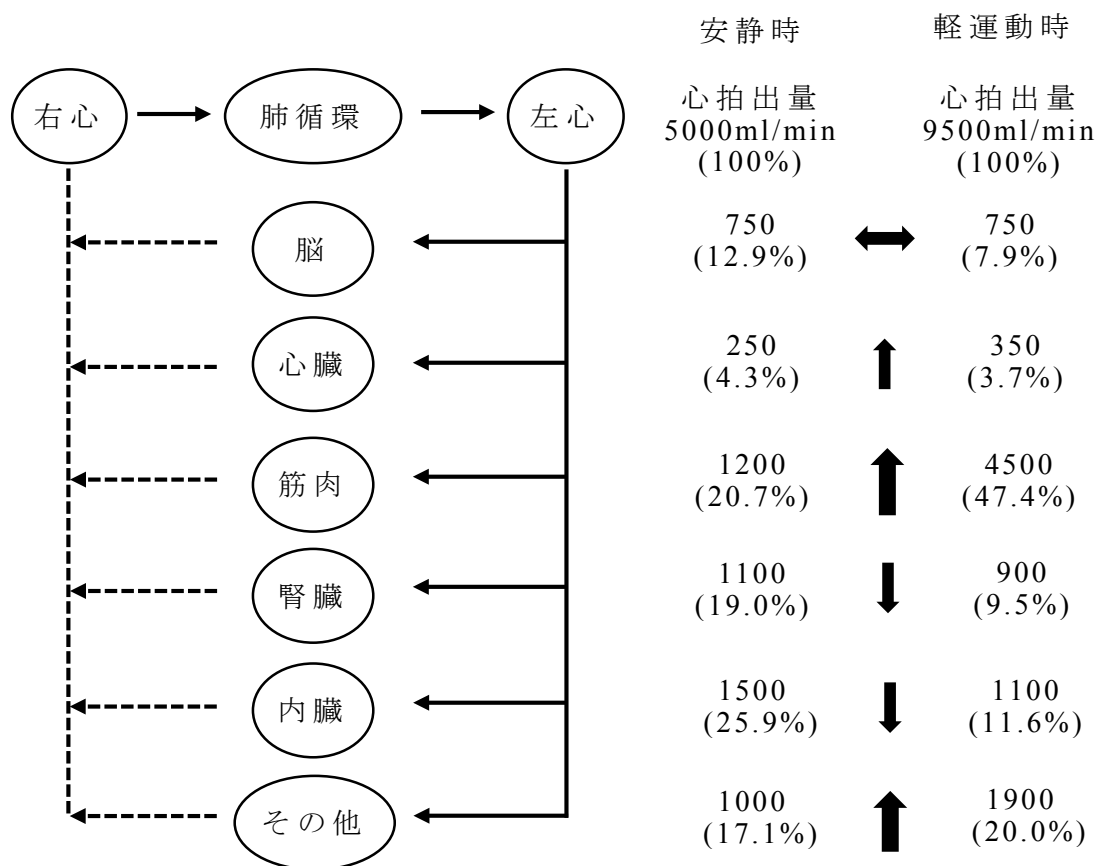


図 1-2 軽運動時の血流再配分

(中野, 1982⁶)より改変し引用)

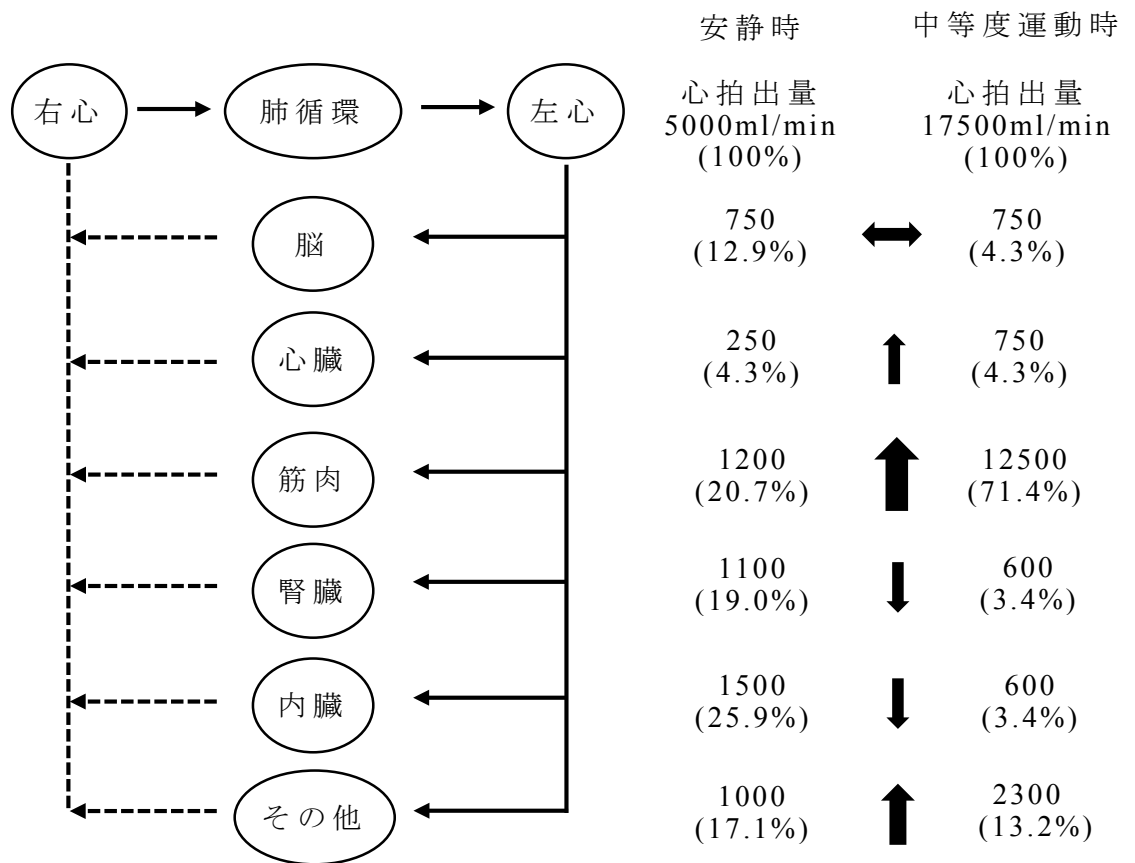


図 1-3 中等度運動時の血流再配分

(中野, 1982⁶⁾より改変し引用)

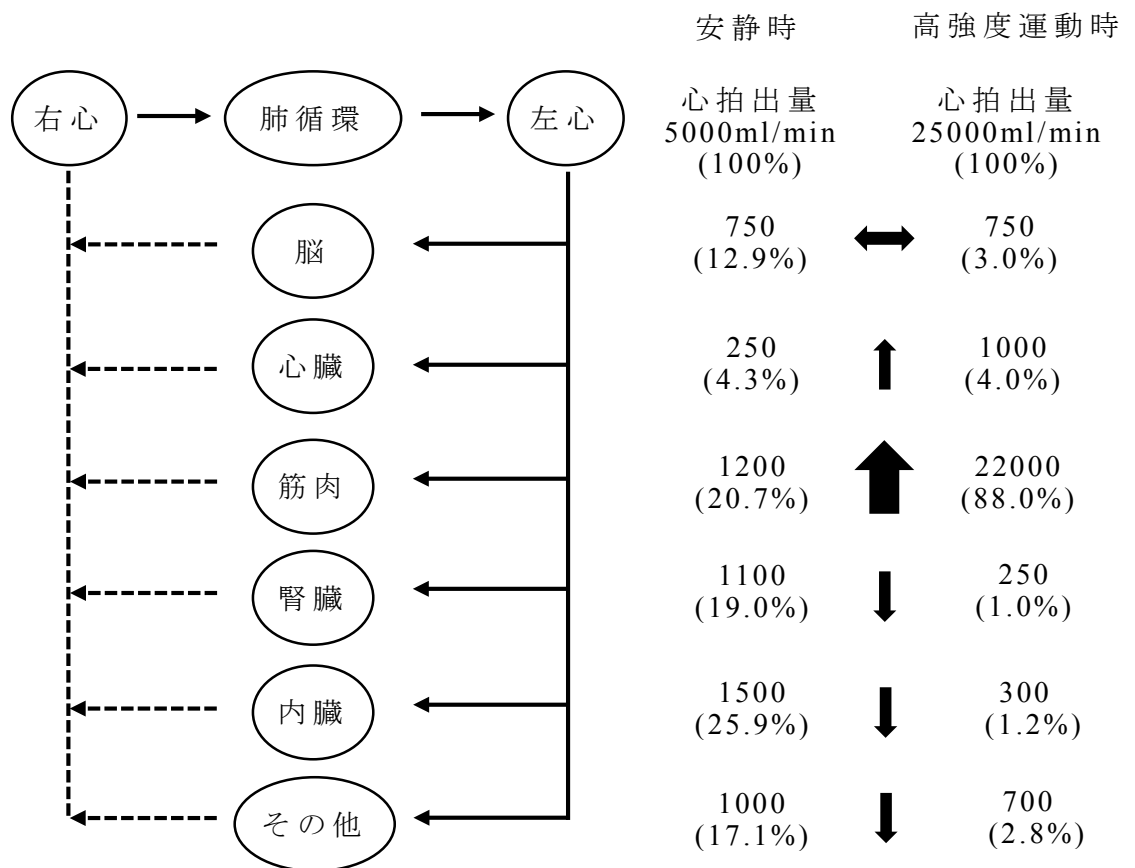


図 1-4 高強度運動時の血流再配分

(中野, 1982⁶⁾より改変し引用)

まとめ

運動強度に比例し、心拍出量が上昇すると、骨格筋や心臓のように運動エネルギーを必要とする組織に優先的に血流が配分されることが示された。脳血流量は autoregulation 機能により一定に保たれるが、腎臓や腹部内臓組織では、交感神経機能の亢進により血管収縮が惹起され、血流量が減少する。特に注目すべきは、運動時、腎臓の血流量は、autoregulation 機能に反して変化することである。腎血管は運動時、autoregulation 機能よりも交感神経系の作用を優先的に受け、血管収縮が惹起され、血流量が減少することが報告されている。したがって、高強度運動に伴う交感神経機能の亢進により血流再配分が惹起され、腎臓及び腹部内臓組織の血流量が減少すると考えられている。

第2節 12分間全力走

1968年, Cooperによって考案された12分間全力走(Cooper 12-min running test)は, 12分間の走行距離をもとに心肺持久力を推測できる体力テストとして知られている(Cooper, 1968²⁰). 心肺持久力の指標には最大酸素摂取量(maximal oxygen uptake; VO_{2max})が主に用いられ, 1分間に摂取される酸素量を測定することで得られる(Taylor et al. , 1955²¹). 12分間全力走の走行距離から推測された VO_{2max} と, 実測した VO_{2max} は高い相関関係にあることから(McNaughton et al. , 1998²²), 心肺持久力を推測するための運動として用いられている.

VO_{2max} は競技スポーツ選手の持久的能力を評価するために用いられるだけではなく(Saltin and Astrand, 1967²³), 健常者の心肺持久力を評価する目的でも用いられている(Rauramaa et al. , 1995²⁴). 岸田ら(1997)²⁵は, VO_{2max} と疾病の関連を検討し, VO_{2max} が高いほど収縮期血圧や中性脂肪などの心疾患危険因子が低いことを明らかにしている. さらに, Lukkanen et al. (2001)²⁶は, 心疾患以外の原因で死亡した例も含め検討した結果, VO_{2max} が高いほど早期に死亡する確率が低いことを報告している. したがって, 個人の心肺持久力を知ることは, スポーツ競技者だけではなく, 日常的に運動を実施しない人にとっても重要となる.

VO_{2max} は通常, トレッドミルや自転車エルゴメーターを使用して漸増負荷運動を課し, 最大努力に達した際の呼気ガスを分析することで測定される. 呼気ガス分析には, ダグラスバッグ法により呼気採集を行い分析するものや, 自動呼気ガス分析装置により測定を行う方法がある(山地, 1992²⁷). しかし, これらの実験機器が設置されているのは研究機関などに限られ, 多額の費用や, 測定手法に精通した人員の確保も必須となる. したがって, 一般のスポーツ現場や体育教育の現場において, 大多数を対象にする場合, VO_{2max} の測定は困難であると考えられる.

一方, 12 分間全力走の実施には特別な実験設備や環境が不要で, 400m の陸上トラックや走行距離の判定ができる環境であれば実施することができる。したがって, 汎用性が高く, 世界中で簡易的な体力テストとして用いられている。実際, 10 代から 40 代まで幅広い年齢層を対象に, 12 分間全力走は心肺持久力を測定するための手法として用いられている (Grant et al. , 1995²⁸⁾ ; Weisgerber et al. , 2009²⁹⁾ ; Coolbaugh et al. , 2014³⁰⁾ ; Bandyopadhyay, 2015³¹⁾).

上述したように, 12 分間全力走は簡易で汎用性の高い体力テストであるが, 被験者は最大努力での走行が必要となり, 生体に高強度の運動負荷が生じると考えられる。これまで, 高強度運動による生体反応を検討する際, 機器を用いた実験室内での研究が多く, 12 分間全力走を用いた研究は極めて少ない。したがって, 本研究は短時間高強度運動が生体に与える影響を検討するため, 12 分間全力走を運動課題とすることとした。

第3節 本研究の目的

アメリカスポーツ医学会(2011)²⁾が示す運動推奨量には(図 1-1), 中強度の運動だけではなく, 高強度運動も含まれる. しかし, 高強度運動を行うことで血流再配分が惹起されるなど, 一概に生体にとって有益ではない可能性がある. 本研究は, 高強度運動の一例として 12 分間全力走を課し, 短時間高強度運動前後の生体反応を明らかにするため, 以下の項目について検討した.

- 1) 生理的変化に与える影響
- 2) 酸化ストレス反応に与える影響
- 3) 血管内皮細胞活性化に与える影響
- 4) 線溶活性に与える影響

これらの反応を明らかにすることで, スポーツや体育教育現場において高強度運動を実施する際, 生体反応として起こりうる現象を, 指導者や運動実施者が把握するための資料にすることができる.

第 2 章 12 分間全力走が生理的变化に与える影響

はじめに	16
第 1 節 対象と方法	17
第 2 節 統計分析	21
第 3 節 結果	22
第 4 節 考察	40
第 5 節 結語	46
第 2 章のまとめ	47

はじめに

人は気温の変化や物理的刺激など、生体外から受ける刺激に対し、生体内の恒常性を維持するための生理的機能を有している。Cannon (1914)³²⁾は、肉体的苦痛や恐怖といった刺激に対する急性反応として、交感神経の緊張に伴い、副腎髄質からアドレナリン分泌が促進されることを報告している。さらに、アドレナリンによる血糖値の上昇が、危機に直面した際の「闘争か逃走」を可能にしていると述べている(Cannon, 1914³²⁾)。さらに、交感神経の緊張により、アドレナリンと類似した作用を有するノルアドレナリンが分泌されるが、大部分が交感神経終末より分泌されるものと考えられている(勝木, 1990³³⁾)。一方、Selye (1936)³⁴⁾は、生体外から受ける刺激に対する適応反応を、汎適応症候群と定義し、ストレス反応の概念を提唱した。ストレス刺激は下垂体前葉から副腎皮質刺激ホルモン(adrenocorticotrophic hormone; ACTH)の分泌を促進し、ACTHの刺激により副腎皮質からコルチゾールが分泌される。ACTH およびコルチゾールは、糖新生をはじめとした多様な生理的変化を惹起すると述べている(Selye, 1946³⁵⁾)。したがって、生体へのストレス刺激は、交感神経系の緊張によるアドレナリン、ノルアドレナリンの分泌と、下垂体前葉・副腎皮質系による ACTH、コルチゾールの分泌を促進する考えられる。過度な運動は生体へのストレス刺激になると述べられていることから(Selye, 1936³⁴⁾)、当然、短時間高強度運動を実施することで、神経・内分泌系を介した生理的変化が認められると考えられる。

本章では、12分間全力走後の生理的変化を明らかにするため、血流再配分が生体に与える影響をはじめ、生体の恒常性を維持する上で欠かすことのできない免疫系、さらには糖代謝にも着目して検討することとした。

第 1 節 対象と方法

1. 対象

被験者には事前に、研究の内容と危険性、研究への参加を辞退する事が被験者にとって不利益にならないということ、いつでも途中辞退ができるということ、研究で得た個人的データは個人が特定できないように管理をすること、を説明した。その後、文書による研究への参加の同意を得た。なお本研究は、所属機関における倫理委員会の承認を得て行われた(承認番号：27-11)。

被験者は、大学生の男性 16 名とした。陸上競技(長距離)、バドミントン、野球、トライアスロン、剣道、相撲を専門種目とし、日常的に部活動で運動を行っている選手であった。被験者の身体的特徴を表 2-1 に示した。

2. 方法

2. 1. 運動負荷

被験者は事前に 12 分間走の経験がある選手を対象とした。実験前日に激しい運動を行うことを避けるように指示し、実験当日、各自ウォーミングアップを行った後、1 周 400 メートルの陸上トラックにて 12 分間全力走を課した。走行中、被験者には 1 周ごとに経過時間を知らせた。陸上トラックには、100 メートルごとにマーカーを置き、走行中、被験者が走行距離を把握するための指標とした。走行中は心拍計(ハートレートモニター s610i, Polar Electro, Finland)を装着し、最大心拍数を測定した。運動強度の指標とするため、走行中の最大心拍数が年齢推定最大心拍数(220-年齢, age predicted maximal heart rate ; APMHR) の何パーセントに達していたか(%APMHR)を求めた。当日の天候は曇り、気温は 7.4℃、湿度は 22%であった。

2. 2. 採血・血液分析

ウォーミングアップ前(運動前, pre)と運動終了約 5 分後(運動後, post)に, 肘正中皮静脈より 20mL ずつ採血し, 以下の項目について分析を行った.

・乳酸値

運動前後に採血した血液サンプルを除蛋白液入りの容器で十分に攪拌し, 室温にて 5 分間, 3000 回/分で遠心分離した. その後, 血球成分と分離した上清液を冷蔵保存し乳酸の測定に用いた. 測定には, 乳酸オキシダーゼ酵素法(SRL Inc. , Tokyo, Japan)により測定した(結果は, 「mg/dL」の単位で測定された値を, 換算係数である 0.111 を掛け, 「mmol/l」に変換して示した).

・アドレナリン, ノルアドレナリン

運動前後に採血した血液サンプルを Ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt dihydrate (EDTA-2Na) 入りの容器内で攪拌混和させ, 低温(4°C)にて 15 分間, 3000 回/分で遠心分離した. その後, 血球成分と分離した血漿を冷凍保存し, アドレナリン, ノルアドレナリンの測定に用いた. 測定には, High Performance Liquid Chromatography 法(SRL Inc. , Tokyo, Japan)を用いた.

・Adrenocorticotrophic hormone (ACTH), コルチゾール

運動前後に採血した血液サンプルを Ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt dihydrate (EDTA-2Na) 入りの容器内で攪拌混和させ, 低温(4°C)にて 15 分間, 3000 回/分で遠心分離した. その後, 血球成分と分離した血漿を冷凍保存し, ACTH, コルチゾールの測定に用いた. 測定には, Electrochemiluminescence Immunoassay 法(SRL Inc. , Tokyo, Japan)を用いた.

・Creatine kinase (CK), Lactate dehydrogenase (LDH)

運動前後に採血した血液サンプルを薬剤無添加の容器内で攪拌混和させ,

室温にて 15 分間, 3000 回/分で遠心分離した。その後, 血球成分と分離した血清を冷蔵保存し, CK, LDH の測定に用いた。測定には Japan Society of Clinical Chemistry (JSCC)標準化法(SRL Inc. , Tokyo, Japan)を用いた。

- ・ Alanine transaminase (ALT), Asparate transaminase (AST), Alkaline phosphatase (ALP), γ -glutamyltransferase (γ -GTP)

運動前後に採血した血液サンプルを薬剤無添加の容器内で攪拌混和させ, 室温にて 15 分間, 3000 回/分で遠心分離した。その後, 血球成分と分離した血清を冷蔵保存し, ALT, AST, ALP, γ -GTP の測定に用いた。測定には Japan Society of Clinical Chemistry (JSCC)標準化法(SRL Inc. , Tokyo, Japan)を用いた。

- ・ クレアチニン

運動前後に採血した血液サンプルを薬剤無添加の容器内で攪拌混和させ, 室温にて 15 分間, 3000 回/分で遠心分離した。その後, 血球成分と分離した血清を冷蔵保存し, クレアチニンの測定に用いた。測定には Japan Society of Clinical Chemistry (JSCC)標準化法(SRL Inc. , Tokyo, Japan)を用いた。測定には酵素法(SRL Inc. , Tokyo, Japan)を用いた。

- ・ 白血球数, 好中球数, リンパ球数

運動前後に採血した血液サンプルを Ethylenediaminetetraacetic acid dipotassium salt dihydrate (EDTA-2K)入り容器にて冷蔵保存し, 全血を用いて白血球数, 好中球数, リンパ球数を求めた。白血球数の測定には, シーフロー電気抵抗方式(SRL Inc. , Tokyo, Japan)を用いた。血液塗抹標本から May-Giemsa 重染色法(SRL Inc. , Tokyo, Japan)により好中球数とリンパ球数の百分率を求め, 白血球数をもとに好中球数とリンパ球数を算出した。

- ・ 赤血球数

運動前後に採血した血液サンプルを Ethylenediaminetetraacetic acid dipotassium salt dihydrate (EDTA-2K)入り容器にて冷蔵保存し, 全血を用い

て赤血球数を求めた。測定には、シースフロー電気抵抗方式(SRL Inc. , Tokyo, Japan)を用いた。

- ・ヘモグロビン，ヘマトクリット

運動前後に採血した血液サンプルを Ethylenediaminetetraacetic acid dipotassium salt dihydrate (EDTA-2K)入り容器にて冷蔵保存し，全血を用いてヘモグロビン，ヘマトクリットを求めた。ヘモグロビンは，Sodium Laurly Sulfate – Hemoglobin 法(SRL Inc. , Tokyo, Japan)を用いて測定した。ヘマトクリットは，赤血球パルス波高値検出方式(SRL Inc. , Tokyo, Japan)を用いて測定した。ヘモグロビン，ヘマトクリットを用い，Dill and Costill (1974)³⁶⁾の方法により血漿変化率(plasma volume change)を求めた。血漿量の減少により，血中成分の測定値は高値を示すことが報告されている(Kargotich et al. , 1997³⁷⁾)。したがって，全ての測定値において，血液濃縮の影響を補正して運動後の値を示した。運動後の測定値に血漿変化率を掛け，求められた数値を運動後の測定値から減じることで，血液濃縮の影響を補正した。

- ・血糖値

運動前後に採血した血液サンプルをフッ化ナトリウム入りの容器内で攪拌混和させ，室温にて15分間，3000回/分で遠心分離した。その後，血球成分と分離した血漿を冷蔵保存し，血糖値の測定に用いた。測定には，ヘキソキナーゼ紫外吸光光度法(SRL Inc. , Tokyo, Japan)を用いた。

第 2 節 統計分析

測定結果は平均±標準誤差(mean ± SE.)で示した. 両群間の比較には対応の無い t 検定を用い, 運動前後の比較には対応のある t 検定を用いた. 測定値間の関連を検討するため, spearman(r_s)の順位相関係数を求めた. いずれも有意水準は 5%未満とした. 分析には, SPSS statistics 21.0 (IBM, USA)を用いた.

第 3 節 結果

表 2-2 に被験者の走行データを示した。心拍数は運動前と比較して、運動中最大心拍数が有意に高い値を示した ($p < 0.01$)。血中乳酸濃度は運動前と比較して運動後、有意に上昇した ($p < 0.01$)。

図 2-1 にアドレナリン、ノルアドレナリンの変化を示した。アドレナリンは運動前と比較して運動後、有意に上昇した (pre: 46.1 ± 6.3 pg/mL, post: 140.1 ± 25.6 pg/mL, $p < 0.01$)。ノルアドレナリンは運動前と比較して運動後、有意に上昇した (pre: 257.7 ± 20.2 pg/mL, post: 1093.0 ± 135.1 pg/mL, $p < 0.01$)。

図 2-2 に ACTH、コルチゾールの変化を示した。ACTH は運動前と比較して運動後、有意に上昇した (pre: 34.1 ± 6.6 pg/mL, post: 103.2 ± 14.7 pg/mL, $p < 0.01$)。コルチゾールは運動前と比較して運動後、有意に上昇した (pre: 16.9 ± 1.5 μ g/mL, post: 24.1 ± 1.2 μ g/mL, $p < 0.01$)。

図 2-3 に CK, LDH の変化を示した。CK は運動前と比較して運動後、有意に上昇した (pre: 226.4 ± 27.1 U/L, post: 247.2 ± 29.0 U/L, $p < 0.01$)。LDH は運動前と比較して運動後、有意に上昇した (pre: 192.0 ± 9.0 U/L, post: 209.4 ± 9.1 U/L, $p < 0.01$)。

図 2-4 に ALT, AST の変化を示した。ALT は運動前と比較して運動後、有意に上昇した (pre: 25.8 ± 3.2 U/L, post: 26.4 ± 3.1 U/L, $p < 0.05$)。AST は運動前と比較して運動後、有意に上昇した (pre: 23.3 ± 1.1 U/L, post: 25.1 ± 1.3 U/L, $p < 0.01$)。

図 2-5 に AST/ALT 比の変化を示した。AST/ALT 比は運動前と比較して運動後に有意な変化はなかった (pre: 1.03 ± 0.08 , post: 1.08 ± 0.09 , $p > 0.05$)。

図 2-6 に ALP, γ -GTP の変化を示した。ALP は運動前と比較して運動後、有意に上昇した (pre: 265.1 ± 23.4 U/L, post: 270.6 ± 22.6 U/L, $p < 0.05$)。 γ -GTP は運動前後で有意差は認められなかった (pre: 31.3 ± 3.7 U/L, post: 31.3 ± 3.7 U/L, $p > 0.05$)。

31.4 ± 3.6 U/L, $p > 0.05$).

図 2-7 にクレアチニンの変化を示した。クレアチニンは運動前と比較して運動後、有意に上昇した(pre: 0.8 ± 0.02 mg/dL, post: 0.9 ± 0.03 mg/dL, $p < 0.01$).

図 2-8 に白血球数の変化を示した。白血球数は運動前と比較して運動後、有意に上昇した(pre: 5725.0 ± 475.2 / μ L, post: 8666.0 ± 436.5 / μ L, $p < 0.01$).

図 2-9 に好中球数, リンパ球数の変化を示した。好中球数は運動前と比較して運動後、有意に上昇した(pre: 3177.7 ± 287.3 / μ L, post: 4532.8 ± 255.2 / μ L, $p < 0.01$). リンパ球数は運動前と比較して運動後、有意に上昇した(pre: 2042.4 ± 186.1 / μ L, post: 3544.5 ± 303.1 / μ L, $p < 0.01$).

図 2-10 に赤血球数, ヘモグロビン, ヘマトクリットの変化を示した。赤血球数は運動前後で有意差は認められなかった(pre: 517.8 ± 7.8 × 10⁴ / μ L, post: 523.0 ± 9.2 × 10⁴ / μ L, $p > 0.05$). ヘモグロビンは運動前と比較して運動後、有意に上昇した(pre: 15.5 ± 0.2 g/dL, post: 15.7 ± 0.2 g/dL, $p < 0.01$). ヘマトクリットは運動前と比較して運動後、有意に上昇した(pre: 46.8 ± 0.5 %, post: 48.1 ± 0.6 %, $p < 0.01$).

図 2-11 に血糖値の変化を示した。血糖値は運動前と比較して運動後、有意に上昇した(pre: 87.0 ± 1.3 mg/dL, post: 134.2 ± 7.7 mg/dL, $p < 0.01$). なお, 図 2-1 から図 2-11 には, 破線(-----)にて測定値の基準値を示した。

図 2-12 に好中球数変化量とアドレナリン変化量, ノルアドレナリン変化量, ACTH 変化量, コルチゾール変化量との相関関係を示した。変化量は, 運動後の値から運動前の値を減じたものとした。好中球数変化量とアドレナリン変化量との間に有意な相関関係が認められた($p < 0.01$). 好中球数変化量とノルアドレナリン変化量との間に有意な相関関係が認められた($p < 0.05$). 好中球数変化量と ACTH 変化量, コルチゾール変化量との間に

有意な相関関係は認められなかった($p > 0.05$).

図 2-13 にリンパ球数変化量とアドレナリン変化量, ノルアドレナリン変化量, ACTH 変化量, コルチゾール変化量との相関関係を示した. リンパ球数変化量とノルアドレナリン変化量との間に有意な相関関係が認められた($p < 0.05$). リンパ球数変化量とアドレナリン変化量, ACTH 変化量, コルチゾール変化量との間に有意な相関関係は認められなかった($p > 0.05$).

図 2-14 に血糖値変化量とアドレナリン変化量, ノルアドレナリン変化量, ACTH 変化量, コルチゾール変化量との相関関係を示した. 血糖値変化量とアドレナリン変化量, ノルアドレナリン変化量との間に有意な相関関係が認められた($p < 0.01$). 血糖値変化量と ACTH 変化量, コルチゾール変化量との間に有意な相関関係は認められなかった($p > 0.05$).

表 2-1 被験者の身体的特徴

年齢(歳)	20.7 ± 0.3
身長(cm)	171.6 ± 1.4
体重(kg)	73.5 ± 3.9
BMI (kg/m ²)	25.1 ± 1.5

Mean ± SE.

BMI : body mass index

表 2-2 走行データ

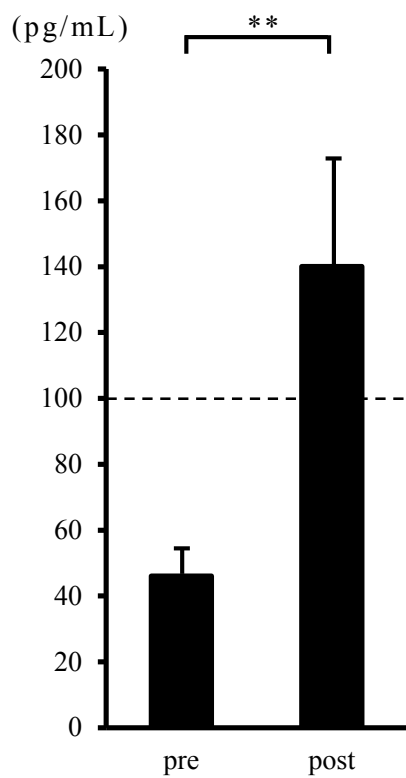
心拍数(bpm)	pre	76.5 ± 2.7
	peak	193.1 ± 2.6 **
APMHR (bpm)		199.2 ± 0.3
%APMHR		96.9 ± 1.3
乳酸値(mmol/L)	pre	1.4 ± 0.1
	post	10.0 ± 0.9 **
走行距離(m)		2799.3 ± 118.0
血漿変化率(%)		-3.8 ± 0.9

Mean ± SE.

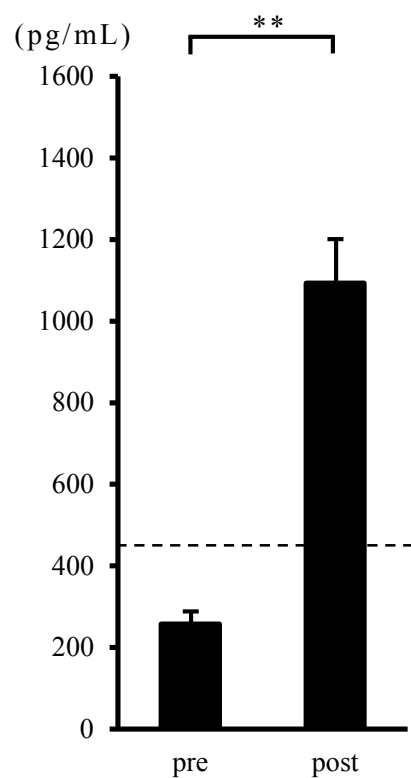
APMHR : 年齢推定最大心拍数(age predicted maximal heart rate)

* : 運動前後の比較(** $p < 0.01$)

アドレナリン



ノルアドレナリン



** $p < 0.01$

図 2-1 アドレナリン, ノルアドレナリンの変化

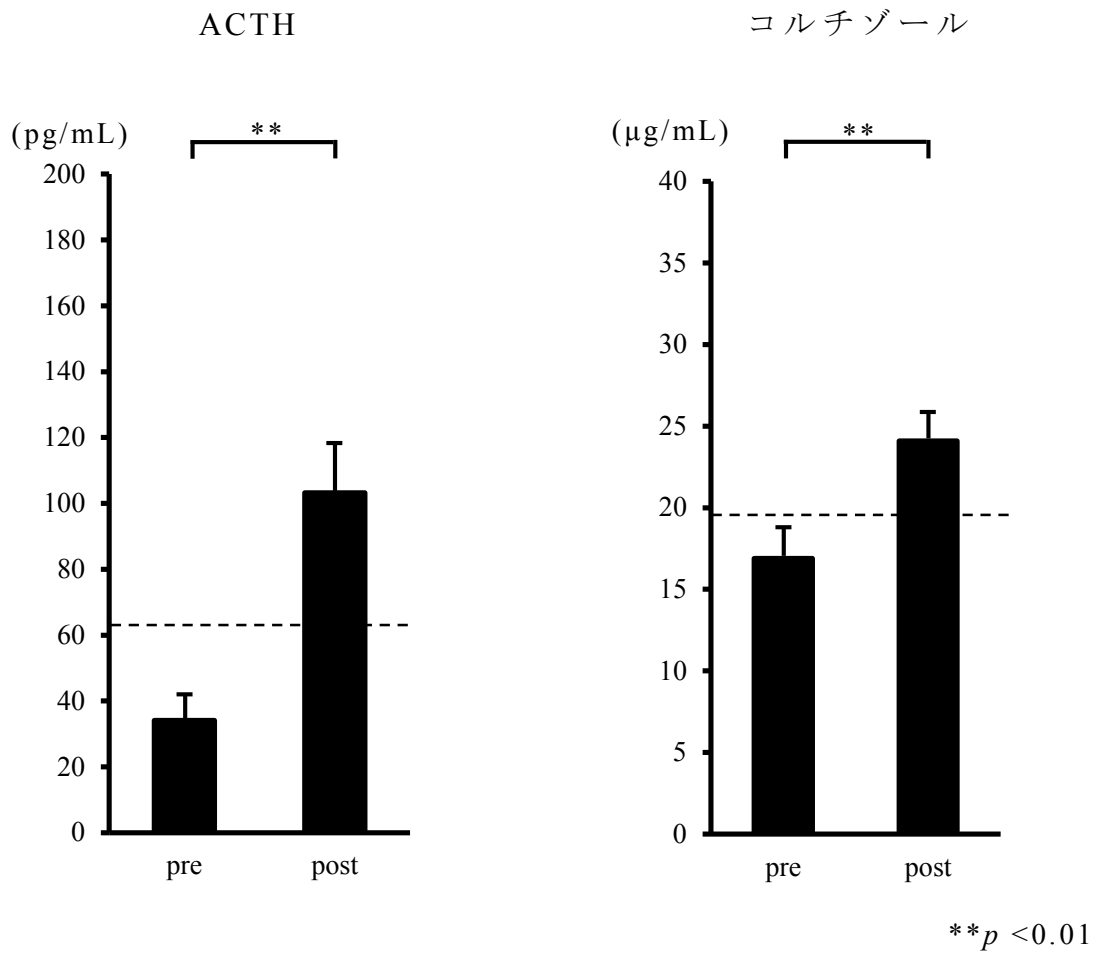
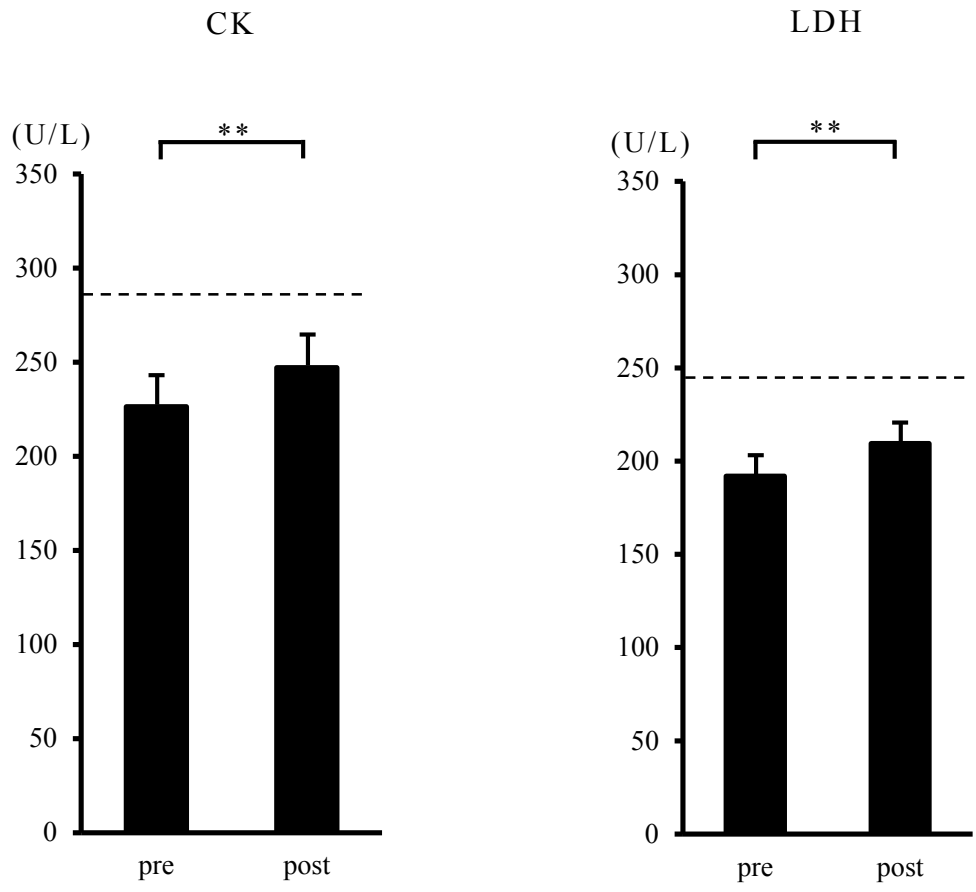


図 2-2 ACTH, コルチゾールの変化



** $p < 0.01$

図 2-3 CK, LDH の変化

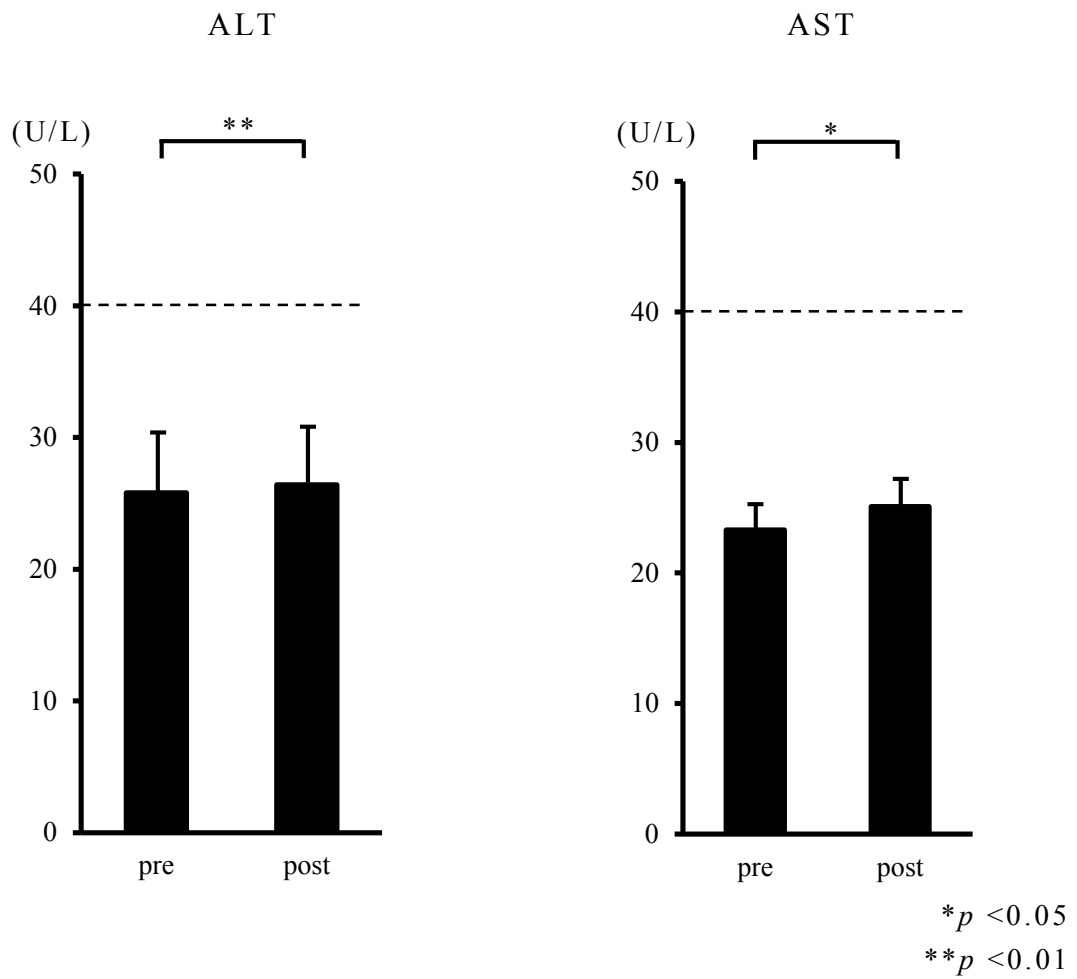


図 2-4 ALT, AST の変化

AST/ALT 比

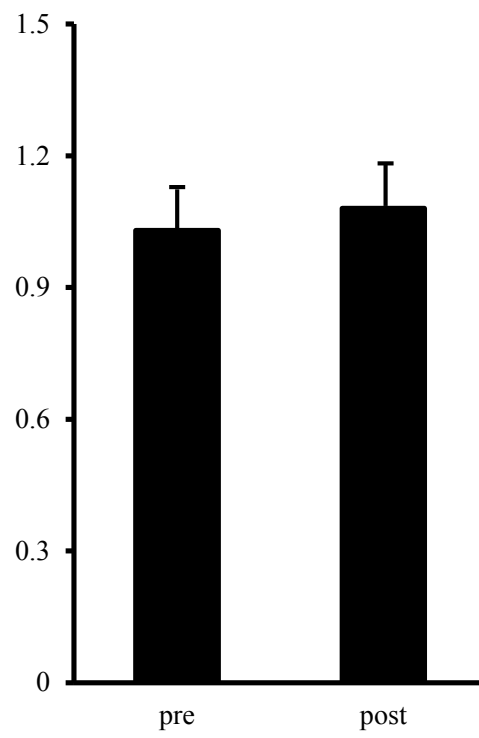
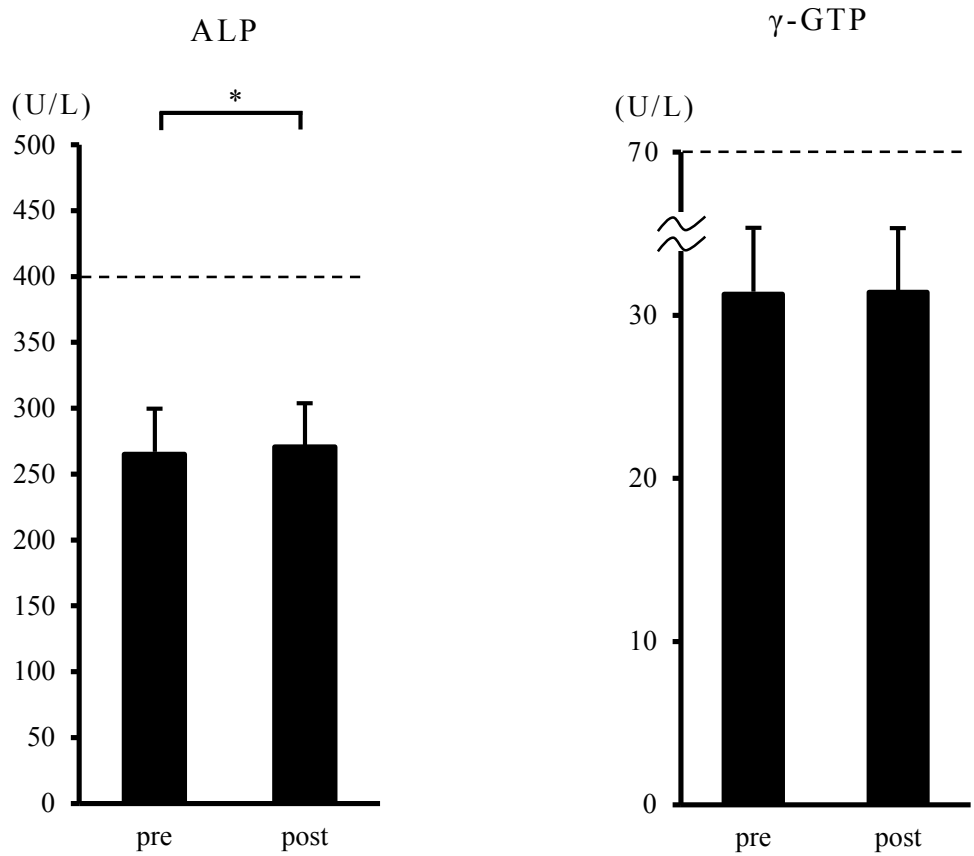


図 2-5 AST/ALT 比の変化



* $p < 0.05$

図 2-6 ALP, γ -GTP の変化

クレアチニン

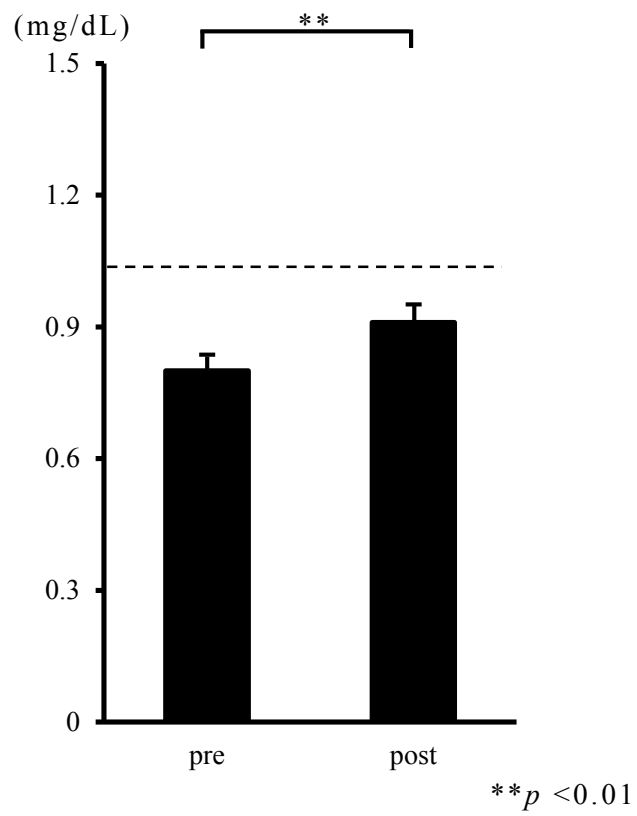


図 2-7 クレアチニンの変化

白血球数

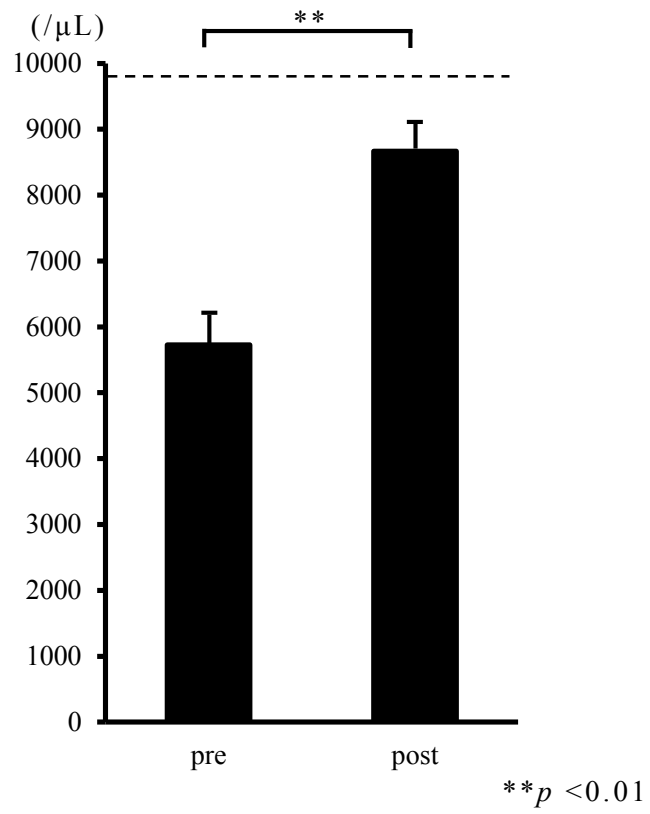
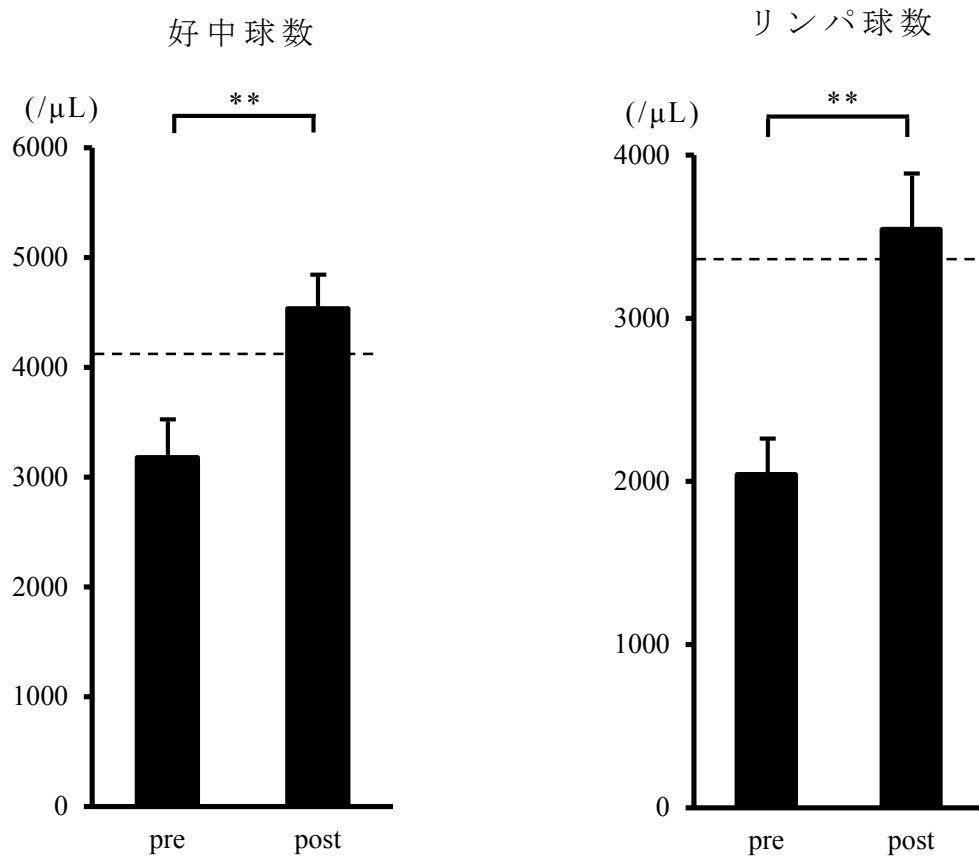


図 2-8 白血球数の変化



** $p < 0.01$

図 2-9 好中球数, リンパ球数の変化

赤血球数

ヘモグロビン

ヘマトクリット

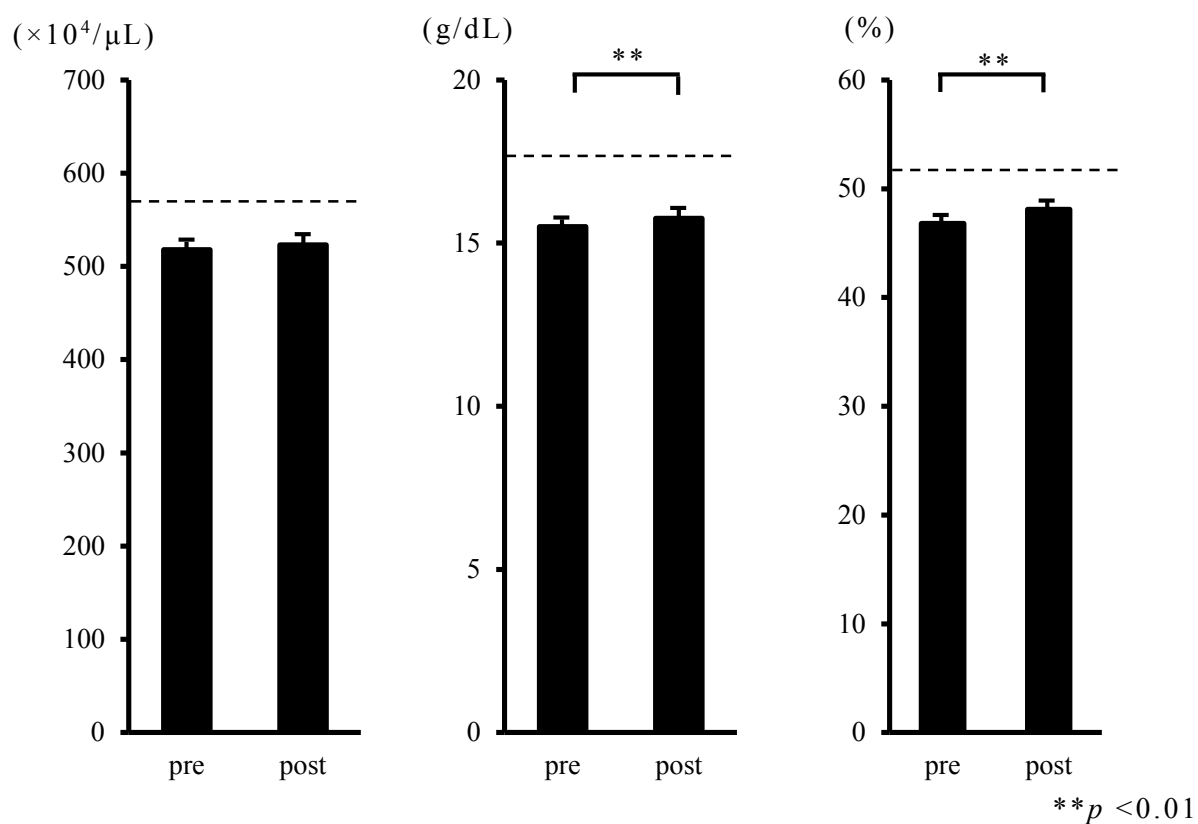


図 2-10 赤血球数，ヘモグロビン，ヘマトクリットの変化

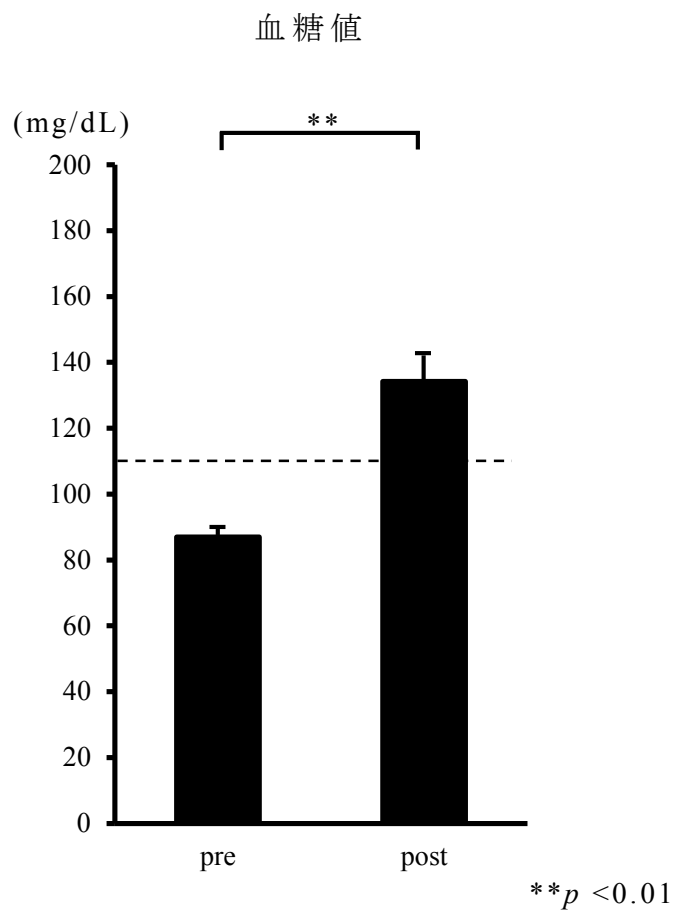


図 2-11 血糖値の変化

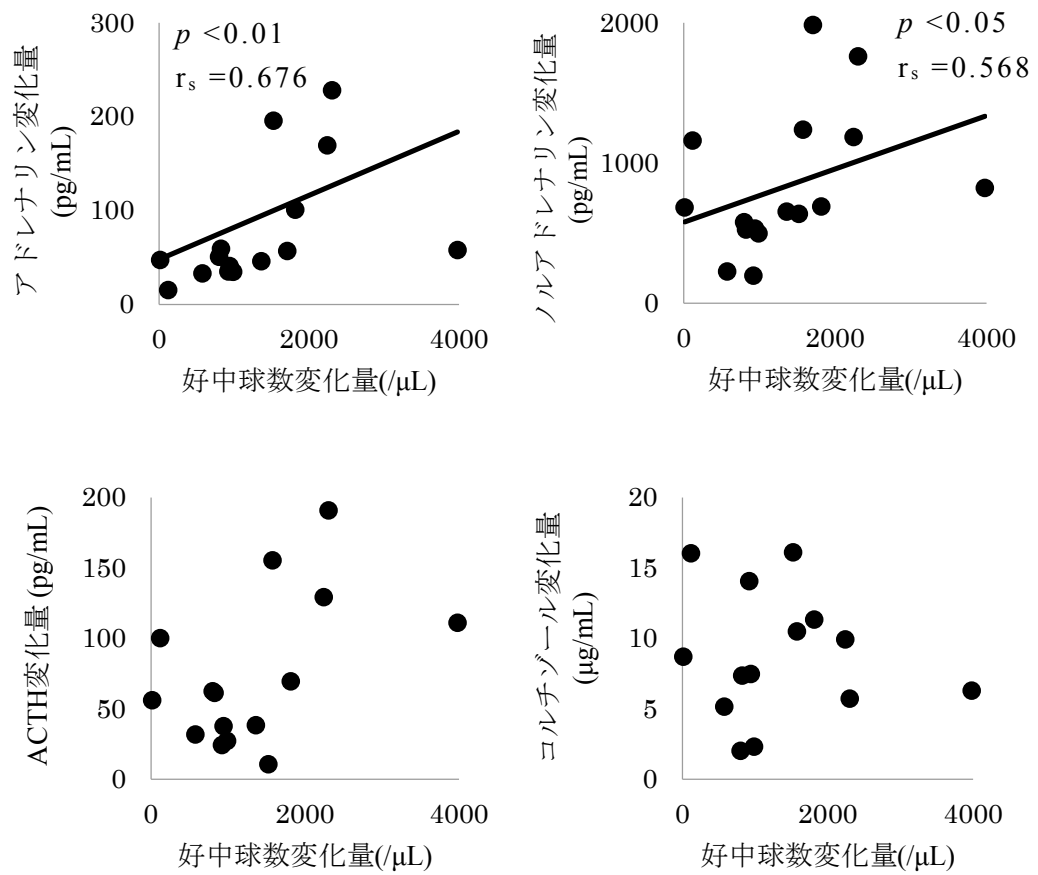


図 2-12 好中球数変化量とアドレナリン変化量，ノルアドレナリン変化量，ACTH 変化量，コルチゾール変化量との相関関係

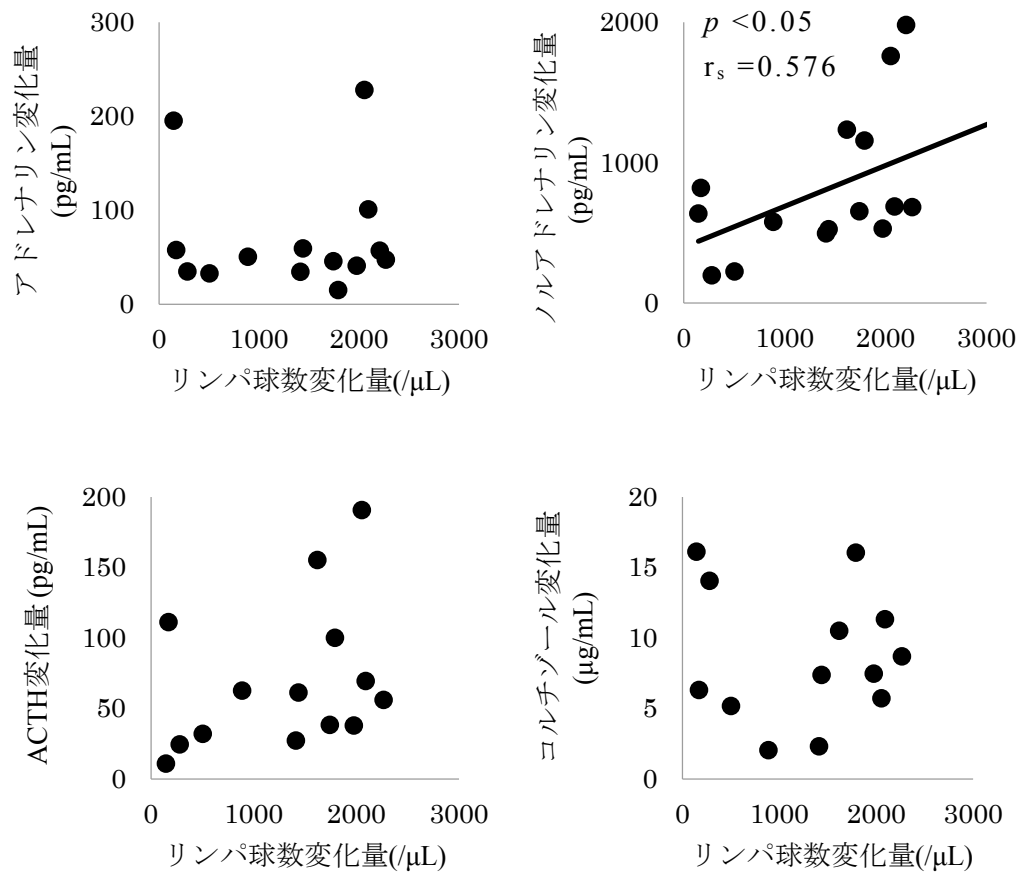


図 2-13 リンパ球数変化量とアドレナリン変化量，ノルアドレナリン変化量，ACTH 変化量，コルチゾール変化量との相関関係

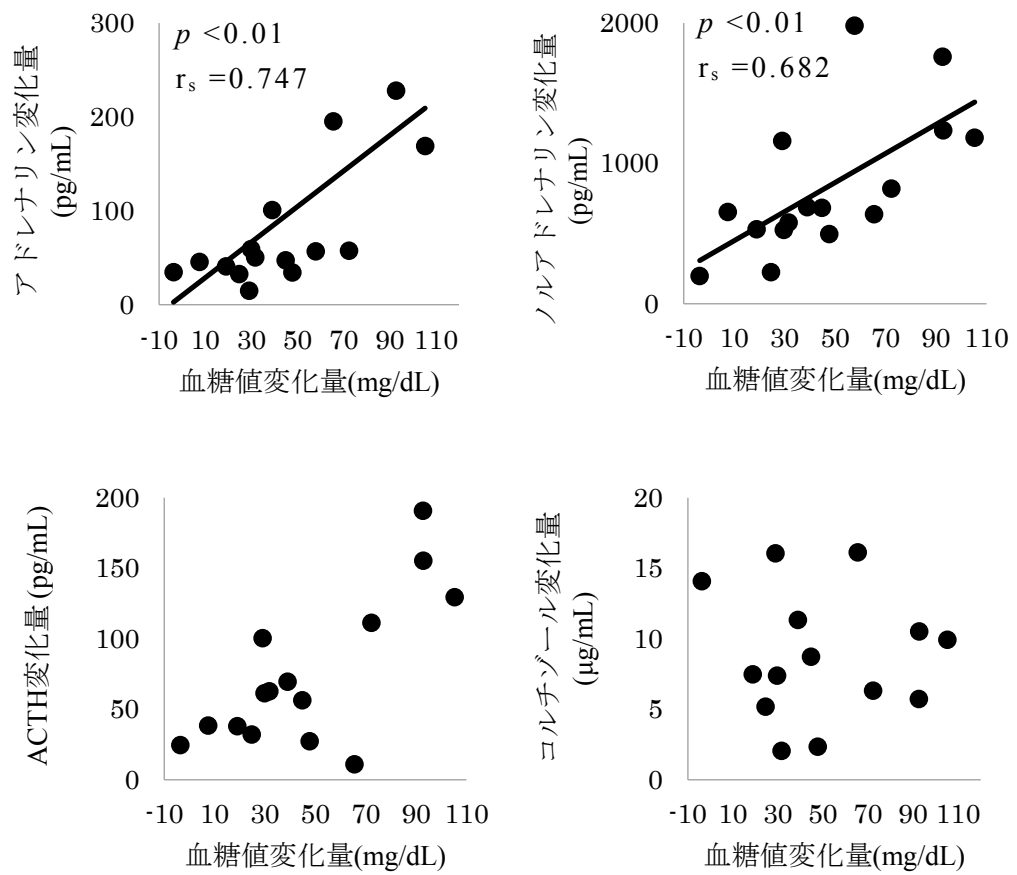


図 2-14 血糖値変化量とアドレナリン変化量，ノルアドレナリン変化量，ACTH 変化量，コルチゾール変化量との相関関係

第 4 節 考察

・ 運動強度

運動強度を示す生理的指標として、最大酸素摂取量(VO_{2max})、エネルギー代謝率(relative metabolic rate ; RMR)、心拍数、乳酸値が主に用いられている(Hill et al. , 1924³⁸) ; Howley, 2001³⁹)。本研究は屋外での走運動を運動課題としたため、 VO_{2max} や RMR のように、酸素摂取量や酸素消費量の測定が必要となる指標を用いることは困難と考えられる。したがって、心拍数と乳酸値を運動強度の指標とした。

走行中の最大心拍数が年齢推定最大心拍数の何パーセントに達していたか(%APMHR)を求めると、 $96.9 \pm 1.3\%$ であった。American college of sports medicine (1998)⁴⁰)は、%Heart rate max (HR_{max} , 最大心拍数の実測値と運動中最大心拍数の割合)が 90%以上の運動を高強度運動(Very hard)であると報告している。本研究は、推定最大心拍数を用いているが、%APMHR より判断すると高強度運動であったと推測される。

乳酸値は運動強度が高くなるにつれて上昇し、高強度運動を行うことで、乳酸蓄積開始点(4mmol/L)を境に急激に上昇し始めると報告されている(Hill et al. , 1924³⁸)。本研究において、運動後の乳酸値は 10.0 ± 0.9 mmol/L となり、乳酸蓄積開始点を上まわっていた。従って、乳酸値の検討からも、走行中、被験者には高強度の負荷がかかっていたと推測される。

したがって、本研究の被験者にとって 12 分間全力走は高強度運動であったと推測される。

・ 血清酵素およびクレアチニンに与える影響

高強度運動は血流再配分を惹起し、骨格筋の血流量を増大させる一方で、腎臓及び腹部内臓組織の血流量を減少させるといわれている(Flamm et al. , 1990⁵)。したがって、血流量の減少が認められる組織において、細胞への

障害が惹起される可能性がある。骨格筋を含め、運動が各種臓器の細胞に与える影響を検討する際、細胞内で機能する酵素が血中にて上昇するか否かを測定することが有効と考えられている(田村と織田, 1970⁴¹)。田村と織田(1970)⁴¹)は、細胞内で機能する酵素が血中に逸脱する原因として、1) 細胞の損傷および崩壊による漏えい、2) 細胞膜の透過性亢進によるものと述べている。

CKは主に筋細胞に存在し、クレアチンリン酸からリン酸を分離し、ATPの生合成を触媒する酵素として知られている。LDHは、ピルビン酸から乳酸が生成される際に機能する酵素であり、心筋、骨格筋、肝臓など多くの細胞に分布している。CKおよびLDHは、運動時に活性化する酵素として知られ、特に、高強度運動により筋細胞から逸脱する酵素と指摘されている(Brancaccio et al. , 2010⁴²)。本研究において、CKおよびLDHは、12分間全力走により有意に上昇した。いずれも基準値内での変化ではあったが、高強度運動による筋収縮の連続が、筋細胞の損傷、あるいは細胞膜の透過性亢進を惹起していたと考えられる。

ALTおよびASTはアミノ酸の代謝を触媒するトランスアミナーゼである。ALTは肝臓に最も多く存在しており、腎臓、心筋、骨格筋の順に多く分布し、ASTは心筋に最も多く存在し、肝臓、骨格筋、腎臓の順に多く分布するといわれている(中野, 1982⁶)。ALTおよびASTは肝臓疾患により高値を示すことから、肝臓疾患の有無を検査する目的で測定されている(Ozer et al. , 2008⁴³)。高強度運動はALTを上昇させることが指摘されており、動物実験の結果、一過性の高強度運動は肝門脈血流の減少を引き起こし、ALTを上昇させると述べている(矢野ら, 1995⁴⁴)。本研究において、基準値内の変化ではあるが、ALTおよびASTは12分間全力走により有意に上昇した。したがって、肝血流量の減少により、ALTおよびASTが細胞外に逸脱した可能性がある。しかし、ASTは肝細胞に特異的なトランスアミナーゼではなく、Giannini et al. (2002)⁴⁵)は、肝細胞障害の有無を検討す

る際、AST/ALT比が有効であると指摘している。ASTと比較し、ALTの上昇が有意であれば、AST/ALT比は減少すると考えられるが、12分間全力走によりAST/ALT比は有意に変化しなかった。したがって、12分間全力走が肝細胞に与える影響は軽微であり、ASTおよびALTの上昇は、肝細胞以外にも由来すると推測される。さらに、肝・胆道系組織に由来するALPおよび γ -GTPの変化を検討したところ、ALPは有意に上昇したが、基準値内の変化であり、 γ -GTPには有意な変化がなかった。したがって、12分間全力走が、肝・胆道系組織に与える影響は軽微であったと考えられる。

クレアチニンは酵素ではないが、筋細胞内に存在するクレアチンの代謝産物として血中に排出され、腎臓で濾過され尿中に排出される。血中クレアチニン値の上昇は腎臓の機能低下を示すことから、腎機能検査を目的として測定される。Gastmann et al. (1998)⁴⁶⁾は、トライアスロン実施後にクレアチニン値の上昇を報告しており、長時間に及ぶ疲労困憊運動はクレアチニン値を上昇させると述べている。Warburton et al. (2002)⁴⁷⁾は、高強度運動はクレアチニン値を上昇させるが、その原因が、筋細胞から排出されたものか、あるいは腎血流量低下による腎機能の低下によるものか、いずれの可能性も考えられると指摘している。本研究において、12分間全力走により、基準値内の変化であるが、クレアチニン値が有意に上昇した。腎血流量の減少により、腎機能が一時的に低下していた可能性があるが、基準値内の変化に留まることから、12分間全力走が腎臓に与える影響は軽微であったと考えられる。

・好中球数およびリンパ球数に与える影響

白血球は、免疫機能の中心的役割を果たす細胞であり、主に好中球(38-58%)、リンパ球(26.6-46.6%)、単球(2.3-7.7%)により構成されている(小澤と福田, 1985⁴⁸⁾)。血液中の白血球数は、短時間高強度運動を実施することで一時的に上昇すると報告されている(Gimenez et al. , 1986⁴⁹⁾ ; McCarthy

et al. , 1991⁵⁰). 好中球とリンパ球は白血球中の約 80–90%を占めることから、好中球数とリンパ球数に着目して高強度運動の影響を検討した報告が散見される(Hansen et al. , 1991⁵¹) ; 鈴木ら, 1996⁵²) ; McCarthy et al. , 1991⁵⁰). Hansen et al. (1991)⁵¹)は、被験者に 1.7km の最大努力走を課し、好中球数が約 20%、リンパ球数が約 100%上昇したと報告している。加えて、鈴木ら(1996)⁵²)は、漸増的負荷運動を実施した結果、好中球数が運動後、約 50%上昇したと指摘している。さらに、McCarthy et al. (1991)⁵⁰)は、84%VO_{2max} の強度で 30 分間の自転車運動を課し、リンパ球数が運動後、約 200%上昇したと述べている。したがって、一過性の高強度運動は好中球数およびリンパ球数を上昇させると考えられる。

これまで、12 分間全力走による好中球数およびリンパ球数の変化を検討した報告は、調査した限りでは見当たらない。本研究は、12 分間全力走後に好中球数が約 50%、リンパ球数が約 80%上昇し、いずれも基準値以上の有意な上昇を示した。したがって、諸家の報告と同様、12 分間全力走は好中球数およびリンパ球数を上昇させることが示された。さらに本研究では、好中球数変化量とアドレナリン変化量、ノルアドレナリン変化量との間に、リンパ球数変化量とノルアドレナリン変化量との間に有意な正の相関関係が認められた。アドレナリンおよびノルアドレナリンは 12 分間全力走により基準値以上に上昇したことから、交感神経の緊張が惹起されていたと考えられ、好中球数やリンパ球数に影響を及ぼしたと推測される。

好中球は安静時、循環血流中の好中球と、血管壁に付着した壁在好中球として存在している。好中球の細胞膜にはアドレナリン受容体があり(Benschop et al. , 1996⁵³))、アドレナリンやノルアドレナリンが分泌されると、壁在好中球が循環血流中に遊離されると考えられる。したがって、12 分間全力走によるアドレナリンとノルアドレナリンの分泌は、壁在好中球の遊離を促し、好中球数を上昇させたと考えられる。

一方、リンパ球は T 細胞や B 細胞、ナチュラルキラー(NK)細胞など、細

胞が持つ機能により数種類に分類されている。リンパ球は、循環血流中のほか、リンパ節に存在しており、細胞膜にはノルアドレナリンへの反応性が高い β_2 -アドレナリン受容体が存在している。Nakai et al. (2014)⁵⁴⁾は、ノルアドレナリンは、 β_2 -アドレナリン受容体を介してリンパ球をリンパ節内に貯留させ、免疫機能を抑制すると報告している。しかし従来から、ノルアドレナリンの投与により、T細胞数は変化しないにもかかわらず、NK細胞数は上昇すると報告されている(Schedlowski et al. , 1993⁵⁵⁾)。したがって、NK細胞は、T細胞やB細胞と異なり、ノルアドレナリンの作用により上昇すると考えられる。本研究において、リンパ球数はノルアドレナリン変化量との間にのみ、有意な相関関係が認められた。12分間全力走によるリンパ球数の上昇は、ノルアドレナリンの作用により、NK細胞数が上昇したためと推測される。

アドレナリンやノルアドレナリンと同様、ACTHやコルチゾールも12分間全力走により基準値以上に上昇した。したがって、下垂体前葉および副腎皮質による分泌が促進していたと考えられる。しかし、ACTHやコルチゾールは好中球数やリンパ球数との間に有意な相関関係は認められなかった。好中球数は高強度運動直後に認められる上昇と、運動終了から数時間後に認められる上昇の、二相性の変化を示すと報告されている(Hansen et al. , 1991⁵¹⁾)。一方、リンパ球数は高強度運動直後に認められる上昇と、運動終了から数時間後に認められる一時的な減少が報告されている(Hansen et al. , 1991⁵¹⁾)。ACTHやコルチゾールは、運動終了から数時間後に認められる好中球数やリンパ球数の変化に関与していると考えられている。したがって、12分間全力走後に認められる好中球数やリンパ球数上昇に与える影響は軽微であったと考えられる。

・血糖値に与える影響

運動強度の検討より、12分間全力走は高強度運動であったと考えられる。

したがって、骨格筋では ATP 産生に必要なグルコースの需要量が増大していたと推測される。骨格筋細胞はグリコーゲンとしてグルコースを貯蔵しており、グリコーゲンをグルコースに代謝することで、ATP 産生に利用している。しかし、骨格筋に貯蔵されるグリコーゲンには限度があり、需要に対し供給が追いつかなくなると、肝臓に貯蔵されるグリコーゲンをグルコースに代謝し、血中に放出させる(池上, 1994³⁾)。本研究において、12 分間全力走後に血糖値の有意な上昇が認めれ、血糖値変化量とアドレナリン変化量およびノルアドレナリン変化量との間に有意な相関関係が認められた。アドレナリンやノルアドレナリンは、肝臓のグリコーゲン分解を促進する作用があり(Bearn et al. , 1951⁵⁶⁾)、運動強度の増加に伴い消費され、不足したグルコースを補填する役割を担っていると考えられる。

一方、ACTH の作用により副腎皮質から分泌されるコルチゾールも、血糖上昇作用があると考えられているが、血糖値との間に有意な相関関係は認められなかった。コルチゾールは、タンパク質の分解や肝臓でのグリコーゲン生成を促進することで血糖値を上昇させるといわれている(小澤と福田, 1985⁴⁸⁾)。長時間に及ぶ運動負荷では、コルチゾールによる血糖上昇作用が運動実施に必要と考えられる。しかし、12 分間程度の短時間運動では、交感神経系ホルモンによる血糖上昇作用が有意であったと考えられる。

第 5 節 結語

本章では，12 分間全力走が生理的変化に与える影響を検討した結果，以下のことを明らかにした．

- 1) CK, LDH, ALT, AST, ALP, クレアチニンが基準値内で有意に上昇した．
- 2) アドレナリン，ノルアドレナリンが分泌され，好中球数およびリンパ球数，血糖値を基準値以上に上昇させた．
- 3) ACTH およびコルチゾールが基準値以上に上昇したが，好中球数，リンパ球数，血糖値に与える影響は軽微であった．

12 分間全力走は，血清酵素およびクレアチニンを上昇させたが，いずれも基準値内の変化であり，筋細胞，肝・胆道系組織，腎機能に与える影響は軽微であったと考えられる．一方，交感神経の緊張に伴うアドレナリンおよびノルアドレナリンの分泌により，好中球数やリンパ球数，血糖値の上昇を惹起することを明らかにした．

第 2 章のまとめ

第 2 章では、12 分間全力走後の生理的変化を検討した結果、腹部内臓組織に与える影響は軽微であることが明らかになった。さらに、交感神経の緊張に伴い、好中球数やリンパ球数、血糖値が基準値以上に上昇することが明らかになった。これらの反応は、短時間高強度運動後に認められる生体反応として一般的なものと考えられ、若年男性にとって、12 分間全力走は運動処方の一環として妥当なものと考えられる。

しかし、実際の運動場面では、適正体重の人や肥満者が混在しており、運動実施者の身体的特性は様々である。したがって、肥満度にも着目して 12 分間全力走後の生体反応を検討する必要がある。次章では、肥満度の簡易的な指標である **body mass index (BMI)** を指標とし、過体重が 12 分間全力走後の生体反応に与える影響を検討することとする。

第3章 12分間全力走が酸化ストレス反応に与える影響

はじめに	49
第1節 対象と方法	51
第2節 統計分析	54
第3節 結果	55
第4節 考察	63
第5節 結語	69
第3章のまとめ	70

はじめに

酸素は、生命活動に必要不可欠なものであるが、周辺組織への傷害性を持つ活性酸素種(reactive oxygen species ; ROS)に変化する性質も持っている。生体内で ROS が産生され、傷害が及ぶことを酸化ストレスと呼び、近年、酸化ストレスは様々な疾患に関与することが明らかになっている(Halliwell, 1994⁵⁷⁾)。Steinberg et al. (1989)⁵⁸⁾は、動脈硬化症の進行には、low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C)への酸化ストレスが直接的に関与すると指摘している。一方、Kawamori et al. (2003)⁵⁹⁾は、ROSによる酸化ストレスが、インスリン分泌能の低下に関与し、糖尿病を悪化させると報告している。さらに、ガンの発症も、酸化ストレスが一因となる事が明らかにされている(Toyokuni and Akatsuka, 2006⁶⁰⁾)。このように、ROS 産生が増大することは、各種疾患が発症する一因になるといわれている。

生体内で ROS 産生が増大する原因には、炎症反応の亢進やメタボリックシンドロームのような代謝疾患が挙げられるが、健康を保つ上で有益と考えられてきた運動によっても、ROS 産生が増大すると指摘されている(Fisher-Wellman and Bloomer, 2009⁶¹⁾)。酸化ストレスの変化を検討する際、脂質やデオキシリボ核酸(deoxyribonucleic acid ; DNA)、タンパク質が酸化ストレスを受けた結果、産生される物質を指標とすることが多い(Dalle-Donne et al. , 2006⁶²⁾)。一過性の高強度運動は ROS 産生を増大させ、特に脂質やタンパク質への酸化ストレスが亢進すると言われている(Bailey et al. , 2001⁶³⁾ ; Vider et al. , 2001⁶⁴⁾ ; Bloomer et al. , 2007⁶⁵⁾)。一方、低強度から中強度の運動では、酸化ストレスは増大しないと報告され、運動強度により酸化ストレスの程度は異なると指摘されている(Goto et al. , 2007⁶⁶⁾)。一過性の高強度運動は酸化ストレスを増大させる一方で、習慣的な運動は生体の抗酸化能を高めると報告されている(Gomes et al. , 2012⁶⁷⁾)。これは、酸化ストレスに対する生体の適応反応であるといわれており、習

慣的に運動を行い、持久能力が高い人は、運動による酸化ストレスを受けにくいことが明らかになっている(Miyazaki et al. , 2001⁶⁸). このように、運動強度による酸化ストレスの差異、体力的特性と酸化ストレスの関連について行われた報告は多数存在する.

一方、肥満のような身体的特性が酸化ストレスに与える影響について、Furukawa et al. (2004)⁶⁹)は、BMIが高い人ほど、安静時の酸化ストレスマーカーが高値を示すと報告している. BMIはInterleukin-6 (IL-6)やC-reactive protein (CRP)など、炎症反応の亢進を示す指標と相関関係にあることも明らかにされており(Visser et al. , 1999⁷⁰; Vgontzas et al. , 2000⁷¹), BMIの増加に伴う軽度の炎症準備状態はROS産生増大に関与する可能性がある. しかし、BMIに着目して高強度運動による酸化ストレス反応を検討した報告は極めて少ない. Youssef et al. (2009)⁷²)は、過体重の10代女性は、標準的な女性と比較して高強度運動による脂質過酸化反応が亢進することを明らかにしている. しかし、DNAに対する酸化ストレスマーカーを測定していないなど、検討の余地が残っている. DNAに対する酸化ストレスはガンを発症させる一因になるため、過体重が高強度運動によるDNA過酸化反応に影響を与えるか否かを検討することも重要である. BMIに着目し、高強度運動による酸化ストレス反応を検討したものは、調査した限り他に見あたらない. そこで本章では、若年男性を対象に、BMIを指標として、過体重が12分間全力走後のDNA過酸化反応および脂質過酸化反応に与える影響を検討した.

第 1 節 対象と方法

1. 対象

被験者には事前に、研究の内容と危険性、研究への参加を辞退する事が被験者にとって不利益にならないということ、いつでも途中辞退ができるということ、研究で得た個人的データは個人が特定できないように管理をすること、を説明した。その後、文書による研究への参加の同意を得た。なお本研究は、所属機関における倫理委員会の承認を得て行われた(承認番号：27-11)。

被験者は、大学生の男性 12 名とした。陸上競技(長距離)、バドミントン、野球、トライアスロン、剣道、相撲を専門種目とし、日常的に部活動で運動を行っている選手であった。BMI が 25 以上を示すと過体重であるという報告をもとに(World Health Organization (WHO), 2014⁷³⁾)、BMI が 25 未満を BMI <25 群(7 名)、25 以上を BMI ≥25 群(5 名)とした。被験者の身体的特徴を表 3-1 に示した。

2. 方法

2. 1. 運動負荷

被験者は、事前に 12 分間全力走の経験がある選手を対象とした。実験前日に激しい運動を行うことを避けるように指示し、実験当日、各自ウォーミングアップを行った後、1 周 400 メートルの陸上トラックにて 12 分間全力走を課した。走行中、被験者には 1 周ごとに経過時間を知らせた。陸上トラックには、100 メートルごとにマーカーを置き、走行中、被験者が走行距離を把握するための指標とした。走行中は心拍計(ハートレートモニター-s610i, Polar Electro, Finland)を装着し、最大心拍数を測定した。運動強度の指標とするため、走行中の最大心拍数が推定最大心拍数(220-年齢, age predicted maximal heart rate ; APMHR) の何パーセントに達していたか

(%APMHR)を求めた。当日の天候は曇り，気温は 7.4℃，湿度は 22%であった。

2. 2. 採血・血液分析

ウォーミングアップ前(運動前，pre)と運動終了約 5 分後(運動後，post)に，肘正中皮静脈より 20mL ずつ採血し，以下の項目について分析を行った。

・乳酸値

運動前後に採血した血液サンプルを除蛋白液入りの容器で十分に攪拌し，室温にて 5 分間，3000 回/分で遠心分離した。その後，血球成分と分離した上清液を冷蔵保存し乳酸値の測定に用いた。測定には，乳酸オキシダーゼ酵素法(SRL Inc. ， Tokyo, Japan)を用いた(結果は，「mg/dL」の単位で測定された値を，換算係数である 0.111 を掛け，「mmol/l」に変換して示した)。

・白血球数，好中球数

運動前に採血し，全血を用いて白血球数，好中球数を求めた。白血球数の測定には，シーフロー電気抵抗方式(SRL Inc. ， Tokyo, Japan)を用いた。血液塗抹標本から May-Giemsa 重染色法(SRL Inc. ， Tokyo, Japan)により好中球数の百分率を求め，白血球数をもとに好中球数を算出した。

・ Interleukin-6 (IL-6)

運動前に採血した血液サンプルを薬剤無添加の容器内で攪拌混和させ，室温にて 15 分間，3000 回/分で遠心分離した。その後，血球成分と分離した血清を冷凍保存し，IL-6 の測定に用いた。測定には，Chemiluminescent Enzyme Immunoassay 法(SRL Inc. ， Tokyo, Japan)を用いた。

・尿酸値

運動前後に採血した血液サンプルを薬剤無添加の容器内で攪拌混和させ，室温にて 15 分間，3000 回/分で遠心分離した。その後，血球成分と分離し

た血清を冷蔵保存し，尿酸値の測定に用いた．測定には，ウリカーゼ・ペルオキシダーゼ法(SRL Inc. , Tokyo, Japan)を用いた．

- ・ヘモグロビン，ヘマトクリット

運動前後に採血した血液サンプルを Ethylenediaminetetraacetic acid dipotassium salt dehydrate (EDTA-2K)入り容器にて冷蔵保存し，全血を用いてヘモグロビン，ヘマトクリットを求めた．ヘモグロビンは，Sodium Laurly Sulfate – Hemoglobin 法(SRL Inc. , Tokyo, Japan)を用いて測定した．ヘマトクリットは，赤血球パルス波高値検出方式(SRL Inc. , Tokyo, Japan)を用いて測定した．ヘモグロビン，ヘマトクリットを用い，Dill and Costill (1974)³⁶⁾の方法により血漿変化率(plasma volume change)を求めた．

- ・8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG)

運動前後に採血した血液サンプルを薬剤無添加の容器内で攪拌混和させ，室温にて15分間，3000回/分で遠心分離した．その後，血球成分と分離した血清を冷蔵保存し，8-OHdGの測定に用いた．測定には，Enzyme immunoassay 法(SRL Inc. , Tokyo, Japan)を用いた．

- ・8-isoprostane

運動前後に採血した血液サンプルを Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)入りの容器内で攪拌混和させ，室温にて15分間，3000回/分で遠心分離した．その後，血球成分と分離した血漿を冷凍保存し，8-isoprostaneの測定に用いた．測定には，Enzyme immunoassay 法(SRL Inc. , Tokyo, Japan)を用いた．

第 2 節 統計分析

測定結果は平均±標準誤差(mean ± SE.)で示した。両群間での比較には、対応の無い t 検定を用いた。両群間(BMI <25 群 vs BMI ≥25 群)と時間(pre vs post)の 2 要因で比較するため、反復測定 of 2 要因分散分析を用いた。交互作用が認められた場合は単純主効果の検定を行った。交互作用が認められなかった場合は、主効果が認められた要因に対して、Bonferroni の多重比較検定を行った。測定値間の関連を検討するため、spearman の順位相関係数(r_s)を求めた。いずれも有意水準は 5%未満とした。分析には、SPSS statistics 21.0 (IBM, USA)を用いた。

第 3 節 結果

表 3-1 に被験者の身体的特徴を示した。被験者は 19-23 歳までの男性で、身長は両群間に有意差が認められず ($p > 0.05$)、体重、BMI は BMI <25 群と比較して BMI \geq 25 群が有意に高い値を示した ($p < 0.01$)。白血球数、好中球数は BMI <25 群と比較して BMI \geq 25 群が有意に高い値を示した ($p < 0.01$)、IL-6 は BMI <25 群と比較して BMI \geq 25 群が有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。白血球数のうち好中球数が占める割合 (%) を括弧内に示した。

表 3-2 に被験者の走行データを示した。二要因分散分析の結果、心拍数、乳酸、尿酸、ヘモグロビン、ヘマトクリットに有意な交互作用は認められなかった ($p > 0.05$)。心拍数は時間要因にのみ有意な主効果が認められ ($p < 0.01$)、両群とも運動前と比較して運動中最大心拍数が有意に高い値を示した ($p < 0.01$)。乳酸は時間要因にのみ有意な主効果が認められ ($p < 0.01$)、両群とも運動前と比較して運動後、有意に上昇した ($p < 0.01$)。尿酸、ヘモグロビン、ヘマトクリットは、時間と群の両要因に有意な主効果が認められ ($p < 0.01$)、両群とも運動前と比較して運動後、有意に上昇し ($p < 0.01$)、運動前後の値ともに BMI <25 群と比較して BMI \geq 25 群が有意に高い値を示した ($p < 0.01$)。APMHR、%APMHR、血漿変化率は両群間に有意差が認められず ($p > 0.05$)、走行距離は BMI <25 群と比較して BMI \geq 25 群が有意に低い値を示した ($p < 0.01$)。

図 3-1 に 8-OHdG の変化を示した。8-OHdG に有意な交互作用は認められなかった ($F = 0.85$, $p > 0.05$)。8-OHdG は時間要因にのみ有意な主効果が認められ ($p < 0.01$)、BMI <25 群 (pre : 0.15 ± 0.02 ng/mL, post : 0.19 ± 0.02 ng/mL)、BMI \geq 25 群 (pre : 0.15 ± 0.01 ng/mL, post : 0.18 ± 0.01 ng/mL) ともに運動前と比較して運動後、有意に上昇した ($p < 0.01$)。

図 3-2 に 8-isoprostane の変化を示した。8-isoprostane に有意な交互作用が認められた ($F = 5.31$, $p < 0.05$)。単純主効果検定の結果、群間には運動後

のみ有意差が認められ(BMI <25 群 : 11.6 ± 0.5 pg/mL, BMI \geq 25 群 : 14.2 ± 0.4 pg/mL, $p < 0.01$), 運動前は両群間で有意差が認められなかった(BMI <25 群 : 11.8 ± 0.5 pg/mL : BMI \geq 25 群 : 12.4 ± 0.7 pg/mL, $p > 0.05$). 時間要因は BMI \geq 25 群のみ有意差が認められ, 運動後, 有意に上昇した($p < 0.01$)

図 3-3 に BMI と好中球数, IL-6 との相関関係を示した. BMI は, 好中球数, IL-6 との間に有意な相関関係が認められた($p < 0.01$).

図 3-4 に 8-isoprostane 変化率と BMI, IL-6, 血漿変化率との相関関係を示した. 8-isoprostane 変化率は, BMI, IL-6 との間に有意な相関関係が認められ($p < 0.05$), 血漿変化率との間に有意な相関関係は認められなかった($p > 0.05$).

表 3-1 被験者の身体的特徴

	BMI <25 (n=7)	BMI ≥25 (n=5)
年齢(歳)	20.8 ± 0.5	20.0 ± 0.4
身長(cm)	173.4 ± 1.7	167.4 ± 3.3
体重(kg)	62.5 ± 2.1	92.6 ± 5.9**
BMI (kg/m ²)	20.7 ± 0.5	33.1 ± 2.0**
白血球数(×10 ³ /μL)	4.4 ± 0.2	7.8 ± 0.7**
好中球数(×10 ³ /μL)	2.4 ± 0.1 (54.5%)	4.4 ± 0.3** (56.9%)
IL-6 (pg/mL)	0.5 ± 0.05	1.1 ± 0.2*

Mean ± SE.

BMI : body mass index, IL-6 : interleukin-6

* : 両群間の比較(**p* <0.05, ***p* <0.01)

表 3-2 走行データ

		BMI <25 (n=7)	BMI ≥25 (n=5)
心拍数 (bpm)	pre	75.2 ± 3.4	83.0 ± 4.0
	peak	190.7 ± 4.6**	198.2 ± 5.5**
APMHR (bpm)		199.1 ± 0.5	200.0 ± 0.4
%APMHR		95.7 ± 2.5	99.1 ± 2.3
乳酸値 (mmol/L)	pre	1.2 ± 0.1	1.9 ± 0.2
	post	10.1 ± 1.6**	9.3 ± 1.9**
尿酸値 (mg/dL)	pre	6.0 ± 0.2	7.7 ± 0.2##
	post	6.8 ± 0.2**	8.6 ± 0.3**##
ヘモグロビン (g/dL)	pre	14.8 ± 0.2	16.5 ± 0.3##
	post	15.1 ± 0.2**	17.0 ± 0.2**##
ヘマトクリット (%)	pre	45.3 ± 0.7	49.2 ± 0.8##
	post	46.5 ± 0.7**	51.0 ± 0.9**##
血漿変化率 (%)		-3.9 ± 1.0	-5.9 ± 1.5
走行距離 (m)		3215.7 ± 98.3	2240.0 ± 24.4 ##

Mean ± SE.

APMHR : 年齢推定最大心拍数 (age predicted maximal heart rate)

* : 運動前後の比較 (** $p < 0.01$)

: 両群間の比較 (## $p < 0.01$)

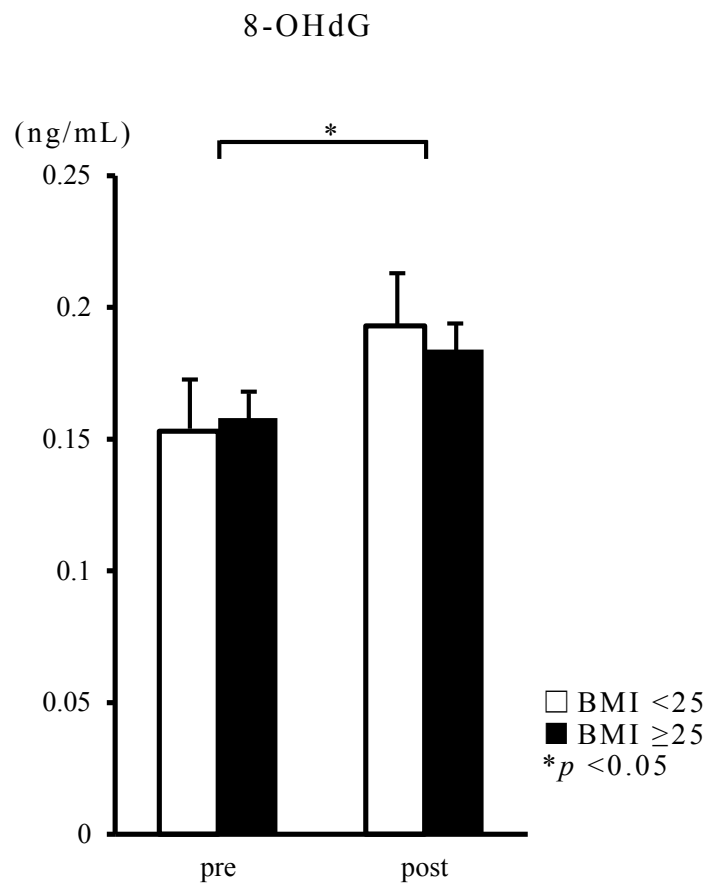


図 3-1 8-OHdG の変化

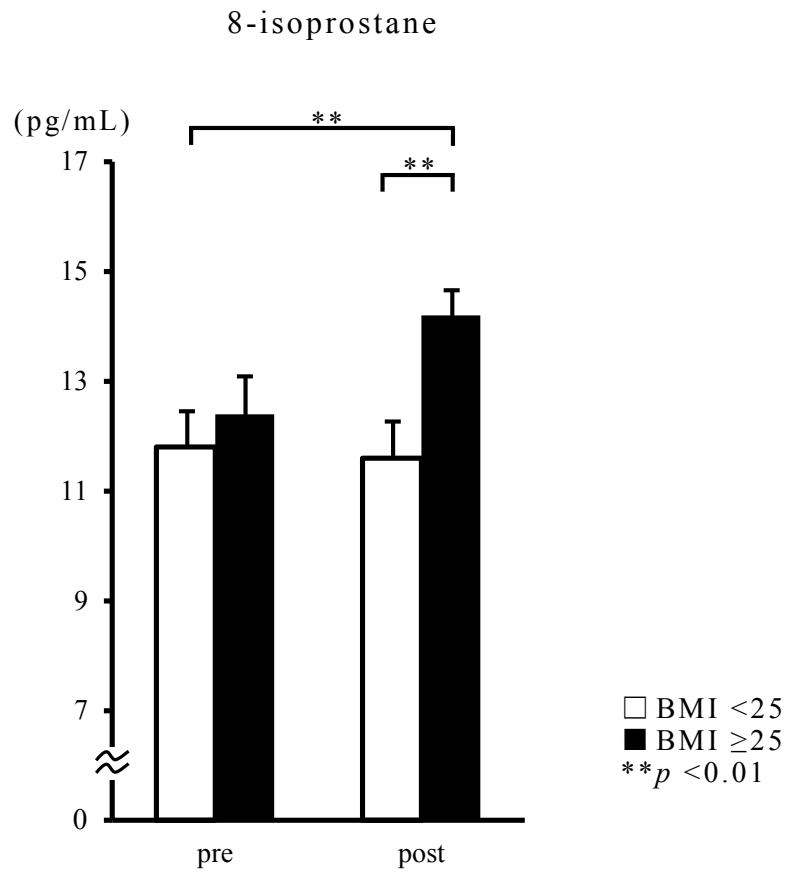


図 3-2 8-isoprostane の変化

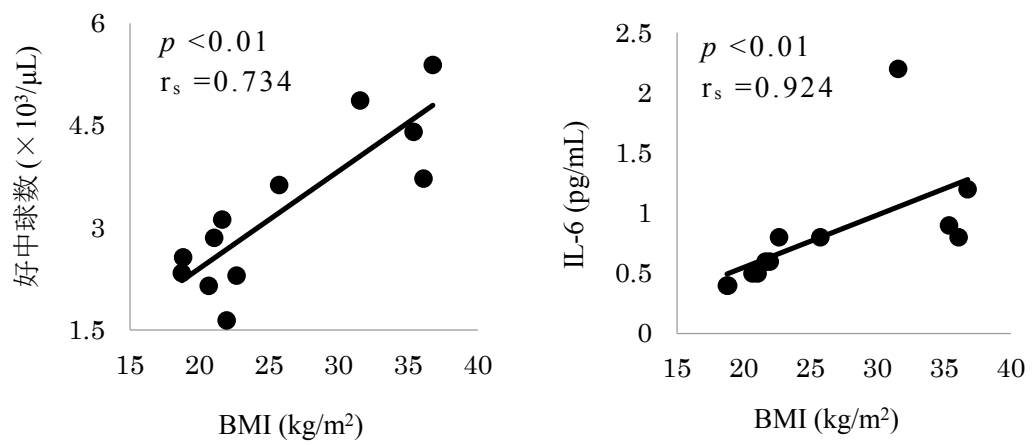


図 3-3 BMI と好中球数，IL-6 との相関関係

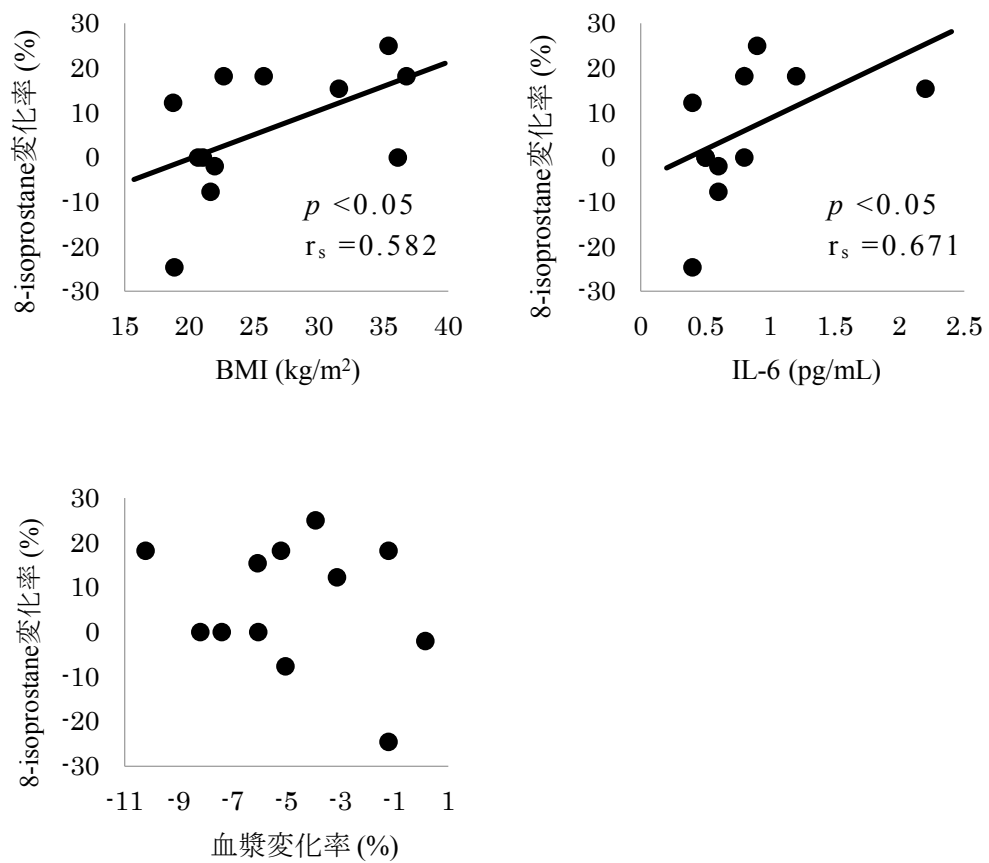


図 3-4 8-isoprostane 変化率と BMI, IL-6, 血漿変化率との相関関係

第 4 節 考察

・ 運動強度

運動強度を示す生理的指標として、最大酸素摂取量(VO_{2max})、エネルギー代謝率(RMR)、心拍数、乳酸値が主に用いられている(Hill et al. , 1924³⁸); Howley, 2001³⁹)。本研究は屋外での走運動を運動課題としたため、 VO_{2max} や RMR のように、酸素摂取量や酸素消費量の測定が必要となる指標を用いることは困難と考えられる。したがって、心拍数と乳酸値を運動強度の指標とした。

走行中の最大心拍数が年齢推定最大心拍数の何パーセントに達していたか(%APMHR)を求めると、BMI <25 群が $95.7 \pm 2.5 \%$ 、BMI ≥ 25 群が $99.1 \pm 2.3 \%$ であった。American college of sports medicine (1998)⁴⁰)は、%Heart rate max (HR_{max} 、最大心拍数の実測値と運動中最大心拍数の割合)が 90%以上の運動を高強度運動(Very hard)であると報告している。本研究は、推定最大心拍数を用いているが、%APMHR より判断すると高強度運動であったと推測される。

乳酸値は運動強度が高くなるにつれて上昇し、高強度運動を行うことで、乳酸蓄積開始点(4mmol/L)を境に急激に上昇し始めると報告されている(Hill et al. , 1924³⁸)。本研究において、運動後の乳酸値は BMI <25 群が 10.1 ± 1.6 mmol/L、BMI ≥ 25 群が 9.3 ± 1.9 mmol/L となり、乳酸蓄積開始点を上まわっていた。したがって、乳酸値の検討からも、走行中、被験者には高強度の負荷がかかっていたと推測される。

したがって、両群の被験者にとって 12 分間全力走は高強度運動であったと推測される。

・ BMI の増加に伴う軽度の炎症準備状態

肥満は軽度の炎症準備状態を惹起すると言われているが、その原因は、主に肥大化した脂肪細胞より産生される IL-6, Tumor necrosis factor- α (TNF- α)などの炎症性サイトカインの影響であると考えられている (Vachharajani and Granger, 2009⁷⁴)。一方、肥満者の脂肪細胞では、健常者と比較して抗炎症性の作用を持つアディポネクチンの産生が減少するため (Ouchi et al. , 2003⁷⁵)、BMI の増加に伴う肥満は慢性的な軽度の炎症準備状態を引き起こすと考えられている。加えて、肥満者は循環血流中の好中球数が高値を示すことが報告されている (Kim et al. , 2008⁷⁶)。IL-6 は種々の白血球となる多能性造血幹細胞の増殖を促進するといわれており (矢田, 2003⁷⁷)、肥満に伴い上昇した IL-6 は、安静時の好中球数を上昇させる一因と考えられる。したがって、肥満者においては、安静時の IL-6 や好中球数が高値を示すと考えられる。

本研究では、BMI <25 群と比較して BMI \geq 25 群の白血球数、好中球数、IL-6 が有意に高く、BMI と好中球数、IL-6 との間に有意な相関関係が認められた。これは上記の報告と同様の結果であり、BMI \geq 25 群は軽度の炎症準備状態にあったことが推測される。さらに、BMI は酸化ストレスマーカーと相関関係にあることが報告されており、肥満により肥大化した脂肪細胞より ROS が産生されるためと考えられている (Furukawa et al. , 2004⁶⁹)。しかし、安静時の 8-OHdG 及び 8-isoprostane は両群間で有意差が認められなかった。上記の報告では、平均年齢が 56 歳の男女を対象にしており、本研究の被験者と比較して高齢であるといえる。さらに、本研究では、BMI \geq 25 群においても日常的に運動を行っている被験者であった。加齢により抗酸化能は低下するが (Jil, 1993⁷⁸)、一方で、習慣的な運動は抗酸化能を向上させることが知られている (Lima et al. , 2013⁷⁹)。したがって、安静時レベルでは、両群間の酸化ストレスマーカーに有意差は認められなかったと考えられる。

・高強度運動における ROS の産生

8-OHdG は、DNA の構成成分であるグアニン塩基が酸化修飾を受けて生成されるものである。生体内で代謝、分解されることなく、血液中を経て尿中に排泄されることから、信頼性のある DNA 酸化ストレスマーカーとして知られている(酒居ら, 2009⁸⁰)。一過性の高強度運動による 8-OHdG の変化を検討した報告では、20 分間の間欠的高強度運動により、運動 1 時間後に尿中 8-OHdG が有意に上昇したといわれている(神林ら, 2004⁸¹)。さらに、最大努力による水泳運動の 1 時間後に血中 8-OHdG が上昇したという報告や(Kabasakalis et al. , 2014⁸²)、100 回のレッグエクステンション運動の直後に血中 8-OHdG が上昇したという報告(Fogarty et al. , 2013⁸³)も認められる。したがって、一過性の高強度運動は DNA に対する酸化ストレスを増大させると考えられる。一方、8-isoprostane は細胞膜の主要構成成分であるリン脂質が、ROS により酸化修飾を受けて生成される、プロスタグランジン様物質である。近年、8-isoprostane が、脂質酸化ストレスマーカーとして信頼できるものと報告されている(Dalle-Donne et al. , 2006⁶²)。Goto et al. (2007)⁶⁶は、75%VO₂max 状況下の自転車運動を 30 分間行くと、8-isoprostane は有意に上昇し、運動強度が高いほど脂質酸化ストレスが増大すると述べている。したがって、一過性の高強度運動はリン脂質に対する酸化ストレスを増大させると考えられる。

運動による ROS 産生の増大は主に、ミトコンドリア電子伝達系、キサンチンオキシダーゼ活性、好中球活性化によるものといわれている(Gomes et al. , 2012⁶⁷)。運動エネルギーである ATP を産生する際、ミトコンドリア電子伝達系では、複合体 I および III を水素イオン(H⁺)が通過する過程で漏出した電子が酸素分子を還元すると、ROS であるスーパーオキシド(O₂^{•-})が産生される。このため、運動により ATP 産生が増大すると、ミトコンドリアによる ROS 産生も増大すると考えられている(Benzi, 1993⁸⁴)。心拍数や乳酸値より、12 分間全力走は高強度運動であり、運動により酸素消費が

増大するといわれていることから(Benzi, 1993⁸⁴⁾), 被験者は走行中, 酸素消費の増大に伴いミトコンドリア電子伝達系から ROS 産生が増大していた可能性がある. 加えて, 高強度運動はキサンチンオキシダーゼ活性を上昇させ, ROS 産生が増大することも知られている(Duarte et al. , 1993⁸⁵⁾). 血管内皮細胞において, キサンチンデヒドロゲナーゼは低酸素状態によりキサンチンオキシダーゼに変換される. ここで低酸素状態にある組織に酸素が供給されると(再酸素化), キサンチンオキシダーゼ活性が上昇し, ヒポキサンチンをキサンチン, キサンチンを尿酸へと代謝する. この過程で, 同時に ROS が産生されるといわれている(Halliwell and Gutteridge, 2007⁸⁶⁾). 即ち, 運動による尿酸値の上昇は ROS 産生の増大を示唆するものと考えられる. 尿酸値は両群とも運動後, 有意に上昇していた. 12 分間全力走により, 骨格筋の酸素需要に対して酸素供給が不足するため, 走行中は骨格筋が酸素不足の状態にあったと考えられる. 故に, 骨格筋に酸素供給を行う毛細血管などでは酸素不足の状態が生じ, 血管内皮細胞においてキサンチンデヒドロゲナーゼはキサンチンオキシダーゼに変換されていたと考えられる. 運動終了後, 骨格筋の酸素需要が低下し, 酸素の供給が十分に行われるため(再酸素化), 血管内皮細胞においてキサンチンオキシダーゼ活性が上昇し, ROS 産生が増大していたことが推測される. 以上から, 高強度運動における ROS 産生亢進の原因には, 電子伝達系とキサンチンオキシダーゼ活性化が関与していると考えられる.

・ BMI ≥ 25 群における 8-isoprostane 上昇の原因

8-OHdG は BMI に関係なく両群とも上昇したが, 8-isoprostane は, BMI ≥ 25 群のみ有意に上昇した. 血漿量の減少により, 血中成分の測定値は高値を示すことが報告されている(Kargotich et al. , 1997³⁷⁾). 本研究において, ヘモグロビンとヘマトクリットより求めた血漿変化率は見かけ上, BMI ≥ 25 群が高値を示すものの, 両群間で有意差が認められなかった. さらに,

8-isoprostane 変化率と血漿変化率との間に有意な相関関係は認められなかった。この事実は、BMI \geq 25 群における 8-isoprostane 上昇には、血漿量減少以外の要因が関与することを示している。

12 分間全力走による ROS の産生増大は、酸素消費の増大に伴いミトコンドリア電子伝達系から、あるいは、運動後に認められるキサンチンオキシダーゼ活性上昇が原因である可能性がある。しかし、心拍数や乳酸値、尿酸値は両群間で上昇の程度に差が認められなかったことから、BMI \geq 25 群における 8-isoprostane 上昇には、ミトコンドリア電子伝達系やキサンチンオキシダーゼ活性以外の要因が関与していると推測される。Youssef et al. (2009)⁷²⁾は、BMI が 24.2 未満の 10 代女性と比較して、24.2 以上の女性は高強度運動後に脂質酸化ストレスが増大することを明らかにしている。この報告では、CRP や好中球は肥満群が有意に高い値を示したが、IL-6 は両群で有意差が認められていなかった。さらに、安静時の IL-6 や CRP は運動後の脂質過酸化マーカーと相関関係にあるものの、脂質過酸化マーカーの増加率とは相関関係が認められておらず、酸化ストレス増大への炎症亢進状態の関与は限定的であると述べている。

しかし本研究では、BMI \geq 25 群は BMI <25 群と比較して、好中球数や IL-6 が有意に高い値を示し、さらに、BMI と好中球数、IL-6 の間には有意な相関関係が認められた。加えて、8-isoprostane 変化率と BMI、IL-6 との間に有意な相関関係が認められた。この事実は、BMI の増加に伴う炎症準備状態が、高強度運動による脂質酸化ストレス増大に関与することを示唆するものである。高強度運動による酸化ストレス増大は、好中球ミエロペルオキシダーゼによる酸化反応が一因と報告されている (Popovic et al. , 2015⁸⁷⁾)。さらに、好中球の細胞膜に nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH)酸化酵素が発現すると ROS が産生され、IL-6 は細胞膜における NADPH 酸化酵素の発現を促進するといわれている (天崎と小池, 2005⁸⁸⁾)。したがって、BMI \geq 25 群は BMI <25 群と比較して好中球や IL-6

が高値を示し、炎症準備状態にあると考えられ、高強度運動中に好中球に起因して ROS 産生が増大した可能性がある。BMI ≥ 25 群の平均 BMI が 33.1 ± 2.0 であったが、Youssef et al. (2009)⁷²⁾の報告では、肥満群の平均 BMI は 29.6 ± 0.7 であった。我々の検討では、肥満度が高いほど IL-6 が上昇し、炎症準備状態を惹起することを示唆するものであった。以上のことから、BMI ≥ 25 群の 8-isoprostane 上昇の原因は、従来考えられてきた電子伝達系とキサンチンオキシダーゼ活性に加え、好中球による脂質酸化ストレスの増大が主な原因と考えられる。好中球による ROS 産生は、細胞外液への主な ROS 産生系と知られていることから、細胞膜リン脂質への酸化ストレスを増大させる一方で、細胞内の DNA に対する影響は軽微であったと考えられる。

第 5 節 結語

BMI を指標とし、過体重が 12 分間全力走後の DNA 過酸化反応および脂質過酸化反応に影響を与えるか否か検討した。その結果は以下に示すとおりである。

- 1) 過体重が 12 分間全力走後の 8-OHdG に与える影響は軽微である。
- 2) 過体重の若年男性は炎症準備状態にあり、細胞膜リン脂質への酸化ストレスが増大する。

過体重は軽度の炎症準備状態を惹起し、12 分間全力走後に細胞膜リン脂質への酸化ストレスを増大させることを明らかにした。

第 3 章のまとめ

本章では，BMI が 25 以上の若年男性は 12 分間全力走後に 8-isoprostane が上昇することを明らかにした．8-isoprostane 上昇の原因は，従来考えられてきた電子伝達系とキサンチンオキシダーゼ活性に加え，好中球による脂質酸化ストレスの増大が主な原因と考えられる．BMI は身長と体重から算出される一般的な肥満度の指標であり，健康診断等で把握することが可能である．しかし，BMI は体脂肪だけではなく，骨格筋の増加により高い値を示す場合がある．したがって，BMI のみから被験者の身体的特性を把握するのは限界がある．

一般的な血液生化学検査のひとつとして，血中コレステロール値の検査が実施されている．血中コレステロール値は脂質代謝異常の診断に用いられ，肥満者は脂質代謝異常の発症率が高まると言われている．そこで次章では，身体的特性が高強度運動後の生体反応に与える影響を詳細に検討すべく，血中コレステロール値に着目し，12 分間全力走が生体に与える影響について検討することとする．

第 4 章 12 分間全力走が血管内皮細胞活性化に与える影響

はじめに	72
第 1 節 対象と方法	74
第 2 節 統計分析	77
第 3 節 結果	78
第 4 節 考察	85
第 5 節 結語	89
第 4 章のまとめ	90

はじめに

日本をはじめ，世界では虚血性心疾患や脳血管疾患により死亡する割合は高く，脂質代謝異常や高血圧の人が増加していることが原因と考えられている(WHO, 2012⁸⁹⁾). 脂質代謝異常は動脈硬化症の原因となり，動脈硬化症患者では，血管内皮細胞と血管内膜の間に脂質が蓄積することで，血管内腔の狭窄が生じる．Durstine et al. (2001)⁹⁰⁾は，日常的に運動を行うことで脂質代謝異常の改善が期待できると報告しており，脂質代謝異常の予防，改善には運動が奨励されている．

したがって，日常的に運動を実施することが望まれるが，運動により血流が増加すると，血管内皮細胞に対する物理的刺激である，ずり応力が増大すると報告されている(Marsh and Coombes, 2005⁹¹⁾). 血管内皮細胞は，血管の最も内層に位置する一連の細胞群で，血液と接する細胞である．血管内皮細胞は血中の化学伝達物質や，ずり応力の作用により，炎症反応や凝固線溶反応，血圧など，生理機能を調節している(岡嶋, 1998⁹²⁾). 血管内皮細胞の活性化は，好中球の接着や，凝固活性の亢進などを惹起するため，様々な病態に関与している(岡嶋, 1998⁹²⁾). 運動によりずり応力が増大することから，運動は血管内皮細胞に影響を及ぼすと考えられる．血管内皮細胞活性化の指標には plasminogen activator inhibitor - 1 (PAI-1)があり，線溶活性抑制因子として知られている．運動強度に比例してずり応力は増大すると考えられ，高強度運動が PAI-1 に与える影響を検討した報告では，PAI-1 は運動後，一時的に低下するといわれている(Rydzewski et al. , 1990⁹³⁾ ; Cooper et al. , 2004⁹⁴⁾). したがって，通常，高強度運動を実施しても血管内皮細胞は活性化しないと考えられる．

しかし，動脈硬化症は血管内腔の狭窄を惹起することから，高強度運動によるずり応力が高まる可能性がある．動脈硬化症の原因である脂質代謝異常の診断には血中コレステロール値の検査が用いられ，low density

lipoprotein cholesterol (LDL-C)が 140mg/dL 以上, high density lipoprotein cholesterol (HDL-C)が 40mg/dL 未満という値が診断基準となっている(一般社団法人日本動脈硬化学会, 2012⁹⁵). LDL-C と HDL-C は, 運動を実施する際のメディカルチェックにも用いられているが(勝村, 2008⁹⁶), Michos et al. (2008)⁹⁷)は, これらの値が正常範囲内にあっても, 動脈硬化症の進行が認められる場合があると報告している. Enomoto et al. (2011)⁹⁸)は, LDL-C あるいは HDL-C よりも LDL-C / HDL-C 比(L/H 比)のほうが, 動脈硬化症の進行を予測するのに適していると報告している. L/H 比が高いほど, 動脈硬化性プラークの形成が進行しており(Momiyama et al., 2012⁹⁹), さらに, Nicholls et al. (2007)¹⁰⁰)は, 動脈硬化症の予防, 改善のために, L/H 比を 2.0 未満にすることが望ましいと指摘している. LDL-C と HDL-C が基準値内であっても, L/H 比が 2.0 を超えることが, 理論的には存在する. 高強度運動により血管内皮細胞に高張り応力が生じれば, 血管内皮細胞活性化が惹起される可能性がある.

本章では, PAI-1 を指標とし, L/H 比が 12 分間全力走後の血管内皮細胞活性化に影響を及ぼすか否かを検討した.

第 1 節 対象と方法

1. 対象

被験者には事前に、研究の内容と危険性、研究への参加を辞退する事が被験者にとって不利益にならないということ、いつでも途中辞退ができるということ、研究で得た個人的データは個人が特定できないように管理をすること、を説明した。その後、文書による研究への参加の同意を得た。なお本研究は、所属機関における倫理委員会の承認を得て行われた(承認番号：27-11)。

被験者は、大学生の男性 12 名とした。陸上競技(長距離)、バドミントン、野球、トライアスロン、剣道、相撲を専門種目とし、日常的に部活動で運動を行っている選手であった。L/H 比の管理目標が 2.0 未満であるという報告(Nicholls et al. , 2007¹⁰⁰)をもとに、L/H 比が 2.0 未満を L/H<2.0 群(7 名)、2.0 以上を L/H≥2.0 群(6 名)とした。被験者の身体的特徴を表 4-1 に示した。

2. 方法

2. 1. 運動負荷

被験者は、事前に 12 分間全力走の経験がある選手を対象とした。実験前日に激しい運動を行うことを避けるように指示し、実験当日、各自ウォーミングアップを行った後、1 周 400 メートルの陸上トラックにて 12 分間全力走を課した。走行中、被験者には 1 周ごとに経過時間を知らせた。陸上トラックには、100 メートルごとにマーカーを置き、走行中、被験者が走行距離を把握するための指標とした。走行中は心拍計(ハートレートモニター s610i, Polar Electro, Finland)を装着し、最大心拍数を測定した。運動強度の指標とするため、走行中の最大心拍数が推定最大心拍数(220-年齢, age predicted maximal heart rate ; APMHR) の何パーセントに達していたか

(%APMHR)を求めた。当日の天候は曇り，気温は 7.4℃，湿度は 22%であった。

2. 2. 採血・血液分析

ウォーミングアップ前(運動前，pre)と運動終了約 5 分後(運動後，post)に，肘正中皮静脈より 20mL ずつ採血し，以下の項目について分析を行った。

・乳酸値

運動前後に採血した血液サンプルを除蛋白液入りの容器で十分に攪拌し，室温にて 5 分間，3000 回/分で遠心分離した。その後，血球成分と分離した上清液を冷蔵保存し乳酸値の測定に用いた。測定には，乳酸オキシダーゼ酵素法(SRL Inc.，Tokyo, Japan)を用いた(結果は，「mg/dL」の単位で測定された値を，換算係数である 0.111 を掛け，「mmol/l」に変換して示した)。

・血中コレステロール

運動前に採血した血液サンプルを薬剤無添加の容器内で攪拌混和させ，室温にて 15 分間，3000 回/分で遠心分離した。その後，血球成分と分離した血清を冷蔵保存し，総コレステロール (Total Cholesterol, TC)，LDL-C，HDL-C の測定に用いた。総コレステロールの測定には，コレステロール脱水素酵素法 (SRL Inc.，Tokyo, Japan) を用いた。LDL-C，HDL-C の測定には，直接測定法 (SRL Inc.，Tokyo, Japan) を用いた。LDL-C を HDL-C で除したものを，L/H 比とした。

・血糖値

運動前に採血した血液サンプルをフッ化ナトリウム入りの容器内で攪拌混和させ，室温にて 15 分間，3000 回/分で遠心分離した。その後，血球成分と分離した血漿を冷蔵保存し，血糖値の測定に用いた。測定には，ヘキソキナーゼ UV (紫外吸光光度)法(SRL Inc.，Tokyo, Japan) を用いた。

- ・ Alanine transaminase (ALT)

運動前後に採血した血液サンプルを薬剤無添加の容器内で攪拌混和させ、室温にて 15 分間、3000 回/分で遠心分離した。その後、血球成分と分離した血清を冷蔵保存し、ALT の測定に用いた。測定には Japan Society of Clinical Chemistry (JSCC)標準化法(SRL Inc. , Tokyo, Japan)を用いた。

- ・ Plasminogen activator inhibitor - 1(PAI-1)

運動前後に採血した血液サンプルを 3.2%クエン酸ナトリウム入りの容器内で攪拌混和させ、低温にて 15 分間、3000 回/分で遠心分離した。その後、血球成分と分離した血漿を凍結保存し、PAI-1 の測定に用いた。PAI-1 は血中で、活性型、潜在型、tissue plasminogen activator (tPA)との複合体として存在している。本研究は、トータル PAI-1 を測定した。測定には、Latex Photometric Immunoassay (SRL Inc. , Tokyo, Japan)を用いた。

- ・ ヘモグロビン，ヘマトクリット

運動前後に採血した血液サンプルを Ethylenediaminetetraacetic acid dipotassium salt dehydrate(EDTA-2K)り容器にて冷蔵保存し、全血を用いてヘモグロビン，ヘマトクリットを求めた。ヘモグロビンは、Sodium Laurly Sulfate – Hemoglobin 法(SRL Inc. , Tokyo, Japan)を用いて測定した。ヘマトクリットは、赤血球パルス波高値検出方式(SRL Inc. , Tokyo, Japan)を用いて測定した。ヘモグロビン，ヘマトクリットを用い、Dill and Costill, (1974)³⁶⁾の方法により血漿変化率(plasma volume change)を求めた。

第 2 節 統計分析

測定結果は平均±標準誤差(mean ± SE.)で示した。両群間での比較には、対応の無い t 検定を用いた。両群間(L/H <2.0 群 vs L/H ≥2.0 群) と時間(pre vs post)の 2 要因で比較するため、反復測定の 2 要因分散分析を用いた。交互作用が認められた場合は単純主効果の検定を行った。交互作用が認められなかった場合は、主効果が認められた要因に対して、対応のある t 検定、あるいは対応の無い t 検定を行った。測定値間の関連を検討するため、pearson の積率相関係数(r)を求めた。いずれも有意水準は 5%未満とした。分析には、SPSS statistics 21.0 (IBM, USA)を用いた。

第 3 節 結果

表 4-1 に被験者の身体的特徴を示した。被験者は 19-23 歳までの男性で、身長、体重ともに両群間に有意差が認められなかった ($p > 0.05$)。BMI は L/H <2.0 群と比較して L/H \geq 2.0 群が有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。LDL-C, L/H 比は L/H <2.0 群と比較して L/H \geq 2.0 群が有意に高い値を示した ($p < 0.01$)。HDL-C は L/H \geq 2.0 群と比較して L/H <2.0 群が有意に高い値を示した ($p < 0.01$)。TC, 血糖値は両群間に有意差が認められなかった ($p > 0.05$)。

表 4-2 に被験者の走行データを示した。二要因分散分析の結果、心拍数、乳酸、ALT、ヘモグロビン、ヘマトクリットに有意な交互作用は認められなかった ($p > 0.05$)。乳酸は時間要因のみ有意な主効果が認められ ($p < 0.01$)、L/H <2.0 群、L/H \geq 2.0 群ともに、運動前と比較して運動後、有意に上昇した ($p < 0.01$)。心拍数は時間要因のみ有意な主効果が認められ ($p < 0.01$)、L/H <2.0 群、L/H \geq 2.0 群ともに、運動前と比較して運動中最大心拍数が有意に高い値を示した ($p < 0.01$)。ALT は時間要因のみ有意な主効果が認められ ($p < 0.01$)、L/H <2.0 群、L/H \geq 2.0 群ともに、運動前と比較して運動後、有意に上昇した ($p < 0.01$)。ヘモグロビンは、時間と群の両要因において主効果が認められ ($p < 0.01$)、運動前後の値ともに L/H \geq 2.0 群が有意に高い値を示し ($p < 0.01$)、L/H \geq 2.0 群のみ運動後、有意に上昇した ($p < 0.05$)。ヘマトクリットは、時間と群の両要因において主効果が認められ ($p < 0.01$)、運動前後の値ともに L/H \geq 2.0 群が有意に高い値を示し ($p < 0.01$)、L/H \geq 2.0 群のみ運動後、有意に上昇した ($p < 0.05$)。APMHR, %APMHR, 血漿変化率は両群間で有意差は認められなかった ($p > 0.05$)。

図 4-1 に PAI-1 の変化を示した。PAI-1 は両群間で有意な交互作用が認められた ($F = 5.76$, $p < 0.05$)。単純主効果検定の結果、群間には運動後のみ有意差が認められた (L/H <2.0 群 : 25.8 ± 3.4 ng/mL, L/H \geq 2.0 群 : 61.8 ± 11.7

ng/mL, $p < 0.01$). 運動前は両群間で有意差が認められなかった(L/H < 2.0 群: 30.4 ± 1.9 ng/mL, L/H ≥ 2.0 群: 41.1 ± 10.0 ng/mL, $p > 0.05$). 時間要因は L/H ≥ 2.0 群のみ有意差が認められ, 運動後, 有意に上昇した($p < 0.05$).

図 4-2 に安静時 PAI-1 と L/H 比, BMI, 安静時 ALT との相関関係を示した. 安静時 PAI-1 は BMI, 安静時 ALT との間に有意な相関関係が認められた($p < 0.01$). 安静時 PAI-1 と L/H 比との間に有意な相関関係は認められなかった($p > 0.05$).

図 4-3 に PAI-1 変化量と L/H 比, BMI, ALT 変化量, 血漿変化率との相関関係を示した. 変化量は, 運動後の値から運動前の値を減じたものとした. PAI-1 変化量は, L/H 比との間にのみ有意な相関関係が認められた($p < 0.05$). PAI-1 変化量と BMI, ALT 変化量, 血漿変化率との間に有意な相関関係は認められなかった($p > 0.05$).

表 4-1 被験者の身体的特徴

	L/H <2.0 (n=7)	L/H ≥2.0 (n=6)
年齢(歳)	21.0 ± 0.3	20.5 ± 0.6
身長(cm)	172.8 ± 1.7	169.0 ± 2.8
体重(kg)	64.7 ± 3.0	84.3 ± 7.6
BMI (kg/m ²)	21.6 ± 0.9	29.7 ± 2.9 *
TC (mg/dL)	173.8 ± 7.3	184.5 ± 9.5
LDL-C (mg/dL)	87.5 ± 2.8	117.1 ± 5.9 **
HDL-C (mg/dL)	69.8 ± 4.5	50.0 ± 2.8 **
L/H 比	1.2 ± 0.07	2.3 ± 0.07 **
血糖値(mg/dL)	86.1 ± 1.1	88.1 ± 3.2

Mean ± SE.

BMI : body mass index, TC : total cholesterol, LDL-C : low density lipoprotein cholesterol, HDL-C : high density lipoprotein cholesterol, L/H : LDL-C / HDL-C

* : 両群間の比較 (**p* <0.05, ***p* <0.01)

表 4-2 走行データ

		L/H <2.0 (n=7)	L/H ≥2.0 (n=6)
心拍数(bpm)	pre	72.7 ± 3.9	81.3 ± 4.3
	peak	187.7 ± 3.3 **	197.0 ± 3.6**
APMHR (bpm)		199.0 ± 0.3	199.5 ± 0.6
%APMHR		94.3 ± 1.6	98.7 ± 1.9
乳酸値(mmol/L)	pre	1.2 ± 0.1	1.9 ± 0.2
	post	9.5 ± 1.5**	9.7 ± 1.6**
ALT (U/L)	pre	19.1 ± 2.4	31.8 ± 7.3
	post	20.7 ± 2.5**	34.5 ± 7.8**
ヘモグロビン(g/dL)	pre	14.9 ± 0.2	16.3 ± 0.3##
	post	15.0 ± 0.1	16.7 ± 0.3##*
ヘマトクリット(%)	pre	45.4 ± 0.5	48.8 ± 0.8##
	post	46.6 ± 0.6	50.6 ± 0.9##*
血漿変化率(%)		- 2.9 ± 1.6	- 5.6 ± 1.3
走行距離(m)		2991.4 ± 142.1	2500.0 ± 176.5

Mean ± SE.

APMHR：年齢推定最大心拍数(age predicted maximal heart rate)

ALT：alanine transaminase

：運動前後の比較(p <0.05, ** p <0.01)

#：両群間の比較(## p <0.01)

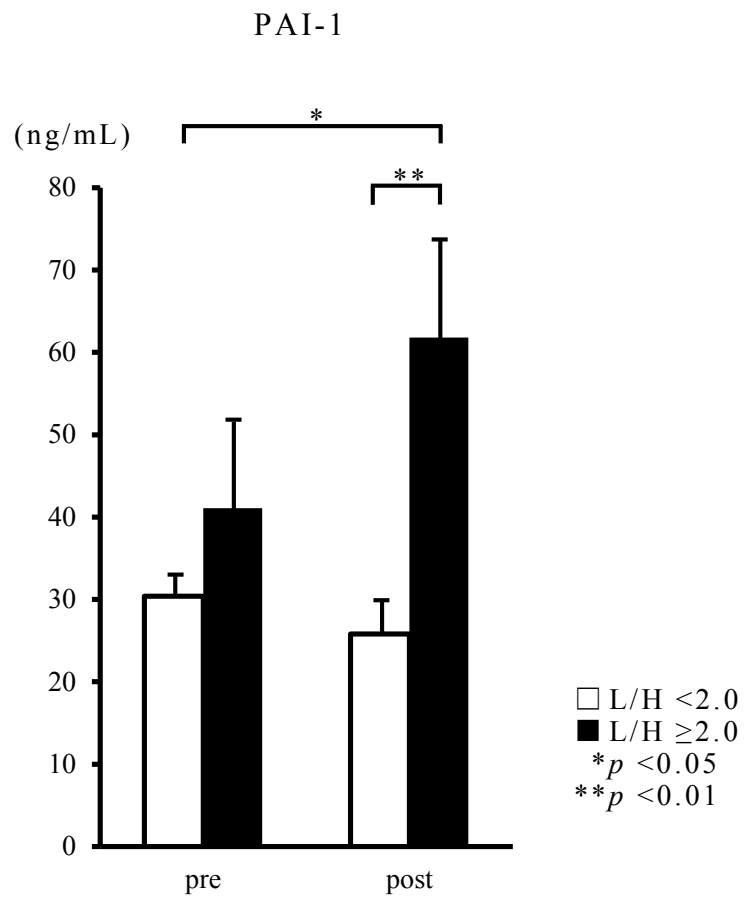


図 4-1 PAI-1 の変化

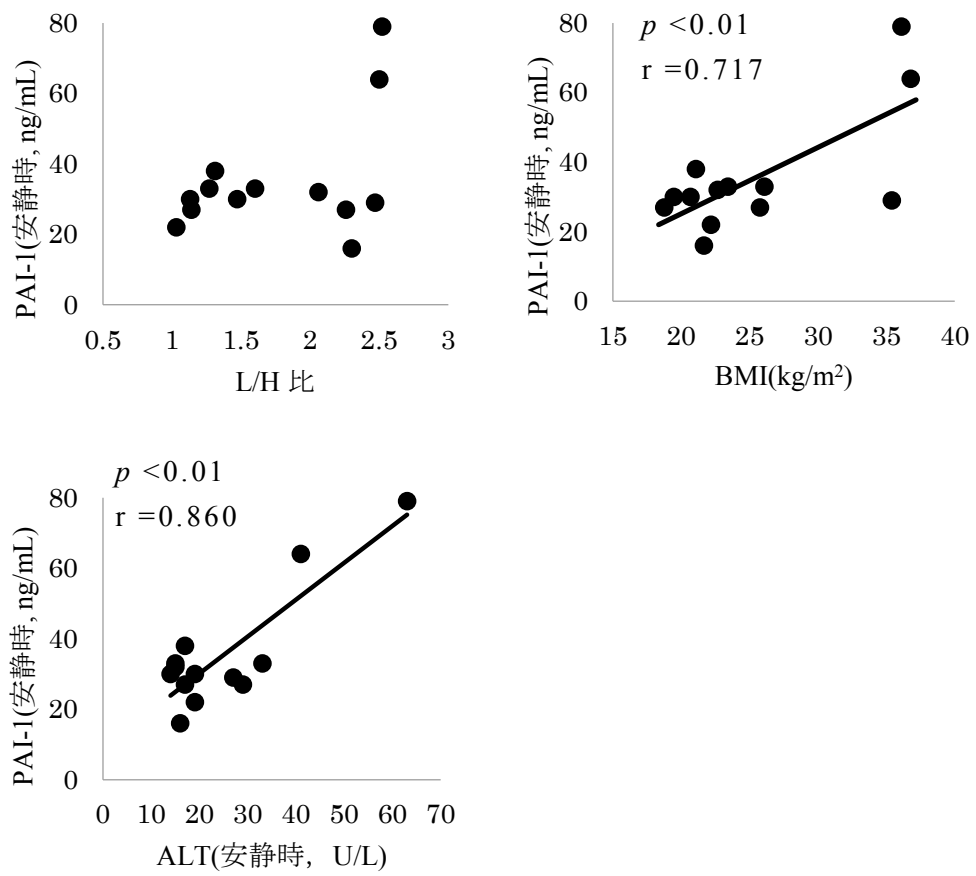


図 4-2 安静時 PAI-1 と L/H 比, BMI, 安静時 ALT との相関関係

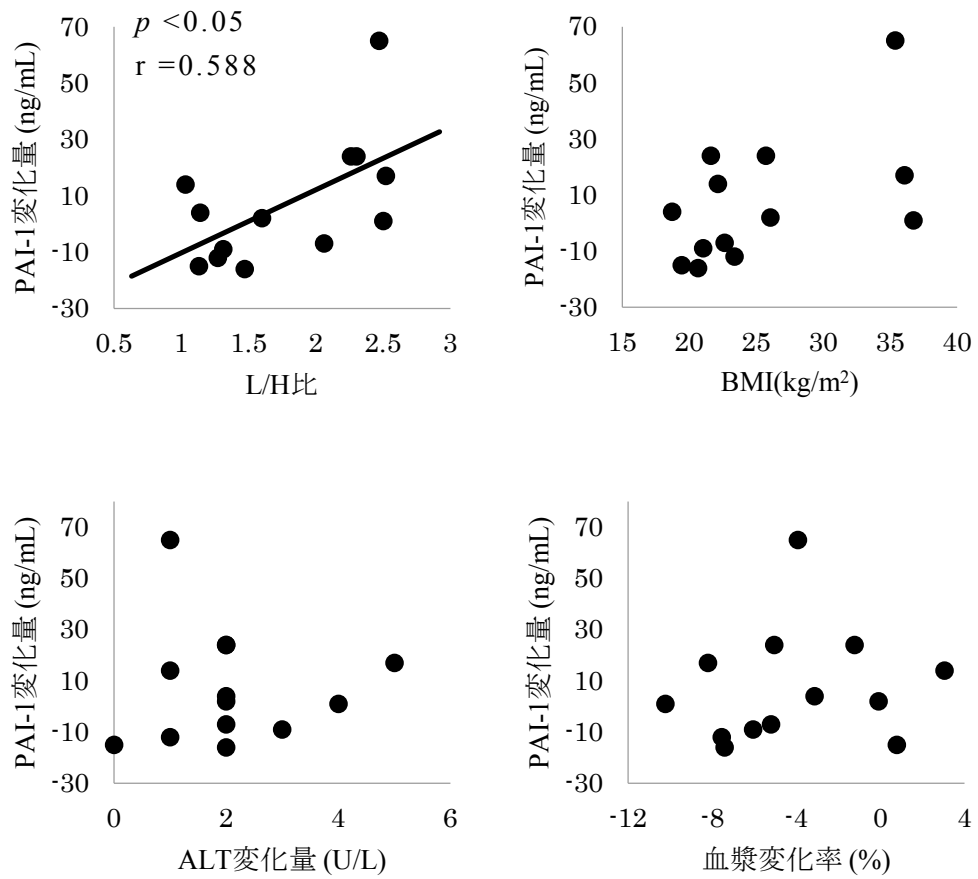


図 4-3 PAI-1 変化量と L/H 比，BMI，ALT 変化量，血漿変化率との相関関係

第 4 節 考察

・ 運動強度

運動強度を示す生理的指標として、最大酸素摂取量(VO_{2max})、エネルギー代謝率(RMR)、心拍数、乳酸値が主に用いられている(Hill et al. , 1924³⁸); Howley, 2001³⁹)。本研究は屋外での走運動を運動課題としたため、 VO_{2max} や RMR のように、酸素摂取量や酸素消費量の測定が必要となる指標を用いることは困難と考えられる。したがって、心拍数と乳酸値を運動強度の指標とした。

走行中の最大心拍数が年齢推定最大心拍数の何パーセントに達していたか(%APMHR)を求めると、L/H <2.0 群が $94.3 \pm 1.6\%$ 、L/H ≥ 2.0 群が $98.7 \pm 1.9\%$ であった。American college of sports medicine (1998)⁴⁰)は、%Heart rate max (HR_{max} 、最大心拍数の実測値と運動中最大心拍数の割合)が 90%以上の運動を高強度運動(Very hard)であると報告している。本研究は、推定最大心拍数を用いているが、%APMHR より判断すると高強度運動であったと推測される。

乳酸値は運動強度が高くなるにつれて上昇し、高強度運動を行うことで、乳酸蓄積開始点(4mmol/L)を境に急激に上昇し始めると報告されている(Hill et al. , 1924³⁸)。本研究において、運動後の乳酸値は L/H <2.0 群が 9.5 ± 1.5 mmol/L、L/H ≥ 2.0 群が 9.7 ± 1.6 mmol/L となり、乳酸蓄積開始点を上まわっていた。したがって、乳酸値の検討からも、走行中、被験者には高強度の負荷がかかっていたと推測される。

したがって、両群の被験者にとって 12 分間全力走は高強度運動であったと推測される。

・ L/H \geq 2.0 群における PAI-1 上昇の原因

一過性の高強度運動により PAI-1 は一時的に低下すると報告されている (Rydzewski et al. , 1990⁹³) ; Cooper et al. , 2004⁹⁴). しかし, L/H \geq 2.0 群の PAI-1 は運動後, 有意に上昇した.

L/H \geq 2.0 群のみ, ヘモグロビンとヘマトクリットが運動後, 有意に上昇していた. これは, L/H \geq 2.0 群において, 運動後に血漿量の減少が認められることを示している. 血漿量の減少により, 血中成分の測定値は高値を示すことが報告されているため (Kargotich et al. , 1997³⁷), L/H \geq 2.0 群における PAI-1 上昇は血漿量の減少が原因である可能性がある. しかし, 血漿変化率は L/H \geq 2.0 群が L/H $<$ 2.0 群と比較して高い減少率を示すものの, 両群間に有意差は認められなかった. さらに, 血漿変化率と PAI-1 変化量との間に有意な相関関係は認められなかった. この事実は, L/H \geq 2.0 群における PAI-1 上昇の原因は, 血漿量の減少だけではないことを示唆している.

PAI-1 は主に脂肪細胞, 肝細胞, 血管内皮細胞より産生される. Tumor necrosis factor- α (TNF- α), Transforming growth factor- β (TGF- β), インスリンなどは, 脂肪細胞による PAI-1 産生を亢進させることが報告されている (Sakamoto et al. , 1999¹⁰¹) ; Morange et al. , 1999¹⁰²) ; Sawdy et al. , 1989¹⁰³) ; Nordt et al. , 1993¹⁰⁴). インスリンは肝細胞による PAI-1 産生を亢進させることも知られている (Nordt et al. , 1993¹⁰⁴). このため, 肥満や高血糖が血中 PAI-1 の上昇を惹起すると指摘されている. これらの報告は *in vitro* で行われ, 数時間から数日かけて各細胞を培養した結果, PAI-1 産生が亢進した事実に基づいている. 血中 PAI-1 は BMI や内臓脂肪量と相関関係にあるという報告もあり (Aso et al. , 2005¹⁰⁵) ; Giltay et al. , 1998¹⁰⁶), 安静時の血中 PAI-1 に, 各細胞がどのように関与するかを検討したものが多い. 本研究では, 12 分間全力走により, 短時間のうちに PAI-1 が上昇した. 諸家の報告と同様, 安静時の PAI-1 と BMI の間に有意な相関関係が認められ

たが、PAI-1 変化量と BMI の間に有意な相関関係は認められなかった。脂肪細胞が短時間のうちに PAI-1 産生を亢進させるという報告は、調査した限り見当たらない。このため、本研究における PAI-1 上昇は、脂肪細胞以外が原因と考えられる。

一過性の高強度運動は肝細胞のトランスアミナーゼを上昇させることが指摘されている(矢野ら, 1995⁴⁴)。この報告は、動物実験の結果、一過性の高強度運動は肝門脈血流の減少を引き起こし、トランスアミナーゼを上昇させると述べている。さらに、Copples et al. (2009)¹⁰⁷)は、in vitro で、16 時間の低酸素状態が肝細胞による PAI-1 産生を亢進させると報告している。このため、人においても高強度運動が肝門脈血流の減少を引き起こし、酸素供給が減少することで、肝細胞による PAI-1 産生が亢進する可能性はある。本研究では、主に肝細胞の機能障害を反映しやすい ALT が両群において有意に上昇したことから、12 分間全力走が肝細胞に虚血侵襲を与えていた可能性が考えられる。しかし、PAI-1 変化量と ALT 変化量の間には有意な相関関係は認められなかった。この事実は、高強度運動は ALT を上昇させるが、PAI-1 産生には影響しないという事を示唆している。したがって、走行中、肝細胞により PAI-1 産生が亢進した可能性は低いと考えられる。これまでの報告(Aso et al. , 2005¹⁰⁵)と同様、我々の結果からも、安静時 ALT と安静時 PAI-1 の間には、有意な相関関係が認められた。以上のことから、肝細胞は、主に安静時の血中 PAI-1 に影響を及ぼすものであり、高強度運動による PAI-1 産生には関与しないと考えられる。

一方、血管内皮細胞は炎症や組織障害が起きると、TNF- α や interleukin-1 などの炎症性サイトカインにより活性化し、PAI-1 産生が亢進する(van der Poll et al. , 2001¹⁰⁸)。感染症による凝固活性の亢進は、血管内皮細胞の活性化による PAI-1 上昇が一因となっている(Semeraro et al. , 2012¹⁰⁹)。Semeraro et al. (2003)¹¹⁰)は、血管内皮細胞が、様々なストレス下で PAI-1 動態を調節する主な細胞であると報告している。本研究において、PAI-1 変

化量は、L/H 比との間に有意な相関関係が認められた。L/H 比は、動脈硬化性プラークの形成と有意な相関関係にあることが指摘されている (Momiya et al. , 2012⁹⁹)。動脈硬化性プラークなどが原因となり、血管狭窄が発生すると、ずり応力刺激により血管内皮細胞が活性化することが、*in vitro* で明らかになっている (Yin et al. , 2011¹¹¹)。このため、運動により増加するずり応力は血管内皮細胞の活性化を惹起する可能性がある。L/H 比の管理目標は 2.0 といわれており (Nicholls et al. , 2007¹⁰⁰)、L/H ≥ 2.0 群は動脈硬化症が進行している可能性があるため、血管内皮細胞にずり応力が発生しやすかったと考えられる。加えて、L/H < 2.0 群と比較して L/H ≥ 2.0 群のヘモグロビン、ヘマトクリットは有意に高いことから、L/H ≥ 2.0 群の血液粘稠度は高いと考えられる。さらに、運動による脱水の影響で血漿量の減少が起きていたことも考慮すると、L/H ≥ 2.0 群は血管内皮細胞に対するずり応力が発生しやすかったと考えられる。動脈硬化症の進行と血液粘稠度の上昇は、ずり応力刺激を増大させるため、ずり応力の影響を受け、L/H ≥ 2.0 群は 12 分間全力走により血管内皮細胞が活性化していた可能性がある。従って、血漿量の減少だけではなく、血管内皮細胞の活性化が、L/H ≥ 2.0 群における PAI-1 上昇の原因であると推測される。

第 5 節 結語

L/H 比が 12 分間全力走後の PAI-1 に影響を及ぼすか否か検討した結果、L/H ≥ 2.0 群のみ、PAI-1 が有意に上昇することを明らかにした。したがって、L/H 比が 12 分間全力走後に血管内皮細胞活性化を惹起する因子になることを明らかにした。

第 4 章のまとめ

一般的な血液性化学検査のひとつとして血中コレステロール値の検査が実施され、脂質代謝異常の診断に用いられている。諸家は、LDL-C が 140 mg/dL 以上、HDL-C が 40 mg/dL 未満という診断基準のみでは、動脈硬化症の予測には不十分であり、L/H 比に着目すべきと指摘している。動脈硬化症が認められる場合、高強度運動により生じる高張り応力は、血管内皮細胞の活性化を惹起する可能性がある。そこで本章では、PAI-1 を指標とし、L/H 比が 12 分間全力走後の血管内皮細胞活性化に与える影響を検討した。L/H 比が 2.0 以上の若年男性は 12 分間全力走後に血管内皮細胞が活性化することを明らかにした。

第 3 章では、若年男性において、過体重は軽度の炎症準備状態を惹起し、細胞膜リン脂質への酸化ストレスを増大させることを明らかにした。第 4 章では、L/H 比が 12 分間全力走後に血管内皮細胞活性化を惹起する因子になることを明らかにした。血管内皮細胞は線溶活性を調節する重要な組織であるが、炎症反応の亢進により線溶活性が抑制されるといわれている。したがって、過体重が 12 分間全力走後の線溶活性に与える影響を検討する必要がある。

次章では、過体重に伴う軽度の炎症準備状態が 12 分間全力走後の線溶活性に影響を与えるか否かを検討することとする。

第 5 章 12 分間全力走が線溶活性に与える影響

はじめに	92
第 1 節 対象と方法	94
第 2 節 統計分析	97
第 3 節 結果	98
第 4 節 考察	105
第 5 節 結語	109
第 5 章のまとめ	110

はじめに

線溶活性は血栓溶解の際に重要な役割を果たし、主に血管内皮細胞による t-PA 産生が増大することで亢進する。運動は線溶活性に影響を及ぼすことが知られており、多様な運動条件下で行われた報告が散見される。健常者を対象にした報告では、低強度、中強度、高強度のいずれの強度においても、一過性の運動は t-PA を上昇させるといわれている (Szymanski and Pate, 1994a¹¹²⁾; DeSouza et al. , 1997¹¹³⁾; Hilberg et al. , 2003¹¹⁴⁾). Szymanski and Pate, (1994b)¹¹⁵⁾は中強度よりも高強度運動のほうが t-PA 上昇率が高いことを明らかにし、運動強度が高いほど線溶活性の亢進が認められると述べている。さらに、t-PA だけではなく、t-PA によるプラスミン産生を反映する α_2 plasmin inhibitor / plasmin complex (PIC)も運動により上昇するといわれている (Möckel et al. , 1999¹¹⁶⁾). 故に、運動は線溶活性を亢進させると考えられている。

一方、血栓が形成された際、線溶活性の抑制は血栓形成を助長することから (Aso, 2007¹¹⁷⁾), 動脈硬化性疾患を有する中高年者を対象に、運動と線溶活性の関連を検討した報告も散見される。Rydzewski et al. , (1990)⁹³⁾は、冠動脈硬化症を有する中高年者と健常者を比較し、運動による t-PA 上昇率は疾患を有する被験者が低い値を示したと報告している。Held et al. , (1997)¹¹⁸⁾は、動脈硬化症に起因する狭心症を有する中高年者は、健常者と比較して運動による t-PA 上昇率が低いことを明らかにしている。したがって、動脈硬化性疾患を有する中高年者は運動による線溶活性が抑制されると考えられている。

しかし、動脈硬化性疾患を有していない人でも、肥満者は線溶活性が抑制されるといわれている。Van Guilder et al. , (2005)¹¹⁹⁾は in vivo の実験において、ブラジキンに対する t-PA 産生の程度を比較し、過体重あるいは肥満者は t-PA 上昇率が低いと報告している。さらに、線溶活性の抑制は、

炎症反応の亢進が一因である可能性を指摘している(Van Guilder et al. , 2005¹¹⁹⁾). 故に, 過体重の人でも線溶活性が抑制されることが明らかになっている. これまで, 過体重である被験者を対象に, 運動による線溶活性の変化を比較した報告は調査した限りでは見当たらない. 若年者においても, 肥満度の増加は軽度の炎症準備状態を惹起すると指摘されている(Visser et al. , 1999⁷⁰⁾). 故に, 若年者であっても過体重は運動後の線溶活性に影響を与える可能性が考えられる. さらに, 運動強度が高いほど線溶活性が亢進することから, 高強度運動による線溶活性の変化を比較することで, 過体重の影響を検討することができると考えられる.

本章では, 若年者を対象に, 過体重が 12 分間全力走後の線溶活性に影響を与えるか否かを検討した.

第 1 節 対象と方法

1. 対象

被験者には事前に、研究の内容と危険性、研究への参加を辞退する事が被験者にとって不利益にならないということ、いつでも途中辞退ができるということ、研究で得た個人的データは個人が特定できないように管理をすること、を説明した。その後、文書による研究への参加の同意を得た。なお本研究は、所属機関における倫理委員会の承認を得て行われた(承認番号：27-11)。

被験者は、大学生の男性 12 名とした。陸上競技(長距離)、バドミントン、野球、トライアスロン、剣道、相撲を専門種目とし、日常的に部活動で運動を行っている選手であった。BMI が 25 以上を示すと過体重であるという報告をもとに(WHO, 2014⁷³⁾、BMI が 25 未満を BMI <25 群(7 名)、25 以上を BMI ≥25 群(5 名)とした。被験者の身体的特徴を表 5-1 に示した。

2. 方法

2. 1. 運動負荷

被験者は、事前に 12 分間全力走の経験がある選手を対象とした。実験前日に激しい運動を行うことを避けるように指示し、実験当日、各自ウォーミングアップを行った後、1 周 400 メートルの陸上トラックにて 12 分間全力走を課した。走行中、被験者には 1 周ごとに経過時間を知らせた。陸上トラックには、100 メートルごとにマーカーを置き、走行中、被験者が走行距離を把握するための指標とした。走行中は心拍計(ハートレートモニター s610i, Polar Electro, Finland)を装着し、最大心拍数を測定した。運動強度の指標とするため、走行中の最大心拍数が推定最大心拍数(220-年齢, age predicted maximal heart rate ; APMHR) の何パーセントに達していたか(%APMHR)を求めた。当日の天候は曇り、気温は 7.4℃、湿度は 22%であっ

た。

2. 2. 採血・血液分析

ウォーミングアップ前(運動前, pre)と運動終了約 5 分後(運動後, post)に, 肘正中皮静脈より 20mL ずつ採血し, 以下の項目について分析を行った。

・乳酸値

運動前後に採血した血液サンプルを除蛋白液入りの容器で十分に攪拌し, 室温にて 5 分間, 3000 回/分で遠心分離した。その後, 血球成分と分離した上清液を冷蔵保存し乳酸値の測定に用いた。測定には, 乳酸オキシダーゼ酵素法(SRL Inc. , Tokyo, Japan)を用いた(結果は, 「mg/dL」の単位で測定された値を, 換算係数である 0.111 を掛け, 「mmol/l」に変換して示した)。

・血中コレステロール

運動前に採血した血液サンプルを薬剤無添加の容器内で攪拌混和させ, 室温にて 15 分間, 3000 回/分で遠心分離した。その後, 血球成分と分離した血清を冷蔵保存し, Total cholesterol (TC), Low density lipoprotein cholesterol (LDL-C)及び High density lipoprotein cholesterol (HDL-C)の測定に用いた。TC の測定には, コレステロール脱水素酵素法(SRL Inc. , Tokyo, Japan)を用いた。LDL-C, HDL-C の測定には, 直接測定法(SRL Inc. , Tokyo, Japan)を用いた。さらに, LDL-C を HDL-C で除したものを L/H 比とした。

・ Interleukin-6 (IL-6)

運動前に採血した血液サンプルを薬剤無添加の容器内で攪拌混和させ, 室温にて 15 分間, 3000 回/分で遠心分離した。その後, 血球成分と分離した血清を冷凍保存し, IL-6 の測定に用いた。測定には, Chemiluminescent Enzyme Immunoassay 法(SRL Inc. , Tokyo, Japan)を用いた。

- E-selectin

運動前に採血した血液サンプルを薬剤無添加の容器内で攪拌混和させ、室温にて 15 分間、3000 回/分で遠心分離した。その後、血球成分と分離した血清を冷凍保存し、E-selectin の測定に用いた。測定には、Enzyme-Linked Immunosorbent Assay 法(SRL Inc. , Tokyo, Japan)を用いた。

- ヘモグロビン, ヘマトクリット

運動前後に採血した血液サンプルを Ethylenediaminetetraacetic acid dipotassium salt dehydrate (EDTA-2K)入り容器にて冷蔵保存し、全血を用いてヘモグロビン, ヘマトクリットを求めた。ヘモグロビンは、Sodium Laurly Sulfate – Hemoglobin 法を用いて測定した。ヘマトクリットは、赤血球パルス波高値検出方式(SRL Inc. , Tokyo, Japan)を用いて測定した。ヘモグロビン, ヘマトクリットを用い、Dill and Costill, (1974)³⁶⁾の方法により血漿変化率(plasma volume change)を求めた。

- α_2 plasmin inhibitor / plasmin complex (PIC)

運動前後に採血した血液サンプルを 3.2%クエン酸ナトリウム入りの容器内で攪拌混和させ、室温にて 15 分間、3000 回/分で遠心分離した。その後、血球成分と分離した血漿を冷凍保存し、PIC の測定に用いた。測定には、Latex Photometric Immunoasay(SRL Inc. , Tokyo, Japan)を用いた。運動後の値は血液濃縮の影響を補正して示し、運動前後の値から PIC 変化率(%)を求めた。

第 2 節 統計分析

測定結果は平均±標準誤差(mean ± SE.)で示した. 両群間の比較には, 対応の無い t 検定を用いた. 両群間(BMI <25 群 vs BMI ≥25 群)と時間(pre vs post)の 2 要因で比較するため, 反復測定 of 2 要因分散分析を用いた. 交互作用が認められた場合は単純主効果の検定を行った. 交互作用が認められなかった場合は, 主効果が認められた要因に対して, Bonferroni の多重比較検定を行った. 測定値間の関連を検討するため, spearman の順位相関係数(r_s)を求めた. いずれも有意水準は 5%未満とした. 分析には, SPSS statistics 21.0 (IBM, USA)を用いた.

第 3 節 結果

表 5-1 に被験者の身体的特徴を示した。被験者は 19—23 歳までの男性で、身長は BMI \geq 25 群と比較して BMI $<$ 25 群が有意に高い値を示し ($p < 0.05$)、体重、BMI は BMI $<$ 25 群と比較して BMI \geq 25 群が有意に高い値を示した ($p < 0.01$)。TC, LDL-C, HDL-C は両群間に有意差が認められなかった ($p > 0.05$)。L/H 比, IL-6, E-selectin は BMI $<$ 25 群と比較して BMI \geq 25 群が有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。

表 5-2 に走行データを示した。二要因分散分析の結果、心拍数、乳酸、ヘモグロビン、ヘマトクリットに有意な交互作用は認められなかった ($p > 0.05$)。心拍数は時間要因にのみ有意な主効果が認められ ($p < 0.01$)、両群とも運動前と比較して運動中最大心拍数が有意に高い値を示した ($p < 0.01$)。乳酸は時間要因にのみ有意な主効果が認められ ($p < 0.01$)、両群とも運動前と比較して運動後、有意に上昇した ($p < 0.01$)。ヘモグロビンは時間 ($p < 0.05$) と群 ($p < 0.01$) の両要因に有意な主効果が認められ、両群とも運動前と比較して運動後、有意に上昇し ($p < 0.05$)、運動前後の値ともに BMI $<$ 25 群と比較して BMI \geq 25 群が有意に高い値を示した ($p < 0.01$)。ヘマトクリットは時間と群の両要因に有意な主効果が認められ ($p < 0.01$)、両群とも運動前と比較して運動後、有意に上昇し ($p < 0.01$)、運動前後の値ともに BMI $<$ 25 群と比較して BMI \geq 25 群が有意に高い値を示した ($p < 0.01$)。APMHR, %APMHR, 血漿変化率は両群間に有意差が認められず ($p > 0.05$)、走行距離は BMI $<$ 25 群と比較して BMI \geq 25 群が有意に低い値を示した ($p < 0.01$)。

図 5-1 に PIC の変化を示した。PIC に有意な交互作用が認められた ($F = 5.26$, $p < 0.05$)。単純主効果検定の結果、群の要因では運動前後ともに有意な主効果は認められなかった ($p > 0.05$)。時間要因では、BMI $<$ 25 群のみ有意な主効果が認められ、運動前と比較して運動後、有意に上昇した (pre : 0.5 ± 0.05 $\mu\text{g/mL}$, post : 1.8 ± 0.2 $\mu\text{g/mL}$, $p < 0.01$)。一方、BMI \geq 25 群の PIC は

運動前後で有意差が認められなかった(pre : $0.5 \pm 0.05 \mu\text{g/mL}$, post : $0.9 \pm 0.3 \mu\text{g/mL}$, $p > 0.05$).

図 5-2 に BMI と IL-6, E-selectin, IL-6 と E-selectin との相関関係を示した。BMI は IL-6 との間に有意な正の相関関係が認められた($p < 0.01$)。BMI は E-selectin との間に有意な正の相関関係が認められた($p < 0.01$)。IL-6 と E-selectin との間に有意な正の相関関係が認められた($p < 0.01$)。

図 5-3 に PIC 変化率と BMI, IL-6, L/H 比との相関関係を示した。PIC 変化率と BMI の間に有意な負の相関関係が認められた($p < 0.01$)。PIC 変化率と IL-6 の間に有意な負の相関関係が認められた($p < 0.05$)。PIC 変化率と L/H 比の間に有意な相関関係は認められなかった($p > 0.05$)。

表 5-1 被験者の身体的特徴

	BMI <25 (n=7)	BMI ≥25 (n=5)
年齢(歳)	20.7 ± 0.5	20.0 ± 0.4
身長(cm)	175.2 ± 1.4	167.4 ± 3.3 *
体重(kg)	63.8 ± 0.7	92.6 ± 5.9 **
BMI (kg/m ²)	20.8 ± 0.4	33.1 ± 2.0 **
TC (mg/dL)	182.8 ± 9.4	196.2 ± 7.8
LDL-C (mg/dL)	97.8 ± 5.9	118.4 ± 7.3
HDL-C (mg/dL)	71.4 ± 5.9	59.2 ± 8.7
L/H 比	1.4 ± 0.1	2.1 ± 0.2 **
IL-6 (pg/mL)	0.5 ± 0.06	1.1 ± 0.2*
E-selectin (ng/mL)	35.0 ± 4.4	48.7 ± 3.3*

Mean ± SE.

BMI : body mass index, TC : total cholesterol, LDL-C : low density lipoprotein cholesterol, HDL-C : high density lipoprotein cholesterol, L/H : LDL-C / HDL-C, IL-6 : interleukin-6

* : 両群間の比較(**p* <0.05, ***p* <0.01)

表 5-2 走行データ

		BMI <25 (n=7)	BMI ≥25 (n=5)
心拍数(bpm)	pre	74.2 ± 4.1	83.0 ± 4.8
	peak	193.7 ± 3.9**	198.2 ± 4.6**
APMHR (bpm)		199.2 ± 0.5	200.0 ± 0.4
%APMHR		97.1 ± 1.9	99.1 ± 2.3
乳酸値(mmol/L)	pre	1.4 ± 0.1	1.9 ± 0.2
	post	11.9 ± 1.1**	9.3 ± 1.3**
ヘモグロビン(g/dL)	pre	15.0 ± 0.2	16.5 ± 0.3##
	post	15.1 ± 0.2*	17.0 ± 0.2**##
ヘマトクリット(%)	pre	45.9 ± 0.6	49.2 ± 0.7##
	post	46.9 ± 0.7**	51.0 ± 0.8**##
血漿変化率(%)		-2.2 ± 1.4	-5.9 ± 1.5
走行距離(m)		3065.7 ± 90.1	2240.0 ± 24.4 ##

Mean ± SE.

APMHR：年齢推定最大心拍数(age predicted maximal heart rate)

：運動前後の比較($p < 0.05$, ** $p < 0.01$)

#：両群間の比較(## $p < 0.01$)

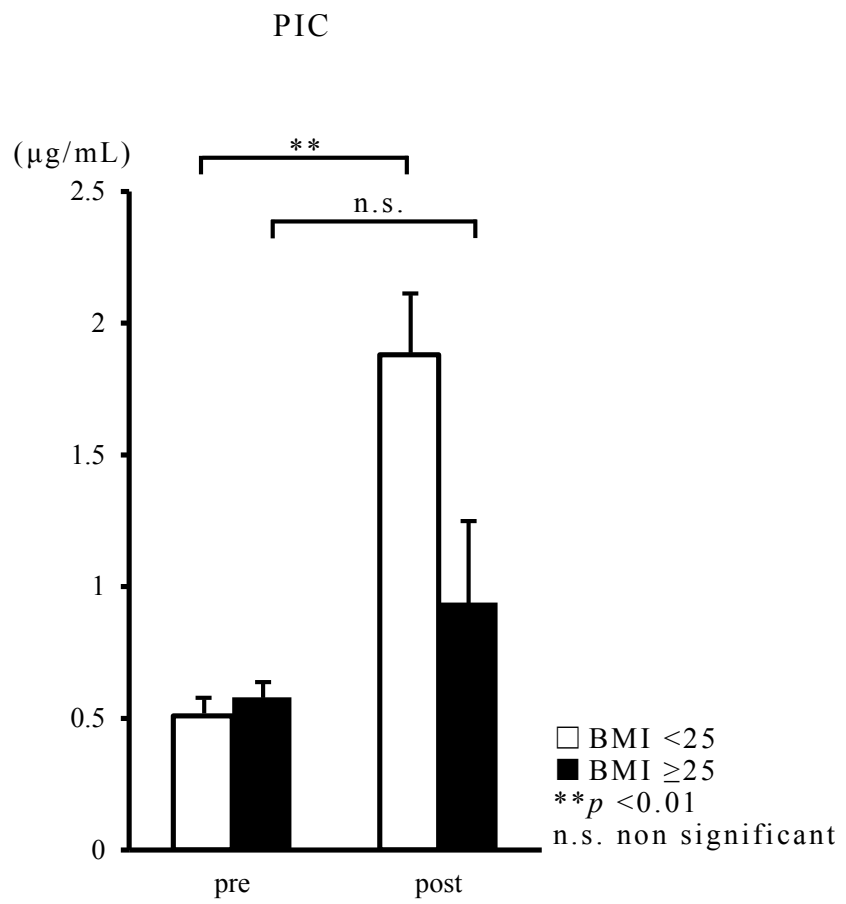


図 5-1 PIC の変化

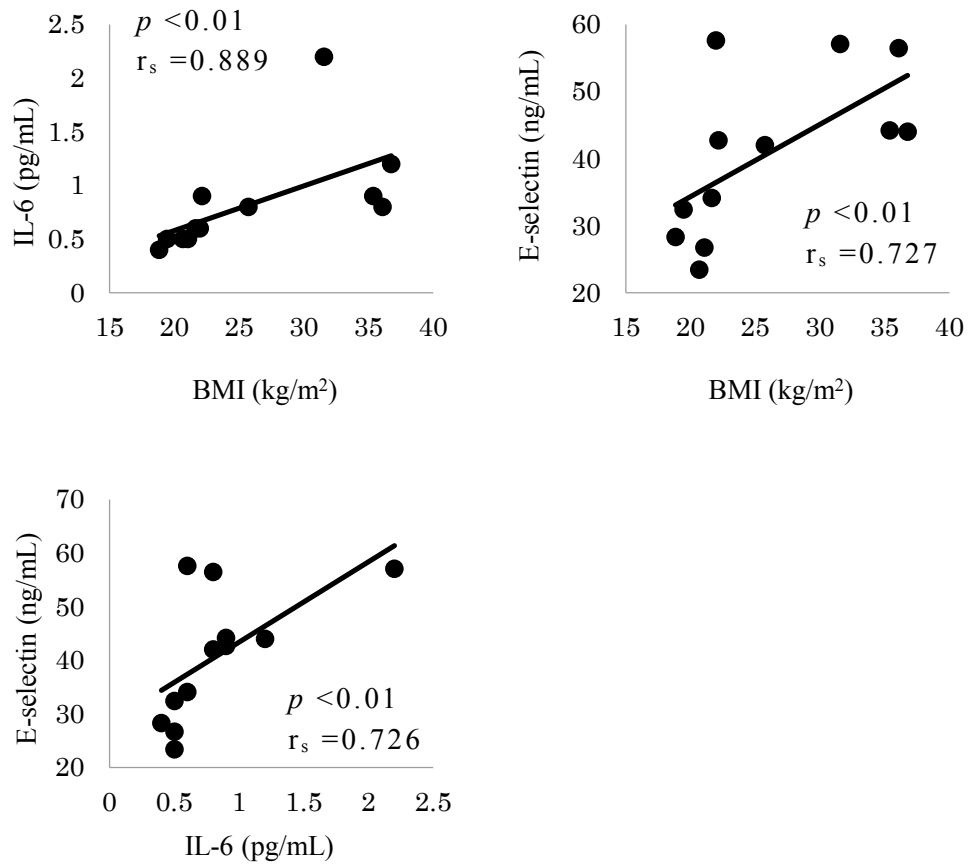


図 5-2 BMI と IL-6, E-seletin との相関関係
IL-6 と E-selectin との相関関係

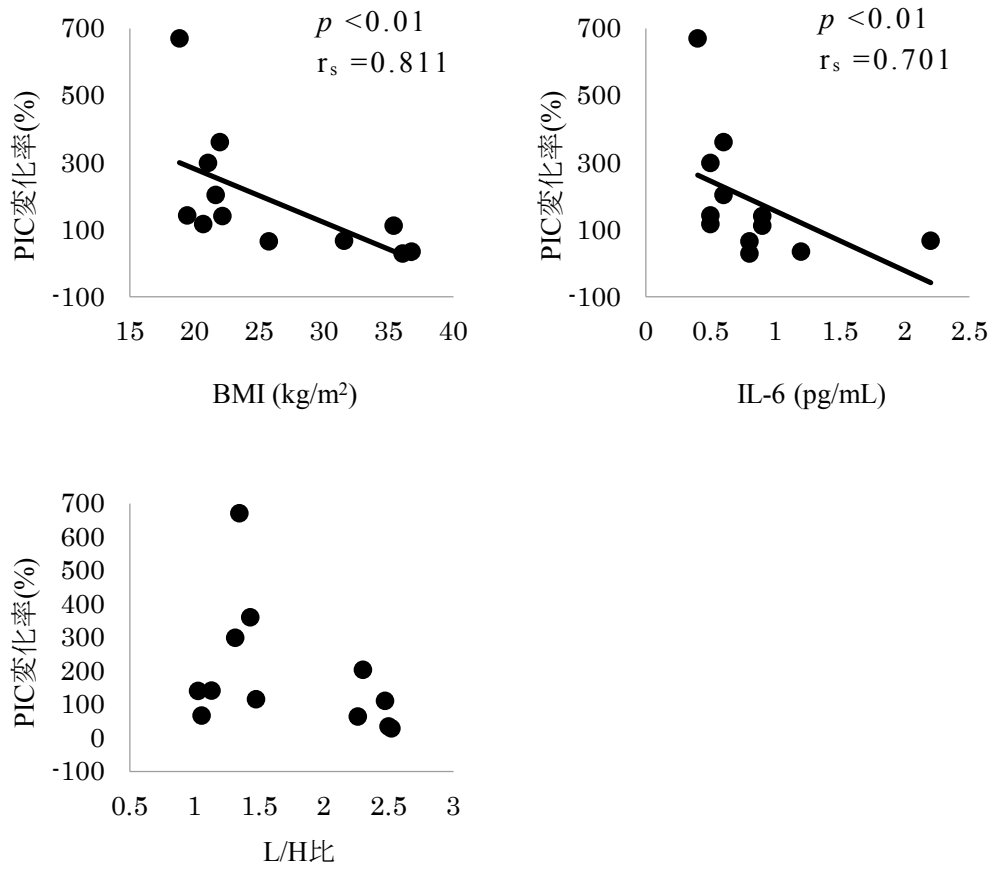


図 5-3 PIC 変化率と BMI, IL-6, L/H 比との相関関係

第 4 節 考察

・ 運動強度

運動強度を示す生理的指標として、最大酸素摂取量(VO_{2max})、エネルギー代謝率(RMR)、心拍数、乳酸値が主に用いられている(Hill et al. , 1924³⁸); Howley, 2001³⁹)。本研究は屋外での走運動を運動課題としたため、 VO_{2max} や RMR のように、酸素摂取量や酸素消費量の測定が必要となる指標を用いることは困難と考えられる。したがって、心拍数と乳酸値を運動強度の指標とした。

走行中の最大心拍数が年齢推定最大心拍数の何パーセントに達していたか(%APMHR)を求めると、BMI <25 群が $97.1 \pm 1.9\%$ 、BMI ≥ 25 群が $99.1 \pm 2.3\%$ であった。American college of sports medicine (1998)⁴⁰)は、%Heart rate max (HR_{max} 、最大心拍数の実測値と運動中最大心拍数の割合)が 90%以上の運動を高強度運動(Very hard)であると報告している。本研究は、推定最大心拍数を用いているが、%APMHR より判断すると高強度運動であったと推測される。

乳酸値は運動強度が高くなるにつれて上昇し、高強度運動を行うことで、乳酸蓄積開始点(4mmol/L)を境に急激に上昇し始めると報告されている(Hill et al. , 1924³⁸)。本研究において、運動後の乳酸値は BMI <25 群が 11.9 ± 1.1 mmol/L、BMI ≥ 25 群が 9.3 ± 1.3 mmol/L となり、乳酸蓄積開始点を上まわっていた。したがって、乳酸値の検討からも、走行中、被験者には高強度の負荷がかかっていたと推測される。

したがって、両群の被験者にとって 12 分間全力走は高強度運動であったと推測される。

・ BMI ≥ 25 群の線溶活性に有意な変化が認められない要因

高強度運動を行うことで、PIC は有意に上昇すると報告されている (Möckel et al. , 1999¹¹⁶). 線溶系は、t-PA の作用によりプラスミノゲンからプラスミンが産生されることで活性化する。プラスミンには血栓溶解作用があるが、アンチプラスミンと呼ばれる線溶活性抑制因子と 1:1 の複合体となり線溶活性を調整している。この時に産生される複合体が PIC と呼ばれ、PIC の上昇は線溶活性の亢進を反映するものといわれている。運動により血流の増加が起こると、血管内皮細胞に生じるズリ応力が増大することが知られている (Marsh and Coombes, 2005⁹¹). ズリ応力が増大することで、血管内皮細胞による t-PA 産生が亢進することから (Diamond et al. , 1989¹²⁰), 運動は線溶活性を亢進させ、結果的に PIC が上昇すると考えられる。しかし、本研究において、BMI < 25 群の PIC は有意に上昇したが、BMI ≥ 25 群においては有意な上昇が認められなかった。

運動による発汗は血漿量の減少を引き起こすことから、血液濃縮により血中成分の測定値は高値を示すと報告されている (Kargotich et al. , 1997³⁷). 故に、血液濃縮は運動後の PIC に影響を及ぼす可能性がある。本研究では、ヘモグロビンとヘマトクリットより求めた (Dill and Costill, 1974³⁶) 血漿変化率に両群間で有意差は認められなかったが、両群とも運動後に血漿の減少が認められた。血液濃縮が PIC に与える影響を除外するため、運動後の測定値に血漿変化率を掛け、求められた数値を運動後の測定値から減じることで、血液濃縮の影響を補正した。したがって、高強度運動後の PIC に両群間で有意差が認められた原因は、血液濃縮以外にあると考えられる。

BMI ≥ 25 群の PIC に有意な変化が認められなかったことから、BMI ≥ 25 群の線溶活性は BMI < 25 群と比較して抑制されていたと考えられる。Held et al. (1997)¹¹⁸ は、動脈硬化性疾患を有する中高年者は健常者と比較して運動による t-PA 上昇率が低いことを明らかにしている。したがって、動脈硬化症は運動後の線溶活性が抑制される原因となる可能性がある。本研究

において、BMI \geq 25 群の TC は 175—218 mg/dL, LDL-C は 97—138 mg/dL, HDL-C は 44—92 mg/dL と基準値の範囲内にあり、脂質代謝異常の診断基準(Jellinger et al. , 2012¹²¹⁾)を超える被験者は認められなかった。脂質代謝異常は動脈硬化症の原因となるが(Jellinger et al. , 2012¹²¹⁾)、TC, HDL-C, LDL-C から判断すると BMI \geq 25 群に動脈硬化症の進行が疑われる被験者はいないと考えられる。近年、HDL-C や LDL-C だけではなく、LDL-C と HDL-C の比率である L/H 比も動脈硬化症の進行を予測する因子として有効といわれている(Momiyama et al. , 2012⁹⁹⁾)。BMI $<$ 25 群と比較して BMI \geq 25 群の L/H 比が有意に高い値を示したことから、BMI \geq 25 群は潜在的な動脈硬化症の進行が疑われ、高強度運動後の線溶活性に影響を及ぼしていた可能性がある。しかし、PIC 変化率と L/H 比の間に有意な相関関係は認められなかった。Held et al. (1997)¹¹⁸⁾の報告とは異なり、若年者を対象としていることから、BMI \geq 25 群の線溶活性に有意な変化が認められなかった原因は動脈硬化症以外にあると考えられる。

BMI \geq 25 群は BMI $<$ 25 群と比較して、IL-6 が有意に高い値を示し、BMI と IL-6 の間に有意な正の相関関係が認められた。IL-6 は接着分子の発現や凝固系因子の産生を促進するなど、炎症性サイトカインとしての作用も有している。近年では、IL-6 は蓄積した内臓脂肪より産生されることも知られており、肥満者に軽度の炎症準備状態が認められる一因といわれている(Vachharajani and Granger, 2009⁷⁴⁾)。したがって、BMI \geq 25 群は BMI $<$ 25 群と比較して軽度の炎症準備状態にあったと考えられる。さらに、BMI \geq 25 群の E-selectin は基準値内(17.9—79.2 ng/mL)ではあるが(SRL Inc., Tokyo, Japan), BMI $<$ 25 群と比較して有意に高い値を示し、BMI と E-selectin の間に有意な正の相関関係が認められた。E-selectin は血管内皮細胞が活性化することで産生される接着分子であることから(Leeuwenberg et al. , 1992¹²²⁾)、BMI \geq 25 群は BMI $<$ 25 群と比較して血管内皮細胞が軽度に活性化していたと考えられる。加えて、IL-6 と E-selectin の間に有意な正の相関関係が認

められた。この事実は、BMI ≥ 25 群において、IL-6 は血管内皮細胞の活性化を促し、E-selectin の産生を亢進させていたことを示唆するものである。IL-6 は E-selectin の産生を亢進させる可能性があることから (Romano et al. , 2012¹²³), BMI ≥ 25 群においては、過体重による軽度の炎症準備状態が血管内皮細胞の活性化を惹起していたと考えられる。

血管内皮細胞は、感染や組織障害が生じ、炎症性サイトカインの影響により活性化すると、E-selectin の産生が亢進する一方で、t-PA の産生が抑制されると報告されている (Margetic, 2012¹²⁴)。したがって、炎症反応の亢進により血管内皮細胞が活性化すると、線溶活性が抑制されると考えられる。本研究において、PIC 変化率と BMI、IL-6 の間に有意な負の相関関係が認められていた。この事実は、過体重による軽度の炎症準備状態は高強度運動後の線溶活性を抑制する事を示唆するものである。さらに、BMI ≥ 25 群は BMI < 25 群と比較して E-selectin が有意に高い値を示したことから、血管内皮細胞の活性化が高強度運動後の線溶活性抑制に関与していたと思われる。高強度運動により血管内皮細胞へのずり応力が高まると、t-PA 産生が亢進するが、BMI ≥ 25 群は血管内皮細胞が活性化した状態にあり、t-PA 産生が抑制されたと推測される。t-PA の産生が抑制された結果として、BMI ≥ 25 群の PIC に有意な変化が認められなかったと考えられる。本研究において、BMI ≥ 25 群は 12 分間全力走後の線溶活性に有意な変化が認められなかったが、その原因は、過体重による軽度の炎症準備状態が血管内皮細胞の活性化を惹起したためであると考えられる。

第 5 節 結語

BMI を指標とし，過体重が 12 分全力走後の PIC に影響を与えるか否かを検討した結果，BMI <25 群の PIC は有意に上昇したが，BMI ≥25 群は有意に上昇しなかった．過体重の若年男性は軽度の炎症準備状態にあり，12 分間全力走後の線溶活性に有意な変化が認められないことを明らかにした．

第 5 章のまとめ

一般的に、運動は線溶活性を亢進させると報告されている。しかし、動脈硬化性疾患を有する人は、運動後の線溶活性が抑制され、炎症反応の亢進が原因と指摘されている。動脈硬化性疾患を有していない人でも、肥満者は軽度の炎症準備状態にあることから、運動後の線溶活性が抑制される可能性がある。本章は、BMI を指標とし、過体重が 12 分間全力走後の線溶活性に影響を与えるか否かを検討した。BMI ≥ 25 群は 12 分間全力走後の PIC に有意な変化はなかった。したがって、過体重の若年男性は軽度の炎症準備状態にあり、12 分間全力走後の線溶活性に有意な変化が認められないことを明らかにした。

第 2 章から第 5 章まで、12 分間全力走が 1)生理的变化、2)酸化ストレス反応、3)血管内皮細胞活性化、4)線溶活性、に与える影響を検討した。次章では、12 分間全力走後の生体反応として明らかになった知見をまとめるとともに、スポーツ・体育教育現場での応用、今後の研究課題について検討することとした。

第 6 章 総合的考察

本研究で得られた知見	112
スポーツ・体育教育現場での応用	113
今後の研究課題	115

本研究で得られた知見

本研究は、12 分間全力走を運動課題とし、短時間高強度運動後の生体反応を明らかにすることを目的とした。第 2 章では、12 分間全力走が生理的变化に与える影響を検討した結果、交感神経の緊張が認められ、白血球数および血糖値が基準値以上に上昇した。一方、腎臓および腹部内臓組織に与える影響は軽微であることを明らかにした。第 3 章では、被験者の身体的特徴に着目し、過体重が 12 分間全力走後の酸化ストレス反応に与える影響を検討した。BMI が 25 以上の若年男性は軽度の炎症準備状態にあり、12 分間全力走後に細胞膜リン脂質への酸化ストレスが増大することを明らかにした。第 4 章では、動脈硬化症の予測に有効である L/H 比に着目し、L/H 比が 12 分間全力走後の血管内皮活性化に与える影響を検討した。L/H 比が 2.0 以上の若年男性は、12 分間全力走後に血管内皮細胞活性化が惹起されることを明らかにした。第 5 章では、第 3 章と第 4 章で得られた知見をもとに、過体重による軽度の炎症準備状態が、12 分間全力走後の線溶活性に与える影響を検討した。BMI が 25 以上の若年男性は軽度の炎症準備状態にあり、12 分間全力走後の線溶活性に有意な変化が認められないことを明らかにした。12 分間全力走後の生体反応として、本研究で明らかになった知見は以下に示すとおりである。

- 1) 交感神経の緊張に伴い、白血球数や血糖値が上昇するが、腹部内臓組織に与える影響は軽微である。
- 2) 過体重の若年男性は炎症準備状態にあり、細胞膜リン脂質への酸化ストレスが増大する。
- 3) L/H 比が 2.0 以上の若年男性は、血管内皮細胞活性化が惹起される。
- 4) 過体重の若年男性は炎症準備状態にあり、線溶活性に有意な変化が認められない。

スポーツ・体育教育現場での応用

日本を始め、世界では血管疾患により死亡する割合は高く、これは生活習慣病の罹患者が増加していることが原因と考えられている (WHO, 2012⁸⁹⁾)。WHO (2004)¹²⁵⁾は、生活習慣病の予防あるいは改善のためには運動が有効であると報告している。したがって、競技スポーツの現場だけではなく、体育教育や一般のスポーツ施設においても、運動指導が必要となる。しかし、中高年者を中心に、日常的に運動している人でも、運動中突然死が報告されている (Corrado et al. , 2011¹²⁶⁾)。運動が健康に良いと言われる反面、突然死の危険性もはらんでいる。Maron et al. (1996)¹²⁷⁾によれば、35歳以上の男性運動選手に起きる突然死の原因は、主に動脈硬化性冠動脈疾患であると報告している。一方、35歳以下の男性運動選手では、肥大型心筋症や冠動脈奇形などの先天性心疾患が原因となることが多い (Maron et al. , 1996¹²⁷⁾)。少数ではあるが、若年運動選手においても動脈硬化性冠動脈疾患が運動中突然死の原因となることも報告されている (Maron et al. , 2009¹²⁸⁾)。さらに、運動中突然死の中には、明確な原因を特定できない例も存在する (Maron et al. , 2009¹²⁸⁾)。

12分間全力走は、交感神経の緊張やストレス反応の亢進、白血球数や血糖値の上昇を惹起したが、腹部内臓組織に与える影響は軽度であった。したがって、一見、12分間全力走が生体に与える影響は軽微であると考えられる。しかし、実際のスポーツ現場では適正体重の人から肥満者まで、多様な人が運動を実施している。そこで、肥満度や血中コレステロール値に着目し、12分間全力走後の生体反応を検討したところ、BMIが25以上、あるいはL/H比が2.0以上の若年男性は、細胞膜への酸化ストレスが増大し、血管内皮細胞活性化が惹起される一方、線溶活性に有意な変化が認められないことを明らかにした。この事実は、若年男性においても、高強度運動中に血管内皮細胞への傷害が生じ、血管内皮細胞が活性化することで、

血液の凝固活性が亢進しうることを示している。したがって、BMI が 25 以上あるいは L/H 比が 2.0 以上の人は、潜在的に運動中突然死の危険性が存在することを示している。

これまで、学校やスポーツ施設において、心疾患などの基礎疾患がなければ、肥満者であっても、適正体重の人と同程度の強度で運動処方となされてきた。本研究で得られた知見は、肥満者が高強度運動を実施する際、潜在的な突然死の危険性が存在することを示している。したがって、BMI が 25 以上あるいは L/H 比が 2.0 以上の人に運動処方を行う際には、十分な注意を払う必要がある。

今後の研究課題

本研究は、BMI が 25 以上あるいは L/H 比が 2.0 以上の人が高強度運動を実施することで、潜在的な運動中突然死の危険性が存在することを示している。今後は、運動を実施する際の安全性を担保するため、運動強度に着目して検討を行う必要がある。American college of sports medicine (1998)⁴⁰⁾は、最大心拍数の 90%以上の運動を Very hard, 70–89%を Hard, 50–69%を Moderate, 30–49%を Light と定義している。BMI や L/H 比が運動後の生体反応に与える影響を、運動強度別に検討することで、適切な運動処方を実施する際の指標にできると考えられる。心拍数は、装着型の簡易心拍計や携帯端末だけではなく、頸動脈や橈骨動脈に触れることで容易に測定することができ、一般の運動実施者にとっても有用な指標となる。

さらに、本研究で対象にした被験者は、日常的に運動を実施している若年男性(19–23 歳)であった。日常的に運動している人は抗酸化能が高いという報告があり(Gomes et al. , 2012⁶⁷⁾)、被験者は高強度運動に対する耐性を有していた可能性がある。さらに、高齢者ほど脂肪細胞から炎症性サイトカインが分泌され、軽度の炎症準備状態が認められるといわれている(Wu et al. , 2007¹²⁹⁾)。したがって、運動習慣の無い人や、中高年者では、運動習慣のある若年男性以上に酸化ストレス増大、血管内皮細胞活性化、線溶活性抑制が惹起される可能性がある。したがって、運動習慣の無い人や中高年者を対象に、高強度運動後の生体反応を検討する必要がある。

運動が健康維持に効果的であることは世界的に認められている(WHO, 2004¹²⁵⁾)。今後は、より適切な運動処方を検討すべく、運動強度、被験者の運動習慣、年齢に着目し、BMI および L/H 比が運動後の生体反応に与える影響を検討する必要がある。

参考・引用文献

- 1) Caspersen CJ, Powell KE, Christenson GM (1985) Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. *Public Health Rep* 100(2): 126-131
- 2) アメリカスポーツ医学会(2011)運動処方指針: 運動負荷試験と運動プログラム原書第8版. 日本体力医学会体力科学編集委員会監訳. 南江堂, 東京
- 3) 池上晴夫(1994)スポーツ医学 I —病気と運動—. 朝倉書店, 東京
- 4) Terjung R (1979) Endocrine response to exercise. *Exerc Sport Sci Rev* 7: 153-180
- 5) Flamm SD, Taki J, Moore R, Lewis SF, Keech F, Maltais F, Ahmad M, Callahan R, Dragotakes S, Alpert N (1990) Redistribution of regional and organ blood volume and effect on cardiac function in relation to upright exercise intensity in healthy human subjects. *Circulation* 81(5): 1550-1559
- 6) 中野昭一(1982)図説・運動の仕組みと応用—運動・生理・生化学・栄養—. 医歯薬出版, 東京
- 7) Buckwalter JB, Naik JS, Valic Z, Clifford PS (2001) Exercise attenuates α -adrenergic-receptor responsiveness in skeletal muscle vasculature. *J Appl Physiol* 90(1): 172-178

- 8) Rosenmeier JB, Dinunno FA, Fritzlar SJ, Joyner MJ (2003) α_1 - and α_2 -adrenergic vasoconstriction is blunted in contracting human muscle. *J Physiol* 547(Pt3): 971-976
- 9) Thomas GD, Segal SS (2004) Neural control of muscle blood flow during exercise. *J Appl Physiol* 97(2): 731-738
- 10) Paulson OB, Strandgaard S, Edvinsson L (1990) Cerebral autoregulation. *Cerebrovasc Brain Metab Rev* 2(2): 161-192
- 11) Madsen PL, Sperling BK, Warming T, Schmidt JF, Secher NH, Wildschjødzt G, Holm S, Lassen NA (1993) Middle cerebral artery blood velocity and cerebral blood flow and O₂ uptake during dynamic exercise. *J Appl Physiol* 74(1): 245-250
- 12) Miyashiro JK, Feigl EO (1993) Feedforward control of coronary blood flow via coronary β -receptor stimulation. *Circ Res* 73(2): 252-263
- 13) Gorman MW, Tune JD, Richmond KN, Feigl EO (2000) Feedforward sympathetic coronary vasodilation in exercising dogs. *J Appl Physiol* 89(5): 1892-1902
- 14) Burke M, Pabbidi MR, Farley J, Roman RJ (2014) Molecular mechanisms of renal blood flow autoregulation. *Curr Vasc Pharmacol* 12(6): 845-858
- 15) Maeda S, Miyauchi T, Iemitsu M, Tanabe T, Irukayama-Tomobe Y, Goto K, Yamaguchi I, Matsuda M (2002) Involvement of endogenous endothelin-1 in

exercise-induced redistribution of tissue blood flow: an endothelin receptor antagonist reduces the redistribution. *Circulation* 106(17): 2188-2193

- 16) Momen A, Bower D, Leuenberger UA, Boehmer J, Lerner S, Alfrey EJ, Handly B, Sinoway LI (2005) Renal vascular response to static handgrip exercise: sympathetic vs. autoregulatory control. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 289(4): H1770-1776
- 17) Osada T, Katsumura T, Hamaoka T, Inoue S, Esaki K, Sakamoto A, Murase N, Kajiyama J, Shimomitsu T, Iwane H (1999) Reduced blood flow in abdominal viscera measured by Doppler ultrasound during one-legged knee extension. *J Appl Physiol* 86(2): 709-719
- 18) Dyke TM, Hubbell JA, Sams RA, Hinchcliff KW (1998) Hepatic blood flow in horses during the recuperative period from maximal exercise. *Am J Vet Res* 59(11): 1476-1480
- 19) McAlister RM (1998) Adaptations in control of blood flow with training: splanchnic and renal blood flows. *Med Sci Sports Exerc* 30(3): 375-381
- 20) Cooper KH (1968) A means of assessing maximal oxygen uptake. Correlation between field and treadmill testing. *JAMA* 203(3): 201-204
- 21) Taylor HL, Buskirk E, Henschel A (1955) Maximal oxygen intake as an objective measure of cardio-respiratory performance. *J Appl Physiol* 8(1): 73-80

- 22) McNaughton L, Hall P, Cooley D (1998) Validation of several methods of estimating maximal oxygen uptake in young men. *Percept Mot Skills* 87(2): 575-584
- 23) Saltin B, Astrand PO (1967) Maximal oxygen uptake in athletes. *J Appl Physiol* 23(3): 353-358
- 24) Rauramaa R, Tuomainen P, Väisänen S, Rankinen T (1995) Physical activity and health-related fitness in middle-aged men. *Med Sci Sports Exerc* 27(5): 707-712
- 25) 岸田敏彦, 井奈波良一, 岩田弘敏(1997)最大酸素摂取量と身体活動度, 血圧, 血清脂質との関係. *日本衛生学雑誌* 52(2): 475-480
- 26) Laukkanen JA, Lakka TA, Rauramaa R, Kuhanen R, Venäläinen JM, Salonen R, Salonen JT (2001) Cardiovascular fitness as a predictor of mortality in men. *Arch Intern Med* 161(6): 825-831
- 27) 山地啓司(1992)最大酸素摂取量の科学. 杏林書院, 東京
- 28) Grant S, Corbett K, Amjad AM, Wilson J, Aitchison T (1995) A comparison of methods of predicting maximum oxygen uptake. *Br J Sports Med* 29(3): 147-152
- 29) Weisgerber M, Danduran M, Meurer J, Hartmann K, Berger S, Flores G (2009) Evaluation of cooper 12-minute walk/run test as a marker of cardiorespiratory fitness in young urban children with persistent asthma.

Clin J Sport Med 19(4): 300-305

- 30) Coolbaugh CL, Anderson IB, Wilson MD, Hawkins DA, Amsterdam EA (2014) Evaluation of an exercise field test using heart rate monitors to assess cardiorespiratory fitness and heart rate recovery in an asymptomatic population. Plos One 9(5): e97704
- 31) Bandyopadhyay A (2015) Validity of cooper's 12-minute run test for estimation of maximum oxygen uptake in male university students. Biol Sport 32(1): 59-63
- 32) Cannon WB (1914) The emergency function of the adrenal medulla in pain and the major emotions. Am J Physiol 33: 356-372
- 33) 勝木保次(1990)内分泌・自律神経調節の生理学. 医学書院, 東京
- 34) Selye H (1936) A syndrome produced by diverse nocuous agents. Nature 138: 32
- 35) Selye H (1946) The general adaptation syndrome and the diseases of adaptation. J Clin Endocrinol Metab 6: 117-230
- 36) Dill DB, Costill DL (1974) Calculation of percentage changes in volumes of blood, plasma, and red cells in dehydration. J Appl Physiol 37(2): 247-248
- 37) Kargotich S, Goodman C, Keast D, Fry RW, Garcia-Webb P, Crawford PM, Morton AR (1997) Influence of exercise-induced plasma volume changes on

- the interpretation of biochemical data following high-intensity exercise. *Clin J Sport Med* 7(3): 185-191
- 38) Hill AV, Long CNH, Lupton H (1924) Muscular exercise, lactic acid, and the supply and utilisation of oxygen. *Proc Roy Soc Lond* 96(679): 438-475
- 39) Howley ET (2001) Type of activity: resistance, aerobic and leisure versus occupational physical activity. *Med Sci Sports Exerc* 33(6 Suppl): S364-369
- 40) American college of sports medicine (1998) The recommended quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory and muscular fitness, and flexibility in healthy adults. *Med Sci Sports Exerc* 30(6): 975-991
- 41) 田村善蔵, 織田敏次(1970)血清酵素—測定法・意義・臨床—. 医学書院, 東京
- 42) Brancaccio P, Lippi G, Maffulli N (2010) Biochemical markers of muscular damage. *Clin Chem Lab Med* 48(6): 757-765
- 43) Ozer J, Ratner M, Shaw M, Bailey W, Schomaker S (2008) The current state of serum biomarkers of hepatotoxicity. *Toxicology* 245(3): 194-205
- 44) 矢野里佐, 矢野博己, 木下幸文(1995)高強度運動が肝機能検査成績に及ぼす影響. *川崎医療福祉学会誌* 5(2): 133-138
- 45) Giannini E, Botta F, Testa E, Romagnoli P, Polegato S, Malfatti F, Fumagalli

- A, Chiarbonello B, Risso D, Testa R (2002) The 1-year and 3-month prognostic utility of the AST/ALT ratio and model for end-stage liver disease score in patients with viral liver cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 97(11): 2855-2860
- 46) Gastmann U, Dimeo F, Huonker M, Böcker J, Steinacker JM, Petersen KG, Wieland H, Keul J, Lehmann M (1998) Ultra-triathlon-related blood chemical and endocrinological response in nine athletes. *J Sports Med Phys Fitness* 38(1): 18-23
- 47) Warburton DE, Welsh RC, Haykowsky MJ, Taylor DA, Humen DP (2002) Biochemical changes as a result of prolonged strenuous exercise. *Br J Sports Med* 36(4): 301-303
- 48) 小澤瀨司, 福田康一郎(1985)標準生理学. 医学書院, 東京
- 49) Gimenez M, Mohan-Kumar T, Humbert JC, De Talance N, Buisine J (1986) Leukocyte, lymphocyte and platelet response to dynamic exercise. Duration or intensity effect ? *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 55(5): 465-470
- 50) McCarthy DA, Grant M, Marbut M, Watling M, Wade AJ, Macdonald I, Nicholson S, Melsom RD, Perry JD (1991) Brief exercise induces an immediate and a delayed leukocytosis. *Br J Sports Med* 25(4): 191-195
- 51) Hansen JB, Wilsgård L, Osterud B (1991) Biphasic changes in leukocytes induced by strenuous exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 62(3): 157-161

- 52) 鈴木克彦, 佐藤英樹, 遠藤哲, 長谷川裕子, 望月充邦, 中路重之, 菅原和夫, 戸塚学, 佐藤光毅(1996)スポーツ選手における最大運動負荷の血中白血球数と好中球活性酸素産生能に及ぼす影響. 体力科学 45(4): 451-460
- 53) Benschop RJ, Rodriguez-Feuerhahn M, Schedlowski M (1996) Chatecholamine-induced leukocytosis: early observations, current research, and future directions. *Brain Behav Immun* 10(2): 77-91
- 54) Nakai A, Hayano Y, Furuta F, Noda M, Suzuki K (2014) Control of lymphocyte egress from lymph nodes through β 2-adrenergic receptors. *J Exp Med* 211(13): 2583-2598
- 55) Schedlowski M, Falk A, Rohne A, Wagner TO, Jacobs R, Tewes U, Schmidt RE (1993) Chatecholamines induce alterations of distribution and activity of human natural killer (NK) cells. *J Clin Immunol* 13(5): 344-351
- 56) Bearn AG, Billing B, Sherlock S (1951) The effect of adrenaline and noradrenaline on hepatic blood flow and splanchnic carbohydrate metabolism in man. *J Physiol* 115(4): 430-441
- 57) Halliwell B (1994) Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence ? *Lancet* 344(8924): 721-724.
- 58) Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, Khoo JC, Witztum JL (1989) Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med* 320(14): 915-924

- 59) Kawamori D, Kajimoto Y, Kaneto H, Umayahara Y, Fujitani Y, Miyatsuka T, Watada H, Leibiger IB, Yamasaki Y, Hori M (2003) Oxidative stress induces nucleo-cytoplasmic translocation of pancreatic transcription factor PDX-1 through activation of c-Jun NH(2)-terminal kinase. *Diabetes* 52(12): 2896-2904
- 60) Toyokuni S, Akatsuka S (2006) What has been learned from the studies of oxidative stress-induced carcinogenesis: proposal of the concept of oxygenomics. *J Clin Biochem Nutr* 39(1): 3-10
- 61) Fisher-Wellman K, Bloomer RJ (2009) Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. *Dyn Med* 8(1): doi: 10.1186/1476-5918-8-1
- 62) Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, Milzani A (2006) Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin Chem* 52(4): 601-623
- 63) Bailey DM, Davies B, Young IS (2001) Intermittent hypoxic training: implications for lipid peroxidation induced by acute normoxic exercise in active men. *Clin Sci* 101(5): 465-475
- 64) Vider J, Lehtmaa J, Kullisaar T, Vihalemm T, Zilmer K, Kairane C, Landõr A, Karu T, Zilmer M (2001) Acute immune response in respect to exercise-induced oxidative stress. *Pathophysiology* 7(4): 263-270
- 65) Bloomer RJ, Creasy AK, Smith WA (2007) Physical work-induced oxidative stress is exacerbated in young cigarette smokers. *Nicotine Tob Res* 9(2): 205-

- 66) Goto C, Nishioka K, Umemura T, Jitsuiki D, Sakaguchi A, Kawamura M, Chayama K, Yoshizumi M, Higashi Y (2007) Acute moderate-intensity exercise induces vasodilation through an increase in nitric oxide bioavailability in humans. *Am J Hypertens* 20(8): 825-830
- 67) Gomes EC, Silva AN, de Oliveira MR (2012) Oxidants, antioxidants, and the beneficial roles of exercise-induced production of reactive species. *Oxid Med Cell Longev* doi: 10.1155/2012/756132
- 68) Miyazaki H, Oh-ishi S, Ookawara T, Kizaki T, Toshinai K, Ha S, Haga S, Ji LL, Ohno H (2001) Strenuous endurance training in humans reduces oxidative stress following exhausting exercise. *Eur J Appl Physiol* 84(1-2): 1-6
- 69) Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, Nakayama O, Makishima M, Matsuda M, Shimomura I (2004) Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest* 114(12): 1752-1761
- 70) Visser M, Bouter LM, McQuillan GM, Wener MH, Harris TB (1999) Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults. *JAMA* 282(22): 2131-2135
- 71) Vgontzas AN, Bixler EO, Papanicolaou DA, Chrousos GP (2000) Chronic systemic inflammation in overweight and obese adults. *JAMA* 283(17): 2235

- 72) Youssef H, Groussard C, Pincemail J, Moussa E, Jacob C, Lemoine S, Zind M, Defraigner JO, Cillard J, Delamarche P, Gratas-Delamarche A (2009) Exercise-induced oxidative stress in overweight adolescent girls: roles of basal insulin resistance and inflammation and oxygen overconsumption. *Int J Obes* 33(4): 447-455
- 73) World Health Organization (2014) Global Database on Body Mass Index, BMI Classification. http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html, (参照日 2014 年 5 月 2 日)
- 74) Vachharajani V, Granger DN (2009) Adipose tissue: A motor for the inflammation associates with obesity. *IUBMB Life* 61(4): 424-430
- 75) Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, Matsuzawa Y, Walsh K (2003) Obesity, adiponectin and vascular inflammatory disease. *Curr Opin Lipidol* 14(6): 561-566
- 76) Kim DJ, Nor JH, Lee BW, Choi YH, Chung JH, Min YK, Lee MS, Lee MK, Kim KW (2008) The associations of total and differential white blood cell counts with obesity, hypertension, dyslipidemia and glucose intolerance in a Korean population. *J Korean Med Sci* 23(2): 193-198
- 77) 矢田純一(2003)医系免疫学(改訂 8 版). 中外医学社, 東京
- 78) Jil LL (1993) Antioxidant enzyme response to exercise and aging. *Med Sci Sports Exerc.* 25(2): 225-231

- 79) Lima FD, Stamm DN, Della-Pace ID, Dobrachinski F, de Carvalho NR, Royes LF, Soares FA, Rocha JB, González-Gallego J, Bresciani G (2013) Swimming training induces liver mitochondrial adaptations to oxidative stress in rats submitted to repeated exhaustive swimming bouts. *Plos One* 8(2): doi: 10.1371/journal.pone.0055668
- 80) 酒居一雄, 越智大倫, 竹内征夫(2009)酸化ストレスマーカー8-OHdG. *生物試料分析* 32(4): 297-300
- 81) 神林勲, 石村宣人, 中村寛成, 内田英二, 武田秀勝, 藤井博匡(2004)短時間の高強度間欠的運動は尿中8-OHdG含有量を増加させる. *日本運動生理学雑誌* 11(2): 61-67
- 82) Kabasakalis A, Tsalis G, Zafrana E, Loupos D, Mougios V (2014) Effects of endurance and high-intensity swimming exercise on the redox status of adolescent male and female swimmers. *J Sports Sci* 32(8): 747-756
- 83) Fogarty MC, Devito G, Hughes CM, Burke G, Brown JC, McEneny J, Brown D, McClean C, Davison GW (2013) Effects of α -lipoic acid on mtDNA damage after isolated muscle. *Med Sci Sports Exerc* 45(8): 1469-1477
- 84) Benzi G (1993) Aerobic performance and oxygen free-radicals. *J Sports Med Phys Fitness* 33(3): 205-222
- 85) Duarte JA, Appell HJ, Carvalho F, Bastos ML, Soares JM (1993) Endothelium-derived oxidative stress may contribute to exercise-induced muscle damage. *Int J Sports Med* 14(8): 440-443

- 86) Halliwell B, Gutteridge J (2007) Free Radicals in Biology and Medicine (4th ed.). Oxford University Press: New York, USA
- 87) Popovic LM, Mitic NR, Miric D, Bisevac B, Miric M, Popovic B (2015) Influence of vitamin C supplementation on oxidative stress and neutrophil inflammatory response in acute and regular exercise. *Oxid Med Cell Longev* doi: 10.1155/2015/295497
- 88) 天崎吉晴, 小池隆夫(2005)炎症のメカニズム. 浅香正博編, 21世紀の胃の炎症学. メディカルレビュー社, 東京, 23-38
- 89) World Health Organization (2012) World health statistics 2012. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44844/1/9789241564441_eng.pdf, (参照日 2013年12月21)
- 90) Durstine JL, Grandjean PW, Davis PG, Ferguson MA, Alderson NL, DuBose KD (2001) Blood lipid and lipoprotein adaptations to exercise: a quantitative analysis. *Sports Med* 31(15): 1033-1062
- 91) Marsh SA, Coombes JS (2005) Exercise and the endothelial cell. *Int J Cardiol* 99(2): 165-169
- 92) 岡嶋研二(1998)血管内皮細胞障害—臨床へのアプローチ—. 総合医学社, 東京
- 93) Rydzewski A, Sakata K, Kobayashi A, Yamazaki N, Urano T, Takada Y, Takada A (1990) Changes in plasminogen activator inhibitor 1 and tissue-

type plasminogen activator during exercise in patients with coronary artery disease. *Haemostasis* 20(5): 305-312

94) Cooper JA, Nagelkirk PR, Coughlin AM, Pivarnik JM, Womack CJ (2004) Temporal changes in tPA and PAI-1 after maximal exercise. *Med Sci Sports Exerc* 36(11): 1884-1887

95) 一般社団法人日本動脈硬化学会(2012)動脈硬化性疾患予防ガイドライン 2012年版. 杏林社, 東京

96) 勝村俊仁(2008)中高年者のメディカルチェック[内科系]. 佐藤祐造編, 運動療法と運動処方第2版. 文光堂, 東京, 50-54

97) Michos ED, Santos RD, Narla V, Pandey S, Meneghelo R, Carvalho JA, Budoff MJ, Blumenthal RS, Nasir K (2008) Favorable cardiovascular risk factor profile is associated with reduced prevalence of coronary artery calcification and inflammation in asymptomatic nondiabetic white men. *Prev Cardiol* 11(4): 189-194

98) Enomoto M, Adachi H, Hirai Y, Fukami A, Satoh A, Otsuka M, Kumagae S, Nanjo Y, Yoshikawa K, Esaki E, Kumagai E, Ogata K, Kasahara A, Tsukagawa E, Yokoi K, Ohbu-Murayama K, Imaizumi T (2011) LDL-C/HDL-C ratio predicts carotid intima-media thickness progression better than HDL-C or LDL-C alone. *J Lipids* doi: 10.1155/2011/549137

99) Momiyama Y, Ohmori R, Fayad ZA, Tanaka N, Kato R, Taniguchi H, Nagata M, Ohsuzu F (2012) The LDL-cholesterol to HDL-cholesterol ratio and the

severity of coronary and aortic atherosclerosis. *Atherosclerosis* 222(2): 577-580

- 100) Nicholls SJ, Tuzcu EM, Sipahi I, Grasso AW, Schoenhagen P, Hu T, Wolski K, Crowe T, Desai MY, Hazen SL, Kapadia SR, Nissen SE (2007) Statins, high-density lipoprotein cholesterol, and regression of coronary atherosclerosis. *JAMA* 297(5): 499-508
- 101) Sakamoto T, Woodcock-Mitchell J, Marutsuka K, Mitchell JJ, Sobel BE, Fujii S (1999) TNF- α and insulin, alone and synergistically, induce plasminogen activator inhibitor-1 expression in adipocytes. *Am J Physiol* 276(6 Pt 1): C1391-1397
- 102) Morange PE, Alessi MC, Verdier M, Casanova D, Magalon G, Juhan-Vague I (1999) PAI-1 produced ex vivo by human adipose tissue is relevant to PAI-1 blood level. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 19(5): 1361-1365
- 103) Sawdey M, Podor TJ, Loskutoff DJ (1989) Regulation of type 1 plasminogen activator inhibitor gene expression in cultured bovine aortic endothelial cells. Induction by transforming growth factor- β , lipopolysaccharide, and tumor necrosis factor- α . *J Biol Chem* 264(18): 10396-10401
- 104) Nordt TK, Klassen KJ, Schneider DJ, Sobel BE (1993) Augmentation of synthesis of plasminogen activator inhibitor type-1 in arterial endothelial cells by glucose and its implications for local fibrinolysis. *Arterioscler Thromb* 13(12): 1822-1828

- 105) Aso Y, Wakabayashi S, Yamamoto R, Matsutomo R, Takebayashi K, Inukai T (2005) Metabolic syndrome accompanied by hypercholesterolemia is strongly associated with proinflammatory state and impairment of fibrinolysis in patients with type 2 diabetes: synergistic effects of plasminogen activator inhibitor-1 and thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor. *Diabetes Care* 28(9): 2211-2216
- 106) Giltay EJ, Elbers JM, Gooren LJ, Emeis JJ, Kooistra T, Asscheman H, Stehouwer CD (1998) Visceral fat accumulation is an important determinant of PAI-1 levels in young, nonobese men and women: modulation by cross-sex hormone administration. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 18(11): 1716-1722
- 107) Copple BL, Bustamante JJ, Welch TP, Kim ND, Moon JO (2009) Hypoxia-inducible factor-dependent production of profibrotic mediators by hypoxic hepatocytes. *Liver Int* 29(7): 1010-1021
- 108) van der Poll T, de Jonge E, Levi M (2001) Regulatory role of cytokines in disseminated intravascular coagulation. *Semin Thromb Hemost* 27(6): 639-651
- 109) Semeraro N, Ammollo CT, Semeraro F, Colucci M (2012) Sepsis, thrombosis and organ dysfunction. *Thromb Res* 129(3): 290-295
- 110) Semeraro N, Colucci M (2003) Endothelial cell perturbation and disseminated intravascular coagulation. In: ten Cate, H, Levi M (Eds.) *Molecular mechanisms of disseminated intravascular coagulation*. Landes

Bioscience: Georgetown, 156-190

- 111) Yin W, Shanmugavelayudam SK, Rubenstein DA (2011) The effect of physiologically relevant dynamic shear stress on platelet and endothelial cell activation. *Thromb Res* 127(3): 235-241
- 112) Szymanski LM, Pate RR (1994a) Fibrinolytic responses to moderate intensity exercise. Comparison of physically active and inactive men. *Arterioscler Thromb* 14(11): 1746-1750
- 113) DeSouza CA, Dengel DR, Rogers MA, Cox K, Macko RF (1997) Fibrinolytic responses to acute physical activity in older hypertensive men. *J Appl Physiol* 82(6): 1765-1770
- 114) Hilberg T, Prasa D, Stürzebecher J, Gläser D, Schneider K, Gabriel HH (2003) Blood coagulation and fibrinolysis after extreme short-term exercise. *Thromb Res* 109(5-6): 271-277
- 115) Szymanski LM, Pate RR (1994b) Effects of exercise intensity, duration, and time of day on fibrinolytic activity in physically active men. *Med Sci Sports Exerc* 26(9): 1102-1108
- 116) Möckel M, Ulrich NV, Röcker L, Ruf A, Klefisch F, Patscheke H, Eichstädt H, Störk T, Frei U (1999) Exhaustive cycle exercise induces P-selectin expression, coagulation, and fibrinolysis activation in ultraendurance athletes. *Thromb Res* 94(4): 263-269

- 117) Aso Y (2007) Plasminogen activator inhibitor (PAI)-1 in vascular inflammation and thrombosis. *Front Biosci* 12: 2957-2966
- 118) Held C, Hjemedahl P, Rehnqvist N, Wallén NH, Forslund L, Björkander I, Angelin B, Wiman B (1997) Haemostatic markers, inflammatory parameters and lipids in male and female patients in the Angina Prognosis Study in Stockholm (APSYS). A comparison with healthy controls. *J Intern Med* 241(1): 59-69
- 119) Van Guilder GP, Hoetzer GL, Smith DT, Irmiger HM, Greiner JJ, Stauffer BL, DeSouza CA (2005) Endothelial t-PA release is impaired in overweight and obese adults but can be improved with regular aerobic exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 289(5): E807-813
- 120) Diamond SL, Eskin SG, McIntire LV (1989) Fluid flow stimulates tissue plasminogen activator secretion by cultured human endothelial cells. *Science* 243(4897): 1483-1485
- 121) Jellinger PS, Smith DA, Mehta AE, Ganda O, Handelsman Y, Rodbard HW, Shepherd MD, Seibel JA; AACE Task Force for Management of Dyslipidemia and Prevention of Atherosclerosis (2012) American association of clinical endocrinologists' guidelines for management of dyslipidemia and prevention of atherosclerosis. *Endocr Pract* 18(suppl 1): 1-78
- 122) Leeuwenberg JF, Smeets EF, Neefjes JJ, Shaffer MA, Cinek T, Jeunhomme TM, Ahern TJ, Buurman WA (1992) E-selectin and intercellular adhesion molecule-1 are released by activated human endothelial cells in vitro.

Immunology 77(4): 543-549

- 123) Romano M, Sironi M, Toniatti C, Polentarutti N, Fruscella P, Ghezzi P, Faggioni R, Luini W, van Hinsbergh V, Sozzani S, Bussolino F, Poli V, Ciliberto G, Mantovani A (1997) Role of IL-6 and its soluble receptor in induction of chemokines and leukocyte recruitment. *Immunity* 6(3): 315-325
- 124) Margetic S (2012) Inflammation and haemostasis. *Biochem Med* 22(1): 49-62
- 125) World Health Organization (2004) Global strategy on diet, physical activity and health, reported by the secretariat. http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA57/A57_9-en.pdf, (参照日 2013 年 12 月 21 日)
- 126) Corrado D, Schmied C, Basso C, Borjesson M, Schiavon M, Pelliccia A, Vanhees L, Thiene G (2011) Risk of sports: do we need a pre-participation screening for competitive and leisure athletes? *Eur Heart J* 32(8) 934-944
- 127) Maron BJ, Thompson PD, Puffer JC, McGrew CA, Strong WB, Douglas PS, Clark LT, Mitten MJ, Crawford MH, Atkins DL, Driscoll DJ, Epstein AE (1996) Cardiovascular preparticipation screening of competitive athletes. A statement for health professionals from the Sudden Death Committee (clinical cardiology) and Congenital Cardiac Defects Committee (cardiovascular disease in the young), American Heart Association. *Circulation* 94(4): 850-856

- 128) Maron BJ, Doerer JJ, Haas TS, Tierney DM, Mueller FO (2009) Sudden deaths in young competitive athletes: analysis of 1866 deaths in the United States, 1980-2006. *Circulation* 119(8): 1085-1092
- 129) Wu D, Ren Z, Pae M, Guo W, Cui X, Merrill AH, Meydani SN (2007) Aging up-regulates expression of inflammatory mediators in mouse adipose tissue. *J Immunol* 179(7): 4829-4839