

2010 年度 修士論文

伸張性運動における遅発性筋肉痛と筋損傷マーカー、
炎症関連指標の変動

Eccentric exercise-induced delayed-onset muscle soreness and
changes in markers of muscle damage and inflammation

早稲田大学大学院 スポーツ科学研究科

スポーツ科学専攻 スポーツ医科学研究領域

5009A029-3

神田 和江

Kanda, Kazue

研究指導教員： 鈴木 克彦 准教授

目 次

I. 緒言	1
II. 実験方法	4
1. 対象	
2. 運動負荷	
3. 測定・検査項目	
1) 主観的筋肉痛	
2) 血液・尿検査項目	
3) 好中球機能測定	
4) 炎症関連物質の測定	
4. 統計処理	
III. 結果	7
1. 主観的筋肉痛の経時的変動	
2. 筋損傷マーカーの経時的変動	
3. 末梢血中の白血球の分画と好中球数の変動	
4. 好中球機能の変動	
5. 炎症関連指標の変動	
6. データ間の関連性	
IV. 考察	14
V. 謝辞	16
VI. 参考文献	17

I. 緒言

健康増進のために適度な運動が奨励されており、休日や仕事の合間にスポーツを楽しむ人が増加している。しかし、不慣れな運動や慣れた運動でも久しぶりに行くと、筋の伸張により筋肉痛を起こして継続的な運動習慣の妨げとなる例もみられる。このような伸張性筋収縮を伴う運動の後にみられる遅発性筋肉痛（delayed-onset muscle soreness：DOMS）は、運動後数時間から24時間程度経過してから発現し、24～72時間後にピークとなり、1週間程度で消失する^{1,19}。DOMSの原因としては、筋・結合組織に微小な損傷が起きることによる筋組織の炎症・損傷説のほか、運動負荷により増加する好中球、単球由来の活性酸素による傷害説などが提唱されているが、いまだ解明されていない^{1,2,5,6,20,21,24}。

運動により末梢血中の白血球数が増加するが、この応答は運動の強度と持続時間に依存する²。末梢血中の白血球のなかで多数を占める好中球は生体の防御機能を担っており、体内に侵入してきた病原微生物などの異物を貪食し、活性酸素を産生して殺菌する。好中球の活性酸素産生能に影響を及ぼす要因として激しい運動やストレスが挙げられており、活性酸素の生成と消去のバランスが崩れると必要以上の活性酸素が産生されて、組織傷害を起こすことがある。短時間・高強度の運動においては好中球の活性酸素産生能が亢進し、1時間以上の持久性運動の場合、運動処方レベルの上限（最大酸素摂取量の50～60%強度ないし無酸素性作業閾値）に相当する中等度以上の強度では好中球の活性酸素産生能の亢進がみられる^{2,3,13,17}。このように激運動後には好中球機能の亢進がみられ、生体に種々の傷害を及ぼすことが示唆される。また、身体的・精神的にストレスが加わると、カテコラミンやコルチゾール、成長ホルモンなどのストレスホルモンが分泌され、エネルギー基質の動員や呼吸循環応答の促進が起こり、生体の恒常性が維持される。これらのホルモンには好中球の動員やアポトーシス抑制作用もあり、その結果末梢血中の好中球数が増加し活性酸素産生も促進されると考えられている⁴。

伸張性筋収縮を主体とした運動や高強度の激運動は、筋損傷（exercise-induced muscle damage：EIMD）を引き起こし、筋力を低下させ、関節可動域（range of motion：ROM）を減少させる^{1,10,19,31,35}。筋組織が傷害されると、筋肉の酸素運搬、酸素貯蔵蛋白であるミオグロビン（myoglobin：Mb）の血中濃度が上昇し、ATP産生に重要な役割をするクレアチンキナーゼ（creatine kinase：CK）や、乳酸脱水素酵素（lactate dehydrogenase：LDH）、解糖系触媒酵素のアルドラーゼ（aldolase：ALD）、肝臓・骨格筋細胞内酵素であるアスパラギン酸トランスフェラーゼ（aspartate aminotransferase：AST）や肝臓優位のアラニンアミノトランスフェラーゼ（alanine aminotransferase：ALT）の酵素活性上昇が生じる。骨格筋に多く含まれるCK、Mb、LDH、ALD、AST、ALTは筋損傷マーカーとして有用である。これらのうちCKは、1983年にSchwaneらが筋損傷の指標として用いて以来⁵、多くの研究で用いられてきており、運動後のCK活性値のピークは3～4

日後とする報告が多く、遅れて生じることから運動中の伸張による物理的筋損傷よりもその後生じる炎症の関与が示唆されてきた^{6,7)}。

サイトカインとは炎症反応、免疫応答、造血、創傷治癒などに関与する各種細胞の増殖・分化・機能を調節する細胞間情報伝達物質の総称である。サイトカインには炎症を促進する炎症性サイトカインであるインターロイキン 1β (interleukin 1β : IL- 1β)、腫瘍壊死因子 α (tumor necrosis factor α : TNF- α) や、免疫調節性サイトカインである IL-2, IL-12p70, インターフェロン γ (interferon γ : IFN- γ) 等があり、抗炎症性サイトカインには IL-4, IL-10, IL-1 receptor antagonist (IL-1ra) 等が含まれる。また好中球・単球の産生や動員を促進するコロニー刺激因子 (granulocyte colony stimulating factor: G-CSF, granulocyte macrophage colony stimulating factor: GM-CSF, macrophage colony stimulating factor: M-CSF)、白血球の組織への浸潤を促進する遊走活性をもつケモカイン (IL-8, monocyte chemoattractant protein 1: MCP-1) などのほかに、IL-6 は好中球の活性化、急性期炎症タンパクの誘導、抗体産生の促進に加えて抗炎症作用もあり、多機能性サイトカインと呼ばれ、持久性運動によって最も血中濃度が上昇するサイトカインである。

組織が損傷されると、生体には損傷部位を除去し、新たな組織を再生する防御機構が存在する。すなわち組織が損傷を受けると炎症が引き起こされ、白血球の損傷部位への集積を促し、白血球による貪食と組織幹細胞の活性化を介して組織の再生を促進する。損傷した組織の細胞から TNF- α や IL- 1β などのサイトカインが分泌されると、これらのサイトカインは血管内皮細胞に作用し、細胞接着分子であるセレクチンの発現を増加させ、血中に流れる白血球の速度を低下させるとともに、白血球の血管内皮細胞表面上への接着を起こす。白血球は走化性因子 (IL-8, MCP-1) の影響を受けて血管内皮を通りぬけ損傷部位へと浸潤していき、サイトカインを分泌してさらに白血球を集積させ、損傷部位の貪食を早める。また、活性化した白血球が分泌するプロスタグランジン E_2 (prostaglandin E_2 : PGE $_2$) は単なる発痛物質ではなく、その分泌によりさらなる白血球の集積を引き起こす³⁸⁾。

骨格筋においても筋損傷が起きると前述と同様に損傷部位への好中球やマクロファージなどの集積を引き起こすことが知られており、傷害を受けた骨格筋では、TNF- α や IL- 1β などの炎症性サイトカインが増加することが報告され³⁴⁾、さらにケモカイン (chemokine: IL-8, MCP-1 など) も損傷後に増加することが報告されていることから³⁹⁾白血球の浸潤をサイトカイン、ケモカインが仲介していることが伺える。白血球の中でも最初に浸潤を開始するのは好中球である³⁷⁾。炎症性サイトカインにより好中球が活性化されると、活性酸素種 (reactive oxygen species: ROS) の代謝に関与するミエロペルオキシダーゼ (myeloperoxidase: MPO)、アポトーシスを誘導する炎症性タンパク質のカルプロテクチン (calprotectin) が血中で上昇し、ケモカイン (IL-8, MCP-1)、好中球遊走因子である補体分解産物である C5a⁴⁰⁾、免疫調節性サイトカイン (IL-2, IFN- γ , IL-12p70)、抗炎症性サイトカイン (IL-1ra, IL-4, IL-10, IL-12p40) や白血球の動員・走化性を促進するコロニー刺激因子 (G-CSF, GM-CSF, M-CSF) が上昇する²⁵⁾。

運動処方レベルで行われる運動では、サイトカインの血中濃度の変動はほとんどみられないが、一方で心拍数が 200 に至るような運動強度が高い場合や、マラソン、トライアスロンなどの生体負担が大きい持久性運動後には炎症性サイトカイン（IL-1 β , TNF- α ）の血中濃度が上昇し、抗炎症性サイトカインの IL-10, IL-1ra の上昇もみられたとの報告がある^{8,9)}。これらの反応と筋損傷マーカーである CK, Mb 等の上昇とが相関し、サイトカインが筋の炎症過程を制御している可能性が考えられる^{2,8,10,13)}。したがって、サイトカインによる筋の炎症過程が制御できれば、筋炎の悪化も予防できる可能性があり、DOMS のメカニズムの解明は重要な検討課題となっている。

DOMS の研究はこれまで数多くなされてきたが、そのメカニズムには不明な点が多く、また筋損傷マーカー以外に顕著な変動を示すホルモン、サイトカイン等の血中の生体指標は未だ確立されていない。このような背景を踏まえ、これまでに DOMS の発現から消失に至る過程において筋損傷マーカー、ストレスホルモン、サイトカイン等の生化学・内分泌・炎症関連指標と好中球機能を測定し、筋肉痛の消長との関連を検討してきた。しかしながら、このような血液中の検査・測定指標ではサイトカインの変動は認められなかった。その理由として 3 つの可能性が考えられた。第 1 に被験者数が 6 名と少なかったこと、第 2 に血液中の生体指標の変動は運動負荷直後より少し遅れて出現する可能性があり、運動負荷後数時間モニターする必要があることが考えられること、第 3 に組織で産生されたサイトカインは血中に移行すると速やかに尿中に排泄される可能性が考えられることである²²⁾。そこで本研究では被験者数を増やし、測定ポイントを運動負荷当日の 4 時間後まで延長し、血液に加えて尿も採取して筋損傷マーカーと筋肉痛、炎症関連指標との関連を検討することを目的とした。

II. 実験方法

被験者の都合の良い時間にフロンティアリサーチセンター110 実験室で実験を行った。年齢を口頭で聞き、身長、体重を測定した。十分なウォーミングアップを行った後、伸張性筋活動（片足カーフレイズ運動）を行った。血液および尿の採取、主観的筋肉痛については100号館475実験室にて伸張性筋活動前、伸張性筋活動2時間後、4時間後、1日後、2日後、3日後、4日後に行った。白血球数と分画、好中球機能検査（遊走能、活性酸素産生能）、生化学検査、尿検査、筋損傷マーカー（CK、Mb、ALT、AST、LDH、ALD）、好中球活性化マーカー（MPO、カルプロテクチン）、炎症性サイトカイン（IL-1 β 、TNF- α ）、多機能性サイトカイン（IL-6）、免疫調節性サイトカイン（IL-2、IFN- γ 、IL-12p70）、ケモカイン（IL-8、MCP-1）、抗炎症性サイトカイン（IL-1ra、IL-4、IL-10、IL-12p40）、コロニー刺激因子（G-CSF、GM-CSF、M-CSF）、好中球遊走因子（C5a）、腎傷害マーカー（neutrophil gelatinase-associated lipocalin：NGAL）、発痛物質（PGE₂）の血中濃度を測定した。

1. 対象

下腿部のトレーニングを定期的に実施していない健康な成人男性9名（年齢：24.8 $\pm$ 1.3歳、身長：171.8 $\pm$ 5.4 cm、体重：62.3 $\pm$ 6.3kg）を対象とした。本研究において実施する運動負荷は、国際的に広く実験に使用されているものであるが、参加者の安全性確保と事故防止のため、過去1年以内の健康診断において内科的及び外科的疾患を有していないと判断された者に限った。また、被験者には実験の目的・内容についての十分な説明を行い、同意を得られた者を対象とした。

なお、片足カーフレイズ運動を行う前の3日間とカーフレイズ運動終了後から1週間は、激しい運動やレジスタンストレーニングを行うことや、著しく栄養の偏った食事あるいはサプリメントなどの摂取を控え、筋肉痛発症部に対するマッサージやストレッチ、長時間の温冷刺激などを避け、測定時間以外は普段と変わらぬ日常生活を過ごすように指示した。

なお、この研究は早稲田大学倫理委員会の承認のもとに行われた。

2. 運動負荷

本研究では、片足カーフレイズ運動を伸張性運動負荷として用いたが、主働筋である下腿三頭筋は膝関節と足関節をまたぐ二関節筋であるため、運動時の動作を足関節のみに規定する必要がある。本研究で用いたカーフレイズ用のスレッジ装置はレール上にスライドするように板が設置されており、スレッジ台に体幹を固定して足関節のみを動かすことができる。被験者は右足のみでつま先立ちで踵を上げ（底屈）・下げ（背屈）する片足カーフレイズ運動をメトロノームに合わせて0.5Hzの動作速度で合計200回（10回 $\times$ 20セット）を行った。セット間の休憩時間は3分間とし、その間は右足を休ませるため左足に体重をかけるようにした。

3. 測定・検査項目

1) 主観的筋肉痛

被験者が日常生活の中で感じた筋肉の痛みを、100mm の直線の 0mm 地点を「痛みなし」、100mm 地点を「最高の痛み」とする visual analogue scale (VAS) 法により直線上にチェックしてもらう方法で測定した。

2) 血液・尿検査項目

血液は肘静脈より 12ml 採取し、1ml はヘパリンチューブに取り、直ちに好中球機能の測定に供した。EDTA 採血管に 7ml 取り、1000G で 10 分間遠心して得られた血漿をポリチューブに分注し、炎症関連物質などの測定に使用するまで -80°C で凍結保存した。4ml は血清分離用採血管に取り、血液凝固が認められるまで 30 分以上室温に置き、1000G で 10 分間遠心後に得られた血清をポリチューブに入れて検査機関に依頼するまで -80°C で凍結保存した。尿は採血の 2 時間前に排尿した後、採血直前に容器に採尿し尿量を計測した後、1000G で 10 分間遠心し、上清をポリチューブに分注して -80°C で凍結保存した。

生化学検査、尿検査は検査会社（株式会社ビー・エム・エル）に測定を依頼した。血液生化学検査は総蛋白 (total protein : TP)、アルブミン (albumin : ALB)、AST、ALT、LDH、ALD、クレアチニン (creatinine : Crt)、尿素窒素 (blood urea nitrogen : BUN)、尿酸 (uric acid : UA)、クレアチンキナーゼ (CK)、ミオグロビン (Mb)、C 反応性蛋白 (C-reactive protein : CRP) 中性脂肪 (triglyceride : TG)、遊離脂肪酸 (free fatty acid : FFA)、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、クロール (Cl)、カルシウム (Ca)、鉄 (Fe)、血糖を測定した。尿検査は尿蛋白 (protein in urine)、クレアチニン、尿素 (urea)、尿酸、ナトリウム、カリウム、クロール、カルシウム、N - アセチルグルコサミニダーゼ (N-acetyl-glucosaminidase : NAG) を測定した。

3) 好中球機能測定

好中球の活性酸素産生能と遊走能についてはゲル法を用いて検討した²⁶⁾。ゲル法は好中球が選択的に侵入するハイドロゲルを用いることにより、好中球を予め全血から分離することなく、生体内に近い条件下で簡便に好中球機能を評価できる。熱可逆ハイドロゲルが低温でゾル状態、体温ではゲル化するゾルーゲル転移現象を示すことを利用し、ハイドロゲル中に侵入した好中球の活性酸素産生を化学発光の測定により行い、その後ゾル化してゲル中に侵入した好中球を回収し、その細胞数から遊走能の評価を行った。

(1) 試薬の準備

熱可逆ハイドロゲルの調整

熱可逆ハイドロゲル(細胞接着因子含有) 4°C 凍結保存乾燥品に HBSS 16.7ml を加え、 4°C に一晩放置した後、 37°C と 4°C 保存を数日間繰り返し均一なゾル状態とした。気泡がなく透

明に溶解したものを 1.5ml チューブに分注し、 -20°C で凍結保存した。

ルミノール溶液の調整

Luminol (Minimum 97% HPLC, SIGMA ALDRICH, USA) を 17.72mg 秤量してガラスビーカーに入れ、1N NaOH 3ml を加えてよく攪拌し溶解した。沈殿が生じないようにゆっくりと 1N HCl 2.5ml を滴下し、さらに HBSS 30ml を加え、攪拌しながら 0.2N HCl で pH7.4 (37°C) に調整した。これに HBSS を加えて 40ml にメスアップし、最終濃度を 2mM とした。1.5ml チューブに分注し使用時まで遮光して -20°C で凍結保存した。

(2) 測定方法

氷上でゾル化した熱可逆ハイドロゲルを 2ml チューブ (AXYGEN, Inc. USA) の底に 50 μl 塗布した。熱可逆ハイドロゲルは 20°C 以上でゲル化が進行するため、ゲル、チューブ、ピペッティングチップを氷上で冷却しながら操作を行った。また、気泡の存在やゲル表面の偏りは化学発光測定時の正確な評価を妨げるため、細心の注意をはらって調整し、 37°C のインキュベーター (e-Thermo Bucke (ETB), TAITEC) 中に 10 分以上静置し、完全にゲル化したのを確認後使用した。

ベネジクト II 真空採血管 (ヘパリンナトリウム, TERUMO, 大阪) にて採血した全血に等量のルミノール溶液を混和し、素早く 150 μl をゲル上に均一に広げ、すぐにルミノメーター (GENE LIGHT 55, マイクロテック・ニチオン社製, 船橋) で化学発光量 (relative light unit : RLU) を測定した。以後、20 分毎に 60 分まで 1 サンプルにつき計 4 回トリプlicateにて測定し、60 分の測定値を活性酸素産生量とした。

ルミノメーターで測定終了後、 37°C に温めた pH7.4 の PBS 900 μl を加えながら洗浄・除去を 3 回行った。血色素が認められなくなったことを確認した後、残っている水分を除去した。さらに氷上でゾル化し、50 μl のチュルク液 (Wako, 大阪) を添加した後 10 回攪拌し、血球計算盤 (C-Chip, Disposable Hemocytometer, Neubauer Improved, DHC-No.1, Digital Bio, Seoul) に適量注入して顕微鏡下で細胞数を計測した。計算盤の 1mm² の 4 区画をカウントし、その平均値を 20 倍したものを 1 μl 中の遊走細胞数とした。

4) 炎症関連物質の測定

被験者全員の試験が終了した後、すべての検体を同時に解凍し、酵素免疫測定 (enzyme-linked immunosorbent assay : ELISA) により定量した。

IL-2、IL-4、IL-8、IL-10、IL-12p40、IFN- γ 、C5a (BD Biosciences, USA)

IL-1ra、IL-6、IL-1 β 、IL-12p70、TNF- α 、MCP-1、G-CSF、M-CSF、GM-CSF (R&D Systems, USA)

MPO、Calprotectin、NGAL (Hycult biotechnology, Netherlands)

PGE₂ (ENZO Life Sciences, USA)

4. 統計処理

得られた結果のうち血液はヘマトクリット、ヘモグロビンで補正し、尿はクレアチニンで補正し、すべて平均値±標準偏差で表した。二元配置分散分析を用いて全体の変動傾向を検討し、有意差の認められたものについては Bonferroni の基準にて多重比較を行った。変数間の関連性については、Pearson の相関係数 (r) を求め、その有意性には無相関の検定を行った。いずれも危険率 5%未満を有意とした。

Ⅲ. 結果

1. 主観的筋肉痛の経時的変動

Figure 1 のように筋肉痛は片足カーフレイズ運動 4 時間後までは出現せず、24 時間後から上昇し 48 時間後には有意に上昇 ($p<0.01$)、72 時間後にピークとなった ($p<0.01$)。96 時間後には低下したがカーフレイズ運動前 (Pre) と比べ有意であった ($p<0.01$)。

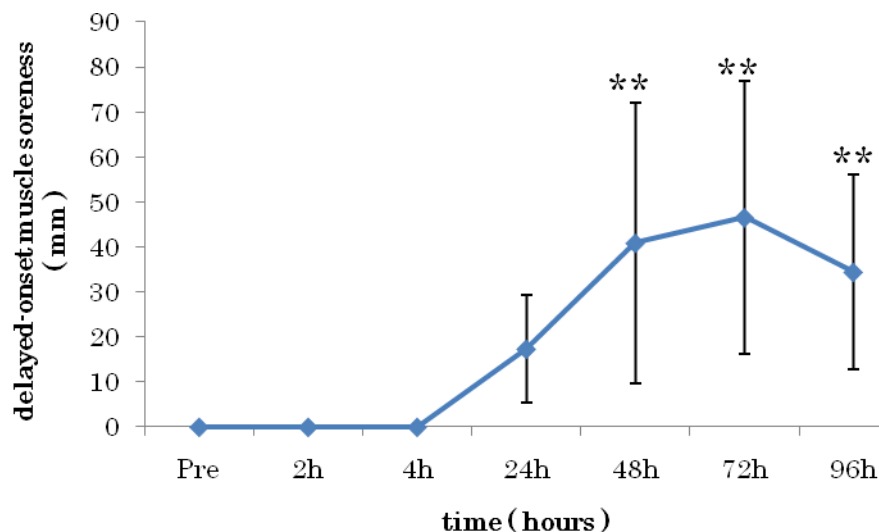


Figure 1 カーフレイズ運動による遅発性筋肉痛 (delayed-onset muscle soreness : DOMS) における主観的筋肉痛 (visual analogue scale : VAS) の経時の変化

Means±SD (n=9) two-way ANOVA. Post-hoc test : Bonferroni adjustment

** $p<0.01$: Pre vs. 48h, 72h, and 96h

2. 筋損傷マーカーの経時的変動

Figure 2 のように CK ($p<0.05$) は 96 時間後、Mb ($p<0.05$) は 72 時間後に有意に上昇した。AST ($p<0.01$)、ALT ($p<0.01$)、LDH ($p<0.01$)、ALD ($p<0.01$) は 96 時間後に有意に上昇した。その他の血液・尿の生化学検査値には有意な変動は認められなかった (Table 1, 2)。

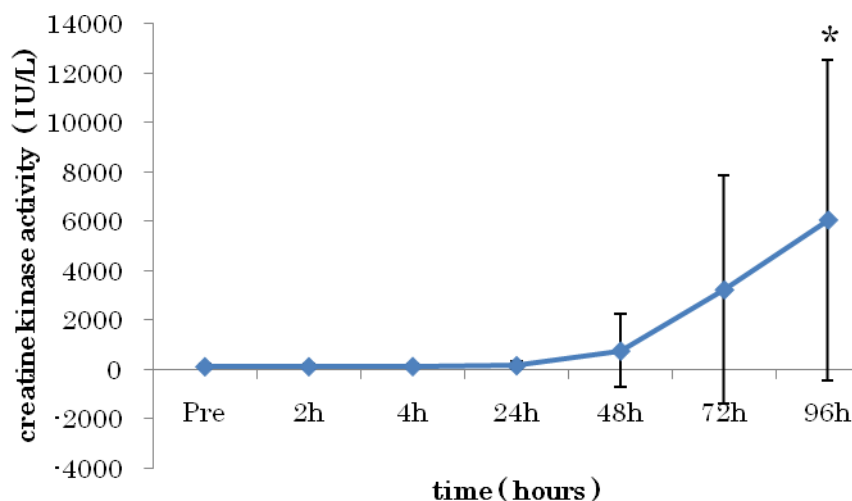


Figure 2-a カーフレイズ運動によるクレアチンキナーゼ活性の変動

Means $\pm$ SD (n=9) two-way ANOVA. Post-hoc test: Bonferroni adjustment

* $p<0.05$: Pre vs. 96h

クレアチンキナーゼ : creatine kinase (CK)

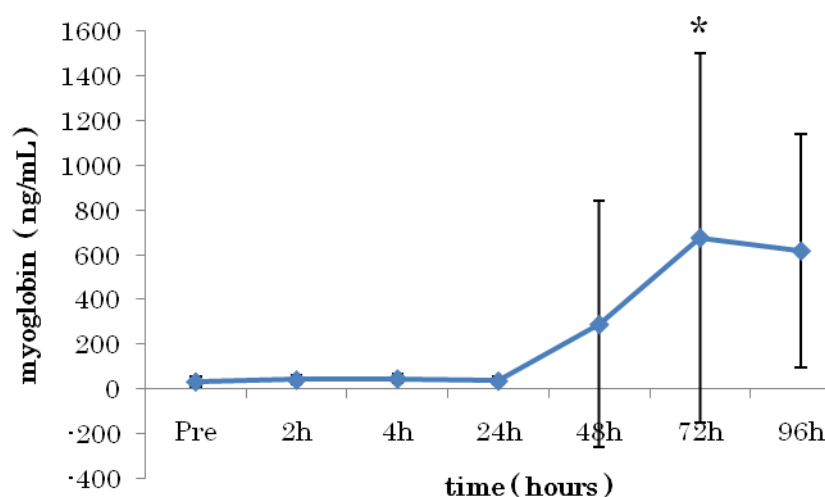


Figure 2-b カーフレイズ運動によるミオグロビンの変動

Means $\pm$ SD (n=9) two-way ANOVA. Post-hoc test: Bonferroni adjustment

* $p<0.05$: Pre vs. 72h

ミオグロビン : myoglobin (Mb)

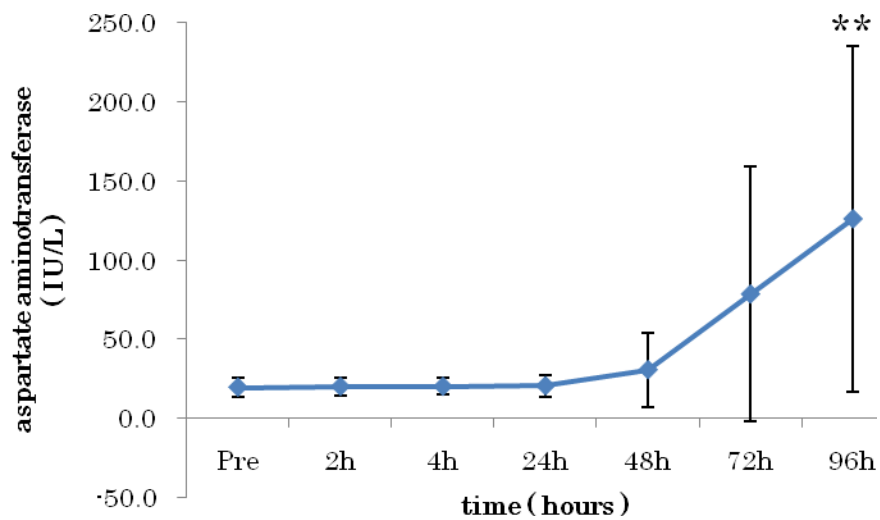


Figure 2-c カーフレイズ運動によるアスパラギン酸トランスフェラーゼの変動
Means $\pm$ SD (n=9) two-way ANOVA. Post-hoc test: Bonferroni adjustment
**p<0.01: Pre vs. 96h
アスパラギン酸トランスフェラーゼ : aspartate aminotransferase (AST)

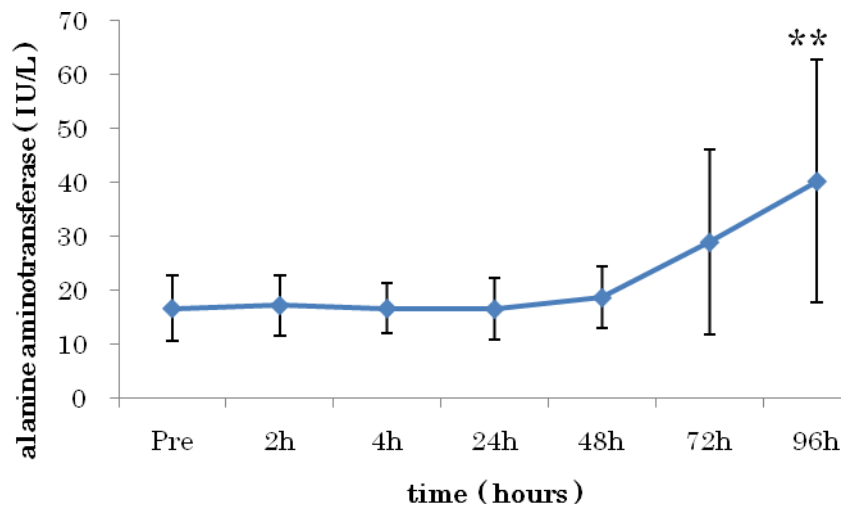


Figure 2-d カーフレイズ運動によるアラニンアミノトランスフェラーゼの変動
Means $\pm$ SD (n=9) two-way ANOVA. Post-hoc test: Bonferroni adjustment
**p<0.01: Pre vs. 96h
アラニンアミノトランスフェラーゼ : alanine aminotransferase (ALT)

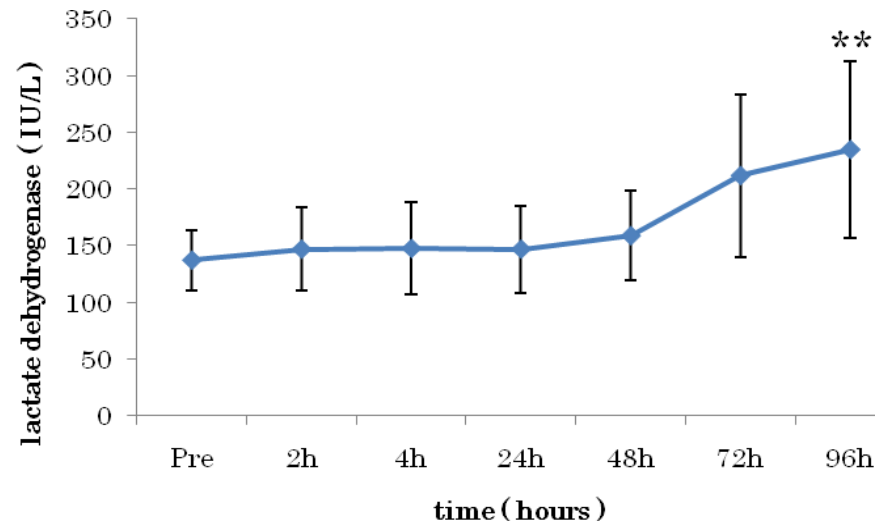


Figure 2-e カーフレイズ運動による乳酸脱水素酵素の経時的変動
Means $\pm$ SD (n=9) two-way ANOVA. Post-hoc test: Bonferroni adjustment
**p<0.01: Pre vs. 96h
乳酸脱水素酵素 : lactate dehydrogenase (LDH)

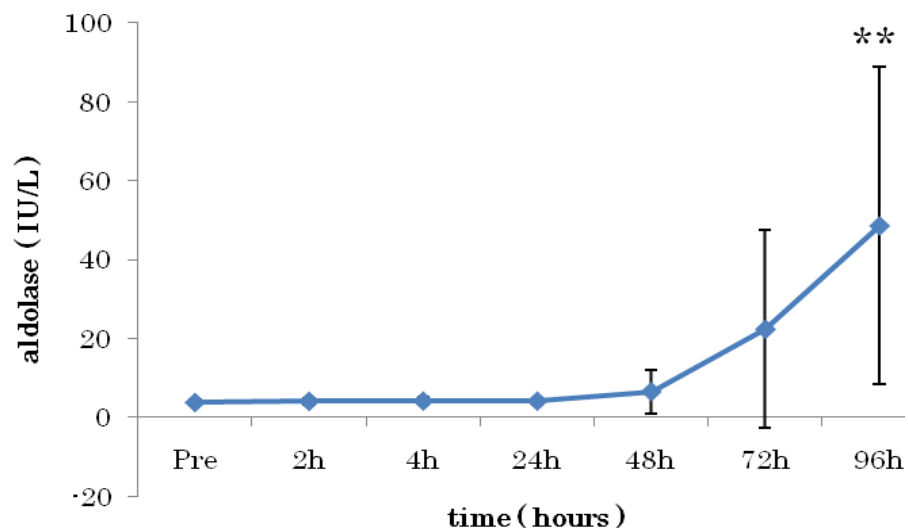


Figure 2-f カーフレイズ運動によるアルドラーゼの経時的変動
Means $\pm$ SD (n=9) two-way ANOVA. Post-hoc test: Bonferroni adjustment
**p<0.01: Pre vs. 96h
アルドラーゼ : aldolase (ALD)

3. 末梢血中の白血球の分画と好中球数の変動

Figure 3 のように白血球数 (white blood cells : WBC) は片足カーフレイズ運動前と比較し 4 時間後に有意に上昇して 24 時間後には運動前値に戻るものが観察された。白血球数の増加は主として好中球数 (large cell count : LCC) の増加によるものであり、リンパ球数 (small cell count : SCC) の変動は認められなかった。

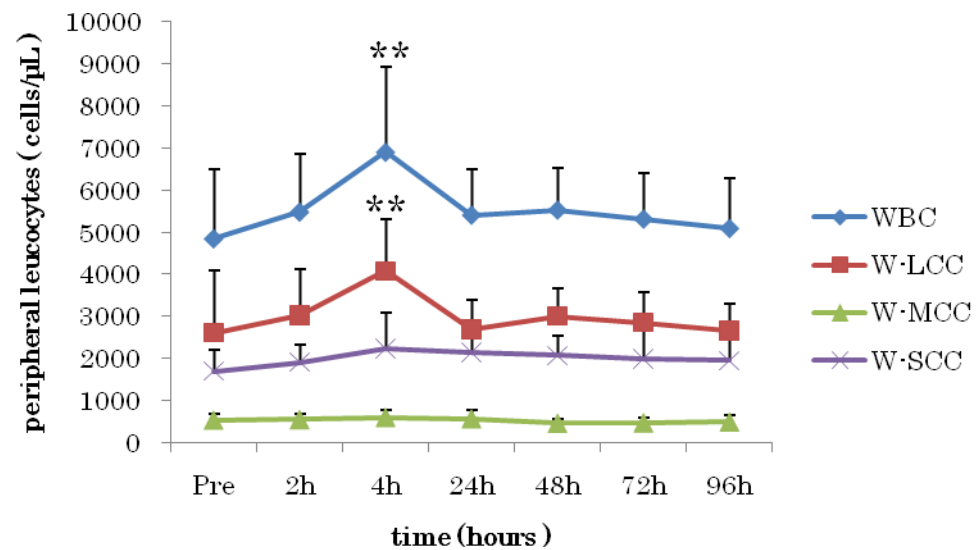


Figure 3 末梢血中の白血球数の経時的変動

Means±SD (n=9) two-way ANOVA. post-hoc test : Bonferroni adjustment

**p<0.01: Pre vs. 4h WBC, LCC

末梢白血球数 : peripheral leucocytes

白血球 : white blood cells (WBC)

好中球 : large cell count (LCC)

単球・好酸球・好塩基球 : medium cell count (MCC)

リンパ球 : small cell count (SCC)

4. 好中球機能の変動

Figure 4-a のように好中球の活性酸素産生能はカーフレイズ運動前と比較して、4 時間後に上昇傾向を認めた ($p=0.0716$)。好中球の遊走能は Figure 4-b のように 4 時間後に有意に上昇した ($p<0.05$)。

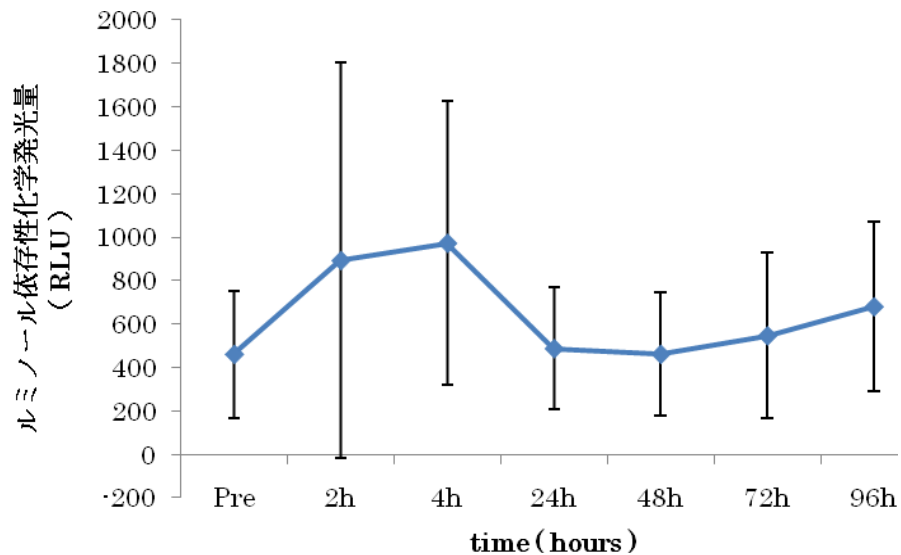


Figure 4-a カーフレイズ運動による好中球活性酸素産生能の経時的変動
Means $\pm$ SD (n=9) two-way ANOVA. Post-hoc test: Bonferroni adjustment
 $p=0.0716$: Pre vs. 4h

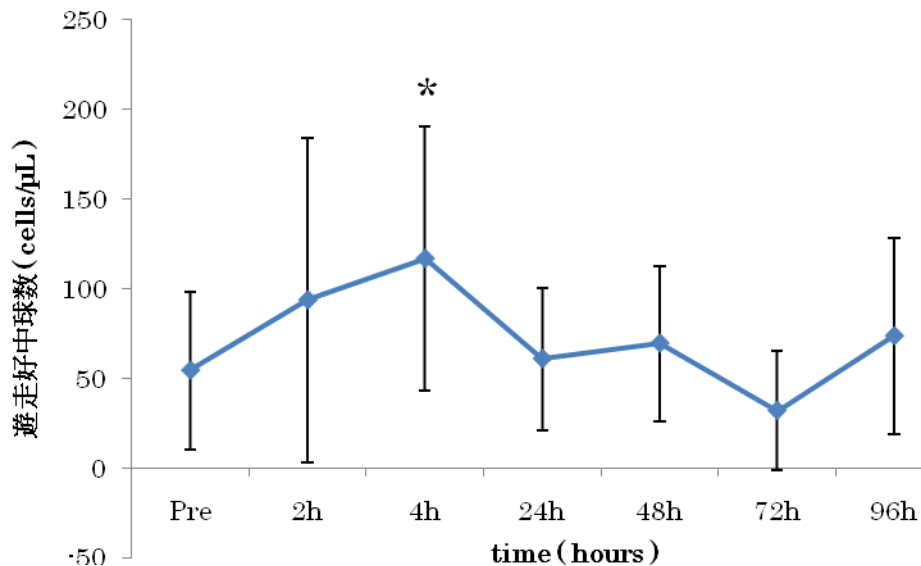


Figure 4-b カーフレイズ運動による好中球遊走能の経時的変動
Means $\pm$ SD (n=9) two-way ANOVA. Post-hoc test: Bonferroni adjustment
* $p<0.05$: Pre vs. 4h

5. 炎症関連指標の変動

本研究では血中、尿中における炎症性サイトカイン、免疫調節性サイトカイン、抗炎症性サイトカイン、好中球活性化因子、コロニー刺激因子、腎傷害マーカー、発痛物質等について測定したがこれらの項目では有意な変動は認められなかった (Table 3 (1), (2), (3))。

6. データ間の関連性

主観的筋肉痛のピーク値 (変化量) と筋損傷マーカーのピーク値 (変化率) の関連性を相関分析で検討した。Figure 5 のように主観的筋肉痛 (72 時間後) と Mb (72 時間後) は正の相関を示した ($r=0.73$, $p=0.03$)。一方、CK (96 時間後)、AST (96 時間後)、ALT (96 時間後)、LDH (96 時間後)、ALD (96 時間後) は有意な相関を認めなかった (Table 4)。

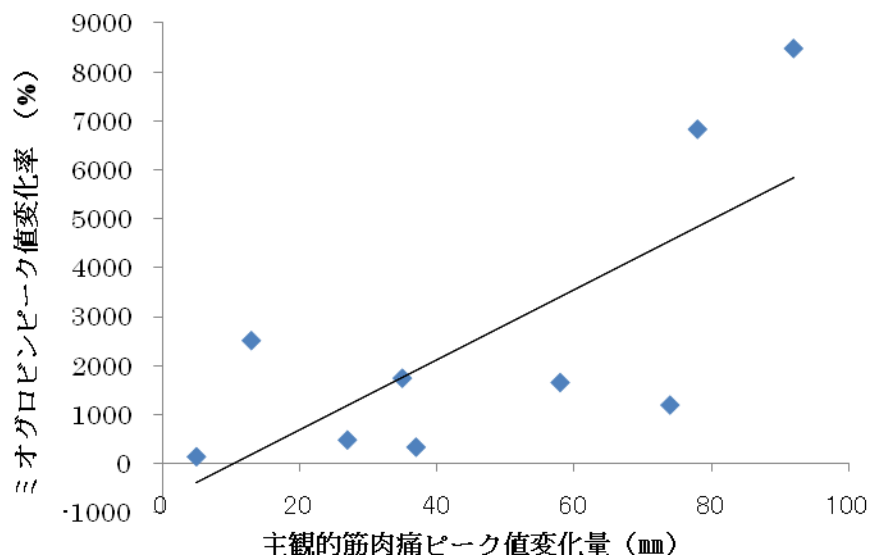


Figure 5. カーフレイズ運動による主観的筋肉痛とミオグロビンの各ピーク値の運動前値からの変化率の関連

Percent change vs. Pre (n=9) Pearson の相関係数と無相関の検定

DOMS VAS (Pre-72h) vs. Mb (Pre-72h) : $r=0.73$, $p=0.03$

IV. 考察

本研究では、片足カーフレイズ運動により遅発性筋肉痛を発生させ、血液中の筋損傷マーカーや炎症関連指標と筋肉痛との関連性について検討した。まず、今回の運動負荷について、筋肉痛は運動前と比較し、運動 2 時間後、4 時間後まで認められなかったが、24 時間後に筋肉痛が出現し、48 時間後から 72 時間後まで有意な上昇を認め ($p<0.01$)、96 時間後からは消退するものの有意であった ($p<0.01$)。一般的に遅発性筋肉痛は運動後数時間から 1 日後に出現し、2~3 日後にピークとなるとされているが^{1,31,35})、片足カーフレイズ運動も同様の経過を示し、遅発性筋肉痛を出現させる伸張性筋活動を伴う運動であることが確認された。

運動による筋損傷の指標として、本研究では CK、Mb、AST、ALT、LDH、ALD を測定した。運動前と比較して 72 時間後に Mb ($p<0.05$) が、96 時間後には CK ($p<0.05$)、AST ($p<0.01$)、ALT ($p<0.01$)、LDH ($p<0.01$)、ALD ($p<0.01$) がともに有意な上昇を示し、筋損傷が起きていることが確認された。筋損傷マーカーのうち、Mb が他のマーカーより 1 日早く出現した理由については、分子量で比較すると、Mb は 17.8kDa、CK は 82kDa、AST は 120kDa、ALT は 69kDa、LDH は 140kDa、ALD は 40kDa であり、分子量が小さいものほど膜の透過性が高く、組織から血中に移行するのが早いためと考えられる^{27,33})。

次にデータ間の関連性については主観的筋肉痛と筋損傷マーカーのピーク値 (変化率) の相関を検討した。筋損傷と主観的筋肉痛に関する報告は数多くあり、筋損傷と主観的筋肉痛の程度は必ずしも一致しないとされている²⁹)。今回の検討では、主観的筋肉痛ピーク値と各筋損傷マーカーピーク値の比較においてミオグロビンが高い相関 ($r=0.7261$) を示し、主観的筋肉痛の程度は血中ミオグロビン濃度と現象的に関連した。ミオグロビンは筋肉中に存在する酸素運搬・貯蔵タンパクであり、筋損傷の程度に応じて流出量も増加すると考えられる。筋肉痛を惹起する炎症関連物質は未だ同定されていないものの、筋損傷の程度と主観的筋肉痛との間になんらかの関連があることは想像に難くない。他の筋損傷マーカーにおいては関連が認められなかったが、血中への流出時間がより多くかかっており、痛みの消長のタイミングと一致しなかったことに原因がある可能性も考えられるが、ミオグロビンは筋肉痛の程度とタイミングに一致し、より早期に変動したことから、より鋭敏な筋損傷マーカーと考えられた。今後は筋損傷マーカーが消退するまでの総流出量と主観的筋肉痛との関連とこの現象のメカニズムについて検討したいと考えている。

AST、ALT は細胞中のアミノ酸を合成する酵素で細胞が損傷されると血中に逸脱するため、筋損傷マーカーとして使用されるが、ALT は肝臓優位であり、AST、ALT がともに高値であれば肝障害を疑う。本研究の片足カーフレイズ運動においては軽度であるが AST、ALT とともに上昇が認められた。さらに激しい運動においては肝障害の可能性も示唆されるため、今後肝臓への影響評価やメカニズムも研究が必要と考える。

次に、このような DOMS を伴う運動モデルにおける好中球機能について検討した。本研

究では、*in vitro* でルミノール依存性化学発光法を用いた活性酸素産生能とハイドロゲルを用いた遊走能の測定により、好中球機能の評価を行った。運動負荷に伴う好中球数の変動については、これまでに多くの報告がなされ、短時間高強度の運動ではカテコールアミンの作用により壁在プールから動員される好中球の活性酸素産生能の上昇が認められ¹¹⁾、長時間の持久性運動の場合にはコルチゾールが介在する骨髓予備プール由来の好中球による活性酸素産生能の上昇が認められている¹²⁾。本研究では活性酸素産生能は運動負荷前と比較して4時間後に上昇傾向 ($p=0.0716$) が認められたが、同時に遊走細胞数も上昇 ($p<0.05$) しており、細胞1個あたりの活性酸素産生能の変動は認められなかった。しかしながら遊走細胞数が上昇していることから、生体内では末梢血液中から好中球が損傷組織に移行しやすい状態になっていることが示された。

炎症マーカーとして一般的にC反応性蛋白 (C-reactive protein : CRP) が用いられることが多く、CRPはIL-6に応答して増加する急性期タンパクである。本研究でもCRPを測定したが数例を除いて限界未満の測定結果となり、血中では炎症の徴候はとらえられなかった。先行研究として野坂らが、ダンベルを使った上腕の最大エキセントリック運動において、CK値と筋肉痛は上昇したが、CRPの変動はなかったことを報告しており¹⁹⁾、本研究においても先行研究と一致した結果が得られた。

本研究において測定したサイトカインでは有意な変動が認められなかった。鈴木らによる持久性運動での検討では炎症性サイトカインが血中のほか尿中でも上昇することが報告されており²²⁾、本研究では尿中の測定も行ったが有意ではなく、カーフレイズのような伸張性筋活動では炎症反応を仲介するサイトカインは組織外に移行しないことが考えられた。損傷を起こした筋組織には多数の好中球の浸潤が確認されており²³⁾、損傷局所では炎症反応が起きていると考えられ、今後の課題として動物実験で損傷を受けた骨格筋を採取し、損傷局所の炎症反応を確認したいと考えている。

組織が損傷を受けると炎症局所ではブラジキニンが産生され、血管透過性の亢進や疼痛が生じ、さらにPGE₂の産生により疼痛が増強されることが知られている。Uchidaらは35人の男性兵士を対象に4種類の強度のベンチプレス運動をさせ、筋肉痛、CK活性、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、PGE₂の血中濃度を比較検討した。その結果筋肉痛と血清CK活性は運動後に有意に上昇し ($p<0.05$)、運動強度間での差はみられなかった。血清PGE₂濃度も運動後有意に上昇し ($p<0.05$)、最高運動強度群が他の群と比較して有意に大きく上昇した。弱いと正の相関 ($p<0.05$) が筋肉痛のピークとPGE₂濃度のピーク間でみられた²⁴⁾ことから、本研究においてもPGE₂濃度の測定を行った。しかしながら、血漿中、尿中ともに有意な変動は認められなかった。鈴木らも上腕の伸張性運動後の血漿中PGE₂濃度の測定をしているが、やはり有意な変動は認められなかった²⁵⁾。本研究や鈴木らの用いたサンプルは、採血後時間をおかず遠心分離した血漿であったが、Uchidaらは採血後放置して血液凝固させてから遠心分離した血清を用い生体内ではありえない高値を示したことから、採血後の血液を放置している間に運動によって血中で増加した白血球がPGE₂を産生した可能性が考

えられた。この点では、末梢血中の白血球増多と好中球の組織移行性の増加を本研究では認め、白血球が筋組織に移行し、PGE₂や活性酸素、サイトカイン等の各種炎症関連物質を産生することによって筋損傷が誘導される可能性が考えられるため、今後も筋損傷やDOMS への炎症機序をさらに究明する必要がある。

結論

遅発性筋肉痛の指標がまだ確立されていないため、片足カーフレイズ運動により筋肉痛を発現させ、血液・尿の生化学データ、筋損傷マーカー、炎症関連指標の関連性を検討したが、筋損傷マーカー以外には有意な変動を認めなかった。主観的筋肉痛とミオグロビンとの間に相関が認められ、またタイミングも一致したことから、他の筋損傷マーカーよりもより鋭敏に反応する指標であることが確認された。末梢血中の好中球数は運動負荷 4 時間後に有意に増加し、好中球機能についても運動負荷 4 時間後に活性酸素産生能が上昇傾向を示し、遊走能は有意に上昇し、好中球の組織移行性の増加を認めた。

V. 謝辞

本研究を進めるにあたり、丁寧なご指導を賜りました鈴木克彦先生に深く感謝申し上げます。また、実験を進めるにあたり、運動負荷をはじめ多大なご協力をいただきました川上泰雄教授ならびに川上研究室の佐久間淳さん、サイトカインの測定に協力いただいた菅間薫さん、林田はるみさん、川西範明さん、高橋将記さん、沢田秀司さんほか鈴木研究室の皆様に深く感謝申し上げます。

参考文献

- 1) Peake J, Nosaka K, Suzuki K. Characterization of inflammatory responses to eccentric exercise in humans. *Exerc. Immunol. Rev.* 11, 64-85.2005.
- 2) 鈴木克彦. 運動と免疫. 日本補完代替医療学会誌 1, 31-40.2004.
- 3) Suzuki K, et al. Exhaustive exercise and type-1/type-2 cytokine balance in special focus on interleukin-12p40/p70. *Exerc. Immunol. Rev.* 9, 48-57.2004.
- 4) 安保 徹, 鈴木 晋, 鳥谷部真一: ストレスと好中球機能. *Surgery Frontier.* 5 : 20-26,1998.
- 5) Schwane JA, Johnson SR, Vandenakker CB and Armstrong RB: Delayed-onset muscular soreness and plasma CPK and LDH activities after downhill running. *Med Sci Sports Exerc.* 15, 51-56, 1983.
- 6) Lin J-G and Yang S-H: Effects of acupuncture on exercise-induced muscle soreness and serum creatine kinase activity. *Am J Chinese Med.* 274(3-4), 299-305, 1999.
- 7) Manfredi TG, Fielding RA, O'Reilly KP, Meredith CN, Lee HY and Evans WJ: Plasma creatine kinase activity and exercise-induced muscle damage in older men. *Med Sci Sports Exerc.* 23(9), 1028-1034.1991.
- 8) Suzuki K, et al.: Systemic inflammatory response to exhaustive exercise. *Cytokine kinetics. Exerc. Immunol. Rev.* 8:6-48.2002.
- 9) Suzuki K, Nakaji S, Yamada M, Liu Q, Kurakake S, Okamura N, Kumae T, Umeda T, Sugawara K. Impact of a competitive marathon race on systemic cytokine and neutrophil responses. *Med Sci Sports Exerc.* 35(2):348-55.2003.
- 10) Suzuki K, et al. Changes in markers of muscle damage, inflammation and HSP70 after an Ironman triathlon race. *Eur.J. Appl. Physiol.* 98, 525-534.2006.
- 11) 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. 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, 2000.
- 12) 佐藤英樹, 鈴木克彦, 杉田直人, 中路重之, 菅原和夫, 戸塚 学, 佐藤光毅. 8 週間の運動トレーニング及び一過性運動負荷による好中球活性酸素種産生能の変動. *日本衛生学雑誌*, 51, 200, 1996.
- 13) Suzuki K, Sato H, Kikuchi T, Abe T, Nakaji S, Sugawara K, Totsuka M, Sato K, and Yamaya K. Capacity of circulating neutrophils to produce reactive oxygen species after exhaustive exercise. *J Appl. Physiol.* 81: 1213-1222.1996
- 14) Yamamoto Y, Nakaji S, Umeda T, Matsuzaka M, Takahashi I, Tanabe M, Danjo K, Kojima A, Oyama T. Effects of long-term training on neutrophil function in male university judoists. *Br J Sports Med.* 42.255-259.2008
- 15) 小川道雄 編著: 知っておきたい侵襲キーワード. メジカルセンス社, 東京, 1999.

- 16) 吉田憲正, 坂本京子, 吉川敏一・他: フリーラジカルと細胞接着分子. 活性酸素・フリーラジカル. 6: 6-13, 1995.
- 17) 森口寛, 酒井徹, 山本茂. 感染と生体防御ー運動と生体防御ー. 建帛社. 79-86 : 2004
- 19) Nosaka K, Clarkson PM. Changes in indicators of inflammation after eccentric exercise of the elbow flexors. *Med Sci.Sports Exerc.* 28:953-61. 1996.
- 20) Pedersen BK, Steensberg A, Keller P, et al. Muscle-derived interleukin-6: lipolytic, anti-inflammatory and immune regulatory effects. *Eur. J Physiol.* 446:9-16.2003.
- 21) Nieman DC, Davis JM, Henson DA, et al. Carbohydrate ingestion influences skeletal muscle cytokine mRNA and plasma cytokine levels after a 3-h run. *Appl Physiol.* 94: 1917-1925.2003.
- 22) Suzuki K, Nakaji S, Yamada M, Liu, Qiang, Kurakake S, Okamura N, KumaeT,Umeda T, and Sugawara K. Impact of a competitive marathon race on systemic cytokine and neutrophil responses. *Med Sci Sports Exerc.*2003.
- 23) Fielding RA, Manfredi TJ, Ding W, Fiatarone MA, Evans WJ, Cannon JG. Acute phase response in exercise. III. Neutrophil and IL-1 beta accumulation in skeletal muscle. *Am J Physiol.* 265(1 Pt 2):R166-72.1993.
- 24) Uchida MC, Nosaka K, Ugrinowitsch C, Yamashita A, et al. Effect of bench press exercise intensity on muscle soreness and inflammatory mediators. *J Sport Sci.* 27(5):499-507.2009.
- 25) Hirose L, Nosaka K, Newton M, Laveder A, Kano M, Peake J, Suzuki K. Changes in inflammatory mediators following eccentric exercise of the elbow flexors. *Exerc Immunol Rev.* 10:75-90.2004.
- 26) 鈴木克彦、佐藤裕子、三浦茂樹、坂巻秀男、吉岡浩、森有一. 好中球機能検査システムおよび好中球機能検査方法. 特開 2008-107210, 2008 年 5 月 (http://jstore.jst.go.jp/nationalPatentDetail.html?pat_id=18174&ssn=UC211P21S010_2)
- 27) 本郷利憲, 廣重力. 監修: 標準生理学 第5版, 東京, 医学書院. 557 : 2003
- 28) MacIntyre DL, Reid WD, Lyster DM, McKenzie DC. Different effects of strenuous eccentric exercise on the accumulation of neutrophils in muscle in women and men. *Eur Appl Physiol.* 81: 47-53.2000.
- 29) Cannon JG, Fiatarone MA, Fielding RA, Evans WJ. Aging and stress-induced changes in complement activation and neutrophil mobilization. *J Appl Physiol.* 76(6):2616-20.1994.
- 30) Saxton JM, Claxton D, Winter E, Pockley AG. Peripheral blood leucocyte functional responses to acute eccentric exercise in humans are influenced by systemic stress, but not by exercise-induced muscle damage. *Clin Sci (Lond).*104(1):69-77.2003.

- 31) Jamurtas AZ, Theocharis V, Tofas T, Tsiokanos A, Yfanti C, Paschalis V, Koutedakis Y, Nosaka K. Comparison between leg and arm eccentric exercises of the same relative intensity on indices of muscle damage. *Eur J Appl Physiol.* 95(2-3):179-85.2005.
- 32) Clarkson PM, Kearns AK, Rouzier P, Rubin R, Thompson PD. Serum creatine kinase levels and renal function measures in exertional muscle damage. *Med Sci Sports Exerc.* 38(4):623-7.2006.
- 33) Sayers SP, Clarkson PM. Short-term immobilization after eccentric exercise. Part II: creatine kinase and myoglobin. *Med Sci Sports Exerc.* 35(5):762-8.2003.
- 34) Dennis RA, Trappe TA, Simpson P, Carroll C, Huang BE, Nagarajan R, Bearden E, Gurley C, Duff GW, Evans WJ, Kornman K, Peterson CA. Interleukin-1 polymorphisms are associated with the inflammatory response in human muscle to acute resistance exercise. *J Physiol.* 1:560(Pt 3):617-26.2004.
- 35) Nguyen D, Brown LE, Coburn JW, Judelson DA, Eurich AD, Khamoui AV, UribeBP. Effect of delayed-onset muscle soreness on elbow flexion strength and rate of velocity development. *J Strength Cond Res.* 23(4):1282.2009.
- 36) Liao P, Zhou J, Ji LL, Zhang Y. Eccentric contraction induces inflammatory responses in rat skeletal muscle: role of tumor necrosis factor- α . *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 298(3):R599-607.2010.
- 37) Fielding RA, Manfredi TJ, Ding W, Fiatarone MA, Evans WJ, Cannon JG. Acute phase response in exercise. III. Neutrophil and IL-1 beta accumulation in skeletal muscle. *Am J Physiol.* 265(1 Pt 2):R166-72.1993.
- 38) Shen W, Li Y, Zhu J, Schwendener R, Huard J. Interaction between macrophages, TGF- β 1 and the COX-2 pathway during the inflammatory phase of skeletal muscle healing after injury. *J Cell Physiol.* 214(2):405-12.2008.
- 39) Pelosi L, Giacinti C, Nardis C, Borsellino G, Rizzuto E, Nicoletti C, Wannenes F, Battistini L, Rosenthal N, Molinaro M, Musarò A. Local expression of IGF-1 accelerates muscle regeneration by rapidly modulating inflammatory cytokines and chemokines. *FASEB J.* 21(7):1393-402.2007.
- 40) Camus G, Poortmans J, Nys M, Deby-Dupont G, Duchateau J, Deby C, Lamy M. Mild endotoxaemia and the inflammatory response induced by a marathon race. *Clin Sci (Lond).* 92(4):415-22.1997.

Table 1. 運動負荷に伴う血液生化学検査値の変動

項目	Pre	2h	4h	24h	48h	72h	96h
TP (g/dL)	7.2±0.4	7.8±1.4	7.8±1.6	7.6±1.5	8.1±2.0	8.0±1.8	8.0±1.8
ALB (g/dL)	1.09±0.82	0.72±0.48	0.52±0.60	1.23±1.00	0.92±0.72	1.75±1.46	1.65±1.37
TG (mg/dL)	85.9±41.9	103.3±62.1	112.6±94.6	75.7±21.1	104.0±42.0	95.9±39.3	76.3±26.0
FFA (mEq/dL)	0.3±0.1	0.4±0.2	0.5±0.3	0.5±0.5	0.3±0.2	0.4±0.2	0.4±0.2
Crt (mg/dL)	0.85±0.09	0.95±0.20	0.94±0.26	0.94±0.21	0.99±0.28	1.00±0.23	0.99±0.23
BUN (mg/dL)	11.4±2.9	12.7±2.9	13.0±2.5	12.8±2.7	12.2±2.0	14.5±4.0	14.2±3.1
UA (mg/dL)	5.8±1.3	6.9±2.0	6.8±2.1	6.3±1.8	6.3±2.0	6.8±2.0	6.8±1.9
Na (mEq/dL)	143±2	156±33	155±35	154±34	159±41	159±41	156±36
K (mEq/dL)	4.1±0.3	4.5±1.0	4.4±1.0	4.6±1.1	4.7±1.4	4.6±1.2	4.5±1.0
Cl (mEq/dL)	105±2	115±25	114±26	113±25	116±29	117±29	114±26
Ca (mg/dL)	9.0±0.2	10.0±2.0	10.0±2.4	10.0±2.2	10.5±2.7	10.3±2.6	10.2±2.3
Fe (μ g/dL)	90±31	111±42	100±48	118±54	130±71	122±57	134±48

Means±SD two-way ANOVA. ns

総タンパク：total protein (TP)

アルブミン：albumin (ALB)

中性脂肪：tri-glyceride (TG)

遊離脂肪酸：free fatty acid (FFA)

クレアチニン：creatinine (Crt)

血中尿素窒素：blood urea nitrogen (BUN)

尿酸：uric acid (UA)

ナトリウム：natrium (Na)

カリウム：kalium (K)

クロール：chloride (Cl)

カルシウム：calcium (Ca)

鉄：ferrum (Fe)

Table 2. 運動負荷に伴う尿検査値の変動

	Pre	2h	4h	24h	48h	72h	96h
protein-U (mg/dL)	1.09±0.82	0.72±0.48	0.52±0.60	1.23±1.00	0.92±0.72	1.75±1.46	1.65±1.37
creatinine (mg/dL)	2.05±1.04	2.04±0.72	2.09±1.11	2.15±1.22	2.15±1.35	2.75±1.59	3.01±0.91
urea (g/L)	6.61±4.05	5.65±2.98	5.48±4.69	4.51±4.23	4.76±4.55	4.94±5.12	5.95±3.61
uric acid (g/L)	0.39±0.16	0.37±0.11	0.41±0.11	0.41±0.13	0.36±0.16	0.35±0.17	0.32±0.09
Na (g/L)	1.88±0.93	2.20±0.53	2.41±0.72	2.07±0.92	2.62±2.09	1.41±0.88	1.17±0.81
K (g/L)	1.02±0.62	1.36±0.76	0.88±0.36	1.16±0.78	1.13±0.72	0.94±0.38	0.80±0.27
Cl (g/L)	3.47±1.50	3.95±1.19	3.88±1.50	3.65±1.74	4.38±2.99	2.67±1.36	2.00±1.33
Ca (g/L)	0.10±0.04	0.09±0.05	0.09±0.05	0.10±0.05	0.12±0.10	0.08±0.05	0.09±0.06
NAG (U/L)	1.89±0.56	1.59±0.43	1.77±0.87	1.95±0.79	1.96±0.29	2.02±0.44	1.88±0.52

Means±SD (n=9) two-way ANOVA. ns

尿タンパク : protein in urine

クレアチニン : creatinine

尿素 : urea

尿酸 : uric acid

N-アセチルグルコサミニダーゼ : N-acetyl-glucosaminidase (NAG)

カリウム : kalium (K)

クロール : chloride (Cl)

カルシウム : calcium (Ca)

ナトリウム : natrium (Na)

Table3. 運動負荷に伴う血液、尿中サイトカインの変動 (1)

		Pre	2h	4h	24h	48h	72h	96h
【炎症性サイトカイン】								
IL-1 β (pg/mL)	plasma	0.80 $\pm$ 0.31	0.98 $\pm$ 0.38	0.80 $\pm$ 0.23	0.85 $\pm$ 0.25	1.13 $\pm$ 0.69	0.86 $\pm$ 0.28	0.86 $\pm$ 0.20
	urine	1.01 $\pm$ 1.50	0.49 $\pm$ 0.35	1.07 $\pm$ 1.61	0.48 $\pm$ 0.48	0.96 $\pm$ 1.13	0.65 $\pm$ 0.85	0.28 $\pm$ 0.18
TNF- α (pg/mL)	plasma	0.46 $\pm$ 0.23	0.56 $\pm$ 0.26	0.65 $\pm$ 0.37	0.76 $\pm$ 0.29	0.46 $\pm$ 0.31	0.59 $\pm$ 0.24	0.54 $\pm$ 0.19
	urine	1.00 $\pm$ 1.26	0.69 $\pm$ 1.06	1.03 $\pm$ 1.43	0.50 $\pm$ 0.62	1.14 $\pm$ 1.93	0.78 $\pm$ 1.57	0.25 $\pm$ 0.29
【免疫調節性サイトカイン】								
IL-2 (pg/mL)	plasma	0.93 $\pm$ 0.17	0.96 $\pm$ 0.17	0.95 $\pm$ 0.23	0.90 $\pm$ 0.23	1.12 $\pm$ 0.67	1.05 $\pm$ 0.54	1.02 $\pm$ 0.32
	urine	1.29 $\pm$ 1.81	0.53 $\pm$ 0.38	0.45 $\pm$ 0.22	0.79 $\pm$ 1.04	1.13 $\pm$ 1.28	0.80 $\pm$ 0.95	0.35 $\pm$ 0.18
IL-12p70 (pg/mL)	plasma	0.59 $\pm$ 0.32	0.68 $\pm$ 0.22	0.67 $\pm$ 0.34	0.80 $\pm$ 0.41	0.91 $\pm$ 0.40	0.57 $\pm$ 0.24	0.59 $\pm$ 0.37
	urine	0.55 $\pm$ 0.58	0.27 $\pm$ 0.22	0.24 $\pm$ 0.08	0.37 $\pm$ 0.39	0.75 $\pm$ 1.08	0.85 $\pm$ 1.37	0.22 $\pm$ 0.20
IFN- γ (pg/mL)	plasma	0.59 $\pm$ 0.16	0.69 $\pm$ 0.28	0.72 $\pm$ 0.29	0.73 $\pm$ 0.20	0.61 $\pm$ 0.17	0.63 $\pm$ 0.13	0.66 $\pm$ 0.22
	urine	1.39 $\pm$ 2.35	0.62 $\pm$ 0.68	1.40 $\pm$ 2.55	0.70 $\pm$ 0.91	1.35 $\pm$ 1.68	0.82 $\pm$ 1.33	0.29 $\pm$ 0.20
【多機能性サイトカイン】								
IL-6 (pg/mL)	plasma	0.27 $\pm$ 0.16	0.41 $\pm$ 0.20	0.34 $\pm$ 0.27	0.23 $\pm$ 0.11	0.28 $\pm$ 0.12	0.33 $\pm$ 0.10	0.41 $\pm$ 0.23
	urine	0.32 $\pm$ 0.40	0.57 $\pm$ 0.74	0.43 $\pm$ 0.68	0.80 $\pm$ 1.86	0.16 $\pm$ 0.11	0.60 $\pm$ 1.19	0.24 $\pm$ 0.27
Means $\pm$ SD two-way ANOVA. ns			interleukin-1 β : IL-1 β tumor necrosis factor- α : TNF- α interleukin-2 : IL-2			interleukin-12p70 : IL-12p70 interferon- γ : IFN- γ interleukin-6 : IL-6		

Table 3. 運動負荷に伴う血液、尿中サイトカインの変動 (2)

		Pre	2h	4h	24h	48h	72h	96h
【抗炎症性サイトカイン】								
IL-1ra (pg/mL)	plasma	35.55 $\pm$ 5.18	38.13 $\pm$ 7.49	40.23 $\pm$ 10.66	38.81 $\pm$ 16.61	35.18 $\pm$ 13.13	35.70 $\pm$ 11.05	37.22 $\pm$ 11.51
	urine	302.5 $\pm$ 100.2	274.2 $\pm$ 107.3	253.9 $\pm$ 94.2	260.6 $\pm$ 101.9	317.8 $\pm$ 195.2	272.6 $\pm$ 110.7	236.7 $\pm$ 86.4
IL-4 (pg/mL)	plasma	0.66 $\pm$ 0.35	0.72 $\pm$ 0.42	0.91 $\pm$ 0.49	1.01 $\pm$ 0.83	0.80 $\pm$ 0.58	0.79 $\pm$ 0.43	3.20 $\pm$ 7.55
	urine	1.98 $\pm$ 4.05	0.89 $\pm$ 0.47	1.11 $\pm$ 1.16	0.81 $\pm$ 0.53	1.57 $\pm$ 2.05	1.49 $\pm$ 2.01	0.96 $\pm$ 1.02
IL-10 (pg/mL)	plasma	0.71 $\pm$ 0.45	0.78 $\pm$ 0.45	0.53 $\pm$ 0.27	0.51 $\pm$ 0.32	0.64 $\pm$ 0.31	0.56 $\pm$ 0.44	0.69 $\pm$ 0.58
	urine	0.57 $\pm$ 0.82	5.61 $\pm$ 15.64	0.42 $\pm$ 0.36	0.44 $\pm$ 0.35	0.63 $\pm$ 0.82	0.58 $\pm$ 0.65	0.31 $\pm$ 0.21
IL-12p40 (pg/mL)	plasma	10.69 $\pm$ 17.78	13.25 $\pm$ 23.12	13.72 $\pm$ 24.63	11.23 $\pm$ 18.21	9.14 $\pm$ 13.26	7.99 $\pm$ 10.89	8.98 $\pm$ 13.18
	urine	1.26 $\pm$ 1.72	0.57 $\pm$ 0.54	0.42 $\pm$ 0.25	0.61 $\pm$ 0.76	1.14 $\pm$ 1.40	0.67 $\pm$ 0.83	0.29 $\pm$ 0.15
【好中球活性化マーカー】								
calprotectin (ng/mL)	plasma	15.72 $\pm$ 12.88	11.07 $\pm$ 6.66	11.59 $\pm$ 9.35	9.91 $\pm$ 6.28	12.70 $\pm$ 6.83	27.59 $\pm$ 34.98	13.05 $\pm$ 8.14
	urine	0.47 $\pm$ 0.64	0.44 $\pm$ 0.48	0.28 $\pm$ 0.14	0.32 $\pm$ 0.21	0.46 $\pm$ 0.46	0.38 $\pm$ 0.42	0.19 $\pm$ 0.08
MPO (ng/mL)	plasma	12.70 $\pm$ 7.77	14.28 $\pm$ 8.83	17.50 $\pm$ 12.43	14.45 $\pm$ 10.54	15.61 $\pm$ 9.57	13.85 $\pm$ 8.92	12.30 $\pm$ 6.79
	urine	0.15 $\pm$ 0.28	0.07 $\pm$ 0.06	0.06 $\pm$ 0.04	0.08 $\pm$ 0.08	0.13 $\pm$ 0.19	0.12 $\pm$ 0.17	0.06 $\pm$ 0.06
【好中球遊走因子】								
C5a (ng/mL)	plasma	1.00 $\pm$ 0.45	1.39 $\pm$ 0.59	1.31 $\pm$ 0.54	1.15 $\pm$ 0.60	1.07 $\pm$ 0.54	1.02 $\pm$ 0.39	1.11 $\pm$ 0.44
	urine	0.16 $\pm$ 0.34	0.91 $\pm$ 2.58	0.06 $\pm$ 0.03	0.06 $\pm$ 0.03	0.05 $\pm$ 0.03	0.06 $\pm$ 0.03	0.05 $\pm$ 0.02
Means $\pm$ SD two-way ANOVA. ns			interleukin-1 receptor antagonist : IL-1ra interleukin-4 : IL-4 interleukin-10 : IL-10			interleukin 12p40 : IL-12p40 myeloperoxidase : MPO C5a anaphylatoxin : C5a		

Table 3. 運動負荷に伴う血液、尿中サイトカインの変動 (3)

		Pre	2h	4h	24h	48h	72h	96h
【ケモカイン】								
IL-8 (pg/mL)	plasma	4.50±2.67	4.74±2.19	5.10±1.90	4.37±1.71	4.58±2.26	7.15±7.82	5.10±2.83
	urine	0.93±0.83	0.89±0.40	0.62±0.30	1.05±1.39	0.81±0.61	0.93±0.54	0.77±0.44
MCP-1 (pg/mL)	plasma	95.43±18.96	108.06±38.97	115.02±52.47	120.73±47.47	109.83±45.38	125.46±45.78	112.72±38.51
	urine	114.1±84.7	170.1±104.6	171.0±81.8	162.6±74.7	140.1±86.8	115.2±50.1	113.5±27.1
【コロニー刺激因子】								
G-CSF (pg/mL)	plasma	1.77±0.91	2.38±1.86	2.25±1.91	2.00±1.24	2.64±2.41	2.21±1.96	2.22±1.70
	urine	0.410±0.615	0.224±0.090	0.215±0.124	0.198±0.125	0.438±0.476	0.399±0.566	0.159±0.074
M-CSF (pg/mL)	plasma	42.87±59.49	28.20±16.15	27.55±13.42	25.87±11.97	27.00±11.37	21.23±10.97	23.73±9.37
	urine	489.0±1002.3	167.1±87.5	123.6±49.9	251.0±178.6	173.2±105.6	817.0±1377.8	774.6±826.2
GM-CSF (pg/mL)	plasma	0.27±0.10	0.25±0.09	0.24±0.09	0.33±0.16	0.28±0.09	0.21±0.06	0.26±0.16
	urine	1.75±2.49	0.66±0.44	0.46±0.20	0.98±1.18	0.84±0.56	2.08±3.09	2.52±4.48
【腎傷害マーカー】								
NGAL (ng/mL)	plasma	13.20±5.04	15.30±7.51	15.26±9.27	15.36±10.25	14.79±7.09	18.85±13.23	17.12±11.96
	urine	0.60±1.26	0.46±0.66	0.24±0.15	0.29±0.36	0.47±0.61	0.44±0.50	0.27±0.23
【発痛物質】								
PGE ₂ (pg/mL)	plasma	645.5±117.4	839.5±337.7	962.8±435.9	729.5±359.6	689.7±266.2	713.8±170.7	655.5±165.4
	urine	1403.7±1381.9	1120.0±784.9	1035.8±720.8	1097.0±794.0	1433.5±1342.0	886.3±859.8	633.6±390.2

Means±SD two-way ANOVA. ns interleukin-8 : IL-8 macrophage colony stimulating factor : M-CSF
monocyte chemotactic protein-1 : MCP-1 neutrophil gelatinase-associated lipocalin : NGAL
granulocyte colony stimulating factor : G-CSF prostaglandin E₂ : PGE₂
granulocyte macrophage colony stimulating factor : GM-CSF

Table 4 筋肉痛と筋損傷マーカーピーク値の相関係数行列

	VAS-72	CK-96	Mb-72	GOT-96	GPT-96	LDH-96	ALD-96
VAS-72	1	0.086426	0.72607	0.299922	0.158951	0.129888	0.284295
CK-96	0.086426	1	0.353239	0.638563	0.583866	0.618536	0.902759
Mb-72	0.72607	0.353239	1	0.596681	0.370069	0.395271	0.493155
GOT-96	0.299922	0.638563	0.596681	1	0.951251	0.933804	0.865646
GPT-96	0.158951	0.583866	0.370069	0.951251	1	0.91512	0.826058
LDH-96	0.129888	0.618536	0.395271	0.933804	0.915120	1	0.823368
ALD-96	0.284295	0.902759	0.493155	0.865646	0.826058	0.823368	1