

2020年度 修士論文

高強度運動後の20℃でのクーリングが
直後の無酸素パフォーマンスおよび
リカバリー指標に及ぼす影響

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

5019A055-2

平賀 美晴

研究指導教員：坂本 静男 教授

目次

<u>1. 緒言</u>	1
<u>2. 方法</u>	7
<u>2.1. 対象</u>	7
<u>2.2. 研究デザイン</u>	8
<u>2.3. 実験プロトコル</u>	9
<u>2.3.1. クーリング</u>	10
<u>2.3.2. ウィンゲートテスト</u>	11
<u>2.4. 測定項目</u>	11
<u>2.4.1. 無酸素パフォーマンス</u>	11
<u>2.4.2. 生理指標</u>	11
<u>2.4.3. 生化学分析</u>	13
<u>2.4.4. 主観的運動強度</u>	16
<u>2.5. 統計解析</u>	16
<u>3. 結果</u>	17
<u>3.1. 無酸素パフォーマンス</u>	17
<u>3.2. 主観的運動強度</u>	17
<u>3.3. 生理指標</u>	20
<u>3.3.1. 心拍数</u>	20
<u>3.3.2. 自律神経機能</u>	23
<u>3.4. 生化学分析</u>	26
<u>3.4.1. 血中指標</u>	26
<u>3.4.2. 唾液指標</u>	28
<u>4. 考察</u>	29
<u>5. 結論</u>	35

謝 辞 36

【参 考 文 献】 37

1. 緒言

アスリートはしばしば短期間で複数回の最大パフォーマンス発揮を迫られる。例えば、陸上競技短距離種目選手は、競技会によっては予選と決勝の間がわずか1時間程度となる場合がある。多種目に出場する選手であればさらに短時間での回復が必要となる。また、柔道やレスリングなどの格闘技種目はトーナメント形式で1日に3~4試合実施する。そのため、競技会において高いパフォーマンスを発揮するためには、短時間でのリカバリーを促す効果的なコンディショニング手法の確立が望まれる。

スポーツの現場で行われるコンディショニングにはアクティブリカバリーやストレッチをはじめ様々な手法があるが、最も頻繁に使用されるコンディショニング手法の一つにクーリングがある。クーリングは、やや高めの冷水を使用し広範囲を冷却することで、リカバリーを促進する。同様に冷水を用いたコンディショニング手法にアイシングがあるが、アイシングは、氷または非常に低温の冷水を用いて局所的に患部を冷却し、消炎・鎮痛を目的とする。近年、アイシングによる冷却が血管収縮を引き起こし組織に損傷を与える可能性や、パフォーマンスを低下させる危険性が示唆されている (Anderson et al., 2018)。

一方でクーリングは、静水圧によって静脈還流量の増加を引き起こし、代謝産物の除去を促進する効果をもつ。また、スポーツ現場では前述のような生理学的作用に加え「気持ちいい」といった精神的安寧の効果もあるとされており (Ahokas

et al., 2019)、クーリングは多くのアスリートに用いられている。

リカバリーには、自律神経機能が密接に関わる(Ottone et al., 2014)。自律神経は交感神経と副交感神経によって構成され、緊張状態にあるときは交感神経優位、リラックス状態にあるときは副交感神経優位となる。つまり、副交感神経優位となればリカバリーは促進される。

先行研究では、クーリングによる副交感神経活動の増加が報告されている(Almedia et al., 2016)。クーリングを行うと、寒冷受容体が刺激され末梢血管が収縮する。また、静水圧により静脈還流量が増加し、心臓や中枢の血液量が増加することで(Choo et al., 2018)、圧受容器が刺激される(Buchheit et al., 2009)。これにより血圧が高いと感知されるため、迷走神経が刺激され、副交感神経活動が亢進する。

自律神経機能は心拍の一拍ごとの揺らぎ [心拍変動(heart rate variability : HRV)] から測定され、時間領域解析および周波数解析により評価される(Camm et al., 1996、Pichon et al., 2006)。周波数解析により算出される主な指標には、副交感神経の機能を示す高周波成分(high-frequency : HF)や、交感神経と副交感神経のバランスを示す低周波成分(low-frequency : LF)、LFとHFの比(LF/HF)などがある。副交感神経機能が亢進するとHFが高値となり、交感神経機能が亢進するとLF/HFが高値となる。したがって、HFの上昇およびLF/HFの低下はリカバリーに優位な状態を示唆する。

自律神経機能と同様に、炎症指標や免疫指標も重要なリカ

バリー指標である。高強度運動後には急性炎症や組織損傷により炎症指標が増加する。炎症指標の増加は、発赤、熱感、腫脹、疼痛、機能障害などの急性炎症反応をもたらす(Hirose et al., 2004)、さらなる組織損傷を引き起こす。ただし、急性期における炎症指標の増加反応はリカバリーに対し良好な影響を与えると考えられる一方で、炎症指標の高値が長期的に続くことは二次的損傷を引き起こす原因となりうる。例えば、高強度運動によって生じる運動誘発性筋損傷(exercise-induced muscle damage : EIMD)は、筋力の低下(Nosaka et al., 2001, 2002)や可動域の減少(Dutto et al., 2004, Howell et al., 1985)を引き起こし、遅発性筋肉痛(delayed onset muscle soreness : DOMS)の増大、傷害への発展の可能性や運動意欲の低下を招くと考えられている(Lin et al., 1999)。また、免疫機能については、多くの免疫指標が高強度運動直後に急速な上昇を示すが、その後急速な減少を示す。それによりオープンウィンドウとよばれる一過性の免疫機能低下が生じ(Pedersen, et al., 1994)、上気道感染症のリスクを高め(Nieman, 1994)、コンディション低下の一因となることが知られている。競技会でより高いパフォーマンスを発揮するためには、アスリートは継続的に質、量ともに高いトレーニングを積まなくてはならない。高強度運動後に生じる炎症をより迅速に改善し、免疫機能を維持させるようなコンディショニング手法が望まれる。

炎症指標として知られる炎症性サイトカインの一つにinterleukin-6(IL-6)がある。IL-6はストレスホルモン応答と相

関し、高強度運動(特に持久性運動)後に増加を示すと同時に、抗炎症性サイトカインを誘導し、抗炎症効果に対する主要な伝達物質としての役割を果たす。また、炎症性サイトカインとして持久性運動後に大きく上昇する IL-6 は、遊離脂肪酸 (free fatty acid : FFA)などの脂質可用性を向上させ、持久力発揮に貢献する (Suzuki, 2019、Peake et al., 2008、Lim et al., 2017)。IL-6 と同様に炎症性サイトカインとして知られる tumor necrosis factor- α (TNF- α)は、主にマクロファージから産生され、運動後数時間以内に血中濃度は最高値となる

(Suzuki, 2019)。また、IL-6 の代用指標とも呼ばれる C-reactive protein(CRP)は、主要な急性期反応蛋白の一つであり、組織損傷や炎症に対する免疫反応が起こると肝臓での合成が促進し、血中に現れる。CRP 濃度の最大値は運動の性質や強度によって異なるが、運動後数時間で急速に上昇し、24~48 時間で定常状態に達する (Dousset et al., 2007、Chatzinikolaou et al., 2010、Malm et al., 2000)。筋損傷指標として知られる creatine kinase(CK)は、骨格筋や心筋、平滑筋などの筋肉や脳に多量に存在する酵素であり、筋に損傷があると血中に出現して高値となり、筋細胞内のエネルギー代謝に重要な役割を果たす。

さらに、血中乳酸濃度やアドレナリン・ノルアドレナリン濃度は炎症性サイトカインと密接に関係している(村岡 他、1989)。運動によるストレスホルモンの増加がサイトカインを誘導する可能性が示唆されており (Suzuki et al., 2000)、ストレスホルモンの乱れはコンディショニングと密接に関係して

いると考えられる。

以上のことから、炎症指標および免疫指標については、急性期における増加を阻害せず、かつ炎症指標については長期的に高値となり続けることを、免疫指標については急速な低下を抑制できることができれば、コンディショニングに対し良好な結果として捉えることができるかもしれない。

高強度運動後のクーリングに関する先行研究では、DOMSの抑制や疲労感の軽減、EIMDの低下が生じた (Dupuy et al., 2018)。一方で、レジスタンストレーニング後のクーリングでは、アクティブリカバリーと同等の炎症抑制効果がみられた (Peake et al., 2017)。特に用いる水温のちがいによるクーリングの効果について先行研究を比較すると、4~15℃でのクーリングでは、直後にパフォーマンスの低下がみられ (Anderson et al., 2018、Crowe et al., 2007)、5℃以下や10℃でのクーリングではトレーニング効果を抑制した (Yamane et al., 2006)。一方20℃というやや高めのクーリングではトレーニング効果の抑制は生じず (山根 他, 2018)、10~15℃でのクーリングは、受動および積極的回復に比べ副交感神経指標である root mean square of successive differences (RMSSD) や HF の高値を示し (Bastos et al., 2012)、14~15℃でのクーリングは、IL-6、TNF- α 、コルチゾールの増加を抑制した (Freitas et al., 2019、Erap et al., 2019)。なお免疫機能に対するクーリングの影響はほとんど検討されていないが、14℃でのクーリングは secretory immunoglobulin-A (sIgA) の低下を抑制しなかったという報告がある (Demartini et al., 2013)。これらの先行研

究をまとめると、比較的低温でのクーリングはトレーニング効果や直後のパフォーマンスに悪影響を及ぼすのに対し、比較的温도가高めの冷水を用いたクーリングはトレーニング効果に悪影響を及ぼさず、約 15℃でのクーリングは自律神経指標に好ましい効果を与え、炎症指標増加に対する抑制効果を示すように推測される。

上記の内容から、クーリングは用いる水温によって自律神経指標や炎症指標、免疫指標への影響が異なることが推察される。しかしながら、先行研究の多くは 15℃以下の水温を使用しており、15℃以上の水温によるクーリングの影響は明らかでない。20℃というやや高めの冷水による高強度運動後のクーリングが、直後のパフォーマンスおよび自律神経指標、炎症指標、免疫指標に及ぼす影響は不明である。

本研究の目的

本研究では、やや高めの冷水である 20℃という水温に着目し、高強度運動後の 20℃でのクーリングが無酸素パフォーマンスおよび自律神経指標、炎症指標、免疫指標に及ぼす影響を検討することを目的とした。

2. 方法

2.1. 対象

対象は陸上競技短距離走種目の競技歴 5 年以上の経験者とし、心疾患および喫煙歴のない健康な若年男性 19 名とした。専門種目は 100m, 110m ハードル, 200m, 400m, 400m ハードル, 800m のいずれかであり、競技レベルは 13 名が早稲田大学競走部に所属し全国大会で上位入賞を果たすトップアスリート、6 名は競技歴 8 年以上の鍛錬者であった。なお炎症指標、免疫指標の検討のため肘部採血および唾液採取を実施したのは、対象者 19 名中 9 名のみで、いずれもトップアスリートであった。すべての測定はヘルシンキ宣言に基づき実施され、対象者に対し事前に研究の趣旨および安全性について十分に説明を行い、自由意思のもとで書面による同意を得た。本研究は早稲田大学人を対象とする研究に関する倫理審査委員会による承認(2019-190)を得たうえで実施した。

対象者の身体特性を表 1 に示す。

【表1. 対象者(19名)の身体特性】

年齢(歳)	21.4 ± 0.2
身長(cm)	172.8 ± 0.9
体重(kg)	66.8 ± 1.2
骨格筋(kg)	32.9 ± 0.7
BMI(kg/m ²)	22.3 ± 0.3
体脂肪率(%)	13.6 ± 0.6

Mean ± SE, body mass index : BMI

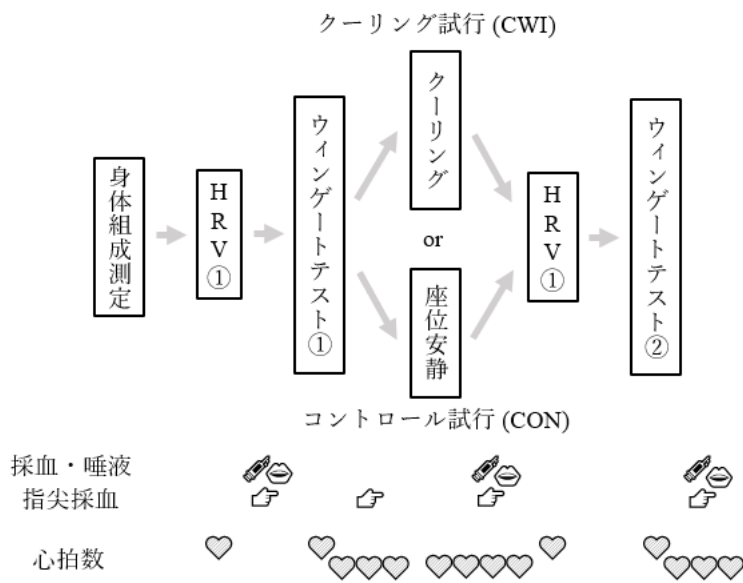
2.2. 研究デザイン

すべての対象者は、2回の運動(ウィングートテスト)間にクーリングを行う試行(Cold Water Immersion : CWI)と、座位安静を行うコントロール試行(CON)を1週間以上の間隔を空けてランダムに実施した。実験前日は激しい運動および飲酒、カフェインの摂取を禁忌とし、前日の夕食は実験開始12時間前までに終わるよう指示した。また、実験当日の朝食はゼリー飲料1個(180kcal, タンパク質0g, 脂質0g, 炭水化物45g)と統一し、実験開始2時間前に摂取するよう指示した。なお

朝食を除いて、前日の夕食から実験終了までの飲食は水のみとし、水の摂取は各自自由とした。すべての実験は午前中に実施し、ウィングートテストは人工気象室(温度 : $21.9 \pm 0.4^{\circ}\text{C}$ 、相対湿度 : $50.4 \pm 1.9\%$)にて行った。

2.3. 実験プロトコル

実験プロトコルを図 1 に示す。対象者は実験室に集合後、身長を測定し、体成分分析装置(InBody720, インボディ・Inbody Co., Ltd 社製)を用いて体重、body mass index (BMI)、体脂肪率、体脂肪量、骨格筋量を測定した。20 分間の安静を経て 1 回目の HRV 測定を行い、ウォームアップ後、1 回目のウィングートテストを行った。回復期 5~20 分に 20°C でのクーリングを 15 分間行う試行をクーリング試行(CWI)、座位安静を行う試行をコントロール試行(CON)とし、その後 2 回目の HRV 測定、ウォーミングアップ、ウィングートテストを行った。1 回目と 2 回目のウィングートテストの間の回復期は 40 分間とした。



【図 1. 実験プロトコル】

2.3.1. クーリング

水温は 20℃ に設定し、120L サイズのバケツを用いてクーリングを行った。対象者はバケツの縁部分に腰掛け、下腿および大腿の一部(大腿骨遠位端から 10 cm 程度の高さ)までを冷却した(図 2)。



【図 2. クーリングの風景】

2.3.2. ウィンゲートテスト

自転車エルゴメーター（パワーマックス VII・コンピウエルネス社製）を用いて、5分間のウォームアップの後、30秒間の最大努力ペダリング（ウィンゲートテスト）を行った（Bar, 1987）。ウォームアップはすべての対象者が 1.0kp の負荷で行い、心拍数がおおよそ 100～120 拍/分になるよう各自適度な負荷のもとペダリングを行った。ウィンゲートテストの負荷は各対象者の体重の 7.5% とした。サドルの高さおよびペダリング開始時のペダルの位置は、各対象者が自由に調節した。ペダリング中はサドルから腰が浮かないように指示し、測定者は声援を送り対象者の最大努力を促した。

2.4. 測定項目

2.4.1. 無酸素パフォーマンス

パワーマックス VII に内蔵されたプログラムにより測定されるピーク回転数、30秒間の平均パワー、対ピーク比を用いて、無酸素パフォーマンス指標である 30秒間の平均パワー/体重（watt/kg）、ピークパワー/体重（watt/kg）、ピーク回転数（rpm）、対ピーク比（%）を算出した。なおピークパワーは平均パワーを対ピーク比で除して算出した。

2.4.2. 生理指標

2.4.2.1. 心拍数

ベッドサイドモニタ（BSM-2400 シリーズ，ライフスコープ I・日本光電工業株式会社社製）を用いて、HRV 測定前の安静

時心拍数、各運動中における最大心拍数、各運動直後 1, 2, 3 分後、回復期、つまり運動後 5, 10, 15, 20 分に心拍数を測定した。

2.4.2.2. 自律神経指標

各運動前に PowerLab4/25(ML845・ADInstruments 社製)を用いて HRV 測定を行った。心電図の測定中、測定者はメトロノームの音に合わせて吸気・呼気の声がけを行い、対象者は 15 回/分のペースで 5 分間呼吸を維持した。5 分間の心電図データは心拍変動解析用のソフトウェア (Chart ver. 5.3・AD Instruments 社製)を用いて解析した。先行研究にならって(早野 1998)時間領域および周波数領域解析を行い、下記の心拍変動指標を求めた。時間領域解析の指標は、RR 間隔の標準偏差 (standard deviation of all normal RR intervals : SDRR)、RR 間隔の変動係数 (coefficient of variation of RR interval : CVRR)、連続した RR 間隔の差の 2 乗の平均値の平方根 (RMSSD)とした。周波数領域解析の指標は、高速フーリエ変換を用い、total power(TP)(≤ 0.5 Hz)、LF 成分 (0.04-0.15 Hz)、HF 成分 (0.15-0.4 Hz)を求めた。さらに、自律神経指標のバランスを示す指標として LF/HF を、交感神経指標として \ln LF (natural logarithm of the low-frequency、LF Power を自然対数変換した値)、副交感神経指標として \ln HF (natural logarithm of the high-frequency、HF Power を自然対数変換した値)を算出し、自律神経機能を評価した。

2.4.3. 生化学分析

すべての対象者は、1 回目の運動前、各運動直後、クーリングまたは座位安静直後の計 4 ポイントで、ランセット (MS-GN02, メディセーフ ファインタッチ・TERUMO 社製) を用いて指尖からの微量指尖採血を行い、血糖値および乳酸値を測定した。血糖値の測定には血糖自己測定器および専用電極 (Free Style Freedom Lite, FS 血糖センサー ライト・NIPRO 社製) を使用した。乳酸値の測定には簡易血中乳酸測定器および専用センサー (LT-1730, ラクテート プロ 2・ARKRAY 社製) を使用した。

また、9 名の対象者 (いずれもトップアスリート) は上記のポイントのうち 1 回目の運動前、クーリングまたは座位安静直後、2 回目の運動後の計 3 ポイントで炎症指標、免疫指標評価のため肘部採血および唾液採取を行った。各試行における 2 回目および 3 回目のポイントでの血中指標は Dill Costill の方法に基づいてヘマトクリットによる補正 (Dill et al., 1974)、唾液指標は唾液分泌量による補正を行った。血中試料からは、IL-6、TNF- α 、CRP、CK、成長ホルモン (growth hormone : GH)、アドレナリン、ノルアドレナリン、ドーパミン、白血球数 (white blood cell counts : WBC) を、唾液試料からはコルチゾール、sIgA、 α アミラーゼを測定した。

2.4.3.1. 血中指標

注射針・シリンジ (20mL) を用いて 15mL/回の肘部採血を行い、全血 (1mL)、血漿 (5mL)、血清 (9mL) ごとに採血管 (ベノジ

ェクトII真空採血管・TERUMO社製)に分注した。

全血試料からは、血液検査装置(pocH®-100i, 多項目自動血球計数装置・sysmex社製)を用いて、ヘモグロビン(HGB)濃度(g/dL)、ヘマトクリット(HCT)値(%), およびWBC濃度を測定した。

血漿および血清試料は、遠心分離機(M-2410, テーブルトップ遠心機・KUBOTA社製)(3000rpm, 10分)にかけた後、血漿1.1mLを血中ストレス指標であるカテコールアミン3分画(アドレナリン、ノルアドレナリン、ドーパミン)測定のために、血清1.5mL(各0.5mL)をストレス指標であるGH、炎症指標であるCK、CRP測定のためにSRL社へ提出し、残りの試料はすべて-18℃にて凍結保管した。

検査キット(HS600C IL-6, Human, Elisa Kit, Quantikine HS, 3rd Generation 96well、HSTA00D, TNF- α , Human, ELISA Kit, Quantikine HS, 4th Generation 96well・RSD社製)を用いて、炎症指標としてIL-6(血漿100 μ L)およびTNF- α (血漿200 μ L)を測定した。

2.4.3.2. 唾液中指標

サリベット(Salivette®・Sarstedt社製)を用いて唾液採取を行い、唾液中免疫指標としてsIgAおよび α -アミラーゼを、唾液中ストレス指標としてコルチゾールを測定した。対象者は、コップに用意してある水を口に含み30秒間のうがいを行い、十分に口をゆすぐ操作を3回繰り返した後、5分間の座位安静を保った。5分経過後、口に溜まった唾液をすべて飲

み込んでから、サリベットを逆さにして容器内の綿を口に含み、1回/秒のペースで1分間綿を噛み続け、最後に口に溜まった唾液をすべて綿に吸い取らせてからサリベットの容器に綿を戻した。ただし、綿の出し入れの際には決して手で綿に触れないように注意した(赤間, 1995)。

採取した唾液は、遠心分離(M-2410, テーブルトップ遠心機・KUBOTA社製)(3000rpm, 10分)により沈殿物を分離した後、 -18°C にて凍結保存した。

sIgAの測定には $25\mu\text{L}$ の唾液を使用した。唾液中に含まれるsIgAをサンドイッチ酵素免疫測定法(ELISA)により比色定量するキット(1-1602 IgA Secretory EIA Kit・SALIMETRICS社製)を用いた。

また、 α -アミラーゼの測定には $8\mu\text{L}$ の唾液を使用した。唾液中には高濃度のアミラーゼが含まれるため、200倍に希釈した。唾液中に含まれる α -アミラーゼ活性を96ウエルプレートフォーマットで比色定量し、高・低濃度のポジティブコントロール(Ready-to-use)が含まれるキット(1-1902, 96-Well Kit Salivary α -Amylase Assay Kit・SALIMETRICS社製)を用いて測定を行った。試料中の α -アミラーゼ活性は405nmにおける吸光度に正比例することから、解析には α -アミラーゼによって発色気質(2-chloro-p-nitrophenol linked with maltotriose)が2-chloro-p-nitrophenol(波長測定: 405nm)に変化する反応を利用した。

コルチゾールの測定には $25\mu\text{L}$ の唾液を使用した。高・低濃度のポジティブコントロールが含まれ、唾液中に含まれる

コルチゾールを酵素免疫測定法(EIA)により定量・測定するキット(1-3002, 96-Well Kit Expanded Range High Sensitivity Salivary Cortisol Enzyme Immunoassay Kit・SALIMETRICS社製)を用いた。

2.4.4. 主観的運動強度、主観的疲労度

対象者は、Borg scale および Visual analogue scale(VAS)を用いて主観的運動強度(rating of perceived exertion : RPE)を評価した。

2.5. 統計解析

全てのデータを平均値±標準誤差で示した。統計解析にはR統計ソフトを使用した。すべての項目について試行間および時間経過の比較には2元配置分散分析を用いて計算し、lnHFについてはt検定を用いて両試行の減少率も比較した。事後検定にはHolm法を用いて、有意水準はいずれも $P < 0.05$ とした。

3. 結果

3.1. 無酸素パフォーマンス

ウィングゲートテストでの無酸素パフォーマンスの結果を表2に示す。ピークパワー/体重、ピーク回転数、対ピーク比には時間における主効果が認められ ($P < 0.01$)、ピークパワー/体重、ピーク回転数では有意な減少、対ピーク比で有意な増加がみられた。

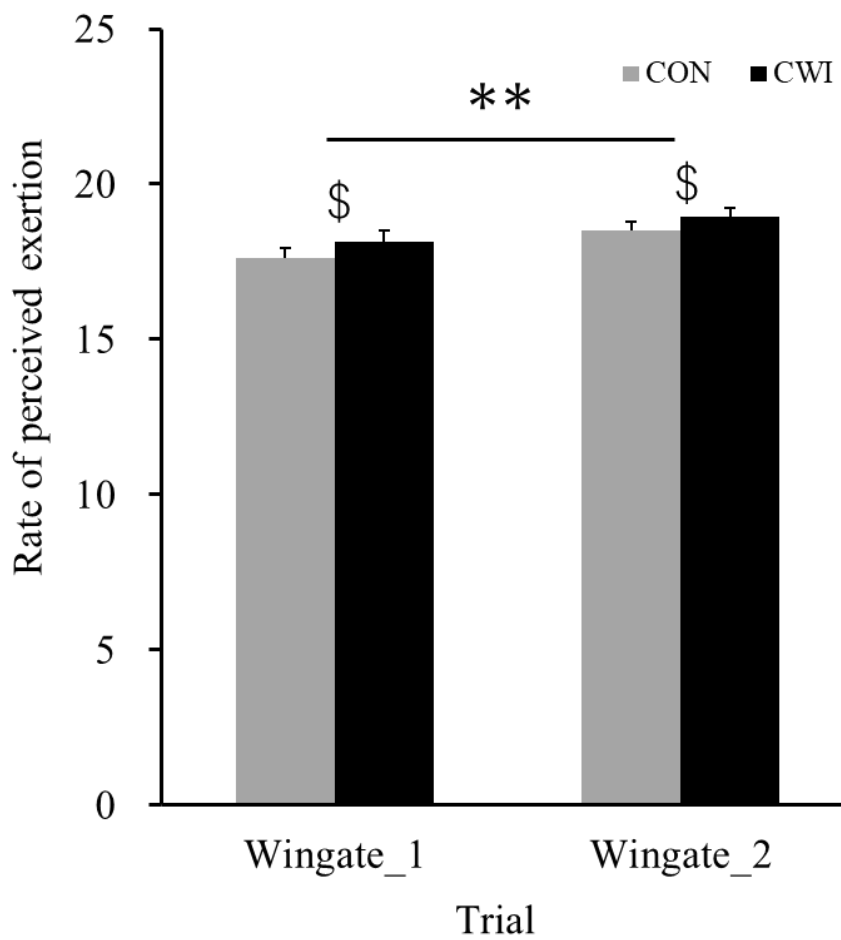
【表2. 無酸素パフォーマンス】

測定項目	Wingate 1		Wingate 2		P-Value		
	CON	CWI	CON	CWI	Ex	Trial	E × T
平均パワー/体重 (watt/kg)	9.2 ± 0.2	9.2 ± 0.2	9.3 ± 0.2	9.3 ± 0.2	N.S	N.S	N.S
ピークパワー/体重 (watt/kg)	12.2 ± 0.2	12.2 ± 0.2	12.0 ± 0.2**	11.9 ± 0.2**	$P < 0.01$	N.S	N.S
ピーク回転数 (rpm)	166.4 ± 3.1	166.7 ± 3.4	162.9 ± 2.6**	161.4 ± 3.2**	$P < 0.01$	N.S	N.S
対ピーク比 (%)	75.1 ± 0.9	75.6 ± 0.8	77.6 ± 0.8**	77.9 ± 0.9**	$P < 0.01$	N.S	N.S

Mean ± SE, **: 時間の主効果 ($P < 0.01$)

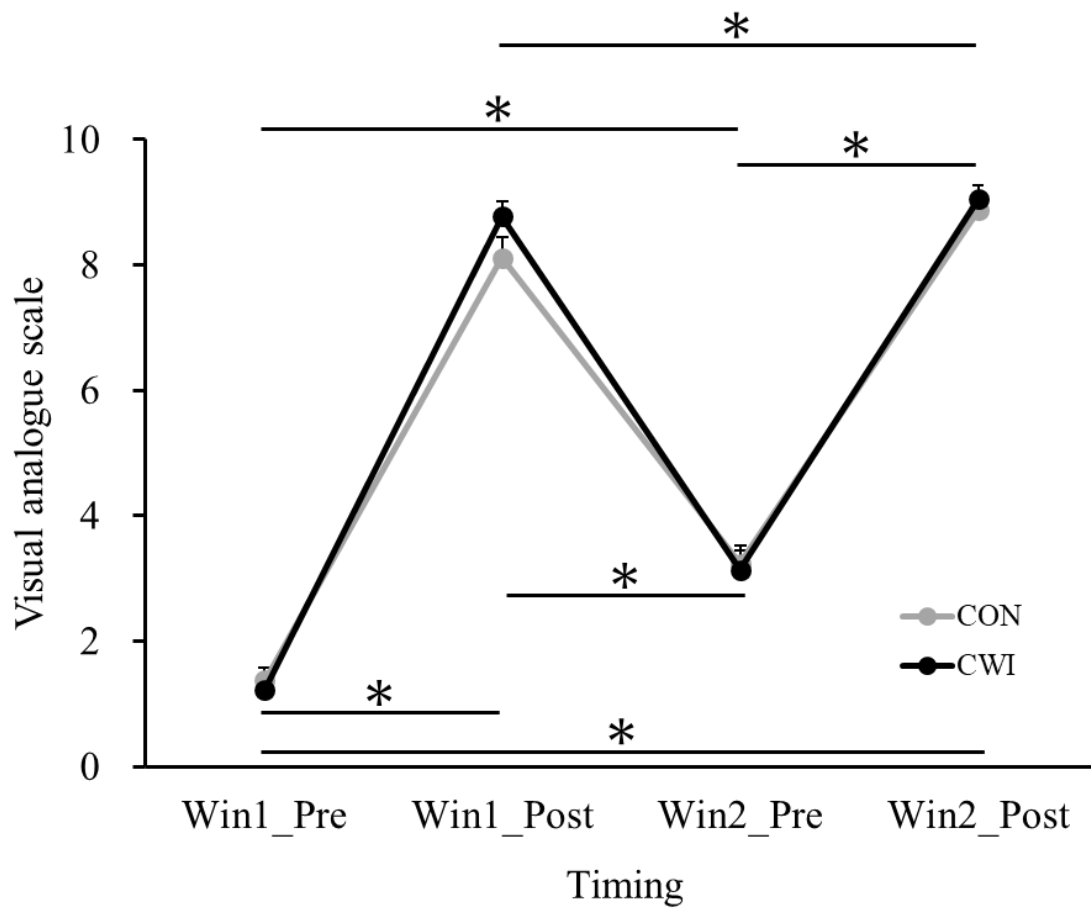
3.2. 主観的運動強度、主観的疲労度

RPE および VAS による主観的運動強度、主観的疲労度の結果を図3および図4に示す。RPE には時間の主効果 ($P < 0.01$) および試行の主効果 ($P < 0.05$) が認められ、いずれの試行においても有意に増加し、またいずれの運動においても CON に比べ CWI で有意に高かった。VAS には時間における主効果が認められ ($P < 0.01$)、運動前に比較して運動後において有意に増加し ($P < 0.05$)、1回目より2回目の運動で有意に高かった ($P < 0.05$)。



【図3. ウィンゲートテストの主観的運動強度】

—— ** 時間の主効果($P < 0.01$)、\$: 試行の主効果($P < 0.05$)



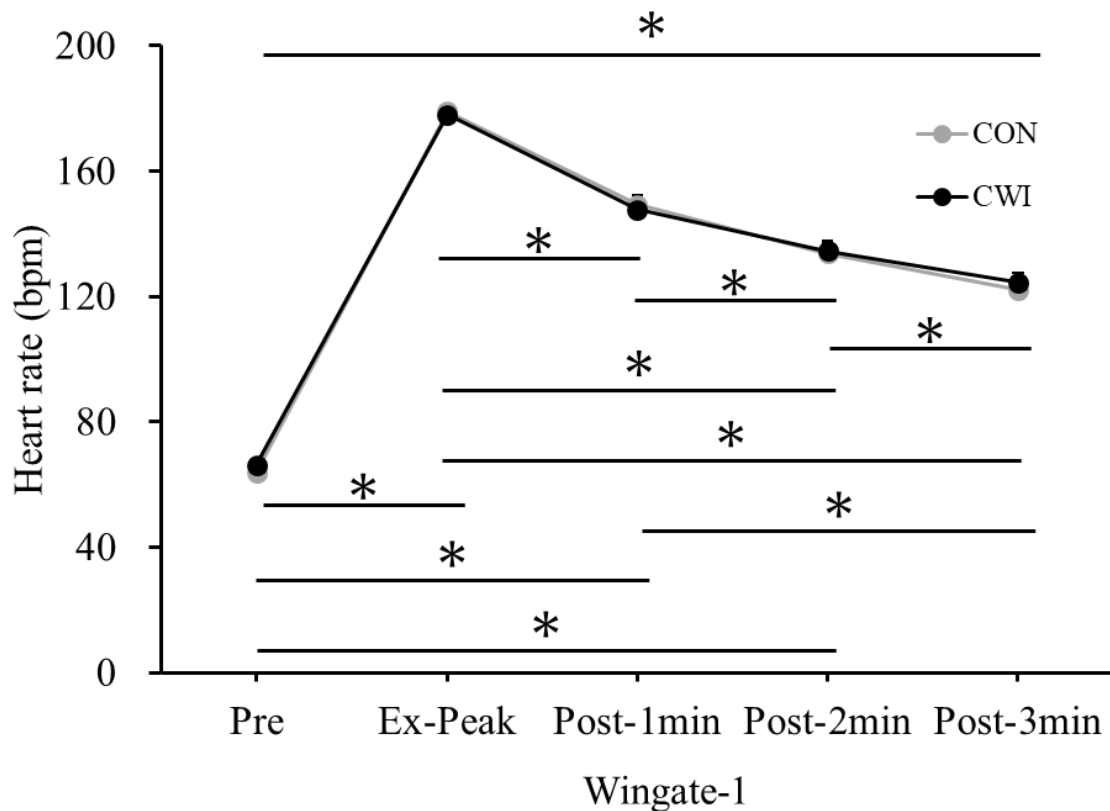
【図4. ウィンゲートテスト前後の主観的疲労度】

—*— 時間の主効果($P < 0.05$)

3.3. 生理指標

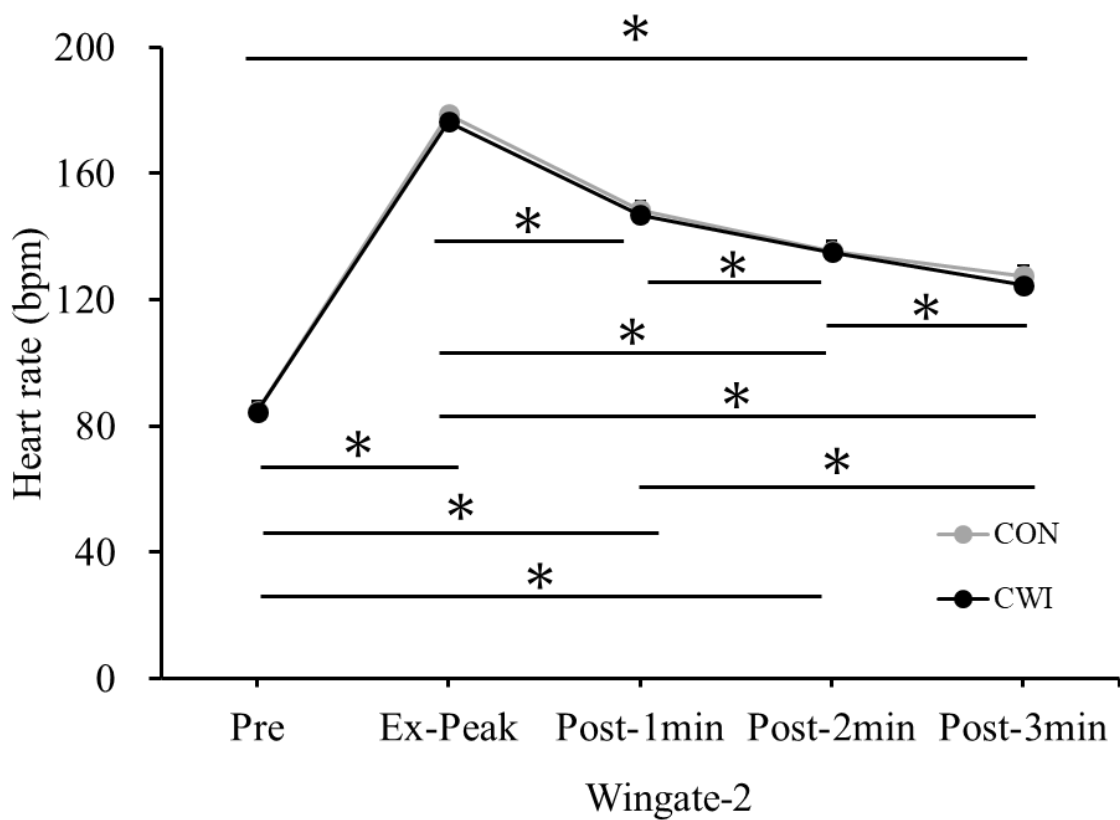
3.3.1. 心拍数

1回目および2回目のウィングゲートテスト直前、直後、1.2.3分後における心拍数の変化を図5、図6に示す。いずれの項目においても時間の主効果が認められ($P < 0.01$)、運動による心拍数の有意な増加と($P < 0.05$)、運動後の時間の経過による心拍数の有意な減少($P < 0.05$)がみられた。



【図5. 1回目のウィングゲートテスト前後の心拍数】

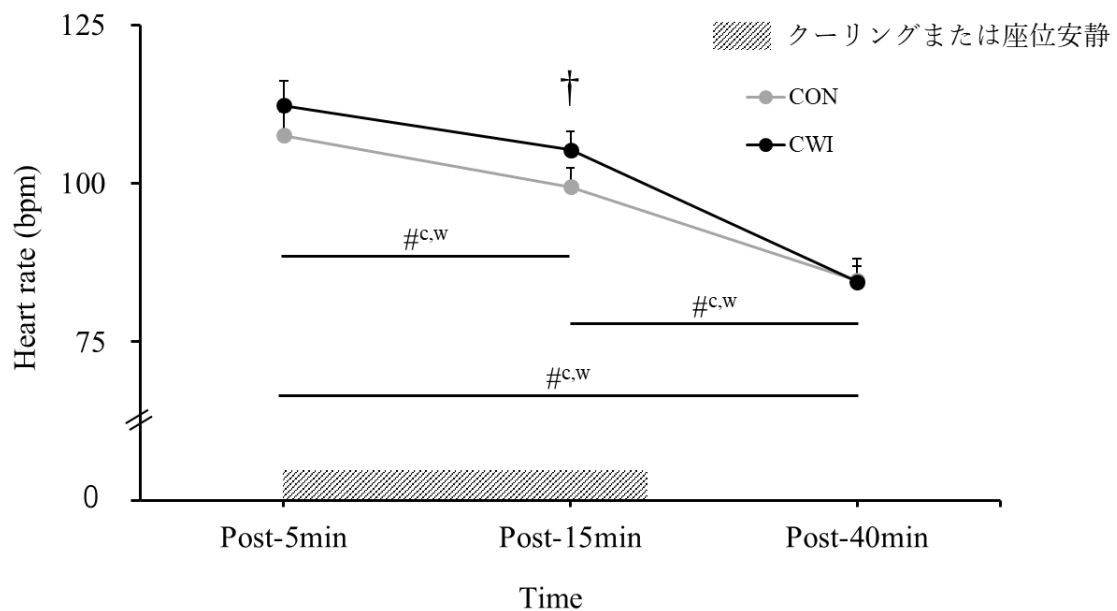
—*— 時間の主効果($P < 0.05$)



【図6. 2回目のウィンゲートテスト前後の心拍数】

—*— 時間の主効果($P < 0.05$)

また、1回目のウィングートテスト後5.15.40分での回復期における心拍数の変化については交互作用 ($P < 0.05$)が認められ、いずれの試行においても心拍数は有意に減少し ($P < 0.01$)、運動後15分ではCONに比べCWIで有意に高かった ($P < 0.05$) (図7)。



【図7. 1回目のウィングートテスト後の回復期における心拍数】

—^{#c.w}— CON,CWI両試行における時間の単純主効果($P < 0.05$)
† 試行の単純主効果($P < 0.05$)

3.3.2. 自律神経機能

心拍変動から算出した自律神経機能の結果を表3および図8、図9に示す。表3の項目については、時間の主効果のみ認められた ($P < 0.01$ 、CVRRのみ $P < 0.05$)。

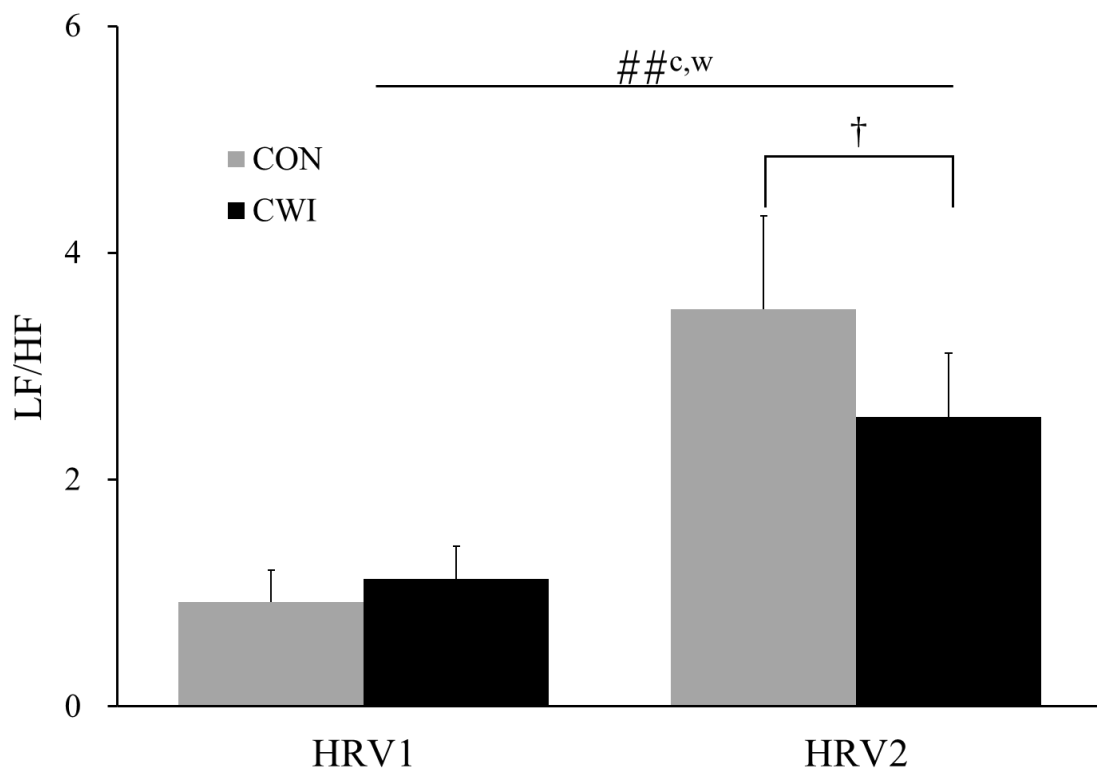
【表3. 自律神経機能】

測定項目	HRV1		HRV2		P-Value		
	CON	CWI	CON	CWI	Time	Trial	Time × Trial
SDRR (ms)	65.5 ± 5.0	63.3 ± 5.3	35.3 ± 3.5**	35.3 ± 2.9**	$P < 0.01$	N.S	N.S
CVRR (%)	1.2 ± 0.5	1.7 ± 0.6	0.6 ± 0.3*	1.1 ± 0.4*	$P < 0.05$	N.S	N.S
RMSSD (ms)	62.0 ± 7.6	53.5 ± 6.6	19.4 ± 4.6**	20.6 ± 3.4**	$P < 0.01$	N.S	N.S
TP (ms²)	4682.9 ± 917.7	4399.6 ± 843.5	1282.5 ± 271.5**	999.5 ± 149.2**	$P < 0.01$	N.S	N.S
LF (ms²)	713.1 ± 105.8	988.5 ± 223.4	254.4 ± 69.2**	214.1 ± 34.5**	$P < 0.01$	N.S	N.S
HF (ms²)	2049.5 ± 487.6	1523.5 ± 412.3	320.7 ± 166.2**	224.8 ± 57.9**	$P < 0.01$	N.S	N.S
lnLF	6.3 ± 0.2	6.4 ± 0.2	4.9 ± 0.3**	5.1 ± 0.2**	$P < 0.01$	N.S	N.S

Mean ± SE, deviation of all normal RR intervals : SDRR, coefficient of variation of RR interval : CVRR, root mean square of successive differences : RMSSD, total power : TP (≤ 0.5 Hz), low-frequency : LF (0.04-0.15 Hz), high-frequency : HF (0.15-0.4 Hz), natural logarithm of the low-frequency : lnLF

* : 時間の主効果 ($P < 0.05$)、** : 時間の主効果 ($P < 0.01$)

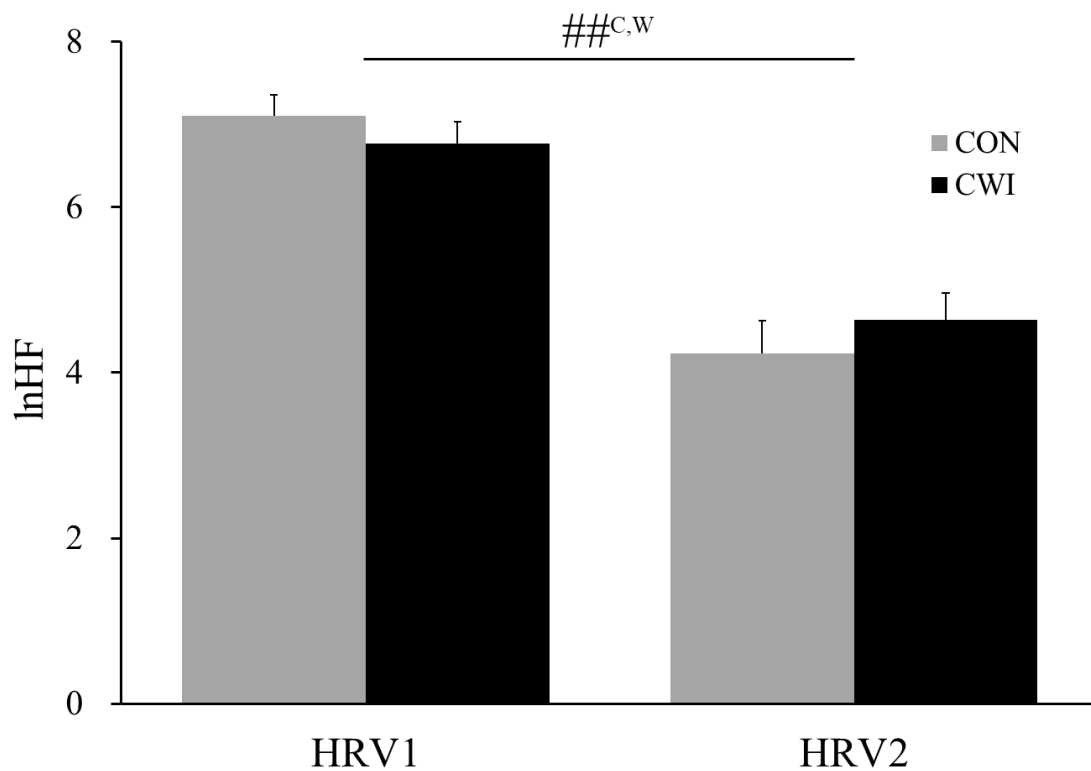
LF/HFについては交互作用が認められ($P < 0.05$)、両試行ともに有意な上昇を示したとともに($P < 0.01$)、2回目のHRV測定においてCONに比べCWIで有意な低値を示した($P < 0.05$)(図8)。



【図8. LF/HF】

†: CON vs CWI ($P < 0.05$), ##: 時間の単純主効果($p < 0.01$)

さらに、lnHF についても交互作用が認められ ($P < 0.05$)、両試行ともに有意な減少を示した ($P < 0.01$) (図 9)。しかし、試行における単純主効果は認められなかったため、各試行における減少率を算出し、t 検定を行った結果、CON(-0.41)に比べ CWI(-0.30)は lnHF の減少率を有意に抑制した ($P < 0.05$)。



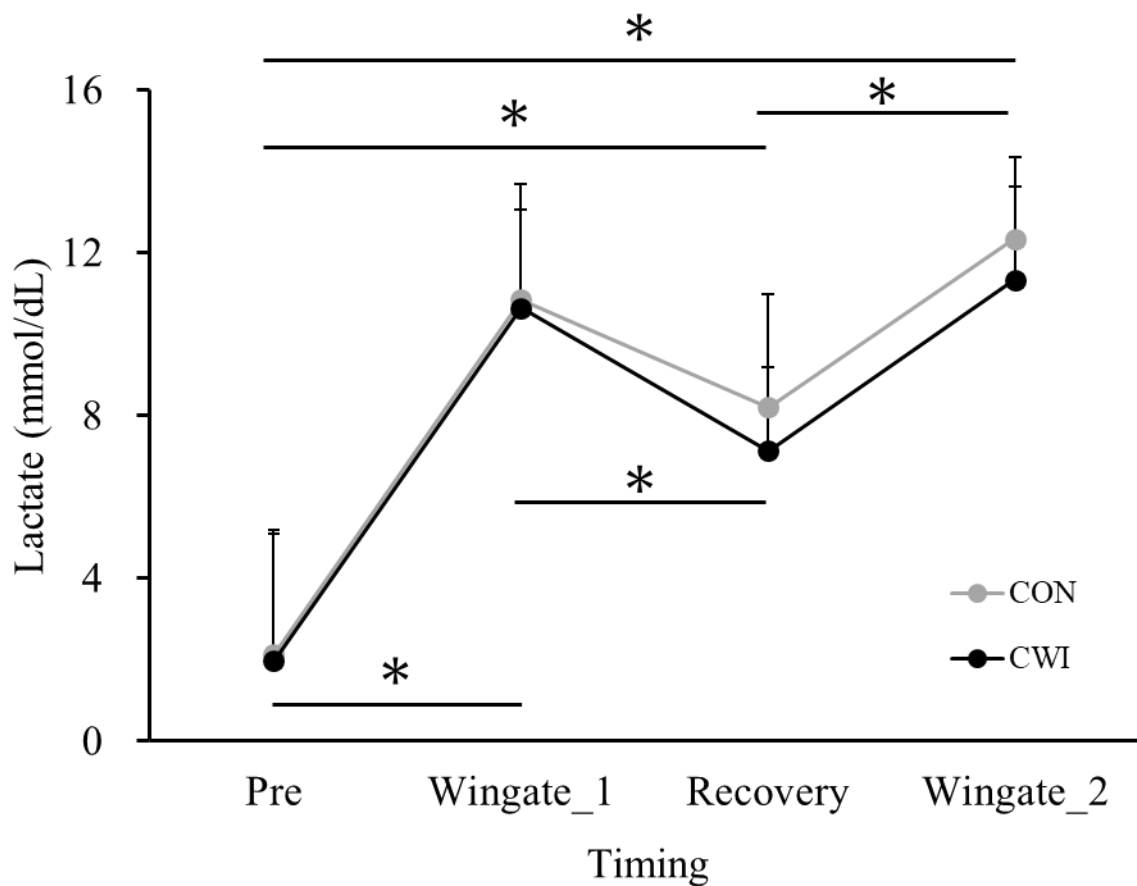
【図9. natural logarithm of the high-frequency : lnHF】

##: 時間の単純主効果($p < 0.01$)

3.4. 生化学分析

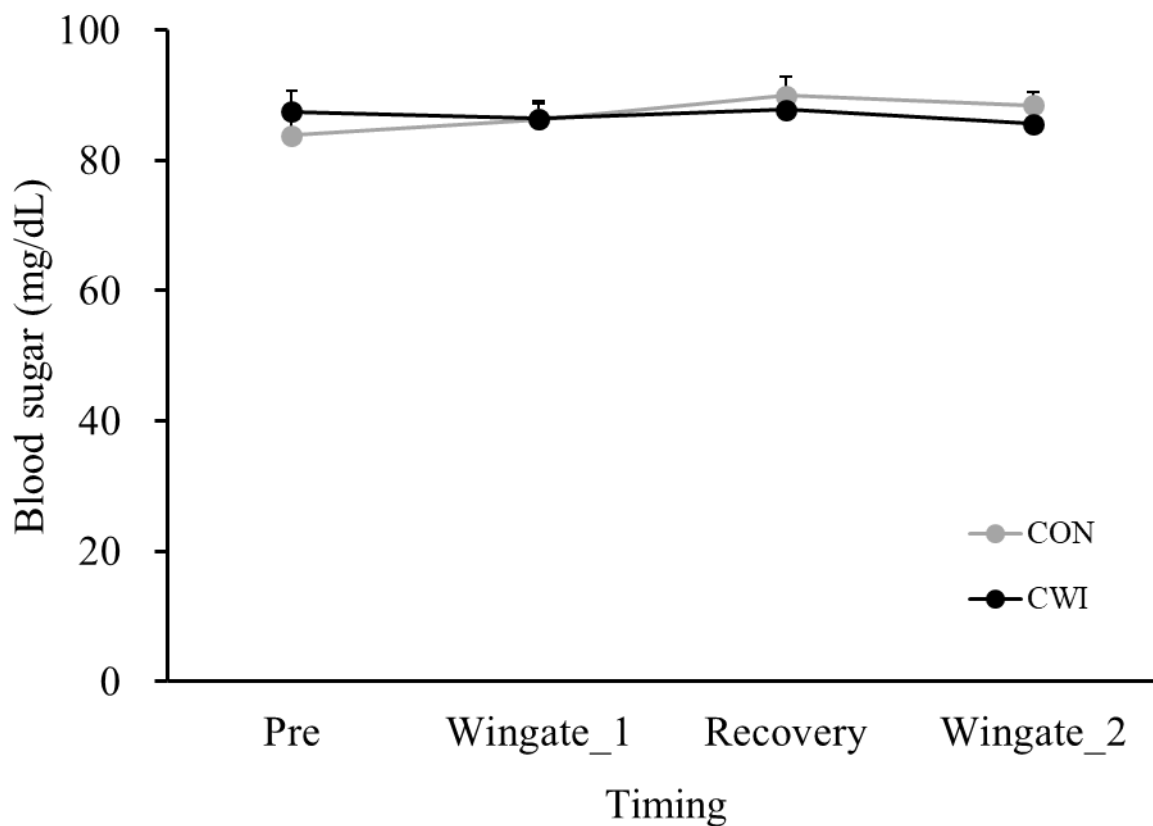
3.4.1. 血中指標

乳酸値および血糖値の結果を図 10、図 11 に示す。乳酸値には時間における主効果が認められ、運動による有意な増加および回復期での有意な低下がみられた ($P < 0.05$)。血糖値については、いずれも有意な差はみられなかった。



【図10. 乳酸値】

—*— 時間の主効果($P < 0.05$)



【図11. 血糖値】

肘部採血による血中免疫指標(WBC)、炎症指標(CK、CRP、IL-6、TNF- α)、ストレス指標(GH、アドレナリン、ノルアドレナリン、ドーパミン)の結果を表4に示す。なお、以下の項目についての対象者は9名であった。

CKには交互作用が認められ($P < 0.01$)、CONでは運動1前から運動2直後で有意に低下し($P < 0.05$)、CWIでは運動1前に比べ介入直後、運動2直後で有意に増加した($P < 0.05$)。

その他の項目については、WBC、GH、アドレナリン、ノル

アドレナリン ($P < 0.01$)、IL-6, TNF- α , ドーパミン ($p < 0.05$)
には時間における主効果のみ認められた。

【表4. 肘部採血による血中指標】

測定項目(n=9)	Pre wingate 1		Post 20min wingate 1		Pre wingate 2		P-Value		
	CON	CWI	CON	CWI	CON	CWI	Time	Trial	Time \times Trial
WBC ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	50.8 \pm 4.0	50.8 \pm 2.4	57.0 \pm 6.1* ¹	81.3 \pm 14.9* ¹	62.5 \pm 7.3* ¹	93.5 \pm 15.3* ¹	$P < 0.01$	N.S	N.S
CK (U/L)	313.7 \pm 77.1	273.3 \pm 101.4	302.5 \pm 78.6	315.6 \pm 107.1# ^{w1}	286.9 \pm 76.7# ^s	323.1 \pm 109.8# ^{w1}	N.S	N.S	$P < 0.01$
CRP (mg/dL)	0.06 \pm 0.01	0.09 \pm 0.04	0.06 \pm 0.01	0.09 \pm 0.04	0.06 \pm 0.01	0.09 \pm 0.04	N.S	N.S	N.S
IL-6 (pg/mL)	1.0 \pm 0.1	1.2 \pm 0.2	0.8 \pm 0.1	1.4 \pm 0.3	1.9 \pm 0.6* ^{1,2}	2.6 \pm 0.6* ^{1,2}	$P < 0.05$	N.S	N.S
TNF- α (pg/mL)	1.1 \pm 0.1	1.1 \pm 0.1	1.1 \pm 0.1	1.7 \pm 0.3	1.1 \pm 0.1* ¹	1.8 \pm 0.4* ¹	$P < 0.05$	N.S	N.S
GH (ng/mL)	1.3 \pm 0.5	0.6 \pm 0.3	7.6 \pm 2.8* ¹	18.1 \pm 8.0* ¹	5.2 \pm 1.7	10.8 \pm 4.2	$P < 0.01$	N.S	N.S
アドレナリン (ng/mL)	0.04 \pm 0.01	0.03 \pm 0.01	0.05 \pm 0.01	0.06 \pm 0.01	0.06 \pm 0.01* ¹	0.09 \pm 0.02* ¹	$P < 0.01$	N.S	N.S
ノルアドレナリン (ng/mL)	0.4 \pm 0.1	0.3 \pm 0.1	0.5 \pm 0.1* ¹	0.6 \pm 0.1* ¹	0.8 \pm 0.1* ^{1,2}	1.0 \pm 0.2* ^{1,2}	$P < 0.01$	N.S	N.S
ドーパミン (ng/mL)	0.01 \pm 0.001	0.01 \pm 0.001	0.02 \pm 0.002	0.02 \pm 0.003	0.02 \pm 0.003* ¹	0.03 \pm 0.01* ¹	$P < 0.05$	N.S	N.S

Mean \pm SE, white blood cell counts : WBC, creatine kinase : CK, c-reactive protein : CRP, interleukin-6 : IL-6, tumor necrosis factor- α : TNF- α , growth hormone : GH

¹ : < Pre wingate 1, 時間の主効果 ($P < 0.05$)、^{1,2} : < Pre wingate 1, < Post 20min wingate 1, 時間の主効果 ($P < 0.05$)

#^s : > Pre wingate 1, 時間の単純主効果 ($P < 0.05$)、#^{w1} : < Pre wingate 1, 時間の単純主効果 ($P < 0.05$)

3.4.2. 唾液指標

最後に、唾液中免疫指標 (sIgA、 α アミラーゼ)、ストレス指標 (コルチゾール) の結果を表 5 に示す。いずれの指標においても有意な差はみられなかった。

【表5. 唾液指標】

測定項目(n=9)	Pre wingate 1		Post 20min wingate 1		Pre wingate 2		P-Value		
	CON	CWI	CON	CWI	CON	CWI	Time	Trial	Time \times Trial
sIgA (ng/min)	225.6 \pm 56.5	192.1 \pm 38.1	374.5 \pm 72.2	236.7 \pm 46.0	237.0 \pm 47.7	310.0 \pm 85.0	N.S	N.S	N.S
α アミラーゼ (U/min)	239.3 \pm 65.4	267.1 \pm 84.4	300.4 \pm 76.1	268.2 \pm 65.0	288.3 \pm 70.0	290.4 \pm 71.8	N.S	N.S	N.S
コルチゾール (ng/min)	4.2 \pm 0.1	5.0 \pm 0.1	8.0 \pm 0.2	7.0 \pm 0.1	4.7 \pm 0.1	5.4 \pm 0.2	N.S	N.S	N.S

Mean \pm SE, secretory immunoglobulin-A : sIgA

4. 考察

本研究では、陸上競技短距離走種目鍛錬者を対象に 20°Cでのクーリングが直後の無酸素パフォーマンスおよび自律神経指標、炎症指標、免疫指標に及ぼす影響を検討した。その結果、クーリングは回復中の心拍数の減少を促進し、LF/HFの上昇および lnHF の減少を抑制したが、無酸素パフォーマンスや炎症、免疫指標には影響を及ぼさなかった。20°Cでのクーリングは、副交感神経活動の亢進を促進する一方で、直後の無酸素パフォーマンスや炎症指標、免疫指標には悪影響を及ぼさない可能性が示唆された。

無酸素パフォーマンスについて、試行間での有意な差がみられなかったことから、本研究での 20°Cでのクーリングは直後のパフォーマンスに影響を及ぼさなかったと考えられる。筋温および深部体温の低下は筋強度および筋力の有意な低下を引き起こすという報告があることから (Bergh et al., 1979、Howard et al., 1994、Maattacola et al., 1993)、比較的低い水温でのクーリングは急速な筋温および深部体温の低下を招くことで直後のパフォーマンスの低下を引き起こす。一方で、本研究で用いた 20°Cというやや高めめの冷水を用いたクーリングは筋温や深部体温の低下を招かず、直後の無酸素パフォーマンスに悪影響を与えなかったのかもしれない。本研究では筋温や深部体温の測定を行うことはできなかったが、今後は、クーリングによるリカバリーへの影響を身体冷却の効果という点からより詳細に検討するため、筋温や深部体温の測定に加え、暑熱環境下など外気温によるクーリングの影響の

違いについても観察する必要がある。

また、クーリングは静水圧によってリカバリーを促すとされているが、本研究では下肢のみの冷却とした。スポーツ現場においてクーリングを実践することを想定すると、胸部までの冷却は困難と考え、本研究においては下肢のみの冷却としたが、今後は、クーリングを行う際の冷却部位の違いにより、リカバリー指標にどのような影響の違いがみられるかを検討する必要がある。

また、先行研究(Ahokas et al., 2019)においてはクーリングによる精神的幸福感への効果が認められたが、本研究においては主観的運動強度のいずれの項目においてもクーリングの影響は認められなかった。先行研究(Ahokas et al., 2019)では精神的幸福感を精神的パフォーマンスという指標として評価しているが、本研究で用いた主観的運動強度および主観的疲労度は、運動の努力感を評価しており、精神的幸福感とは異なる主観的項目と言える。無酸素パフォーマンス指標には試行間に差がなかったことから、身体には同程度の負荷がかかっていると判断でき、本研究で行った 20°Cでのクーリングは主観的運動強度および主観的疲労度に影響しないと示唆された。

血中乳酸濃度やアドレナリン・ノルアドレナリン濃度は 50%VO₂max の運動強度を境に、運動強度に依存して上昇する(村岡 他 1989)。また、乳酸性作業閾値を上回る運動強度では交感神経系や内分泌系の活動が亢進し、急性ストレスへの反応としてアドレナリンやノルアドレナリンなどが血中に分

泌され、血糖値や心拍数の増加を引き起こすことが報告されている(斎藤 他 2005)。本研究において乳酸値について試行間での有意な差がみられなかったことは、やはりいずれの試行でも身体への負荷は同程度であったということを示している。

1回目および2回目の運動直前、直後、1分後、2分後、3分後の心拍数の変化について、試行間での有意な差はなく、運動による有意な増加および運動後の時間経過に伴う有意な低下のみがみられた。一方で、40分間の回復期における心拍数の変化では、運動後15分で試行間に有意な差が認められた。運動後40分においては両試行での心拍数はほとんど同値であり(CON: 84.7 ± 3.4 , CWI: 84.4 ± 2.5)、運動後5分後から40分後にかけての低下率を試行間で比較すると、CWI(-0.24)はCON(-0.21)の1.15倍であった。本研究での20℃でのクーリングは、回復中における心拍数の低下を促進したと考えられる。ただし、本研究でのクーリングは、1回目の運動後5~20分における15分間で実施しており、運動後15分はクーリングまたは座位安静の介入中である。本来は運動後5分、20分、40分にて回復期における心拍数の変化を観察すべきであったが、運動後20分では介入の終了による移動によって心拍数に乱れが生じてしまうことから、安定した心拍数を評価指標として用いるため、運動後5分、15分、40分を回復期における心拍数の変化の観察に使用した。今回の実験においてはベッドサイドモニタを使用したため、後から心拍数の数値を観察することや、時間の経過とともに継続的に心

拍数の変化を記録することはできなかった。ポラールなどの継続的な心拍数を観察できる機器を使用すべきであった。

自律神経機能について、クーリングは座位安静に比べ運動後の LF/HF の上昇を有意に抑制した。LF/HF は交感神経と副交感神経のバランスを示した指標であり、副交感神経が亢進すると lnHF が高値となり、交感神経が亢進すると LF/HF が高値となる。したがって、LF/HF の低下はリカバリーに優位な状態を、LF/HF の増加はストレス過剰状態を示唆する (Camm et al., 1996、Pichon et al., 2006)。また、lnHF について両試行の減少率を t 検定で比較した結果、CON に比べ CWI は有意に lnHF の減少を抑制した。lnHF は副交感神経指標であることから、20°C でのクーリングは副交感神経機能の低下を抑制し、自律神経機能に良好な影響を与えることで、リカバリーを促進する可能性があることが示唆された。

血液および唾液検査指標の点からは、免疫指標として WBC、 α アミラーゼ、sIgA を、炎症指標として CK、CRP、IL-6、TNF- α を、ストレス指標として GH、アドレナリン、ノルアドレナリン、ドーパミン、コルチゾールを評価した。これらの項目のうち CK でのみ交互作用が認められたが ($P < 0.01$)、事後検定では時間の単純主効果のみがみられた。血液指標、唾液指標における各項目の変動からみて、本研究で用いた 20°C でのクーリングは炎症指標、免疫指標、ストレス指標に影響を与えなかった。

ただし炎症指標について、CK や TNF- α でみられるように、CON においては採血の回数を重ねるごとに CK 活性は低下、

TNF- α はほとんど同値を示したのに対し、CWI においてはいずれの項目も増加し続けた。運動後の CWI が炎症指標を増加させるという結果は予想に反するものであったが、単純に炎症指標の増加を抑制できないことがリカバリーに対して悪い意味を持つのではない。運動負荷に応じて炎症指標が上昇することは急性炎症反応として正常の反応である。しかし、長時間炎症指標が高値のままでもとどまれば、さらなる組織損傷を加速させうる。したがって、炎症指標が最大値に達した時点からの長期的な観察の中で、クーリングが炎症指標の変動にどのように影響を及ぼすのかを検討することが、今後コンディショニングに有用なクーリングの検討を行う上で欠かすことができないと考える。

本研究における研究の限界は、クーリングに用いる水温を 20°C のみならず他の水温にも設定すべきであったという点である。先行研究においてさまざまな温度帯でのクーリングの検討が行われており、4~15°C という比較的低い水温でのクーリングでは、直後のパフォーマンスの低下や (Anderson et al., 2018、Crowe et al., 2007)、トレーニング効果の抑制がみられた (Yamane et al., 2006)。一方で 14~15°C でのクーリングは IL-6、TNF- α 、コルチゾールの増加を抑制し (Freitas et al., 2019、Erap et al., 2019)、10~20°C というやや高めの冷水を用いたクーリングでは、トレーニング効果の抑制は生じず (山根他, 2018)、RMSSD や HF の増加を示した (Bastos et al., 2012)。このことから、コントロール試行およびクーリング試行の 2 試行での比較ではなく、一般に用いられる 15°C、今回

注目したやや高い冷水である 20℃など、クーリング試行内にもいくつかの水温を設定し、コントロール試行を合わせ 3 試行での比較実験を行うべきであった。水温による各指標への影響の違いを比較することで、目的に応じてクーリングに用いる適切な水温の選択に寄与し、より明確にクーリングの効果을明らかにすることができるのではないかと推察される。

さらに、本研究における 30 秒のウィングテストは「運動強度」は十分であった反面、急性炎症反応を誘発するのに十分な「身体ストレス」をかけられなかった可能性が示唆される。身体にかかるストレスは運動の種類や運動強度、運動持続時間により決定する。炎症指標のなかには IL-8 のように伸張性運動や 10 分間の持続運動や疲労困憊運動によって上昇を示す指標もあれば (Suzuki, 2019、Suzuki et al., 2002、Suzuki et al., 1999、Kim et al., 2015)、IL-6 のようにマラソンやトライアスロンといった持続持久運動によって血中濃度の上昇を示す指標もある (Ostrowski et al., 1998)。本研究は陸上競技短距離種目を専門とするアスリートを対象に行ったため、運動負荷は 30 秒という非常に短時間の運動として設定されたが、より多角的にクーリングによるコンディショニングへの影響を検討するためには、高強度で 10 分以上の持続運動や、数日間にかけての断続的な運動を実施する必要がある。

また、心拍変動測定を 1 回目や 2 回目の運動直後にも行うべきであったこと、炎症指標や免疫指標の検討のための採血、唾液採取を 1 回目の運動直後および運動後 24 時間にも実施するなど、より長期的な観察を行うべきであったことが課題と

してあげられる。IL-6、TNF- α 、CRPなどの炎症指標は運動後数時間で最大値を迎え、その後定常状態や減少といった変動を示す(Suzuki, 2019、Dousset et al., 2007、Chatzinikolaou et al., 2010、Malm et al., 2000)。本研究においては、2回目の運動直後ですべての実験を終了しており、高強度運動後の炎症指標や免疫指標の変動を観察するのに十分な時間を確保できなかった。以上のことから、今後はより高強度で持続的な運動負荷を用いて、長期的な観察を行うことで、十分な炎症反応を誘発し、クーリングによるコンディショニング指標への影響を多角的に検討したい。

5. 結論

本研究は1日に複数回の高いパフォーマンス発揮を要するアスリートに対し、コンディショニング手法として有効なクーリングの方法を検討することを目指し、20°Cでのクーリングが直後のパフォーマンスおよび自律神経指標、炎症指標、免疫指標に及ぼす影響を検討した。本研究においては十分に身体ストレスをかけられず、2回目の運動直後までという非常に限られた時間での実験となり、炎症指標や免疫指標の変動を測定することができなかったため、今後は実験デザインやプロトコルを改善した検討が必要となる。

本研究における20°Cでのクーリングは、直後の無酸素パフォーマンス、炎症指標および免疫指標には影響を及ぼさず、副交感神経活動の亢進に有効な影響を与えられた

謝辞

はじめに、主査の坂本静男先生ならびに、副査を快諾してくださった鈴木克彦先生、岡田純一先生に厚くお礼申し上げます。2020年度はCOVID-19の影響もあり、思うように実験をできない期間も続きましたが、坂本静男先生、鈴木克彦先生におかれましては急なご依頼が重なってしまうにも関わらず、いつも快く採血のお願いを引き受けてくださり、研究のアドバイスや文献のご紹介までいただき、本当に感謝の思いが絶えません。また、岡田純一先生におかれましては、直接のご挨拶もできないまま副査のお願いをさせていただいたにも関わらず、とても丁寧でお優しいメールをくださり、副査を快諾していただきました。

実験に参加してくれた早稲田大学競走部、早稲田大学陸上競技同好会のみなさまには、大変お世話になり、侵襲性の高い実験内容にもかかわらずいつも笑顔で対応してくれたことに心から感謝いたします。

そして、研究計画から修士論文執筆まで、どんな時もいつもそばで支え続けてくださった坂本研究室の小西真幸先生、金鉦基さん、西牧未央さん、そして田端宏樹さん、言葉では言い切れないほどの感謝の思いでいっぱいです。

血液および唾液指標の解析にあたって、手取り足取りご指導いただきました鈴木克彦研究室の富永さんにも、頭の上がらぬ思いです。本当に、ありがとうございました。

未熟で至らないことばかりの私を6年間支え続けてくださった皆様に心から感謝申し上げます。ありがとうございました。

【参考文献】

Ahokas, E. K., Ihalainen, J. K., Kyröläinen, H., & Mero, A. A. (2019). Effects of water immersion methods on postexercise recovery of physical and mental performance. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, 33(6), 1488-1495.

Almeida, A. C., Machado, A. F., Albuquerque, M. C., Netto, L. M., Vanderlei, F. M., Vanderlei, L. C. M., ... & Pastre, C. M. (2016). The effects of cold water immersion with different dosages (duration and temperature variations) on heart rate variability post-exercise recovery: A randomized controlled trial. *Journal of science and medicine in sport*, 19(8), 676-681.

Anderson, D., Nunn, J., & Tyler, C. J. (2018). Effect of Cold (14° C) vs. Ice (5° C) Water Immersion on Recovery From Intermittent Running Exercise. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, 32(3), 764-771.

Bar-Or, O. (1987). The Wingate anaerobic test an update on methodology, reliability and validity. *Sports medicine*, 4(6), 381-394.

Bastos, F. N., Vanderlei, L. C. M., Nakamura, F. Y., Bertollo, M., Godoy, M. F., Hoshi, R. A., ... & Pastre, C. M. (2012). Effects of cold water immersion and active recovery on post-exercise heart rate variability. *International journal of sports medicine*, 33(11), 873-879.

Bergh, U., & Ekblom, B. (1979). Influence of muscle temperature on maximal muscle strength and power output in human skeletal muscles. *Acta physiologica scandinavica*, 107(1), 33-37.

Buchheit, M., Peiffer, J. J., Abbiss, C. R., & Laursen, P. B. (2009). Effect of cold water immersion on postexercise parasympathetic reactivation. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*.

Camm, A. J., Malik, M., Bigger, J. T., Breithardt, G., Cerutti, S., Cohen, R. J., ... & Lombardi, F. (1996). Heart rate variability. Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use.

Chatzinikolaou, A., Fatouros, I. G., Gourgoulis, V., Avloniti, A., Jamurtas, A. Z., Nikolaidis, M. G., ... & Tofas, T. (2010). Time course of changes in performance and inflammatory responses after acute plyometric exercise. *The Journal of*

Strength & Conditioning Research, 24(5), 1389-1398.

Crowe, M. J., O'Connor, D., & Rudd, D. (2007). Cold water recovery reduces anaerobic performance. *International journal of sports medicine*, 28(12), 994-998.

Dill, D. B., & Costill, D. L. (1974). Calculation of percentage changes in volumes of blood, plasma, and red cells in dehydration. *Journal of applied physiology*, 37(2), 247-248.

Dousset, E., Avela, J., Ishikawa, M., Kallio, J., Kuitunen, S., Kyrolainen, H., ... & Komi, P. V. (2007). Bimodal recovery pattern in human skeletal muscle induced by exhaustive stretch-shortening cycle exercise. *Medicine and science in sports and exercise*, 39(3), 453.

Dupuy, O., Douzi, W., Theurot, D., Bosquet, L., & Dugué, B. (2018). An evidence-based approach for choosing post-exercise recovery techniques to reduce markers of muscle damage, soreness, fatigue and inflammation: a systematic review with meta-analysis. *Frontiers in physiology*, 9, 403.

Hirose, L., Nosaka, K., Newton, M., Laveder, A., Kano, M., Peake, J., & Suzuki, K. (2004). Changes in inflammatory mediators following eccentric exercise of the elbow flexors.

Exerc Immunol Rev, 10(75-90), 20.

Howard Jr, R. L., Kraemer, W. J., Stanley, D. C., Armstrong, L. E., & Maresh, C. M. (1994). The effects of cold immersion on muscle strength. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, 8(3), 129-133.

Kim, H. K., Konishi, M., Takahashi, M., Tabata, H., Endo, N., Numao, S., ... & Sakamoto, S. (2015). Effects of acute endurance exercise performed in the morning and evening on inflammatory cytokine and metabolic hormone responses. *PLoS One*, 10(9), e0137567.

Lim, C. L., & Suzuki, K. (2017). Systemic inflammation mediates the effects of endotoxemia in the mechanisms of heat stroke. *Biology and Medicine*, 9(1), 1.

Lin J-G and Yang SH : Effects of acupuncture on exercise-induced muscle soreness and serum creatine Kinase activity. *Ameican Journal of Chinese Medicine*, 274(3-4), 299-305, 1999.

Malm, C., Nyberg, P., Engström, M., Sjödín, B., Lenkei, R., Ekblom, B., & Lundberg, I. (2000). Immunological changes in human skeletal muscle and blood after eccentric exercise and

multiple biopsies. *The Journal of physiology*, 529(Pt 1), 243.

Mattacola, C. G., & Perrin, D. H. (1993). Effects of cold water application on isokinetic strength of the plantar flexors. *Isokinetics and Exercise science*, 3(3), 152-154.

Nieman, D. C. (1994). Exercise, upper respiratory tract infection, and the immune system. *Medicine and science in sports and exercise*, 26(2), 128-139.

de Oliveira Ottone, V., de Castro Magalhães, F., de Paula, F., Avelar, N. C. P., Aguiar, P. F., da Matta Sampaio, P. F., ... & Nakamura, F. Y. (2014). The effect of different water immersion temperatures on post-exercise parasympathetic reactivation. *PloS one*, 9(12), e113730.

Ostrowski, K., Rohde, T., Zacho, M., Asp, S., & Pedersen, B. K. (1998). Evidence that interleukin-6 is produced in human skeletal muscle during prolonged running. *The Journal of physiology*, 508(3), 949-953.

Peake, J. M., Roberts, L. A., Figueiredo, V. C., Egner, I., Krog, S., Aas, S. N., ... & Raastad, T. (2017). The effects of cold water immersion and active recovery on inflammation and cell stress responses in human skeletal muscle after resistance

exercise. *The Journal of physiology*, 595(3), 695-711.

Peake, J., Peiffer, J. J., Abbiss, C. R., Nosaka, K., Okutsu, M., Laursen, P. B., & Suzuki, K. (2008). Body temperature and its effect on leukocyte mobilization, cytokines and markers of neutrophil activation during and after exercise. *European journal of applied physiology*, 102(4), 391-401.

Pichon, A., Roulaud, M., Antoine-Jonville, S., de Bisschop, C., & Denjean, A. (2006). Spectral analysis of heart rate variability: interchangeability between autoregressive analysis and fast Fourier transform. *Journal of electrocardiology*, 39(1), 31-37.

Suzuki, K. (2019). Characterization of exercise-induced cytokine release, the impacts on the body, the mechanisms and modulations. *Int. J. Sports Exerc. Med*, 5, 122.

Suzuki, K., Nakaji, S., Yamada, M., Totsuka, M., Sato, K., & Sugawara, K. (2002). Systemic inflammatory response to exhaustive exercise. *Cytokine kinetics. Exercise immunology review*, 8, 6.

Suzuki, K., Totsuka, M., Nakaji, S., Yamada, M., Kudoh, S., Liu, Q., ... & Sato, K. (1999). Endurance exercise causes

interaction among stress hormones, cytokines, neutrophil dynamics, and muscle damage. *Journal of applied physiology*, 87(4), 1360-1367.

Suzuki, K., Yamada, M., Kurakake, S., Okamura, N., Yamaya, K., Liu, Q., ... & Sugawara, K. (2000). Circulating cytokines and hormones with immunosuppressive but neutrophil-priming potentials rise after endurance exercise in humans. *European journal of applied physiology*, 81(4), 281-287.

Yamane, M., Teruya, H., Nakano, M., Ogai, R., Ohnishi, N., & Kosaka, M. (2006). Post-exercise leg and forearm flexor muscle cooling in humans attenuates endurance and resistance training effects on muscle performance and on circulatory adaptation. *European journal of applied physiology*, 96(5), 572-580.

赤間 高雄 . (1995). スポーツ活動が口腔内局所免疫能に与える影響 -唾液採取法の検討 . 平成 7 年度日本体育協会スポーツ医 科学研究報告 . No. IX スポーツ活動が免疫に与える影響に 関す , 7-17.

齋藤 剛 , & 征矢 英昭 . (2005). 運動とストレスホルモン (特集 ストレスと運動適応) . *体育の科学* , 55(5), 353-358.

早野順一郎 . (1998). 循環系指標のスペクトル解析 . 自律神経 = *The Autonomic nervous system*, 35(2), 110-117.

村岡功 , 富田寿人 , 玉木啓一 , 中村好男 , 横関利子 , & 吉野貴順 . (1989). 37. 漸増運動中の血中乳酸濃度とアドレナリンおよびノルアドレナリン濃度との関係 : 生物科学 I (呼吸・循環 , 代謝など) . 体力科学 , 38(6), 287.

山根基 , 加藤尊 , & 大西範和 . (2018). 習慣的に行う運動後アイシングの有効な冷却温度帯に関する研究 . デサントスポーツ科学 , 39, 94-102.