

原著

大学女子サッカー選手の練習試合における脱水が好中球機能に及ぼす影響

福井真司^{1,2)} 梅田孝³⁾ 沢田かほり¹⁾ 高橋一平¹⁾
浜野学^{1,4)} 三宅良輔⁵⁾ 小山田和行^{1,6)} 椿原徹也⁷⁾
田中充洋⁸⁾ 須田芳正⁹⁾ 中路重之¹⁾

抄録 サッカーの試合における脱水状況が免疫機能に及ぼす影響について調査・検討した。対象は大学女子サッカー選手15名である。調査は90分間の試合前後に実施した。測定項目は身体組成、筋逸脱酵素、白血球数、好中球機能(活性酸素種産生能、貪食能)であった。全対象で試合後の有意な体重減少がみられ、体水分の減少が認められた。これより、試合前後の総蛋白濃度変化により2群に分類し(軽度脱水群と高度脱水群)、各測定値を比較した。筋逸脱酵素値は両群ともに試合後有意に上昇していたが、変化率は両群で差がなかった。白血球数は試合後有意に上昇し、その変化率は高度脱水群の方が大きかった。好中球機能は、軽度脱水群では活性酸素種産生能が上昇し、高度脱水群では活性酸素種産生能および貪食能が低下していた。同じ強度の運動をしていても、脱水による血液中の水分喪失が大きい者ほど、好中球機能の低下が引き起こされる可能性が示唆された。

弘前医学 65:182-189, 2014

キーワード: 女子サッカー選手; 脱水; 免疫機能; 好中球; 活性酸素種。

ORIGINAL ARTICLE

EFFECTS OF DEHYDRATION ON NEUTROPHIL FUNCTION AFTER THE MATCH IN FEMALE UNIVERSITY SOCCER PLAYERS

Shinji Fukui^{1,2)}, Takashi Umeda³⁾, Kaori Sawada¹⁾, Ippei Takahashi¹⁾,
Manabu Hamano^{1,4)}, Ryosuke Miyake⁵⁾, Kazuyuki Oyamada^{1,6)}, Tetsuya Tsubakihara⁷⁾,
Mitsuhiro Tanaka⁸⁾, Yoshimasa Suda⁹⁾, Shigeyuki Nakaji¹⁾

Abstract We investigated the effects of dehydration after a soccer match on immune function in 15 female university soccer players. Investigations were performed before and after a 90-minute soccer match. Body composition, serum myogenic enzymes, leukocyte counts and neutrophil functions (reactive oxygen species [ROS] production capability and phagocytic activity [PA]) were measured. All subjects showed significant body weight loss after the match due to loss of body water. Therefore, subjects were divided into two groups (the mild dehydration [MD] and severe dehydration [SD] groups) according to the changes in total protein concentration and the results were compared. Serum myogenic enzymes were found to increase significantly after the match in both groups, but the change ratios were not significantly different between groups. Leukocyte counts were found to increase significantly after the match in both groups, and the changes ratio in the SD group was significantly greater compared to the MD group. ROS production tended to increase in the MD group but decrease in the SD group, and PA significantly decreased in the SD group. These results suggested that immunosuppression is more likely to occur for those whose degree of dehydration is higher after physical exercise.

Hirosaki Med. J. 65:182-189, 2014

Key words: female soccer player; dehydration; immune function; neutrophil; reactive oxygen species.

¹⁾ 弘前大学大学院医学研究科社会医学講座
²⁾ 尚絅学院大学現代社会学科
³⁾ 名城大学薬学部
⁴⁾ 芝浦工業大学工学部共通保健体育
⁵⁾ 日本体育大学体育学部体育学科運動方法(体操)
⁶⁾ 鹿屋体育大学
⁷⁾ 東京都市大学知識工学部
⁸⁾ 明治大学経営学部
⁹⁾ 慶応義塾大学体育研究所
別刷請求先: 沢田かほり
平成25年12月24日受付
平成25年12月26日受理

¹⁾ Department of Social Medicine, Hirosaki University Graduate School of Medicine
²⁾ Department for the Study of Contemporary Society, Shokei Gakuin University
³⁾ Faculty of Pharmacy, Meijo University
⁴⁾ Shibaura Institute of Technology
⁵⁾ Department of Physical Education, Nippon Sport Science University
⁶⁾ National Institute of Fitness and Sports in KANOYA
⁷⁾ Faculty of Knowledge Engineering, Tokyo City University
⁸⁾ School of Business Administration, Meiji University
⁹⁾ Keio University Institute of Physical Education
Correspondence: K. Sawada
Received for publication, December 24, 2013
Accepted for publication, December 26, 2013

緒 言

健康の保持を目的とした適度な運動は、生活習慣病を中心とする様々な疾患の予防・改善や、種々の感染に対して生体の防御反応を高めることは多くの研究によって明らかにされている¹⁻⁶⁾。一方、多くの競技スポーツ選手は、目標とする大会での勝利や自己記録の更新に向けて、日々高強度、長時間、高頻度のトレーニングを実施している。また、彼らによって実施される一過性の高強度トレーニングが、生理学的機能の発達や技術の向上をもたらす反面、脱水や電解質の消失、腎機能の低下、エネルギー代謝の亢進による糖質・脂質の消費、蛋白質の異化、筋組織の損傷など、身体的・精神的疲労の発現や身体諸機能の低下をもたらすことが報告されている⁷⁻¹¹⁾。さらに、これらの疲労や機能低下をその都度適切に回復させず、蓄積させていくと、オーバートレーニング症候群やオーバーユース症候群等の慢性スポーツ障害が誘発されることが指摘されている¹²⁻¹⁴⁾。

運動が身体に及ぼす影響の一つに脱水があげられる。運動と脱水との関連を調査した先行研究は、運動実施に伴う体温の上昇が発汗を亢進させ、体水分を喪失させることを報告している¹⁵⁾。また、これが電解質の喪失や循環血流量の低下、腎機能の低下、心血管系機能の低下、体温調節機能の低下、中枢神経障害等をもたらすことが明らかにされている。さらに、脱水によるこれらの身体的影響がスポーツ活動におけるパフォーマンスの低下を引き起こすことも明らかとなっている¹⁶⁾。

また近年、運動が身体に及ぼす影響として、高強度な運動により引き起こされる筋損傷が免疫機能に影響を及ぼす可能性が指摘されている。すなわち、高強度で運動が負荷された場合、体内では筋組織の変性や損傷が生じ、これに付随して炎症反応が活性化することが報告されている¹⁷⁾。一方、炎症反応の一翼を担う好中球は、高強度の運動実施時に炎症性サイトカイン等の働きを介して活性化し貪食能を発揮する^{17,18)}。また、好中球は抗炎症反応だけでなく、運動そのものをストレスとし、運動を負荷された場合にストレスホルモンの働きを介して活性化する可能性があることも示唆されている¹⁹⁾。我々の研究グループは、アス

リートが実施した一過性のトレーニングによる好中球機能への影響を観察し、好中球機能の一部である貪食能(phagocytic activity: PA)が低下し免疫抑制が起こる可能性を報告している^{20,21)}。

サッカー競技は前・後半各45分、計90分間の激しく、スピーディーなスポーツである。試合中はダッシュ、ターン、ジャンプ、ボディークタクトのような無酸素的な運動と、ランニング、ジョギングなどの有酸素的な運動で構成されており、プロの女子サッカー選手がピッチを移動する距離は1試合平均約10,000mにも達することが報告されている²²⁾。また、このような競技特性から、サッカー選手にはオールラウンドな身体能力が求められると同時に、その活動による身体的負担は大きなものであるといえる。

関東大学女子サッカー連盟に所属するチームは、8月下旬～10月下旬に実施されるリーグ戦に向けて、毎年7月から8月の過酷な暑熱環境下で試合期前の強化トレーニングを行っている。一方、暑熱環境下での長時間、高強度のトレーニングの繰り返しは、選手に過度の脱水、身体諸機能の低下をもたらし、身体的および精神的疲労を発現・蓄積させることが明らかにされている²³⁾。加えて、野球や陸上競技のように水分摂取の頻度が多い競技に比べて、サッカーは水分摂取のタイミングが限られており、脱水状態に陥る危険性が高いことが指摘されている²⁴⁾。

このことから、大学女子サッカー選手にとって、運動実施による、脱水及び免疫抑制の発現、発症リスクは高く、この両者が彼らのコンディショニング管理を適切に実施していく為の重要な要因となる可能性が考えられる。しかし、この両者を同時に調査し、直接的な関連を検討した先行研究はみられない。そこで本研究は、大学女子サッカー選手を対象に、試合による脱水状況が免疫機能に及ぼす影響を血液生化学検査値及び好中球貪食能から検討した。

方 法

1. 対象と調査内容

本対象者は関東大学女子サッカー連盟1部リーグに所属するチームの15名であった。ま

た, 対象者には, 平成23年度全日本学生選抜選手, 西関東学生選抜選手が含まれている. 本調査は2010年8月4日に実施した. 調査日の環境温は気温35.0~45.5°C, 湿度48~64%であった. 一方, 全対象者で試合後の有意な体重の減少がみられ, 体水分の減少が認められた(表1:対象者の特徴). また, これに加え本研究では全対象者の試合前後の血清総蛋白量を用いそれぞれの血液濃縮率((試合前総蛋白)÷(試合後総蛋白))を算出した²⁵⁾. その結果, その値の幅は0.871~1.000であり, 中央値0.939をもって軽度脱水群および高度脱水群の2群に区分し, 以下の測定項目に関する解析を行った.

対象者の身長, 体重, 体脂肪率はそれぞれ軽度脱水群 160.7 ± 4.6 cm, 56.1 ± 4.3 kg, $22.5 \pm 4.8\%$, 高度脱水群 163.2 ± 3.3 cm, 56.3 ± 3.6 kg, $20.5 \pm 3.9\%$, であった(表1:対象者の特徴). 調査当日の身体活動の内容は, ウォーミングアップ20分, 試合90分, クーリングダウン10分の合計2時間であった. また, ウォーミングアップ前(試合前)とクーリングダウン後(試合後)に身体組成と血液生化学調査, 好中球関連機能の測定をした.

なお, 本調査は弘前大学医学部倫理委員会の承認を受けた上で, 事前に全対象者に調査の目的と内容を説明し, 調査への参加, 協力の同意を得て実施した.

2. 身体組成値

身体組成値は身長を計測した後, (株)タニタ社製・マルチ周波数体組成計(MC-190, 東京)を用い, 体重, 体脂肪率, 体脂肪量, 除脂肪体重を測定した.

3. 血液生化学検査値の測定方法

15 ml の採血は試合前と試合後に実施した. また, 採取した末梢血のうち5 ml はそのまま血球成分の分析に用い, 残り10 ml は3000回/秒, 10分間遠心分離し血清を分離, 抽出した後, 血清成分の分析に用いた.

血球成分は免疫関連項目として白血球数, 好中球数を測定した. また, 血清成分の測定項目は筋の変性・損傷状況を把握する為の筋逸脱酵素である aspartate aminotransferase (AST), lactate dehydrogenase (LDH), creatine kinase (CK)を

測定した.

各検査項目の測定方法として, 血球成分はシスメックス社の自動血球測定装置(SysmeXE-2100 and SE-9000, Kobe Japan)を用い測定した. また, 筋逸脱酵素の測定方法はJSCC標準化対応法であった. また, 試合後のこれらの値は, 試合前後の体重の変化から脱水による影響を受けていたことが示唆されたため, 血液濃縮係数(試合前血清総蛋白濃度を試合後のそれで除した値)を乗じて血液濃縮補正を行った. なお, 本研究における各血液生化学検査の全ては, 三菱化学メディエンス(株)に委託し測定した.

4. 好中球 ROS 産生能及び PA の測定方法

好中球 ROS 産生能と PA を FACScan (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA) を用いて two-color 法により測定した. ROS 産生能は蛍光指示剤 Hydroethidine (HE; $44.4 \mu\text{mol/L}$, Polyscience Inc., Warrington, PA, USA) を用いて, PA は蛍光色素 fluorescein isothiocyanate (FITC; Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) で標識したオプソニン化ザイモザン(FITC-OZ)を用いて測定した. 具体的には, ヘパリンにて凝固抑制した全血100 μl に HE 22 μl を加えた(最終濃度 8 μM) 後 37°C で 5 分間インキュベートを行った. PA 測定用のサンプルにはさらに FITC-OZ 25 μl を加え(最終濃度 5 mg/ml), 37°C で 35 分間インキュベートした. ROS 産生能に関しては FITC-OZ を添加していない HE 標識全血100 μl をコントロールとした(異物投与前 ROS 産生能). インキュベート終了後, 各サンプルは溶血固定試薬 Lyse and Fix (IMMUNOTECH, Marseille, France) により赤血球を溶血し固定した. アジ化ナトリウム加 PBS にて 2 回遠心洗浄した後, FACScan にて蛍光強度を測定した. PA に関しては測定する直前に Fluorescence Quenching Method に従ってトリパンブルー 30 μl (0.25 mg/ml, pH4.5) を加えることにより, 表面に付着しているだけで好中球にとりこまれていない FITC-OZ を除外し測定した. 最終的に FACS scan により上記 2 種類のサンプルの好中球 1 個あたりの蛍光強度を検出した. さらに, ROS 産生と PA の発現量は活性化された好中球の平均蛍光強度 (fluorescence

表 1 対象者の特徴

	軽度脱水群 (n=7)	高度脱水群 (n=8)
身長(cm)	160.7 ± 4.6	163.2 ± 3.3
体重(kg)		
試合前	56.1 ± 4.3	56.3 ± 3.6
試合後	55.2 ± 4.2 **	54.9 ± 3.5 **
変化率	-1.6 ± 0.6	-2.5 ± 1.1
体脂肪率(%)	22.5 ± 4.8	20.5 ± 3.9
除脂肪量(kg)	43.4 ± 2.9	44.7 ± 1.4
平均値 ± 標準偏差.		

** : p<0.01 試合前後の比較 : 対応のある t 検定.

intensity: FI) と蛍光陽性細胞率(%) を用いて評価し, これを乗じて総蛍光強度(cumulative fluorescence intensity: CFI) を算出した. なお, HE のみで標識したサンプルは異物刺激を受けていない好中球機能の状態(異物投与前 ROS 産生能)を示し, HE と FITC で標識したサンプルは異物刺激時の好中球機能(異物投与时 ROS 産生能, 貪食能)を示す.

5. 統計処理

結果は全て平均値 ± 標準偏差にて示した. また, 群内における各測定項目の試合前後の平均値の違いは対応のある t 検定を用い, 2 群間の各測定項目の試合前後の変化率の違いは対応のない t 検定を用い統計学的に検討した. なお, いずれの検定も危険率は 5% 未満をもって有意とした.

結 果

表 1 に試合前後の身体組成値の変化を示した. 両群とも試合前に比べ試合後, 有意に体重が減少していた(p<0.01).

表 2 に試合前後の筋逸脱酵素値の変化を示した. AST, CK, LDH において両群とも試合後, 有意な上昇が観察された(軽度脱水群 CK : p<0.05, それ以外全て : p<0.01).

表 3 に試合前後の白血球数, 好中球数の変化を示した. 白血球数, 好中球数において両群とも試合後, 有意な上昇がみられた(軽度脱水群 白血

球数, 好中球数 : p<0.05, 高度脱水群 白血球数, 好中球数 : p<0.01). また白血球数の変化率は高度脱水群の方が有意に大きかった(p<0.05).

表 4 に試合前後の好中球機能の変化を示した. 異物投与前 ROS 産生能の試合前後の変化は, 軽度脱水群と高度脱水群とで差がなかった. 一方, 異物投与时 ROS 産生能の試合前後の変化は, 軽度脱水群では上昇傾向, 高度脱水群では低下傾向がみられた(変化率の差 : p=0.06). さらに, 貪食能は高度脱水群で試合後に有意に低下しており(p<0.01), その低下率は高度脱水群の方が有意に大きかった(p<0.05).

考 察

本研究は大学女子サッカー選手を対象に, 脱水の程度が練習試合に伴う好中球機能の変化に及ぼす影響について調査・検討した.

運動の実施に伴う体温の上昇が, 発汗を亢進し, 体水分の喪失をもたらすことはすでに述べた¹⁵⁾. 本結果においても軽度脱水群, 高度脱水群ともに試合後に体重が有意に減少し, 明らかに体水分が減少したことが示唆された. さらに, 高度脱水群に区分された者では, 組織や体液からの体水分の喪失のみならず, 血中からの水分の喪失も大きく, 脱水による身体への影響が高度であったことが示唆された.

激しい運動により筋逸脱酵素値が上昇することは多くの研究により明らかにされている. また,

表 2 筋逸脱酵素の試合前後の変化

	軽度脱水群 (n=7)	高度脱水群 (n=8)
AST (IU/U)		
試合前	21.0 ± 4.8	22.1 ± 4.8
試合後 ^a	24.0 ± 6.6 **	24.2 ± 4.2 **
変化率	12.8 ± 7.9	10.4 ± 5.8
LDH (IU/U)		
試合前	216.3 ± 72.4	186.5 ± 15.5
試合後 ^a	249.1 ± 81.4 **	238.9 ± 21.9 **
変化率	16.1 ± 15.0	28.5 ± 12.0
CK (IU/U)		
試合前	202.1 ± 75.2	178.8 ± 63.2
試合後 ^a	269.7 ± 107.4 *	237.6 ± 82.5 **
変化率	34.0 ± 26.1	34.1 ± 13.0

平均値 ± 標準偏差.

a 血液濃縮により補正した値

*: p<0.05, **: p<0.01, 試合前後の比較: 対応のある t 検定.

表 3 白血球数・好中球数の試合前後の変化

	軽度脱水群 (n=7)	高度脱水群 (n=8)
白血球数 (/μl)		
試合前	5742.9 ± 1735.8	4875.0 ± 1338.2
試合後 ^a	8097.7 ± 2890.7 *	9445.6 ± 2249.0 **
変化率	44.3 ± 34.8	103.5 ± 58.3 †
好中球数 (/μl)		
試合前	3230.8 ± 1496.7	2539.0 ± 1202.1
試合後 ^a	6025.2 ± 2802.0 *	7676.7 ± 1978.4 **
変化率	121.1 ± 114.8	254.3 ± 155.0

平均値 ± 標準偏差.

a 血液濃縮により補正した値

*: p<0.05, **: p<0.01, 試合前後の比較: 対応のある t 検定.

†: p<0.05 軽度脱水群と高度脱水群との比較: 独立サンプルの t 検定.

この上昇が運動実施による筋の変性や崩壊, 筋膜透過性の亢進により引き起こされることが報告されている^{26, 27)}. 本結果においても軽度脱水群, 高度脱水群ともにこれらの値が試合後に上昇し, 本対象者で実施された2時間の運動が, 彼女らの筋組織に変性あるいは損傷をもたらしていたことが示唆された.

一方, 筋逸脱酵素の変化率が両群で差がなかったことから, 2時間の試合中の両群の運動負荷量が同程度であったことが示唆された. したがって, 両群の脱水の程度の差は, 発汗量と飲水量に影響されたものと考えられた.

白血球数および好中球数と運動の関わりについては, 多くの研究が一過性の運動により上昇し, その上昇が運動強度に依存することを報告している¹⁸⁾. また, これらの上昇が運動により生じた筋組織の変性や損傷に対する抗炎症反応や, あるいは, 運動そのものがストレスとなり活性化されたストレス反応である可能性が示唆されている¹⁹⁾. すなわち, 本研究において軽度脱水群, 高度脱水群ともにみられた練習後の白血球, 好中球の増加は, 本対象者によって行われた試合が, 筋組織の変性・損傷による炎症反応を亢進させるとともに, ストレス反応を活性化した影響であると考えられ

表 4 好中球機能の試合前後の変化 (CFI)

	軽度脱水群 (n=7)	高度脱水群 (n=8)
異物投与前ROS産生能 (CFI)		
試合前	1974.9 ± 1486.9	2193.8 ± 1169.8
試合後	1857.9 ± 1494.8	3584.1 ± 4645.8
変化率	23.5 ± 96.9	23.5 ± 123.4
異物投与时ROS産生能 (CFI)		
試合前	332352.1 ± 70051.7	359129.6 ± 56191.9
試合後	389676.9 ± 126712.5	323029.2 ± 44550.3
変化率	17.5 ± 32.9	-8.8 ± 14.4
貪食能 (CFI)		
試合前	515617.8 ± 55777.7	652281.9 ± 123133.4
試合後	463084.7 ± 132526.3	383867.1 ± 63008.5 **
変化率	-10.8 ± 20.9	-39.0 ± 17.5 ††

平均値 ± 標準偏差.

** : p<0.01 試合前後の比較 : 対応のある t 検定.

†† : p<0.01 軽度脱水群と高度脱水群との比較 : 独立サンプルの t 検定.

ROS: reactive oxygen species, CFI: cumulative fluorescence intensity.

た.

白血球数・好中球数は一定負荷以上の運動で上昇することが知られる。たとえば、先行研究において、柔道や相撲における日常的なトレーニング後の白血球数・好中球数の増加は30%程度²⁸⁻³⁰⁾であるが、運動時間が長く運動負荷が大きい、ラグビーの試合後には54%³¹⁾、同様にフルマラソンの大会後には212%³²⁾の増加が報告されている。

今回の調査で、白血球数・好中球数の増加の程度は高度脱水群でより大きかった(軽度脱水群は44.3%増加、高度脱水群は103.5%増加)。これは、同じ運動負荷であっても脱水の程度が大きいほどその影響が大きい可能性を示唆していた。

感染防御のメカニズムには特異的なものと非特異的なものがあり、非特異的なものとしては貪食細胞、特に好中球による貪食作用が重要であるといわれている。すなわち、好中球は炎症の原因となる体外から侵入あるいは体内に生じた異物を貪食し、自らが産生するROSやリソゾームによりこれらを殺菌、処理する³³⁾。運動と好中球機能の関連を調査した研究において、一過性の高強度運動後に、運動に伴う筋組織の変性・損傷に由来した炎症反応として好中球ROS産生能が亢進することが示されている^{34,35)}。

先行研究において、各種運動環境下における好

中球ROS産生能および貪食能の変化が一定の法則性を有している可能性が示唆されている³⁶⁾。すなわち、通常トレーニング期のように身体コンディションが正常な状態でそれに見合った運動が負荷された場合、運動負荷後にROS産生能が上昇する。一方、身体コンディションが良好であっても運動負荷が極めて高強度でこれが長時間持続した場合や、強化合宿直後の身体コンディションが極度に低下している状態で日常的な練習を実施した場合には、これに対応するべき好中球機能の反応が許容範囲を超え、ROS産生能、および、貪食能の両者が共に低下するということが報告されている³⁶⁾。

本結果において、ROS産生能の試合前後の変化は、軽度脱水群では上昇傾向、高度脱水群では低下傾向を示し、さらに高度脱水群では貪食能も試合後に有意に低下した。すなわち、軽度脱水群では運動負荷に対し好中球機能が良好(正常)な反応を示したが、高度脱水群では好中球の機能低下が引き起こされていた可能性が示唆された。

以上の結果より、大学女子サッカー選手が暑熱環境下で練習試合を行った場合、同じ強度の運動をしていても、脱水による血液中の水分喪失が大きい者ほど、好中球機能の低下が引き起こされる可能性が示唆された。

本調査は2010年8月の真夏の時期に実施され、対象者の水分補給は自由摂取であったにも関わらず、体重減少にみられる明らかな脱水が認められ、また大きな個人差が見られた。さらに、高度脱水群では明らかな免疫抑制がみられた。サッカー選手は年間多くの試合を経験し、そのためには各試合における疲労(健康障害)をできるだけ残さないシーズンの過ごし方が求められる。したがって、シーズン全体のコンディショニングという観点からも夏季の脱水対策(飲水対策)が重要であることが本研究で明らかになった。

一方、本研究では試合中の水分を自由摂取としたため、試合中の水分摂取量や内容等の状況を詳細に調査しておらず、本結果からこれをもたらした要因を明らかにすることはできなかった。

参 考 文 献

- 1) Yang X, Telama R, Hirvensalo M, Mattsson N, Viikari JS, Raitakari OT. The longitudinal effects of physical activity history on metabolic syndrome. *Med Sci Sports Exerc* 2008;40:1424-31.
- 2) Sato Y, Nagasaki M, Nakai N, Fushimi T. Physical exercise improves glucose metabolism in lifestyle-related diseases. *Exp Biol Med (Maywood)* 2003;228:1208-12.
- 3) Phillips WT, Pruitt LA, King AC. Lifestyle activity. Current recommendations. *Sports Med* 1996;22:1-7.
- 4) Blair SN, Koh HW, Gordon NF, Paffenbarger RS Jr. How much physical activity is good for health? *Annu Rev Public Health* 1992;13:99-126.
- 5) Hoffman-Goetz L, Pedersen BK. Exercise and the immune system: a model of the stress response? *Immunol Today* 1994;15:382-7.
- 6) Shepherd RJ, Verde TJ, Thomas SG et al. Physical activity and immune system. *Can J Sports Sci* 1991;16:163-85.
- 7) Barr SI. Effects of dehydration on exercise performance. *Can J Appl Physiol* 1999;24:164-72.
- 8) Poortmans JR. Exercise and renal function. *Sports Med* 1984;1:125-53.
- 9) Coggan AR. Plasma glucose metabolism during exercise in humans. *Sports Med* 1991;11:102-24.
- 10) Ranallo RF, Rhodes EC. Lipid metabolism during exercise. *Sports Med*. 1998;26:29-42.
- 11) Plante RI, Houston ME. Exercise and protein catabolism in women. *Ann Nutr Metab* 1984;28:123-9.
- 12) Urhausen A, Kindermann W. Diagnosis of overtraining: what tools do we have *Sports Med* 2002;32:95-102.
- 13) Shephard RJ. Chronic fatigue syndrome: an update. *Sports Med*. 2001;31:167-94.
- 14) Renstrom P, Johnson RJ. Overuse injuries in sports. A review. *Sports Med* 1985;2:316-33.
- 15) Convertino VA, Armstrong LE, Coyle EF, Mack GW, Sawka MN, Senay LC Jr, Sherman WM. American College of Sports Medicine position stand. Exercise and fluid replacement. *Med Sci Sports Exerc* 1996;28:i-vii
- 16) Murray B. Hydration and physical performance. *J Am Coll Nutr* 2007;26: 542S-548S.
- 17) Pedersen BK, Rohde T, Bruunsgaard H. Exercise and cytokines. In: Pedersen BK, editor. *Exercise immunology*. New York: Springer; 1997. p.89-111.
- 18) Pedersen BK, Nielsen HB. Acute exercise and immune system. In: Pedersen BK, editor. *Exercise immunology*. New York: Springer; 1997. p.5-38.
- 19) Pedersen BK, Kappel M, Klokke M. Possible role of stress hormones in exercise- Induced immunomodulation. In: Pedersen BK, editor. *Exercise immunology*. New York: Springer; 1997. p.39-60.
- 20) Umeda T, Suzukawa K, Takahashi I, Yamamoto Y, Tanabe M, Kojima A, Katagiri T, et al. Effects of intense exercise on the physiological and mental condition of female university judoists during a training camp. *J Sports Sci* 2008;26:897-904.
- 21) Chinda D, Umeda T, Shimoyama T, Kojima A, Tanabe M, Nakaji S, Sugawara K. The acute response of neutrophil function to a bout of judo training. *Luminescence* 2003;18:278-82.
- 22) Stølen T, Chamari K, Castagna C, Wisløff U. Physiology of soccer: an update. *Sports Med* 2005;

- 35:501-36.
- 23) Mashiko T, Umeda T, Nakaji S, Sugawara K. Effects of exercise on the physical condition of college rugby players during summer training camp. *Br J Sports Med* 2004;38:186-90.
- 24) Casa DJ, Armstrong LE, Hillman SK, Montain SJ, Reiff RV, Rich BS, Roberts WO, et al. National athletic trainers' association position statement: fluid replacement for athletes. *J Athl Train* 2000;35:212-24.
- 25) Tabei K, Kuroda Y, Takano R, Masunaga Y, Inoue M, Akai Y, Asano Y. Significance of total protein concentration by water removal during hemodialysis. *J Jpn Soc Dial Ther* 1999;32:1071-7.
- 26) Flynn MG, Pizza FX, Boone Jr JB, Andres FF, Michaud TA, Rodriguez Zayas JR. Indices of training stress during competitive running and swimming seasons. *Int J Sports Med* 1994;15:21-6.
- 27) Koutedakis Y, Raafat A, Sharp NC, Rosmarin MN, Beard MJ, Robbins SW. Serum enzyme activities in individuals with different levels of physical fitness. *J Sports Med Phys Fitness* 1993;33:252-7.
- 28) Chishaki T, Umeda T, Takahashi I, Matsuzaka M, Iwane K, Matsumoto H, Ishibashi G, et al. Effects of dehydration on immune functions after a judo practice session. *Luminescence* 2013;28:114-20.
- 29) Umeda T, Saito K, Matsuzaka M, Nakaji S, Totsuka M, Okumura T, Tsukamoto T, et al. Effects of a bout of traditional and original sumo training on neutrophil immune function in amateur university sumo wrestlers. *Luminescence* 2008;23:115-20.
- 30) Suda Y, Umeda T, Watanabe K, Kuroiwa J, Sasaki E, Tsukamoto T, Takahashi I, et al. Changes in neutrophil functions during a 10-month soccer season and their effects on the physical condition of professional Japanese soccer players. *Luminescence* 2013;28:21-8.
- 31) Takahashi I, Umeda T, Mashiko T, Chinda D, Oyama T, Sugawara K, Nakaji S. Effects of rugby sevens matches on human neutrophil-related non-specific immunity. *Br J Sports Med* 2007;41:13-8.
- 32) Chinda D, Nakaji S, Umeda T, Shimoyama T, Kurakake S, Okamura N, Kumae T, et al. A competitive marathon race decreases neutrophil functions in athletes. *Luminescence*. 2003;18:324-9.
- 33) Benestad HB, Laerum OD: The neutrophilic granulocyte. *Curr Top Pathol* 1989;79:7-36.
- 34) Pyne DB. Regulation of neutrophil function during exercise. *Sports Med* 1994;17:245-58.
- 35) Smith JA, Telford RD, Mason IB, Weidemann MJ. Exercise, training and neutrophil microbicidal activity. *Int J Sports Med* 1990;11:179-87.
- 36) Umeda T, Takahashi I, Danjo K, Matsuzaka M, Nakaji S. Changes in Neutrophil Immune Function under Different Exercise Stresses. *Jpn J Hyg* 2011;66:533-42.