

## 《原著》

# 柔道選手における好中球機能の相互関係に及ぼす影響

矢野智彦<sup>1,2</sup>、高橋一平<sup>1</sup>、平川裕一<sup>3</sup>、  
福井真司<sup>4</sup>、徳安秀正<sup>5</sup>、金子美由紀<sup>1,6</sup>、  
神田翔太<sup>1,6</sup>、生嶋健也<sup>1,7</sup>、梅田孝<sup>6</sup>、  
中路重之<sup>1</sup>

1 弘前大学大学院医学研究科社会医学講座  
2 環太平洋大学  
3 弘前大学大学院保健学研究科  
4 尚絅学院大学  
5 東京有明医療大学  
6 名城大学  
7 松山大学

## キーワード

1. 好中球機能
2. 食食能
3. 食食時のROS産生量
4. 異物投与前（食食前）のROS産生量
5. 女子柔道選手

競技スポーツ選手のコンディションを評価する指標として PA、Stimulated ROS production、Basal ROS production の好中球 3 機能の有用性を検討した。対象者は全日本ナショナルチーム及びシニア強化として指定された女子柔道日本代表選手 7 名とその補欠選手 3 名の計 10 名であった。最終強化合宿は 1 週間実施され、測定を、強化合宿 2 日目の午後（合宿開始時）とその最終日前日の午後（合宿終了時）の計 2 回行った。2 回とも同一の運動負荷（4 時間の「立技の乱取り」）の直前（稽古前）と直後（稽古後）に測定を行った。測定内容は、白血球数、好中球数、血清中の筋逸脱酵素（AST、ALT、LDH、CK）、免疫グロブリン（IgG）、補体（C3）、好中球機能（PA、Stimulated ROS production、Basal ROS production）であった。その結果、Stimulated ROS production は合宿開始時には稽古後に低下（ $p<0.05$ ）、合宿終了時には稽古後に上昇を示した（ $p<0.01$ ）。しかし、PA 及び Basal ROS production においては、稽古前後で有意な変化はみられなかった。

また、好中球 3 機能間の相関関係では、合宿開始時は、PA、Stimulated ROS production、Basal ROS production の全ての組み合わせにおいて有意に正の相関関係がみられた（Stimulated ROS production・PA 間のみ  $p<0.01$ 、その他の組み合わせは  $p<0.05$ ）が、合宿終了時は、PA と Stimulated ROS production の間においてのみ有意な正の相関関係がみられた（ $p<0.01$ ）。以上より、Stimulated ROS production は競技スポーツ選手の酸化ストレスや身体的コンディションの鋭敏な評価に有用である可能性が示唆された。

体力・栄養・免疫学雑誌 第 25 巻 第 3 号 221-229 頁 2015 年

## 緒言

適度な運動は免疫能を高め感染防御を増強するが、十分な疲労の回復がないままに運動を反復すると、免疫能の低下を引き起こし<sup>1)</sup>、上気道感染など感染症の危険性を高めるといわれている<sup>2,3)</sup>。すなわち、競技選手においても、通常練習期では非競技選手より上気道感染症のリスクは低い<sup>4)</sup>、強化トレーニング期では上気道感染症のリスクが高くなることが指摘されている<sup>5,6)</sup>。つまり、高強度な練習を繰り返すと、慢性的な免疫抑制が生じる可能性が考えられている<sup>7,8)</sup>。

好中球は侵入した微生物等の異物を食食し、自らが産生する活性酸素種（reactive oxygen species : ROS）により殺菌をおこなう生体防御上重要な免疫細胞である。

一方で、好中球は本来殺菌に利用する ROS を放出し、正常な組織にも障害を与えることや過酸化脂質の生成を促し動脈硬化をはじめとして種々の疾病の原因にもなることが知られている<sup>9-11)</sup>。しかし、運動と好中球機能の関係を調査した研究で、上記の食食能（phagocytic activity : PA）、食食時の ROS 産生量（Stimulated ROS production）、異物投与前（食食前）の ROS 産生量（Basal ROS production）の 3 機能を同時に測定し、運動との関係を各機能の相互関係を含めて検討した研究はみられない。

我々の研究室では、競技スポーツ選手を対象として、運動と好中球機能、すなわち PA と Basal ROS production の関係を様々な運動負荷条件（運動の強度や時間）、運

動実施環境 (シーズン別、強化合宿期、試合時など) で評価してきた。これにより、調整期におこなわれるような軽めの練習では運動後 PA および Basal ROS production はともに亢進<sup>12)</sup>、すなわち、好中球機能全体が亢進する可能性がみられている。一方、強化練習や試合など負荷が大きい運動後には、PA および Basal ROS production とともに低下、すなわち、好中球機能全体が抑制されることを報告してきた<sup>13,14)</sup>。そして、これらの知見から、我々は競技スポーツ選手のコンディショニングを、好中球の上記 2 機能の挙動により評価できる可能性を報告してきた<sup>15)</sup>。しかし、通常の練習では、Basal ROS production は変化なしまたは亢進、PA は上昇—維持—低下と様々な挙動が観察されている<sup>16,17)</sup>。このため、競技スポーツ選手の運動時のコンディショニングを把握するためには、これら 2 機能 (PA、Basal ROS production) の挙動の把握だけでは不十分であり、新たな評価指標の導入の必要性があると考えてきた。すなわち、Basal ROS production は、採血された血液サンプル中の好中球の産生する ROS 産生量であり、このサンプルに異物投与した後に好中球の産生する ROS 産生量が Stimulated ROS production となる。これまでは、採血及び採血管自体が好中球を刺激していると考え、Basal ROS production のみを好中球の ROS 産生量の指標として用いてきた。しかし、Stimulated ROS production は Basal ROS production の 100 倍以上の ROS 産生量が観察されており、Stimulated ROS production は好中球由来の酸化ストレスをより鋭敏に評価できる指標として考えられ、近年は好中球の ROS 産生量の別指標として追加評価している<sup>18,19)</sup>。

一方、競技スポーツ選手の練習が好中球の PA と食食時の ROS 産生量 (Stimulated ROS production) の相互関係に及ぼす影響を調査した研究はみられない。動物実験によると自由運動をさせた群は PA と Stimulated ROS production とは相関関係がみられるのに対して、心理的・物理的ストレスを負荷された群は有意な相関はみられず、食食量と ROS 産生量のバランスがとれていないことが報告されている<sup>20)</sup>。また、ヒトを対象とした研究においても自覚的ストレスが低い群はこのバランスが取れているのに対して、自覚的ストレスが高い群はそうではないことが報告されている<sup>21-23)</sup>。このように、ストレスは PA と Stimulated ROS production のバランスを崩し、殺菌に必要な ROS 産生量が不足する、また必要以上の ROS 産生量によって生体にダメージを与えるなど好中球機能に乱れを生じさせる可能性が指摘されている。すなわち、好中球の各機能の相互関係を調査することは各種ストレスの評価指標として有効である可能性が考えられる。

そこで、本研究では、世界柔道選手権に出場した日

本の女子柔道選手とその補欠選手を対象に、稽古によるストレスが強化合宿中の好中球の 3 機能、すなわち PA、Stimulated ROS production、Basal ROS production および各機能の相互関係に及ぼす影響を調査した。これにより上記 3 機能および機能間相互関係が、競技スポーツ選手のコンディショニングをより詳細且つ鋭敏に評価できる指標として有効かどうか検討した。

## 対象者及び調査方法

### 1. 対象者及び調査期間

本対象者は全日本柔道連盟により全日本ナショナルチーム及びシニア強化として指定され、2009 年 8 月にオランダ・ロッテルダムで開催された世界選手権に出場した女子柔道日本代表選手 7 名とその補欠選手 3 名、計 10 名であった。本対象者の階級区分による内訳は 48kg 以下級 2 名、52kg 以下級 1 名、57kg 以下級 1 名、63kg 以下級 1 名、70kg 以下級 2 名、78kg 以下級 2 名、78kg 超級 1 名であった。また、補欠選手は代表選手が世界選手権出発前までに怪我等により出場できなくなった場合、これに代わって出場する選手たちであり、出発直前まで代表選手と全く同じスケジュールで同様のトレーニングを行った。また、最終的に代表選手として出場した 7 名の大会成績は優勝者 3 名、3 位 2 名、5 位 1 名、1 回戦敗退者 1 名であった。

最終強化合宿 (以下、強化合宿) は 2009 年 7 月 31 日午後から 8 月 5 日午前までの 1 週間実施された。本研究では、強化合宿 2 日目の午後 (以下、合宿開始時) とその最終日前日の午後 (以下、合宿終了時) の計 2 回、以下の内容の調査を実施した。また、1 回目の調査が合宿 2 日目の午後となったのは、合宿地に向かう選手の移動やトレーニング、その他のチームスケジュールの都合等による制約があったためであった。2 回の調査は同一の運動負荷として 4 時間の「立技の乱取り」の直前 (稽古前) と直後 (稽古後) に行った。

本対象者の年齢は平均値±標準偏差で 22.6±2.7 歳、身長は 164.0±7.8cm、体重は 66.0±12.3kg、体脂肪率は 22.3±5.7%、除脂肪量は 50.6±6.3kg であった。選手は強化合宿中に以下の内容で 1 日 7 時間のトレーニングを毎日実施した。すなわち、午前中は朝食前に 1 時間の「ランニングトレーニング」、その後朝食を含めた 2 時間の「休憩」、続いて 2 時間の「寝技の乱取り (寝技主体の試合形式の練習)」を行った。午後は昼食を含めた 3 時間の「休憩」後、4 時間の「立技の乱取り (投技主体の試合形式の練習)」を行った。なお、合宿初日及び終了日は選手毎に合宿地と居住地間の移動となるため、それぞれ午後、午前みのトレーニングを実施した。一方、本強化合宿以外での対象者のトレーニング実施状況は、所属するチーム毎にスケジュールやそ

Table 1. 対象者の特徴

	強化合宿開始時 (2009 Aug. 1)		強化合宿終了時 (2009 Aug. 5)	
年齢 (歳)	22.6	± 2.7	—	
身長 (cm)	164.0	± 7.8	—	
体重 (kg)				
稽古前	66.0	± 12.3	65.3	± 12.1 <sup>†</sup>
稽古後	64.7	± 12.1**	63.9	± 11.9**
体脂肪率 (%)	22.3	± 5.7	21.2	± 5.7 <sup>††</sup>
除脂肪体重 (kg)	50.6	± 6.3	50.9	± 6.3

数値：平均値 ± 標準偏差

\*\*：p<0.01, 稽古前との比較

†：p<0.05, ††：p<0.01, 強化合宿開始時との比較

Table 2. 期間中の筋逸脱酵素の変化

	強化合宿開始時 (2009 Aug. 1)		強化合宿終了時 (2009 Aug. 5)	
AST (IU/L)				
稽古前	28.9	± 6.5	43.7	± 18.0 <sup>†</sup>
稽古後	35.4	± 8.8**	51.5	± 23.3**
稽古前後の変化率(%)	22.1	± 6.4	16.5	± 7.4
ALT (IU/L)				
稽古前	17.2	± 4.1	25.0	± 9.0 <sup>††</sup>
稽古後	19.4	± 4.6**	27.9	± 11.1**
稽古前後の変化率(%)	12.9	± 6.8	10.6	± 6.2
CK (IU/L)				
稽古前	470.6	± 180.8	919.3	± 594.0 <sup>†</sup>
稽古後	711.6	± 291.4**	1197.4	± 815.0**
稽古前後の変化率(%)	51.0	± 11.9	28.7	± 10.5 <sup>††</sup>
LDH (IU/L)				
稽古前	262.3	± 44.1	329.8	± 65.8 <sup>††</sup>
稽古後	308.7	± 56.8**	359.7	± 93.8*
稽古前後の変化率(%)	17.6	± 7.0	8.4	± 11.3

数値：平均値 ± 標準偏差

\*：p<0.05, \*\*：p<0.01, 稽古前との比較

†：p<0.05, ††：p<0.01, 強化合宿開始時との比較

の内容等も異なる面もあったが、ランニングやウエイトトレーニング、柔道の稽古により構成されたトレーニングを週 6 日、1 日合計約 4-5 時間実施していた。本調査は弘前大学医学部倫理委員会の承認を受けると同時に、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測定した後、体重、体脂肪率、除脂肪体重をインピーダンス法による体脂肪計 (TBF-110、(株) タニタ、東京) で測定した。

## 3. 血液生化学検査

採血は 2 回の調査時とも昼食後約 2-3 時間経過した午後の練習前後に実施した。また、採取した 10mL の

内、2mL を血球成分および好中球機能の分析に用い、残りの 8mL を 3000 回/分で 10 分間遠心分離し、血清を抽出後、以下の成分分析に用いた。

血液生化学検査値は脱水状況を把握する目的でヘモグロビン (Hb)、ヘマトクリット値 (Hct) を測定した。また、筋逸脱酵素値 (ALT、AST、LDH、CK) は筋組織の変性・損傷状況を、白血球数、好中球数、免疫グロブリン IgG、補体 C3 は免疫状況を把握する目的で測定した。

白血球数、好中球数の測定は自動血球測定装置 (System XE-2100 and SE-9000, Kobe, Japan) を用いた。また、AST、ALT、LDH、CK は JSCC 標準化対応法、IgG、C3 は TIA (免疫比濁法) を用い測定した。さらに、練習後のこれらの値は練習前後の体重及び Hb、Hct の変化から、脱水に影響されていることが明らか

Table 3. 期間中の免疫関連項目の変化

	強化合宿開始時 (2009 Aug. 1)	強化合宿終了時 (2009 Aug. 5)
総白血球数 (μL)		
稽古前	6830 ± 1216	6500 ± 1425
稽古後	7173 ± 1175	6714 ± 1575
稽古前後の変化率(%)	5.9 ± 12.7	3.8 ± 12.0
好中球数 (μL)		
稽古前	4580 ± 1220	4114 ± 871
稽古後	5001 ± 1188	4437 ± 1209
稽古前後の変化率(%)	11.8 ± 21.1	7.4 ± 13.2
IgG (mg/dL)		
稽古前	1043 ± 142	1052 ± 127
稽古後	1082 ± 131*	1097 ± 131*
稽古前後の変化率(%)	4.0 ± 3.2	4.3 ± 4.2
C3 (mg/dL)		
稽古前	81.4 ± 9.8	85.4 ± 8.5 <sup>††</sup>
稽古後	82.2 ± 10.1	88.5 ± 9.9
稽古前後の変化率(%)	0.9 ± 2.7	3.6 ± 5.7

数値：平均値 ± 標準偏差

\*: p<0.05, 稽古前との比較.

<sup>††</sup>: p<0.01, 強化合宿開始時との比較.

Table 4. 期間中の好中球機能の変化

	強化合宿開始時 (2009 Aug. 1)	強化合宿終了時 (2009 Aug. 5)
Total Basal ROS production (CFI)		
稽古前	654 ± 619	1333 ± 1512
稽古後	1148 ± 1109	1838 ± 2365
稽古前後の変化率(%)	205 ± 580	114 ± 281
Total Stimulated ROS production (CFI*10 <sup>3</sup> )		
稽古前	293.0 ± 80.9	224.9 ± 59.3
稽古後	256.8 ± 51.3*	301.5 ± 62.5**
稽古前後の変化率(%)	-10.5 ± 13.6	36.6 ± 20.4
Total PA (CFI*10 <sup>3</sup> )		
稽古前	470.8 ± 123.1	429.0 ± 137.0
稽古後	493.1 ± 78.6	446.3 ± 70.4
稽古前後の変化率(%)	8.6 ± 22.3	10.5 ± 28.3

数値：平均値 ± 標準偏差

\*: p<0.05, \*\*: p<0.01, 稽古前との比較.

ROS production: reactive oxygen species production in neutrophils.

PA: phagocytic activity in neutrophils.

CFI: cumulative fluorescence intensity.

となったことから、練習前後の Hb 及び Hct を用いた Plasma volume 法による脱水補正を行なった。なお、本結果で用いた全ての血液生化学検査は LSI メディエンス(旧三菱化学メディエンス)に委託、実施した。

4. 好中球の食食能 (PA)、食食時の ROS 産生量 (Stimulated ROS production)、異物投与前 (食食前) の ROS 産生量 (Basal ROS production) の測定方法

好中球 ROS 産生量および食食能 (PA) は、FAC-Scan

(Becton Dickinson, San Jose, USA) を用いた Two-color 法により測定した。ROS 産生量は、蛍光指示剤 Hydroethidine (HE : 44.4μM, Polysciences Inc., USA) を用い、食食能 (PA) は、蛍光色素 Fluorescein isothiocyanate (FITC : Sigma Chemical Co., St. Louis, USA) で標識したオプソニン化ザイモザン (FITC-OZ, Sigma Chemical Co., St. Louis, USA) を用い測定した。

ROS 産生量測定用の血液サンプルは、ヘパリンで凝



Table 5. 期間中の好中球機能間の相関関係

		Total Basal ROS production		Total Stimulated ROS production	
		r	p 値	r	p 値
強化合宿開始時 (2009 Aug. 1)	Total Stimulated ROS production	0.709	0.022	-	-
	Total PA	0.648	0.043	0.842	0.002
強化合宿終了時 (2009 Aug. 5)	Total Stimulated ROS production	0.479	0.162	-	-
	Total PA	0.588	0.074	0.770	0.009

r = Spearman r.

固抑制した全血 100  $\mu$ L に HE 22  $\mu$ L を加えた後 (最終濃度は 8  $\mu$ M)、37°C で 5 分間インキュベートした。食食能測定用の血液サンプルは、さらに FITC-OZ 25  $\mu$ L を加え (最終濃度は 5mg/mL)、37°C で 35 分間インキュベートした。両サンプルは、インキュベーション終了後、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。その後、アジ化ナトリウム加 PBS にて 2 回遠心洗浄後、FAC-Scan を用い蛍光強度を測定した。また、食食能測定用サンプルについては、測定直前に Fluorescence Quenching Method に従ってトリパンブルー 30  $\mu$ L (0.25mg/mL, pH4.5, Sigma Chemical Co., St. Louis, USA) を加え、好中球に取り込まれず表面に付着しているだけの FITC-OZ を除外し、FAC-Scan で測定した。FAC-Scan では、各サンプル毎に好中球 10000 個について蛍光強度を測定した。フローサイトメーターは、488 nm のアルゴンレーザーにより励起される蛍光色素 FL1 検出器 530 nm (緑色)、FL2 検出器 575 nm (赤色) を用いた。まず、前方散乱光と側方散乱光により好中球をゲーティングし、10000 個を収集した。ROS 産生量、食食能 (PA) は、その好中球の 10000 個当たりの蛍光色素 FITC (食食能) と HE (ROS) の蛍光陽性細胞率と平均蛍光強度を乗じた累積蛍光強度 (CFI; Cumulative Fluorescence Intensity) として評価した。

## 5. 統計解析及び分析方法

結果は、すべて平均値 $\pm$ 標準偏差で示した。また、各調査時の稽古前後の平均値の差は Wilcoxon t-test、各調査間の平均値の差は Bonferroni 法を用い統計学的検討を行なった。

さらに、各調査時の稽古前後の各好中球機能の変化率の相互関係を Spearman の順位相関を用いて評価した。p<0.05 をもって統計学的に有意差あり、有意な相関関係があるとした。

## 結果

Table 1 は調査期間中の身体組成値の変化を示している。体重は調査期間中の稽古前値に比べ稽古後有意に減少した (全て p<0.01)。また、合宿終了時の稽古前の体重は、合宿開始時の稽古前値に比べ有意に減少

した (p<0.05)。さらに、合宿終了時の体脂肪率は合宿開始時の値に比べ有意に減少した (p<0.01)。

Table 2 は調査期間中の筋逸脱酵素値の変化を示している。調査時において AST、ALT、CK、LDH が稽古前値に比べ稽古後有意に上昇した (合宿後の LDH ; p<0.05、他の項目はすべて p<0.01)。また、合宿終了時の稽古前の AST、ALT、CK、LDH が合宿開始時の稽古前値より有意に上昇した (順に p<0.05、p<0.01 p<0.05、p<0.01)。

Table 3 は調査期間中の白血球数、好中球数、免疫グロブリン IgG、補体 C3 の変化を示している。調査期間中の白血球数、好中球数ともに稽古前後で有意な変化はみられなかった。一方、IgG は合宿開始時も終了時もともに稽古前値に比べ稽古後有意に上昇した (いずれも p<0.05)。また、合宿終了時の稽古前の C3 は、合宿開始時の稽古前値に比べ有意に上昇していた (p<0.01)。

Table 4 は調査期間中の好中球の PA、Stimulated ROS production、Basal ROS production の変化を示している。調査期間中の Stimulated ROS production は合宿開始時には稽古後に低下 (p<0.05)、合宿終了時には稽古後に上昇を示した (p<0.01)。しかし、PA 及び Basal ROS production においては、稽古前後で有意な変化はみられなかった。

Table 5 は調査期間中の好中球 3 機能間の相関関係を示している。合宿開始時は、PA、Stimulated ROS production、Basal ROS production の全ての組み合わせにおいて有意に正の相関関係がみられた (p<0.05)。しかし、合宿終了時は、PA と Stimulated ROS production の間においてのみ有意な正の相関関係がみられた (p<0.01)。

## 考察

女子柔道選手を対象に、強化合宿中の稽古による身体ストレスが好中球の 3 機能 (PA、食食時の ROS 産生量、異物投与前 (食食前) の ROS 産生量) および各機能の相互関係に及ぼす影響を調査した。

本結果では合宿開始時も終了時においても稽古後体重が有意に減少し、本対象者で運動実施に伴い発汗が亢進し、体水分が減少したことが示唆された<sup>24)</sup>。また、

合宿終了時に体重、体脂肪率が有意に減少したことは、合宿中の稽古がエネルギー代謝、脂質代謝を亢進させ、これらの減少をもたらしたと考えられた<sup>25)</sup>。

筋逸脱酵素の増減は、その競技の練習量や強度を反映し、筋疲労の指標として有効であることが示されている<sup>26,27)</sup>。本結果では、合宿開始時、終了時共に稽古後に血清酵素値の有意な上昇が観察された。これは本研究で対象者が実施した4時間の柔道の練習が対象者にとって筋組織を変性、損傷させるレベルの運動強度であったことを示唆していた。また、調査期間中の筋疲労の蓄積状況を稽古前の筋逸脱酵素値から観察すると、合宿開始時と比べて合宿終了時の筋逸脱酵素値は高く、合宿中の厳しい稽古の繰り返しが本対象者に著しい筋疲労の発現と蓄積をもたらしていたことを示唆していた。また、先行研究によりトレーニング休止を考慮すべき慢性疲労の一つの目安としてCK 500mg/dlが指摘されているが、本対象者ではほとんどがこのボーダーラインを超えており、対象者が大きな運動負荷の中にあったことを示唆していた<sup>28)</sup>。

白血球数は運動により増加し、その増加は運動強度に依存する<sup>29)</sup>。この機序としては、運動により生じる筋組織の変性、損傷に対しての炎症性サイトカインを介した炎症反応であることが明らかにされている<sup>30)</sup>。またこれに加え、ストレス反応としてカテコールアミンやコルチゾールなどのストレスホルモンの関与も示唆されている<sup>31)</sup>。本結果では、白血球数・好中球数ともに増加傾向(稽古後)が認められた。本結果においても、本対象者が実施した4時間の柔道の稽古が、筋の変性、損傷由来の炎症反応、あるいは運動負荷に対するストレス反応を亢進させたと推察された。

運動負荷による免疫グロブリン、補体の変動に関するこれまでの報告では、上昇-維持-低下と結果はさまざまであり、運動負荷などの条件により変動は異なると考えられる<sup>32-34)</sup>。本研究では、免疫グロブリンIgGは稽古後に有意な上昇を示したが、補体C3は稽古前後で有意な変動を示さなかった。補体については、分解されて活性化された補体C3a、C4aの血中濃度が運動負荷により上昇することが報告されている<sup>35)</sup>。一方、免疫グロブリンの増加は、高強度の運動負荷が筋組織の変性・損傷すなわち炎症反応を生じさせたため、反応性に増加した可能性が示唆された<sup>36)</sup>。

柔道選手における通常の稽古では、稽古により好中球のBasal ROS productionは増加する場合が多い<sup>16)</sup>。しかし、Yamamoto らによれば、本格的なトレーニングの再開時(すなわち、トレーニング休止直後)の稽古では変化はみられず、その後数ヶ月トレーニングした後(長期トレーニングによる馴化後)では増加することが報告されている<sup>17)</sup>。すなわち、その時の稽古の強

度に対する身体諸機能の耐性が獲得されていない場合には、相対的に稽古による運動負荷が大きくなるため、Basal ROS production の亢進はみられないと考えられる。本調査では、稽古内容は強化合宿中のメニューであり、通常の稽古より身体負荷が大きかったため、合宿開始時においても合宿終了時においても稽古後のBasal ROS productionの有意な増加がみられなかった可能性が示唆された。稽古によるPAの変化については上昇-維持-低下と様々な挙動が観察されており一定の見解は得られておらず<sup>16,17)</sup>、本調査においては稽古による変化はみられなかった。

好中球はROSを常時産生しているが、異物反応時にはその産生が急増し、これにより異物を殺菌破壊する<sup>37)</sup>。Stimulated ROS productionは異物反応時のROS産生量であり、その低下は易感染性を招く可能性が推測される。今回、調査期間中のStimulated ROS productionは合宿開始時には稽古後に低下、合宿終了時には稽古後に上昇を示した。一方、異物の取り込み機能を反映するPAは調査期間中に有意な変動がみられなかったことから、合宿開始時の稽古前後で異物の食食に対するROS産生量は減り、異物処理に必要なROS産生量が不足した可能性が考えられた。一方、合宿後は、稽古前後で異物の食食に対するROS産生量が増え、必要以上のROS産生量によって生体に酸化的ストレスを与えている可能性が考えられた。好中球は炎症局所の生体防御に役立つと同時に、周囲組織を障害する原因にもなるため諸刃の剣とされ<sup>37)</sup>、その異物反応をPAとStimulated ROS productionにより評価することは、好中球機能の詳細な評価になると考えられる。これまで、好中球のBasal ROS productionとPAの2機能により競技スポーツ選手の運動時のコンディションを把握してきたが、本調査のように2機能が有意な変化を示さない場合にもStimulated ROS productionは有意な変化を示しており、競技スポーツ選手の運動時のコンディションを把握するためには、この2機能(PA、Basal ROS production)に加えて、Stimulated ROS productionを評価することが有効になる可能性が考えられた。

調査期間中の好中球3機能間の相関関係については、合宿開始時は、PA、Stimulated ROS production、Basal ROS productionの全ての組み合わせにおいて正の相関関係がみられた。しかし、合宿終了時は、PAとStimulated ROS productionの間においてのみ正の相関関係がみられた。すなわち、合宿前開始時は機能間のバランスが保たれていたが、合宿後にはBasal ROS productionが他2機能(PAとStimulated ROS production)と独立した挙動を示していた。PAとStimulated ROS productionは異物反応における異物取り込みとその殺菌破壊を反映しており、本調査のような強化合宿にお

いてもその関係は維持されたと考えられた。しかし、3 機能の相互関係は合宿終了時には Basal ROS production から乱れることが示された。すでに喫煙や高血糖などのストレスに対して 3 機能の中で Basal ROS production が相関することが報告されており<sup>18,19)</sup>、運動ストレスにおいても Basal ROS production が他 2 機能より影響を強く受けるために相互関係が Basal ROS production から乱れたと考えられた。したがって、好中球の Stimulated ROS production を評価項目に加えるだけでなく、さらに各機能の相互関係を調査検討することもまた競技スポーツ選手のコンディションの把握に有効である可能性が考えられた。

以上より、競技スポーツ選手の運動時の酸化ストレスや身体的コンディションを把握するためには、従来の好中球の 2 機能 (PA、Basal ROS production) に加えて、Stimulated ROS production を評価することが有効と考えられた。

(受稿 2015/11/4 受理 2015/11/25)

#### 【謝辞】

終始熱心なご指導を頂いた中路重之教授、高橋一平准教授に感謝の意を表します。

本論文の作成にあたり、本研究の主旨を理解し快く協力していただいた全日本柔道連盟および選手の皆様には、感謝の念にたえません。本当にありがとうございました。

#### 【文献】

- 1) Malm C: Susceptibility to infections in elite athletes: the S-curve. *Scand J Med Sci Sports*. 2006;16:4-6.
- 2) Mackinnon LT: Chronic exercise training effects on immune function. *Med Sci Sports Exerc* 2000;32:S369-76.
- 3) Nieman DC: Current perspective on exercise immunology. *Curr Sports Med Rep* 2003;2:239-42.
- 4) Shephard RJ, Kavanagh T, Mertens DJ, Qureshi S, Clark M: Personal health benefits of masters athletics competition. *Br J Sports Med* 1995;29:35-40.
- 5) Nieman DC: Exercise, upper respiratory tract infection, and the immune system. *Med Sci Sports Exerc* 1994;26:128-39.
- 6) Pedersen BK, Bruunsgaard H: How physical exercise influences the establishment of infections. *Sports Med* 1995;19:393-400.
- 7) Greeson M: Immune function in sport and exercise. *J Appl Physiol* 2007;103:693-9.
- 8) Smith LL: Overtraining, Excessive Exercise, and Altered Immunity. *Sports Med* 2003;33:347-64.
- 9) Peake J, Suzuki K: Neutrophil activation, antioxidant supplements and exercise-induced oxidative stress. *Exerc Immunol Rev*. 2004;10:129-41.
- 10) Hosokawa T, Kumon Y, Kobayashi T, Enzan H, Nishioka Y, Yuri K, Wakiguchi H, et al: Neutrophil infiltration and oxidant-production in human atherosclerotic carotid plaques. *Histol Histopathol*.2011;26:1-11.
- 11) Segel GB, Halterman MW, Lichtman MA: The paradox of the neutrophil's role in tissue injury. *J Leukoc Biol*. 2011;89:359-72.
- 12) 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;28:121-8.
- 13) Suzuki M, Umeda T, Nakaji S, Shimoyama T, Mashiko T, Sugawara K: Effect of incorporating low intensity exercise into the recovery period after a rugby match. *Br J Sports Med*. 2004;38:436-40.
- 14) 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.
- 15) 梅田孝、高橋一平、檀上和真、松坂方士、中路重之: 各種運動環境下における好中球・免疫機能動態の検討. *日本衛生学雑誌*. 2011;66:533-42.
- 16) Umeda T, Yamai K, Takahashi I, Kojima A, Yamamoto Y, Tanabe M, Nakaji S, et al: The effects of a two-hour judo training session on the neutrophil immune functions in university judoists. *Luminescence*. 2008;23:49-53
- 17) Yamamoto Y, Nakaji S, Umeda T, Matsuzaka M, Takahashi I, Tanabe M, Danjo K, et al: Effects of long-term training on neutrophil function in male university judoists. *Br J Sports Med*. 2008;42:255-9.
- 18) Sato J, Takahashi I, Umeda T, Matsuzaka M, Danjyo K, Tsuya R, et al. Nakaji S: Effect of alcohol drinking and cigarette smoking on neutrophil functions in adults. *Luminescence*, 2011;26:557-64.
- 19) Saito Y, Takahashi I, Iwane K, Okubo N, Nishimura M, Matsuzaka M, et al. Nakaji S: The influence of blood glucose on neutrophil function in individuals

- without diabetes. *Luminescence*, 2013;28:569-73.
- 20) 鈴木克彦、町田和彦、刈屋美枝子: ラットの自発走運動モデルの基礎的検討および健康指標に及ぼす慢性影響. *日本衛生学雑誌*. 1992;47:939-51.
- 21) Tsukamoto K, Machida K: Effects of life events and stress on neutrophil functions in elderly men. *Immun Ageing*. 2012;9:13.
- 22) Tsukamoto K, Machida K: Effects of psychological stress on neutrophil phagocytosis and bactericidal activity in humans—a meta-analysis. *International Journal of Psychophysiology* 2014;91:67-72.
- 23) Tsukamoto K, Suzuki K, Machida K, Saiki C, Murayama R, Sugita M: Relationships between lifestyle factors and neutrophil functions in the elderly. *Journal of clinical laboratory analysis*, 2002;16:266-72.
- 24) 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.
- 25) Durstine JL, Grandjean PW, Davis PG, Ferguson MA, Alderson NL, DuBose KD: Blood lipid and lipoprotein adaptations to exercise: a quantitative analysis. *Sports Med* 2001;31:1033-62.
- 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, 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) Greeson M, Spurway N, MacLaren D, Nieman DC: *Immune Function in Sport and Exercise*. 1st ed. British: Churchill Livingstone 2006:247-52.
- 29) Pedersen BK, Nielsen HB: Acute exercise and immune system. Pedersen BK, ed. *Exercise and immunology*. New York: Springer, 1997;pp:5-38.
- 30) Pedersen BK, Rohde T, Bruunsgaard H: Exercise and cytokines. Pedersen BK, ed. *Exercise and immunology*. New York: Springer, 1997;pp:89-111.
- 31) Pedersen BK, Kappel M, Klokke M: Possible role of stress hormones in exercise-induced immunomodulation. Pedersen BK, ed. *Exercise and immunology*. New York: Springer, 1997;pp:39-60.
- 32) Mackinnon LT, Jenkins DG: Decreased salivary immunoglobulins after intense interval exercise before and after training. *Med Sci Sports Exerc* 1993;25:678-83.
- 33) Nieman DC, Tan AS, Lee W, Berk LS: Complement and immunoglobulin levels in athlete and sedentary controls. *Int. J. Sports Med*. 1989;10:124-8.
- 34) Dufaux B, Order U, Liesen H: Effect of a short maximal physical exercise coagulation, fibrinolysis, and complement system. *Int J Sports Med* 1991;12(suppl1):S38-42.
- 35) Dufaux B, Order U: Complement activation after prolonged exercise. *Clinica Chimica Acta* 1989;179: 45-50.
- 36) McKune AJ, Smith LL, Semple SJ, Wadee AA: Influence of ultra-endurance exercise on immunoglobulin isotypes and subclasses. *British journal of sports medicine*, 2005;39:665-70.
- 37) Smith JA: Neutrophils, host defense, and inflammation: a double-edged sword. *J Leukoc Biol*. 1994;56:672-86.

## Influences of Judo Training on the Association of Neutrophil Functions in Female Judoists

Tomohiko YANO<sup>1,2</sup>, Ippei TAKAHASHI<sup>1\*</sup>, Hirakawa YUICHI<sup>3</sup>, Shinji FUKUI<sup>4</sup>, Hidemasa TOKUYASU<sup>5</sup>,  
Miyuki KANEKO<sup>1,6</sup>, Syota KANDA<sup>1,6</sup>, Tatsuya IKUSHIMA<sup>1,7</sup>, Takashi UMEDA<sup>6</sup>, Shigeyuki NAKAJI<sup>1</sup>

1 Department of Social Medicine, Hirosaki University Graduate School of Medicine

2 International Pacific University

3 Division of Health Sciences, Department of Health Promotion, Hirosaki University Graduate School of Health Sciences

4 Shokei Gakuin University

5 Tokyo Ariake University

6 Meijo University

7 Matsuyama University

The effectiveness of assessing 3 neutrophil functions (phagocytic activity (PA), stimulated ROS production and basal ROS production) to evaluate physical conditions of athlete was investigated. Subjects were 10 female judoists (7 main and 3 substitute judoists) who were selected for the Japan National Judo team. During the 7-days training camp, measurements were taken in the afternoons of the second day and the 6<sup>th</sup> day of the camp. Subjects experienced the same amount of exercise load (4 hours of “randori”) at both days, and measurements were taken immediately before and after this exercise. Thus, data on leukocyte number, neutrophil number, serum muscle enzymes (AST, ALT, LDH and CK), immunoglobulin (IgG), complement (C3), neutrophil functions (PA, stimulated ROS production and basal ROS production) were collected at four points. As a result, stimulated ROS production significantly decreased after the exercise at the second day of training camp, whereas it significantly increased after the exercise at the 6<sup>th</sup> day of training camp. No significant changes were observed in PA or basal ROS production between before and after the exercise. A significant positive correlations were seen among all three neutrophil functions at the second day of the training camp, however, the only significant positive correlation observed at the 6<sup>th</sup> day of training camp was between PA and stimulated ROS production ( $p<0.01$ ). Therefore, assessment of stimulated ROS production was suggested to be effective for evaluating oxidative stress or physical condition of athletes.

**Key words:** neutrophil functions, phagocytosis, stimulated reactive oxygen species, basal reactive oxygen species, female judoists

別刷請求先：高橋一平

〒036-8562 青森県弘前市在府町5 弘前大学大学院医学研究科社会医学講座

PHONE: 0172-39-5041

FAX: 0172-39-5038

e-mail: ippei@hirosaki-u.ac.jp