

女子バレーボール選手におけるトレーニングによる
脱水が筋組織及び免疫機能に及ぼす影響について
(Effects of dehydration on muscle fatigue and changes
in neutrophil function in university female volleyball
players after a short time training)

申請者 弘前大学大学院医学研究科
総合医療・健康科学領域
スポーツ健康科学教育研究分野

氏 名 神田 翔太

指導教授 若林 孝一

1. 緒言

バレーボール競技は相手チームとの接触がなく、定められた回数で様々な攻撃パターンにより互いにボールを返球しあい、相手コートにボールを落とし得点する競技である。また、コートの広さやネットの高さは各カテゴリーにより違いはあるが、本研究での対象は大学女子 6 人制バレーボールのルールでコート 18m×9m の 2 つに分離、ネットの高さ 2.24m となっている。

バレーボールの競技中において、ジャンプと着地を繰り返し多く行う動作、守備時の低姿勢の保持やボールを素手で打ったりするため膝、足関節、腰部、肩関節への傷害が発生しやすいことが報告されている¹⁾。さらに、バレーボール選手にみられる内科的障害としてジャンプ動作時の着地や全身打撲を起因とするスポーツ貧血も頻発することも報告されている¹⁾。また、これにより幾つかの研究がバレーボール選手において整形外科的メディカルチェックに加え、内科的メディカルチェックも積極的に実施していく必要があることを示唆しているが、これを実施した研究は極めて少ない^{1,2)}。

一方、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³⁾。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⁴⁾。我々の研究グループはバレーボール選手が一過性の高強度トレーニングを実施した場合、トレーニング後に脱水を呈することを報告しているが、バレーボール選手に関する先行研究は少ない⁵⁾。

運動が免疫系に及ぼす影響については様々な報告がなされている。そのなかで、アスリートで実施される一過性の高強度トレーニングそのものがストレスとなりストレス反応を亢進させるという報告がみられる⁶⁻¹⁰⁾。また、他の研究は運動により変性・損傷した筋組織を修復するために炎症反応が亢進することを示唆している¹¹⁾。さらに、一過性の高強度運動中にはこの両者の要因により酸化ストレスが亢進するが、運動後には免疫機能が運動前以下まで抑制されることが幾つかの研究によって明らかにされている¹²⁾。また、競技スポーツ選手が高強度のトレーニングを長期的に実施し、十分に疲労回復がないままこれを継続すると、慢性的な疲労が蓄積し免疫抑制が生じる可能性が考えられている。さらに、これが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を誘発させる要因となることが指摘されている¹³⁻¹⁵⁾。一方、バレーボール選手における一過性のトレーニングと免疫機能の関連を調査した研究はみられない。また、バレーボール選手でトレーニング後にみられる脱水と免疫機能の関連を調査した研究もみられない。すなわち、いまだに明らかにされていないこれらの関連、影響をスポーツ医

科学的観点から明らかにしていくことは、今後のバレーボール選手の活動中、活動後の適切な健康管理、コンディショニング方法を確立させていくためには重要な課題となると考えられる。

そこで、本研究では大学女子バレーボール選手を対象に、一過性の高強度トレーニングによる脱水が免疫機能に及ぼす影響を筋逸脱酵素値、免疫機能から検討した。また、この結果を元にバレーボール選手における活動中、活動後の適切な水分摂取及び栄養摂取方法を検討した。

2. 対象と方法

2-1. 対象

本対象者は、体育系大学の女子バレーボール部に所属する選手 26 名であった。一方、本対象者では練習後に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)。また、これに加え練習前後のヘモグロビン(Hb)、ヘマトクリット値(Hct)を観察したところ有意な上昇がみられる者も存在した。したがって、本研究では全対象者の練習前後のヘモグロビン(Hb)、ヘマトクリット値(Hct)を用いそれぞれの Plasma volume を算出し¹⁶⁾、その比(PV 比)を求め練習後の血中水分の喪失状況を確認した。その結果、PV 比が 1 未満となり明らかに血中水分が喪失した者が 5 名、PV 比が 1 以上となりこれが認められなかった者が 21 名存在することが明らかとなった。したがって、本結果では体重減少に加え練習前後の PV 比が 1 未満となった者を高度脱水群、体重減少に加え練習前後の PV 比 1 以上となった者を軽度脱水群と定義、区分し、以下の解析を行った。

軽度脱水群の身体的特徴は平均年齢 19.6 ± 1.0 歳、身長 167.3 ± 6.6 cm、練習前体重 64.5 ± 5.5 kg、練習後体重 63.9 ± 5.4 、体脂肪率 $26.5 \pm 3.7\%$ 、除脂肪量 47.3 ± 3.5 kg であり、高度脱水群は平均年齢 19.2 ± 0.4 歳、身長 161.0 ± 8.0 cm、練習前体重 62.6 ± 10.6 kg、練習後体重 62.2 ± 10.5 、体脂肪率 $28.5 \pm 5.5\%$ 、除脂肪量 44.3 ± 3.9 kg であった。

本調査は、オフシーズン期で通常の練習を行っていた 2 月に実施した。対象者の期間中のスケジュールは、週 6 日の練習と 1 日の休養日で構成され、1 日約 3 時間の練習を実施していた(表 1)。調査当日には対象者に運動負荷として通常実施しているものとほぼ同じ 2 時間 30 分の練習メニューを試行させた。その内容はストレッチや柔軟体操で構成されたウォーミングアップ 15 分、ランニング 15 分、パス、レシーブの基本練習 15 分、サーブに対するレシーブ練習 15 分、3 人一組で行うサーブ、スパイクに対するレシーブ練習 40 分、スパイク練習 20 分、3 人対 3 人で行うスパイクとレシーブ練習 20 分、ストレッチ等のクーリングダウン 10 分であった(表 2)。

なお、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。

2-2. 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 (TBF-110、東京) を用い、体重、体脂肪率、体脂肪量、除脂肪量をインピーダンス法で測定した。

2-3. 血液生化学検査値の測定方法

採血は、朝食後約 1~2 時間後の練習開始直前と直後に採血を実施した。また、採血した末梢血のうち 2ml はそのまま血球成分と好中球機能の分析に用い、残り 8ml は 3000 回/秒で 10 分間の遠心分離により血清を抽出し、各種血清成分及び血清オプソニン化活性 (serum opsonic activity : SOA) 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と好中球数を測定した。また、筋の変性・損傷状況を把握するため筋逸脱酵素値 (AST、ALT、CK、LDH)、免疫関連項目として免疫グロブリン (IgA、IgG)、補体 (C3、C4) を測定した。また、血清中の抗酸化機能をみる目的で superoxidedismutase (SOD) 活性も測定した。

各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) を用いて測定した。各血清成分の測定方法は AST、ALT、LDH、CK は JSCC 標準化対応法、IgA、IgG、C3、C4 は TIA (免疫比濁法) であった。また、練習後のこれらの値は練習前後の体重の変化から脱水による影響を受けている可能性が考えられたため、練習前後の Hct 及び Hb の値を用いた Plasma Volume により脱水補正を行った¹⁶⁾。なお、本研究における血液生化学検査の全ての項目は三菱メディエンス (株) に委託し、測定した。

2-4. SOA の測定方法

化学発光法 (chemiluminescence : CL) は好中球活性酸素種 (reactive oxygen species : ROS) を感度よく検出するために有効である^{17, 18)}。

本研究では基準好中球が各対象者の血清によってオプソニン化されたザイモザンを貪食する際に産生する ROS 量を CL を用い測定し、これを SOA として評価した。また、この時、化学発光剤としてルシゲニン (Lucigenin、bis-N-methylacridinum nitrate (Sigma, USA)) とルミノール (Luminol、5-amino-2, 3-dihydro-1, 4-phthalazinedion (Sigma, USA)) の 2 種を発光指示剤として用いた。また、本研究ではルシゲニンにより検出された化学発光をルシゲニン依存性化学発光 (Lucigenin-dependent chemiluminescence respons : LgCL)、ルミノールにより検出された化学発光をルミノール依存性化学発光 (Luminol-dependent chemiluminescence respons : LmCL) として評価した。

測定手順として、まず Lg、Lm を NaOH にて溶解し、HCl、NaCl、Hanks' balanced salt solution (HBSS) を加え、最終的に 0.5mM/L (pH 7.4) になるように調節した。次にオプソニン化ザイモザン (OZ) を作成した。すなわち、Zymosan A (Sigma, USA) を 5mg/ml の濃度で HBSS に懸濁し、塊を攪拌するために超音波処理を加えた。ザイモザン懸濁液 (5mg/ml) に対し、速やかに融解した対象者の血清を加え、37℃の

温浴槽にて 30 分間振とうし、オプソニン化を行った。基準となる好中球は 1 人の健常男性から採血し、MONO-POLY RESOLVING MEDIUM (Dainippon Pharmaceutical, Japan) によって好中球を分離し $3.0 \times 10^3 \text{ cells}/\mu\text{l}$ になるように HBSS に浮遊させた。CL の測定は 96 穴マイクロプレート (well capacity $400 \mu\text{l}$, Greiner Japan, Tokyo, Japan) を用い、この好中球浮遊液 $50 \mu\text{l}$ に対し、刺激物質としてオプソニン化ザイモザンを $50 \mu\text{l}$ 、さらに化学発光剤を $50 \mu\text{l}$ 加え、HBSS を $100 \mu\text{l}$ 加えた。最終濃度を 0.1 mM 、総量 $250 \mu\text{l}$ にして自動化学発光計測器 (Auto Luminescence Analyzer, Alfa system (Tokken, Funabashi, Japan)) にて測定した¹⁹⁾。全ての測定は 37°C の環境下で実施された。SOA の評価は発光曲線の最大値 (Peak height: PH) と 45 分間の発光曲線下面積を積分した Area under the curve (AUC) により行った^{19, 20)}。すなわち、本研究では LgCL・PH、LgCL・AUC、LmCL・PH、LmCL・AUC を SOA の測定結果として評価した。

2-5. 好中球活性酸素種 (reactive oxygen species: ROS) 産生能及び貪食能 (phagocytic activity: 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、ヘパリンにて凝固制御した全血 $100 \mu\text{l}$ に HE $22 \mu\text{l}$ を加えた (最終濃度 $8 \mu\text{M}$) 後 37°C で 5 分間インキュベートを行った。PA 測定用の血液サンプルはさらに FITC-OZ $25 \mu\text{l}$ 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 $100 \mu\text{l}$ をコントロールとした (basal state)。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、FACSCantoII 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 $30 \mu\text{l}$ (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取り込まれていない FITC-OZ を除外し測定した^{21, 22)}。

以上の手順に従い最終的に FACSCantoII により、好中球 1 個あたりの平均蛍光強度 (fluorescence intensity: FI) と蛍光陽性細胞率 (%) を検出した。なお、本研究では好中球 1 個あたりの平均蛍光強度により ROS 産生量、PA を評価した。

2-6. 統計処理

結果はすべて平均値 \pm 標準偏差で示した。また、群内における各測定項目の練習前後の平均値の違いは Wilcoxon Signed-rank test を用いた。また 2 群間の各測定項目の平均値 (変化量) の違いは Two-way ANOVA で検討した。さらに、2 群間の

各測定項目の稽古前後の変化率の違いは One-way ANOVA で検討した。また、PV 比と各測定項目の変化の相関関係については Spearman の順位相関係数により評価した。なお、統計学的解析は IBM SPSS Statistics 24 を利用し、いずれの検定も危険率は 5%未満をもって有意とした。

3. 結果

表 3 は対象者の身体的特徴と練習前後の体重の変化を示している。両群共に練習前値に比べ、練習後有意に体重が減少した ($p<0.01$ 、 $p<0.05$)。

表 4 は練習前後の筋逸脱酵素値の変化を示している。両群共に全ての筋逸脱酵素値が練習前値に比べ練習後有意に上昇した (軽度脱水群 $p<0.01$ 、高度脱水群 $p<0.05$)。また、軽度脱水群と高度脱水群の練習前後の比較では ALT において有意な差があった ($p<0.05$)。

表 5 は練習前後の免疫グロブリンと補体の変化を示している。両群共に練習前後で免疫グロブリンおよび補体において有意な変化はみられなかった。

表 6 は練習前後の血清オプソニン化活性の変化を示している。LmCL・AUC の高度脱水群のみ練習前値に比べ練習後有意に減少した ($p<0.05$)。

表 7 は練習前後の白血球数と好中球数の変化を示している。軽度脱水群において白血球数と好中球数共に練習前値に比べ練習後有意に上昇した ($p<0.01$)。高度脱水群では好中球数のみ練習前値に比べ練習後有意な上昇がみられた ($p<0.05$)。

表 8 は練習前後の好中球機能と血清 SOD 活性の変化を示している。好中球 1 個あたりの食食量において軽度脱水群のみ練習前値に比べ練習後有意に減少した ($p<0.01$)。

表 9 は PV 比と各測定項目の変化との相関関係を示している。食食量の変化と PV 比との間に有意な負の相関がみられた ($p<0.05$)。また、有意ではないが ALT の変化と PV 比との間に負の相関傾向がみられた ($p=0.062$)。

4. 考察

トレーニング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³⁾。本結果においても軽度脱水群、高度脱水群共に練習後の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。また、方法でも述べたように高度脱水群は PV 比が未満であり、体重の減少に加え血中水分が喪失し、より強く脱水の影響を受けていたと考えられた。

多くの研究がアスリートにより実施される高強度運動が、彼らの筋組織を変性、損傷させることを明らかにしている²³⁾。また、これらの研究はアスリートにより実施される一過性の運動による筋組織の変性、損傷、あるいは長期的なトレーニングによる筋疲労状況を適切に把握する指標として筋逸脱酵素値の測定が有効とな

ることを示唆している²⁴⁾。さらに、これらの研究は筋逸脱酵素値の増減が、運動の実施時間や強度に影響することも示唆している²⁵⁾。本結果においても両群で全ての筋逸脱酵素値が練習後有意に上昇し、本研究で負荷した練習により筋組織が変性、損傷したことが示唆された。また、ALT の変化量が軽度脱水群に比して高度脱水群で有意に高く、筋組織の変性、損傷が高度脱水群でより顕著となったことが示唆された。さらに、PV 比と ALT の変化の間に負の相関傾向がみられ、PV 比が小さい者ほど練習後 ALT が大きく上昇する可能性が示唆された。すなわち、これは脱水の影響をより強く受けていた高度脱水群では、体水分、すなわち組織中の水分がより多く奪われたことにより、筋組織が練習による物理的衝撃を受け易くなり、より高度に筋組織が変性、損傷した可能性があると考えられた。

好中球の機能は以下のようにまとめられる。すなわち、体内に侵入あるいは体内で発生した異物にオプソニン化物質である免疫グロブリンや補体が接着する（オプソニン化）。オプソニン化された異物は、好中球のレセプターに感知され、その後の貪食、殺菌処理につながっていく^{26, 28, 29)}。殺菌処理のとき重要な役割を果たすのが活性酸素である。したがって、運動により血中に湧出した筋組織は、異物と認識され好中球機能（血清オプソニン化活性、貪食能、好中球活性酸素種産生能、）を活性化することになる。一方、好中球は ROS で異物を殺菌能する反面、ROS が過剰に生成された場合、正常な細胞までも傷つけ組織傷害をもたらす可能性も示唆されている^{26, 28, 29)}。さらに、好中球は ROS を常時産生しているが、異物反応時はその産生が急増するといわれている³⁰⁾。

本研究では運動負荷に伴う好中球機能などの免疫機能の挙動に脱水の程度がどのような影響を与えるかにつき大学生の女子バレーボール選手で検討した。

運動と免疫機能の関連を調査した研究は、一過性の運動実施に伴い免疫機能が活性化し、終了後はこれが運動開始前よりも抑制することを明らかにしている¹²⁾。そのなかで、免疫機能の重要な役割を果たす白血球とその分画である好中球は、運動の実施に伴い上昇し、またその上昇が運動強度に依存することが示されている¹²⁾。すなわち、本結果において両群で白血球数、好中球数が練習後有意に上昇したことは、練習そのものに対するストレス反応と練習により発現した筋組織の変性、損傷により炎症反応が亢進した可能性を示唆していた。また、これがストレスホルモンであるカテコールアミンやコルチゾールや幾つかの炎症性サイトカインを介して発現した可能性があるかと推察された。^{11, 16)}

一方、SOA は体内に侵入あるいは体内で発生した異物に免疫グロブリンや補体が接着し、その後、好中球がこれを効率良く貪食、殺菌処理するための前駆機能である²⁶⁾。また、この機能は白血球やその分画の循環量や機能と同様にストレスホルモンや炎症性サイトカインにより調整されていることが報告されている。^{11, 27)}。すなわち、本結果で高度脱水群のみで練習後、LmCL・AUC が有意に低下したことは、本群で、運動によるストレスホルモンや炎症性サイトカインの変動が液性免疫の機能を低下させたこと、すなわち液性免疫の低下を惹起していたことが示唆された。

一方、運動と好中球機能の中の食食能（SOA）と活性酸素種（ROS）産生能関連を調査した先行研究では、一過性の急性運動負荷後に ROS 産生能が上昇する^{31, 32)}、あるいは減少するという報告をしている^{33, 34)}。また、運動と PA の関連を調査した先行研究でも、一過性の運動後 PA が亢進する、あるいは不変であると報告している^{31, 33, 35)}。また、Gabriel らは激しい運動の実施後に好中球 1 個あたりの PA が低下することを報告している³⁶⁾。さらに、これらの好中球機能はカテコールアミンやコルチゾールといったストレスホルモン、炎症性サイトカインの働きにより調整されることが明らかとなっている^{11, 12, 27)}。一方、我々も様々なスポーツ選手を対象にトレーニングと好中球の関連を数多く調査してきた。また、そのなかで、運動実施前後の ROS 産生能と PA の動態を同時に調査した我々の研究は、比較的日常的（適応の許容範囲内）な一過性の運動負荷後に ROS 産生能が上昇、PA が低下することを示し³⁷⁻⁴⁷⁾、“適応の範囲を超えた”運動負荷後にはそのパターンを逸脱すること（特に ROS の低下）が示唆していた。

本結果において両群でみられた練習後の ROS 産生量の上昇と PA の低下の傾向は、我々の先行研究にかんがみると、本研究で負荷したトレーニング強度が、本対象者の好中球機能において運動負荷に対する“適応の許容範囲内”のパターンであったことを示唆していた。この結果は本研究で負荷したトレーニングにより本対象者でストレス反応が亢進すると共に炎症反応が亢進し、変性、損傷した筋組織を好中球が正常に食食、殺菌処理したことを示唆していた。

一方、この好中球変化のパターンは高度脱水群で軽度脱水群より小さかった。このようなパターンの相違だけで脱水の影響を推し測ることは難しいが、ひとつの可能性として、筋の損傷がより軽度であった軽度脱水群では運動により生じた好中球機能の活性化が高度脱水群よりも早期に終息し、運動前以下まで抑制した（PA の有意な低下）可能性があると考えられた¹²⁾。また逆に、軽度脱水群に比べ筋組織の変性、損傷が顕著であった高度脱水群では異物となった筋組織がより多く、これを殺菌処理するために好中球機能がより高度に活性化され、その回復に時間を要していた可能性が示唆された。

以上の結果より、大学女子バレーボール選手が通常トレーニングを行った場合、同じ強度のトレーニングをしても、脱水による血液中の水分喪失が大きい者ほど、ストレス反応及び筋組織の変性、損傷とこれに由来する炎症反応が高度となり、トレーニングによる生体負荷が大きくなる可能性が示唆された。また、これに伴い高度な脱水がみられる者ほど酸化ストレスへの暴露が長時間になる可能性が示唆された。

一方、本調査を実施した時期は 2 月と脱水に注意を払う期間ではなかったにも関わらず、本結果が得られたことから脱水を伴うようなトレーニングを行う場合には、特に注意を要する夏季だけでなく年間を通じ水分摂取を積極的に推奨すべきであることが示唆された。また、高度脱水群で観察された酸化ストレスの暴露時間の延長に対する健康管理策の一つとして、トレーニング中、後に水分と共にビタミン

ン類をはじめとする抗酸化物質を積極的に摂取しこれらの血中濃度を高めていく必要もあると考えられた^{48, 49)}。

謝辞

本研究にあたり、多くのご支援とご指導を賜りました。大変お忙しい中、終始熱心なご指導を頂いた中路重之教授に深く感謝しております。また、本論文の作成にあたり、梅田孝先生をはじめ社会医学講座の皆様にも多岐にわたりご指導いただきました。感謝の念にたえません。本当にありがとうございました。

5. 文献

- 1) 林光俊：【スポーツ医学検査測定ハンドブック】検査測定における最近のトピックス　メディカルチェックのポイント　バレーボール．臨床スポーツ医学 2004；21 巻臨増：493-7.
- 2) 前田如矢：【バレーボールの医学】バレーボール選手の内科的側面と健康管理．臨床スポーツ医学 1989；6(10)：1069-73.
- 3) 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.
- 4) Murray B. Hydration and physical performance. J Am Coll Nutr 2007;26:542-8.
- 5) 斉藤一雄, 梅田孝, 一柳昇, 古賀稔彦, 矢野智彦, 小川武史, 宮澤眞紀, 高橋一平, 松坂方士, 船橋浩一, 中路重之. 大学女子バレーボール選手の安静時の健康状況とトレーニングによる身体的・精神的コンディションの変化について - 血液生化学検査値と心理テストによる分析 - . 体力・栄養・免疫学雑誌. 2011;21(3):191-200
- 6) Barr SI. Effects of dehydration on exercise performance. Can J Appl Physiol 1999;24:164-72.
- 7) Poortmans JR . Exercise and renal function. Sports Med 1984;1:125-53.
- 8) Coggan AR. Plasma glucose metabolism during exercise in humans. Sports Med 1991;11:102-24.
- 9) Ranallo RF, Rhodes EC. Lipid metabolism during exercise. Sports Med. 1998;26:29-42.
- 10) Plante RI, Houston ME. Exercise and protein catabolism in women. Ann Nutr Metab 1984;28:123-9.
- 11) Pedersen BK, Rohde T, Bruunsgaard H. Exercise and cytokines. In: Pedersen BK, editor. Exercise and immunology. New York: Springer; 1997. p. 89-111.
- 12) Pedersen BK, Nielsen HB. Acute exercise and immune system. In: Pedersen BK, editor. Exercise and immunology. New York: Springer; 1997. p. 5-38.
- 13) Urhausen A, Kindermann W. Diagnosis of overtraining: what tools do we have Sports Med 2002;32:95-102.
- 14) Shephard RJ. Chronic fatigue syndrome: an update. Sports Med. 2001;31:167-94.
- 15) Renstrom P, Johnson RJ. Overuse injuries in sports. A review. Sports Med 1985;2:316-33.
- 16) Elkinton JR, Danowski TS, Winkler AW. Hemodynamic changes in salt depletion and in dehydration. J Clin Invest 1946; 25: 120-9.

- 17) Suzuki K, Sato H, Kikuchi T, Abe T, Nakaji S, Sugawara K, Totsuka M, Sato K, Yamaya K. Capacity of circulating neutrophils to produce reactive oxygen species after exhaustive exercise. *J Appl Physiol* 1996; 81(3): 1213-22.
- 18) Kikuchi T, Suzuki K, Abe T, Satoh H, Endoh T, Hasegawa H, Nakaji S, Sugawara K, Kumae T. Measurement of chemiluminescence from neutrophils in a 96-well microplate using Lumi Box U-800 II. *J Biolumin Chemilumin* 1997; 12(3): 149-53.
- 19) Kumae T. A study of fluorescence measurement using a 96-well microplate by a remodeled parallel luminescent measuring system. *Luminescence*. 1999; 375-381.
- 20) Hasegawa H, Suzuki K, Nakaji S, Sugawara K. Analysis and assessment of the capacity of neutrophils to produce reactive oxygen species in a 96-well microplate format using lucigenin- and luminol-dependent chemiluminescence. *J Immunol Methods*. 1997; 210(1): 1-10.
- 21) Hed J. The extinction of fluorescence by crystal violet and its use to differentiate between attached and ingested micro-organisms in phagocytosis. *FEBS Lett* 1977; 1: 357-61.
- 22) Sahlin S, Hed J, Rundquist I. Differentiation between attached and ingested immune complexes by a fluorescence quenching cytofluorometric assay. *J Immunol Methods* 1983; 60: 115-24.
- 23) Ebbeling CB, Clarkson PM. Exercise-induced muscle damage and adaptation. *Sports Med* 1989; 7: 207-34.
- 24) 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.
- 25) 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.
- 26) Silva MT. Neutrophils and macrophages work in concert as inducers and effectors of adaptive immunity against extracellular and intracellular microbial pathogens. *J Leukoc Biol*. 2010; 87(5): 805-13.
- 27) Pedersen BK, Kappel M, Klokke M. Possible role of stress hormones in exercise-induced immunomodulation. In Pedersen BK, ed. *Exercise Immunology*. New York: Springer 1997: 39-60.
- 28) Pyne DB. Exercise-induced muscle damage and inflammation: a review. *Aust J Sci Med Sport* 1994; 26(3-4): 49-58.
- 29) Duarte JA, Appell HJ, Carvalho F, Bastos ML, Soares JM. Endothelium-

- derived oxidative stress may contribute to exercise-induced muscle damage. *Int J Sports Med* 1993; 14(8): 440-3.
- 30) Smith JA. Neutrophils, host defense, and inflammation: a double-edged sword. *J Leukoc Biol.*1994;56:672-86.)
 - 31) Pyne DB. Regulation of neutrophil function during exercise. *Sports Med.* 1994; 17(4): 245-58.
 - 32) Singh A, Failla ML, Deuster PA. Exercise-induced changes in immune function: effects of zinc supplementation. *Appl Physiol.* 1994; 76(6): 2298-303.
 - 33) Smith JA, Telford RD, Mason IB, Weidemann MJ. Exercise, training and neutrophil microbicidal activity. *Int J Sports Med.* 1990; 11(3):179-87.
 - 34) Hack V, Strobel G, Weiss M, Weicker H. PMN cell counts and phagocytic activity of highly trained athletes depend on training period. *J Appl Physiol.* 1994; 77(4): 1731-5.
 - 35) Ortega Rincon E. Physiology and biochemistry: influence of exercise on phagocytosis. *Int J Sports Med* 1994; 15 Suppl 3: S172-8.
 - 36) Gabriel H, Muller HJ, Kettler K, Brechtel L, Urhausen A, Kindermann W. Increased phagocytic capacity of the blood, but decreased phagocytic activity per individual circulating neutrophil after an ultradistance run. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1995; 71(2-3): 281-4.
 - 37) 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(5): 278-82.
 - 38) Ueno Y, Umeda T, Takahashi I, Iwane K, Okubo N, Kuroiwa J, Miyazawa M, Osato R, Yoneda K, Nakaji S. Changes in immune functions during a peaking period in male university soccer players. *Luminescence.* 2013.07; 28(4): 574-81.
 - 39) Tsubakihara T, Umeda T, Takahashi I, Matsuzaka M, Iwane K, Tanaka M, Matsuda M, Oyamada K, Aruga R, Nakaji S. Effects of soccer matches on neutrophil and lymphocyte functions in female university soccer players. *Luminescence.* 2013.03; 28(2): 129-35.
 - 40) Koga T, Umeda T, Kojima A, Tanabe M, Yamamoto Y, Takahashi I, Iwasaki H, Iwane K, Matsuzaka M, Nakaji S. Influence of a 3-month training program on muscular damage and neutrophil function in male university freshman judoists. *Luminescence.* 2013.03; 28(2): 136-42.
 - 41) Umeda T, Saito K, Matsuzaka M, Nakaji S, Totsuka M, Okumura T, Tsukamoto T, Yaegaki M, Kudoh U, Takahashi I. Effects of a bout of traditional

- and original sumo training on neutrophil immune function in amateur university sumo wrestlers. *Luminescence*. 2008.05-06; 23(3): 115-20.
- 42) 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*. 2008.08; 42(4): 255-9.
 - 43) Umeda T, Yamai K, Takahashi I, Kojima A, Yamamoto Y, Tanabe M, Totsuka M, Nakaji S, Sugawara N, Matsuzaka M. The effects of a two-hour judo training session on the neutrophil immune functions in university judoists. *Luminescence*. 2008.01-02; 23(1): 49-53.
 - 44) Takahashi I, Umeda T, Mashiko T, Chinda D, Oyama T, Sugawara K, Nakaji S. Effects of rugby sevens matches on human neutrophil-related nonspecific immunity. *Br J Sports Med*. 2007.01; 41(1): 13-8.
 - 45) 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: 436-440.
 - 46) Chinda D, Nakaji S, Umeda T, Shimoyama T, Kurakake S, Okamura N, Kumae T, Sugawara K. A competitive marathon race decreases neutrophil functions in athletes. *Luminescence*. 2003; 18: 324-329.
 - 47) Yaegaki M, Umeda T, Takahashi I, Yamamoto Y, Kojima A, Tanabe M, Yamai K, Matsuzaka M, Sugawara N, Nakaji S. Measuring neutrophil functions might be a good predictive marker of overtraining in athletes. *Luminescence*. 2008.09-10; 23(5): 281-201. 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* 2011.05 ; 66 (3) : 533-42.
 - 48) Bishop NC, Blannin AK, Walsh NP, Robson PJ, Gleeson M. Nutritional aspects of immunosuppression in athletes. *Sports Med*. 1999; 28(3): 151-76.
 - 49) Sen CK. Antioxidants in exercise nutrition. *Sports Med* 2001; 31(13): 891-908.

表 1 対象者の 1 週間の練習スケジュール

月曜日	18:00～20:45		
	ストレッチ:30 分 ※基本練習:15 分	スパイク:15 分	ゲーム:最後まで
火曜日	18:00～19:30		
	ストレッチ:30 分 ※基本練習:15 分	スパイク:15 分	ゲーム:最後まで
水曜日	休養日		
木曜日	18:00～20:45		
	ストレッチ:30 分 ※基本練習:15 分	スパイク:15 分	ゲーム:最後まで
金曜日	18:00～19:30		
	ストレッチ:30 分 ※基本練習:15 分	スパイク:15 分	ゲーム:最後まで
土曜日	9:00～13:00		
	ストレッチ:30 分 トレーニング:30 分	※基本練習:60 分 ゲーム:最後まで	スパイク:30 分
日曜日	14:00～19:00		
	ストレッチ:30 分 トレーニング:30 分	※基本練習:60 分 ゲーム:最後まで	スパイク:30 分

※基本練習 : パス、サーブ、トスなどの基本技術の練習

表 2 調査当日に対象者が行った 2 時間 30 分の練習メニュー

※ウォーミングアップ 15 分

ランニング 15 分

パス、レシーブの基本練習 15 分

サーブに対するレシーブ練習 15 分

3 人一組で行うサーブ、スパイクに対するレシーブ練習 40 分

スパイク練習 20 分

3 人対 3 人で行うスパイクとレシーブの実践練習 20 分

※クーリングダウン 10 分

※ウォーミングアップ、クーリングダウン : ジョギング、ストレッチ

表 3 対象者の身体的特徴と練習前後の体重の変化

		軽度脱水群 (n=21)			高度脱水群 (n=5)		
年齢(歳)		19.6	±	1.0	19.2	±	0.4
身長(cm)		167.3	±	6.6	161.0	±	8.0
体重(kg)	練習前	64.5	±	5.5	62.6	±	10.6
	練習後	63.9	±	5.4	62.2	±	10.5
	変化率	-0.9	±	0.6	-0.7	±	0.4
体脂肪率(%)		26.5	±	3.7	28.5	±	5.5
除脂肪量(kg)		47.3	±	3.5	44.3	±	3.9

平均±標準偏差

*:p<0.05, **:p<0.01, 練習前後の比較

表 4 練習前後の筋逸脱酵素値の変化

		軽度脱水群 (n=21)			高度脱水群 (n=5)			2 元配置分散分析 (p 値)	
AST (IU/l)	練習前	27.7	±	7.4		33.6	±	9.9	
	練習後 ^a	33.1	±	9.3	**	40.3	±	12.1	*
	変化率 (%)	19.7	±	13.7		20.1	±	10.3	
ALT (IU/l)	練習前	15.8	±	4.0		26.8	±	11.9	
	練習後 ^a	17.0	±	4.1	**	29.9	±	12.3	*
	変化率 (%)	8.7	±	10.0		12.6	±	7.6	
CK (IU/l)	練習前	559.9	±	282.0		635.6	±	407.4	
	練習後 ^a	740.8	±	393.5	**	831.5	±	574.3	*
	変化率 (%)	32.7	±	20.0		30.3	±	11.5	
LDH (IU/l)	練習前	244.3	±	32.6		263.2	±	39.4	
	練習後 ^a	285.5	±	42.3	**	321.4	±	50.5	*
	変化率 (%)	16.9	±	9.4		22.2	±	5.4	

平均±標準偏差

a: Plasma volume 法により脱水の影響を補正した値

*: p<0.05, **: p<0.01, 練習前後の比較

表 5 練習前後の免疫グロブリン・補体の変化

		軽度脱水群 (n=21)			高度脱水群 (n=5)			2 元配置分散分析 (p 値)
IgA (mg/dl)	練習前	197.8	±	65.7	204.8	±	50.3	0.874
	練習後 ^a	202.4	±	70.2	208.4	±	43.7	
	変化率	1.8	±	5.4	2.9	±	7.8	
IgG (mg/dl)	練習前	1168.4	±	196.1	1057.4	±	154.5	0.875
	練習後 ^a	1203.9	±	252.4	1099.6	±	154.8	
	変化率	2.5	±	7.0	4.2	±	6.2	
C3 (mg/dl)	練習前	92.7	±	10.6	98.6	±	10.2	0.783
	練習後 ^a	94.3	±	12.6	101.0	±	11.2	
	変化率	1.7	±	6.2	2.5	±	7.0	
C4 (mg/dl)	練習前	18.6	±	5.4	23.6	±	9.5	0.367
	練習後 ^a	18.4	±	5.7	23.9	±	10.1	
	変化率	-1.2	±	5.5	0.8	±	5.7	

平均±標準偏差

a: Plasma volume 法により脱水の影響を補正した値

表 6 練習前後の血清オプソニン化活性の変化

		軽度脱水群 (n=21)			高度脱水群 (n=5)			2 元配置分散分析 (p 値)
LgCL・PH (cpm)	練習前	21088.9	±	2578.0	21534.2	±	2690.8	0.615
	練習後	21268.6	±	2609.4	21181.8	±	2022.3	
	変化率	1.3	±	9.0	-0.9	±	10.9	
LgCL・AUC (cpm/sec)	練習前	599757.5	±	70524.4	611944.4	±	76219.9	0.674
	練習後	597899.6	±	69432.9	596259.6	±	58828.4	
	変化率	0.2	±	10.0	-1.8	±	12.2	
LmCL・PH (cpm)	練習前	225025.0	±	15664.7	230606.2	±	22398.2	0.339
	練習後	225074.8	±	15849.5	220467.6	±	17647.5	
	変化率	0.5	±	9.9	-4.0	±	8.7	
LmCL・AUC (cpm/sec)	練習前	5072827.4	±	312063.3	5095129.6	±	218428.3	0.419
	練習後	5032394.4	±	323238.8	4895854.0	±	260734.7 *	
	変化率	-0.5	±	8.9	-3.9	±	2.6	

平均±標準偏差

a: Plasma volume 法により脱水の影響を補正した値

*: p<0.05, 練習前後の比較

表 7 練習前後の白血球数・好中球数の変化

		軽度脱水群 (n=21)			高度脱水群 (n=5)			2 元配置分散分析 (p 値)
白血球数 (/μ)	練習前	6138.1	±	1753.4	6080.0	±	1388.2	0.723
	練習後 ^a	7863.8	±	2208.3	7544.7	±	1336.4	
	変化率	31.2	±	28.6	26.5	±	20.5	
好中球数 (/μ)	練習前	3499.6	±	1352.4	3496.4	±	997.1	0.838
	練習後 ^a	5690.8	±	1853.8	5551.6	±	947.7	
	変化率	74.6	±	56.8	66.1	±	39.8	

平均±標準偏差

a: Plasma volume 法により脱水の影響を補正した値

*: p<0.05, **: p<0.01, 練習前後の比較

表 8 練習前後の好中球機能・血清 SOD 活性の変化

		軽度脱水群 (n=21)		高度脱水群 (n=5)		2 元配置分散分析 (p 値)
好中球 1 個あたりの活性酸素種産生量 (FI)	練習前	66.5	± 49.2	52.1	± 12.4	0.437
	練習後	72.3	± 62.7	92.2	± 100.5	
	変化率	32.7	± 126.8	113.0	± 277.1	
好中球 1 個あたりの食食量 (FI)	練習前	204.5	± 101.2	147.3	± 44.8	0.194
	練習後	126.4	± 22.2	122.3	± 10.8	
	変化率	-30.0	± 22.2	-11.4	± 24.3	
血清 SOD 活性 (%) ^a	練習前	5.2	± 3.3	3.2	± 1.3	0.967
	練習後 ^a	5.5	± 2.3	3.6	± 1.0	
	変化率	39.6	± 72.6	25.4	± 57.7	

平均±標準偏差

a: Plasma volume 法により脱水の影響を補正した値

** : p<0.01, 練習前後の比較

表 9 PV 比と各測定値の変化との相関

AST		ALT		CK		LDH		白血球	
相関係数	P 値	相関係数	P 値	相関係数	P 値	相関係数	P 値	相関係数	P 値
-0.025	0.904	-0.372	0.062	0.174	0.395	-0.029	0.888	-0.118	0.566
好中球		IgA		IgG		C3		C4	
相関係数	P 値	相関係数	P 値	相関係数	P 値	相関係数	P 値	相関係数	P 値
-0.064	0.756	0.148	0.470	0.100	0.626	0.118	0.566	0.078	0.706
LgCL・PH		LgCL・AUC		LmCL・PH		LmCL・AUC			
相関係数	P 値	相関係数	P 値	相関係数	P 値	相関係数	P 値		
0.130	0.526	0.170	0.407	0.314	0.119	0.191	0.350		
ROS 産生量		貪食量		血清 SOD 活性					
相関係数	P 値	相関係数	P 値	相関係数	P 値				
0.012	0.954	-0.440	0.024	0.143	0.485				

相関係数: Spearman の順位相関係数

PV 比: 練習前後の Plasma volume の変化量

和文抄録

大学女子バレーボール選手 26 名を対象に、一過性の高強度トレーニングによる脱水が免疫機能に及ぼす影響を筋逸脱酵素値、好中球機能から検討した。対象者の 2 時間の練習前後で以下の測定を行った。さらにヘモグロビン (Hb)、ヘマトクリット値 (Hct) から Plasma volume を算出し、その比 (PV 比) を求め、練習前後の PV 比が 1 未満となった者を高度脱水群、PV 比 1 以上となった者を軽度脱水群と定義、区分し、以下の調査項目の比較を行った。すなわち、BMI、体脂肪率、体脂肪量、除脂肪量、血液検査 (白血球数、好中球数、筋逸脱酵素値 (AST、ALT、CK、LDH)、免疫グロブリン、補体、血清 superoxidedismutase (SOD) 活性、好中球機能 (活性酸素種産生能、貪食能、血清オプソニン化活性) であった。両群で全ての筋逸脱酵素値が練習後有意に上昇したが、ALT の上昇は高度脱水群で大きかった。血清オプソニン化活性は、高度脱水群でのみ練習前値に比べ練習後有意に低下した。以上より、高度脱水群の筋損傷、免疫能低下が軽度脱水群より顕著であることが示唆された。

英文抄録

The effect of dehydration caused by highly intensive, transient volleyball training on immune function was investigated through assessments of myogenic enzyme values and neutrophil functions. The parameters were measured before and after the 2-hour training. Plasma volume was calculated from hemoglobin and hematocrit value to derive its ratio (PV ratio) to determine the loss of water after the training. Subjects who had PV ratio of less than 1 were classified into a severe dehydration group, and those with PV ratio of 1 or higher was defined as a slight dehydration group. Then each item, including BMI, body fat percentage, body fat mass, lean body mass, blood components (white blood cell count, neutrophil count, myogenic enzymes (AST, ALT, CK, LDH), immunoglobulins, complements, serum superoxide dismutase (SOD) and neutrophil function (reactive oxygen species producing capability, phagocytic ability, serum opsonic activity) were compared between the two groups. Myogenic enzyme values in both groups rose significantly after practice, but the tendency in ALT was noted in the severe dehydration group. SOA decreased significantly in severe dehydration group HD group after practice. Therefore, those players who lose more water during a volleyball training are more likely to experience greater biological load due to changes and damages in muscle tissues, and through oxidative stress.