

アマチュアランナーにおける  
フルマラソン後の血中酸化ストレス評価  
— d-ROM および BAP テストを用いた検証 —

時野谷勝幸<sup>1)</sup>, 石倉恵介<sup>2)</sup>, 羅 圭成<sup>3)</sup>, 海老名慧<sup>4)</sup>, 宮川俊平<sup>1)</sup>, 大森 肇<sup>5)</sup>

**Oxidative stress in the blood  
after full marathon in amateur runner  
- Assessment using d-ROM and BAP test-**

Katsuyuki TOKINOYA<sup>1)</sup>, Keisuke ISHIKURA<sup>2)</sup>, Song-Gyu RA<sup>3)</sup>,  
Kei EBINA<sup>4)</sup>, Shumpei MIYAKAWA<sup>1)</sup>, Hajime OHMORI<sup>5)</sup>

Abstract

This study aimed to observe dynamics of oxidative stress in the blood after full marathon in amateur runners. This study used the oxidative stress markers d-ROM (Diacron-Reactive Oxygen Metabolites) and BAP (Biological Antioxidant Potential) tests to evaluate the degree of oxidative stress and antioxidative capacity in the blood after a full marathon. Twenty-two men and women participating in a full marathon were recruited. The measurement points were the day before the full marathon, immediately after the full marathon, and 1 to 4 days after the full marathon. The measurements were subjective fatigue and blood oxidative stress markers. The subjective fatigue level of 19 people who completed the full marathon showed a significant increase immediately

---

1) 筑波大学医学医療系

Faculty of Medicine, University of Tsukuba

2) 城西大学経営学部

Faculty of Management, Josai University

3) 徳島大学教養教育院

Institute of Liberal Arts and Sciences, Tokushima University

4) つくば国際大学医療保健学部

Faculty of Medical and Health Sciences, Tsukuba International University

5) 筑波大学体育系

Faculty of Health and Sport Sciences, University of Tsukuba

after the full marathon. In addition, the serum C-reactive protein concentration showed a significant increase 1 day after. Serum d-ROM levels showed significant increases immediately after the full marathon, but BAP levels did not change. The results of BAP/d-ROM showed a significant decrease after 1 day. Our findings showed that the d-ROM concentration, which is a blood oxidative stress marker in amateur runners after a full marathon, increases immediately after the full marathon. Moreover, from the results of BAP/d-ROM, it is expected that the damage due to oxidative stress will become larger 1 day later.

Key word: oxidative capacity, prolonged exercise, fatigue.

## I. 緒言

健康運動としてジョギングやランニングを始めたことをきっかけとし、走ることに楽しみを感じ、マラソンに挑戦することになったマラソン愛好家が増加している（一般社団法人東京マラソン財団, 2020）。フルマラソンを完走することには、幸福感や達成感を味わうといったメリットがある。一方で、42.195km という長距離におよぶランニングを行うことによって、身体にとって過度なストレスがかかっていることも事実である（Hessel et al, 2000; Tsai et al, 2001; Howatson et al, 2010; Del Coso et al, 2013; Ryu et al, 2016）。その結果として、フルマラソン後には活性酸素の高まりによって生体がダメージを負う酸化ストレスが生じる（Tsai et al, 2001; Del Coso et al, 2013; Ryu et al, 2016）。Banerjee et al. (2003) は、運動中のミトコンドリア呼吸鎖、虚血再灌流および好中球の活性化によって、活性酸素種（Reactive oxygen species: ROS）が生じることを述べている。このように、長距離走中から ROS が産生され、ROS の産生に生体に対応しきれなくなった状態を示す酸化ストレスの上昇や、炎症が生じていることが報告されている（Hessel et al, 2000; Tsai et al, 2001; Howatson et al, 2010）。過度な酸化ストレスは、パフォーマンスの低下やケガのリスクにつながるため、アスリートにとって

好ましくない（Brancaccio et al, 2010; 都築ら, 2019）。さらに、アマチュアランナーにとっても、この酸化ストレスを軽減したり、回復を早めることは望ましいものと考えられる。したがって、生体内の酸化ストレス度に関する検討を行うことは、フルマラソンに向けてのトレーニング計画やフルマラソン後のより有効な回復手段を講じる上で、有意義なことであると考えられる。

d-ROM（Diacron-Reactive Oxygen Metabolites）テストは、血中の全ての過酸化物を評価することができる。一方で BAP（Biological Antioxidant Potential）テストは、内因性および外因性の抗酸化物質の還元力を測定し、評価することができる（WISMERLL Co., Ltd., 2020）。これらは、指先穿刺レベルの血液量の血漿または血清から測定可能である。加えて、d-ROM および BAP の比を評価することで、酸化還元度も測定することができる。また近年、ヒトの長時間走行中にこれらが上昇する報告も増えている（Tokinoya et al, 2020）。しかしながら、フルマラソン前後および数日間にわたり、d-ROM および BAP テストを用いて、これらの動態を評価した報告は未だ存在しない。激運動後の数日間にわたり、酸化ストレスがどのように変動するかをモニタリングすることは、ランナーがコンディションを整える上で大変意義深いことである。本研究では、アマチュアラ

ランナーにおけるフルマラソン後における酸化ストレスの変動を d-ROM および BAP テストを用いて生体の血中内に存在する物質に対する酸化度、抗酸化能力、酸化還元度を評価することを目的とした。

## II. 方法

### 1) 研究対象者

有酸素運動習慣のある健康な大学生男女 22 名（男性：19 名，女性：3 名）のアマチュアランナーを対象とした。アマチュアランナーとは、資金提供を受けるプロチームや実業団に所属していない者とする。対象者は第 34 回つくばマラソンにおいて、フルマラソンの部に出場した。各対象者の年齢，身長，体重，12 分間走の結果，当日のフルマラソンタイムは Table 1 に示す通りである。対象者に対して，実験期間中の暴飲暴食は控え，十分な睡眠を取るよう指示した。フルマラソン当日のウォーミングアップや水分補給に関しては，対象者に自由に行ってもらった。全ての対象者に対し，事前に研究の目的，内容および安全性について十分に説明を行い，インフォームドコンセントを得た。なお，実験方法については，筑波大学体育系研究倫理委員会の承認を得て行った。なお実験期間中，測定に参加できなかった者，フルマラソンを完走できなかった者を除外した 19 名（男性：17 名，女性：2 名）を解析対象とした。

### 2) 実験プロトコル

実験期間は，フルマラソンの前日（Pre），フルマラソン当日の完走直後（Post），フルマラソン 1 日後（Day1），2 日後（Day2），3 日後（Day3），4 日後（Day4）とした。Post 以外の測定は，一夜絶食後，6 時 30 分～10 時の間に行った。またマラソン当日に影響を与えないようにするため Pre の値は，大会前日に測定を行った。早朝測定では，実験室へ入室後，主観的疲労度の評価を記入させ，採血を行った。Post の測定では，レース終了直後に実験室へ移動させ，同様に測定を行った。当日の気温および湿度は，16.3℃および 66.3%であった（9~15 時までの 1 時間毎の測定平均値）。

血液の採取には，血清分離剤ゲルおよび凝固促進剤入りの血清採血管（8.5mL）を使用した。血清サンプルは，30 分間静置した後，3000rpm で 15 分間遠心分離した。遠心後速やかに分注を行い，分析を行うまで -30℃の冷凍庫で保存した。Post 以外の採血は，一晩絶食状態にし，起床後，朝食前に行った。

### 3) 主観的全身疲労および血清 C 反応性タンパク

客観的な指標と併せて検証するために，フルマラソンにおける主観的な疲労度を評価するために，「0：疲労なし」から「10：今までで最大の疲労」の 11 段階で評価する Numeric rating scale（NRS）を用いた（Ishikura et al, 2014）。

Table 1 対象者の身体組成とフルマラソンタイム

	年齢	身長	体重	BMI	体脂肪率	12 分間走	マラソンタイム
	(歳)	(cm)	(kg)	-	(%)	(m)	(時間:分:秒)
平均	22.0	167.2	60.9	21.7	17.4	3025.3	4:22:37
標準偏差	1.4	6.6	8.1	1.9	5.2	295.9	0:52:02

データはフルマラソンを完走した 19 名のデータである。なお 12 分間走は 2 名実施できなかったため，17 名のデータとなっている。BMI, Body mass index.

またフルマラソンは、酸化ストレスと関連して炎症反応を惹起するため、血清C反応性タンパク（C reactive protein: CRP）を測定した。CRP濃度の測定は、LSIメディエンス株式会社に委託し、日本臨床化学会（JSCC）標準化法に従って分析を行った。

#### 4) d-ROM および BAP テスト

生体内の酸化ストレスを評価するために、活性酸素・フリーラジカルが、体内にある物質を酸化させた際に生じる代謝産物であるヒドロペルオキシドをはじめとした全ての過酸化物を評価することができるd-ROMテストと、アルブミン、ビリルビン、還元グルタチオン、尿酸などの内因性抗酸化物質、ビタミンCやE、ポリフェノールなどの外因性抗酸化物質などの還元力を測定し、評価することができるBAPテストを実施した（WISMERLL Co., Ltd., 2020）。d-ROM および BAP テストには、フリーラジカル解析装置 FREE Carrio Duo (DI-601M, Diacron International 社, イタリア) を用いた。測定手順はマニュアルに従った。

d-ROM は、事前に 37℃ でインキュベートしておいた酢酸緩衝液 (pH4.8) に血清サンプルを 20μL 混合し、鉄イオンの存在下で過酸化物をラジカルに戻した。その後、呈色液である N,N-ジエチルパラフェニレンジアミンを 20μL 混合し、5 分間のインキュベート後に、吸光度を測定した。なお、1 CARR は  $U = 0.08\text{mg H}_2\text{O}_2/\text{dL}$  である。

BAP は、事前に 37℃ でインキュベートしておいた三価鉄塩  $\text{FeCl}_3$  と無色のチオシアン酸塩を反応させ、三価鉄  $\text{Fe}^{3+}$  イオンとして赤く呈色させた。そこに血清サンプルを 20μL 混合し、サンプル中の抗酸化物質の作用で二価鉄  $\text{Fe}^{2+}$  イオンに還元され赤色が脱色させた。その色の変化を光度計で計測し、還元力を抗酸化力として評価した。

また抗酸化力である BAP に対して、どれくらいの血中内に存在する物質に対する酸化度が

生体内に負荷されているかを評価するために、BAP/d-ROM を算出した。これは潜在的抗酸化能を示している（都築ら, 2019）。

#### 5) 統計解析

データは全て平均値±標準偏差 (SD) で示した。全ての図表にあるプロットは個体値である。統計は、一元配置の分散分析 (ANOVA) を用いて行った。ANOVA の結果が有意である場合、事後検定として Bonferroni の多重比較検定を行った。また d-ROM および BAP テストの結果についての相関分析は、ピアソンの相関係数を用いて解析を行った。全ての有意水準は、 $p < 0.05$  とした。

### Ⅲ. 結果

#### 1) 主観的全身疲労および血清 CRP 濃度

主観的全身疲労は、Pre に対して Post から有意な上昇を示した (図 1;  $p < 0.01$ )。またこの上昇は 4 日後まで継続した ( $p < 0.05$  または  $p < 0.01$ )。

血清 CRP 濃度は、Pre に対して Day1 から有意な上昇を示した (図 1;  $p < 0.01$ )。またこの上昇は 4 日後まで継続した ( $p < 0.01$ )。

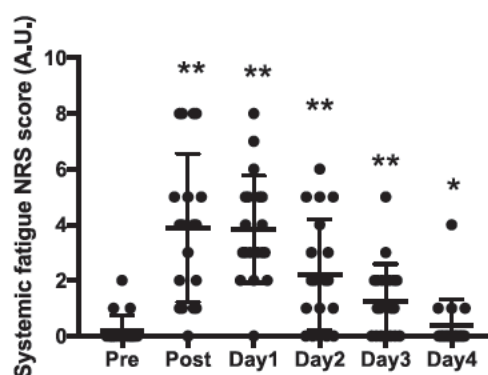


図 1 主観的全身疲労度  
データは全て「平均値±SD」である。アスタリスクは、統計学的に有意であることを示している ( $*p < 0.05$ ,  $**p < 0.01$  vs Pre)

## 2) d-ROM および BAP テスト

血中内に存在する物質に対する酸化度を示す血清 d-ROM 濃度の結果は、Pre に対して Post

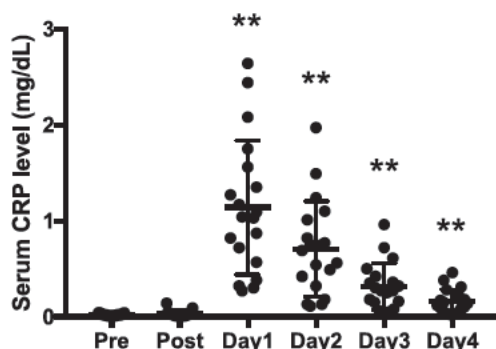


図2 血清 C 反応性タンパク (CRP)  
データは全て「平均値 ± SD」である。  
アスタリスクは、統計学的に有意であることを示している (\*\* $p < 0.01$  vs Pre)

から有意な上昇を示した (図3;  $p < 0.01$ )。またこの上昇は4日後まで有意に高い値を示した ( $p < 0.05$  または  $p < 0.01$ )。一方で、血清 BAP 濃度については、有意な変化を示さなかった。また血清 d-ROM および BAP 濃度の比を解析した結果、Pre に対して Day1 から有意な減少を示した (図3;  $p < 0.05$ )。またこの減少は4日後まで有意に高い値を示した ( $p < 0.05$  または  $p < 0.01$ )。さらに血清 d-ROM と BAP 濃度との間に有意な正の相関関係が認められた ( $p < 0.01$ )。

## IV. 考察

アマチュアランナーにおいてフルマラソンを完走することで、主観的な全身疲労は、運動直後から有意に上昇する結果を得た。また炎症の指標である血清 CRP 濃度についても、1日後

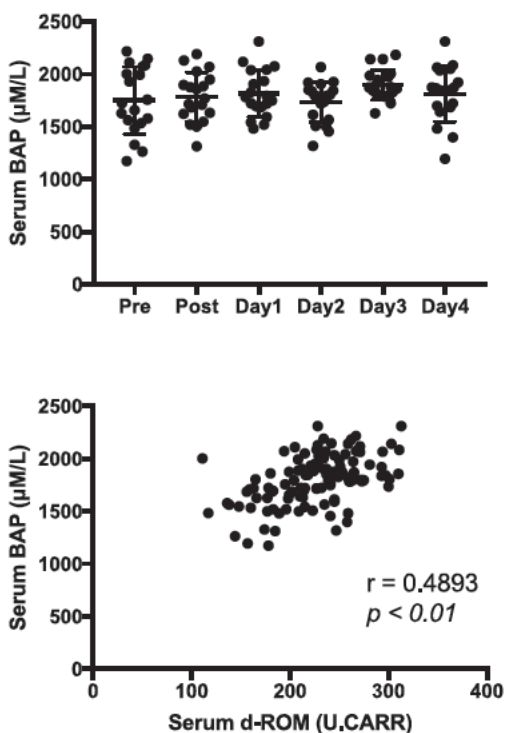
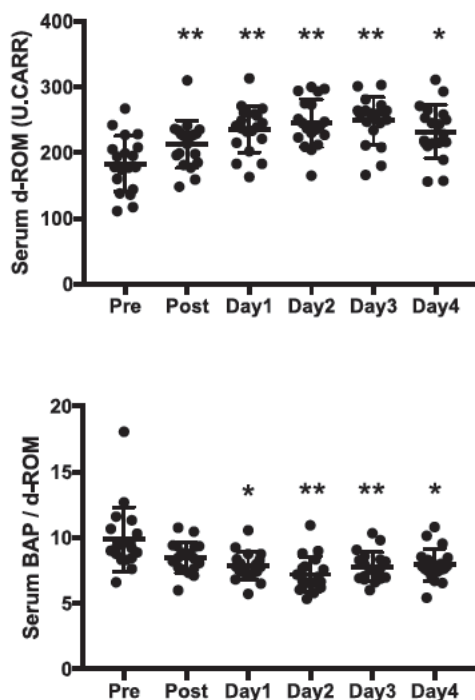


図3 血清 d-ROM および BAP テスト  
データは全て「平均値 ± SD」である。アスタリスクは、統計学的に有意であることを示している (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  vs Pre)

から有意な上昇を示した。これらは、先行研究と一致する結果であった (Ishikura et al, 2014; Howatson et al, 2010)。

酸化ストレスに関しては、血中に存在する酸化される物質の全てを総合した血中の酸化物質であるヒドロペルオキシドを定量することで酸化ストレスの指標とする d-ROM テストにおいて、フルマラソン後から有意な上昇を示した。先行研究において、ウォーキングのようなマイルドな運動後では、血中 d-ROM 濃度に変化がなかったが (Okamoto et al, 2013), 馬の漸増負荷運動後で血中 d-ROM 濃度の有意な上昇が報告されている (Tsubone et al, 2013)。一方で、抗酸化能力の指標である BAP テストでは有意な変化を示さなかった。本研究結果の血清 d-ROM 濃度は、フルマラソン直後から有意に上昇したことから ROS の上昇が想定される。一方で、ROS の上昇によって対抗する抗酸化酵素や酸化物質の上昇が想定されたが、本研究では血中の BAP は、有意な変化を示さなかった。しかしながら、この両者は有意な正の相関関係を示した。これは先行研究とも一致する結果を得ている (永田ら, 2014)。ROS の上昇による酸化ストレスは、抗酸化能力を上昇させることが示唆される。また血清 d-ROM 濃度のみが有意な上昇を示した理由の 1 つとして、本研究はフルマラソンと言う酸化ストレスが強い運動様式であったため、抗酸化能力は高まっていたものの、それが ROS 消去へ使われ続けた結果、血中に抗酸化度を反映する物質として変化を示さなかった可能性が高い。Okamoto et al. (2013) は、コンプレッションウェアを身につけた状態で、一過性のウォーキングをすることによって、血中の BAP 濃度が有意に上昇することを示している。このように運動強度が低い場合は、産生される ROS を消去することが容易であるため、抗酸化能力が上昇する結果を得ていると思われる。

先行研究において、BAP/d-ROM のレース前後の変化率がトライアスロンのレースタイムと

有意な負の相関関係を示したことから、BAP/d-ROM は、パフォーマンス指標になることが考えられる (都築ら, 2019)。加えて、谷口と杉田 (2020) の報告によると、BAP/d-ROM の結果は、コンディショニングやパフォーマンスを予測する指標として有用であることを示している。つまり、血中の BAP/d-ROM を還元型 (BAP の値が高いあるいは d-ROM の値が低い状態) へ傾かせることで、パフォーマンスを向上させることができる一方で、BAP/d-ROM の結果が酸化型 (BAP の値が低いあるいは d-ROM の値が高い状態) に傾くことで、パフォーマンスの発揮が低下すると言える。本研究の血清 BAP/d-ROM の結果は、1 日後から有意な低下を示しており、酸化ストレスによるダメージをフルマラソン直後より強く受けていることが考えられる。BAP/d-ROM の結果がコンディションの不良であることは、谷口と杉田 (2020) が示唆している。つまり、パフォーマンスの低下が想定され、コンディションが悪い状態と判断できるため、トレーニングを実施すべきでないと示唆することができる。加えて、血清 CRP 濃度は 1 日後から有意な上昇を示したため、酸化ストレスによる生体のダメージが炎症反応に密接に関わっていることを示唆している。特にインターロイキン-6 は、CRP の上昇を惹起するサイトカインであり、炎症応答が活性化していることを示唆している。Hessel et al. (2000) は、フルマラソン直後に血中の脂質酸化ストレスマーカーの上昇とともに、炎症を示す白血球数の有意な増加を報告している。他にも長距離走中や走行後に炎症反応が高まることは、数多く報告されている (Tsai et al, 2001; Howatson et al, 2010; Del Coso et al, 2013; Tokinoya et al, 2020)。白血球などは、直接 ROS を放出するため、組織の炎症反応に伴って、酸化ストレスが生じた状態になる。炎症反応が上昇することで、酸化ストレスが上昇した結果、1 日後の BAP/d-ROM は有意な低下を示した可能性が考えられる。本研究では、少量の

血液から d-ROM および BAP テストを用いて評価した結果、先行研究と類似した結果が示されたことから、アマチュアランナーにおいて、これらの指標を用いて侵襲の程度を抑え、同様な評価を行うことが可能であると思われる。

## V. 結論

本研究は、アマチュアランナーを対象にフルマラソン後における血中酸化ストレスを d-ROM および BAP テストを用いて検証することを目的とした。

フルマラソン後に、酸化ストレス指標である血清 d-ROM 濃度が、有意な上昇を示した。血中の d-ROM や BAP は、10 ~ 20 $\mu$ L の血清または血漿で測定が可能であるため、指先穿刺レベルの採血で測定が可能である。測定時間も 5 分程度と短く、非常に現場での応用が期待される測定方法である。酸化ストレスのモニタリングは、生体のコンディションを客観的に判断するためのツールになる。そのために d-ROM および BAP テストの結果を組み合わせ、生体の酸化度、抗酸化能力、酸化還元度を観察することは、アマチュアランナーにとってコンディションの客観的なモニタリング、特に酸化ストレスによる生体ダメージを認知することができる可能性を示唆している。

## 文献リスト

Banerjee AK, Mandal A, Chanda D, Chakraborti S: Oxidant, antioxidant and physical exercise. *Mol Cell Biochem* 253 (1-2): 307-312. 2003.

Brancaccio P, Lippi G, Maffulli N: Biochemical markers of muscular damage. *Clin Chem Lab Med* 48(6): 757-767. 2010.

Del Coso JD, Fernandez D, Abian-Vicen J, Salinero JJ, Gonzalez-Millan C, Areces F, Ruiz D, Gallo C, Calleja-Gonzalez J, Perez-Gonzalez B: Running pace decrease during a marathon is positively related to blood

markers of muscle damage. *PLoS One* 8 (2): e57602. 2013.

Hessel E, Haberland A, Müller M, Lerche D, Schimke I: Oxygen radical generation of neutrophils: a reason for oxidative stress during marathon running? *Clin Chim Acta* 298 (1-2): 145-156. 2000.

Howatson G, McHugh MP, Hill JA, Brouner J, Jewell AP, Someren KA, Shave S, Howatson SA: Influence of tart cherry juice on indices of recovery following marathon running. *Scand J Med Sci Sports* 20 (6): 843-852. 2010.

Ishikura K, Miyazaki T, RA SG, Ohmori H: The ameliorating effect of branched-chain amino acids ingestion on different types of muscle soreness after swimming and full-marathon running. *Adv Exerc Sport Physiol* 20 (1): 9-17. 2014.

Okamoto T, Sakamaki-Sunaga M, Min S, Miura T, Iwasaki T: Acute effect of brisk walking with graduated compression stockings on vascular endothelial function and oxidative stress. *Clin Physiol Funct Imaging* 33 (6): 455-462. 2013.

Ryu JH, Paik IY, Woo JH, Shin KO, Cho SY, Roh HT: Impact of different running distance on muscle and lymphocyte DNA damage in amateur marathon runners. *J Phys Ther Sci* 28 (2): 450-455. 2016.

Tokinoya K, Ishikura K, Yoshida Y, Ra SG, Sugawara T, Aoyagi A, Nabekura Y, Takekoshi K, Ohmori H: LDH isoenzyme 5 is an index of early onset muscle soreness during prolonged running. *J Sports Med Phys Fitness* 60 (7): 1020-1026. 2020.

Tsai K, Hsu TG, Hsu KM, Cheng H, Liu TY, Hsu CF, Kong CW: Oxidative DNA damage in human peripheral leukocytes induced by massive aerobic exercise. *Free Radic Biol*

- Med 31 (11): 1465-1472. 2001.
- Tsubone H, Hanafusa M, Endo M, Manabe N, Hiraga A, Ohmura H, Aida H: Effect of treadmill exercise and hydrogen-rich water intake on serum oxidative and anti-oxidative metabolites in serum of thoroughbred horses. J Equine Sci 24 (1): 1-8. 2013.
- WISMERLL Co., Ltd., <http://www.wismerll.co.jp>, 2020.10.2.
- 一般社団法人東京マラソン財団, <https://tokyo42195.org/data/>, 2020.11.25
- 谷口耕輔, 杉田正明: 高校男子長距離走選手の試合期における酸化ストレス, 心理的状态及び主観的コンディションに関する研究. スポーツパフォーマンス研究 12: 57-72. 2020.
- 都築孝允, 月岡恵惟, 田中智美, 長登 健: トライアスロンのレースにおける酸化ストレスとパフォーマンスとの関連性. 順天堂スポーツ健康科学研究 9 (3): 138-144. 2019.
- 永田勝太郎, 近藤麻乃, 藤森純子, 立瀬剛志: 新しいストレスバイオマーカーとしてのd-ROMs test, BAP test, 修正 BAP/d-ROMs 値 (酸化バランス防御系). ストレス科学 29 (3): 281-292. 2014.