

博士論文

若年男性におけるタウリン摂取がレジスタンス  
運動後の骨格筋および動脈に及ぼす影響

平成 25 年度

筑波大学大学院 人間総合科学研究科  
スポーツ医学専攻

羅 成圭

## 目次

略語一覧	iv
研究業績	vi
第1章 序論	1
1-1. 研究の背景	1
1-2. 研究の目的	3
1-3. 用語の定義	3
第2章 文献研究	5
2-1. タウリン	5
2-1-1. 生体内でのタウリンの分布と代謝	5
2-1-2. 生体内でのタウリンの役割	5
2-1-3. 運動時のタウリン摂取の効果	6
2-2. メタボローム解析	7
2-2-1. メタボローム解析とは	7
2-2-2. メタボローム解析のスポーツ科学への応用	8
2-3. 生体サンプルとしての唾液	9
2-3-1. 生体サンプルとしての唾液の利点	9
2-3-2. 唾液中分泌型免疫グロブリン A (sIgA)	10
2-3-3. 運動と唾液中 sIgA	11
2-4. 筋肉痛	12
2-4-1. 遅発性筋肉痛 (Delayed onset muscle soreness: DOMS)	12
2-4-2. 伸張性運動と遅発性遅発性筋肉痛	13
2-5. 血管内皮機能	14
2-5-1. 血管内皮機能と運動	15
2-6. 動脈スティフネス	15
2-6-1. 動脈スティフネスと運動	16
第3章 本研究の仮説、課題、方法	19
3-1. 本研究の仮説と課題	19

## 第4章 研究課題1: 若年男性における疲労時の唾液中代謝産物の変動

## 4-1. 研究課題1-1: 若年男性における高強度運動による疲労時の唾液中代謝産物の変動: 網羅的解析による検討

4-1-1. 緒言	26
4-1-2. 目的	27
4-1-3. 方法	27
4-1-4. 結果	32
4-1-5. 考察	34
4-1-6. まとめ	37

## 4-2. 研究課題1-2: 若年男性における疲労時の唾液中タウリンの変動: 免疫グロブリンAとの比較

4-2-1. 緒言	38
4-2-2. 目的	38
4-2-3. 方法	39
4-2-4. 結果	42
4-2-5. 考察	46
4-2-6. まとめ	48

## 第5章 研究課題2: 若年男性における血漿タウリン濃度増加のための至適タウリン摂取量の検討

5-1. 緒言	49
5-2. 目的	49
5-3. 方法	50
5-4. 結果	51
5-5. 考察	52
5-6. まとめ	53

## 第6章 研究課題3: 若年男性におけるタウリン摂取がレジスタンス運動後の遅発性筋肉痛に及ぼす影響

6-1. 緒言	54
6-2. 目的	54
6-3. 方法	54
6-4. 結果	56

6-5. 考察	58
6-6. まとめ	59
第7章 研究課題4: 若年男性におけるタウリン摂取がレジスタンス運動後の動脈機能に及ぼす影響	
7-1. 研究課題4-1: 若年男性における血漿タウリン濃度と血管内皮機能および血圧の関係	
7-1-1. 緒言	60
7-1-2. 目的	60
7-1-3. 方法	61
7-1-4. 結果	62
7-1-5. 考察	67
7-1-6. まとめ	69
7-2. 研究課題4-2: 若年男性におけるタウリン摂取がレジスタンス運動後の動脈スティフネスに及ぼす影響	
7-2-1. 緒言	71
7-2-2. 目的	72
7-2-3. 方法	72
7-2-4. 結果	74
7-2-5. 考察	77
7-2-6. まとめ	78
第8章 総合討論	79
第9章 結論	83
謝辞	84
参考文献	85
参考図書	103

## 略語一覧

- ACSM: American College of Sports Medicine (アメリカスポーツ医学会)
- AHA: American Heart Association (アメリカ心臓学会)
- ANOVA: analysis of variance (分散分析)
- BCAA: branched-chain amino acids (分岐鎖アミノ酸)
- BEx: Before exercise (運動前)
- BK: bradykinin (ブラジキニン)
- BMI: body mass index (体格指数)
- BW: body weight (体重)
- CAC: carotid arterial compliance (頸動脈コンプライアンス)
- CE: capillary electrophoresis (キャピラリー電気泳導)
- cfPWV: carotid-femoral pulse wave velocity (頸動脈大腿動脈間脈波伝播速度)
- COX-2: cyclooxygenase-2 (シクロオキシゲナーゼ 2)
- DNA: deoxyribonucleic acid (デオキシリボ核酸)
- DOMS: delayed onset muscle soreness (遅発性筋肉痛)
- EDCF: endothelium-derived contracting factor (血管内皮由来収縮因子)
- EDHF: endothelium-derived hyperpolarizing factor (血管内皮由来過分極因子)
- EDRF: endothelium-derived relaxing factor (血管内皮由来弛緩因子)
- ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay (酵素結合免疫吸着測定法)
- ET-1: endothelin-1 (エンドセリン 1)
- FBG: fasting blood glucose (空腹時血糖)
- FMD: flow mediated dilation (血流依存性血管拡張反応)
- G1P: glucose 1-phosphatate (グルコース 1 リン酸)
- G6P: glucose 6-phosphatate (グルコース 6 リン酸)
- GC: gass chromatography (ガスクロマトグラフィー)
- HDLC: high density lipoprotein cholesterol (HDL コレステロール)
- HOCl: hypochlorous acid (次亜塩素酸)
- HR: heart rate (心拍数)
- Ig: immunoglobulin (免疫グロブリン)
- LC: liquid chromatography (液体クロマトグラフィー)
- LDLC: low density lipoprotein cholesterol (LDL コレステロール)

MDA: malondialdehyde (マロンジアルデヒド)  
MS: mass spectrometry (質量分析器)  
NGF: nerve growth factor (神経成長因子)  
NMR: nuclear magnetic resonance (核磁気共鳴)  
NO: nitric oxide (一酸化窒素)  
PC: principal component (主成分)  
PCA: principal component analysis (主成分分析)  
PGE2: prostaglandin E2 (プロスタグランジン E2)  
PLA2: phospholipase A2 (ホスホリパーゼ 2)  
POMS: profile of mood states  
Post: post measurements (Post 測定)  
Pre: pre measurements (Pre 測定)  
PWV: pulse wave velocity (脈波伝播速度)  
RM: repetition maximum (最大反復回数)  
RNA: ribonucleic acid (リボ核酸)  
ROS: reactive oxygen species (活性酸素種)  
SC: secretory component (分泌成分)  
sIgA: secretory immunoglobulin A (分泌型免疫グロブリン A)  
TauCl: taurine chloramine (タウリンクロラミン)  
TBARS: Thiobarbituric acid reactive substances (チオバルビツール酸化反応物)  
TC: total cholesterol (総コレステロール)  
TCA: tricarboxylic acid (トリカルボン酸)  
TG: triglyceride (中性脂肪)  
TOFMS: time of flight mass spectrometry (飛行時間型質量分析機)  
3M-His: 3 methyl histidine (3 メチルヒスチジン)  
URTI: upper respiratory tract infection (上気道感染症)  
VAS: visual analogue scale (視覚的アナログ尺度)

## 研究業績

この論文は下記の原著論文に、未発表の実験結果を加えてまとめられている。

1. Song-Gyu RA, Teruo MIYAZAKI, Keisuke ISHIKURA, Hisashi NAGAYAMA, Shoichi KOMINE, Yoshio NAKATA, Seiji MAEDA, Yasushi MATSUZAKI, Hajime OHMORI. **Combined effect of branched-chain amino acids and taurine supplementation on delayed onset muscle soreness and muscle damage in high-intensity eccentric exercise.** *J Int Soc Sports Nutr* 2013, 10: 51.
2. 羅 成圭, 崔 英珠, 赤澤 暢彦, 膳法 (宮木) 亜沙子, 大森 肇, 前田 清司. 若年男性における血漿タウリン濃度と血管内皮機能に関する横断研究. *健康支援* 2014, 16: 15-22.

## 第1章 序論

### 1-1. 研究の背景

アメリカスポーツ医学会 (American College of Sports Medicine: ACSM) やアメリカ心臓学会 (American Heart Association: AHA) によって 2007 年に改定されたガイドライン (ACSM 1998; Williams et al. 2007b) では、従来から推奨されてきた有酸素性運動だけでなく、レジスタンス運動をおこなうことが推奨されるようになった。有酸素性運動だけでは、加齢に伴う筋力の低下を抑制することが困難であることが、レジスタンス運動が取り入れられるようになった背景にあると考えられる。レジスタンス運動の中でも特に、伸張性収縮を伴う伸張性運動は、筋力を増加させるだけでなく、加齢に伴って低下する骨密度の維持・増加も期待でき、さらには血糖値や血中コレステロール濃度を低下させるという効果もあることから、レジスタンス運動が推奨されるようになった。レジスタンス運動の中でも、伸張性運動はこのような筋骨格系や代謝に好影響を与えるが、時には骨格筋や血管においては不利益を及ぼす可能性があることも報告されている。

筋量を増加させるためには、レジスタンス運動の中でも、伸張性収縮を伴うレジスタンス運動、すなわち伸張性運動がより効果的である (Paschalis et al. 2011; Roig et al. 2009) 。しかし、伸張性運動は他の収縮様式 (短縮性収縮や等尺性収縮) を伴う運動よりも、筋肉痛や筋損傷が生じやすいことが明らかになっている (Armstrong et al. 1991; MacIntyre et al. 1995) 。競技者においては、パフォーマンスの向上のためには筋量の増加は重要であるが、そのためのトレーニングに伴う筋肉痛はトレーニング自体やコンディショニングの支障となる。一方、一般健常者においても、習慣的に運動をおこなっていない者は筋肉痛が生じやすく、その不快感は運動の習慣化を妨げる一因となっている。すなわち、レジスタンス運動による筋肉痛を、より効果的に、より簡単に防ぐ方法の解明は、競技者だけでなく一般健常者においても重要な課題であると考えられる。

骨格筋だけでなく動脈スティフネスや血管内皮機能は、運動の影響を受けることが報告されている。習慣的な有酸素性運動は、心血管疾患の独立した危険因子であると考えられている動脈スティフネスの増加を改善するということが明らかになっている (Kakiyama et al. 2005; Tanaka et al. 2000) 。一方、レジスタンス運動は有酸素性運動と対照的に、動脈スティフネスを増加させるということが報告されている (Miyachi et al. 2004) 。実際に、レジスタンス運動を習慣的におこ



なっている競技者は、同年代の者と比較して動脈スティフネスが高いことが明らかになっている (Bertovic et al. 1999; Otsuki et al. 2007) . さらに、レジスタンス運動の中でも、一過性の伸張性運動が、運動後の動脈スティフネスを増加させるという報告も存在する (Barnes et al. 2010; DeVan et al. 2005) . これらの先行研究から、伸張性運動は筋骨格系や代謝に好影響を及ぼすものの、動脈機能を低下させる可能性が考えられ、伸張性運動後の動脈機能の低下を抑制する方法の解明は重要な課題である.

含硫アミノ酸の一種であるタウリン (2-アミノエタンスルホン酸) は、哺乳類の骨格筋をはじめ、心臓や神経細胞、脳、肝臓等に多く存在する (Jacobsen and Smith 1968; Huxtable 1980) . 欧米ではサプリメントとして市販されているアミノ酸ではあるが、日本では「医薬品」に分類されるため、サプリメントではなく医薬部外品である栄養ドリンクの主要成分として知られている. 経口的なタウリン摂取は、実験動物 (Miyazaki et al. 2004) やヒト (Balshaw et al. 2013) を用いた実験において、運動パフォーマンスを向上させるということが明らかになっている. タウリンにはそれ以外にも、細胞膜の安定化作用 (Pasantes-Morales et al. 1985) , 抗酸化作用 (Gordon and Heller 1992; Nittynen et al. 1999; Timbrell et al. 1995) , 浸透圧調節作用 (Nieminen et al. 1988; Thurston et al. 1980) , カルシウムイオン恒常性維持作用 (De Luca et al. 1996; Huxtable and Bressler 1973) , 降圧作用 (Schaffer et al. 2000; Takahashi et al. 1997) などが報告されている. しかし、タウリンはこのように「マルチエフェクト」な作用を有するが故に、その作用機序は詳細に明らかにされていないにも関わらず、多くの医薬品や機能性食品に含まれ日常的に摂取されている現状がある.

伸張性運動後の筋肉痛には、酸化ストレス (Close et al. 2004) や細胞内カルシウムイオンの増加による炎症反応 (Bonventre and Sapirstein 2002) が関与していることが先行研究の結果から推測される. また、伸張性運動後の動脈スティフネスの増加にも、酸化ストレスの上昇 (Childs et al. 2001; Margonis et al. 2007) が関与していることが考えられる. 上述のように、タウリンは抗酸化作用やカルシウムイオン恒常性維持作用等を有することから、レジスタンス運動後の動脈スティフネスの増加を抑制する可能性が考えられる. しかし、ヒトにおけるタウリンの経口摂取が伸張性運動後の遅発性筋肉痛や動脈スティフネスに及ぼす影響は明らかになっていない.

## 1-2. 研究の目的

本研究では、タウリン摂取が伸張性運動後の遅発性筋肉痛および動脈スティフネスに及ぼす影響を明らかにすることを主な目的とし、研究課題 3 ではタウリン摂取が伸張性運動後の遅発性筋肉痛に及ぼす影響、研究課題 4 ではタウリン摂取が伸張性運動後の動脈スティフネスに及ぼす影響を検討した。また、研究課題 2 では、研究課題 3 および 4 で用いるタウリンの摂取プロトコルの確立を目指し、至適タウリン摂取量の検討をおこなった。本研究では、タウリン摂取により体内のタウリン濃度を高めることが伸張性運動時の遅発性筋肉痛や動脈スティフネスの予防に有効であるという仮説のもと検討をおこなっているが、身体が疲労症状を引き起こした際に体内タウリンレベルが増加するのかは明らかではない。そこで、研究課題 1 では本研究のベースとして、高強度運動による疲労時に体内タウリンレベルは増加するのかということ、網羅的解析手法および既存マーカーとの比較によって検討した。

## 1-3. 用語の定義

### 若年男性

本研究では、18 歳～34 歳までの男性を若年男性と定義する。

### メタボローム解析

メタボロームとは、代謝産物のことであり、生体内における低分子代謝産物の総称である。本研究では、サンプル中の代謝産物を網羅的に解析する手法をメタボローム解析と定義する。

### 動脈スティフネス

動脈スティフネスは、動脈の硬さを意味し、動脈スティフネスは動脈の構造などの器質的因子だけではなく、神経や血管収縮または拡張因子といった機能的因子など、複合的な要素によって決定される。本研究では、頸動脈-大腿動脈間の脈波伝播速度 (carotid-femoral pulse wave velocity: cfPWV) , および頸動脈コンプライアンス (carotid arterial compliance: CAC) を動脈スティフネスの

指標と定義する.

### 酸化ストレス

生体内の酸化還元状態は、活性酸素の産生とそれに対する抗酸化能のバランスで決定される。  
本研究では、活性酸素の生成が抗酸化能を上回った状況を酸化ストレスと定義する。

## 第2章 文献研究

### 2-1. タウリン

#### 2-1-1. 生体内でのタウリンの分布と代謝

タウリン (2-アミノエタンスルホン酸) は、ヒトの骨格筋をはじめ、心臓や神経細胞、脳、肝臓等に多く存在する含硫アミノ酸類似体の一種である (Jacobsen and Smith 1968; Huxtable 1980) . タウリンは魚介類に多く含まれるため、ヒトにおいては経口的に摂取することが可能である上、肝臓で合成する能力を持っている (Hosokawa et al. 1990; Kaisaki et al. 1995; Reymond et al. 1996) . 生体内におけるタウリンの細胞内への取り込みは、特異的な輸送単体であるタウリントランスポーターによって制御されている. タウリントランスポーターは、細胞内外のタウリンの濃度勾配が増加した際に活性化される. すなわち、組織中のタウリン濃度が増加すればタウリンは体液中に移動し、逆に体液中のタウリン濃度が増加すると組織タウリン濃度の低い組織に取り込まれることになる.

運動時に主に働く器官である骨格筋のタウリン濃度は、発育の過程でその濃度が増加し (福井 1987) , 筋線維の発達に伴って筋線維タイプの違いによるタウリン含有量に差が生じる. ラット後肢ヒラメ筋のタウリン濃度は長趾伸筋の約 2 倍になる (Iwata et al. 1986) . ヒトにおいては、外側広筋におけるタウリン濃度は、Type II 線維と比較し Type I 線維で有意に高濃度である (Blomstrand and Essen-Gustavsson 2009) .

#### 2-1-2. 生体内でのタウリンの役割

タウリンは、1827 年にドイツの生理学者であるフリードリヒ・ティーデマン (Friedrich Tiedemann) と化学者であるレオポルド・グメリン (Leopold Gmelin) によって牛の胆汁の中から発見されたことから、その名はラテン語で雄牛を意味する *taurus* に由来する. 胆汁から発見されたことから分かるように、タウリンは肝臓で胆汁酸と抱合し、胆汁を排泄する作用を持つ (Danielsson 1963; Sjoval 1959) . 上記の役割以外にも、タウリンは、細胞膜の安定化作用 (Pasantes-Morales et al. 1985) , 解毒作用 (Huxtable 1992) , 抗酸化作用 (Gordon and Heller 1992; Nittynen et al. 1999; Timbrell et al. 1995) , 浸透圧調節作用 (Nieminen et al. 1988; Thurston et al. 1980) , カルシウムイオン恒常性維持作用 (De Luca et al. 1996; Huxtable and Bressler 1973) , 神経伝達物質 (Davison and Kaczmarek

1971; Huxtable 1981) や神経調節物質 (Galarreta et al. 1996; Huxtable 1992; Huxtable 1989; Kuriyama 1980; Solís et al. 1988; Wright et al. 1986; Davison and Kaczmarek 1971) としての作用が報告されており、生体において重要なアミノ酸の一種であることがわかる。

タウリンは小胞体におけるカルシウムイオンの取り込みおよび貯蔵容量を増加させ (De Luca et al. 1996) , 細胞膜を安定化し (Huxtable 1980) , 神経興奮を調節する (Davison and Kaczmarek 1971) など、筋収縮に関わる電気生理的・生化学的パラメーターに影響を与えることによって、骨格筋収縮の閾値 (Conte-Camerino et al. 1987) や筋張力 (Goodman et al. 2009) を増加させると考えられている。すなわち、タウリンは運動時にも重要な役割を担っていることが考えられる。

### 2-1-3. 運動時のタウリン摂取の効果

実験動物やヒトを用いた実験において、タウリン摂取が運動パフォーマンスに影響を及ぼすことが示唆されている。Miyazaki et al. (2004) は、ラットに1日体重1kgあたり0, 20, 100, 500mgのタウリンを2週間投与したところ、疲労困憊までの走行運動持続時間がタウリン摂取量依存的に延長したことを報告している。このラットの骨格筋中の酸化ストレス状態の指標となる総グルタチオンに対する酸化型グルタチオンの比が、500mgのタウリンを摂取していた群において運動後に低値を示したことから、タウリンの抗酸化作用が運動パフォーマンスに影響していると考察している。Zhang et al. (2004) は、7日間のタウリン摂取 (2g × 3回/日) が、走行運動によるチオバルビツール酸化反応物質 (Thiobarbituric acid reactive substances : TBARS) の増加を抑制することをヒト実験で確認しており、タウリン摂取によって最大酸素摂取量と仕事量が増加することも併せて報告している。一方、Balshaw et al. (2013) は、運動直前の単回 (1000mg) のタウリン摂取では、最大酸素摂取量は増加しないものの、トレッドミル上での3kmタイムトライアルの時間が短縮したことを報告している。これらのことから、タウリン摂取によって運動パフォーマンスを向上させるためには、摂取量および期間が重要であることが考えられる。先行研究では、主に有酸素性運動パフォーマンスにおいてのみタウリン摂取の効果が検討されており、レジスタンス運動時のタウリン摂取の効果については、検討の余地があることが示唆される。

## 2-2. メタボローム解析

### 2-2-1. メタボローム解析とは

オミクスの歴史においては、ゲノムに続く網羅的データ解析手法として、全リボ核酸(ribonucleic acid: RNA) 解析を目指すトランスクリプトミクス (transcriptomics) が開発された。その次に、タンパク質の網羅的解析 (プロテオミクス: proteomics) がおこなわれ、初期には二次元ゲル電気泳動がおこなわれていた手法も、分析の再現性や検出度の向上のために、近年では液体クロマトグラフィー質量分析による手法が開発され主流となっている。このタンパク質の酵素による代謝動態を捉えるために開発されたのが、メタボローム解析 (メタボロミクス: metabolomics) である。メタボローム解析、すなわちメタボロミクスは、遺伝子やタンパク質を網羅的に解析する技術であるゲノミクスやプロテオミクスに次ぐ、代謝産物 (メタボローム) を網羅的に解析できる次世代の”オミクス (omics)”として注目されている (Yan et al. 2009)。

現在メタボロームは、生体内における低分子代謝産物のひとそろいのセットとして定義されている (Oliver et al. 1998)。このメタボロームには、アミノ酸、アミン、核酸類、糖質、脂質、などが含まれる。原則としてデオキシリボ核酸 (deoxyribonucleic acid: DNA) や RNA、タンパク質は除外されるが、それらの消化物はメタボロミクスの標的となることがある (Ohashi et al. 2008)。ひとつの生体内に存在する代謝産物の総数は、それほど多くない。遺伝子の数と比較すると格段に少なく、ヒトで 3000 種 (Kell 2006) であると報告されている。

メタボローム解析では、数種類の検出装置が用いられるが、その中でも代表的なものが、核磁気共鳴装置 (nuclear magnetic resonance: NMR) や赤外分光器、質量分析器 (mass spectrometry: MS) などである。1990 年代後半からは、液体クロマトグラフィー (liquid chromatography: LC) やガスクロマトグラフィー (gass chromatography: GC) の普及や、キャピラリー電気泳導 (capillary electrophoresis: CE) の開発により、これらと MS を組み合わせることで高感度の検出装置が利用可能となった。

メタボローム解析では、目的代謝物質群の性質に応じて分析装置を使い分けなければならない。現在よく用いられている分析装置は、GC、LC、CE である。GC は、低分子有機酸や芳香族化合物のような揮発性代謝産物の測定に適しているが、定量性に問題があり、特にアミノ酸類の測定は困難であることが報告されている (Williams et al. 2007a) 。 LC は、高分子量のタンパク質や核酸、脂肪酸等の代謝産物が測定可能であり、メタボローム解析の分野で最も多く利用されている。しかし、個々の代謝産物の分離定量という面で劣っており、新たな手法の開発が望まれてきた。CE は、Soga et al. (2000; 2002) の研究グループによって、エレクトロスプレーイオン化を用いて CE と MS を組み合わせた CE-MS が開発され普及されている。LC や GC と比較し近年になって開発されたため、普遍的に利用されてはいないが、極めて高く良好な分離性能を持つことで注目されている (Fig. 2-1) 。

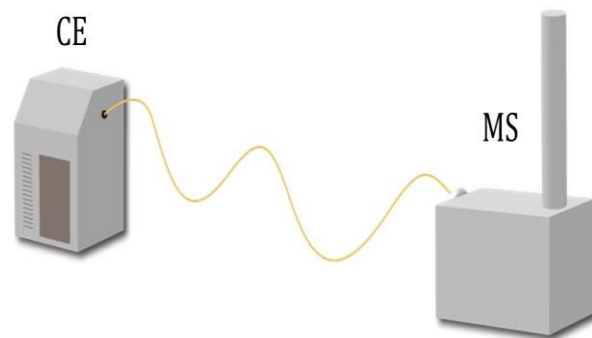


Fig. 2-1 The images of CE-MS instruments. (Modified from Human Metabolome Technologies Inc. HP)

#### 2-2-2. メタボローム解析のスポーツ科学への応用

メタボローム解析は、その分離能と網羅性の高さから、特に医学・薬学分野において、新規バイオマーカーの探索のために多く利用されている。がん研究においては、日本 (Hirayama et al. 2009) やアメリカ (Sreekumar et al. 2009) のグループが、腫瘍組織と非腫瘍組織中の代謝産物を比較することで特定の代謝産物ががんのバイオマーカーとなる可能性を報告している。それ以外にも、糖尿病のリスク評価のためのバイオマーカー (Wang et al. 2011) ，肝障害のバイオマーカー (Soga et al. 2011) ，腎疾患バイオマーカー (Toyohara et al. 2010) ，心血管イベントのバイオマーカー (Goonewardena et al. 2010; Barderas et al. 2011; Vallejo et al. 2009) などがメタボローム解析によって網羅的に探索されている。

2013 年 11 月現在、PubMed における”metabolomics exercise”というキーワードでのヒット件数は、56 件のみである。このことから、スポーツ科学においては未だメタボローム解析という手法が、広く浸透していないことが伺える。中でも、高感度の検出力を持つ装置として近年開発された

CE-MS を応用した研究は、我々の知る限り一報しか存在しない (Lee et al. 2010) .

スポーツ科学においては、運動時のサプリメント摂取が身体に及ぼす影響を、メタボローム解析により網羅的に探索するという手法が多く用いられている。Lee et al. (2010) は、CE-MS を用いて高強度運動時の N-アセチル L-システインの摂取が酸化ストレスに及ぼす影響を検討し、グルタチオンや 3 メチルヒスチジン (3 methyl histidine: 3M-His) , クレアチンなどが減少することを見出した。同様に、フラボノイドの一種であるケルセチン (Wu et al. 2012) や緑茶抽出物 (Hodgson et al. 2013; Miccheli et al. 2009) が、運動時や運動後のエネルギー代謝に及ぼす影響を、NMR や GC-MS, LC-MS を用いて網羅的に解析した報告も存在する。

一方 2009 年以降、メタボローム解析を用いて、一過性もしくは運動トレーニングによって血中 (Yan et al. 2009) や尿中 (Neal et al. 2013) , 肝臓中 (Huang et al. 2010) の代謝産物自体がどのように変化するかを検証し、運動に対する生体の反応を網羅的に探索しようという試みがおこなわれてきた。Enea et al. (2010) は、若年女性における 30 分間の高強度エルゴメーター運動 (75%  $\dot{V}O_{2max}$ ) が、尿中の乳酸、ピルビン酸、 $\beta$  ヒドロキシ酪酸、アラニン等を増加させることを報告している。Huang et al. (2010) は、ラットにおける疲労困憊までの運動により、肝臓中のアミノ酸や脂肪酸が増加し、トリカルボン酸 (tricarboxylic acid) 回路や抗酸化酵素活性が増加したことを GC-MS により明らかにしている。同様に、Yan et al. (2009) も、ボート競技者の高強度な運動トレーニングをおこなった合宿後には、糖代謝、アミノ酸代謝、脂肪酸代謝を亢進させるために血中の代謝産物が増加していることを明らかにした。このようにメタボローム解析は、栄養摂取や運動負荷による生体内の反応を代謝産物のプロファイリングから網羅的に、統合的に判断する手法として近年着目されている。今後、この強力なツールを利用して、スポーツ科学の分野でも研究が進んでいくものと考えられる。

## 2-3. 生体サンプルとしての唾液

### 2-3-1. 生体サンプルとしての唾液の利点

唾液の主な成分は、その 95% が水分であり、残りは電解質と少量の有機成分である。成人の唾液分泌量は、1 日あたり約 1~1.5l とされている。唾液は口腔に開いている 3 対の唾液腺で分泌さ



れる。この腺房から分泌される一次分泌液は、血漿と同じ組成で構成されている。したがって、唾液中の物質濃度は、血清もしくは血漿の濃度よりも若干低い傾向にあるが、その濃度は血中の濃度を反映することが明らかになっている (Cadore et al. 2008; Sannikka et al. 1983)。そのような理由から、唾液サンプルは臨床で広く利用されているサンプルである (Mandel 1990)。唾液サンプルは、血液サンプルと違い非侵襲的に採取することが可能なため (Cook 2002; 久保木 and 藤沢 1986)、よりストレスが少なく採取できるということや、採取のために特別な技術や資格を必要としないという利点を持っている。このような理由から、スポーツの現場でおこなわれる実験で頻繁に利用されている。

### 2-3-2. 唾液中分泌型免疫グロブリン A (sIgA)

免疫系は、抗原に対し非特異的な自然免疫機能と、得意的な獲得免疫機能に分けることができる (Janeway et al., 2003)。自然免疫機能は、分泌液中に含まれる殺菌能力を持った物質や好中球、マクロファージといった貪食能を持った細胞が担当しており、獲得免疫機能は、主にリンパ球と抗体が担当し抗原微生物を抗原として認識し、一連の免疫反応を起こすことで抗原を排除している。近年、口腔内や腸管等の粘膜免疫系が、白血球やリンパ球といった全身性免疫とは異なるシステムとして注目されている (Kiyono et al., 2001)。

呼吸や飲食などによってヒトの体内に病原体が侵入する際には、必ず口腔、鼻腔、気道、腸管などに存在する粘膜を介する。粘膜は、単層の粘膜上皮のみで覆われている脆弱な組織であり (矢田, 2003)、糖タンパク質であるムチンを多量に含んだ粘性のある液体を分泌することで、粘膜上皮と外界との直接的な接触を防いでいる (小林 1986)。この分泌液は抗原に対して非特異的な防御成分と特異的な防御成分を含み、生体の第一防御機構としての役割を担っている。非特異的成分にはリゾチームやラクトフェリンなどが含まれ、特異的成分には免疫グロブリン (immunoglobulin: Ig) が含まれる。Ig には、IgA、IgD、IgE、IgG および IgM の 5 つのサブクラスが存在し、その多くが粘膜上に存在することがわかっている (矢田, 2003)。

粘膜組織から分泌される Ig のうち、約 90% が IgA である。IgA は、特に唾液、涙、尿、乳汁中に多く含まれて粘膜上に存在し (名倉と大谷 1994)、外界から侵入する病原体などに対して特異的

に結合することで、粘膜下への侵入を防ぐ (Lamm et al. 1995) . 粘膜下で産生された IgA は二量体を形成しており、分泌成分 (secretory component: SC) と複合体を形成している. この SC には, IgA をタンパク分解酵素から保護する役割がある. この SC と IgA の複合体である分泌型免疫グロブリン A (secretory immunoglobulin A: sIgA) が, 局所粘膜免疫機能の主体であると考えられており (Lamm et al. 1995) , 日常生活における最も一般的な感染症とされる上気道感染症 (upper respiratory tract infection: URTI) は臨床ではしばしば「カゼ・感冒」と診断されることもあり, その URTI 罹患防御において sIgA が主要な役割を果たしていることがわかっている (Tamura and Kurata 2004) .

### 2-3-3. 運動と唾液中 sIgA

運動は, 生理的ストレスとして自律神経系や視床下部および下垂体を刺激し, 免疫系に影響を与える (赤間ら 2003) . Nieman et al. (1994a; 1994b) は, 運動と URTI 罹患リスクの関係について, 運動習慣のない者と比較して, 中等度の強度および時間の運動をおこなう者は罹患リスクが低く, 高強度な運動をおこなう者は罹患リスクが高いという「J-shaped model」を提唱している (Fig. 2-2) .

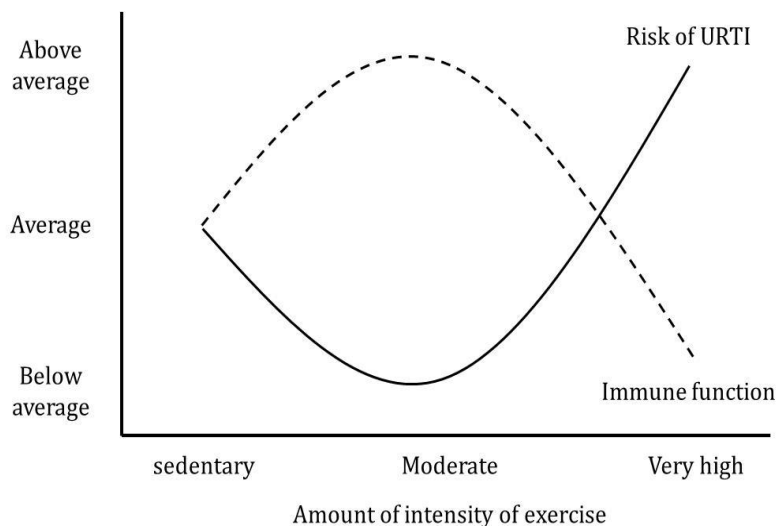


Fig. 2-2 J-shaped model of relationship between varying amounts of exercise and risk of URTI, and immune function (Modified from Nieman et al., 1994a; 1994b).

Klentrou et al. (2002) は, 健康な若年男性に中等強度の運動トレーニングを 12 週間おこなったところ, トレーニング後に唾液中 sIgA レベルが上昇し, URTI 症状が低下する傾向が認められたと

報告している。中高齢者を対象とした研究においても、12ヶ月間の中等強度の運動トレーニングが唾液中 sIgA レベルを上昇させることが確認されている (Akimoto et al. 2003) 。このことから、中等強度の運動トレーニングは、唾液中 sIgA レベルを上昇させ、免疫機能を向上させることが考えられる。

一過性の高強度運動をおこなうと、運動後に免疫機能は低下し、病原体の感染に対して無防備な状態に陥る。これを、open window 説という (Pedersen and Ullum 1994) 。多くの先行研究において、一過性の高強度運動 (秋本ら 1998a; Mackinnon et al. 1987; Mackinnon and Hooper 1994; Tharp and Barnes 1990; Tomasi et al. 1982) ，もしくは高強度運動トレーニング (Otsuki et al. 2012; 山内ら 2009; 秋本ら 1998b; Tharp and Barnes 1990) が唾液中 sIgA レベルを一時的に低下させるということが示されている。このことから、高強度運動を一過性もしくは長期間にわたって実施した場合には、唾液中 sIgA レベルが低下し、免疫機能が低下する可能性が示唆される。また、上記の先行研究のように、運動による疲労時に唾液中 sIgA レベルが低下することから、疲労時の唾液中マーカーとなると考えられ広く利用されている。

## 2-4. 筋肉痛

### 2-4-1. 遅発性筋肉痛 (Delayed onset muscle soreness: DOMS)

不慣れな運動や、慣れている運動でも久しぶりにおこなったり、普段以上に強度の高い運動をおこなったりすると筋肉痛が生じる。運動後数時間から 1 日程度経過してから発現する筋肉痛を「遅発性筋肉痛 (Delayed onset muscle soreness: DOMS) 」という。この DOMS は、収縮している筋線維が伸ばされる伸張性収縮を伴う運動様式において頻繁に発症し (Armstrong 1984; Clarkson et al. 1992; Ebbeling and Clarkson 1989; Fridén and Lieber 1992; Kuipers 1994; MacIntyre et al. 1995; Pyne 1994; Smith 1991) ，短縮性筋収縮や等尺性筋収縮よりも、より顕著に誘発される (Armstrong 1984) 。伸張性収縮を伴う運動様式には、①最大発揮筋力よりも大きな負荷により筋が強制的に伸張される運動、②ダンベルをゆっくりと下ろす動作のように意識的に発揮筋力を負荷よりも小さくして筋を伸張する運動、③衝撃を吸収するために無意識的に筋を伸張させる運動などが含まれる (野坂 2005) 。

DOMS の発生機序の全貌は未だ明らかになっていないが、伸張性収縮に伴って生じる筋や結合

組織の損傷と、その後の炎症反応が原因で (Armstrong 1984; MacIntyre et al. 1995) , 乳酸や筋のスパズムは DOMS の直接的要因ではないと考えられている (MacIntyre et al. 1995; Cleak and Eston 1992) .

#### 2-4-2. 伸張性運動と遅発性筋肉痛

他の運動様式よりも伸張性収縮を伴う筋活動によって、より顕著に DOMS が誘発されることから、伸張性運動は実験的な DOMS 誘発モデルとして用いられ、からだのあらゆる部位を用いて伸張性運動を行い DOMS の研究がなされてきた。

Blais et al. (1999) は、13名の健常男性に120%1RMの強度で、5セット×10回のレッグプレス運動を負荷し、筋肉痛と発痛物質のひとつであるブラジキニン (BK) の測定をおこなった。運動直後から24時間後まで筋肉痛が高値を示し、血中BK濃度は運動直後に有意に増加したことを報告している。Uchida et al. (2009) は、陸軍兵士を対象にベンチプレス運動を負荷し、筋肉痛や炎症性サイトカインの反応を検討した。被験者を運動をしないコントロール群と、50%、75%、90%、110%1RM (repetition maximum) の強度でベンチプレスを行う群の5つのグループに分け実験をおこなったところ、DOMSは強度依存的出現した傾向が確認されたものの、グループ間の有意な差は見いだせなかった。しかし、炎症性サイトカインであり発痛増強物質であるプロスタグランジン E2 (PGE2) が、運動24時間後および48時間後に、110%1RMグループにおいて他のグループと比較し有意に高値を示したことを報告している。

伸張性運動によって DOMS を惹起する実験は、からだの様々な部位を用いて研究がなされてきたが、上腕屈筋群を用いた研究が多く報告されている。Lavender and Nosaka (2006) は、若年男性 (19.4±0.4 歳) と老年男性 (70.5±1.5 歳) の2グループの非利き腕に、40%1RMの強度で伸張性運動 (5回×6セット) を負荷し、DOMS 発生の年齢差の影響を検討している。両グループにおいて DOMS が惹起されたものの、若年者において有意に DOMS が大きかったことを報告している。次いで、Lavender and Nosaka (2008) は、若年男性 (19.4±0.4 歳) と中年男性 (48.0±2.1 歳) を対象に、非利き腕に同様の実験プロトコルを用いて検討を行っている。この実験においても、両グループにおいて DOMS が惹起された。また、DOMS においてのみグループ間に有意な差が確認されており、

若年者においてより高値であったことを報告している。これらのことから、伸張性収縮による DOMS は、中高齢者よりも、若年男性においてより顕著であることが示唆される。

## 2-5. 血管内皮機能

血管内皮細胞は、血管の内膜に存在する一層の細胞層であり、血管平滑筋と血液を隔てている「壁」としての役割だけでなく、アセチルコリン、BK、ずり応力 (shear stress) などの刺激により、多様な血管作動性物質を産生・放出することで血管の恒常性の維持に貢献している細胞である (Thijssen et al. 2008)。血管作動性物質は、大きく 2 種類に区別される。血管内皮由来弛緩因子 (Endothelium-derived relaxing factor: EDRF) には、一酸化窒素 (Nitric oxide: NO) やプロスタサイクリン、内皮由来過分極因子 (Endothelium-derived hyperpolarizing factor: EDHF)、C 型ナトリウムペプチドなどが含まれる。一方、血管内皮由来収縮因子 (Endothelium-derived contracting factor: EDCF) としては、エンドセリン-1 (Endotheline-1: ET-1) やアンジオテンシン II が知られている。

血管内皮機能とは、主に血管内皮細胞から放出される一酸化窒素を介して血管拡張、血液凝固、血管平滑筋増殖などを調整し、血管機能の恒常性を保つ機能である (Landmesser et al. 2004; Widlansky et al. 2003)。アテローム性動脈硬化進行の第一段階は、血管内皮細胞障害であり (Ross 1999)、最近の研究では、血管内皮機能障害は動脈硬化性疾患の有用な予後指標になることが報告されている (Schächinger et al. 2000)。血管内皮機能の評価法には、アセチルコリン反応性冠動脈拡張反応や上腕動脈の血流依存性血管拡張反応 (Flow mediated dilation: FMD)、末梢血管トノメトリーなどの機械的な方法と、E-セレクトリン、von-Willebrand factor などの血液マーカーによる評価法がある (Boos et al. 2008; Deanfield et al. 2007; Meigs et al. 2004)。血管内皮機能の評価法の中でも、上腕動脈の FMD は非侵襲的に測定が可能であり、血管内皮における一酸化窒素合成能力を強く反映する血管内皮機能評価のゴールドスタンダードとされており、臨床的有用性の高い指標であると考えられている (Corretti et al. 2002)。

### 2-5-1. 血管内皮機能と運動

有酸素性運動トレーニングをおこなっている者は、血管内皮機能が高いことがアセチルコリン投与による血管内皮依存性血管拡張反応を用いた検討により報告されている (DeSouza et al. 2000;

Taddei et al. 2000) . また、心疾患患者のように血管内皮機能が低下している場合にも、6ヶ月間の有酸素性運動トレーニングによって血管内皮機能が改善する可能性が報告されている (Hambrecht et al. 1998) . 有酸素性運動が血管内皮機能を改善するメカニズムとしては、これまでに NO の産生量や生物学的利用能の増加 (DeSouza et al. 2000; Taddei et al. 2000) , ET-1 の血管内皮細胞に対する活性の低下 (Van Guilder et al. 2007) が関与している可能性が示唆されている.

有酸素性運動トレーニングとは異なり、レジスタンス運動が血管内皮機能に及ぼす影響を検討した研究は多くはない. Rakobowchuk et al. (2005) や, Casey et al. (2007a; 2007b) の研究では、若年者や中高齢者において、レジスタンス運動トレーニングは FMD に影響を与えなかったことが報告されている. その理由として、有酸素性運動に比べレジスタンス運動は、局所的に shear stress が発生するため、有酸素性運動ほどの血管内皮機能改善効果が認められない可能性が示唆されている (Hornig et al. 1996; Maiorana et al. 2003; Green et al. 2005) .

## 2-6. 動脈スティフネス

動脈を構成する血管壁は、内膜・中膜・外膜の3層構造で構成されている (Fox 2006) . 内膜は、内皮細胞とその下にある少量の結合組織から構成されている. 中膜は、平滑筋細胞と結合組織から構成されている. そして外膜は、主に結合組織で構成されている. 中膜の内側と外膜の外側は外弾性板で覆われており、エラスチン、血管平滑筋、コラーゲンなどの膠原線維から構成されている.

動脈は、主に二つの重要な機能を持っている. 一つは、「血液を運搬する」機能で、心臓より駆出された血液を末梢組織に運搬し、酸素や栄養素を組織へ供給する. もう一つは、「拍動を緩衝する」機能で、左心室収縮期に血液が大動脈に駆出される際、動脈圧が上昇するため動脈が伸展し、その後左心室拡張期に動脈の弾性によって血液を末梢血管に送り込む. この二つ目の機能は、ウィンドケッセル機能と呼ばれ、血液の流れを平滑化するという機能を有している (Nichols and O'Rourke 2005) .

健康な若年者の動脈は、弾性に富んで非常に柔らかい. 加齢に伴い動脈スティフネスは増加するため (Liang et al. 1998; O'Rourke and Hashimoto 2007) , 高齢者の動脈スティフネスは増加してい

る。その機序としては、加齢に伴う ET-1 産生量の増加 (Miyachi et al. 1992; Maeda et al. 2003) や、NO 産生量の低下 (Luscher and Tanner 1993) が関与していることが報告されている。特に中心動脈のスティフネスが増加すると、動脈のウィンドケッセル機能も低下するため、収縮期血圧の上昇と拡張期血圧の低下による脈圧の増加、左室後負荷の増加などが起こる (O'Rourke 1990; O'Rourke and Hashimoto 2007)。この中心動脈スティフネスの増加は、心血管疾患の独立した危険因子となることが報告されている (Najjar et al. 2005)。

#### 2-6-1. 動脈スティフネスと運動

習慣的な身体活動や有酸素性運動は、動脈スティフネスを低下させることが多くの研究によって明らかにされている (Tanaka et al. 2000; Seals et al. 2009)。Vaitkevicius et al. (1993) や Tanaka et al. (2000) は、大動脈のスティフネスと有酸素性運動能力が関連すること、さらに、定期的な運動習慣を持つ者は同世代の運動習慣を持たない者と比較し、動脈スティフネスが低いことを明らかにした。また、運動習慣を持たない者が有酸素性運動トレーニングをおこなうことにより、加齢に伴う動脈スティフネスの増加を抑制できることも明らかになっている (Tanaka et al. 1998)。運動による動脈スティフネスの改善効果は、有酸素性運動トレーニングを 8 週間以上負荷した場合に認められ (Moreau et al. 2003; Kakiyama et al. 2005)、トレーニングの強度は低強度 (Sugawara et al. 2004)、中等強度 (Moreau et al. 2003)、そして高強度 (Sugawara et al. 2006) のいずれの強度でも効果が認められている。

有酸素性運動とは対照的に、レジスタンス運動が動脈スティフネスにおよぼす影響については、一致した見解が得られていない。DeVan et al. (2005) は、若年者における 75%1RM 強度での 9 種類のレジスタンス運動は、運動直後および 30 分後の動脈スティフネスを増加させることを報告している。Barnes et al. (2010) は、一過性の伸張性運動 (最大努力で 20 回×2 セット) を上腕屈筋群に負荷したところ、運動前と比較し運動 48 時間後の動脈スティフネスが有意に増加したことを報告した (Fig. 2-3)。この他にも、一過性のレジスタンス運動が動脈スティフネスを増加させるという報告が散見される (Heffernan et al. 2007a; Fahs et al. 2009; Yoon et al. 2010)。しかし、いくつかの報告では、一過性のレジスタンス運動をおこなっても動脈スティフネスは変化しない (Heffernan et al.

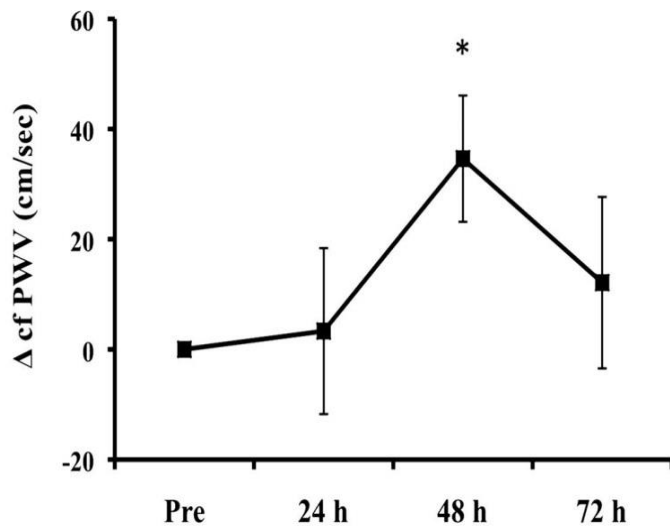


Fig. 2-3 Effect of unilateral elbow flexor eccentric exercise on cfPWV expressed as absolute change from Pre. \*P < 0.05 vs. (Barnes et al., 2010)

いる (Bertovic et al. 1999; Otsuki et al. 2007; Miyachi et al. 2003) . さらに Miyachi et al. (2004) は、運動習慣を持たない若年男性における 8 週間の高強度 (80%1RM) の全身的なレジスタンストレーニングは、動脈スティフネスを約 20%も増加させることを報告した (Fig. 2-4) . 一方で、レジスタンストレーニングは動脈スティフネスを増加させないという報告もある. 若年者における漸増的な (Rakobowchuk et al. 2005) , または高齢男性における局所的 (膝伸展運動) なレジスタンストレーニング (Maeda et al. 2006) では、動脈スティフネスが増加しない可能性が報告されている. この研究結果の不一致には、トレーニング条件の違いが影響している可能性が考えられる. Okamoto et al. (2009) は、健康な若年者における 10 週間のレジスタンストレーニング (80%1RM) において、下肢のみに運動を負荷した群では動脈スティフネスは増加せず、上肢にレジスタンストレーニングを負した群においてのみ動脈スティフネスが増加したことを報告した.

2006; Heffernan et al. 2007b) という報告もある. 上記先行研究の結果の不一致には、運動強度や運動部位の違いが影響している可能性が考えられる.

レジスタンストレーニングをしている若年鍛錬者は、運動習慣を持たない者と比較し、動脈スティフネスが増加していることが報告されて

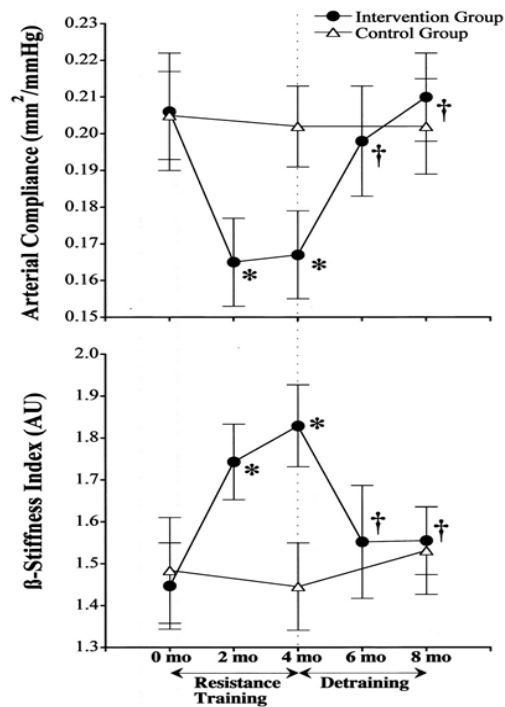


Fig. 2-4 Changes in carotid arterial compliance and  $\beta$ -stiffness index in the intervention group and control group. (Miyachi et al., 2004)



### 第3章 本研究の仮説、課題、方法

#### 3-1. 本研究の仮説と課題

本研究では、若年男性におけるタウリン摂取が、伸張性運動時の遅発性筋肉痛および動脈スティフネスに及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。また、本研究では、疲労時に生体内で増加するタウリンを摂取させ運動前の体内タウリン濃度を高めることで、伸張性運動による遅発性筋肉痛や動脈スティフネスの増加を抑制するという仮説の検証をおこなった。この仮説を検証するために以下の検討をおこなった。

- ①若年男性における高強度運動による疲労時の唾液中タウリンレベルの変化を、網羅的解析手法および既存の疲労マーカールとの比較により検討する。
- ②若年男性における血漿タウリン濃度増加のための至適タウリン摂取量を検討する。
- ④若年男性におけるタウリン摂取が伸張性運動後の遅発性筋肉痛に及ぼす影響を検討する。
- ⑤若年男性におけるタウリン摂取が伸張性運動後の動脈スティフネスに及ぼす影響を検討する。

本研究の目的を達成するために、以下の研究課題を設定した。

#### 1. 若年男性における高強度運動による疲労時の唾液中代謝産物の変動：網羅的解析による検討【研究課題 1-1】

高強度運動を繰り返すと、多くのエネルギー消費のために代謝が亢進する。生体内の代謝産物はエネルギー代謝の結果を反映するため、代謝プロセスを理解する上で有益な情報となることで近年着目されている。研究課題1では、繰り返される高強度運動による疲労時に、どのような代謝産物の変化が起きるのか、また、疲労時には体内タウリンレベルは増加するのかということを検討した。

#### 2. 若年男性における疲労時の唾液中タウリン濃度の変動：免疫グロブリン A との比較【研究課題 1-2】

研究課題 1-1 により、疲労時には唾液中タウリンが増加することが明らかになったが、疲労という要素のみがタウリンレベルの変動に影響を与えたとは断定できない。そこで研究課題 1-2 では、疲労時に唾液中で低下することが明らかになっている sIgA の変動と唾液中タウリン濃度の変動を比較することで、高強度運動による疲労によってタウリンが増加するのか否かを検討した。また、研究課題 1-1 では明らかにできなかった、疲労時の唾液中タウリンの絶対値の変動も明らかにする。

### 3. 若年男性における血漿タウリン濃度増加のための至適タウリン摂取量の検討【研究課題 2】

研究課題 1-1 および 1-2 の結果から、疲労時には体内でタウリン濃度が増加する可能性が示唆された。タウリンは、運動時に血糖維持作用や抗酸化作用があることが報告されており、疲労時のタウリンの増加は疲労に抗う生体の反応である可能性が考えられる。すなわち、運動前にタウリンを摂取して体内濃度を高めておけば、運動時の疲労による身体機能の低下を抑制できるかもしれない。しかし、運動時の疲労に有効なタウリン摂取量については明らかではない。研究課題 2 では、若年男性における血漿タウリン濃度増加のための至適タウリン摂取量を検討した。

### 4. 若年男性におけるタウリン摂取がレジスタンス運動後の遅発性筋肉痛に及ぼす影響【研究課題 3】

伸張性運動をおこなうと、運動後数日間にかけて遅発性筋肉痛が生じることが多くの研究から明らかになっている。この遅発性筋肉痛の発生には、一部酸化ストレスが関与している可能性が考えられる。タウリンは運動誘発性酸化ストレスに対する抗酸化作用があることが報告されていることから、研究課題 3 では、若年男性におけるタウリン摂取が伸張性運動後の遅発性筋肉痛に及ぼす影響を検討した。

### 5. 若年男性における血漿タウリン濃度と血管内皮機能および血圧の関係【研究課題 4-1】

多くの動物実験や心血管疾患患者を対象とした臨床研究により、タウリンが降圧・抗動脈硬化作用を有することが報告されている。一方、動脈スティフネスの増加は心血管疾患の独立したリスクファクターであり、動脈スティフネス増加の第一段階は血管内皮機能障害であると報告されてい

る。一方、若年男性は同年代の女性と比較して、血圧と動脈スティフネスが高く、血管内皮機能が低いことが明らかになっている。しかし、健康な若年男性における血漿タウリン濃度と血管内皮機能や血圧の関係は明らかになっていない。そこで、研究課題 4-1 では、健康な若年男性における血漿タウリン濃度と血管内皮機能の関係を検討した。

#### 6. 若年男性におけるタウリン摂取がレジスタンス運動後の動脈スティフネスに及ぼす影響【研究課題 4-2】

レジスタンストレーニングをおこなうと、動脈スティフネスが増加することが報告されているが、一過性のレジスタンス運動が動脈スティフネスに与える影響については一致した見解が得られていない。しかし、一過性の伸張性運動は動脈スティフネスを増加させるという報告がある。動脈スティフネスの増加には、血圧と酸化ストレスの上昇が関与している可能性が報告されていることから、タウリン摂取が伸張性運動後の動脈スティフネスの増加を抑制する可能性が考えられる。研究課題 4-2 では、若年男性におけるタウリン摂取が伸張性運動後の動脈スティフネスに及ぼす影響を検討した。

### 3-2. 本研究で用いた方法

#### 1. 身長、体重、BMI、体脂肪率の測定

身長は 0.1 cm 単位、体重は 0.1 kg 単位で計測をおこなった。BMI は、 $\text{体重} / (\text{身長})^2$  (kg / m<sup>2</sup>) として算出した値である。体脂肪率は、体重体組成計 (HBF-345IT, オムロンヘルスケア社製) を使用して測定した。

#### 2. 血液生化学データの測定

採血は、8 時間以上の絶食状態でおこなわれた。採血後、血液は 4°C、3000 rpm で 15 分間遠心分離し、測定まで -80°C で保存した。血漿を用いて空腹時血糖 (fasting blood glucose: FBG) を測定し、血清を用いて総コレステロール (TC)、HDL コレステロール (HDL-C)、中性脂肪 (TG) の測定をおこなった。それぞれの測定方法は、FBG は GOD Immobilized Membrane-Oxygen Electrode 法、

TC は Cholesterol oxidase HDAOS 法, HDLC は Modified Enzymatic 法, TG は GPO-HDAOS 法を用いた。また, LDL コレステロール (LDLC) は Friedewald の式 ( $LDLC = TC - HDLC - TG / 5$ ) を用いて算出した。

### 3. 血漿アミノ酸濃度

唾液中アミノ酸濃度測定のため, 得られた血漿サンプルと 3 % スルホサリチル酸水溶液を等量混和し, 冷蔵庫で 1 時間放置した。その後, 遠心分離器 (4°C, 3000 rpm, 15 min) でタンパク質を分離させ, 上澄み液を 0.45 μM のフィルタでろ過し, 測定まで -80°C で凍結保存した。測定は, 筑波大学研究基盤センター分析部門に委託し, 全自動アミノ酸分析機 Amino acid analyzer (JEOL JLC-500/V2, 日本電子株式会社製) を用いておこなった。

### 4. メタボローム解析 (CE-MS 法)

唾液中代謝産物の網羅的解析には, CE-MS 法によるメタボローム解析を用いた。CE は内径 50 μm の熔融シリカキャピラリー内に電解質溶液を満たし, その両端に数十 kV の高電圧を印加して, サンプル中のイオン性物質を電荷・溶液粘度・イオン半径に基づき生まれる移動速度の違いによって分離する手法である。分離された代謝産物は, キャピラリー出口に接続した MS によって検出した。本博士論文では, 質量分析装置として飛行時間型質量分析計 (TOFMS) を用いた。測定は, ヒューマン・メタボローム・テクノロジーズ株式会社に委託した。

### 5. 簡易心拍数の測定

簡易的な起床時心拍数 (heart rate: HR) は, 心拍数測定器具 (SM-66, Skynie 社製) を用いて, 被験者自ら測定をおこなった。測定は 3 回おこなわせ, 3 回の測定値の平均値を解析に用いた。

### 6. 血圧, 心拍数, 脈波伝播速度 (Pulse wave velocity: PWV) の測定

室温を 24~26°C の一定温度に維持し, 静かな暗室において, 仰臥位にて 20 分以上安静にした後に血圧脈波検査装置 (form PWV/ABI, 日本コーリン社製) を用いて, 血圧, 心拍数, 脈波伝播速

度を3回測定し、それらの平均値を採用した。血圧は右上腕において計測した3回の平均値を採用した。頸動脈大腿動脈間PWV(carotid-femoral PWV: cfPWV)は、左頸動脈と左大腿動脈の2点の脈波波形をアプラネーショントノメトリーセンサーにより同時記録し、2点間距離を脈波が通過する時間差(圧波形の立ち上がり点の時間差)で除した値をcfPWVの値とした。2点間の距離の測定は、非伸縮性メジャーを用いて、頸動脈センサー装着部位-大腿動脈センサー装着部位間を3回計測し、その平均値を採用した。

## 7. 頸動脈コンプライアンスの評価

頸動脈コンプライアンスの算出には、右総頸動脈の超音波画像とアプラネーショントノメトリーにて測定した左頸動脈圧より非侵襲的な方法を用いた。計測は超音波装置(EnVisor, Philips社製)と7.5MHz高分解能リニアプローブを用いて、血圧と心拍数を計測後(安静状態)、右総頸動脈(頸動脈洞から1~2cmの部位)の縦断面画像をBモードで記録した。測定、または解析をおこなう検者は一人とし、動脈血管壁の境界面が明瞭に記録できるポイントで記録をおこなった。画像解析は、画像解析ソフトを用いて収縮期と拡張期に一致するポイントにおいて、最大血管径と最小血管径を測定した。一つの画像につき、三箇所の径を測定した。データの値には、10画像の平均値を用いるものとした。頸動脈コンプライアンス(carotid arterial compliance: CAC)は、血管径(面積)変化(dA)と局所の脈圧(dP)より、 $CAC = dA/dP$ で算出した。ただし、 $dA = \pi \cdot [(D + dD)/2]^2 - \pi \cdot (D/2)^2$ (D, 血管径; dD, 血管径変化量)とした。算出に用いる局所脈圧(dP)は、単に上腕血圧を用いるのではなく、トノメトリーセンサーより得られた3回の形動脈圧の平均値を補正した値として用いた。これは、平均血圧と拡張期血圧は部位による差異はないが、収縮期血圧は異なるという原理に基づくものとした(Van Bortel et al. 2002)。

## 8. 血流依存性血管拡張反応(Flow mediated dilation : FMD)

%FMDは前腕反応性充血時の上腕動脈におけるずり応力の増加刺激に対する上腕動脈の血管拡張率から算出した。対象者はベッドに仰臥位となり、15~20分間の安静をとった後、利き腕に反応性充血を引き起こした。反応性充血は前腕にカフを巻き、巻いたカフを安静時の収縮期血圧に

50mmHg 加えた圧にて 5 分間駆血し、その後急激に圧を開放し引き起こした。上腕動脈血管径はカフ圧迫前とカフ解放後 3 分間において連続計測した。上腕動脈血管径は、超音波診断装置 (UNEX イーエフ 18G, ユネクス株式会社製) を使用し記録した。血管径は上腕動脈長軸画像を記録し、前壁と後壁の内膜表面間の距離として測定・解析した。本研究の FMD の測定と解析はガイドライン (Thijssen et al. 2011) に従い、測定に習熟した検者が 1 名でおこなった。

## 9. 唾液の採取

唾液採取は、運動や食事による影響を考慮するために、起床後、朝食を摂取する前 (午前 5-7 時) におこなった。唾液採取については、赤間ら (赤間ら 1995) の報告による方法を用いた。まず、蒸留水約 30ml で口腔内を 30 秒間十分にゆすぎ、吐き出させた。これを 3 回繰り返す、続いて 5 分間の座位安静後、口腔内の唾液をすべて嚥下させ、唾液試料採取用器具 (Salimetrics Oral Swab, Salimetrics 社製) 内の滅菌綿を、1 秒間に 1 回のペースで計 1 分間咀嚼することによって、新たに分泌された唾液を綿に吸い取らせ、唾液を採取した。試料は採集後、遠心分離 (3000rpm, 15 分間) して得られた唾液を分注し、容量を測定後、 $-80^{\circ}\text{C}$  で保存した。

## 10. 心理状態検査 (Profile of mood states: POMS)

POMS (日本語版 POMS 短縮版, 金子書房) を用いて心理検査を実施した。日本語版 POMS 短縮版は、30 項目から気分や感情を主観的に測定する検査であり、緊張-不安 (T-A) , 抑うつ-落ち込み (D) , 怒り-敵意 (A-H) , 活気 (V) , 疲労 (F) , 混乱 (C) の 6 つの気分尺度から心理状態を検査する。日本語版 POMS 短縮版は 65 項目からなる日本語版 POMS と同様の結果を呈し、かつ項目が少なく被験者の負担が少ないため、実験的研究における利用に適している。これらのことから、本博士論文では日本語版 POMS 短縮版を採用した。

## 11. 遅発性筋肉痛の評価方法

遅発性筋肉痛は、Visual analogue scale (VAS) 法を用いて評価した。100 mm の直線に、10 mm 毎に目盛りを付し、痛みが全くない状態を”0”、今まで経験した最大の痛みを”100”とした。本博士論

文におけるレジスタンス運動は，上腕屈筋群に負荷したため，主働筋である上腕二頭筋の痛みを評価した．検者が上腕二頭筋の筋腹の中心と，そこから近位および遠位 3 cm の 3 カ所を同時に 3 本指で押した際の痛みを，被験者自らが目盛り上に記した．検者間誤差を避けるために，検者は 1 人がおこなった．

## 12. プラセボおよびタウリンの摂取

タウリンは，タウリン散 98%「大正」（大正製薬株式会社製）を用い，摂取量は 1 日あたり 6 g を毎食後（2 g×3 回）に経口摂取させた．プラセボは，ラクトース（乳糖）を用い，摂取量は 1 日あたり 6 g を毎食後（2 g×3 回）に経口摂取させた．プラセボおよびタウリンは，内容物が外見上識別できないよう内容物の確認できない包装紙で包装し，重さを統一することで，被験者が区別できないようにした．本研究では，上記のようなプラセボおよびタウリンを，各研究課題の摂取期間に従い摂取させた．

## 第4章 研究課題1: 若年男性における疲労時の唾液中代謝産物の変動

### 4-1. 研究課題1-1: 若年男性における高強度運動による疲労時の唾液中代謝産物の変動: 網羅的解析による検討

#### 4-1-1. 緒言

高強度運動を繰り返しおこなうと、疲労症状をきたすことがしばしば観察される。これまでの多くの研究では、心拍数、体重、そして心理状態の変化によって、疲労症状を把握する試みがおこなわれてきた。疲労時には、起床時の心拍数が増加し (Koutedakis et al., 1990) , 体重は減少する (Budgett 1998) 。また、心理状態の検査法のひとつである POMS の「fatigue (疲労)」のスコアが増加し、「vigor (活気)」のスコアが低下すること (Koutedakis et al., 1990) が報告されている。

タウリンは、骨格筋をはじめ、心臓や肝臓等に多く存在する含硫アミノ酸の一種で (Jacobsen and Smith 1968; Huxtable 1980) , 健康成人男性の血漿中には 30~50 nmol/ml 存在する (Blomstrand et al., 1999) 。Cuisinier et al. (2002) は、成人男性に 90 分間の自転車運動を負荷すると、血漿タウリン濃度が増加することが報告している。同様に、石倉ら (2008) も、成人男性における 120 分間の自転車運動は、血漿タウリン濃度を増加させることを報告している。タウリンは、運動時の血糖低下を抑制する作用 (石倉ら 2008) や、脂質酸化を亢進させる作用 (Rutherford et al. 2010) , また骨格筋の張力を増加させる (Goodman et al. 2009) などといった作用があることが報告されている。これらの背景から、繰り返される高強度運動によって疲労した場合にも、体内のタウリン濃度が増加する可能性が考えられる。しかし、疲労時に体内のタウリンレベルが増加するの否かについては明らかになっていない。仮に、疲労時に体内タウリンレベルが増加するならば、タウリンは疲労時に重要な役割を果たしている可能性が示唆される。また、このことが明らかになれば、運動前にタウリンを摂取し体内レベルを高めておくことが、レジスタンス運動後の遅発性筋肉痛や動脈ステイフネスの増加を抑制するのに有効であるという仮説を支持する根拠になるとと思われる。

唾液中の物質濃度は、血液中の物質濃度よりもわずかに低値を示す可能性が示唆されているが、血液中の物質濃度を反映するサンプルとして信頼されている (Cadore et al. 2008; Sannikka et al. 1983) 。また、唾液の採取は血液サンプルと違い、非侵襲的に採取することが可能である点で、被



験者にかかる負担が少ないという利点を持つ。そこで本研究課題では、体内のタウリン濃度を測定するサンプルとして、唾液サンプルを用い、高強度運動による疲労がタウリンレベルに及ぼす影響を検討した。

#### 4-1-2. 目的

若年男性における連続した高強度運動による疲労時の体内のタウリンレベル変動を、唾液サンプルを用いて検討する。

#### 4-1-3. 方法

##### 対象

男子大学サッカー選手 122 名 (20.6 ± 0.1 歳) を対象とした。被験者の身体特性を Table 4-1 に示した。すべての対象者に研究の目的や方法を説明し、不利益を受けずに随時、測定を拒否できることを確認した。研究での測定データの使用に関する説明を個別におこない、書面にて測定データ使用の同意を得た。本研究は、筑波大学・体育系研究倫理委員会の承認を受けおこなわれた。

**Table 4-1** Subject's characteristics.

n	122
Age, year	20.6 ± 0.1
Height, cm	173.8 ± 0.1
Body weight, kg	65.8 ± 0.1
Body mass index, kg/m <sup>2</sup>	21.7 ± 0.1
Heart rate, beats/min	57.9 ± 0.1

Values are mean ± S.E.

##### 測定方法

Fig. 4-1 に、本研究課題の全体の実験プロトコルを示す。本研究は、男子大学サッカー部におけ

る、3日間の連続した試合合宿を対象におこなった。被験者は、Pre 測定の開始 8 時間前からの食事、12 時間前からのカフェインおよびアルコールの摂取、24 時間前からの激しい運動を控えた。各被験者の測定時間は、実験期間中、すべて同じ時間帯 (午前 5-7 時) におこなった。すべての測定は静かな部屋でおこない、室温を  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  に制御した。食事による実験への影響を避けるために、すべての被験者は、試合合宿の前日の夜から実験終了まで、同じ食堂で同じ内容の食事を摂取させた。

### 測定項目

Pre および Post measurements において、起床時 HR および BW の測定と、POMS の検査を実施し、唾液採取もおこなった。Pre measurements は安静時の状態の測定として、すべての被験者が試合合宿開始 1 ヶ月以上前に、測定をおこなった。Pre measurements の前日は被験者に対して、運動実施とアルコールの摂取を控えさせ、普段通りの食事内容を維持するよう指示した。また、試合合宿最終日の翌日にも同様の測定をおこなった (Post measurements)。この 2 日間の HR, BW, POMS の測定をもとに疲労した被験者を抽出し、疲労したと判定した被験者の唾液サンプルを用いてメタボローム解析をおこなった。

### 疲労した選手の抽出方法

試合合宿前と比較して試合合宿後に、先行研究に基づき設定した次のいずれかの条件を満たした被験者を疲労した被験者とした。

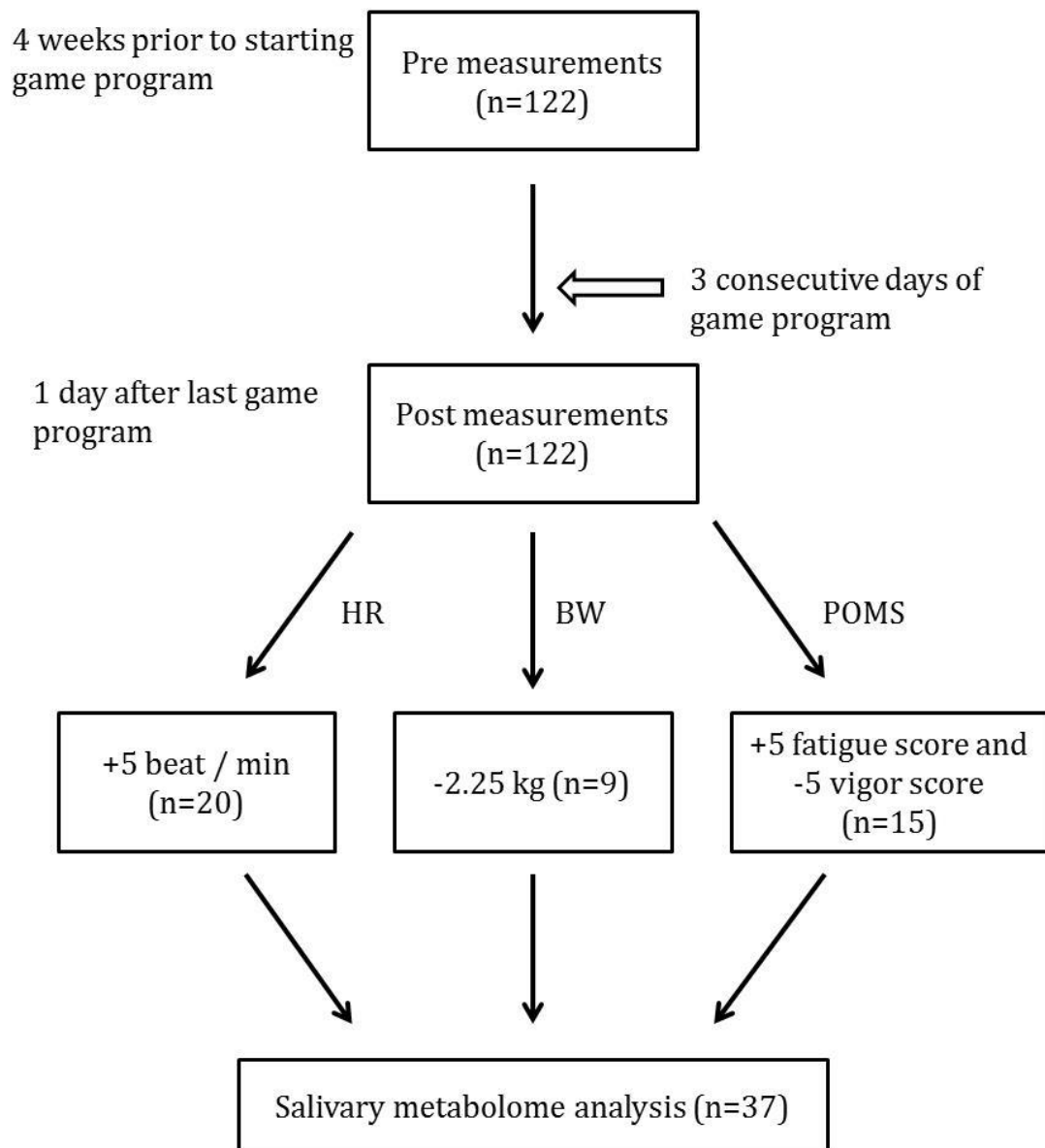
- ①HR が 5 拍/分以上増加した場合 (Koutedakis et al. 1990)
- ②BW が 2.25 kg 以上減少した場合 (Budgett 1998; Johnson and Thiese 1992)
- ③POMS スコアのうち、「疲労」が 5 点以上増加し、かつ「活気」が 5 点以上低下した場合 (Koutedakis et al. 1990)

HR, BW, POMS の測定により、37 名の選手が疲労した被験者として抽出された。Fig. 4-2 に、上記の測定項目によって抽出された各測定項目の試合合宿前後の変化を示す。これら 3 項目に該当した選手数の内訳はそれぞれ、20 名、9 名、15 名であった。HR と BW, HR と POMS, BW と

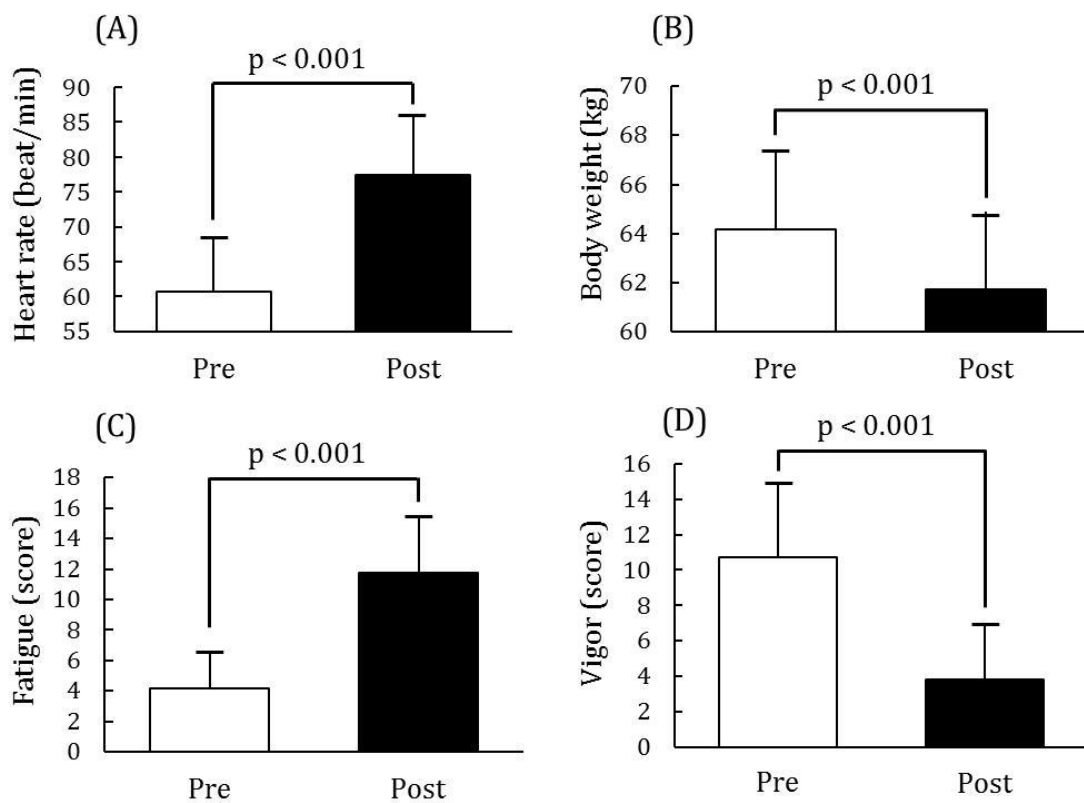
POMS のように、2 項目以上に該当した選手は、それぞれ 2 名、2 名、3 名であった。疲労した被験者として抽出された 37 名の試合合宿前後の唾液を用いて、メタボローム解析をおこなった。

### 統計解析

すべての値は、平均値±標準誤差で示した。試合合宿前後の HR, BW, および POMS の差の検定には、対応のある Student's t-test を用いた。メタボローム解析によって得られたデータの解釈のために、得られた変数の分散最大化を基準とした教師なしの次元削減法である主成分分析 (Principal component analysis: PCA) をおこなった。また、最大の分散を持つ主成分を第 1 主成分 (Principal component 1: PC1) とし、PC1 と各代謝産物の相関係数と定義される因子負荷量を算出した。試合合宿前後の唾液中代謝産物の変化を差の検定には、Wilcoxon single-rank test を用いた。



**Fig. 4-1** Flow diagram of the progress of the subjects throughout the whole experiment.



**Fig. 4-2** The changes in the heart rate (A), body weight (B), and fatigue (C) and vigor (D) scores of POMS between pre- (open bar) and post-measurements (filled bar). Values are means  $\pm$  SE.

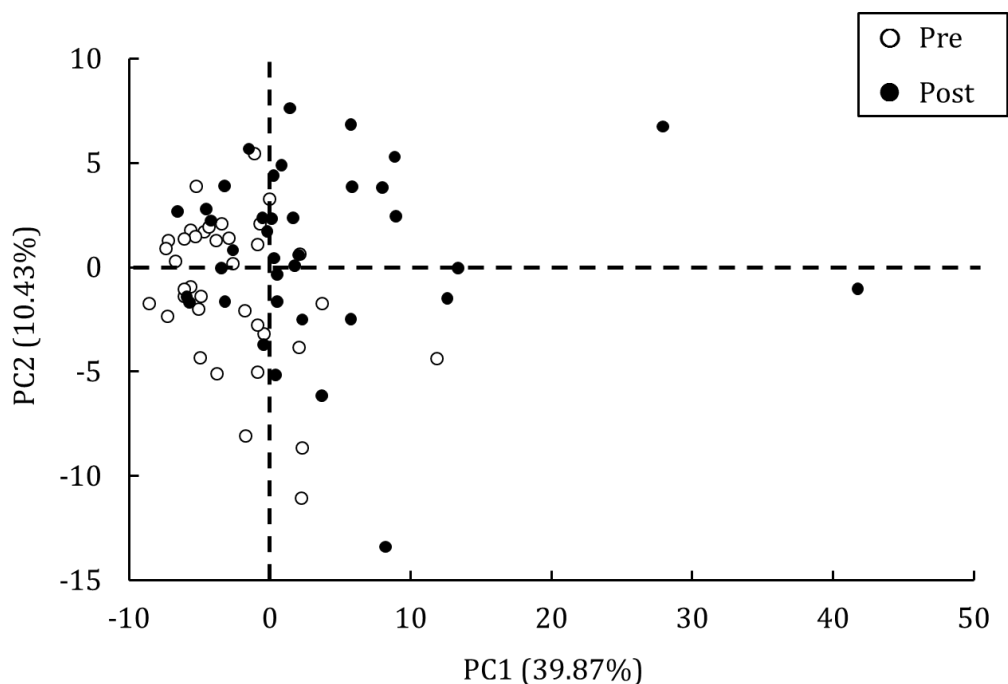
#### 4-1-4. 結果

##### 主成分分析

Fig. 4-3 に、X 軸に PC1 を、Y 軸に第 2 主成分 (PC2) をとり描いた主成分プロットによる、試合合宿前後の代謝産物の変化を示す。Pre と比較し Post のプロットは、X 軸方向に拡散していることが確認できる。

##### 唾液中代謝産物の変化と PC1 に対する因子負荷量

メタボローム解析によって、疲労した被験者の唾液から 144 個の代謝産物が検出された。Table 4-2 に、試合合宿前後で有意な変化の確認された代謝産物と、それぞれの代謝産物の PC1 に対する因子負荷量を示す。Table 4-2 に示された唾液中代謝産物 (3-メチルヒスチジン, グルコース 1 リン酸, グルコース 6 リン酸, アラニン, グリシン, ロイシン, トリプトファン, フェニルアラニン, タイロシン, イソロイシン, バリン, タウリン, プロピオン酸) は、Post において Pre と比較し有意に増加した。また、Table 4-2 のすべての代謝産物において、PC1 と有意な関係が認められた。



**Fig. 4-3** Principal component analysis (PCA) score plots (PC1, PC2) of Pre and Post salivary metabolites. The X-axis and Y-axis were labeled with PC1 (the first principal component) and PC2 (the second principal component), respectively.

**Table 4-2** Endogenous metabolites statistically between Pre and Post in saliva.

Related Metabolic Pathway	Metabolites	Relative areas		Factor loading (PC1)
		Pre	Post	
Skeletal muscle component	3-Methylhistidine	5.40 ± 0.17	8.07 ± 0.16*	0.8456
Glucose metabolism	Glucose 1-phosphate	2.11 ± 0.05	5.17 ± 0.13*	0.7472
Glucose metabolism	Glucose 6-phosphate	9.72 ± 0.25	16.99 ± 0.38*	0.8271
Precursor of Pyr; Glucose metabolism	Ala	179.64 ± 3.21	282.80 ± 5.59*	0.9257
Precursor of Pyr	Gly	463.30 ± 9.36	676.55 ± 11.30*	0.5317
Precursor of Ace-C	Leu (branched-chain amino acid)	178.22 ± 3.41	350.39 ± 9.74*	0.8857
Precursor of Ace-C and Pyr	Trp (aromatic amino acid)	10.30 ± 2.10	16.56 ± 4.00*	0.8227
Precursor of Ace-C and Fum	Phe (aromatic amino acid)	265.88 ± 4.09	343.64 ± 4.49*	0.6528
Precursor of Ace-C and Fum	Tyr (aromatic amino acid)	194.64 ± 2.97	235.20 ± 3.40*	0.4405
Precursor of Ace-C and Suc-C	Ile (branched-chain amino acid)	83.62 ± 1.81	175.61 ± 5.00*	0.8048
Precursor of Suc-C	Val (branched-chain amino acid)	140.15 ± 2.64	290.84 ± 7.95*	0.9445
S-containing amino acid	Taurine	225.19 ± 3.72	394.18 ± 7.36*	0.9019
Propionic acid	Propionic acid	115.47 ± 2.33	297.88 ± 7.26*	0.7125

Relative area of metabolites are given as mean ± S.E (10<sup>-5</sup>). \*Mean difference between Pre and Post metabolites (relative area) at 0.01 levels. All factor loading were significantly correlated with PC1 at 0.001 levels. Abbreviation: Pre, Pre measurement; Post, Post measurement; PC1, principal component 1; Pyr, pyruvate; Ace-C, acetyl-CoA; Fum, fumarate; Suc-C, succinyl-CoA; Ala, alanine; Gly, glycine; Leu, leucine; Trp, tryptophan; Phe, phenylalanine; Tyr, tyrosine; Ile, isoleucine; Val, valine.

#### 4-1-5. 考察

本研究課題では、若年男性における3日間の連続した試合が、唾液中代謝産物のプロファイルに及ぼす影響を検討した。HR, BW, POMS の測定によって疲労したと判定した被験者において、唾液中のエネルギー代謝関連代謝産物が、疲労時に有意に増加していることが示された。

More et al.の報告によると、国際競技レベルのサッカー選手は、1試合のうちに220回のスプリントを含む延べ1350回の動作をおこなっていると言われている (Mohr et al. 2003)。すなわち、サッカーという競技においては、選手のエネルギー消費は急増し、代謝が亢進している可能性がある。したがって、サンプル中の代謝産物を網羅的に解析できるメタボローム解析は、サッカー選手の代謝の状態をモニターするのに、最適な手法であると考えられる。

唾液中の物質濃度は、血清もしくは血漿の濃度よりも若干低い傾向にあるが、その濃度は血中の濃度を反映することが明らかになっている (Cadore et al. 2008; Sannikka et al. 1983)。このような理由から、唾液サンプルは臨床で広く利用されているサンプルである (Mandel 1990)。唾液サンプルは、血液サンプルと違い非侵襲的に採取することが可能なため、よりストレスが少なく採取できるということや、採取のために特別な技術や資格を必要としないという利点を持っている。したがって、スポーツの現場でおこなわれる実験で頻繁に利用され、本研究課題でも唾液を採取するサンプルとして選定した。

本研究課題では、唾液中から延べ144個の代謝産物がメタボローム解析によって検出された。遺伝子の網羅的解析手法であるゲノム解析では、検出される遺伝子の総数が2万~2万5千個といわれている (International Human Genome Sequencing Consortium 2004)。このことから、対象数の少ないメタボローム解析は、遺伝子やタンパク質を網羅的に解析する以前の手法と比較し、変化する対象物質を捉えやすい網羅的解析手法であると考えられる。本研究課題では、エネルギー代謝に関連する唾液中代謝産物が、疲労時に増加することが確認された。唾液中代謝産物が疲労時に増加する意義としては、繰り返される高強度運動による代謝の亢進により産生された代謝産物が増加した可能性と、エネルギー代謝を亢進させて疲労に対抗する生体反応である可能性の二つが考えられる。

Table 4-2の中で、繰り返される高強度運動の結果増加した代謝産物としては、3M-His や糖代謝



産物であるグルコース 1 リン酸 (Glucose 1-phosphate: G1P) とグルコース 6 リン酸 (Glucose 6-phosphate: G6P) やアラニンなどが挙げられる。3M-His は、アクチンとミオシンという二つの筋線維が分解された際に生じるアミノ酸の一種である。また、3M-His はタンパク合成に利用されないことから、血中や尿中での 3M-His の増加は骨格筋分解の指標になることで知られている (Tiao et al. 1997)。本研究課題では、Post 測定において、疲労した被験者の唾液中 3M-His レベルが有意に約 1.3 倍に増加した。この 3M-His の増加は、疲労した選手における筋タンパクの分解が亢進したことを反映しているの可能性が考えられる。さらに、3M-His の因子負荷量は 0.8456 と高く、PC1 と有意に関係していたことから ( $p < 0.001$ )、3M-His は 3 日間の連続したサッカーの試合によって増加した可能性が示唆される。運動中には、糖代謝が亢進し、運動時の糖代謝能の低下は身体機能を低下させる (Welsh et al. 2002)。サッカーの試合中には、血中乳酸濃度が 7~8 mM まで増加することが報告されている (Ekblom 1986)。このサッカーの試合中の高い血中乳酸濃度は、糖の分解が亢進していることを示している。G1P と G6P は、グルコースが分解された際に生じる代謝産物である (Fig. 4-4A)。本研究課題において、試合合宿後に唾液中 G1P および G6P レベルが増加したことは、糖の分解が亢進したことを示唆していると考えられる。アラニンは、糖新生経路の一つである「アラニン-グルコース回路」において、糖新生のために重要な役割を担っている。これらのことから、本研究課題における疲労した選手の唾液中 G1P、G6P およびアラニンの増加は、連続したサッカーの試合によって分解されたグルコースを補うための生体の反応である可能性が考えられる。本研究課題では、繰り返される高強度運動による疲労に対して、エネルギー代謝に関連するいくつかの代謝産物が増加することが確認された。

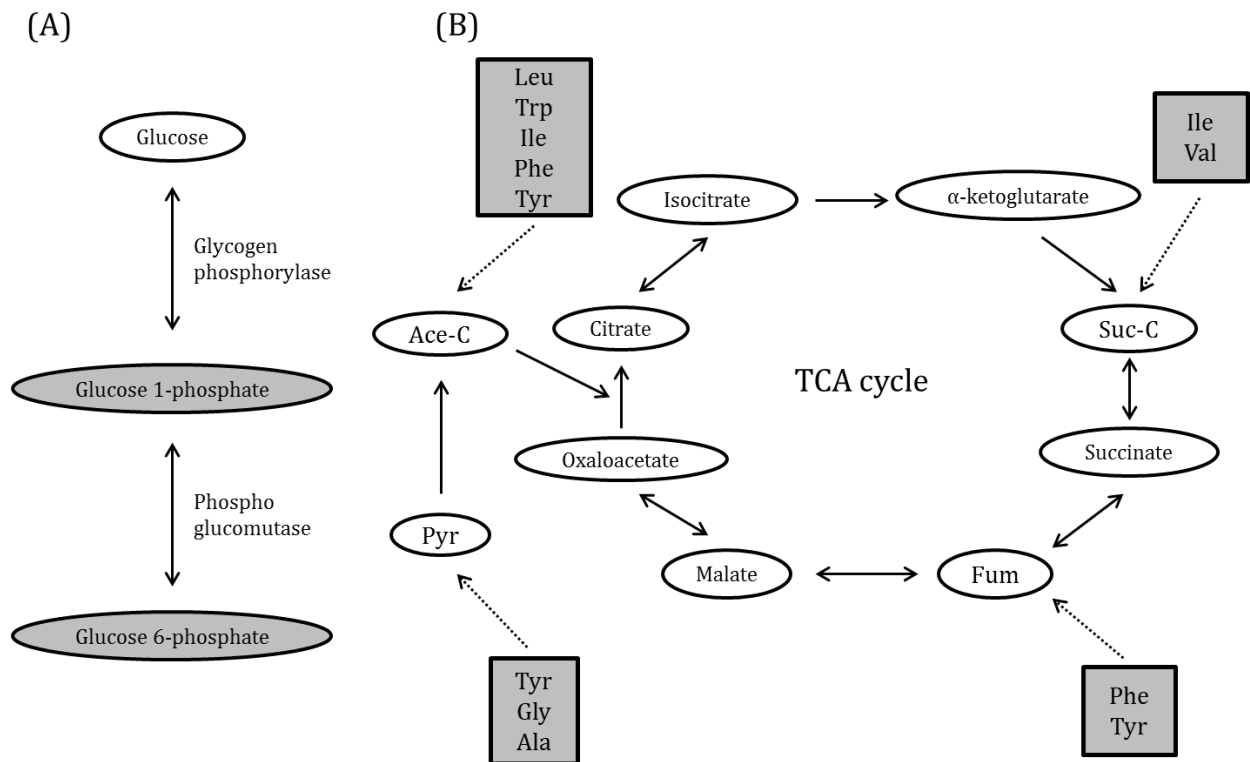
本研究課題では、疲労した被験者の唾液中タウリンレベルも、試合合宿後 (Post) に有意に増加した。タウリン (2-アミノエタンスルホン酸) は、ヒトの骨格筋をはじめ、心臓、脳、肝臓等の組織に高濃度に存在するアミノ酸類似体である (Huxtable 1980; Jacobsen and Smith 1968)。Cuisinier et al. (2002) は、持久性運動時に浸透圧を調節するために骨格筋から血中へタウリンが放出され、血中タウリン濃度が増加することを報告している。さらに、タウリンは細胞内のカルシウムイオンや活性酸素種 (reactive oxygen species: ROS) が増加したときに、血中に放出されるという報告もある (Ørtenblad et al. 2003)。実際に、サッカーの競技後に ROS が増加するという報告がある (Ferrer et

al. 2009) . サッカーは持久性運動の要素を含むことや、サッカーの試合後に ROS が増加するということから、本研究課題においても連続したサッカーの試合の負荷によって唾液中タウリンレベルが増加した可能性が考えられる。さらに、タウリンの因子負荷量は 0.9019 と非常に高く、PC1 と有意に関係していたことから (p<0.001) , その可能性が強く示唆される。

運動中のエネルギー消費は、運動強度や負荷に伴い増加し、その際にはエネルギーを新たに産生するために脂質の分解や TCA 回路が亢進する。Fig. 4-4B に示した通り、疲労した被験者の唾液中では、TCA 回路の中間代謝産物の前駆体であるいくつかのアミノ酸が有意に増加した。これらのアミノ酸はすべて、PC1 と有意に関係しており (p<0.001) , それぞれの因子負荷量も高い値を示している。すなわち、これらのアミノ酸が唾液中で増加したことも、3 日間の連続した試合によってもたらされた可能性が示唆される。

プロピオン酸は、牛乳やヨーグルト、チーズ等の乳製品に多く含まれる脂肪酸の一種である。しかし、を経口摂取しても体内のプロピオン酸濃度は増加しないとの報告がある (Cummings et al. 1987) . 一方プロピオン酸は、グルコース合成のための前駆体でもある。プロピオン酸はプロピオニル CoA に変換され、TCA 回路に取り込まれる (Al-Lahham et al. 2010) . すなわち、本研究における唾液中プロピオン酸の増加は、3 日間の連続した試合による可能性が高く、TCA 回路におけるエネルギー産生に寄与していることが考えられる。

本研究課題では、繰り返される高強度運動によって疲労した選手の唾液中代謝産物が、Pre と比較して Post で増加することが示された。しかし、Pre の時点において被験者が疲労していなかったことを証明することは難しい。この点が、本研究課題の限界点のひとつであると考えられる。本研究課題では、HR, BW, そして POMS の測定をおこなうことで、Post で疲労した被験者を抽出した。本研究課題の被験者の Pre の HR の値は、先行研究における非疲労群の HR (De Lorenzo et al. 1998; Freeman et al. 1997) の値と同程度であった。本研究課題の Pre 測定時には、前日の運動や食事を統制していたことを考えると、比較的疲労していない状況で測定がおこなえたことが推測される。パフォーマンステストや自覚的疲労感などを同時に測定することが、本研究の限界点を解決する方法の一つであると考えられる。



**Fig. 4-4** Pathway of glucose synthesis and catabolism (A) and the tricarboxylic acid (TCA) cycle (B). Glucose is catabolized to glucose 1-phosphate and glucose 6-phosphate by 2 enzymes. The amino acids (in the gray boxes) are categorized by the respective compounds in the TCA cycle to which they are precursors. Abbreviations: Ace-C, acetyl-CoA; Suc-C, succinyl-CoA; Fum, fumarate; Pyr, pyruvate; Leu, leucine; Trp, tryptophan; Ile, isoleucine; Phe, phenylalanine; Tyr, tyrosine; Val, valine; Gly, glycine; and Ala, alanine.

#### 4-1-6. まとめ

若年男性における3日間の連続したサッカーの試合が、唾液中代謝産物のプロファイルに及ぼす影響を検討した。まず、3日間の連続したサッカーの試合によって、疲労した被験者が抽出され、疲労した選手においては、タウリンやエネルギー代謝に関連する唾液中代謝産物と同時に、唾液中タウリンレベルが疲労時に有意に増加することが示された。

## 4-2. 研究課題 1-2: 若年男性における疲労時の唾液中タウリンの変動: 免疫グロブリン A との比較

### 4-2-1. 緒言

唾液中の IgA は, 特に唾液, 涙, 尿, 乳汁中に多く含まれて粘膜上に存在し (名倉と大谷 1994) , 外界から侵入する病原体などに対して特異的に結合することで, 粘膜下への侵入を防ぐ (Lamm et al. 1995) . 分泌成分と結合した IgA は, 分泌型免疫グロブリン A (secretory immunoglobulin A: sIgA) と呼ばれ, 局所粘膜免疫機能の主体であると考えられている (Lamm et al. 1995) . 日常生活における最も一般的な感染症とされる URTI は臨床ではしばしば「カゼ・感冒」と診断され, その URTI 罹患防御において sIgA が主要な役割を果たしていることがわかっている (Tamura and Kurata 2004) .

多くの先行研究において, 高強度運動トレーニング (Otsuki et al. 2012; 山内ら 2009; 秋本ら 1998b; Tharp and Barnes 1990) は唾液中 sIgA レベルを一時的に低下させるということが報告されている. このことから, 高強度運動を繰り返しおこなった場合には, 唾液中 sIgA レベルが低下し, 免疫機能が低下する可能性が示唆される. 本研究課題 1-1 では, 高強度運動を繰り返しおこない疲労した場合に, 唾液中タウリンレベルが増加することが示された. すなわち, 繰り返される高強度運動によって疲労した際には, 唾液中 sIgA レベルが低下し, 唾液中タウリンレベルが増加する可能性がある. 本研究課題 1-2 では, 高強度運動による疲労が唾液中タウリンおよび sIgA レベルに及ぼす影響を検討する.

また, 本研究課題 1-1 では, 疲労時に唾液中タウリンレベルが相対的に増加することが確認されたが, 絶対的濃度がどの程度変化するのかについては明らかにできなかった. 本研究課題 1-2 では, 唾液中タウリン濃度をアミノ酸測定により明らかにすることで, 疲労時の唾液中タウリン濃度 (絶対値) が増加するのかについても検証する.

### 4-2-2. 目的

若年男性における連続した高強度運動による疲労が, 唾液中タウリン濃度に与える影響を検討する.

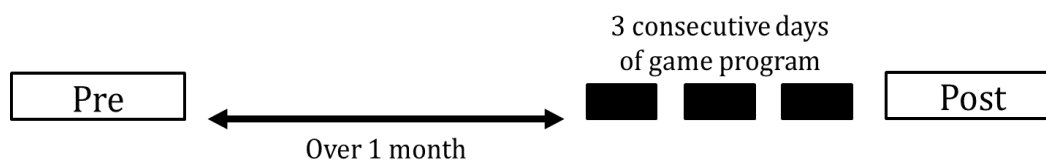
### 4-2-3. 方法

対象

男子大学サッカー選手 122 名 (20.6 ± 0.1 歳) を対象とした。すべての対象者に研究の目的や方法を説明し、不利益を受けずに随時、測定を拒否できることを確認した。研究での測定データの使用に関する説明を個別におこない、書面にて測定データ使用の同意を得た。本研究は、筑波大学・体育系研究倫理委員会の承認を受けおこなわれた。

### 測定方法

男子大学サッカー部における、3 日間の連続した試合合宿の前後で測定をおこなった。Fig. 4-5 に、本研究課題の全体の実験プロトコルを示す。被験者は、Pre 測定の開始 8 時間前からの食事、12 時間前からのカフェインおよびアルコールの摂取、24 時間前からの激しい運動を控えた。各被験者の測定時間は、実験期間中、すべて同じ時間帯 (午前 5-7 時) におこなった。すべての測定は静かな部屋でおこない、室温を 25 ± 2 °C に制御した。食事による実験への影響を避けるために、すべての被験者は、試合合宿の前日の夜から実験終了まで、同じ食堂で同じ内容の食事を摂取させた。



**Fig. 4-5** Protocol of experiment. Abbreviations: Pre, pre measurements; Post, post measurements.

### 測定項目

Pre および Post measurements において、起床時 HR および BW の測定と、POMS の検査を実施し、唾液採取もおこなった。Pre measurements は安静時の状態の測定として、すべての被験者が試合合宿開始 1 ヶ月以上前に、測定をおこなった。Pre measurements の前日は被験者に対して、運動実施とアルコールの摂取を控えさせ、普段通りの食事内容を維持するよう指示した。また、試合合宿最終日の翌日にも同様の測定をおこなった (Post measurements)。この 2 日間の HR, BW, POMS の測定をもとに疲労した被験者を抽出し、疲労したと判定した被験者の唾液サンプルを用いて唾液

中タウリン濃度と唾液中 sIgA レベルを測定した。

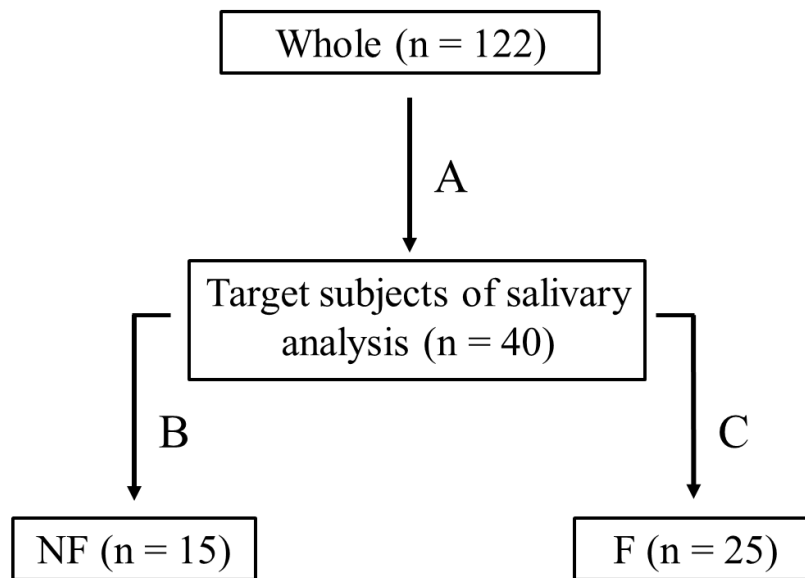
#### 疲労した選手の判定基準

Fig. 4-6 に示すように、本研究では、HR、BW、そして POMS の測定をおこない、試合合宿により疲労した選手を抽出した。試合合宿前と比較して試合合宿後に、先行研究に基づき設定した次のいずれかの条件を満たした被験者を疲労した選手とした。

- ①HR が 5 拍/分以上増加した場合 (Koutedakis et al. 1990)
- ②BW が 2.25 kg 以上減少した場合 (Budgett 1998; Johnson and Thiese 1992)
- ③POMS スコアのうち、「疲労」が 5 点以上増加し、かつ「活気」が 5 点以上低下した場合 (Koutedakis et al. 1990)

HR、BW、POMS の測定により、25 名の選手が疲労した選手として抽出された。これら 3 項目に該当した選手数の内訳はそれぞれ、18 名、6 名、6 名であった。HR と BW、HR と POMS、BW と POMS のように、2 項目以上に該当した選手は、それぞれ 2 名ずつであった。

本研究課題では、全 122 名の被験者のうち、上記 3 項目の測定および唾液の採取が実施でき、かつ 3 日間連続して 90 分間試合に出場した 40 名を唾液の解析対象とした。Table 4-3 に、非疲労群 (n = 15)、疲労群 (n = 25)、そして全体 (n = 122) の被験者の身体特性を示した。Pre 測定において、非疲労群と疲労群の年齢、身長、体重、BMI に、有意な差は確認されなかった。



**Fig. 4-6** Selection flow of fatigued subjects. A, participated in 3 consecutive days of game (90 min × 3) and completed measuring heart rate (HR), body weight (BW) and POMS before and after the program; B, Not to satisfied cutoff value of HR, BW, and POMS; C, To satisfied cutoff value of HR, BW, and POMS. Abbreviations: Whole, whole subjects in this study; NF, not fatigued group; F, fatigued group.

Table 4-3 Subject's characteristics.

	Whole (n = 122)	NF (n = 15)	F (n = 25)
Age, year	20.6 ± 0.1	20.6 ± 0.3	20.5 ± 0.2
Height, cm	174.9 ± 0.9	177.2 ± 2.6	174.0 ± 1.6
Body weight, kg	66.5 ± 1.0	66.8 ± 2.7	63.5 ± 2.1
BMI, kg/m <sup>2</sup>	21.7 ± 0.2	21.2 ± 0.6	21.0 ± 0.5

Values are mean ± SE. Abbreviations: BMI, body mass index; NF, non fatigue group; F, fatigue group.

### 唾液中 sIgA 濃度および唾液中タウリン濃度の測定方法

唾液中 sIgA 濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ ) は, ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) 法により測定した (Secretory Immunoglobulin A salivary Immunoassay Kit, Salimetrics 社製) . 本研究では, 1 分間あたりの唾液採取量を唾液分泌速度 ( $\text{ml/min}$ ) とした. sIgA 分泌速度 ( $\mu\text{g/min}$ ) は唾液分泌速度と sIgA 濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ ) との積から求めた.

唾液中タウリン濃度測定のため, 得られた唾液試料と 3% スルホサリチル酸水溶液を等量混和し,  $4^{\circ}\text{C}$  で 1 時間放置した. その後, 遠心分離器 ( $4^{\circ}\text{C}$ , 3000 rpm, 15 min) でタンパク質を分離させ, 上澄み液を  $0.45\mu\text{M}$  のフィルタでろ過し, 測定まで  $-80^{\circ}\text{C}$  で凍結保存した. 測定は, 筑波大学研究基盤センター分析部門に委託した.

### 統計解析

すべての値は, 平均値  $\pm$  標準誤差で示した. 試合合宿前後の唾液分泌速度, 唾液中 sIgA 濃度, sIgA 分泌速度, 唾液中タウリン濃度の変化については, two-way repeated measure ANOVA を用い, 有意な交互作用が認められた場合には, Tukey 法により事後検定をおこなった.

## 4-2-4. 結果

### 唾液分泌速度

Fig. 4-7 の (A) に, 唾液分泌速度の変化を示す. 試合合宿前の唾液分泌速度において, 2 群間に有意な差は認められなかった. 2 元配置分散分析の結果, 2 群間の唾液分泌速度に有意な交互作用が認められた ( $P < 0.05$ ) . また, 疲労群の唾液分泌速度は, 試合合宿後において試合合宿前と比較して有意に低下した ( $p < 0.001$ ) .

### 唾液中 sIgA 濃度

Fig. 4-7 の (B) に, 唾液中 sIgA 濃度の変化を示す. 試合合宿前の唾液中 sIgA 濃度において, 2 群間に有意な差は認められなかった. 2 元配置分散分析の結果, 2 群間の唾液中 sIgA 濃度に有意な交互作用は認められなかった ( $P = 0.259$ ) .

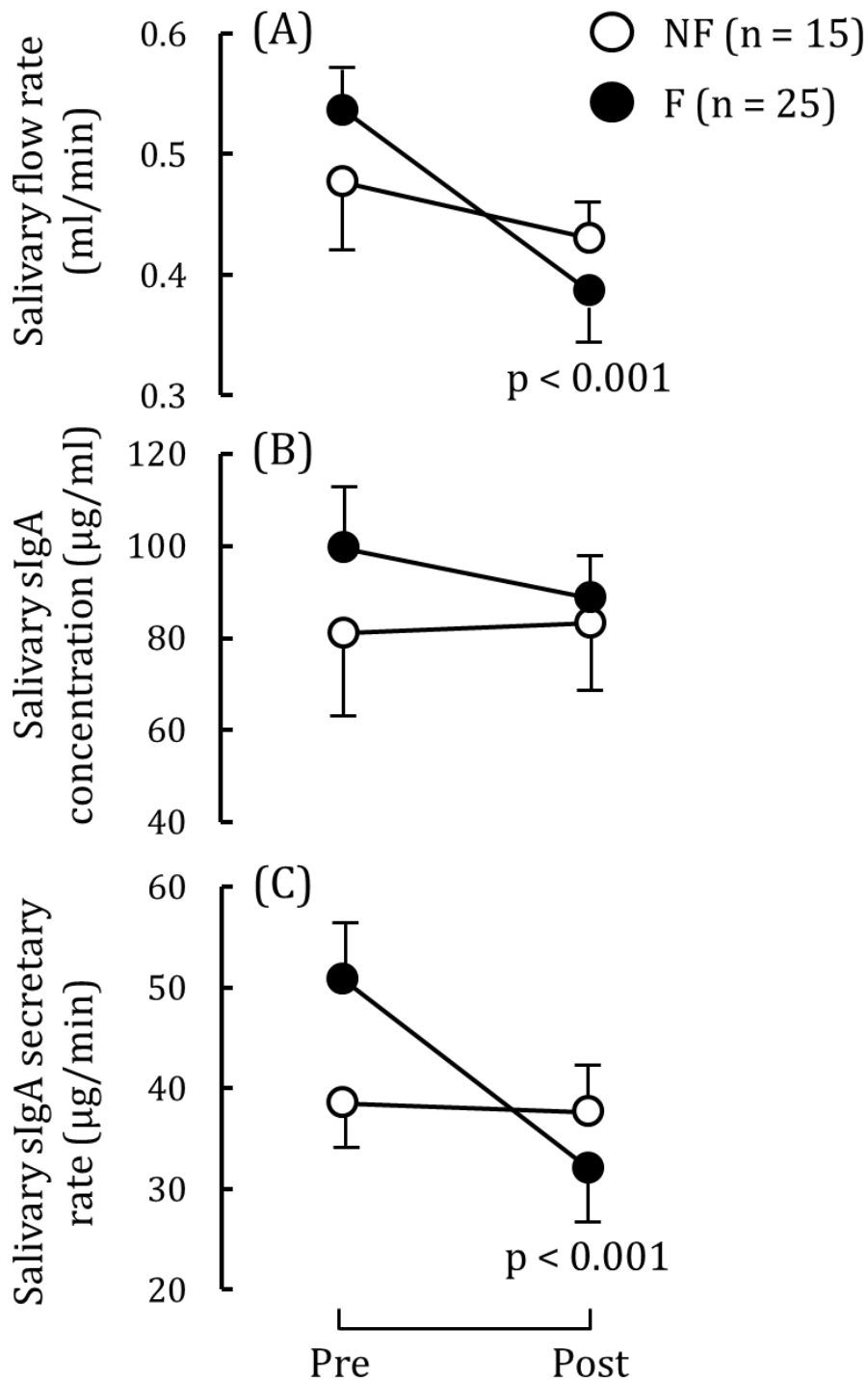


### 唾液中 sIgA 分泌速度

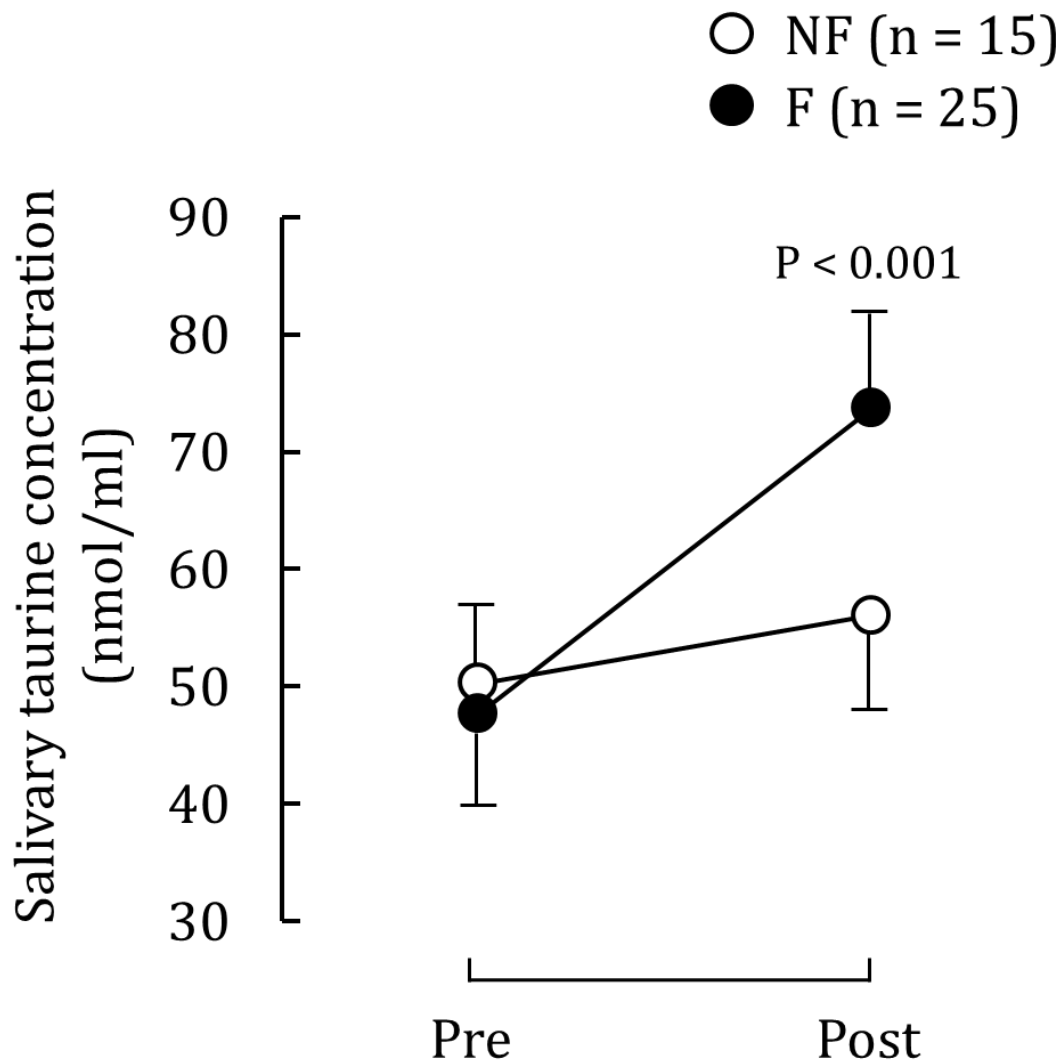
Fig. 4-7 の (C) に、唾液中 sIgA 分泌速度の変化を示す。試合合宿前の唾液中 sIgA 分泌速度において、2 群間に有意な差は認められなかった。2 元配置分散分析の結果、2 群間の sIgA 分泌速度に有意な交互作用が認められた ( $p < 0.05$ )。また、疲労群の唾液中 sIgA 分泌速度は、試合合宿後において試合合宿前と比較して有意に低下した ( $p < 0.001$ )。

### 唾液中タウリン濃度

Fig. 4-8 に、唾液中タウリン濃度の変化を示す。試合合宿前の唾液中タウリン濃度において、2 群間に有意な差は認められなかった。2 元配置分散分析の結果、2 群間の唾液中タウリン濃度に有意な交互作用が認められた ( $p < 0.05$ )。また、疲労群の唾液中タウリン濃度は、試合合宿後において試合合宿前と比較して有意に増加した ( $p < 0.001$ )。



**Fig. 4-7** The changes in salivary flow rate (A), salivary sIgA concentration (B), and salivary sIgA secretory rate (C) before and after the program. Values are means  $\pm$  SE. Abbreviations: NF, non fatigue group; F, fatigue group.



**Fig. 4-8** The change in salivary taurine concentration before and after the program. Values are means  $\pm$  SE. Abbreviations: NF, non fatigue group; F, fatigue group.

#### 4-2-5. 考察

本研究課題では、男子大学サッカー選手を対象に、3日間の連続したサッカーの試合前後の唾液中タウリン濃度の変動を検討した。本研究で得られた主な結果は、次の通りである。①3日間の連続した試合によって、疲労する選手が現れた (HR, BW, POMS の変動により判定)。②疲労群において、試合合宿前後に唾液中 sIgA 濃度は変化しなかったものの、唾液分泌速度および唾液中 sIgA 分泌速度は有意に低下した。③疲労群においては、試合合宿後に合宿前と比較し、唾液中タウリン濃度が有意に増加した。

本研究課題では、数日間連続的に高強度運動が繰り返される試合合宿において、唾液中タウリン濃度の変動を検討した初めての研究である。唾液中の物質濃度は、血清や血漿と比較して低値を示す可能性が示唆されているが、血中の物質の変化を反映し得る指標として信頼されている (Cadore et al. 2008; Sannikka et al. 1983)。また、唾液の採取は血液サンプルと異なり、非侵襲的に採取することが可能である点で、アスリートにかかる負担が少なく、競技現場への応用も容易におこなえるという利点を持つ。そのため、本研究においても唾液を測定サンプルとして用いた。

唾液中 sIgA の評価方法には唾液中 sIgA 濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ ) と、唾液中 sIgA 分泌速度 ( $\mu\text{g/min}$ ) の二つの方法が存在する。唾液中 sIgA 濃度は、単位唾液量あたりの sIgA 量であるため必要不可欠な評価方法である。しかし、唾液中 sIgA 濃度は、運動時のように発汗等による水分喪失や、水分摂取による唾液の希釈などの要因で、変動を受けやすい評価方法である。一方、唾液中 sIgA 濃度と唾液分泌速度の積で求められる唾液中 sIgA 分泌速度は、sIgA 濃度と分泌速度の両要因を加味して評価できることから、運動時または運動前後においてはより適切な評価方法であると考えられている (Gleeson 2000; Walsh et al. 1999)。山内ら (2009) は、男子大学ラグビー選手における合宿期間において、唾液中 sIgA 濃度は変動しないものの、合宿期間中に唾液分泌速度および唾液中 sIgA 分泌速度が低下することを報告している。さらに、Otsuki et al. (2012) は、女子大学剣道選手における練習合宿において、唾液中 sIgA 濃度は変動しないものの、唾液中 sIgA 分泌速度が合宿中に有意に低下し、さらに唾液中 sIgA 分泌速度は、合宿中だけでなく合宿後においても有意に低下することを報告している。本研究においても、合宿前後の唾液中 sIgA 濃度に変化はなかったものの、唾液分泌速度と唾液中 sIgA 分泌速度が疲労群において有意に低下した。このことから、本研究では、HR, BW,

POMS によって、疲労している選手を的確に抽出できたことを示していると考えられる。

先にも示した通り、本研究は、数日間連続的に高強度運動が繰り返される試合合宿において、唾液中タウリン濃度の変動を検討した初めての研究である。一過性の持久性運動をおこなった場合には、血中タウリン濃度が増加することが報告されている (Cuisinier et al. 2002; 石倉ら 2008) 。しかし、高強度運動が数日間におよんで連続的におこなわれる状況での、体内のタウリン濃度の変動については明らかになっていない。先行研究において、安静時のヒト唾液中にもタウリンが存在することが報告されているが (Takeda et al. 2009; Zheng et al. 2012), 繰り返される高強度運動後の疲労時の唾液中タウリン濃度の変動については明らかにされていない。本研究では、3日間連続で試合をおこなった合宿後に、疲労群において、試合合宿前と比較し唾液中タウリン濃度が有意に増加した。先行研究においては、唾液中タウリン濃度が炎症状態の指標となることも報告されている (Witko-Sarsat et al. 1999) 。一方、本研究の疲労群では、唾液中の sIgA 分泌速度が試合合宿後に有意に低下した。唾液中 sIgA の低下は、炎症反応を伴う URTI 罹患を招く要因のひとつと考えられている (Gleeson et al. 1999) ことから、疲労群において試合合宿後に増加した唾液中タウリンは、炎症反応を沈静するために増加した可能性も考えられる。

Ferrer et al. (2009) は、男子プロサッカー選手において、60 分間のサッカーの試合後に、Phorbol myristate acetate 刺激による活性酸素種 (Reactive oxygen species: ROS) や酸化脂質であるマロンジアルデヒドの生成が増加したことを報告している。一方、Ørtenblad et al. (2003) は、ROS の発生するような筋収縮をおこなうと、筋細胞からタウリンが血中に放出されることを報告している。これらの先行研究の内容を鑑みると、本研究で 90 分間のサッカーの試合を 3 日間連続で負荷したことにより、唾液中タウリン濃度が増加し、その増加は疲労群でより顕著であったことが考えられる。

本研究課題においては、疲労群においてタウリンが唾液中に増加した理由を明らかにすることはできない。その機序を明らかにするためには、炎症性サイトカインや酸化ストレスを測定する必要があると考えられる。しかし、本研究課題によって、繰り返される高強度運動によって、唾液中 sIgA レベルが低下するほど疲労した場合には、唾液中タウリン濃度が増加するということが示された。しかし、研究課題 1-1 と同様に、Pre の時点の被験者の疲労状態を判断する指標を測定できていない。この点については、更なる検討が望まれる。

#### 4-2-6. まとめ

本研究課題では、男子大学サッカー選手を対象に、3日間の連続したサッカーの試合合宿前後の唾液中タウリン濃度の変動を検討した。本研究課題の結果から、90分間のサッカーの試合を3日間連続で負荷した場合、疲労群において唾液中 sIgA 分泌速度が低下するとともに、唾液中タウリン濃度は増加することが示された。これらのことから、唾液中タウリン濃度は、短期間の連続した試合におけるアスリートの唾液中疲労マーカーとなる可能性が示唆される。

## 第5章 研究課題2: 若年男性における血漿タウリン濃度増加のための至適タウリン摂取量の検討

### 5-1. 緒言

研究課題 1-1 および 1-2 では、疲労時には唾液中タウリン濃度が増加することが示された。タウリンは、運動時の血糖低下を抑制する作用 (石倉ら 2008) や、脂質酸化を亢進させる作用 (Rutherford et al. 2010) , また骨格筋の張力を増加させる (Goodman et al. 2009) 作用などが報告されていることから、疲労時に体内タウリン濃度が増加し、疲労に抗っている可能性が考えられる。また、唾液中物質濃度は血中の物質濃度を反映するため、研究課題 1-1 および 1-2 においては、血中のタウリン濃度も増加していることが推測される。したがって、運動前に血中タウリン濃度を高めておけば、運動パフォーマンスを向上させたり、または運動によって惹起されるデメリットを抑制できるかもしれない。しかし、若年男性における血中タウリン濃度を増加させるための、タウリン摂取プロトコルは明らかになっていない。

石倉ら (2008) は、若年男性に 1 日 6g のタウリンを 1 週間摂取させると、血漿タウリン濃度が有意に増加することを明らかにしている。一方、Galloway et al. (2008) は、若年男性における 1 週間のタウリン摂取 (6g/day) では骨格筋タウリン濃度は増加しなかったことを報告している。一方、いくつかの動物を対象とした研究では、2 週間の継続的なタウリン摂取 (0.5mg/kg/day) は血漿タウリン濃度を有意に増加させ、その際には組織 (骨格筋や肝臓) のタウリン濃度も有意に増加していることを明らかにしている (Miyazaki et al. 2004; Yatabe et al. 2003) 。これらの背景から、若年男性における血中および組織タウリン濃度増加のためには、1 日 6g 以上、かつ 2 週間以上の摂取プロトコルが有効である可能性が考えられる。

そこで、本研究課題 2 では、若年男性における 2 週間のタウリン摂取 (6g/day) は、血中タウリン濃度を増加させるという仮説を立てた。

### 5-2. 目的

若年男性における、血漿タウリン濃度増加のために必要なタウリン摂取量を検討する。

### 5-3. 方法

## 対象

健康な若年男性 48 名 (24.2 ± 0.6 歳) を対象とした。被験者をランダムに、プラセボ摂取群 (P 群 : 25 名) , タウリン摂取群 (T 群 : 23 名) の 2 群に分けた (Table 5-1) 。すべての対象者に研究の目的や方法を説明し、不利益を受けずに随時、測定を拒否できることを確認した。研究での測定データの使用に関する説明を個別におこない、書面にて測定データ使用の同意を得た。本研究は、筑波大学・体育系研究倫理委員会の承認を受けおこなわれた。

## 測定方法

すべての被験者は、2 週間のプラセボもしくはタウリン摂取 (6g/日) をおこなった。試験薬摂取開始日と、摂取 2 週間後の翌日に採血をおこなった。採血は、一晩絶食後の午前中の空腹時におこなった。

## 測定項目

採取した血液から血漿を分離し、血漿アミノ酸濃度を測定した。

## 統計解析

すべての値は、平均値±標準誤差で示した。両群の試験薬摂取前後の血漿タウリン濃度の変化の検定には、two-way repeated measures ANOVA を用い、有意な交互作用が認められた場合には、Tukey 法により事後検定をおこなった。

**Table 5-1** Subject's characteristics.

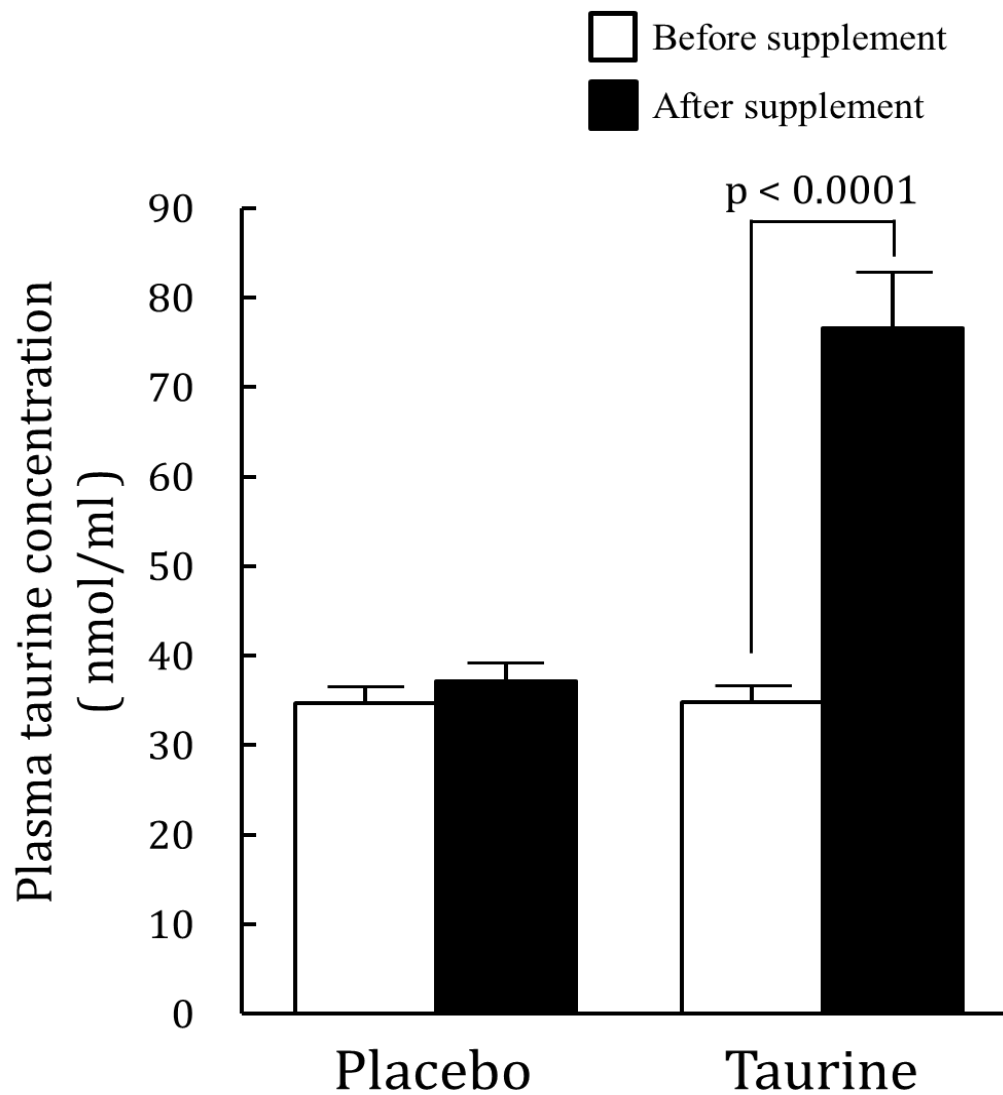
	Placebo (n = 25)	Taurine (n = 23)
Age, year	24.1 ± 0.8	24.3 ± 0.8
Height, cm	173.1 ± 1.0	174.2 ± 1.1
Weight, kg	65.8 ± 1.5	68.6 ± 1.6
BMI, kg/m <sup>2</sup>	22.0 ± 0.5	22.6 ± 0.5
Body fat, %	16.5 ± 0.9	16.9 ± 0.6

Values are means ± SE.

## 5-4. 結果



Fig. 5-1 に、P 群および T 群の血漿タウリン濃度の変化を示す。P 群において、2 週間のプラセボ摂取 (6 g/日) による血漿タウリン濃度の有意な変化は確認されなかった。一方、T 群においては、2 週間のタウリン摂取 (6 g/日) によって血漿タウリン濃度が有意に約 2 倍に増加した (Fig. 5-1)。



**Fig. 5-1** Changes in plasma taurine concentration before and after 2 weeks taurine supplementation. Values are means  $\pm$  SE.

## 5-5. 考察

本研究課題では、若年男性における2週間のタウリン摂取(6g/日)が、血漿タウリン濃度に及ぼす影響を検討した。2週間のタウリン摂取(6g/日)をおこなうことによって、血漿タウリン濃度は有意に増加することが示された。

多くの経口サプリメントを用いた実験では、しばしばサプリメントを摂取したことを証明せずに、メインアウトカムに経口サプリメントが効果的であったという結論を導いている。運動に対する経口サプリメントの効果を実証する実験系においては、そのサプリメントが運動前もしくは運動中に摂取され、体内に取り込まれたことを示す必要があると考える。しかし、多くの論文では、経口サプリメントが体内に取り込まれたことを実証するデータは示されていない。私の知る限りでは、分岐鎖アミノ酸 (branched-chain amino acids: BCAA) (Shimomura et al. 2010) とタウリンを用いたいくつかの論文においてのみ、経口サプリメントによる体内濃度の変化が示されている。

体内のタウリン濃度を増加させるための最適な摂取量および摂取期間については、最適な処方 が示されておらず議論の余地がある。Galloway et al. (2008) は、一過性にタウリンを 1.66g 摂取しただけで、摂取 30 分後から 4 時間後までの血漿タウリン濃度が摂取前と比較し、有意に高値を示すことを報告している。また、石倉ら (2008) は、若年男性に 1 日 6g のタウリンを 1 週間摂取させると、血漿タウリン濃度が有意に増加することを明らかにしている。タウリンは必須アミノ酸などとは異なり、構造タンパクに取り込まれないアミノ酸であるため、1 週間の継続的なタウリン摂取が蓄積された可能性が考えられる。さらに、いくつかの動物を対象とした研究では、2 週間の継続的なタウリン摂取 (0.5mg/kg/日) は血漿タウリン濃度を有意に増加させ、その際には組織 (骨格筋や肝臓) のタウリン濃度も有意に増加していることを明らかにしている (Miyazaki et al. 2004; Yatabe et al. 2003) 。 上述した Galloway et al. (2008) の報告では、若年男性における 1 週間のタウリン摂取では骨格筋タウリン濃度に変化がなかったことを報告している。このことから、若年男性における体内タウリン濃度増加のためには、1 日 6g 以上、かつ 2 週間以上の摂取プロトコルが有効である可能性が考えられる。

## 5-6. まとめ

本研究課題では、健康な若年男性を対象に、2週間のタウリン摂取(6g/日)が血漿タウリン濃度に及ぼす影響を検討した。本研究課題の結果から、若年男性においては、2週間のタウリン摂取(6g/日)が血漿タウリン濃度を増加させるのに有効である可能性が示唆された。

## 第 6 章 研究課題 3: 若年男性におけるタウリン摂取がレジスタンス運動後の遅発性筋肉痛に及ぼす影響

### 6-1. 緒言

レジスタンス運動は有酸素性運動と異なり、加齢に伴う筋力の低下を抑制することのできる運動様式である。レジスタンス運動はさらに、骨密度の維持・増加も期待でき、生活習慣病の原因となる血糖値や血中コレステロールを低下させる効果もある。このような背景から、2007 年に ACSM と AHA により改定されたガイドライン (ACSM 1998; Williams et al., 2007b) では、有酸素性運動だけでなくレジスタンス運動もおこなうことが推奨されるようになった。

レジスタンス運動を実施すると、運動数時間から 1 日程度経過してから筋肉痛が起こる。この筋肉痛は、運動実施から遅れて発現するため「遅発性筋肉痛 (Delayed onset muscle soreness: DOMS)」と呼ばれる。DOMS は、普段運動をおこなわない非鍛錬者がレジスタンス運動をおこなったり、普段以上に強度の高い運動をおこなうと惹起されやすい。したがって、多くの一般非鍛錬者がレジスタンス運動に取り組むと DOMS が発症しやすいため、レジスタンス運動による DOMS を予防・抑制する方法の解明が重要となる。

レジスタンス運動後の DOMS には、酸化ストレスの増加が関与していることが報告されている (Close et al., 2004)。ヒトの体内に豊富に存在する含硫アミノ酸の一種であるタウリンは、多くの薬理的・生理学的作用が報告されているが、強い抗酸化作用を有すること (Nittynen et al. 1999; Timbrell et al. 1995) も明らかになっている。そこで本研究課題では、DOMS が惹起されやすい伸張性運動を用いて、若年男性におけるタウリン摂取が、レジスタンス運動後の DOMS に及ぼす影響を検証する。

### 6-2. 目的

若年男性における運動前 2 週間から運動 3 日後までのタウリン摂取 (6g/日) が、レジスタンス運動後の遅発性筋肉痛に及ぼす影響を検討する。

### 6-3. 方法

## 対象

日常的な運動習慣および喫煙習慣を持たない若年男性 ( $25.3 \pm 0.5$  歳) 29 名を対象とした。被験者をランダムに、プラセボ摂取群 (P 群: 14 名), タウリン摂取群 (T 群: 15 名) の 2 群に分けた (Table 6-1)。すべての対象者に研究の目的や方法を説明し、不利益を受けずに随時、測定を拒否できることを確認した。研究での測定データの使用方法に関する説明を個別におこない、書面にて測定データ使用の同意を得た。本研究は、筑波大学・体育系研究倫理委員会の承認を受けおこなわれた。

## 運動負荷の内容

運動プロトコルは、Barnes et al. (2010) の方法を参考に、被験者の非利き腕の上腕屈筋群に伸張性運動を負荷した。この運動には多用途筋機能評価運動装置 (BIODEX system 3, 酒井医療株式会社製) を用い、最大努力でおこなう 20 回の伸張性運動 ( $30^\circ/\text{sec}$ ) を、4 分間のセット間休憩を挟んで 2 セット負荷した。

## 測定項目および測定方法

### ①血液生化学データ

上腕静脈から採取した血液を用い、TC, HDLC, LDLC, TG および FBG の血中濃度を測定した。

### ②血漿アミノ酸濃度

試験薬摂取 2 週間前および運動前に採血をおこない、血漿アミノ酸濃度の測定をおこなった。採血は、一晩絶食後の午前中の空腹時におこなった。

### ③遅発性筋肉痛

遅発性筋肉痛の検査は、運動前、および運動 1 日後から 4 日後まで計 5 回測定した。測定には VAS 法を用いた。

## 統計解析

すべての値は、平均値±標準誤差で示した。両群の試験薬摂取前後の血漿タウリン濃度の変化および、遅発性筋肉痛の推移の検定には、two-way repeated measure ANOVA を用い、有意な交互作用が認められた場合には、Tukey 法により事後検定をおこなった。

**Table 6-1** Subject's characteristics.

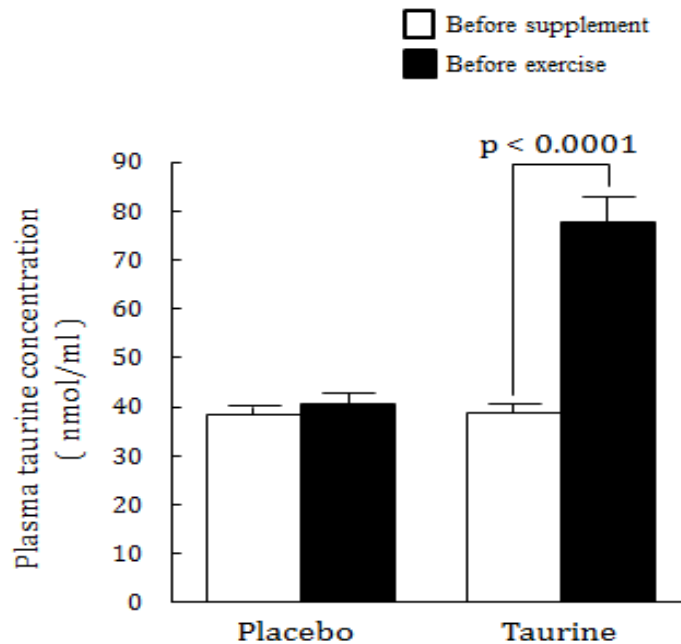
	Placebo (n = 14)		Taurine (n = 15)	
	Pre	BEx	Pre	BEx
Age, year	25.2 ± 1.0	—	25.4 ± 1.0	—
Height, cm	175.1 ± 1.1	—	174.1 ± 1.4	—
Weight, kg	65.0 ± 1.3	65.1 ± 1.4	67.3 ± 1.5	67.3 ± 1.5
BMI, kg/m <sup>2</sup>	21.2 ± 0.3	21.2 ± 0.4	22.2 ± 0.5	22.2 ± 0.5
Body fat, %	14.7 ± 0.8	14.6 ± 0.9	16.5 ± 0.7	16.8 ± 0.7
MVC, kg	15.7 ± 0.6	—	16.5 ± 0.6	—

Values are means ± SE. Abbreviations: Pre, prior to supplementation; BEx, before exercise; BMI, body mass index; MVC, maximal voluntary contraction

#### 6-4. 結果

##### 血漿タウリン濃度の変化

Fig. 6-1 に、P 群および T 群の血漿タウリン濃度の変化を示す。P 群において、2 週間のプラセボ摂取 (6 g/日) による血漿タウリン濃度の有意な変化は確認されなかった。一方、T 群においては、2 週間のタウリン摂取 (6 g/日) によって血漿タウリン濃度が有意に約 2 倍に増加した。



**Fig. 6-1** Changes in plasma taurine concentration before and after 2 weeks taurine supplementation. Values are means ± SE.

##### 遅発性筋肉痛

Fig. 6-2 に、遅発性筋肉痛の推移を示す。両群において、伸張性運動により DOMS が惹起され、

運動 24 時間後から 48 時間後にかけてピークに達した。2 元配置分散分析の結果、DOMS の変化において有意な交互作用が認められた ( $p < 0.05$ )。また、運動 48 時間後 DOMS は、T 群において P 群と比較して有意に低値を示した。

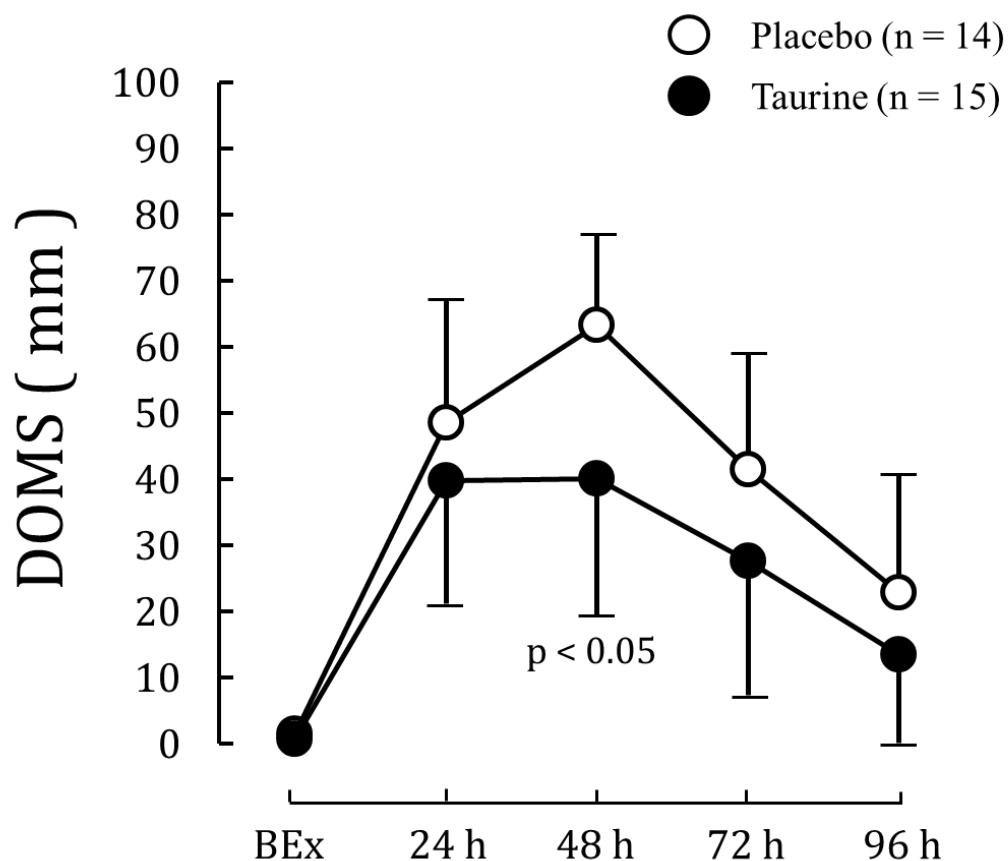


Fig. 6-2 Changes in DOMS after eccentric exercise following 4 days. Values are mean  $\pm$  SE. Abbreviations: DOMS, delayed onset muscle soreness; BEx, before exercise.

## 6-5. 考察

本研究課題では、若年男性における運動前 2 週間から運動 3 日後までのタウリン摂取 (6g/日) が、レジスタンス運動 48 時間後の DOMS を有意に抑制することが示された。

伸張性運動後の筋肉痛が、なぜ遅れて発生するのかということは多くの研究者によって長年議論されてきたが、Murase et al. (2010) の研究によって、伸張性運動時に産生される BK と神経成長因子 (nerve growth factor: NGF) が DOMS の発生において主要な役割を果たしていることが明らかになった。

ブラジキニンは、古くから内因性の発痛物質として知られており、炎症組織に発現する (Mizumura 1998) . BK の受容体には B1 受容体と B2 受容体という二つの受容体が存在し、正常時には B2 受容体のみが存在するものの、炎症時には B1 受容体が新生されて (Perkins and Kelly 1993) , 痛覚過敏に大きな役割を果たしていることが明らかになっている (Mizumura et al. 1990; Banik et al. 2001) . 炎症時に産生される PGE2 は、単独で侵害受容器に興奮を起こすことはなく、BK の発痛作用を増強する作用があることが分かっている (Mizumura et al. 1993; Koda and Mizumura 2002) . PGE2 が産生される最初の反応は、ホスホリパーゼ A2 (phospholipase A2: PLA2) という酵素によって細胞膜からアラキドン酸が遊離されることから始まる (Kudo and Murakami 2002) . また、この PLA2 の活性には、細胞内カルシウムイオン ( $\text{Ca}^{2+}$ ) 濃度が関与しており (Gijón et al. 2000) , 伸張性運動は他の収縮様式 (短縮性収縮や等尺性収縮) を伴う運動よりも  $\text{Ca}^{2+}$ 濃度の上昇が大きいことが知られている (Allen et al. 2005; Sonobe et al. 2008) .

伸張性運動後の DOMS の発生には、酸化ストレスの増加が関与していることも報告されている (Close et al. 2004). 酸化ストレスの増加によってシクロオキシゲナーゼ 2 (cyclooxygenase-2: COX-2) が活性化されると、COX-2 はアラキドン酸カスケードにおける PGE2 産生のための酵素であるため、結果的に PGE2 の産生が増加する。タウリンは、細胞内の  $\text{Ca}^{2+}$ 濃度の恒常性を保つ作用 (De Luca et al. 1996) や、抗酸化作用 (Nittynen et al. 1999; Timbrell et al. 1995) を有するため、PGE2 の産生と、PGE2 による BK の発痛作用の増強作用が抑制され、本研究課題において伸張性運動後の DOMS が抑制された可能性が考えられる。ヒトにおける経口タウリン摂取が、運動誘発性の酸化ストレスの増加を抑制することが報告されているため (Silva et al. 2011) , 本研究課題においてもタウ



リン摂取による抗酸化作用が DOMS の抑制に効いた可能性が示唆される。しかし、伸張性運動後の酸化ストレス増加のピークは運動 72 時間後あたりであることを考えると (Close et al., 2004) , DOMS のピークは 48 時間後であったためずれがあることがわかる。一方, Uchida et al. (2009) は, レジスタンス運動後の DOMS と PGE2 の発現のピークは, ほぼ一致していることを報告している。これらの先行研究から, 本研究課題におけるタウリン摂取による DOMS 抑制の機序には, タウリンの  $\text{Ca}^{2+}$ 濃度恒常性維持作用が関与している可能性が高いことが考えられる。

しかし, 本研究課題では, 上述した発痛物質 (BK, PGE2) や酸化ストレス関連物質 (活性酸素種など) を測定していないため, そこに限界があると考えられ, 推測の域を出ない。今後, このような物質を測定することが求められると考える。

#### 6-6. まとめ

若年男性における運動前 2 週間から運動 3 日後までのタウリン摂取 (6g/日) は, レジスタンス運動後の遅発性筋肉痛を抑制することが示された。

## 第7章 研究課題4: 若年男性におけるタウリン摂取がレジスタンス運動後の動脈機能に及ぼす影響

### 7-1. 研究課題4-1: 若年男性における血漿タウリン濃度と血管内皮機能および血圧の関係

#### 7-1-1. 緒言

多くの先行研究では、経口的なタウリン摂取によって血中タウリン濃度を高めると、骨格筋機能 (Goodman et al. 2009) を向上させることが明らかになっている。本研究課題3においても、若年男性におけるタウリン摂取が伸張性運動後の DOMS を抑制することが示された。しかし、血中タウリン濃度と動脈機能の関係については、十分明らかにされていない。

血管内皮機能とは、主に血管内皮細胞から放出される一酸化窒素を介して血管拡張、血液凝固、血管平滑筋増殖などを調整し、血管機能の恒常性を保つ機能である。血管内皮機能障害は動脈硬化性疾患の有用な予後指標になることが報告されている (Schächinger et al. 2000)。血管内皮機能の評価法の中でも、上腕動脈の FMD は非侵襲的に測定が可能であり、血管内皮における一酸化窒素合成能力を強く反映する血管内皮機能評価のゴールドスタンダードとされており、臨床的有用性の高い指標であると考えられている (Corretti et al. 2002)。

大規模横断研究によると、若年者においても男性は同年代の女性と比較して動脈スティフネスが高く、血管内皮機能が低いことが明らかになっている (Juonala et al. 2008)。さらに、縦断研究によって、若年男性における収縮期血圧は、数年後の心血管疾患の独立したリスクファクターとなることが報告されている (Johnson et al. 2007)。これらのことから、中高齢者はもちろんのこと、若年男性においても血圧や心血管疾患のリスクファクターをモニターすることが重要であると考えられる。そこで本研究課題では、体内のタウリン濃度と血管内皮機能および血圧の関係を明らかにするために、若年男性を対象に横断研究をおこなった。

#### 7-1-2. 目的

健康な成人若年男性を対象に、血漿タウリン濃度と血管内皮機能および血圧の関係を検討する。

#### 7-1-3. 方法

## 対象

日常的な運動習慣および喫煙習慣を持たず、心血管疾患既往歴のない若年男性 ( $25.3 \pm 0.5$  歳) 53 名を対象とした (Table 7-1) . すべての対象者に研究の目的や方法を説明し, 不利益を受けずに随時, 測定を拒否できることを確認した. 研究での測定データの使用に関する説明を個別におこない, 書面にて測定データ使用の同意を得た. 本研究は, 筑波大学・体育系研究倫理委員会の承認を受けおこなわれた.

**Table 7-1** Subject's characteristics.

Age, year	25.3 ± 0.5
Height, cm	173.8 ± 0.7
Weight, kg	66.9 ± 1.0
BMI, kg/m <sup>2</sup>	22.1 ± 0.3
Body fat, %	15.6 ± 0.5
Total cholesterol, mg/dl	163.5 ± 3.7
Triglyceride, mg/dl	84.8 ± 5.3
HDL cholesterol, mg/dl	52.6 ± 1.5
LDL cholesterol, mg/dl	97.9 ± 3.0
Glucose, mg/dl	88.9 ± 0.8
Systolic blood pressure, mmHg	110.8 ± 1.0
Diastolic blood pressure, mmHg	64.5 ± 0.8
Pulse pressure, mmHg	42.3 ± 1.0
Heart rate, beat/min	55.2 ± 0.9

Values are mean ± SE. Abbreviations: BMI, body mass index.

## 測定方法

対象者は測定開始 8 時間前からの食事, 12 時間前からのカフェイン・アルコールの摂取, 24 時間前からの激しい運動を控えた. 各対象者の測定時間は同じ時間帯 (7-11 時) とした. すべての測定は静かな実験室でおこない, 室温を  $25 \pm 2$  °C に統制した. 被験者 53 名を対象に, 身体特性 (身長, 体重, BMI, 体脂肪率), 血中生化学成分 (TC, HDLC, LDLC, TG, FBG), 血圧および脈圧,

そして血管内皮機能の評価をおこなった。

#### 統計解析

すべての値は、平均値 ± 標準誤差で示した。血漿タウリン濃度と各測定指標の相関関係は、Pearson の相関係数を用いて評価した。2 群間の % FMD の差の検定には、対応のない Student's t-test を用いて比較した。

#### 7-1-4. 結果

##### 血漿タウリン濃度と身体特性、血中生化成分の関係

Table 7-1 に、被験者の血漿タウリン濃度と各測定指標との相関関係を示す。身体特性や血中生化成分と血漿タウリン濃度の間に、有意な相関は認められなかった (Table 7-2)。

##### 血漿タウリン濃度と血圧および脈圧の関係

Fig. 7-1 に、血漿タウリン濃度と血圧および脈圧の関係を示す。若年男性において、血漿タウリン濃度と有意な相関が認められた項目は、収縮期血圧 ( $r = -0.470$ ,  $p = 0.001$ ) , 拡張期血圧 ( $r = -0.419$ ,  $p = 0.002$ ) , そして脈圧 ( $r = -0.498$ ,  $p = 0.001$ ) であった。

##### 血中タウリン濃度と %FMD の関係

Fig. 7-2 に、血漿タウリン濃度と %FMD の関係を示す。若年男性において、血漿タウリン濃度と %FMD との間に、有意な正の相関関係が認められた ( $r = 0.351$ ,  $p = 0.01$ ) 。

Fig. 7-3 には、本研究の対象者を血漿タウリン濃度の中央値である 43.6 nmol/ml を基準として 2 群に分けた、両群の %FMD 値を示した。これら 2 群間の %FMD を比較した結果、血漿タウリン濃度が低い群 ( $3.8 \pm 0.9\%$ ,  $n = 26$ ) に比べ、血漿タウリン濃度の高い群 ( $5.5 \pm 0.8\%$ ,  $n = 27$ ) における %FMD は有意に高い値を示した ( $P < 0.05$ ) 。

**Table 7-2** Correlations between plasma taurine concentration and subject's characteristics.

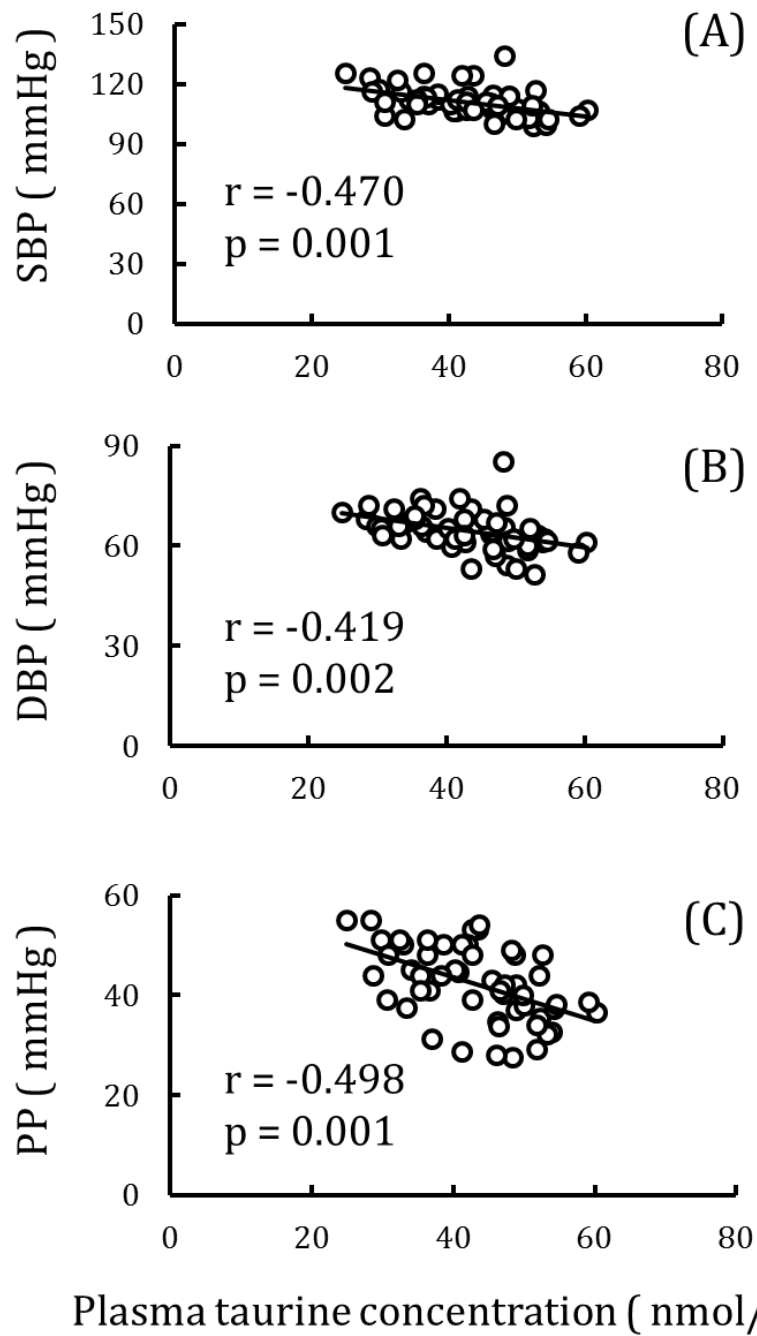
	<i>r</i>	<i>p</i>
Age, year	0.119	n.s.
Height, cm	-0.138	n.s.
Weight, kg	0.025	n.s.
BMI, kg/m <sup>2</sup>	0.124	n.s.
Body fat, %	0.110	n.s.
Total cholesterol, mg/dl	-0.232	n.s.
Triglyceride, mg/dl	0.009	n.s.
HDL cholesterol, mg/dl	-0.277	n.s.
LDL cholesterol, mg/dl	-0.088	n.s.
Glucose, mg/dl	0.138	n.s.
HR, beat/min	-0.150	n.s.

Values are mean  $\pm$  SE. Abbreviations: BMI, body mass index; HR, heart rate; *r*, correlation coefficient; *p*, significance level; n.s., not significant.

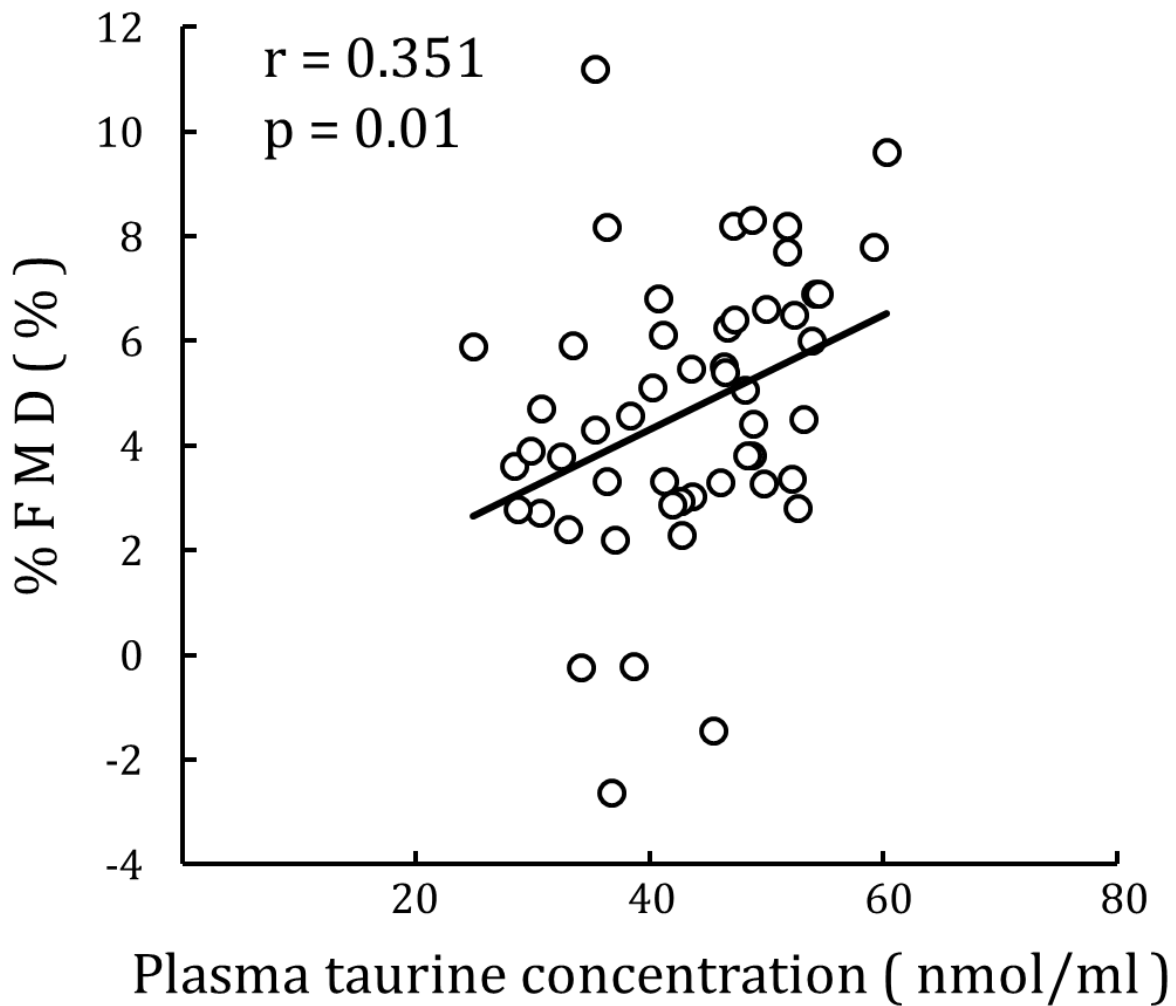
**Table 7-3** Subject's characteristics.

	Placebo (n = 14)		Taurine (n = 15)	
	Pre	BEx	Pre	BEx
Age, year	25.2 $\pm$ 1.0	————	25.4 $\pm$ 1.0	————
Height, cm	175.1 $\pm$ 1.1	————	174.1 $\pm$ 1.4	————
Weight, kg	65.0 $\pm$ 1.3	65.1 $\pm$ 1.4	67.3 $\pm$ 1.5	67.3 $\pm$ 1.5
BMI, kg/m <sup>2</sup>	21.2 $\pm$ 0.3	21.2 $\pm$ 0.4	22.2 $\pm$ 0.5	22.2 $\pm$ 0.5
Body fat, %	14.7 $\pm$ 0.8	14.6 $\pm$ 0.9	16.5 $\pm$ 0.7	16.8 $\pm$ 0.7
MVC, kg	15.7 $\pm$ 0.6	————	16.5 $\pm$ 0.6	————
Total cholesterol, mg/dl	161.4 $\pm$ 6.7	161.6 $\pm$ 6.7	179.5 $\pm$ 7.7	174.9 $\pm$ 7.5
Triglyceride, mg/dl	89.0 $\pm$ 11.8	98.3 $\pm$ 10.6	92.3 $\pm$ 12.1	80.3 $\pm$ 11.2
HDL cholesterol, mg/dl	55.5 $\pm$ 3.6	54.6 $\pm$ 2.7	57.5 $\pm$ 3.2	56.3 $\pm$ 2.4
LDL cholesterol, mg/dl	90.7 $\pm$ 5.1	92.7 $\pm$ 5.7	105.9 $\pm$ 6.2	105.5 $\pm$ 6.2
Glucose, mg/dl	89.7 $\pm$ 1.7	89.7 $\pm$ 1.3	88.9 $\pm$ 1.8	89.2 $\pm$ 1.5
SBP, mmHg	112.6 $\pm$ 2.1	113.6 $\pm$ 2.1	115.5 $\pm$ 2.0	113.1 $\pm$ 2.0
DBP, mmHg	66.1 $\pm$ 1.5	65.6 $\pm$ 1.8	68.3 $\pm$ 1.5	66.9 $\pm$ 1.9
HR, beat/min	54.9 $\pm$ 1.3	54.9 $\pm$ 1.4	56.6 $\pm$ 2.3	55.9 $\pm$ 1.5

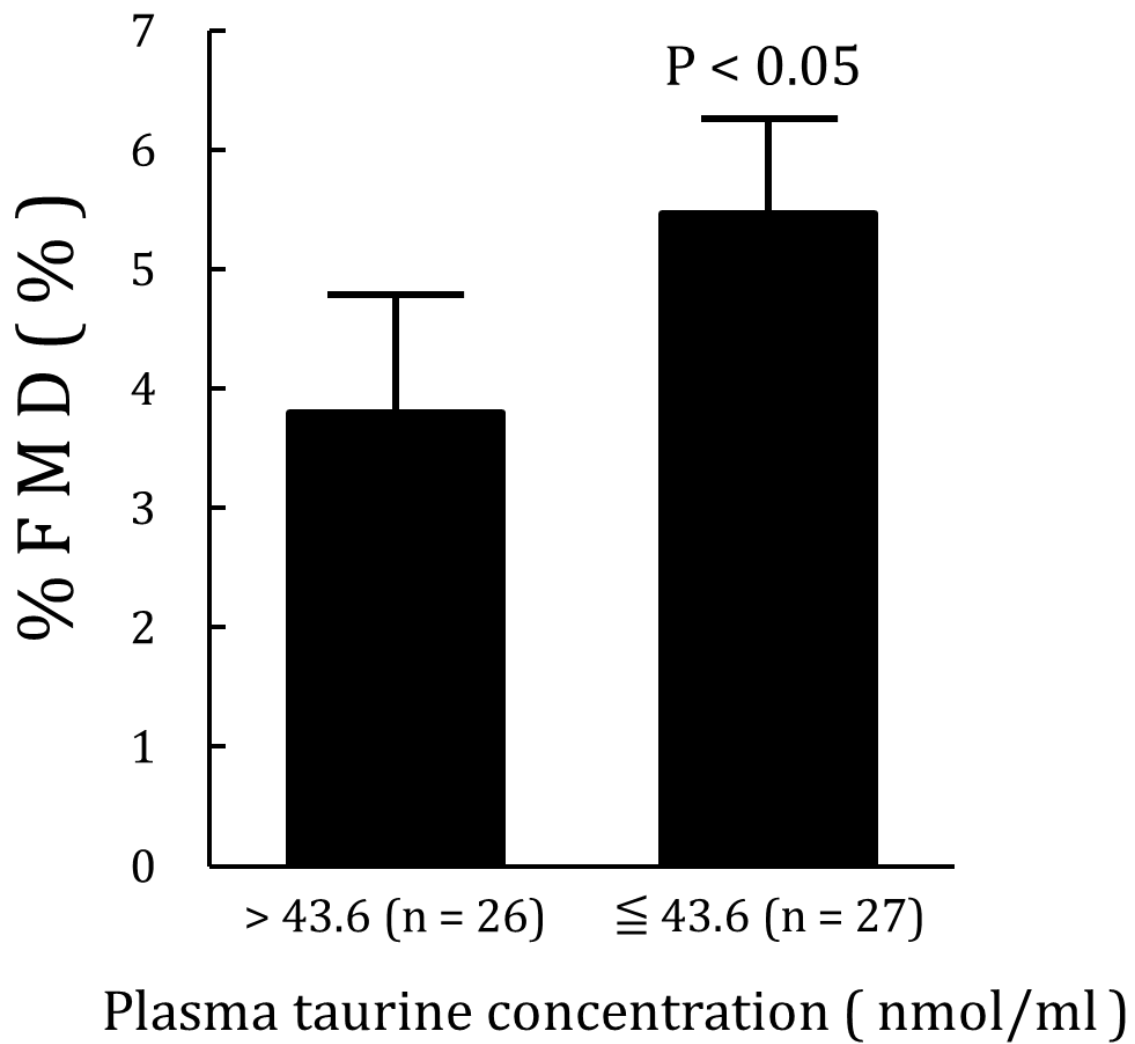
Values are mean  $\pm$  SE. Abbreviations: BMI, body mass index; MVC, maximal voluntary contraction; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; HR, heart rate; Pre, prior to supplementation; BEx, before exercise.



**Fig. 7-1** Correlation between plasma taurine concentration and SBP (A), DBP (B), and PP (C). Values are mean  $\pm$  SE. Abbreviations: SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; PP, pulse pressure.



**Fig. 7-2** Correlation between plasma taurine concentration and %FMD. Values are mean  $\pm$  SE.



**Fig. 7-3** %FMD in two groups, which were divided by the median of plasma taurine concentration (43.6 nmol/ml). Values are mean  $\pm$  SE.



### 7-1-5. 考察

本研究では、健康な若年男性において、血漿タウリン濃度は血圧と負の相関関係にあり、血管内皮機能とは正の相関関係にあることが明らかになった。さらに、対象者を血漿タウリン濃度の中央値で 2 群に分けて検討すると、血漿タウリン濃度の低い群に比べ、血漿タウリン濃度の高い群の % FMD は有意に高いことが明らかになった。

本研究では、血漿タウリン濃度と血管内皮機能の間に、有意な正の相関関係 ( $r=0.351$ ,  $p<0.01$ ) があることが明らかになった。動脈硬化の進展に関与する血管内皮機能にタウリンが関係することの一因として、タウリンの LDLC に対する酸化抑制作用が関与している可能性が考えられる。酸化 LDL は動脈硬化の発症・進展に関与している可能性が報告されており (Brinkley et al. 2009; Toikka et al. 1999) , 酸化 LDL の生成には次亜塩素酸 (hypochlorous acid: HOCl) が関与していることが報告されている (Heinecke 2003) 。一方、血漿中だけでなく白血球にも多量に存在するタウリンは、過剰に生成された HOCl と反応しタウリンクロラミン (taurine chloramine: TauCl) となることで、酸化 LDL の生成を抑制する (Jerlich et al. 2000) 。さらに、この TauCl は、酸化ストレスや炎症反応に関与する腫瘍壊死因子- $\alpha$ 、インターロイキン 6 などのサイトカインや、誘導型一酸化窒素合成酵素、シクロオキシゲナーゼ 2 などの酵素の発現を抑制することが報告されている (Barua et al. 2001; Kontny et al. 2000; Liu et al. 1998) 。これらのことから、血管内皮機能に障害のない若年男性においても、血管内皮機能に血漿中のタウリンが関与している可能性が示唆される。

本研究においては、血漿タウリン濃度は血管内皮機能だけではなく、血圧とも相関関係があった。Sato et al. は、102 名の大学生に 2000mg のタウリンを経口摂取させると、摂取 20 分後に収縮期および拡張期血圧が約 10mmHg 低下したことを報告している (Sato and Kang 2009) 。このタウリン摂取による血圧の低下は、タウリンがカルシウムイオンチャネルを調整し、交感神経由来の血管緊張を低下させたためであると考察している。これまでにタウリンは、細胞内のカルシウムイオンの恒常性維持に貢献していることが報告されている (De Luca et al. 1996; Huxtable and Bressler 1973) 。また、Schaffer et al. (2000) は、タウリンは、降圧作用を有するアンジオテンシン変換酵素阻害薬と同様の効果を有することを報告している。Takahashi et al. (1997) もタウリンはアンジオテンシン II の生成を阻害することを報告していることから、血漿中のタウリン濃度は血圧にも影響を

与えている可能性が考えられる。

一方、血圧が高いことが血漿タウリン濃度に及ぼす影響についても、議論がなされている。小川らは、本態性高血圧症患者の血漿タウリン濃度は正常血圧者と比較し有意に低く（小川ら 1986）、また食事栄養管理下においても、尿中タウリン排泄量が約 30%低下しており、この尿中タウリン排泄量の差は、体内のタウリン代謝異常による可能性があると考えられている（小川ら 1988）。本研究において対象とした若年男性においても、血圧が比較的に高い者は体内のタウリン代謝が乱れ、血漿タウリン濃度と血圧との間に負の相関関係が認められた可能性が考えられる。このように、血漿タウリン濃度の増加が血圧を低下させる可能性と、血圧が高いことが体内のタウリン濃度を低下させる可能性が考えられるため、そのメカニズムの解明には今後の更なる研究が期待される。

本研究では、血中脂質と血漿タウリン濃度の間に、有意な相関関係は認められなかった。生体内におけるタウリンの主な生理作用として、胆汁酸分泌の増加やコレステロール分解の促進作用があることが報告されている（Bellentani et al. 1987; Nakamura-Yamanaka et al. 1987; Yokogoshi et al. 1999）。私の知る限りでは、健康な若年男性における血漿タウリン濃度と血中脂質との関係を明らかにした研究は見当たらない。Kamaura et al. (2010) は、中年肥満者における血漿タウリン濃度と TG や HDLC と間には、有意な相関関係がなかったことを報告している。一方、Ishikawa et al. (2010) は、健康な女子高校生において、タウリン摂取量の指標となる尿中タウリン排泄量が多い群は、少ない群と比較し、血清 TG が有意に高いことを報告している。血漿タウリン濃度と血中脂質の関係には、対象者の健康状態や年齢、性別などの様々な要因が関係しているのかもしれない。平成 21 年の国民健康・栄養調査によると、20 歳代 (20~29 歳) 男性の血中 TC, HDLC, LDLC, TG の値は、それぞれ  $177.4 \pm 32.6$  mg/dl,  $56.7 \pm 13.1$  mg/dl,  $97.4 \pm 24.1$  mg/dl,  $112.5 \pm 85.0$  mg/dl (平均値  $\pm$  標準誤差) である（厚生労働省 2009）。本研究の対象者の TC, HDLC, LDLC, TG の値はそれぞれ、 $163.5 \pm 27.1$  mg/dl,  $52.6 \pm 11.1$  mg/dl,  $97.9 \pm 22.3$  mg/dl,  $84.8 \pm 38.9$  mg/dl であり、本研究の対象者は、TG が若干低い傾向にあるものの、平均的な若年男性の集団であったことがわかる。これらのことから、血漿タウリン濃度と血中脂質の関係を明らかにするには、対象の健康状態や年齢、性別等を区別し、今後さらに検討を進める必要があると考えられる。

ヒトはタウリン生合成能が低いため、肉類に比べタウリンを多く含む魚介類を摂取することに

よりタウリンを摂取している。Moriguchi et al. (2004) は、沖縄に住む日本人と、沖縄からブラジルに移住した日本人の、食事内容と心血管疾患リスクの関係について検討している。沖縄に住む日本人はブラジルに移住した日本人と比較し魚介類を多く摂取しているため、尿中タウリン排泄量が有意に高く、高血圧に罹患している割合が有意に低かった。同様に Yamori et al. (2004) も、25 カ国 60 地域を対象とした疫学研究によって、魚介類を多く摂取するグループは、魚介類の摂取が少ないグループと比較し、収縮期血圧が有意に低いことを報告している。高血圧患者は血管内皮機能が低下していることから (Panza et al. 1990) , 魚介類からタウリンを多く摂取している者は、血圧が低く血管内皮機能が高い可能性が考えられる。

本研究の限界点としては、以下の2点が挙げられる。まず、本研究は若年男性のみを対象とした横断研究であるため、この結果を一般化することは難しいと思われる。大規模横断研究によると、若年者においても男性は同年代の女性と比較して動脈スティフネスが高く、血管内皮機能が低いことが明らかになっている (Juonala et al. 2008) 。さらに、縦断研究によって、若年男性における収縮期血圧は、数年後の心血管疾患の独立したリスクファクターとなることが報告されている (Johnson et al. 2007) 。これらのことから、中高齢者はもちろんのこと、若年男性においても血圧や心血管疾患のリスクファクターをモニターすることが重要であると考えられる。このような背景から本研究では若年男性を対象に検討をおこなったが、年齢や性別の異なる対象の血漿タウリン濃度と血管内皮機能や血圧の関係についても、今後検討していく必要があると考えられる。次に、本研究では、血漿タウリン濃度が血管内皮機能や血圧に影響するメカニズムは明らかにされておらず、カルシウムイオン濃度やアンジオテンシンⅡなどの測定はおこなわれていない。より詳細なメカニズムの検討のため、これらの物質を測定することが今後の課題である。

#### 7-1-6. まとめ

本研究では、健常な成人若年男性を対象に、血漿タウリン濃度と身体特性、血中生化学成分や血管内皮機能の関係を検討した。若年男性における血漿タウリン濃度は、身体特性や血中生化学成分とは相関せず、血圧や血管内皮機能と有意な相関関係があることが示された。ヒト血漿中のタウリン濃度を測定した研究は極めて少なく、血漿タウリン濃度と血管内皮機能の関係を明らかにした

本研究は、臨床的に応用可能な基礎資料と成り得ると考えられる。

## 7-2. 研究課題 4-2: 若年男性におけるタウリン摂取がレジスタンス運動後の動脈ステイフネスに及ぼす影響

### 7-2-1. 緒言

本研究課題 3 では、若年男性におけるタウリン摂取が、レジスタンス運動後の DOMS を抑制することが検証された。しかし、レジスタンス運動をおこなうと、DOMS が発症するだけでなく、動脈ステイフネスが増加するということが近年明らかになっている。すなわち、レジスタンス運動は健康の維持・増進に有効ではあるものの、骨格筋だけでなく、動脈にも不利益を及ぼす可能性が示唆されている。

高強度のレジスタンス運動を日常的におこなっているボディビルダーやウェイトリフターは、同年代の非鍛錬者と比較して、動脈ステイフネスが高いことが報告されている (Bertovic et al. 1999)。若年男性を用いた研究では、2 ヶ月以上の高強度レジスタンス運動 (80% 1RM) は、動脈ステイフネスを約 20% 増加させることが明らかになっている (Miyachi et al. 2004)。このような継続的なレジスタンス運動の実施による動脈ステイフネスの増加は、一過性のレジスタンス運動による動脈ステイフネスの増加の蓄積によるものかもしれない。DeVan et al. (2005) は、若年者における 75% 1RM 強度での 9 種類のレジスタンス運動は、運動直後および 30 分後の動脈ステイフネスを増加させることを報告している。Barnes et al. (2010) は、一過性の伸張性運動 (最大努力で 20 回×2 セット) を上腕屈筋群に負荷したところ、運動前と比較し運動 48 時間後の動脈ステイフネスが有意に増加したことを報告した。

ACSM や AHA により 2007 年に改定されたガイドラインでは、レジスタンス運動を実施することが健康の維持・増進に有効であると報告されている (ACSM 1998; Williams et al. 2007b)。動脈ステイフネスの増加は、心血管疾患の独立した危険因子であるため (Najjar et al., 2005)、レジスタンス運動をより安全におこなうためには、レジスタンス運動による動脈ステイフネスの増加を抑制する方法の解明は、重要な課題と考えられる。

一過性の伸張性運動は、動脈ステイフネスを増加させる (Barnes et al. 2010)。また、酸化ストレスの増加は、動脈ステイフネスの増加に関与すると考えられている (Moreau et al. 2005)。強い抗酸化作用を有するアミノ酸の一種であるタウリンは、運動誘発性の酸化ストレスを抑制することが

報告されている (Silva et al. 2011) . そこで本研究課題では, DOMS が惹起されやすい伸張性運動を用いて, 若年男性におけるタウリン摂取が, レジスタンス運動後の動脈スティフネスに及ぼす影響を検証する.

## 7-2-2. 目的

若年男性における運動前 2 週間から運動 3 日後までのタウリン摂取 (6g/日) が, レジスタンス運動後の動脈スティフネスに及ぼす影響を検討する.

## 7-2-3. 方法

### 対象

日常的な運動習慣および喫煙習慣を持たず、心血管疾患既往歴のない若年男性 ( $25.3 \pm 0.5$  歳) 29 名を対象とした。被験者をランダムに、プラセボ摂取群 (P 群: 14 名), タウリン摂取群 (T 群: 15 名) の 2 群に分けた (Table 7-3) . すべての対象者に研究の目的や方法を説明し, 不利益を受けずに随時, 測定を拒否できることを確認した。研究での測定データの使用に関する説明を個別におこない, 書面にて測定データ使用の同意を得た。本研究は, 筑波大学・体育系研究倫理委員会の承認を受けおこなわれた。

**Table 7-3** Subject's characteristics.

	Placebo (n = 14)		Taurine (n = 15)	
	Pre	BEx	Pre	BEx
Age, year	25.2 ± 1.0	————	25.4 ± 1.0	————
Height, cm	175.1 ± 1.1	————	174.1 ± 1.4	————
Weight, kg	65.0 ± 1.3	65.1 ± 1.4	67.3 ± 1.5	67.3 ± 1.5
BMI, kg/m <sup>2</sup>	21.2 ± 0.3	21.2 ± 0.4	22.2 ± 0.5	22.2 ± 0.5
Body fat, %	14.7 ± 0.8	14.6 ± 0.9	16.5 ± 0.7	16.8 ± 0.7
MVC, kg	15.7 ± 0.6	————	16.5 ± 0.6	————
Total cholesterol, mg/dl	161.4 ± 6.7	161.6 ± 6.7	179.5 ± 7.7	174.9 ± 7.5
Triglyceride, mg/dl	89.0 ± 11.8	98.3 ± 10.6	92.3 ± 12.1	80.3 ± 11.2
HDL cholesterol, mg/dl	55.5 ± 3.6	54.6 ± 2.7	57.5 ± 3.2	56.3 ± 2.4
LDL cholesterol, mg/dl	90.7 ± 5.1	92.7 ± 5.7	105.9 ± 6.2	105.5 ± 6.2
Glucose, mg/dl	89.7 ± 1.7	89.7 ± 1.3	88.9 ± 1.8	89.2 ± 1.5
SBP, mmHg	112.6 ± 2.1	113.6 ± 2.1	115.5 ± 2.0	113.1 ± 2.0
DBP, mmHg	66.1 ± 1.5	65.6 ± 1.8	68.3 ± 1.5	66.9 ± 1.9
HR, beat/min	54.9 ± 1.3	54.9 ± 1.4	56.6 ± 2.3	55.9 ± 1.5

Values are mean ± SE. Abbreviations: BMI, body mass index; MVC, maximal voluntary contraction; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; HR, heart rate; Pre, prior to supplementation; BEx, before exercise.

## 運動負荷の内容

運動プロトコルは、Barnes et al. (2010) の方法を参考に、被験者の非利き腕の上腕屈筋群に伸張性運動を負荷した。この運動には多用途筋機能評価運動装置 (BIODEX system 3, 酒井医療株式会社製) を用い、最大努力でおこなう 20 回の伸張性運動 (30°/sec) を、4 分間のセット間休憩を挟んで 2 セット負荷した。

## 測定項目および測定方法

### ①血液生化学データ

上腕静脈から採取した血液を用い、TC, HDLC, LDLC, TG および FBG の血中濃度を測定した。

### ①血漿アミノ酸濃度

試験薬摂取 2 週間前および運動前に採血をおこない、血漿アミノ酸濃度の測定をおこなった。採血は、一晩絶食後の午前中の空腹時におこなった。

### ②血行動態および動脈スティフネス

血行動態として、血圧 (収縮期および拡張期血圧と脈圧) および心拍数を測定した。動脈スティフネスの指標として cfPWV および頸動脈コンプライアンスを測定した。これらの測定項目は、運動前と、運動 1 日後から 4 日後まで計 5 回測定した。

## 統計解析

すべての値は、平均値 ± 標準誤差で示した。両群の試験薬摂取前後の血漿タウリン濃度、血行動態、cfPWV および頸動脈コンプライアンスの変化の検定には、two-way repeated measure ANOVA を用い、有意な交互作用が認められた場合には、Tukey 法により事後検定をおこなった。

## 7-2-4. 結果

### 血漿タウリン濃度の変化

Fig. 7-4 に、P 群および T 群の血漿タウリン濃度の変化を示す。P 群において、2 週間のプラセボ摂取 (6 g/日) による血漿タウリン濃度の有意な変化は確認されなかった。一方、T 群においては、2 週間のタウリン摂取 (6 g/日) によって血漿タウリン濃度が有意に約 2 倍に増加した。

### 血行動態

Table 7-4 に、血圧、脈圧、心拍数の推移を示す。いずれの項目においても、有意な交互作用は認められず、伸張性運動による有意な変化は確認されなかった。

### 動脈スティフネス

Fig. 7-5 に、動脈スティフネスの指標である cfPWV と頸動脈コンプライアンスの推移を示す。いずれの項目においても、2 元配置分散分析の結果、有意な交互作用が認められた ( $p < 0.05$ )。伸張性運動による運動 72 時間後および 96 時間後の cfPWV の増加は、T 群において P 群と比較し有意に低値を示した ( $p < 0.05$ )。また、伸張性運動による運動 72 時間後および 96 時間後の頸動脈コンプライアンスの低下は、T 群において P 群と比較し有意に高値を示した ( $p < 0.05$ )。

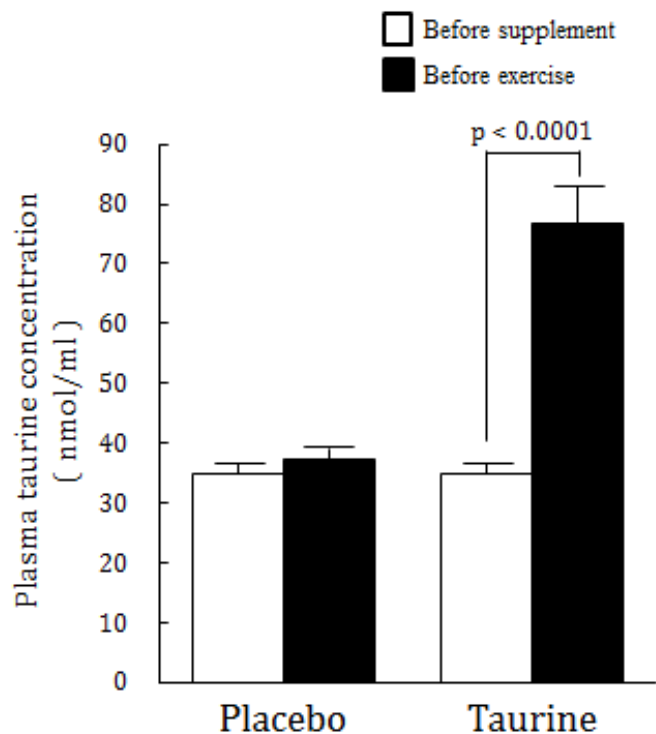


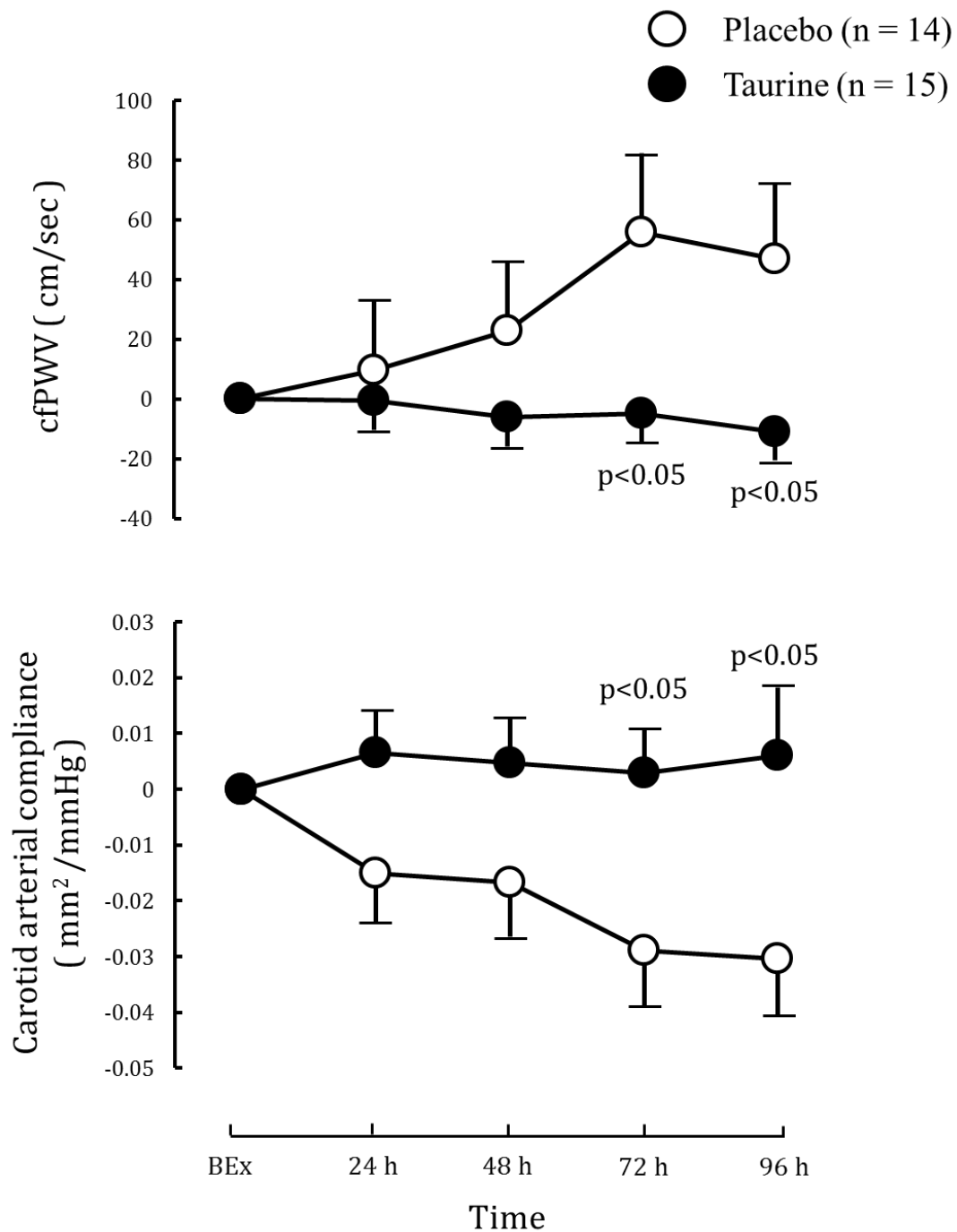
Fig. 7-4 Changes in plasma taurine concentration before and after 2 weeks taurine supplementation. Values are means  $\pm$  SE.



**Table 7-4** Changes in hemodynamics after exercise.

		BEx	24 h	48 h	72 h	96 h
SBP	P	113.6 ± 2.1	113.9 ± 2.3	113.5 ± 1.9	114.3 ± 2.6	114.6 ± 2.0
	T	113.1 ± 2.1	117.2 ± 2.5	115.8 ± 2.5	115.9 ± 2.1	114.2 ± 2.6
DBP	P	65.6 ± 1.8	65.5 ± 1.8	65.6 ± 1.5	67.0 ± 2.3	66.7 ± 1.8
	T	66.9 ± 1.9	67.9 ± 1.5	68.1 ± 2.0	66.8 ± 1.7	66.1 ± 2.0
PP	P	65.6 ± 1.8	48.4 ± 1.5	47.9 ± 1.5	47.3 ± 1.6	47.9 ± 1.0
	T	66.9 ± 1.9	47.3 ± 1.5	46.4 ± 1.4	49.1 ± 1.2	48.1 ± 1.5
HR	P	54.9 ± 1.4	53.4 ± 1.2	55.6 ± 1.5	55.2 ± 1.4	56.9 ± 1.9
	T	55.9 ± 1.5	55.5 ± 1.7	56.3 ± 2.1	56.1 ± 1.8	58.3 ± 2.8

Values are mean ± SE. Abbreviations: SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; PP, pulse pressure; HR, heart rate; BEx, before exercise; P, placebo supplement group; T, taurine supplement group.



**Fig. 7-5** Changes in cfPWV (A) and arterial compliance (B) after exercise. Values are mean  $\pm$  SE. Abbreviations: BEx, before exercise.

### 7-2-5. 考察

本研究課題では、運動前 2 週間から運動 3 日後までのタウリン摂取 (6g/日) が、レジスタンス運動 72 時間後および 96 時間後の動脈スティフネスの増加を有意に抑制することが示された。

Barnes et al. (2010) は、若年男性における上腕屈筋群の伸張性運動は、運動 48 時間後の動脈スティフネス (cfPWV) を有意に増加させることを報告している。しかし、この先行研究においてはコントロール群 (運動負荷をおこなわない群) を設定していないため、上腕の伸張性運動による変化とは断定できなかつた。本研究課題では、研究の目的上、コントロール群 (運動負荷をおこなわない群) を設定していないものの、T 群において P 群と比較して、動脈スティフネスの増加 (cfPWV の増加および頸動脈コンプライアンスの低下) が抑制されることを明らかにした (Fig. 7-5)。しかし上記の先行研究における cfPWV の変化のピークは運動 48 時間後であったのに対し、本研究課題での変化のピークは運動 72 時間後であり、ピークの発現にずれがあることがわかる。対象群を置いているという点で、本研究課題の方がより信憑性は高いと考えられるが、なぜピークが発現に差が生じたのか、またなぜ動脈スティフネスが運動数日後に発現するのかについては、未だ明らかにされていない。

ひとつの可能性として、動脈スティフネスの増加には酸化ストレスの増加が関与している可能性が考えられる。Close et al. (2004) は、若年男性に伸張性運動の一種である下り坂走 (65%  $\dot{V}O_{2max}$ ) を 30 分間負荷したところ、酸化ストレスの指標である血清中のマロンジアルデヒド (malondialdehyde: MDA) の濃度が運動 72 時間後に有意に増加したことを報告している。このことから、伸張性運動後の酸化ストレスの増加は、運動直後ではなく、運動数日後に増加することが示唆される。本研究課題における動脈スティフネスは、運動 72 時間後および 96 時間後においてピークを迎えたことから、Close et al. (2004) の酸化ストレスが増加したピークと時間経過が一致する。一方、Silva et al. (2011) は、運動前 15 日間のラットにおけるタウリン摂取 (0.3g/kg/day) が、90 分間の下り坂走負荷後 48 時間における酸化ストレスの増加を抑制することを報告している。すなわち、運動前のタウリン摂取は、運動誘発性の酸化ストレスの増加を抑制する作用があることが示唆される。本研究課題においても、伸張性運動による酸化ストレスの増加が動脈スティフネスを増加させ、タウリン摂取がその増加を抑制した可能性が考えられる。

血圧の上昇も、動脈ステイフネスを増加させる要因のひとつであることが知られている。レジスタンス運動をおこなうと、収縮期および拡張期血圧は急激に上昇し (MacDougall et al. 1985) , アームカールやハンドグリップといった、比較的小さな筋群を用いたレジスタンス運動においても観察されている (MacDougall et al. 1985; Petrofsky and Lind 1975) 。しかし、本研究では、伸張性運動による血圧の変動は確認されなかった (Table 7-4) 。 Barnes et al. (2010) の先行研究においても、運動 24 時間後、48 時間後、72 時間後における収縮期および拡張期血圧、そして脈圧の有意な変化は確認されていない。上腕屈筋群の伸張性運動は、運動後数日間の血圧や脈圧には影響を与えず、その変動の動脈ステイフネスへの影響は少ない可能性が考えられる。

本研究課題では、酸化ストレス関連物質 (活性酸素種など) を測定していないため、そこに限界があると考えられる。今後、酸化ストレス関連物質を測定し、その関係性を検討する必要があると考えられる。

#### 7-2-6. まとめ

若年男性における運動前 2 週間から運動 3 日後までのタウリン摂取 (6g/日) は、レジスタンス運動 72 時間後および 96 時間後の動脈ステイフネスの増加を抑制することが示された。

## 第8章 総合討論

本研究では、疲労時に生体内でタウリンが増加する意義の一端を明らかにし、そのタウリンを摂取することが、レジスタンス運動後の DOMS および動脈スティフネスに及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

研究課題 1-1 では、疲労したアスリートの唾液中代謝産物を網羅的に解析するために、メタボローム解析を用いた検討をおこない、疲労時には唾液中の複数の代謝産物が増加することが示された (Table 4-2) . 中でも、タウリンは、主成分分析による第一主成分 (PC1) との相関係数と定義される因子負荷量が 0.9019 と高い代謝産物であった。研究課題 1-2 では、疲労時にそのレベルが低下すると言われている sIgA の変動とタウリンの変動を比較検討することでタウリンの疲労マーカーとしての妥当性を検証した。その結果、疲労時には sIgA が低下し、同時にタウリン濃度が増加することが示された。sIgA は免疫機能に関与する物質であるが、タウリンにはそのような効果は報告されていない。タウリンには、運動中の血糖低下を抑制する効果があることが報告されている (石倉ら 2008) . 研究課題 1-1 においても、解糖系の酵素や糖新生に利用されるアラニン、そしてインスリン非依存的に糖の組織への輸送をおこなうイソロイシンやロイシン (吉澤と長澤 2007) が、疲労時に増加した (Table 4-2) . すなわち、疲労時には血中 (Cuisinier et al. 2002) や唾液中にタウリンが逸脱し、体液中で糖代謝に影響を及ぼしている可能性が示唆される。しかし、研究課題 1-1 では、対象群、すなわち疲労しなかった、または疲労度の低かった被験者の唾液中代謝産物の変化については検討できていない。Table 4-2 では 13 種類の代謝産物を候補物質として挙げているが、対象群が設定されていれば、疲労時に変化する代謝産物をより正確に同定することが可能であったと考えられ、この点が本研究課題 1 の限界であると言える。

研究課題 1 の結果から、タウリンが疲労時に増加し何らかの役割を果たしている可能性が示唆された。このことから、運動前にタウリンを摂取し体内レベルを高めておくことが、運動時の疲労予防やパフォーマンス向上に役立つ可能性が考えられる。そこで、研究課題 3 および 4 では、ヒトにおける経口タウリン摂取が、運動時の身体機能に及ぼす影響について検証した。

研究課題 3 では、タウリン摂取がレジスタンス運動後に惹起される DOMS に及ぼす影響を検証した。第 1 章の緒言でも示したように、ACSM や AHA によって 2007 年に改定されたガイドラ

イン (ACSM 1998; Williams et al. 2007b) では、有酸素性運動だけでなく、レジスタンス運動をおこなうことが推奨されるようになった。有酸素性運動だけでは、加齢に伴う筋力の低下を抑制することが困難であり、レジスタンス運動には筋力を増加させるだけではなく、加齢に伴って低下する骨密度の維持・増加も期待でき、さらには血糖値や血中コレステロール濃度を低下させるという効果もある。しかし、レジスタンス運動、特に伸張性収縮を伴う運動においては運動後に DOMS が惹起され、これは一般健常者の運動継続を妨げる一因であり、アスリートにおいてはコンディションの維持やパフォーマンスに悪影響を及ぼす可能性がある。研究課題 3 では、若年男性におけるタウリン摂取が、レジスタンス運動後の DOMS を抑制することが示された。一方、一過性のレジスタンス運動は動脈ステイフネスを増加させることが報告されている (Barnes et al. 2010; DeVan et al. 2005) 。動脈ステイフネスの増加は、心血管疾患の危険因子であるため、レジスタンス運動の実施を躊躇したり妨げる要因となっている。研究課題 4 では、若年男性におけるタウリン摂取が、レジスタンス運動後の動脈ステイフネスの増加を抑制することが示された。すなわち、タウリン摂取は、レジスタンス運動後に骨格筋および動脈において起こる、DOMS と動脈ステイフネスの増加をいずれも抑制することのできるアミノ酸であることが検証された。

本研究で注目すべき点は、DOMS と動脈ステイフネスはそれぞれ、運動直後から数時間というオーダーではなく、運動数日後に発症しているという点である。伸張性運動後には、運動 3 日後あたりに酸化ストレスが増加することが報告されており (Close et al. 2004) ， DOMS や動脈ステイフネスの増加には酸化ストレスの関与が疑われている (Childs et al. 2001; Margonis et al. 2007) 。 Barnes et al. (2010) の研究では、上腕に伸張性運動を負荷すると、運動 48 時間後に運動前と比較し動脈ステイフネスが増加することが示されている。本研究においては、運動 48 時間後から動脈ステイフネスが増加を始めてはいるものの、そのピークは運動 72 時間後および 96 時間後にある。先述した Close et al. (2004) の研究では、伸張性運動 (下り坂走) 72 時間後に酸化ストレスが増加している。これらを鑑みると、本研究における伸張性運動後の動脈ステイフネスの増加が抑制された機序には、タウリン摂取による抗酸化作用 (Silva et al. 2011) の影響が強かったことが示唆される。一方、動脈ステイフネスの推移と異なって、DOMS のピークは運動 24 時間後もしくは 48 時間後に現れ、タウリン摂取の効果が認められたのは運動 48 時間後であった (Fig. 6-2) 。すなわち、タウリン摂取によ

る DOMS 抑制効果は、抗酸化作用も関与しているものの、それ以外の因子も影響している可能性が考えられる。例えば、発痛増強物質である PGE2 の産生に関与する  $\text{Ca}^{2+}$ 濃度の恒常性維持作用 (Gijón et al. 2000; Koda and Mizumura 2002; Mizumura et al. 1993) や、PGE2 の作用を介した BK やその受容体の痛覚過敏に影響しているのかもしれない。

## 今後の研究課題

本博士論文で得られた結果を一般化するためには、次の点についてさらに検討を加える必要があると考えられる。

### 1. メカニズムの解明

本研究は、タウリン摂取がレジスタンス運動後の DOMS および動脈スティフネスに及ぼす影響を検討したものである。若年男性におけるタウリン摂取が、DOMS と動脈スティフネスの増加を抑制するという現象を明らかにしたが、そのメカニズムに関与する酸化ストレスや炎症関連物質の測定が今後必要であると考えられる。

### 2. 対象

本研究では、健康な若年男性を対象に検討をおこなっており、今後、性別や年齢の異なる集団を対象に、同様の効果が得られるかについて検討し、タウリン摂取の効果を一般化することが必要であると考えられる。

### 3. トレーニング介入

レジスタンス運動によって動脈スティフネスが増加するという報告は、数ヶ月のトレーニング実験から導き出された結果である。いずれの研究においても、なぜレジスタンス運動を継続的にこなすと動脈スティフネスが増加するのかについては、一致した見解が得られていない。本研究の結果は、レジスタンス運動 (伸張性運動) 数日後に増加する動脈スティフネスの蓄積が、慢性的な動脈スティフネスの増加に繋がる可能性を示唆するものである。今後、レジスタンストレーニング

介入をおこない、そのメカニズムを明らかにする必要があると考える。



## 第9章 結論

本研究により得られた新たな知見を、以下にまとめる。

1. 高強度運動が繰り返される場合 (短期間におこなわれる競技会や試合合宿など) , 疲労症状の発現に伴って、唾液中のタウリン濃度が増加することが検証された。また、既存の疲労マーカーとして知られている唾液中 sIgA の低下と、唾液中タウリン濃度の増加が同時に起こったことから、繰り返される高強度運動による疲労によって唾液中タウリン濃度が増加した可能性が示唆される。
2. 若年男性が 6g/day のタウリンを 2 週間経口摂取すると、血漿タウリン濃度が約 2 倍に増加することが示された。
3. 若年男性における運動 2 週間前から運動 3 日後までのタウリン摂取 (6g/day) は、伸張性運動後の DOMS と動脈スティフネスの増加を抑制することが検証された。タウリン摂取は、レジスタンス運動後の DOMS による不快感や、動脈スティフネスの増加によるリスクの軽減の両者に有効である経口サプリメントであることが示された。

以上の結果は、曖昧に理解されていたタウリンの生理作用を明らかにするものであり、レジスタンス運動を、継続的に、より安全におこなう上で重要な新知見を提供するものであると考える。

## 謝辞

本研究を終えるにあたり、本研究の立案から実験遂行、論文作成に至まで、多大なるご指導・ご助言を賜りました筑波大学体育系・前田清司教授と大森肇教授に厚く御礼申し上げます。また、博士学位審査の副査をお引き受けいただきました筑波大学体育系・宮川俊平教授と筑波大学医学医療系・竹越一博教授に、心より御礼申し上げます。

博士前期課程入学当初から、研究を進めるにあたって絶えず懇切丁寧にご指導いただきました東京医科大学茨城医療センター・宮崎照雄講師に心より感謝申し上げます。産業技術総合研究所ヒューマンライフテクノロジー研究部門・菅原順先生、流通経済大学スポーツ健康科学部・大槻毅准教授、筑波大学医学医療系・中田由夫准教授にも、実験の計画や遂行にあたり多大なるご助言を賜りましたことを感謝申し上げます。

本研究の遂行だけでなく、日常生活においてもいつも支えとなってくださいました、筑波大学人間総合科学研究科・前田研究室および大森研究室の皆様にご感謝申し上げます。そして、ヒトを対象とした本研究は、被験者の皆様のご協力によって成し得たものです。本当に有難うございました。

最後に、研究に従事するため、絶えず暖かく支えてくれた家族や親族と多くの友人に深甚なる感謝の意を表します。

## 参考文献

- Akimoto T, Kumai Y, Akama T, Hayashi E, Murakami H, Soma R, Kuno S, Kono I (2003) Effects of 12 months of exercise training on salivary secretory IgA levels in elderly subjects. *Br J Sports Med* 37 (1):76-79
- Al-Lahham SH, Peppelenbosch MP, Roelofsen H, Vonk RJ, Venema K (2010) Biological effects of propionic acid in humans; metabolism, potential applications and underlying mechanisms. *Biochim Biophys Acta* 1801 (11):1175-1183.
- Allen DG, Whitehead NP, Yeung EW (2005) Mechanisms of stretch-induced muscle damage in normal and dystrophic muscle: role of ionic changes. *J Physiol* 567 (Pt 3):723-735.
- American College of Sports Medicine Position Stand. Exercise and physical activity for older adults (1998). *Med Sci Sports Exerc* 30 (6):992-1008
- Armstrong RB (1984) Mechanisms of exercise-induced delayed onset muscular soreness: a brief review. *Med Sci Sports Exerc* 16 (6):529-538
- Armstrong RB, Warren GL, Warren JA (1991) Mechanisms of exercise-induced muscle fibre injury. *Sports Med* 12 (3):184-207
- Balshaw TG, Bampouras TM, Barry TJ, Sparks SA (2013) The effect of acute taurine ingestion on 3-km running performance in trained middle-distance runners. *Amino Acids* 44 (2):555-561. doi:10.1007/s00726-012-1372-1
- Banik RK, Kozaki Y, Sato J, Gera L, Mizumura K (2001) B2 receptor-mediated enhanced bradykinin sensitivity of rat cutaneous C-fiber nociceptors during persistent inflammation. *J Neurophysiol* 86 (6):2727-2735
- Barderas MG, Laborde CM, Posada M, de la Cuesta F, Zubiri I, Vivanco F, Alvarez-Llamas G (2011) Metabolomic profiling for identification of novel potential biomarkers in cardiovascular diseases. *J Biomed Biotechnol* 2011:790132.
- Barnes JN, Trombold JR, Dhindsa M, Lin HF, Tanaka H (2010) Arterial stiffening following eccentric exercise-induced muscle damage. *J Appl Physiol* 109 (4):1102-1108.
- Barua M, Liu Y, Quinn MR (2001) Taurine chloramine inhibits inducible nitric oxide synthase and TNF-alpha gene expression in activated alveolar macrophages: decreased NF-kappaB activation and IkappaB kinase activity. *J Immunol* 167 (4):2275-2281
- Bellentani S, Pecorari M, Cordoma P, Marchegiano P, Manenti F, Bosisio E, De Fabiani E, Galli G (1987) Taurine increases bile acid pool size and reduces bile saturation index in the hamster. *J Lipid Res* 28 (9):1021-1027

- Bertovic DA, Waddell TK, Gatzka CD, Cameron JD, Dart AM, Kingwell BA (1999) Muscular strength training is associated with low arterial compliance and high pulse pressure. *Hypertension* 33 (6):1385-1391
- Blais C, Adam A, Massicotte D, Péronnet F (1999) Increase in blood bradykinin concentration after eccentric weight-training exercise in men. *J Appl Physiol* 87 (3):1197-1201
- Blomstrand E, Essen-Gustavsson B (2009) Changes in amino acid concentration in plasma and type I and type II fibres during resistance exercise and recovery in human subjects. *Amino Acids* 37 (4):629-636.
- Bonventre JV, Sapirstein A (2002) Group IV cytosolic phospholipase A2 (PLA2) function: insights from the knockout mouse. *Adv Exp Med Biol* 507:25-31
- Boos CJ, Balakrishnan B, Blann AD, Lip GY (2008) The relationship of circulating endothelial cells to plasma indices of endothelial damage/dysfunction and apoptosis in acute coronary syndromes: implications for prognosis. *J Thromb Haemost* 6 (11):1841-1850.
- Brinkley TE, Nicklas BJ, Kanaya AM, Satterfield S, Lakatta EG, Simonsick EM, Sutton-Tyrrell K, Kritchevsky SB (2009) Plasma oxidized low-density lipoprotein levels and arterial stiffness in older adults: the health, aging, and body composition study. *Hypertension* 53 (5):846-852.
- Budgett R (1998) Fatigue and underperformance in athletes: the overtraining syndrome. *Br J Sports Med* 32 (2):107-110
- Cadore E, Lhullier F, Brentano M, Silva E, Ambrosini M, Spinelli R, Silva R, Kruel L (2008) Correlations between serum and salivary hormonal concentrations in response to resistance exercise. *J Sports Sci* 26 (10):1067-1072.
- Casey DP, Beck DT, Braith RW (2007a) Progressive resistance training without volume increases does not alter arterial stiffness and aortic wave reflection. *Exp Biol Med (Maywood)* 232 (9):1228-1235.
- Casey DP, Pierce GL, Howe KS, Mering MC, Braith RW (2007b) Effect of resistance training on arterial wave reflection and brachial artery reactivity in normotensive postmenopausal women. *Eur J Appl Physiol* 100 (4):403-408.
- Childs A, Jacobs C, Kaminski T, Halliwell B, Leeuwenburgh C (2001) Supplementation with vitamin C and N-acetylcysteine increases oxidative stress in humans after an acute muscle injury induced by eccentric exercise. *Free Radic Biol Med* 31 (6):745-753.
- Clarkson PM, Nosaka K, Braun B (1992) Muscle function after exercise-induced muscle damage and rapid adaptation. *Med Sci Sports Exerc* 24 (5):512-520
- Cleak MJ, Eston RG (1992) Delayed onset muscle soreness: mechanisms and management. *J Sports Sci* 10 (4):325-341

Close GL, Ashton T, Cable T, Doran D, MacLaren DP (2004) Eccentric exercise, isokinetic muscle torque and delayed onset muscle soreness: the role of reactive oxygen species. *Eur J Appl Physiol* 91 (5-6):615-621.

Conte-Camerino D, Franconi F, Mambrini M, Bennardini F, Failli P, Bryant S, Giotti A (1987) The action of taurine on chloride conductance and excitability characteristics of rat striated muscle fibers. *Pharmacol Res Commun* 19 (10):685-701

Cook CJ (2002) Rapid noninvasive measurement of hormones in transdermal exudate and saliva. *Physiol Behav* 75 (1-2):169-181

Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, Deanfield J, Drexler H, Gerhard-Herman M, Herrington D, Vallance P, Vita J, Vogel R, Force IBART (2002) Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol* 39 (2):257-265

Cuisinier C, Michotte De Welle J, Verbeeck RK, Poortmans JR, Ward R, Sturbois X, Francaux M (2002) Role of taurine in osmoregulation during endurance exercise. *Eur J Appl Physiol* 87 (6):489-495.

Cummings JH, Pomare EW, Branch WJ, Naylor CP, Macfarlane GT (1987) Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood. *Gut* 28 (10):1221-1227

Danielsson H (1963) Present status of research on catabolism and excretion of cholesterol. *Adv Lipid Res* 1:335-385

Davison A, Kaczmarek L (1971) Taurine--a possible neurotransmitter? *Nature* 234 (5324):107-108

De Lorenzo F, Xiao H, Mukherjee M, Harcup J, Suleiman S, Kadziola Z, Kakkar W (1998) Chronic fatigue syndrome: physical and cardiovascular deconditioning. *QJM* 91 (7):475-481

De Luca A, Pierno S, Camerino DC (1996) Effect of taurine depletion on excitation-contraction coupling and Cl<sup>-</sup> conductance of rat skeletal muscle. *Eur J Pharmacol* 296 (2):215-222

Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ (2007) Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation* 115 (10):1285-1295.

DeSouza CA, Shapiro LF, Clevenger CM, Dinunno FA, Monahan KD, Tanaka H, Seals DR (2000) Regular aerobic exercise prevents and restores age-related declines in endothelium-dependent vasodilation in healthy men. *Circulation* 102 (12):1351-1357

DeVan AE, Anton MM, Cook JN, Neidre DB, Cortez-Cooper MY, Tanaka H (2005) Acute effects of resistance exercise on arterial compliance. *J Appl Physiol* 98 (6):2287-2291.

Ebbeling CB, Clarkson PM (1989) Exercise-induced muscle damage and adaptation. *Sports Med* 7 (4):207-234

Eklblom B (1986) Applied physiology of soccer. *Sports Med* 3 (1):50-60

Enea C, Seguin F, Petitpas-Mulliez J, Boildieu N, Boisseau N, Delpech N, Diaz V, Eugène M, Dugué B (2010) (1)H NMR-based metabolomics approach for exploring urinary metabolome modifications after acute and chronic physical exercise. *Anal Bioanal Chem* 396 (3):1167-1176.

Fahs CA, Heffernan KS, Fernhall B (2009) Hemodynamic and vascular response to resistance exercise with L-arginine. *Med Sci Sports Exerc* 41 (4):773-779.

Ferrer MD, Tauler P, Sureda A, Pujol P, Drobnic F, Tur JA, Pons A (2009) A soccer match's ability to enhance lymphocyte capability to produce ROS and induce oxidative damage. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 19 (3):243-258

Freeman R, Komaroff AL (1997) Does the chronic fatigue syndrome involve the autonomic nervous system? *Am J Med* 102 (4): 357-364

Fridén J, Lieber RL (1992) Structural and mechanical basis of exercise-induced muscle injury. *Med Sci Sports Exerc* 24 (5):521-530

Galarreta M, Bustamante J, Martin del Río R, Solís J (1996) Taurine induces a long-lasting increase of synaptic efficacy and axon excitability in the hippocampus. *J Neurosci* 16 (1):92-102

Galloway SD, Talanian JL, Shoveller AK, Heigenhauser GJ, Spriet LL (2008) Seven days of oral taurine supplementation does not increase muscle taurine content or alter substrate metabolism during prolonged exercise in humans. *J Appl Physiol* 105 (2):643-651.

Gijón MA, Spencer DM, Siddiqi AR, Bonventre JV, Leslie CC (2000) Cytosolic phospholipase A2 is required for macrophage arachidonic acid release by agonists that Do and Do not mobilize calcium. Novel role of mitogen-activated protein kinase pathways in cytosolic phospholipase A2 regulation. *J Biol Chem* 275 (26):20146-20156.

Gleeson M (2000) Mucosal immunity and respiratory illness in elite athletes. *Int J Sports Med* 21 Suppl 1:S33-43

Gleeson M, McDonald WA, Pyne DB, Cripps AW, Francis JL, Fricker PA, Clancy RL (1999) Salivary IgA levels and infection risk in elite swimmers. *Med Sci Sports Exerc* 31 (1):67-73

Goodman C, Horvath D, Stathis C, Mori T, Croft K, Murphy R, Hayes A (2009) Taurine supplementation increases

skeletal muscle force production and protects muscle function during and after high-frequency in vitro stimulation. *J Appl Physiol* 107 (1):144-154.

Goonewardena SN, Prevette LE, Desai AA (2010) Metabolomics and atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep* 12 (4):267-272.

Gordon RE, Heller RF (1992) Taurine protection of lungs in hamster models of oxidant injury: a morphologic time study of paraquat and bleomycin treatment. *Adv Exp Med Biol* 315:319-328

Green DJ, Bilsborough W, Naylor LH, Reed C, Wright J, O'Driscoll G, Walsh JH (2005) Comparison of forearm blood flow responses to incremental handgrip and cycle ergometer exercise: relative contribution of nitric oxide. *J Physiol* 562 (Pt 2):617-628.

Hambrecht R, Fiehn E, Weigl C, Gielen S, Hamann C, Kaiser R, Yu J, Adams V, Niebauer J, Schuler G (1998) Regular physical exercise corrects endothelial dysfunction and improves exercise capacity in patients with chronic heart failure. *Circulation* 98 (24):2709-2715

Heffernan KS, Collier SR, Kelly EE, Jae SY, Fernhall B (2007a) Arterial stiffness and baroreflex sensitivity following bouts of aerobic and resistance exercise. *Int J Sports Med* 28 (3):197-203.

Heffernan KS, Jae SY, Edwards DG, Kelly EE, Fernhall B (2007b) Arterial stiffness following repeated Valsalva maneuvers and resistance exercise in young men. *Appl Physiol Nutr Metab* 32 (2):257-264.

Heffernan KS, Rossow L, Jae SY, Shokunbi HG, Gibson EM, Fernhall B (2006) Effect of single-leg resistance exercise on regional arterial stiffness. *Eur J Appl Physiol* 98 (2):185-190.

Heinecke JW (2003) Oxidative stress: new approaches to diagnosis and prognosis in atherosclerosis. *Am J Cardiol* 91 (3A):12A-16A

Hirayama A, Kami K, Sugimoto M, Sugawara M, Toki N, Onozuka H, Kinoshita T, Saito N, Ochiai A, Tomita M, Esumi H, Soga T (2009) Quantitative metabolome profiling of colon and stomach cancer microenvironment by capillary electrophoresis time-of-flight mass spectrometry. *Cancer Res* 69 (11):4918-4925.

Hodgson AB, Randell RK, Boon N, Garczarek U, Mela DJ, Jeukendrup AE, Jacobs DM (2013) Metabolic response to green tea extract during rest and moderate-intensity exercise. *J Nutr Biochem* 24 (1):325-334.

Hornig B, Maier V, Drexler H (1996) Physical training improves endothelial function in patients with chronic heart failure. *Circulation* 93 (2):210-214

Hosokawa Y, Matsumoto A, Oka J, Itakura H, Yamaguchi K (1990) Isolation and characterization of a cDNA for rat liver cysteine dioxygenase. *Biochem Biophys Res Commun* 168 (2):473-478

Huang CC, Lin WT, Hsu FL, Tsai PW, Hou CC (2010) Metabolomics investigation of exercise-modulated changes in metabolism in rat liver after exhaustive and endurance exercises. *Eur J Appl Physiol* 108 (3):557-566.

Huxtable R (1989) Taurine in the central nervous system and the mammalian actions of taurine. *Prog Neurobiol* 32 (6):471-533.

Huxtable R, Bressler R (1973) Effect of taurine on a muscle intracellular membrane. *Biochim Biophys Acta* 323 (4):573-583.

Huxtable RJ (1980) Does taurine have a function? Introduction. *Fed Proc* 39 (9):2678-2679

Huxtable RJ (1981) Insights on function: metabolism and pharmacology of taurine in the brain. *Prog Clin Biol Res* 68:53-97

Huxtable RJ (1992) Physiological actions of taurine. *Physiol Rev* 72 (1):101-163

International Human Genome Sequencing Consortium (2004) Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature* 431: 931-945

Ishikawa M, Arai S, Takano M, Hamada A, Kunimasa K, Mori M (2010) Taurine's health influence on Japanese high school girls. *J Biomed Sci* 17 Suppl 1:S47.

Iwata H, Obara T, Kim BK, Baba A (1986) Regulation of taurine transport in rat skeletal muscle. *J Neurochem* 47 (1):158-163

Jacobsen JG, Smith LH (1968) Biochemistry and physiology of taurine and taurine derivatives. *Physiol Rev* 48 (2):424-511

Jerlich A, Fritz G, Kharrazi H, Hammel M, Tschabuschnig S, Glatter O, Schaur RJ (2000) Comparison of HOCl traps with myeloperoxidase inhibitors in prevention of low density lipoprotein oxidation. *Biochim Biophys Acta* 1481 (1):109-118

Johnson HM, Douglas PS, Srinivasan SR, Bond MG, Tang R, Li S, Chen W, Berenson GS, Stein JH (2007) Predictors of carotid intima-media thickness progression in young adults: the Bogalusa Heart Study. *Stroke* 38 (3):900-905.

Johnson MB, Thiese SM (1992) A review of overtraining syndrome-recognizing the signs and symptoms. *J Athl Train* 27



(4):352-354

Juonala M, Kahonen M, Laitinen T, Hutri-Kahonen N, Jokinen E, Taittonen L, Pietikainen M, Helenius H, Viikari JS, Raitakari OT (2008) Effect of age and sex on carotid intima-media thickness, elasticity and brachial endothelial function in healthy adults: the cardiovascular risk in Young Finns Study. *Eur Heart J* 29 (9):1198-1206.

Kaisaki P, Jerkins A, Goodspeed D, Steele R, Kaisakia P (1995) Cloning and characterization of rat cysteine sulfinic acid decarboxylase. *Biochim Biophys Acta* 1262 (1):79-82

Kakiyama T, Sugawara J, Murakami H, Maeda S, Kuno S, Matsuda M (2005) Effects of short-term endurance training on aortic distensibility in young males. *Med Sci Sports Exerc* 37 (2):267-271

Kamaura M, Nishijima K, Takahashi M, Ando T, Mizushima S, Tochikubo O (2010) Lifestyle modification in metabolic syndrome and associated changes in plasma amino acid profiles. *Circ J* 74 (11):2434-2440

Kell DB (2006) Systems biology, metabolic modelling and metabolomics in drug discovery and development. *Drug Discov Today* 11 (23-24):1085-1092.

Klentrou P, Cieslak T, MacNeil M, Vintinner A, Plyley M (2002) Effect of moderate exercise on salivary immunoglobulin A and infection risk in humans. *Eur J Appl Physiol* 87 (2):153-158.

Koda H, Mizumura K (2002) Sensitization to mechanical stimulation by inflammatory mediators and by mild burn in canine visceral nociceptors in vitro. *J Neurophysiol* 87 (4):2043-2051.

Kontny E, Szczepańska K, Kowalczewski J, Kurowska M, Janicka I, Marcinkiewicz J, Maśliński W (2000) The mechanism of taurine chloramine inhibition of cytokine (interleukin-6, interleukin-8) production by rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes. *Arthritis Rheum* 43 (10):2169-2177.

Koutedakis Y, Budgett R, Faulmann L (1990) Rest in underperforming elite competitors. *Br J Sports Med* 24 (4):248-252

Kudo I, Murakami M (2002) Phospholipase A2 enzymes. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 68-69:3-58

Kuipers H (1994) Exercise-induced muscle damage. *Int J Sports Med* 15 (3):132-135.

Kuriyama K (1980) Taurine as a neuromodulator. *Fed Proc* 39 (9):2680-2684

Lamm ME, Nedrud JG, Kaetzel CS, Mazanec MB (1995) IgA and mucosal defense. *APMIS* 103 (4):241-246

Landmesser U, Hornig B, Drexler H (2004) Endothelial function: a critical determinant in atherosclerosis? *Circulation*

109 (21 Suppl 1):II27-33.

Lavender A, Nosaka K (2008) Changes in markers of muscle damage of middle-aged and young men following eccentric exercise of the elbow flexors. *J Sci Med Sport* 11 (2):124-131.

Lavender AP, Nosaka K (2006) Comparison between old and young men for changes in makers of muscle damage following voluntary eccentric exercise of the elbow flexors. *Appl Physiol Nutr Metab* 31 (3):218-225.

Lee R, West D, Phillips SM, Britz-McKibbin P (2010) Differential metabolomics for quantitative assessment of oxidative stress with strenuous exercise and nutritional intervention: thiol-specific regulation of cellular metabolism with N-acetyl-L-cysteine pretreatment. *Anal Chem* 82 (7):2959-2968.

Liang YL, Teede H, Kotsopoulos D, Shiel L, Cameron JD, Dart AM, McGrath BP (1998) Non-invasive measurements of arterial structure and function: repeatability, interrelationships and trial sample size. *Clin Sci (Lond)* 95 (6):669-679

Liu Y, Tonna-DeMasi M, Park E, Schuller-Levis G, Quinn MR (1998) Taurine chloramine inhibits production of nitric oxide and prostaglandin E2 in activated C6 glioma cells by suppressing inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 expression. *Brain Res Mol Brain Res* 59 (2):189-195

Luscher TF, Tanner FC (1993) Endothelial regulation of vascular tone and growth. *Am J Hypertens* 6 (7 Pt 2):283s-293s

MacDougall JD, Tuxen D, Sale DG, Moroz JR, Sutton JR (1985) Arterial blood pressure response to heavy resistance exercise. *J Appl Physiol* (1985) 58 (3):785-790

MacIntyre DL, Reid WD, McKenzie DC (1995) Delayed muscle soreness. The inflammatory response to muscle injury and its clinical implications. *Sports Med* 20 (1):24-40

Mackinnon LT, Chick TW, van As A, Tomasi TB (1987) The effect of exercise on secretory and natural immunity. *Adv Exp Med Biol* 216a:869-876

Mackinnon LT, Hooper S (1994) Mucosal (secretory) immune system responses to exercise of varying intensity and during overtraining. *Int J Sports Med* 15 Suppl 3:S179-183.

Maeda S, Otsuki T, Iemitsu M, Kamioka M, Sugawara J, Kuno S, Ajisaka R, Tanaka H (2006) Effects of leg resistance training on arterial function in older men. *Br J Sports Med* 40 (10):867-869.

Maeda S, Tanabe T, Miyauchi T, Otsuki T, Sugawara J, Iemitsu M, Kuno S, Ajisaka R, Yamaguchi I, Matsuda M (2003) Aerobic exercise training reduces plasma endothelin-1 concentration in older women. *J Appl Physiol* 95 (1):336-341.

Maiorana A, O'Driscoll G, Taylor R, Green D (2003) Exercise and the nitric oxide vasodilator system. *Sports Med* 33 (14):1013-1035

Mandel ID (1990) The diagnostic uses of saliva. *J Oral Pathol Med* 19 (3):119-125

Margonis K, Fatouros IG, Jamurtas AZ, Nikolaidis MG, Douroudos I, Chatzinikolaou A, Mitrakou A, Mastorakos G, Papassotiropoulos I, Taxildaris K, Kouretas D (2007) Oxidative stress biomarkers responses to physical overtraining: implications for diagnosis. *Free Radic Biol Med* 43 (6):901-910.

Meigs JB, Hu FB, Rifai N, Manson JE (2004) Biomarkers of endothelial dysfunction and risk of type 2 diabetes mellitus. *JAMA* 291 (16):1978-1986.

Miccheli A, Marini F, Capuani G, Miccheli AT, Delfini M, Di Cocco ME, Puccetti C, Paci M, Rizzo M, Spataro A (2009) The influence of a sports drink on the postexercise metabolism of elite athletes as investigated by NMR-based metabolomics. *J Am Coll Nutr* 28 (5):553-564

Miyachi M, Donato AJ, Yamamoto K, Takahashi K, Gates PE, Moreau KL, Tanaka H (2003) Greater age-related reductions in central arterial compliance in resistance-trained men. *Hypertension* 41 (1):130-135

Miyachi M, Kawano H, Sugawara J, Takahashi K, Hayashi K, Yamazaki K, Tabata I, Tanaka H (2004) Unfavorable effects of resistance training on central arterial compliance: a randomized intervention study. *Circulation* 110 (18):2858-2863.

Miyauchi T, Yanagisawa M, Iida K, Ajisaka R, Suzuki N, Fujino M, Goto K, Masaki T, Sugishita Y (1992) Age- and sex-related variation of plasma endothelin-1 concentration in normal and hypertensive subjects. *Am Heart J* 123 (4 Pt 1):1092-1093

Miyazaki T, Matsuzaki Y, Ikegami T, Miyakawa S, Doy M, Tanaka N, Bouscarel B (2004) Optimal and effective oral dose of taurine to prolong exercise performance in rat. *Amino Acids* 27 (3-4):291-298.

Mizumura K (1998) Natural history of nociceptor sensitization: the search for a peripheral mechanism of hyperalgesia. *Pain Reviews* 5 (2):59-82

Mizumura K, Minagawa M, Tsujii Y, Kumazawa T (1990) The effects of bradykinin agonists and antagonists on visceral polymodal receptor activities. *Pain* 40 (2):221-227.

Mizumura K, Minagawa M, Tsujii Y, Kumazawa T (1993) Prostaglandin E2-induced sensitization of the heat response of canine visceral polymodal receptors in vitro. *Neurosci Lett* 161 (1):117-119.

Mohr M, Krustup P, Bangsbo J (2003) Match performance of high-standard soccer players with special reference to

development of fatigue. *J Sports Sci* 21 (7):519-528.

Moreau KL, Donato AJ, Seals DR, DeSouza CA, Tanaka H (2003) Regular exercise, hormone replacement therapy and the age-related decline in carotid arterial compliance in healthy women. *Cardiovasc Res* 57 (3):861-868

Moriguchi EH, Moriguchi Y, Yamori Y (2004) Impact of diet on the cardiovascular risk profile of Japanese immigrants living in Brazil: contributions of World Health Organization CARDIAC and MONALISA studies. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 31 Suppl 2:S5-7

Murase S, Terazawa E, Queme F, Ota H, Matsuda T, Hirate K, Kozaki Y, Katanosaka K, Taguchi T, Urai H, Mizumura K (2010) Bradykinin and nerve growth factor play pivotal roles in muscular mechanical hyperalgesia after exercise (delayed-onset muscle soreness). *J Neurosci* 30 (10):3752-3761.

Najjar SS, Scuteri A, Lakatta EG (2005) Arterial aging: is it an immutable cardiovascular risk factor? *Hypertension* 46 (3):454-462.

Nakamura-Yamanaka Y, Tsuji K, Ichikawa T (1987) Effect of dietary taurine on cholesterol 7 alpha-hydroxylase activity in the liver of mice fed a lithogenic diet. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 33 (3):239-243

Neal CM, Hunter AM, Brennan L, O'Sullivan A, Hamilton DL, De Vito G, Galloway SD (2013) Six weeks of a polarized training-intensity distribution leads to greater physiological and performance adaptations than a threshold model in trained cyclists. *J Appl Physiol* (1985) 114 (4):461-471.

Nieman DC (1994a) Exercise, infection, and immunity. *Int J Sports Med* 15 Suppl 3:S131-141.

Nieman DC (1994b) Exercise, upper respiratory tract infection, and the immune system. *Med Sci Sports Exerc* 26 (2):128-139

Nieminen M, Tuomisto L, Solatunturi E, Eriksson L, Paasonen M (1988) Taurine in the osmoregulation of the Brattleboro rat. *Life Sci* 42 (21):2137-2143

Nittynen L, Nurminen ML, Korpela R, Vapaatalo H (1999) Role of arginine, taurine and homocysteine in cardiovascular diseases. *Ann Med* 31 (5):318-326

O'Rourke M (1990) Arterial stiffness, systolic blood pressure, and logical treatment of arterial hypertension. *Hypertension* 15 (4):339-347

O'Rourke MF, Hashimoto J (2007) Mechanical factors in arterial aging: a clinical perspective. *J Am Coll Cardiol* 50 (1):1-13.

Ohashi Y, Hirayama A, Ishikawa T, Nakamura S, Shimizu K, Ueno Y, Tomita M, Soga T (2008) Depiction of metabolome changes in histidine-starved *Escherichia coli* by CE-TOFMS. *Mol Biosyst* 4 (2):135-147.

Okamoto T, Masuhara M, Ikuta K (2009) Upper but not lower limb resistance training increases arterial stiffness in humans. *Eur J Appl Physiol* 107 (2):127-134.

Oliver SG, Winson MK, Kell DB, Baganz F (1998) Systematic functional analysis of the yeast genome. *Trends Biotechnol* 16 (9):373-378

Otsuki T, Maeda S, Iemitsu M, Saito Y, Tanimura Y, Ajisaka R, Miyauchi T (2007) Relationship between arterial stiffness and athletic training programs in young adult men. *Am J Hypertens* 20 (9):967-973.

Otsuki T, Shimizu K, Iemitsu M, Kono I (2012) Chlorella intake attenuates reduced salivary SIgA secretion in kendo training camp participants. *Nutr J* 11:103.

Panza JA, Quyyumi AA, Brush JE, Epstein SE (1990) Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *N Engl J Med* 323 (1):22-27.

Pasantes-Morales H, Wright C, Gaull G (1985) Taurine protection of lymphoblastoid cells from iron-ascorbate induced damage. *Biochem Pharmacol* 34 (12):2205-2207.

Paschalis V, Nikolaidis MG, Theodorou AA, Panayiotou G, Fatouros IG, Koutedakis Y, Jamurtas AZ (2011) A weekly bout of eccentric exercise is sufficient to induce health-promoting effects. *Med Sci Sports Exerc* 43 (1):64-73.

Pedersen BK, Ullum H (1994) NK cell response to physical activity: possible mechanisms of action. *Med Sci Sports Exerc* 26 (2):140-146

Perkins MN, Kelly D (1993) Induction of bradykinin B1 receptors in vivo in a model of ultra-violet irradiation-induced thermal hyperalgesia in the rat. *Br J Pharmacol* 110 (4):1441-1444

Petrofsky JS, Lind AR (1975) Aging, isometric strength and endurance, and cardiovascular responses to static effort. *J Appl Physiol* 38 (1):91-95

Pyne DB (1994) Exercise-induced muscle damage and inflammation: a review. *Aust J Sci Med Sport* 26 (3-4):49-58

Rakobowchuk M, McGowan CL, de Groot PC, Hartman JW, Phillips SM, MacDonald MJ (2005) Endothelial function of young healthy males following whole body resistance training. *J Appl Physiol* 98 (6):2185-2190.

Reymond I, Sergeant A, Tappaz M (1996) Molecular cloning and sequence analysis of the cDNA encoding rat liver

cysteine sulfinic acid decarboxylase (CSD). *Biochim Biophys Acta* 1307 (2):152-156.

Roig M, O'Brien K, Kirk G, Murray R, McKinnon P, Shadgan B, Reid WD (2009) The effects of eccentric versus concentric resistance training on muscle strength and mass in healthy adults: a systematic review with meta-analysis. *Br J Sports Med* 43 (8):556-568.

Ross R (1999) Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med* 340 (2):115-126.

Sannikka E, Terho P, Suominen J, Santti R (1983) Testosterone concentrations in human seminal plasma and saliva and its correlation with non-protein-bound and total testosterone levels in serum. *Int J Androl* 6 (4):319-330

Satoh H, Kang J (2009) Modulation by taurine of human arterial stiffness and wave reflection. *Adv Exp Med Biol* 643:47-55.

Schaffer SW, Lombardini JB, Azuma J (2000) Interaction between the actions of taurine and angiotensin II. *Amino Acids* 18 (4):305-318

Schächinger V, Britten MB, Zeiher AM (2000) Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease. *Circulation* 101 (16):1899-1906

Seals DR, Walker AE, Pierce GL, Lesniewski LA (2009) Habitual exercise and vascular ageing. *J Physiol* 587 (Pt 23):5541-5549.

Shimomura Y, Inaguma A, Watanabe S, Yamamoto Y, Muramatsu Y, Bajotto G, Sato J, Shimomura N, Kobayashi H, Mawatari K (2010) Branched-chain amino acid supplementation before squat exercise and delayed-onset muscle soreness. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 20 (3):236-244

Silva LA, Silveira PC, Ronsani MM, Souza PS, Scheffer D, Vieira LC, Benetti M, De Souza CT, Pinho RA (2011) Taurine supplementation decreases oxidative stress in skeletal muscle after eccentric exercise. *Cell Biochem Funct* 29 (1):43-49.

Sjovall J (1959) Dietary glycine and taurine on bile acid conjugation in man; bile acids and steroids 75. *Proc Soc Exp Biol Med* 100 (4):676-678

Smith LL (1991) Acute inflammation: the underlying mechanism in delayed onset muscle soreness? *Med Sci Sports Exerc* 23 (5):542-551

Soga T, Heiger DN (2000) Amino acid analysis by capillary electrophoresis electrospray ionization mass spectrometry. *Anal Chem* 72 (6):1236-1241

Soga T, Sugimoto M, Honma M, Mori M, Igarashi K, Kashikura K, Ikeda S, Hirayama A, Yamamoto T, Yoshida H, Otsuka M, Tsuji S, Yatomi Y, Sakuragawa T, Watanabe H, Nihei K, Saito T, Kawata S, Suzuki H, Tomita M, Suematsu M (2011) Serum metabolomics reveals  $\gamma$ -glutamyl dipeptides as biomarkers for discrimination among different forms of liver disease. *J Hepatol* 55 (4):896-905.

Soga T, Ueno Y, Naraoka H, Ohashi Y, Tomita M, Nishioka T (2002) Simultaneous determination of anionic intermediates for *Bacillus subtilis* metabolic pathways by capillary electrophoresis electrospray ionization mass spectrometry. *Anal Chem* 74 (10):2233-2239

Solís J, Herranz A, Herreras O, Lerma J, Martín del Río R (1988) Does taurine act as an osmoregulatory substance in the rat brain? *Neurosci Lett* 91 (1):53-58

Sonobe T, Inagaki T, Poole DC, Kano Y (2008) Intracellular calcium accumulation following eccentric contractions in rat skeletal muscle in vivo: role of stretch-activated channels. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 294 (4):R1329-1337.

Sreekumar A, Poisson LM, Rajendiran TM, Khan AP, Cao Q, Yu J, Laxman B, Mehra R, Lonigro RJ, Li Y, Nyati MK, Ahsan A, Kalyana-Sundaram S, Han B, Cao X, Byun J, Omenn GS, Ghosh D, Pennathur S, Alexander DC, Berger A, Shuster JR, Wei JT, Varambally S, Beecher C, Chinnaiyan AM (2009) Metabolomic profiles delineate potential role for sarcosine in prostate cancer progression. *Nature* 457 (7231):910-914.

Sugawara J, Inoue H, Hayashi K, Yokoi T, Kono I (2004) Effect of low-intensity aerobic exercise training on arterial compliance in postmenopausal women. *Hypertens Res* 27 (12):897-901

Sugawara J, Otsuki T, Tanabe T, Hayashi K, Maeda S, Matsuda M (2006) Physical activity duration, intensity, and arterial stiffening in postmenopausal women. *Am J Hypertens* 19 (10):1032-1036.

Taddei S, Galetta F, Viridis A, Ghiadoni L, Salvetti G, Franzoni F, Giusti C, Salvetti A (2000) Physical activity prevents age-related impairment in nitric oxide availability in elderly athletes. *Circulation* 101 (25):2896-2901

Takahashi K, Azuma M, Taira K, Baba A, Yamamoto I, Schaffer SW, Azuma J (1997) Effect of taurine on angiotensin II-induced hypertrophy of neonatal rat cardiac cells. *J Cardiovasc Pharmacol* 30 (6):725-730

Takeda I, Stretch C, Barnaby P, Bhatnager K, Rankin K, Fu H, Weljie A, Jha N, Slupsky C (2009) Understanding the human salivary metabolome. *NMR Biomed* 22 (6):577-584.

Tamura S, Kurata T (2004) Defense mechanisms against influenza virus infection in the respiratory tract mucosa. *Jpn J Infect Dis* 57 (6):236-247

Tanaka H, DeSouza CA, Seals DR (1998) Absence of age-related increase in central arterial stiffness in physically active

women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 18 (1):127-132

Tanaka H, Dinunno FA, Monahan KD, Clevenger CM, DeSouza CA, Seals DR (2000) Aging, habitual exercise, and dynamic arterial compliance. *Circulation* 102 (11):1270-1275

Tharp GD, Barnes MW (1990) Reduction of saliva immunoglobulin levels by swim training. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 60 (1):61-64

Thijssen DH, Black MA, Pyke KE, Padilla J, Atkinson G, Harris RA, Parker B, Widlansky ME, Tschakovsky ME, Green DJ (2011) Assessment of flow-mediated dilation in humans: a methodological and physiological guideline. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 300 (1):H2-12.

Thijssen DH, Rongen GA, Smits P, Hopman MT (2008) Physical (in)activity and endothelium-derived constricting factors: overlooked adaptations. *J Physiol* 586 (2):319-324.

Thurston J, Hauhart R, Dirgo J (1980) Taurine: a role in osmotic regulation of mammalian brain and possible clinical significance. *Life Sci* 26 (19):1561-1568

Tiao G, Hobler S, Wang JJ, Meyer TA, Luchette FA, Fischer JE, Hasselgren PO (1997) Sepsis is associated with increased mRNAs of the ubiquitin-proteasome proteolytic pathway in human skeletal muscle. *J Clin Invest* 99 (2):163-168.

Timbrell JA, Seabra V, Waterfield CJ (1995) The in vivo and in vitro protective properties of taurine. *Gen Pharmacol* 26 (3):453-462.

Toikka JO, Niemi P, Ahotupa M, Niinikoski H, Viikari JS, Rönnemaa T, Hartiala JJ, Raitakari OT (1999) Large-artery elastic properties in young men : relationships to serum lipoproteins and oxidized low-density lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 19 (2):436-441

Tomasi TB, Trudeau FB, Czerwinski D, Erredge S (1982) Immune parameters in athletes before and after strenuous exercise. *J Clin Immunol* 2 (3):173-178

Toyohara T, Akiyama Y, Suzuki T, Takeuchi Y, Mishima E, Tanemoto M, Momose A, Toki N, Sato H, Nakayama M, Hozawa A, Tsuji I, Ito S, Soga T, Abe T (2010) Metabolomic profiling of uremic solutes in CKD patients. *Hypertens Res* 33 (9):944-952.

Uchida MC, Nosaka K, Ugrinowitsch C, Yamashita A, Martins E, Moriscot AS, Aoki MS (2009) Effect of bench press exercise intensity on muscle soreness and inflammatory mediators. *J Sports Sci* 27 (5):499-507.

Vaitkevicius PV, Fleg JL, Engel JH, O'Connor FC, Wright JG, Lakatta LE, Yin FC, Lakatta EG (1993) Effects of age and



aerobic capacity on arterial stiffness in healthy adults. *Circulation* 88 (4 Pt 1):1456-1462

Vallejo M, García A, Tuñón J, García-Martínez D, Angulo S, Martín-Ventura JL, Blanco-Colio LM, Almeida P, Egido J, Barbas C (2009) Plasma fingerprinting with GC-MS in acute coronary syndrome. *Anal Bioanal Chem* 394 (6):1517-1524.

Van Bortel LM, Duprez D, Starmans-Kool MJ, Safar ME, Giannattasio C, Cockcroft J, Kaiser DR, Thuillez C (2002) Clinical applications of arterial stiffness, Task Force III: recommendations for user procedures. *Am J Hypertens* 15 (5):445-452

Van Guilder GP, Westby CM, Greiner JJ, Stauffer BL, DeSouza CA (2007) Endothelin-1 vasoconstrictor tone increases with age in healthy men but can be reduced by regular aerobic exercise. *Hypertension* 50 (2):403-409.

Walsh NP, Blannin AK, Clark AM, Cook L, Robson PJ, Gleeson M (1999) The effects of high-intensity intermittent exercise on saliva IgA, total protein and alpha-amylase. *J Sports Sci* 17 (2):129-134.

Wang TJ, Larson MG, Vasan RS, Cheng S, Rhee EP, McCabe E, Lewis GD, Fox CS, Jacques PF, Fernandez C, O'Donnell CJ, Carr SA, Mootha VK, Florez JC, Souza A, Melander O, Clish CB, Gerszten RE (2011) Metabolite profiles and the risk of developing diabetes. *Nat Med* 17 (4):448-453.

Welsh RS, Davis JM, Burke JR, Williams HG (2002) Carbohydrates and physical/mental performance during intermittent exercise to fatigue. *Med Sci Sports Exerc* 34 (4):723-731

Widlansky ME, Gokce N, Keaney JF, Vita JA (2003) The clinical implications of endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 42 (7):1149-1160

Williams BJ, Cameron CJ, Workman R, Broeckling CD, Sumner LW, Smith JT (2007a) Amino acid profiling in plant cell cultures: an inter-laboratory comparison of CE-MS and GC-MS. *Electrophoresis* 28 (9):1371-1379.

Williams MA, Haskell WL, Ades PA, Amsterdam EA, Bittner V, Franklin BA, Gulanick M, Laing ST, Stewart KJ (2007b) Resistance exercise in individuals with and without cardiovascular disease: 2007 update: a scientific statement from the American Heart Association Council on Clinical Cardiology and Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. *Circulation* 116 (5):572-584.

Witko-Sarsat V, Halbwachs-Mecarelli L, Schuster A, Nusbaum P, Ueki I, Canteloup S, Lenoir G, Descamps-Latscha B, Nadel JA (1999) Proteinase 3, a potent secretagogue in airways, is present in cystic fibrosis sputum. *Am J Respir Cell Mol Biol* 20 (4):729-736.

Wright C, Tallan H, Lin Y, Gaull G (1986) Taurine: biological update. *Annu Rev Biochem* 55:427-453.

Wu J, Gao W, Wei J, Yang J, Pu L, Guo C (2012) Quercetin alters energy metabolism in swimming mice. *Appl Physiol Nutr Metab* 37 (5):912-922.

Yamori Y (2004) Worldwide epidemic of obesity: hope for Japanese diets. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 31 Suppl 2:S2-4.

Yan B, A J, Wang G, Lu H, Huang X, Liu Y, Zha W, Hao H, Zhang Y, Liu L, Gu S, Huang Q, Zheng Y, Sun J (2009) Metabolomic investigation into variation of endogenous metabolites in professional athletes subject to strength-endurance training. *J Appl Physiol* (1985) 106 (2):531-538.

Yatabe Y, Miyakawa S, Miyazaki T, Matsuzaki Y, Ochiai N (2003) Effects of taurine administration in rat skeletal muscles on exercise. *J Orthop Sci* 8 (3):415-419.

Yokogoshi H, Mochizuki H, Nanami K, Hida Y, Miyachi F, Oda H (1999) Dietary taurine enhances cholesterol degradation and reduces serum and liver cholesterol concentrations in rats fed a high-cholesterol diet. *J Nutr* 129 (9):1705-1712

Yoon ES, Jung SJ, Cheun SK, Oh YS, Kim SH, Jae SY (2010) Effects of acute resistance exercise on arterial stiffness in young men. *Korean Circ J* 40 (1):16-22.

Zhang M, Izumi I, Kagamimori S, Sokejima S, Yamagami T, Liu Z, Qi B (2004) Role of taurine supplementation to prevent exercise-induced oxidative stress in healthy young men. *Amino Acids* 26 (2):203-207.

Zheng J, Dixon RA, Li L (2012) Development of isotope labeling LC-MS for human salivary metabolomics and application to profiling metabolome changes associated with mild cognitive impairment. *Anal Chem* 84 (24):10802-10811.

Ørtenblad N, Young JF, Oksbjerg N, Nielsen JH, Lambert IH (2003) Reactive oxygen species are important mediators of taurine release from skeletal muscle cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 284 (6):C1362-1373.

久保木 芳徳, 藤沢 隆一 (1986) 〔唾液と汗〕 唾液の採取法と取り扱い. *臨床検査* 30 (9):937-942

山内 亮平, 清水 和弘, 古川 拓生, 渡部 厚一, 竹村 雅裕, 赤間 高雄, 秋本 崇之, 河野 一郎 (2009) 大学ラグビー選手における合宿期間中の唾液中分泌型免疫グロブリン A の変動. *体力科学* 58 (1):131-141

吉澤 史昭, 長澤 孝志 (2007) アミノ酸の機能性とその新展開 代謝調節因子として注目される分岐鎖アミノ酸. *化学と生物* 45 (3):203-210

名倉 宏, 大谷 明夫 (1994) 消化管免疫制御機構. *臨床免疫* 26 (11):1242-1252

小川 政史, 平田 哲也, 田村 拓久, 田崎 慎介 (1988) 73) 栄養管理下と非栄養管理下における, 本態性高血圧症患者と正常血圧者の尿中タウリン排泄量について : 日本循環器学会第 60 回九州地方会. *Japanese circulation journal* 52:196

小川 政史, 高原 晶, 石嶋 光明, 田崎 慎介 (1986) 68) 含硫アミノ酸と本態性高血圧症(第 1 報) : 血漿アミノ酸分析 : 日本循環器学会第 57 回九州地方会. *Japanese circulation journal* 50:290

小林 邦彦 (1986) [唾液と汗] 分泌液の免疫グロブリン. *臨床検査* 30 (9):971-979

石倉 恵介, 宮川 俊平, 矢田部 佳久, 竹越 一博, 大森 肇 (2008) 長時間運動時の血中グルコース濃度に及ぼすタウリン投与の影響. *体力科学* 57 (4):475-483

福井 義弘 (1987) 骨格筋の収縮に対する Taurine の作用. vol 10. 含硫アミノ酸

秋本 崇之, 赤間 高雄, 杉浦 弘一 (1998a) 持久性ランニングによる口腔局所免疫能の変動. *体力科学* 47 (1):53-61

秋本 崇之, 赤間 高雄, 香田 泰子 (1998b) 高強度トレーニングによる安静時唾液中分泌型 IgA の変. *体力科学* 47 (2):245-251

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 NoIX スポーツ活動が免疫に与える影響に関する:7-17

赤間 高雄, 木村 文律, 秋本 崇之, 河野 一郎 (2003) 高齢者の免疫機能に及ぼす運動の影響. *体力科学* 52 (Suppl):65-72

野坂 和則 (2005) 遅発性筋肉痛に対するアミノ酸サプリメントの効果 (特集 アミノ酸とスポーツ栄養学). *臨床スポーツ医学* 22 (7):829-835

厚生労働省 (2009) 平成 21 年国民健康・栄養調査. [http://www.e-stat.go.jp/SG1/estat/GL08020103.do?\\_toGL08020103\\_&listID=000001072395&requestSender=estat](http://www.e-stat.go.jp/SG1/estat/GL08020103.do?_toGL08020103_&listID=000001072395&requestSender=estat).

## 参考図書

岡田泰信 監訳 ギャノン生理学 原書 23 版 丸善出版, 東京, 2011.

笹月健彦 監訳 免疫生物学—免疫系の正常と病理 南江堂, 東京, 2010.

清野宏 編 臨床粘膜免疫学 シナジー, 東京, 2011.

矢田純一 著 医系免疫学 中外医学社, 東京, 2003.

Fox SI Human Physiology Brown Publishers, Oxford, U.K., 2006.

Nichols WW, and O'Rourke MF Mc'Donald's Blood Flow in Arteries, Theoretical, Experimental, and Clinical Principles London, Arnold, 2005.