

博士論文
クルクミン摂取が
伸張性運動後の筋損傷に及ぼす影響

平成30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
田名辺 陽子

目次

関連論文

略語

第1章 緒言	1
第1節 研究の背景・目的.....	1
第2節 用語の定義.....	3
第2章 文献研究	5
第1節 筋損傷について.....	5
1) 骨格筋の構造.....	5
2) 筋損傷の定義.....	7
3) 筋損傷に影響を与える因子.....	8
4) 筋損傷と運動様式.....	8
5) 筋損傷の評価法.....	9
6) 筋損傷とサプリメント.....	11
第2節 クルクミンについて.....	12
1) クルクミンとは.....	12
2) クルクミンの代謝・吸収.....	13
3) クルクミンの生理作用.....	15
4) クルクミンと筋損傷.....	18
第3節 炎症について.....	19
1) 炎症反応カスケード.....	19
2) 炎症と筋損傷.....	22
3) 炎症とクルクミン.....	23
第4節 酸化ストレスについて.....	25
1) 活性酸素と酸化ストレス.....	25
2) 酸化ストレスと筋損傷.....	26
3) 酸化ストレスとクルクミン.....	27
第3章 本研究の課題	29
第4章 研究課題1：クルクミン摂取が伸張性運動後の筋損傷に与える影響	31
第1節 目的.....	31
第2節 方法.....	31
1) 被験者.....	31
2) 実験手順.....	31
3) クルクミン摂取.....	32
4) 運動負荷.....	33
5) 測定項目および測定方法.....	35
6) 統計処理.....	38

第3節 結果	39
1) 血漿クルクミン濃度	39
2) 筋損傷指標 (MVC、筋痛、ROM、CIR)	41
3) 血中筋損傷指標 (CK)	49
第4節 考察	50
第5章 研究課題2：筋損傷の軽減に効果的なクルクミン摂取タイミングの検討	54
第1節 目的	54
第2節 方法	54
1) 被験者	54
2) 実験手順	54
3) クルクミン摂取	55
4) 運動負荷	56
5) 測定項目および測定方法	57
6) 統計処理	58
第3節 結果	59
1) 血漿クルクミン濃度	59
2) 筋損傷指標 (MVC、筋痛、ROM)	61
3) 血中筋損傷指標 (CK)	65
第4節 考察	66
第6章 研究課題3：運動前・運動後のクルクミン摂取が筋損傷および炎症反応に及ぼす影響	69
第1節 目的	69
第2節 方法	69
1) 被験者	69
2) 実験手順	69
3) クルクミン摂取	71
4) 運動負荷	71
5) 測定項目および測定方法	72
6) 統計処理	74
第3節 結果	76
1) 血漿クルクミン濃度	76
2) 筋損傷指標 (MVC、筋痛、ROM、T ₂)	77
3) 血中筋損傷指標 (CK)	83
4) 血中炎症指標 (IL-8、TNF- α)	84
5) 血中酸化ストレス指標 (d-ROMs、BAP)	86
第4節 考察	88
第7章 総合討論	92
第8章 結論	103

謝辞	105
引用文献・参考図書	106

関連論文

本論文は、以下に示した原著論文の実験結果をまとめたものである。

Yoko Tanabe, Seiji Maeda, Nobuhiko Akazawa, Asako Zempo-Miyaki, Youngju Choi, Song-Gyu Ra, Atsushi Imaizumi, Yoshihiko Otsuka, Kazunori Nosaka. Attenuation of indirect markers of eccentric exercise-induced muscle damage by curcumin. *Eur J Appl Physiol.* 2015; 115 (9): 1949-1957.

Yoko Tanabe, Kentaro Chino, Hiroyuki Sagayama, Hyun Jin Lee, Hitomi Ozawa, Seiji Maeda, Hideyuki Takahashi. Effective timing of curcumin ingestion to attenuate eccentric exercise-induced muscle soreness in men. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo).* 2019; 65 (1): 82-89.

Yoko Tanabe, Kentaro Chino, Takahiro Ohnishi, Hitomi Ozawa, Hiroyuki Sagayama, Seiji Maeda, Hideyuki Takahashi. Effect of curcumin ingestion before or after eccentric exercise on changes in skeletal muscle damage and inflammatory makers in humans. *Scand J Med Sci Sports.* 2019; 29 (4): 524-534.

略語一覧

- ADI: Acceptable daily intake (一日摂取許容量)
- ADP: Adenosine diphosphate (アデノシン二リン酸)
- ATP: Adenosine triphosphate (アデノシン三リン酸)
- AUC: Area under the curve (濃度曲線下面積)
- BAP: Biological antioxidant potential (抗酸化力値)
- BCAA: Branched-chain amino acids (分岐鎖アミノ酸)
- CAPE: Caffeic acid phenethyl ester (カフェイン酸フェネチルエステル)
- CIR: Circumference (上腕周囲径)
- CK: Creatine kinase (クレアチンキナーゼ)
- COX: Cyclooxygenase (シクロオキシゲナーゼ)
- CRP: C-reactive protein (C 反応性タンパク)
- DHA: Docosahexaenoic acid (ドコサヘキサエン酸)
- DNA: Deoxyribonucleic acid (デオキシリボ核酸)
- DOMS: Delayed onset muscle soreness (遅発性筋肉痛)
- d-ROMs: Diacron-reactive oxygen metabolites (酸化ストレス度)
- EDTA-2Na: Ethylenediaminetetraacetic acid-2natrium (エチレンジアミン四酢酸ナトリウム)
- EDTA-2K: Ethylenediaminetetraacetic acid-2kalium (エチレンジアミン四酢酸カリウム)
- ELISA: Enzyme-linked immunosorbent assay (酵素免疫測定法)
- EPA: Eicosapentaenoic acid (エイコサペンタエン酸)
- ESR: Electron Spin Resonance (電子スピン共鳴)
- FRAP: Ferric reducing antioxidant power (鉄還元抗酸化能)
- GPx: Glutathione peroxidase (グルタチオンペルオキシダーゼ)
- GSH: Glutathione (グルタチオン)
- HDL: High-density lipoprotein (高比重リポ蛋白)

HMB: β -Hydroxy β -MethylButyrate (ヒドロキシイソ吉草酸)

HPLC: High-performance liquid chromatography (高速液体クロマトグラフィー)

IFN- γ : Interferon γ (インターフェロン γ)

IKK: I κ B kinase (I κ B 酵素)

ICC: Intraclass correlation coefficients (級内相関係数)

IL-1: Interleukin-1 (インターロイキン-1)

IL-1 β : Interleukin-1 β (インターロイキン-1 β)

IL-6: Interleukin-6 (インターロイキン-6)

IL-8: Interleukin-8 (インターロイキン-8)

iNOS: Inducible nitric oxide synthetase (誘導型一酸化窒素合成酵素)

I κ B: Inhibitor of κ B (κ B 阻害因子)

LDL: Low-density lipoprotein (低比重リポ蛋白)

LPS: Lipopolysaccharide (リポ多糖体)

Mb: Myoglobin (ミオグロビン)

MDA: Malondialdehyde (マロンジアルデヒド)

MRI: Magnetic resonance imaging (磁気共鳴画像)

mRNA: Messenger ribonucleic acid (伝令リボ核酸)

MVC: Maximal voluntary contraction (最大随意収縮)

NF- κ B: Nuclear factor κ B (核内因子 κ B)

NOS: Nitric oxide synthetase (一酸化窒素合成酵素)

PG: Prostaglandin (プロスタグランジン)

pH: Potential hydrogen (水素イオン指数)

ROI: Region of Interest (関心領域)

ROM: Range of motion (関節可動域)

SOD: Superoxide dismutase (スーパーオキシドディスムターゼ)

TNF- α : Tumor necrosis factor α (腫瘍壊死因子アルファ)

TRX-1: Thioredoxin-1 (チオレドキシン-1)

T₂: Transverse relaxation time (横緩和時間)

VAS: Visual analog scale (視覚的アナログ尺度)

第1章 緒言

第1節 研究の背景・目的

レジスタンス運動は、パフォーマンスの向上を目指すアスリートだけでなく、健康の維持・増進を目的として、一般の人にも広く推奨されている。筋量の増加や基礎代謝向上のためには、レジスタンス運動の中でも、特に伸張性運動が効果的であると考えられている。伸張性運動は、動員される筋線維が少ない中で大きな張力を発揮することから、短縮性運動に比べ、筋・結合組織の損傷を引き起こしやすいことが知られている (Armstrong, 1984; Bar et al. 1994; Cleak and Estroff, 1992; Miles and Clarkson, 1994; MacIntyre, 1995)。また、伸張性運動を行うことにより、遅発性筋肉痛、筋力や関節可動域の低下、腫脹、MRIにおけるT₂緩和時間の延長、およびクレアチンキナーゼ (CK) やミオグロビン (Mb) などの筋タンパクの血中への漏出が認められる。これらはすべて筋損傷の指標とされている (Clarkson et al. 1992; Takahashi et al. 1994; Warren et al. 1999; Nosaka et al. 2011)。日常的に運動習慣のない人が一過性に高強度の筋力運動を行うと、アスリートに比べ筋損傷が生じやすい。このことは、運動の習慣化を妨げる一因になると考えられる (Lin and Yang, 1999)。また、アスリートにおけるパフォーマンスの向上には高強度レジスタンス運動による筋力の増強が有効であるが、筋損傷を伴うことにより、トレーニングやコンディショニングに支障をきたすことがある (Cheung et al. 2003)。したがって、一般健常者だけでなくアスリートにとっても過度な筋損傷を軽減し、回復を促進することは重要であると考えられる。

先行研究において、筋損傷とは、骨格筋線維レベルの損傷と、それに伴う炎症反応が引き起こす現象であるとされている (Armstrong et al. 1991; Clarkson and Sayers, 1999; Proske and Morgan, 2001)。クルクミンはウコンの主成分であり、ポリフェノール構造を有する物質である。先行研究において、クルクミンは核転写因子 NF- κ B の経路を介した炎症反応を抑制することにより、抗炎症作用を示すことが報告されている (Singh and Aggarwal, 1995; Jobin et al. 1999)。これまでに動物実験により、クルクミンは伸張性運動による筋損傷および炎症

反応を軽減させる可能性が示唆されている (Davis et al. 2007)。ヒトでは、大腿部・臀部における伸張性運動(ハーフ・スクワット)を行うと NF- κ B が活性化すること (Jiménez-Jiménez et al. 2008) や、クルクミンの摂取は抗炎症作用を示すこと (Srimal et al. 1973) が明らかにされている。これらの先行研究を考慮すると、ヒトにおけるクルクミン摂取は伸張性運動による筋損傷や過度な炎症反応を軽減するかもしれない。しかし、ヒトにおけるクルクミン摂取が伸張性運動による筋損傷および炎症反応に及ぼす影響は明らかにされていない。

そこで、本論文ではクルクミン摂取が伸張性運動後に生じる筋損傷および過度な炎症反応を軽減させ、回復を促進させるか否かを検証することを目的とし、これを達成するために以下の課題を設けた。

1. クルクミン摂取が伸張性運動後の筋損傷に及ぼす影響を明らかにする。
2. 筋損傷からの早期回復に効果的なクルクミン摂取のタイミングを明らかにする。
3. 運動前・運動後それぞれのクルクミン摂取が筋損傷および炎症反応に及ぼす影響を明らかにする。

クルクミン摂取が伸張性運動後に生じる筋損傷および炎症反応を軽減することを検証し、その効果的な摂取タイミングと筋損傷軽減のメカニズムを検討することは、一般健常者における運動の習慣化や、アスリートにおけるパフォーマンス向上およびコンディショニングに貢献するための科学的根拠を提供できるものと考えられる。

第2節 用語の定義

筋損傷

筋損傷とは、骨格筋線維レベルの損傷と、それに伴う炎症反応が引き起こす現象である (Armstrong et al. 1991; Clarkson and Sayers. 1999; Proske and Morgan. 2001)。また、筋損傷は、一次的損傷 (メカニカルストレス) と二次的損傷 (炎症反応) が2段階で生じる現象と考えられている (Armstrong et al. 1991)。本研究では、一次的損傷を筋損傷 (運動前～直後における評価) とし、二次的損傷を炎症反応 (運動12時間後以降における評価) と定義する。

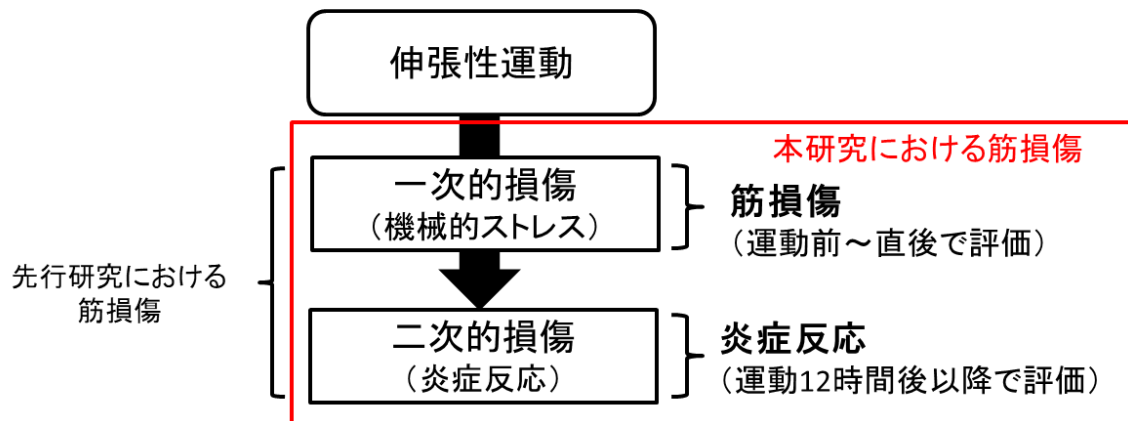


Fig. 1. 本研究における筋損傷の定義

過度な筋損傷

筋組織が損傷されると、筋細胞内に存在する酵素である CK が血中に逸脱する。一般に、これらの酵素やタンパク質は筋損傷マーカーとして用いられている。通常生活における血中の CK 値は、一般男性で 30～190 IU/L、女性で 20～150 IU/L 程度である。先行研究において、日常的に運動習慣のない者が、筋肥大や筋力増強を目的としたレジスタンス運動を行うと、CK は 500 IU/L 程度まで上昇することが報告されている (Dixon et al. 2006; Rodrigues et al. 2010)。本研究では、これらの先行研究に基づき通常のレジスタンストレーニングによって上昇する血中 CK 値を適度な筋損傷とし、500 IU/L を大きく上回る CK 値の上昇を過度な筋損傷として定義する。

過度な炎症

炎症反応は生体の防御反応であり、適度な炎症性の刺激は筋の再生や肥大などの過程において重要な因子である。一方で、過度な炎症反応は好中球やマクロファージの貪食作用を高め、正常細胞をも貪食することで損傷部を拡大する可能性がある (Tiidus, 1998)。先行研究において、筋力トレーニングによる炎症性サイトカイン (IL-8) の変化は筋中では有意に上昇するが、血中では観察されない (Thalacker-Mercer et al. 2010; Jajtner et al. 2016)。これらのことから本研究では、サイトカインの変化が血中レベルにおいて認められるような炎症反応を過度な炎症と定義する。

第2章 文献研究

第1節 筋損傷について

1) 骨格筋の構造

骨格筋は、細長い骨格筋線維 (muscle fiber) が多数集合したものである。筋線維が集まり、筋束を構成し、さらに筋束が集まり骨格筋を構成する (Fig. 2)。筋線維の両端は腱組織となって骨や靭帯に付着している。筋線維は収縮タンパク質を含む筋原線維 (myofibril) と、そのまわりを取り囲む袋状の筋小胞体 (sarcoplasmic reticulum)、筋原線維の内部に達する横行小管 (transverse tubule: T管)、ミトコンドリア、グリコーゲン顆粒などにより構成されている (Fig. 3)。

Z膜から隣接するZ膜までを筋節 (sarcomere) と呼び、これが筋収縮の基本単位である。筋節は収縮性タンパク質のミオシンフィラメントとアクチンフィラメントの2つのフィラメントから構成される。これらのフィラメントはそれぞれミオシン分子とアクチン分子の集合体により形成されている。ミオシンを含む太く暗いフィラメント (A帯) とアクチンを含む明るく細いフィラメント (I帯) は規則正しく配列され、横断面において六角格子状を形成する。筋節を光学顕微鏡により観察すると、筋原線維の長軸方向に沿ってI帯とA帯が交互に繰り返す、いわゆる横紋がみられる (Fig. 3)。ミオシンとアクチンは、筋が収縮するための重要なタンパク質である。ミオシンは、ATPを分解する (ATPase 活性) 作用を有しており、この反応によって、ミオシンはアクチンフィラメント上を移動する。運動神経から興奮 (インパルス) が筋線維に伝わると、やがて筋原線維に到達し、ミオシンフィラメントがアクチンフィラメントを引き込むように働き、筋節が短縮する。これが骨格筋の収縮である。

筋損傷が起こると、筋微細構造の変化 (特にZ帯、A帯の乱れ)、あるいはミトコンドリアや筋小胞体の膨張が観察される (Warren et al. 1999)。伸張性運動後には、これらの変化が認められ、筋形質中における遊離カルシウムイオン濃度は高まる。

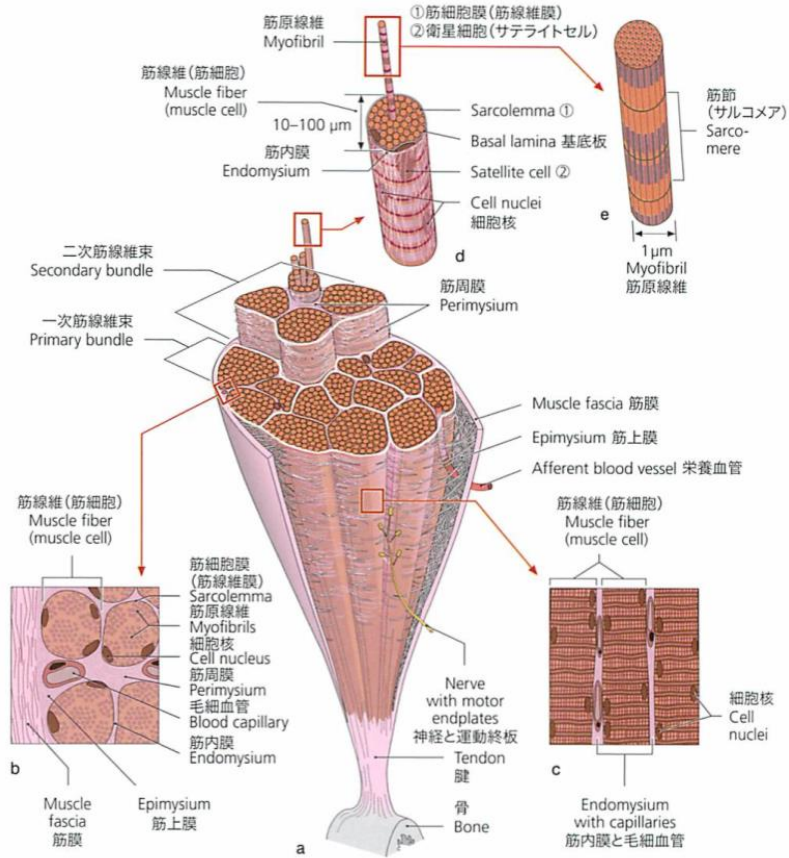


Fig. 2. 骨格筋の断層構造 (松村. 2007)

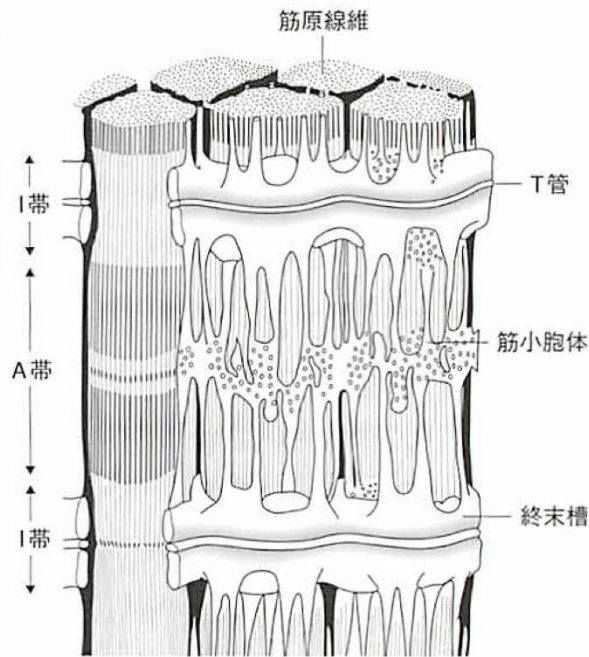


Fig. 3. 骨格筋内部構造 (白木. 2007)

2) 筋損傷の定義

骨格筋損傷のメカニズムは不明な点が多い。多くの先行研究において、筋損傷とは骨格筋線維レベルの損傷と、それに伴う炎症反応が引き起こす現象 (Armstrong et al. 1991; Clarkson and Sayers. 1999; Proske and Morgan. 2001) とされている。ここに示す筋損傷とは、筋線維が断裂するような筋損傷 (肉離れ) や打撲などの外傷とは異なる。Safran et al. (1989) は、筋損傷を3つのタイプに分類している。タイプIは、不慣れな運動をして24~48時間後に起こる筋肉痛 (DOMS) で、筋原線維やその周囲の結合組織における微細な損傷のもの、タイプIIは、筋線維の断裂により急性の痛みを伴うもの、タイプIIIは、運動中や運動直後に起こる強い筋肉痛や筋痙攣のことであるとしている。一般的な筋損傷とは、タイプIに分類されるような軽度な損傷で、血管の損傷のない、筋原線維や筋線維周辺の結合組織の微小な損傷である。

筋損傷は、一次的損傷と二次的損傷の2段階に生じると考えられている (Armstrong et al. 1991) (Fig. 1)。一次的損傷は、強い機械的な力が筋横断面に加わることで生じるとされている。運動の中でも特に伸張性運動により発生する。このような強い機械的な力が筋線維に加わると、筋の細胞膜構造の損傷が起こり、細胞膜の透過性が亢進する (Takekura et al. 2001; Warren et al. 2001)。このような変化に引き続き、細胞質へカルシウムイオンの異常流入が起こり、ATP 産生の阻害やカルシウム依存性タンパク質分解酵素の活性化が促進されるようになる (Armstrong et al. 1991)。そして、筋細胞膜の破壊が更に亢進し、二次的な筋損傷が生じる (二次的損傷)。二次的損傷では、一次的損傷において損傷した部位に、白血球が集積し、損傷部位の貪食を介して炎症反応が促進されるようになる (Tiidus. 1998)。

このように、筋・結合組織の一次的損傷が起こり、炎症反応が二次的に生ずることによって、筋損傷が生じると考えられている。

3) 筋損傷に影響を与える因子

伸張性収縮により生じる筋損傷の程度は筋の種類によって異なる。一般的に、下肢の筋群は上肢の筋群に比べ損傷が起こり難いとされている。

Jamurtas et al. (2005) は、同一被験者において上肢（上腕屈筋群）と下肢（膝伸筋群）の伸張性運動を行った時の筋力や血中 CK 活性の変化を比較している。それぞれの運動は相対的強度と回数が一致するように実施された。この検討の結果、上腕屈筋群の運動に比べ、膝伸筋群の運動では筋力の低下が少なく、血中 CK 活性の上昇も小さかった。このように、上肢の筋群に比べ下肢の筋群では、筋損傷が生じにくいことが明らかにされている。下肢の筋群は日常的な活動において伸張性運動を行うことが多いため、このような部位による違いが生じる可能性があると考えられている (Jamurtas et al. 2005)。

伸張性運動に伴う筋損傷の程度に影響を与える因子として、これまでに伸張性収縮の強度 (Chen et al. 2007)、回数 (Nosaka et al. 2001)、速度 (Chapman et al. 2008)、筋の長さ (Nosaka et al. 2005) が報告されている。すなわち、損傷の程度は、これらの因子が増大するのに伴い大きくなるとされている。このことから、伸張性収縮の強度が大きいほど、回数が多いほど、伸張速度が速いほど、筋長が長いほど筋損傷が強くと考えられる。

4) 筋損傷と運動様式

筋の活動様式は 等尺性、等張性、等速性の 3 つに分類される。等尺性は筋の長さを一定にして張力発揮を行うもの、等張性は張力を一定にして短縮・伸張を行うもの、等速性は短縮・伸張速度を一定にして張力発揮を行うものである。等張性及び等速性筋活動の中でも特に筋が張力を発揮しながら短縮する場合を短縮性収縮、逆に張力を発揮しながら強制的に伸張される場合を伸張性収縮と呼ぶ。

伸張性収縮は、短縮性収縮に比べて大きな張力発揮が可能であるが、収縮する際に動員される運動単位が少ないことが特徴である。また、その他にも、酸素需要量が少ないことや、

筋温上昇が大きいことなどが特徴としてあげられる (Armstrong. 1984; Bar et al. 1994; Cleak and Estron. 1992; MacIntyre. 1995; Miles and Clarkson. 1994)。このように、伸張性運動は少ない筋線維で大きな張力を発揮するため、他の活動様式に比べ、筋・結合組織の損傷を引き起こしやすいことが知られている。現在では、伸張性収縮によって筋損傷が生じやすいメカニズムとして、筋が収縮する方向と反対方向にストレッチされることにより、筋節長の不均一が生じ、筋線維が大きく引き伸ばされる (はじける) (Morgan. 1990) ことが影響していると考えられている。先行研究において、細胞レベルでは伸張性収縮が、T 管と筋小胞体間の伝達機構の障害 (Armstrong. 1984; Bar et al. 1994; Ebbeling and Clarkson. 1989) や、筋原線維構造の損傷 (Appell et al. 1992; Armstrong. 1984; Bar et al. 1994; Kuipers. 1994) を引き起こすことが明らかにされている。

5) 筋損傷の評価法

筋損傷の直接的な指標には、電子顕微鏡で観察される筋微細構造の変化 (特に Z 膜の乱れや筋細胞膜の破綻) や、光学顕微鏡で観察される筋線維像の変化、あるいは骨格筋における炎症性細胞の浸潤などの組織学的な変化がある (Warren et al. 1999)。しかし、組織学的検査は侵襲的であり、特にヒトを対象にした場合は、筋生検などが必要となるため容易ではない。このように筋サンプルから直接、筋損傷を評価することは困難であるため、筋損傷の評価には間接的な指標を用いるのが一般的である。

筋損傷の間接的な指標には、最大筋力の低下、血中筋タンパク質 (Mb、CK) の上昇、関節可動域の減少、周囲径の増加 (筋の腫脹)、MRI による T₂ の延長などが用いられる (Clarkson et al. 1992; Nosaka et al. 2011; Takahashi et al. 1994; Warren et al. 1999) (Fig. 4)。しかし、これらの間接的指標が変化するタイミングはそれぞれ異なることが報告されている。野坂 (2002) は、運動習慣のない被験者において上腕屈筋群の伸張性運動 (最大筋力発揮下、24 回) 後の間接的な筋損傷の指標の経時的变化を報告している (Fig. 5)。最大筋力の低下は運動直後

に生じ、運動前の状態まで回復するのに4週間以上を要した。血漿CK活性値は運動5日後にピークに達し、約2週間で運動前の状態まで回復した。このように、間接的な筋損傷指標の時間的变化は異なることから、それぞれの指標が筋損傷の生じる過程において異なった側面を示している可能性がある。それぞれの筋損傷指標が変化するメカニズムや、それらの関連性については不明な点が多く、さらなる研究が必要となる。

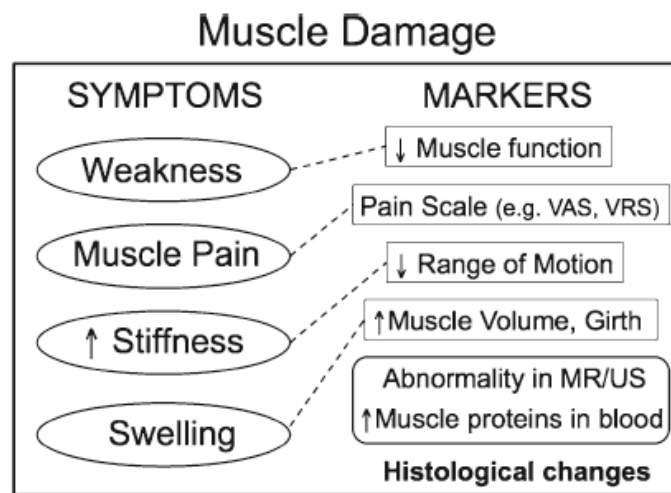


Fig. 4. 筋損傷の徴候と指標 (Nosaka et al. 2011)

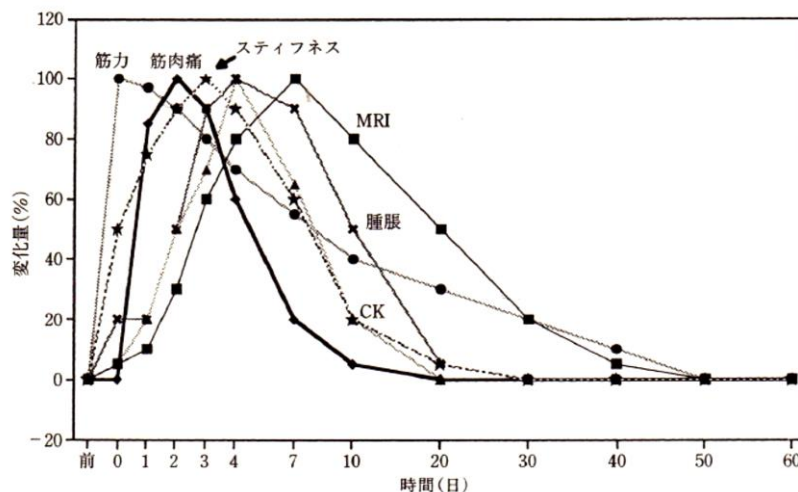


Fig. 5. 上腕屈筋群の伸張性運動に伴う筋肉痛と間接的筋損傷指標の変化 (野坂, 2002)

6) 筋損傷とサプリメント

これまで筋損傷を軽減するために、様々なサプリメントを用いた栄養戦略が行われてきた。先行研究において、分岐鎖アミノ酸 (BCAA) とタウリン (Ra et al. 2013) や β -Hydroxy β -Methylbutyrate (HMB) (Rowlands & Thomson. 2009; Sanchez-Martinez et al. 2017)、クレアチン (Harris et al. 1992; Hultman et al. 1996) は筋の合成を促進し、分解を抑制する代謝に関与し、筋損傷を軽減することに有効であることが報告されている。また、 ω -3 脂肪酸のなかでも特に、魚油に多く含まれるエイコサペンタエン酸 (EPA) とドコサヘキサエン酸 (DHA) 摂取は、筋損傷によって生じる抗炎症作用により最大筋力や可動域の低下を抑制することが報告されている (Jeromson et al. 2015; Mickleborough. 2013; Tsuchiya et al. 2014)。さらに、ポリフェノール類の摂取によっても筋損傷は軽減することが報告されている。ベータシアニンを多く含むビートルートは、強力抗酸化作用を有し、筋痛を軽減することが報告されている (Clifford et al. 2016)。また、たまねぎに多く含まれるケルセチンとビタミン C を組み合わせたサプリメントはトレッドミル運動後の CK 上昇を抑制し (Askari et al. 2012)、お茶に多く含まれるカテキンはダウンヒルランニング後の筋力低下や酸化ストレスマーカーの上昇を軽減することが示されている (Haramizu et al. 2011)。カフェイン酸フェネチル Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) には運動後の炎症反応から筋損傷を保護することが報告されている (Shen et al. 2013)。また、リンゴポリフェノール (Nakazato et al. 2010) やダークチョコレートポリフェノール (Davison et al. 2012) の摂取は運動誘発性酸化ストレスマーカーの上昇を減少させることが示されている。このように、ポリフェノール類は抗炎症作用や抗酸化作用によって筋損傷を軽減する可能性が示唆されている。

第2節 クルクミンについて

1) クルクミンとは

クルクミンは、主にウコン（学名: *Curcuma longa*）に含有され主にカレー粉などの香辛料に多く含まれている物質として有名である。その分子式 ($C_{21}H_{20}O_6$) と化学構造を Fig. 6 に示す。クルクミンは化学構造中の共役二重結合の存在により、黄色を呈することが特徴的である。クルクミンはポリフェノールの一種として知られているが、カテコールやピロガロール構造を有することから、ポリフェノール共通の生理作用として *in vitro* において強い抗酸化作用を有する。クルクミンはポリフェノール類の中でも単純フェノールに分類され、比較的分子量が低い化合物であり、ほかのポリフェノールと異なるクルクミン独自の生理作用として、肝保護作用 (Cerný et al. 2011)、抗腫瘍作用 (Ruby et al. 1995)、抗アミロイド作用 (Yang et al. 2005)、強力な抗炎症作用 (Satoskar RR et al. 1986; Srimal et al. 1973) がある。

このように、クルクミンの作用が多岐にわたるのは、分子の相互作用により複数の標的を調節する能力を有するからである。クルクミンは、標的（酵素、成長因子、転写因子、受容体、金属イオン）に直接的・間接的に結合し調節することで生理作用を示す。これらの生物学的活性は、メチレン架橋によって連結された 2 つのフェニル基の化学構造による影響であるとされている。また、タンパク質への親和性が高く直接結合することが可能であり、フェニル、ヒドロキシル、メトキシルおよび 1,3-ジカルボニル官能基は、静電相互作用を持ち、結合力が增強される (Fig. 7)。クルクミンは熱には安定であるが、可視光や紫外光、弱アルカリ条件下で分解されやすい性質を有する。遊離体の状態では難溶性であり、生体における吸収効率が低いために、利用能が低い物質であることが知られている。

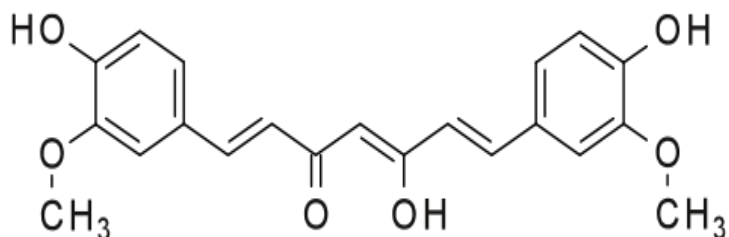


Fig. 6 クルクミンの構造 (エノール型)

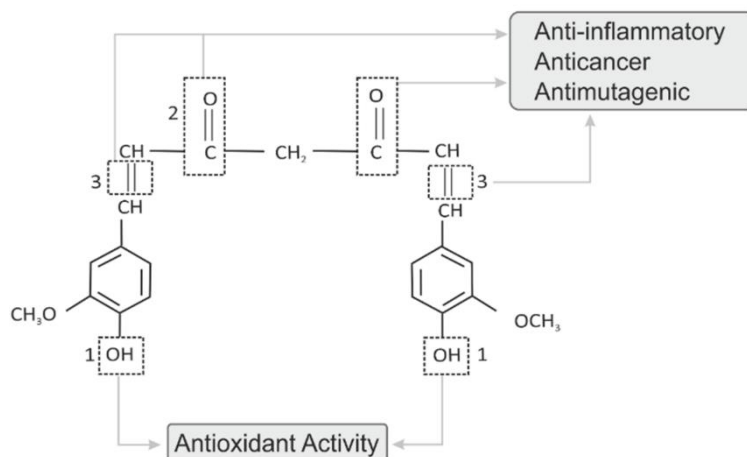


Fig. 7 クルクミンの化学構造と生理作用 (Muhammed et al. 2003)

2) クルクミンの代謝・吸収

クルクミンは難溶性物質であるため、経口摂取すると、その大部分は体内に吸収されずに排泄されてしまう。しかし、一部は消化管粘膜において吸収される。ここで吸収されたクルクミンは、グルクロニルトランスフェラーゼによってグルクロン酸抱合を受ける。さらに、グルクロン酸抱合して吸収されたクルクミンの一部は肝臓へ移動し、ここでスルフトランスフェラーゼによって硫酸抱合を受ける。血中には大部分がグルクロン酸抱合体、またはグルクロン酸／硫酸抱合体の2種類の形で存在する。また、グルクロン酸抱合体が主要代謝産物として血中に認められ、代謝されない遊離クルクミンは非常に低い濃度で血中に存在することが報告されている。Fig. 8 にクルクミンの代謝経路を示す。

Asai and Miyazawa (2003) は、クルクミンを経口投与したラットの血漿クルクミン濃度の経時的変化を報告している。クルクミンの経口投与1時間後において、血漿クルクミン濃度は最大になる。その後次第に減少し、半減期は投与8時間後であった。また、ヒトにおけるクルクミンの血中動態を検討した研究では、クルクミン経口投与72時間後には、その多くが体外に排泄されることが報告されている (Vareed et al. 2008)。このように、クルクミンは動物やヒトの体内において素早く代謝される物質である。これらの抱合体や代謝物は、クル

クミンの示す様々な生理作用に関与すると考えられている。

一方で、クルクミンの細胞への取り込みについては、ほとんど明らかになっていない。先行研究において、ヒト肝癌細胞 (HepG2) にクルクミンとグルクロン酸抱合体を添加し、増殖抑制作用に及ぼす影響を比較したところ、グルクロン酸抱合体の効果はクルクミンの効果よりも弱いことが報告されている (Shoji et al. 2014)。また、クルクミンとともに類縁体デメトキシクルクミン (DMC)、ビスデメトキシクルクミン (BDMC) をヒト白血球単球細胞 THP-1 に加えると、細胞からクルクミンが検出されたことも報告されている (Nakagawa et al. 2014)。これらのことから、血中に多く存在するグルクロン酸抱合体と比較して、細胞内に積極的に取り込まれているのはクルクミンである可能性が示唆されているが、細胞への移行量と生理作用の関係については不明な点が多い。

また、前述したように、遊離体の状態では難溶性であり、生体における吸収効率が低いために、利用能が低い。このような問題の解決策として、現在、クルクミンの生体吸収性改善 (ナノ粒子化、超細粒化など) に関する研究が進められている (Bisht et al. 2007; Sasaki et al. 2011)。

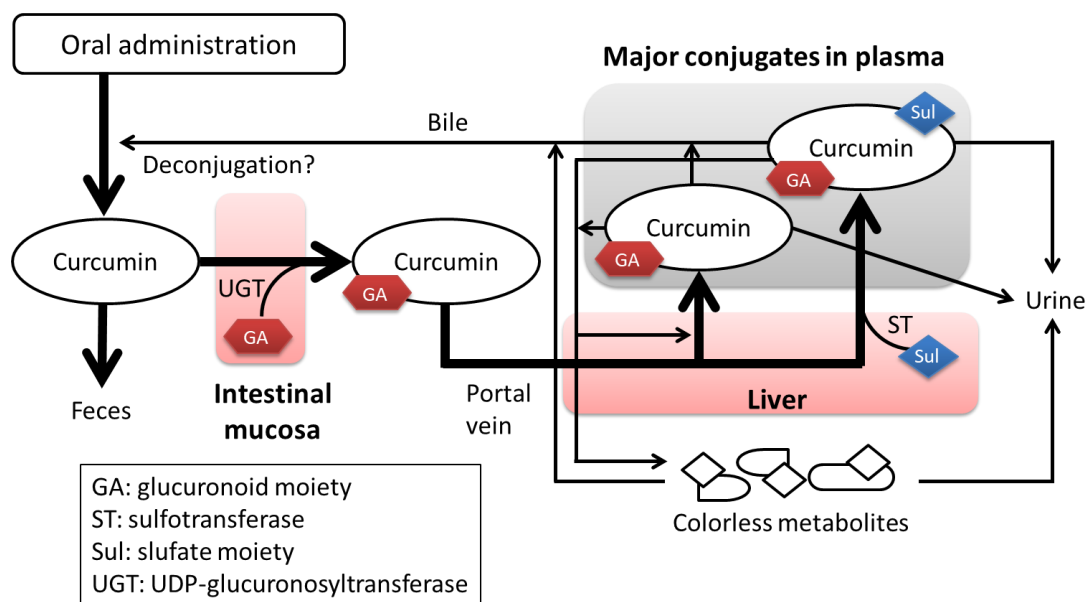


Fig. 8. クルクミン (経口摂取) の代謝と吸収 (Asai and Miyazaki. 2003)

3) クルクミンの生理作用

クルクミンは、抗炎症作用 (Srimal et al. 1973)、抗酸化作用 (Sharma. 1976; Ruby et al. 1995)、抗腫瘍作用 (Ruby et al. 1995)、肝臓や心臓の保護作用 (Dikshit et al. 1995; Nirmala et al. 1996; Venkatesan et al. 2000)、抗アルツハイマー作用 (Yang et al. 2005) など多くの生理作用に關与していることが報告されている。

Srimal et al. (1973) は、急性炎症に類似した病態を作り出す方法として、マウスとラットの足蹠皮内に起炎物質を注射して浮腫を起し、クルクミンの抗炎症効果について検討した。マウスでは、クルクミン 50~200 mg/kg 投与で浮腫が抑制された。また、ラットにおいては比較的濃度の 20~80 mg/kg で浮腫を抑制する効果があることが報告されている。ヒトにおける臨床研究では、慢性的なブドウ膜炎患者にクルクミンを 375 mg×3 回/日、12 週間摂取させると、症状の改善が認められたという報告がある (Lal et al. 1999)。また、治療抵抗性進行大腸がん患者に対し、クルクミン 0.45~3.6 g を 4 ヶ月間投与した第一相臨床試験 (Phase I) の報告が公表されている。クルクミン投与量を 0.45 g、0.9 g、1.8 g、3.6 g の 4 群に分け検討した結果、3.6 g を投与した群のみ血中クルクミン濃度の上昇と生化学的指標の改善が認められている。これらの結果から、進行がんに対するクルクミンの投与量は一日あたり 3.6 g 以上が必要であろうと考察されている (Sharma et al. 2004)。

一方で、これまでクルクミンの過剰投与による副作用は認められていない。先行研究において、ラットに比較的高濃度のクルクミン 5 g/kg を経口投与させた場合でも、中毒症状は認められていない (Wahlstrom et al. 1978)。また、ヒトにおいて、クルクミン 8 g/日摂取を 3 ヶ月間続けても、生体に悪影響を及ぼさないことが報告されている (Chainani-Wu. 2003)。このように、クルクミンは、副作用を伴うことなく、様々な生理作用に關与する物質であると考えられる。

これらの生理作用を引き起こすメカニズムとして、クルクミンによる転写調節因子の制御作用が關与していると考えられている。その中でも多くの炎症性疾患に關連する転写因

子である NF- κ B の活性化をクルクミンは抑制することが明らかにされている (Jobin et al. 1999; Singh and Aggarwal. 1995)。NF- κ B は細胞内に存在し、DNA の転写を調節する因子である。これまでに NF- κ B は、炎症性サイトカインの一つである TNF- α をはじめ、様々な生理作用のトリガーとなる刺激因子によって活性化され、免疫反応や炎症反応などに関与する種々の遺伝子の発現を制御していることが明らかにされている (Shishodia et al. 2007)。通常、NF- κ B は、細胞質内において阻害タンパク質である I κ B と複合体を形成して不活性型として存在している。しかし、サイトカインなどの刺激因子が作用することにより、I κ B がリン酸化され分解される。この反応により、NF- κ B は核内に移行して、様々な遺伝子の発現を促進するとされている。このように産生されたサイトカイン (IL-6、iNOS など) は、炎症反応の促進に関与している。NF- κ B の活性経路を Fig. 9 に示す。先行研究において、クルクミンは I κ B と NF- κ B の結合を強固にし、NF- κ B の活性化を抑制することが示唆されている (Jobin et al. 1999; Singh and Aggarwal. 1995)。このような作用機序により、クルクミンは抗炎症作用などの生理作用を発揮すると考えられる。

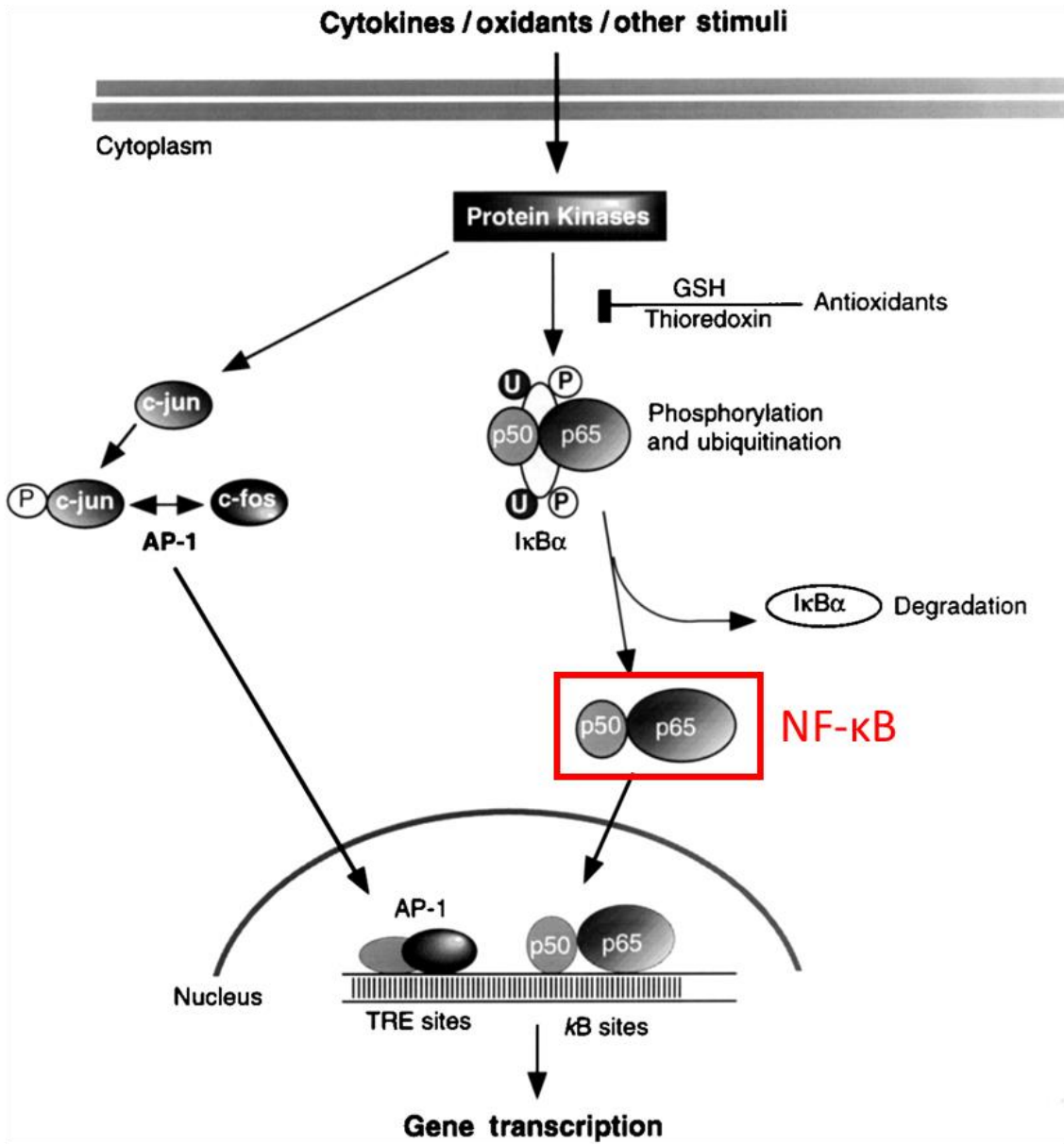


Fig. 9. NF-κB 活性化の経路 (Rahman and MacNee. 1998)

4) クルクミンと筋損傷

クルクミンが筋に与える影響について、実験動物や培養細胞を用いた研究報告がある。Thaloor et al. (1999) は、マウスにおける 10 日間のクルクミンの投与が外傷後の筋再生に与える影響について検討した。マウスのヒラメ筋に凍結損傷を任意に引き起こした場合には、組織学的筋再生が認められるまでに 2 週間以上を要した。これに対して、同様の外傷を引き起こしたマウスにクルクミン 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を内腹膜投与した場合は、4 日後に組織学的筋再生が認められた。また、培養筋芽細胞にクルクミンを添加すると、筋芽細胞分化が促進された。これらの結果から、クルクミンは外傷後の筋芽細胞の分化を促すことにより、筋再生を促進させる物質であることが示唆されている。

Davis et al. (2007) は、マウスの高強度運動により生じる筋損傷とクルクミンについて検討した。運動を行う前の 3 日間にわたりクルクミンを 10 mg 含有した餌を与え、ダウンヒル走運動 (22 m/min、150 分、傾斜: -14%) をマウスに行わせた。その結果、クルクミン投与を行ったマウスでは、筋損傷マーカーである CK の増加が有意に抑制された。すなわち、全身性の高強度運動を行う前にクルクミンを摂取すると筋損傷が軽減されることを示唆した。

一方、ヒトにおけるこれまでの研究では、ダウンヒル走など全身性の伸張性運動を行うと NF- κB が増加すること (García-López et al. 2007)、それらの経路を介して TNF- α などのサイトカイン産生が引き起こされることが報告されている。しかし、ヒトにおけるクルクミン摂取が局所的な高強度筋力運動により生じる筋損傷に与える影響に関する検討はなされておらず、不明な点が多い。

第3節 炎症について

1) 炎症反応カスケード

炎症とは、さまざまなストレスによって引き起こされ、組織障害に対する生体防御反応であると定義されている（鮫島ら, 1976）。生体において炎症反応が生じると、血管透過性が亢進し、血管が拡張することにより、発赤と浮腫による腫脹が起こる。このような変化に伴い、発痛物質やそれに伴う熱や痛みが生じる。また、炎症反応が慢性的に続くことによって機能障害が引き起こされる。このような、発赤、腫脹、発熱、発痛、機能障害は、臨床においても認められており、これらの特徴はまとめて炎症の5主徴と称されている。

炎症反応の過程を Fig. 10 に示す。炎症反応は、まず、損傷した部位から TNF- α や IL-1 などの刺激を受けることにより、肥満細胞がヒスタミンやブラジキニンを産生する。これらの物質の作用により、血管内皮細胞同士を繋ぐ接合部が開くことで血管透過性の亢進が起こる。また、同時に血管が拡張することにより、局所の血流量は増加し、発熱する。これらの変化により、血管内圧は上昇し、血管内に存在する血漿タンパク質が滲出液によって血管外に漏出する。多量の滲出液が血管外に漏出し、組織に貯留すると腫脹を呈する。また、炎症反応が生じている局所の血管透過性亢進と血漿滲出が生じた後に血管外に白血球が漏出する（遊走）。この白血球はアメーバ様運動により炎症が生じている局所に集積する（走化）。白血球の遊走と走化は、白血球を損傷局所へ導くサイトカインによって調節・制御されている。

また、炎症が生じている局所において、産生・分泌される化学物質は他の細胞や組織に情報をオートクリン、パラクリン作用により伝達することで、炎症の連鎖反応を担う因子として重要である。このような化学物質には、ヒスタミン、セロトニン、ブラジキニン、プロスタグランジンなどが含まれている。炎症が生じている局所においてこれらの物質が産生されると、自由神経終末（ポリモーダル受容器）が興奮し、疼痛が生じるようになる。

サイトカインや化学物質の産生調節に関与し、炎症反応や免疫応答の中心的な役割を果たしているのが NF- κ B である。NF- κ B は、主に p50 と RelA (p65) で構成されたヘテロ二量体分子であり、エンハンサー領域 (活性因子と結合することで遺伝子の転写量を大幅に増量する) に結合する転写調節核タンパク質の一つである。現在では、NF- κ B は生体のほとんど全ての細胞に存在していることが明らかにされている (Sen and Baltimore. 1986)。安静時には、NF- κ B は I κ B と結合し、細胞質内に不活性型として存在する (Nolan et al. 1991)。細胞質内には、I κ B キナーゼ (IKK) α 、IKK β および NF- κ B essential modulator (NEMO) (または IKK γ) により構成される IKK 複合体が存在し、それらの因子が活性化することにより I κ B をリン酸化させる。IKK を活性化する因子として、TNF- α や IL-1 β 、リポ多糖 (LPS) などがある。これらの刺激が細胞表面の受容体に加わることにより、リン酸化された I κ B は、細胞質内に存在するプロテアソームにより分解される。この反応により、I κ B と結合して不活性型であった NF- κ B は活性型になり、核移行シグナルが機能することにより、核内に移行できるようになる。NF- κ B は DNA 上の κ B モチーフ (GGGACTTCC) と呼ばれる配列に結合し、標的遺伝子の転写を開始させる。このように NF- κ B は I κ B と結合して不活性型となり、I κ B との結合が外れることにより活性型となる。

現在までに NF- κ B には 200 以上の標的遺伝子が存在することが確認されている (Hayden and Ghosh. 2004)。特に、炎症反応や免疫反応に関わるサイトカイン (IL-1、IL-6、IL-8、TNF- α など)、誘導型一酸化窒素合成酵素 (iNOS)、接着因子およびシクロオキシゲナーゼ (COX)-2 などが含まれる (Li and Verma. 2002; Panwalkar et al. 2004)。このように、NF- κ B は、炎症関連物質の発現を促進させる重要な因子であることが示唆されている。

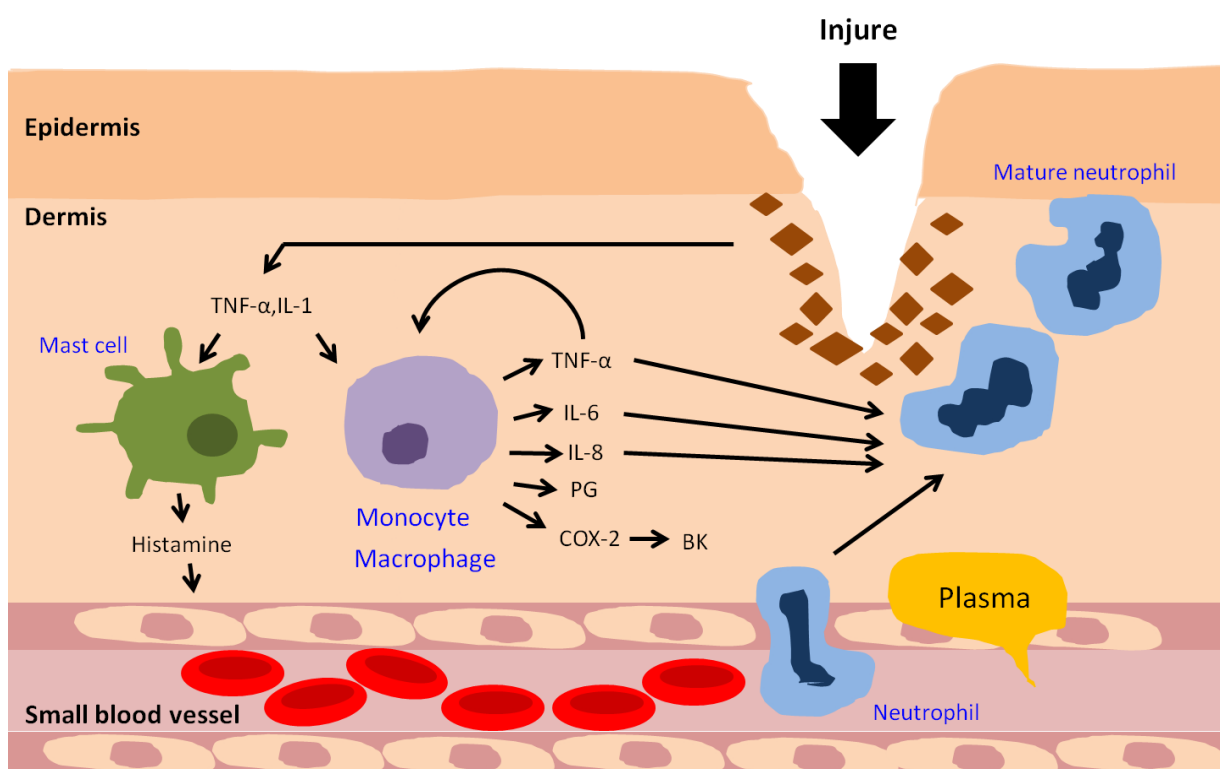


Fig.10. 炎症反応の過程

2) 炎症と筋損傷

生体には、組織の損傷に対する防御機構が存在する。すなわち、損傷により傷害を生じた組織を除去し、新たな組織を再生することにより、生体の恒常性を保つのである。骨格筋における損傷からの治癒過程には、炎症反応の中でも特に白血球による損傷部位の貪食が重要であると考えられている。

伸張性運動により、骨格筋組織に損傷が生じると、その局所には、好中球やマクロファージなどの白血球の遊走・走化による集積が認められる (McLoughlin et al. 2003; Pizza et al. 2002)。また、損傷が生じている骨格筋において、TNF- α や IL-1 β など炎症を促進するサイトカインの増加が認められる (Pelosi et al. 2007)。ヒトにおける大腿四頭筋の伸張性運動は、炎症性サイトカインである IL-6 の増加と NF- κ B を活性化するリガンド分子である OPG/RANKL を増加させることが報告されている (Philippou et al. 2009)。

骨格筋に機械的損傷（一次的損傷）が生じた直後には、白血球の中でも特に、好中球の走化性が高く、最も早く組織に浸潤する (Fielding et al. 1993)。マクロファージの走化性は好中球に劣るが貪食能は高い。損傷を受け、アポトーシスした組織を貪食により除去するという点において、組織の再生には好中球やマクロファージは重要な因子である。しかし、非特異的に貪食することにより、時には正常細胞さえも標的となってしまう場合がある (Tiidus, 1998)。このように正常な細胞も貪食してしまうと、その部位の炎症反応が亢進する（二次的損傷）。このような二次的損傷を抑えることが筋損傷の早期治癒に重要である可能性が考えられる。

このように機械的損傷（一次的損傷）を受けた骨格筋における炎症性サイトカインの増加や、白血球などの炎症性細胞に関与するシグナル因子の増大（二次的損傷）には、前項において述べた NF- κ B が関与していると考えられる。

3) 炎症とクルクミン

近年、クルクミンは、強力な抗炎症作用を持つ物質として注目されている (Strimpakos et al. 2008)。現在では、腸炎や胃腸炎、膵炎、関節炎などさまざまな炎症性疾患に対して臨床試験が行われている (Jurenka. 2009)。

炎症反応が生じる過程において産生されたシクロオキシゲナーゼ-2 (COX-2) や誘導型一酸化窒素合成酵素 (iNOS)、および炎症性サイトカインは炎症性メディエーターと称される。先行研究において、クルクミンは炎症性メディエーターの産生を抑制することが報告されている。Zhang et al. (1999) は、クルクミン投与によって、ヒトの胃腸上皮細胞において任意に増加させた COX-2 発現を、タンパク・mRNA レベルともに抑制させることを明らかにした。また、Goel et al. (2001) は、ヒト大腸がん細胞に、さまざまな濃度のクルクミン (5 ~ 75 μ M) を投与したところ、濃度・時間依存的に COX-2 の発現 (タンパク・mRNA) が抑制されることを示した。Brouet et al. (1995) は、マウスの単球性白血病由来の細胞株 RAW264.7 にリポ多糖 (LPS) やインターフェロン- γ (IFN- γ) を添加することにより増加した NOS 発現に対するクルクミン投与の影響を検討した。6 μ M のクルクミン添加から 24 時間の培養により、NOS 産生量は半減した。また、24 時間培養において、ほとんどの NOS 発現が抑制された濃度である 10 μ M のクルクミンを投与した場合には、投与 6~24 時間後において、iNOS 活性が有意に抑制された。Kim et al. (2005) は、骨髄由来の樹状細胞に LPS を添加することにより増加した炎症性サイトカイン (IL-1 β 、IL-6、TNF- α) が、クルクミンを投与することにより有意に減少したことを報告している。このようにさまざまな細胞において、クルクミンは炎症性メディエーターのタンパク・遺伝子発現を抑制することが明らかにされている。

これらの炎症性メディエーターの産生には、核転写因子 NF- κ B が関与している。これまでに多くの先行研究において、クルクミンは NF- κ B の活性化を抑制することによって炎症反応を抑制することが示唆されている (Singh and Aggarwal. 1995)。クルクミンが NF- κ B の

活性化を抑制するメカニズムとして、①NF- κ B 活性化阻害物質として働く I κ B のリン酸化を阻害すること、②COX-2 や iNOS の発現をダウンレギュレートし、炎症反応を抑制することなどが示されている (Jobin et al. 1999; Surh et al. 2001)。このようにクルクミンは炎症反応において、重要な転写因子である NF- κ B の活性化を抑制することにより、炎症反応カスケードを抑制している。

第4節 酸化ストレスについて

1) 活性酸素と酸化ストレス

活性酸素種とは、大気中に含まれる酸素分子がより反応性の高い化合物に変化したものの総称であり、寿命が比較的短く生体内で酸化反応に関与する酸素分子種である。一般的にスーパーオキシドアニオン ($O_2^{\cdot-}$)、過酸化水素 (H_2O_2)、ヒドロキシルラジカル (HO^{\cdot})、一重項酸素 (1O_2) の4種を活性酸素と呼ぶ。その他に脂質の過酸化過程で生じる脂質ラジカル (LO^{\cdot} 、 LOO^{\cdot}) や酸素以外のラジカルであるチールラジカル (RS^{\cdot}) あるいは活性窒素種である一酸化窒素 (NO) やペルオキシ亜硝酸イオン ($ONOO^-$) も広義の活性酸素としばしば解釈される。活性酸素は分子または原子内に不対電子を持つラジカルと不対電子を持たない非ラジカルに大別される。代表的な活性酸素である $O_2^{\cdot-}$ や HO^{\cdot} はラジカル、 H_2O_2 や 1O_2 は非ラジカルである。これらの活性酸素は生体内で常に生成されているが、その一方で、活性酸素を消去・不活性化する抗酸化能力が備わっている。これらの活性酸素種の産生が、消去能力を超えて増加し、均衡が崩れた状態を酸化ストレスである。酸化ストレス状態では、過酸化物質やフリーラジカルが過剰に産生され、タンパク質や脂質、DNA が障害されることで、さまざまな細胞内器官が障害を受ける。以上のことから、両者のバランスを崩さないように活性酸素の生成と消去能力を正確に把握することは重要であると考えられる。

酸化ストレスを評価する方法として、①活性酸素そのものを直接測定、②活性酸素によって生じた生体内産物の測定、③抗酸化物質の測定の3つがある。活性酸素は寿命が短く、生体内での直接測定が難しいため、多くの酸化ストレスの評価は、活性酸素が脂質やたんぱく質、DNAなどを攻撃して生成された過酸化物質を検出・定量する②・③を用いて間接的に評価してきた。これらの酸化ストレスマーカーは非常に数が多く、それぞれのマーカーで検出感度に差異があるため、単独での酸化ストレス評価は非常に難しく、複数のマーカーを組み合わせて評価することが望ましいとされている。一方で、酸化ストレスを直接評価する電

子スピン共鳴法（ESR; Electron Spin Resonance）は、直接的に不対電子を有するフリーラジカルを検出可能な方法である（Choi et al. 2011; Halliwell and Whiteman. 2004）。この方法により、生成した活性酸素に対する消去能力を直接的に評価することが可能になり、従来の抗酸化物質やその活性を測定して抗酸化能力を評価した方法では難しい活性酸素に対する定性的な評価が可能となった。しかし、この測定には高価な装置が必要であり、定量的な測定には技術を要することから簡単に測定はできない。近年開発された d-ROMs テストは、血中に生じた主にヒドロペルオキシド（ROOH）濃度を呈色反応で計測し、生体内の酸化ストレス度を総合的に評価するものである。この方法は、ESR を用いて妥当性が示されており、信頼性の高い測定であることが示されている[National Research Council (Italy)により 1997 年に示されている]。また、生体内の抗酸化力状態を計測する BAP テスト（Dohi et al. 2005）と併せて評価することで、より正確な酸化ストレスの総合評価が可能となった。

2) 酸化ストレスと筋損傷

先行研究において、局所的な筋力運動では、運動習慣の無い若年者における高強度の上腕屈筋群の伸張性運動により、酸化ストレスが増大することが報告されている（Childs et al. 2001; Goldfarb et al. 2005; Lee et al. 2002）。一方で、運動習慣の無い若年者における高強度の筋力運動により酸化ストレスは変化しないという報告もあるが（Güzel et al. 2007; Lenn et al. 2002）、多くの先行研究から高強度の筋力運動により、酸化ストレスが増大する可能性が考えられる。

一過性の筋力運動によって酸化ストレスが増大するメカニズムとして、虚血-再灌流および運動後の筋損傷による炎症などがその要因として考えられている（McBride et al. 1998; Sahlin et al. 1992; Urso and Clarkson. 2003）。運動時における、虚血-再灌流ではキサンチンオキシダーゼ（xanthine oxidase : XO）系から多量の活性酸素が発生し、組織傷害を引き起こすことが知られている。筋収縮時にも骨格筋内の XO 系を介して活性酸素が発生する（Stofan et al. 2000）。XO 阻害剤を用いた研究では、身体活動時に XO 系から発生する活性酸素が組

織傷害を誘発する可能性が示唆されている (Duarte et al. 1993)。XO は骨格筋細胞内にもみられるが、身体活動時の筋組織傷害に関わっているのは毛細血管の内皮細胞に局在する XO であることも報告されている (Duarte et al. 1993、Hellsten et al. 1997)。また、虚血-再灌流時には、傷害部位において二次的に集積してきた白血球中の XO や好中球から発生する活性酸素の影響も重要である (Hellsten et al. 1997)。

また、筋損傷を伴うような運動では、細胞損傷部位に浸潤してきた好中球・マクロファージなどの貪食細胞にみられる NADPH オキシダーゼ系、あるいは NO 産生系 (Ca²⁺濃度の上昇や血管ずり応力の増加により NO 発生) といった活性酸素発生機構も考えられる。

これらの先行研究より、一過性の高強度の筋力運動による活性酸素の過剰生成は、酸化ストレスを増大させ、組織障害を引き起こし、筋損傷を拡大させる可能性が考えられる。

3) 酸化ストレスとクルクミン

クルクミンは抗酸化作用を有することが知られている。クルクミンは、その構造の中に酸化ストレスの除去に有用な OH 基と CH₂ を有している。クルクミンは、①活性酸素種のスカルベンジャー (Menon and Sudheer. 2007)、②抗酸化酵素 (GSH、カタラーゼ、SOD) の活性化の調節 (Lin et al. 2007; Marchiani et al 2014.)、③活性酸素種産生酵素の抑制 (Lin et al. 2007)、④抗酸化物質として作用する (Priyadarsini et al. 2003) など、いくつかの異なるメカニズムによって活性酸素を除去することが報告されている。

これまで、運動誘発性の酸化ストレスに対してクルクミンの効果を検討した研究は数少ない。動物における報告では、ラットにおけるクルクミン摂取は、後肢の筋における虚血-再灌流により生じた酸化ストレス状態を改善した (Bank and Song. 2013)。また、マウスにおけるクルクミン摂取は、ダウンヒル走後に生じた過酸化水素産生および NADPH-オキシダーゼの発現を軽減させたことが報告されている (Kawanishi et al. 2013)。一方で、運動前に 20 日間クルクミンを摂取したラットは、ダウンヒル走後における血中および筋中の MDA

は、クルクミンを摂取しなかった群と比較して有意な差は認められなかった (Boz et al. 2014)。ヒトにおける報告では、VO₂max65%強度で 60 分のトレッドミル走を行うと、クルクミンを摂取した群では、プラセボを摂取した群と比較して d-ROMs および TRX-1 の産生が軽減され、BAP および GSH は上昇した。すなわち、クルクミン摂取により抗酸化能力を増大させ酸化ストレスを軽減した可能性が示された (Takahashi et al. 2014)。このように、クルクミンは運動によって産生される酸化ストレスの抑制や、抗酸化能力の増大が期待されるが、一致した見解が認められていない。

第3章 本研究の課題

本論文ではクルクミン摂取が伸張性運動後に生じる筋損傷および炎症反応を軽減させ、早期回復に有効であるかを検証するために、以下について検討を行うことを目的とした。

1. クルクミン摂取が伸張性運動後の筋損傷に及ぼす影響を明らかにする。
2. 筋損傷からの早期回復に効果的なクルクミン摂取のタイミングを明らかにする。
3. 運動前・運動後それぞれのクルクミン摂取が筋損傷および炎症反応に及ぼす影響を明らかにする。

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) クルクミン摂取が伸張性運動後の筋損傷に与える影響（研究課題1）

動物実験において、クルクミンは伸張性運動による筋損傷および炎症反応を軽減させる可能性が示唆されている。しかし、ヒトにおけるクルクミン摂取が伸張性運動による筋損傷に及ぼす影響は明らかにされていない。

そこで研究課題1では、運動習慣のない健康な成人男性において、伸張性運動前後のクルクミン摂取が筋損傷指標に及ぼす影響を検討した。

2) 筋損傷からの早期回復に効果的なクルクミン摂取のタイミングの検討（研究課題2）

研究課題1より、運動前および運動後のクルクミン摂取は、伸張性運動後の筋損傷を軽減する可能性を示唆した。しかし、クルクミン摂取が筋損傷予防もしくは回復のどちらに貢献したかは明らかではなかった。

そこで研究課題2では、クルクミン摂取のタイミングの違い（運動前か運動後）が伸張性運動後の筋損傷に及ぼす影響を検討した。

3) 運動前・運動後のクルクミン摂取が筋損傷および炎症反応に及ぼす影響（研究課題3）

研究課題2より、運動後の継続的なクルクミン摂取は、伸張性運動後の筋損傷を軽減する可能性を示唆した。しかし、運動後のクルクミン摂取が筋損傷を軽減し、回復を促進するメカニズムは明らかではない。そこで、研究課題3では、運動前・運動後のクルクミン摂取が筋損傷および炎症反応に及ぼす影響を検討した。

第4章 研究課題1：クルクミン摂取が伸張性運動後の筋損傷に与える影響

第1節 目的

本研究課題では、クルクミン摂取が伸張性運動後に生じる筋損傷を軽減させ、回復を促進させるか否かを検証することを目的とした。

第2節 方法

1) 被験者

運動習慣がなく、喫煙や服薬習慣のない健康な成人男性14名を対象とした [年齢：23.5±2.3 (SD) 歳、身長：172.1±7.5 cm、体重：65.2±11.3 kg、体脂肪率：15.2±5.3 %]。被験者には、あらかじめ実験の趣旨、ならびに実験遂行に伴う危険性について説明を行うとともに、参加同意の署名を得た。なお、本研究は筑波大学人間総合科学研究科倫理委員会の承認を受けて実施した。

2) 実験手順

本研究はクロスオーバー試験で行った。対象者には、運動の前後にクルクミン（細粒化クルクミン 150 mg/回）あるいはプラセボを摂取させた（Fig. 11）。Evans et al. (2002) の先行研究に基づいて、筋損傷を誘発させる運動として肘関節屈筋群の伸張性運動を行わせた。同一被験者内における2試行（クルクミン摂取およびプラセボ摂取）の間には、1試行目の影響が2試行目に生じないように1カ月以上のウォッシュアウト期間を設けた。各試行の運動前、運動直後、12時間後、および1～4日後に、筋損傷の指標として、最大筋力（MVC）、自覚的筋痛（VASにて評価）、肘関節可動域（ROM）、上腕周囲径（CIR）、血中クレアチンキナーゼ（CK）活性を測定した。

プラセボあるいはクルクミン摂取前6時間は水以外の飲食物の摂取を禁止し、絶食状態

とした。また、各試行を行う 3 日前から実験期間中において、激しい運動やアルコール摂取、および測定に影響のある服薬は控えるように指示した。

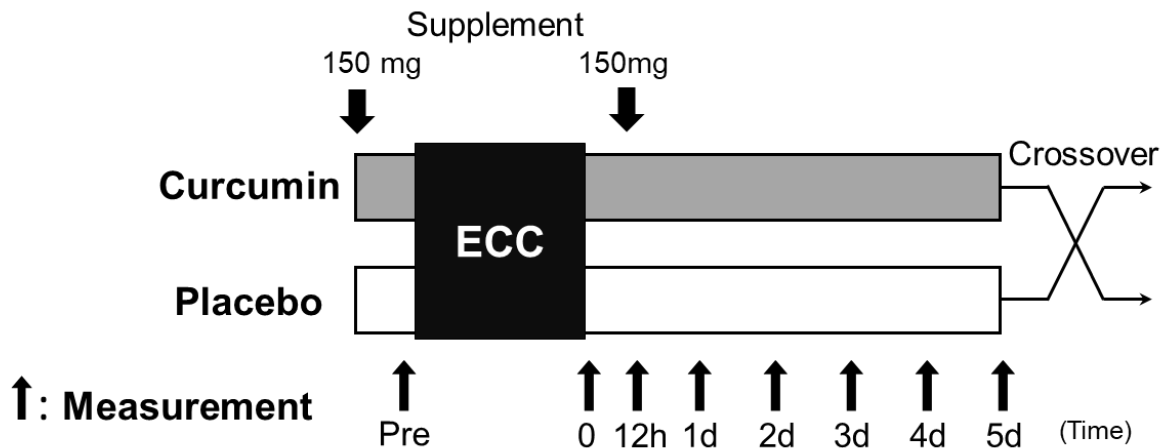


Fig. 11. 実験プロトコール

3) クルクミン摂取

本研究で摂取させたクルクミンは、株式会社セラバリュース（東京）製の細粒化セラクルミン 150 mg（クルクミン: 25 mg×6 カプセル）を用いた。クルクミンは難溶性の物質で体内に吸収されにくく、生体内での利用能の改善が課題とされてきた物質である。本研究で使用したセラバリュース製のセラクルミンは、従来のものに比べて生体内への吸収率を改善したものである（Sasaki et al. 2011）。また、セラクルミンを用いたヒトの試験において、吸収率の向上や、体内で素早く代謝されることが確認されており（Fig. 12）、安全性も保証されている。対照条件にはプラセボ（デンプン）を用いた。プラセボとクルクミンは同じ色・形のカプセルに充填されており、被験者・験者ともに、見た目では判断できないようにした。

クルクミンおよびプラセボは、運動開始 1 時間前と運動終了 12 時間後の合計 2 回、経口にて摂取を行った。1 回の摂取量は 150 mg とし、これは株式会社セラバリュースが所有するクルクミンの生理作用と安全性に関するデータを基に決定した。

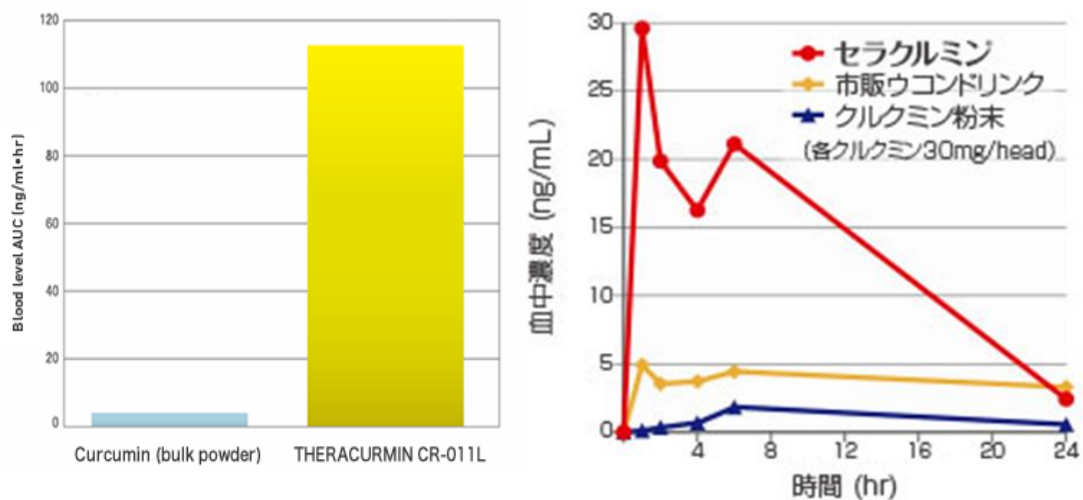


Fig. 12. セラクルミン摂取による血中クルクミン濃度 AUC (左) と血中動態 (右)
(セラバリューズホームページ、Sasaki et al. 2011)

4) 運動負荷

運動負荷は、Evans et al. (2002) の先行研究に基づき、等速性筋力器 (BIODEX System 3; Biodex Medical Systems, Inc., Shirley, NY, USA) を用いて行なった。肘関節屈筋群の伸張性運動 (最大努力で 50 回、120°/秒) とし、この運動前、運動直後、および 1~5 日後に筋損傷指標を測定した。

2 試行目における運動負荷は、1 試行目における運動負荷の影響を少なくするため、1 試行目の腕と反対側を用いるものとした。さらに、各被験者における摂取物の順番と運動を行う腕の決定はランダム化して行った (Fig. 13)。

運動負荷当日は、絶食 6 時間以上の状態で、まず採血を行った。その後、運動開始 1 時間前に 1 回目のサプリメント摂取を行った。続いて、運動前の ROM、CIR、筋痛 (評価は VAS)、MVC を測定した。サプリメント摂取から 1 時間後に運動負荷を開始した。

肘関節の角度規定については、肘関節伸展角度 0°の肢位を 180°と規定した。運動範囲については 180°範囲中の 50°から 170°とした (Fig. 14)。上腕の肢位は、被験者の前額面に対して肩関節の屈曲位 45°になるように設定した。

被験者は、軽い力で5回の練習を行い、ダイナモメーターの移動する速度やタイミングに慣れさせた。次に、伸張性収縮の局面において、被験者に最大努力で運動を行わせた。そして、ダイナモメーターによって12秒間かけて受動的に元の肢位に戻した。この動作を50回繰り返した。また、運動中に検者は被験者が最大努力で運動ができるように声かけを行った。

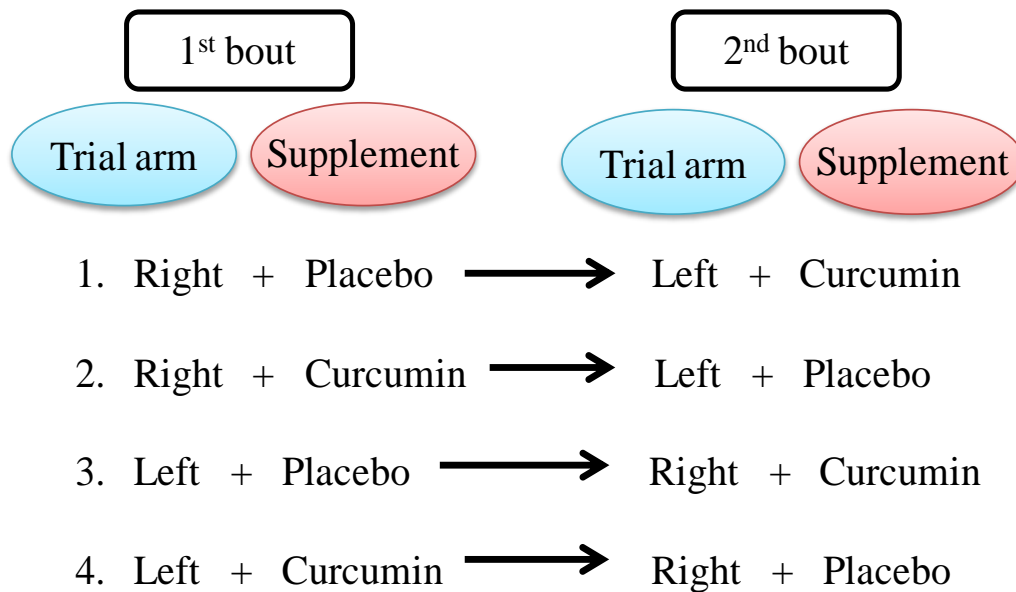
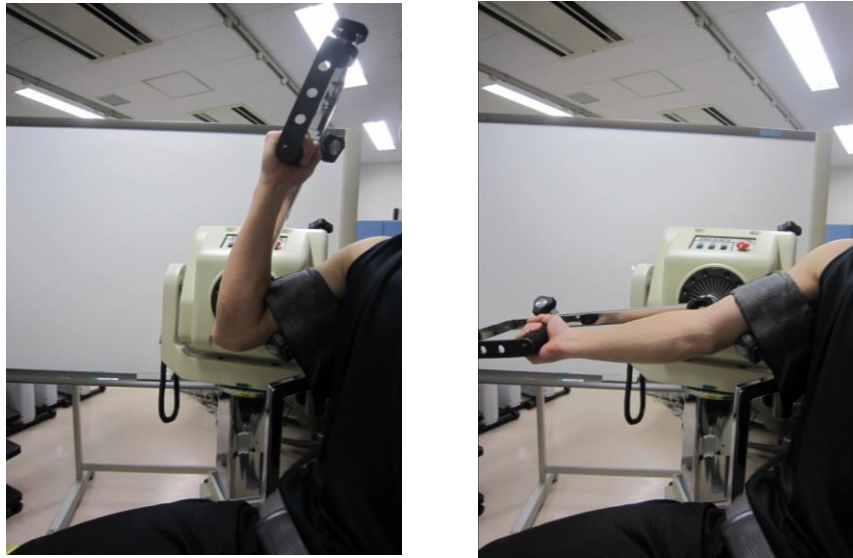


Fig. 13. 試行条件

サプリメント（クルクミンもしくはプラセボ）、および運動試行側（左腕もしくは右腕）をランダムに組み合わせた条件にて実験を行った。各条件に割り振る被験者はカウンターバランスをとり、試行とサプリメントの順番に偏りが生じないようにした。

1. 1 試行目にプラセボ摂取・右腕を用い、2 試行目はクルクミン摂取・左腕を用いた。
2. 1 試行目にクルクミン摂取・右腕を用い、2 試行目はプラセボ摂取・左腕を用いた。
3. 1 試行目にプラセボ摂取・左腕を用い、2 試行目はクルクミン摂取・右腕を用いた。
4. 1 試行目にクルクミン摂取・左腕を用い、2 試行目はプラセボ摂取・右腕を用いた。



Start position

End position

Fig. 14. 運動プロトコル

対象の上腕の肢位が、被験者の前額面に対して肩関節の屈曲位 45° になるように BIODEX に固定した。運動は肘関節 50° の位置から、 170° までの 120° とした。この時の角速度を $120^\circ/\text{秒}$ とし、最大努力で 50 回行った。

5) 測定項目および測定方法

それぞれの測定は、以下の手順で行った。

運動前: 採血→VAS 記入→CIR 測定→ROM 測定→MVC 測定

運動後: MVC 測定→ROM 測定→CIR 測定→VAS 記入→採血

測定項目と測定ポイントは Fig. 11 (p. 32) に示す。

①最大筋力: Maximal Voluntary Contraction (MVC) torque

MVC は、BIODEXsystem3 を使い、等尺性最大筋力を測定した。上腕の肢位は、被験者の前額面に対して肩関節の屈曲位 45° で固定し、肘関節 90° で測定した。運動肢の肘関節屈曲動作における 5 秒間の等尺性最大筋力発揮を 30 秒のインターバルを挟んで 3 回行い、その中から最大値を MVC として採用した。

②自覚的筋痛

筋痛の評価には、視覚アナログスケール Visual Analogue Scale (VAS) (Fig. 15) を使用した。全く痛みのない状態を「0」、今までに経験した中で最大の筋痛状態を「100」とし、100 mm のライン上の位置により、その時の筋痛を被験者の主観にて評価させた。なお、主観的筋痛は、①触診時、②伸展時、③屈曲時の3種類を評価した。①触診時圧痛は、検者が被験者の主働筋（上腕屈筋群）の、肩峰と外側上顆間遠位 60 %部位を3秒間触診した時の痛みを主観的に評価させた。また、②伸展時と③屈曲時痛については、立位の被験者に対し、検者により受動的に肘関節を屈曲・伸展させた時の痛みを主観的に評価させた。

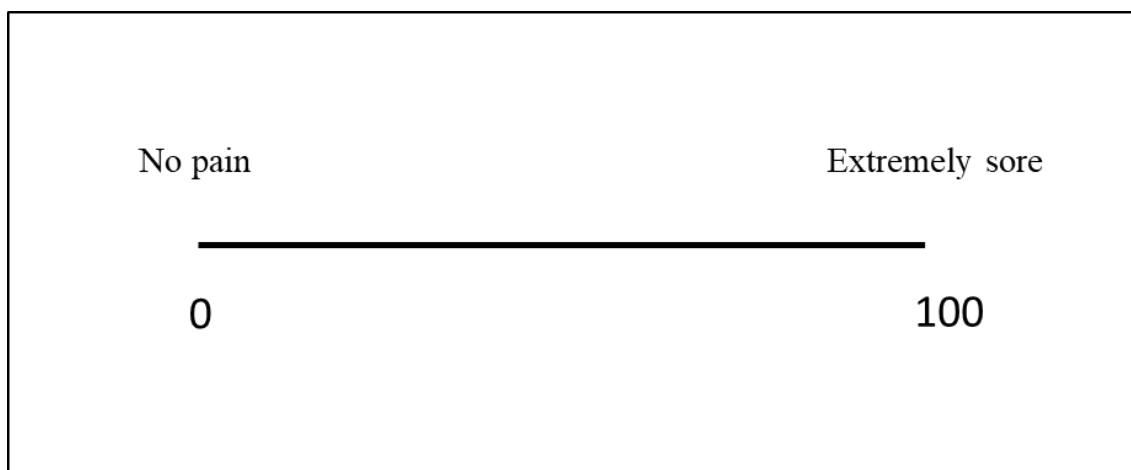


Fig. 15. Visual Analogue Scale

全く痛みのない状態を「0」、今までに経験した中で最大の筋痛状態を「100」とし、100 mm のライン上の位置により、その時の筋痛を被験者の主観にて評価させた。

③肘関節可動域: Range of Motion (ROM)

ROM 測定には、真鍮製の角度計を使用した。上腕骨外側上顆を起点とし、肩峰と橈骨茎状突起に角度計の両軸を合わせ、最大伸展時 (Stretched angle: SANG) と最大屈曲時 (Flexed angle: FANG) を痛みの生じない範囲で 3 回測定し、その差の平均値を ROM 代表値とした (Fig. 16)。

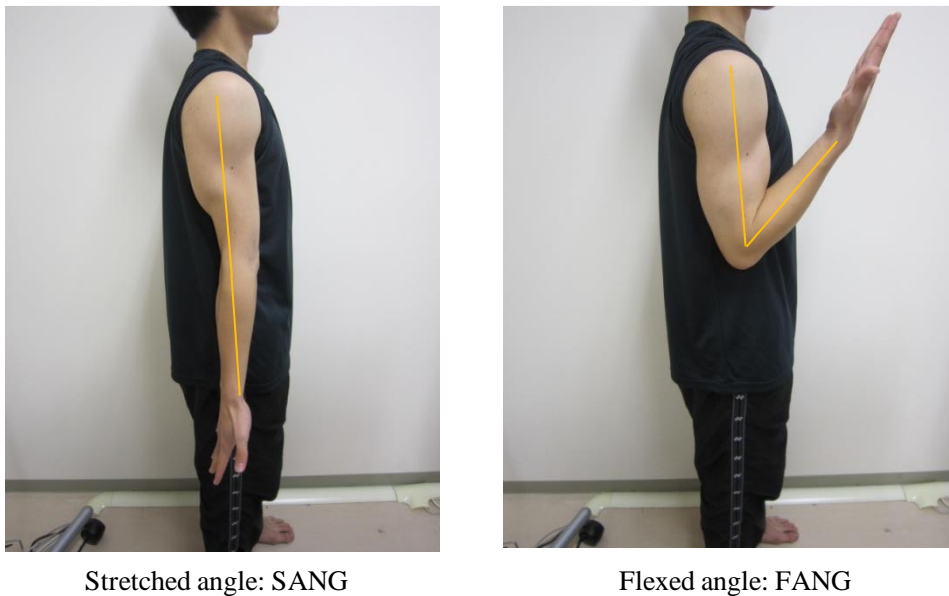


Fig. 16. ROM 測定法

最大伸展時 (Stretched angle: SANG) と最大屈曲時 (Flexed angle: FANG) を痛みの生じない範囲で 3 回測定し、その差を ROM とした。

④上腕周囲径: Circumference (CIR)

CIR として、上腕骨外側上顆と肩峰間遠位 60 %の部分の周囲径をメジャーを用いて測定した。測定は3回行い、その平均値を代表値とした。

⑤血中筋損傷マーカー (CK)

肘窩部の静脈より採血を行った。シリコン採血管に採取した血液は、血冷却遠心分離(4℃、3000 rpm、15分)にて、血清を分離した。分離した血清は、測定まで-80℃の冷凍庫で凍結保存した。CKはJL-type CK (Wako Pure Chemical Industries, Osaka, Japan)を用いて測定を行った。

⑥血漿クルクミン濃度

抗凝固剤として EDTA-2Na が入った真空採血管にて、肘窩部の静脈より採血し、直ちに転倒混和した後、速やかに冷却遠心分離(4℃、3000 rpm、15分)にて、血漿を分離した。分離した血漿は、測定まで-80℃の冷凍庫で凍結保存した。分析はHPLC法を用いて測定した。

6) 統計処理

運動前の全ての項目値において、プラセボ摂取条件とクルクミン摂取条件で対応のある t 検定を行った。また、全ての項目で、経時的变化およびサプリメント摂取条件の違いについて、2要因の対応のある二元配置分散分析を行った。交互作用および主効果について検討し、有意差が認められた場合、下位検定として Tukey's test を行った。なお、全ての統計処理において有意水準は5%未満とした。データは全て、平均値 ± 標準偏差 (SD) で示した。

第3節 結果

1) 血漿クルクミン濃度

血漿クルクミン濃度の変化を Fig. 17 に示す。運動前の血漿クルクミン濃度は、それぞれのサプリメント摂取条件間で有意な差を認めなかった。プラセボ摂取条件の全測定ポイントにおいて、血中にクルクミンはほぼ検出されなかった。一方、クルクミン摂取条件の運動前における血漿クルクミン濃度は 0.04 ng/dL であった。また、運動直後（クルクミン摂取 1 時間後）における血中クルクミン濃度は 127.66 ng/dL であり、運動前に比べておよそ 3000 倍以上の有意な上昇を示した。さらに、運動 12 時間後における血中クルクミン濃度は 76.21 ng/mL であり、最高値を示した運動直後のおよそ 60 %程度まで減少した。しかし、血漿クルクミン濃度は依然としてプラセボ摂取条件よりも有意に高い状態にあり、運動終了 5 日後まで、血漿クルクミン濃度の有意な上昇が認められた。

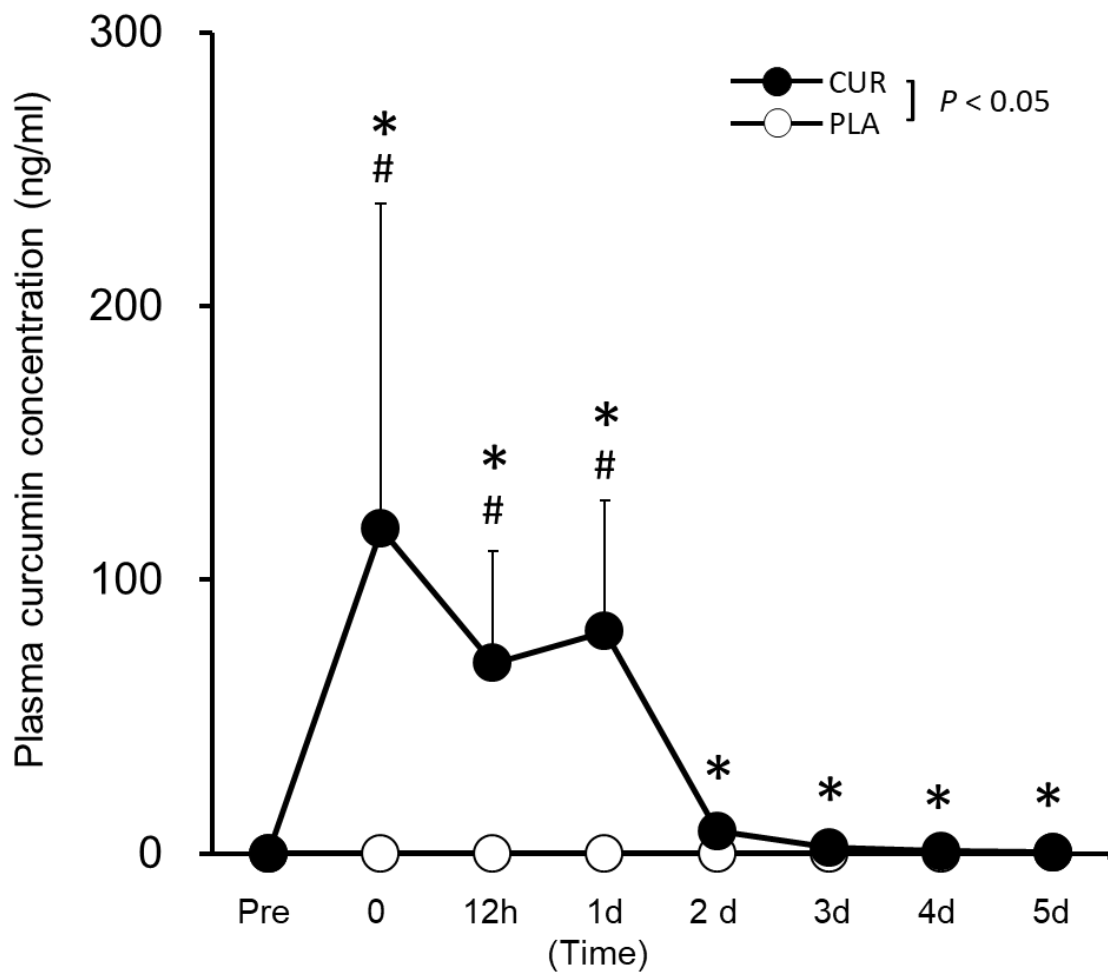


Fig. 17. 運動前、運動直後、運動 12 時間後、運動 1~5 日後における血漿クルクミン濃度の変化

CUR, trial that ingested curcumin; *PLA*, trial that ingested placebo;

Values are means \pm SD (n = 14 for each group)

$P < 0.05$ vs. Pre; * $P < 0.05$ vs. placebo; $P < 0.05$, a significant interaction effect

2) 筋損傷指標 (MVC、筋痛、ROM、CIR)

①最大筋力 (MVC)

運動前と運動後 5 日間の肘関節 90°屈曲位における MVC の経時的変化を Fig. 18 (a: 絶対値、b: 変化率) に示す。運動前の値において、各サプリメント摂取条件間で有意な差は認められなかった。運動前の値に対し、運動後各測定ポイントの全てにおいて有意な MVC の低下が認められた。すなわち、一過性の伸張性運動後に MVC は有意に低下した。また、MVC の変化率について、サプリメント摂取条件間における各測定ポイントの多重比較分析を行ったところ、運動直後と運動 2 日後以降の各測定ポイントにおける MVC の低下はプラセボ摂取条件と比べて、クルクミン摂取条件の方が有意に小さかった (Fig. 18b)。

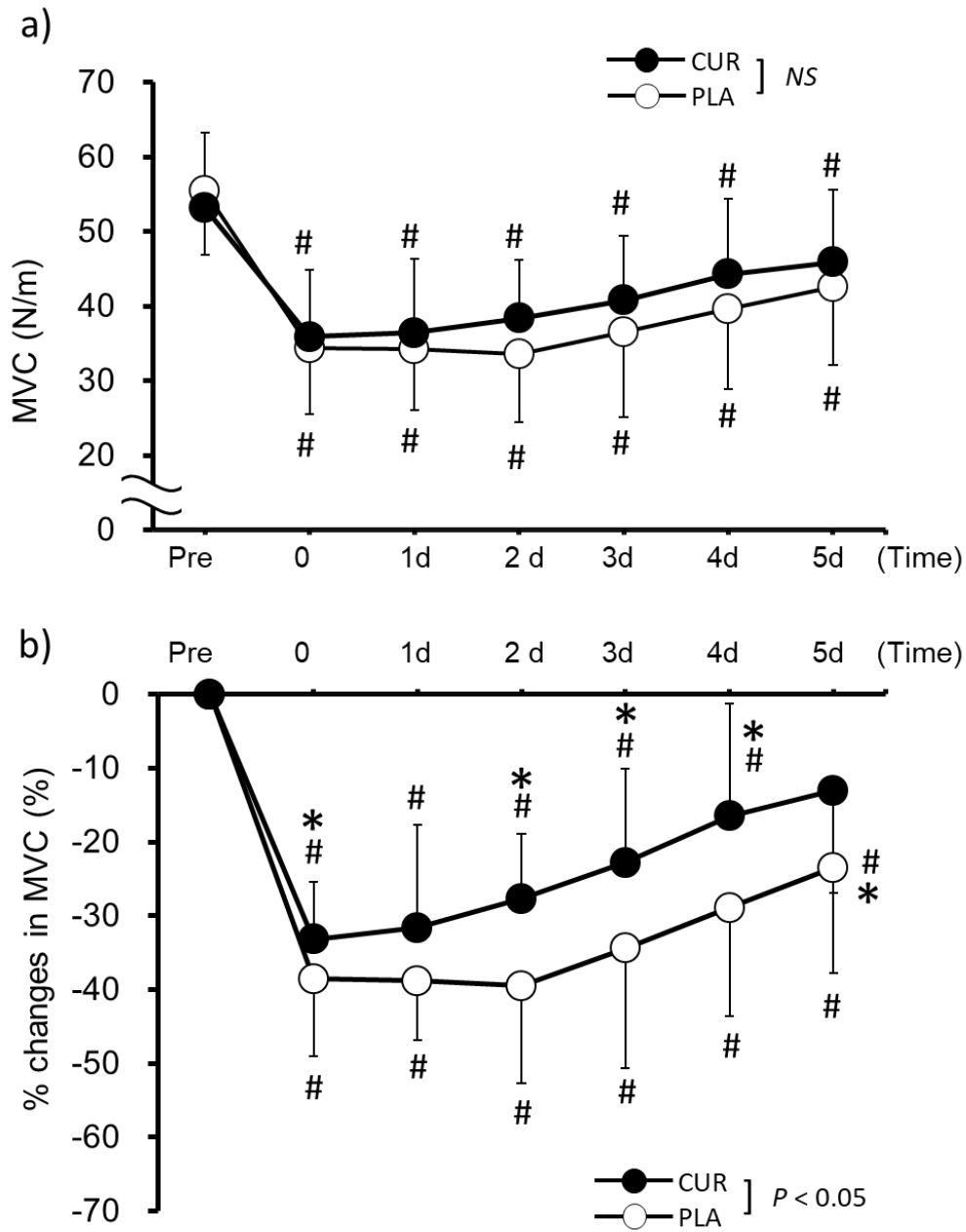


Fig. 18. 運動前、運動直後、運動1~5日後におけるMVCの変化

a) Changes in MVC

b) Normalised changes in MVC

CUR, trial that ingested curcumin; PLA, trial that ingested placebo;

Values are means \pm SD (n = 14 for each group)

$P < 0.05$ vs. Pre; * $P < 0.05$ vs. placebo; $P < 0.05$, a significant interaction effect;

NS, no significant interaction effect

②自覚的筋痛

運動前と運動後 5 日間の各測定ポイントにおける VAS の経時的変化を Fig. 19 (a: 触診時痛、b: 伸展時痛、c: 屈曲時痛) に示す。それぞれ評価法の運動前の値において、各サプリメント摂取条件間で有意な差は認められなかった。それぞれのサプリメント摂取条件の運動 2~3 日後において VAS のピーク値が認められた。また、両条件ともに運動前の値に対し、運動 1~5 日後の各測定ポイントにおいて有意な VAS の増加が認められた。しかし、各サプリメント摂取条件間における有意な差は認められなかった。

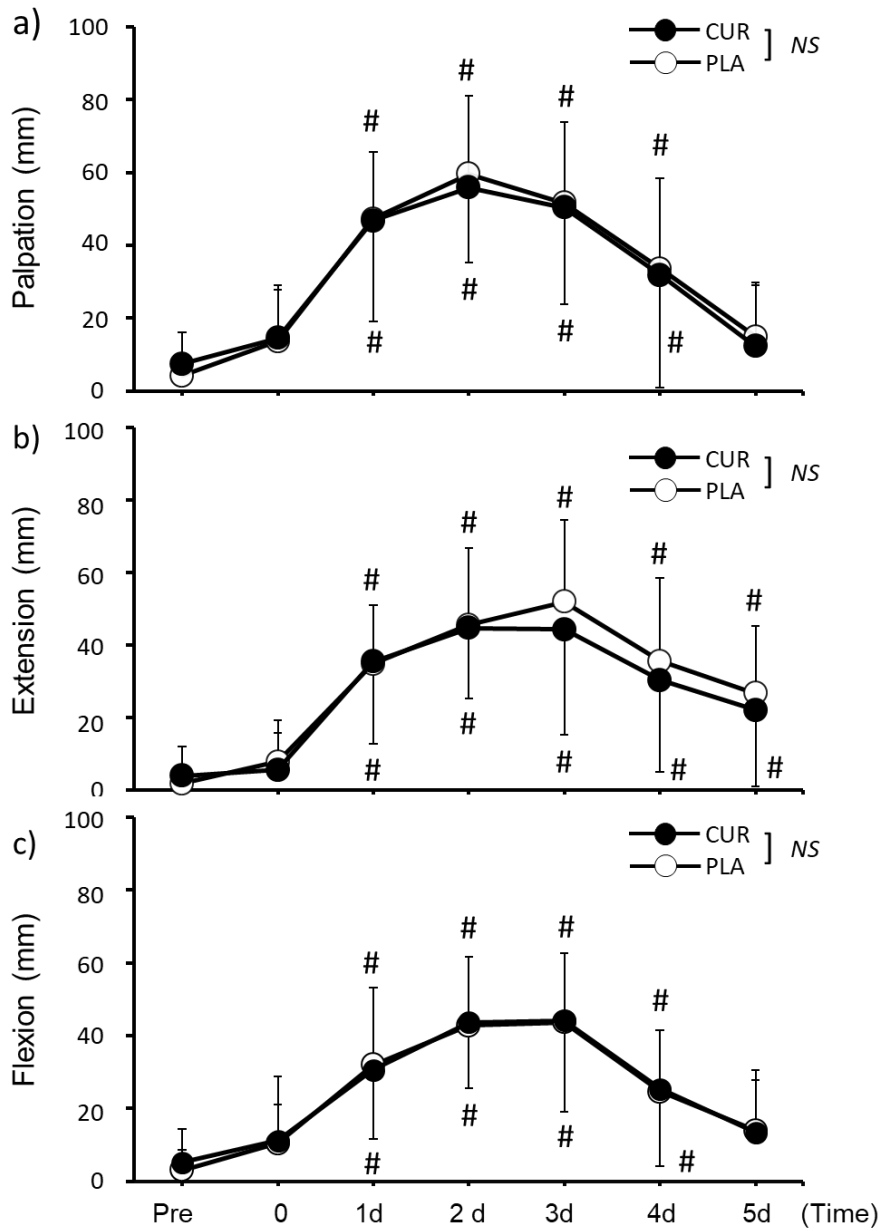


Fig. 17. 運動前、運動直後、運動1~5日後におけるVASの変化

a) Palpation of the upper arm

b) Extension of the elbow joint

c) Flexion of the elbow joint

CUR, trial that ingested curcumin; PLA, trial that ingested placebo;

Values are means \pm SD (n = 14 for each group)

$P < 0.05$ vs. Pre; NS, no significant interaction effect

③肘関節可動域 (ROM)

運動前と運動後 5 日間の各測定ポイントにおける ROM の経時的变化を Fig. 18 (a: 絶対値、b: 変化率) に示す。運動前の値において、各サプリメント摂取条件間で有意な差は認められなかった。それぞれのサプリメント摂取条件において、運動前の値に対し、運動直後以降の全測定ポイントにて有意な ROM の減少が認められた。ROM の変化率において、各サプリメント条件間における統計学的な有意差は認められなかったが (Fig. 18b)、クルクミン摂取条件の運動終了 4 日後に、ROM 低下を抑制する傾向が認められた ($p = 0.08$)。

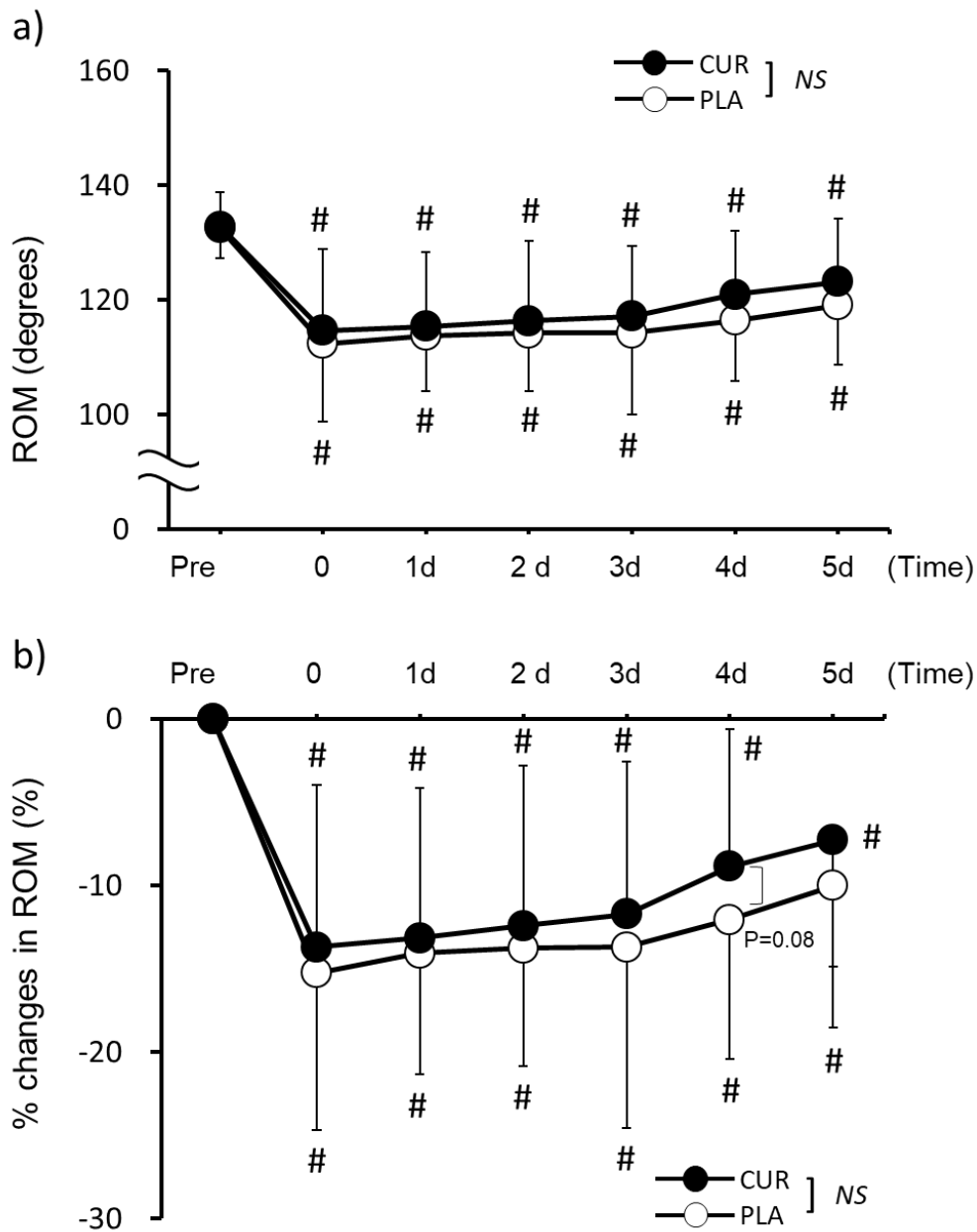


Fig. 18. 運動前、運動直後、運動1~5日後におけるROMの変化

a) Changes in ROM

b) Normalised changes in ROM

CUR, trial that ingested curcumin; PLA, trial that ingested placebo;

Values are means \pm SD (n = 14 for each group)

$P < 0.05$ vs. Pre; NS, no significant interaction effect

④上腕周囲径（CIR）

運動前と運動後5日間の各測定ポイントにおけるCIRの経時的变化をFig. 19(a: 絶対値、b: 変化量)に示す。運動前の値において、各サプリメント摂取条件間で有意な差は認められなかった。それぞれのサプリメント摂取条件において、運動前の値に対し、運動直後以降の全測定ポイントにて、有意なCIRの増加が認められた。しかし、各サプリメント条件間において有意差は認められなかった。

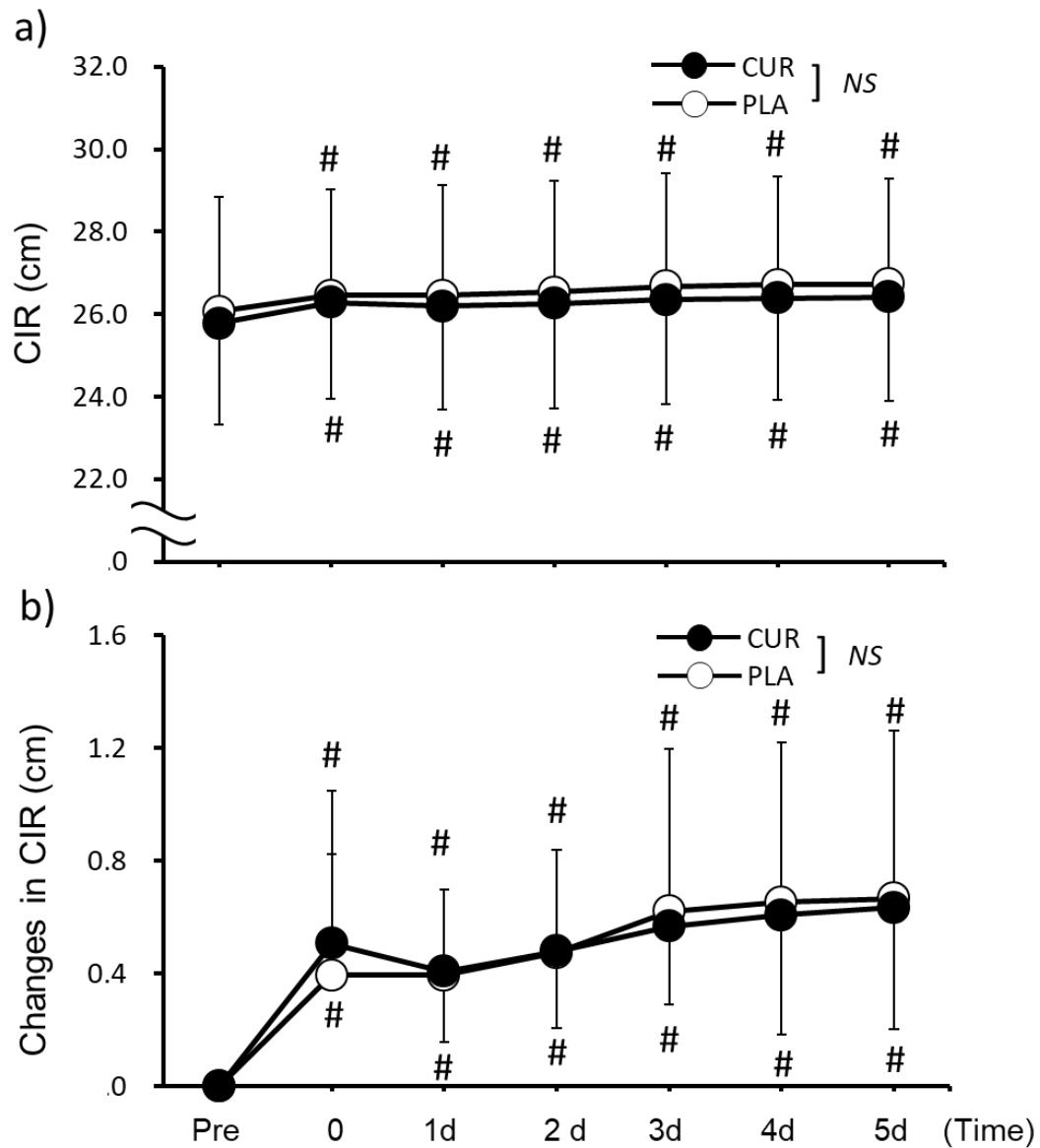


Fig. 19. 運動前、運動直後、運動 1~5 日後における CIR の変化

a) Changes in CIR

b) Absolute changes in CIR from the baseline

CUR, trial that ingested curcumin; *PLA*, trial that ingested placebo;

Values are means \pm SD (n = 14 for each group)

$P < 0.05$ vs. Pre; NS, no significant interaction effect

3) 血中筋損傷指標 (CK)

運動前と運動後5日間の各測定ポイントにおける血中CK活性の経時的変化を Fig. 20 に示す。運動前の値において、各サプリメント摂取条件間で有意な差は認められなかった。血中CK活性のピーク値は、プラセボ摂取条件においては運動4日後、クルクミン摂取条件においては運動5日後に認められた。運動前の値に対し、プラセボ摂取条件では、運動3～5日後に、クルクミン摂取条件では運動4～5日後において、有意な血中CK活性の増加が認められた。また、プラセボ摂取条件と比べて、クルクミン摂取条件の運動3日後における血中CK活性は有意に低値を示した。

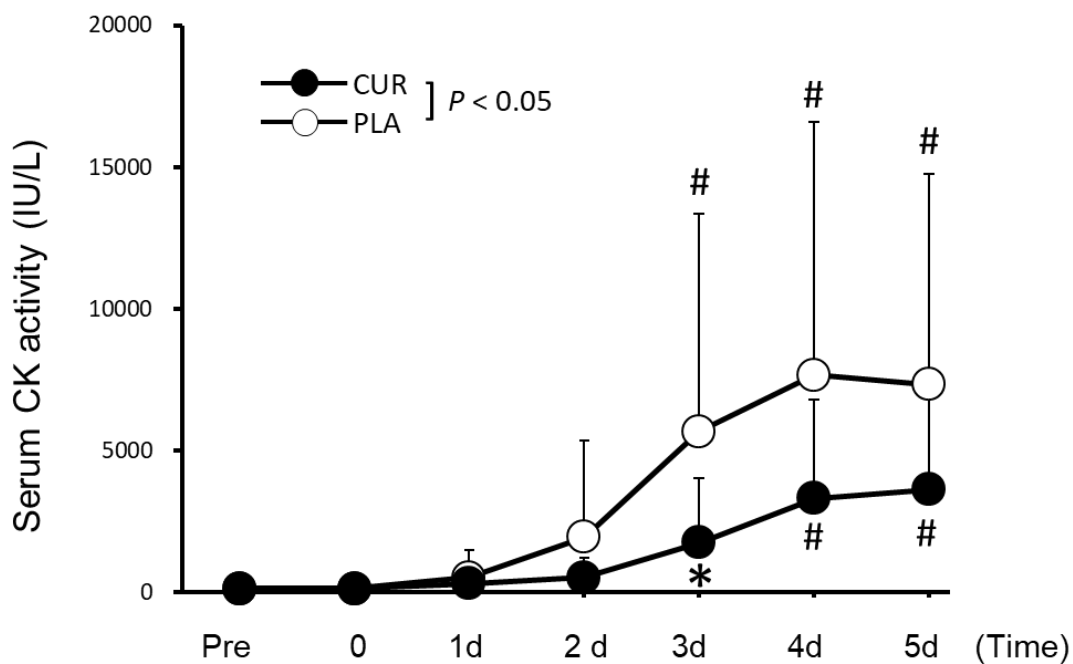


Fig. 20. 運動前、運動直後、運動1～5日後における血中CK活性の変化

CUR, trial that ingested curcumin; PLA, trial that ingested placebo;

Values are means \pm SD (n = 14 for each group)

$P < 0.05$ vs. Pre; * $P < 0.05$ vs. placebo; $P < 0.05$, a significant interaction effect

第4節 考察

本研究は、運動習慣のない健康な若年男性におけるクルクミン摂取が一過性の伸張性運動後に生じる筋損傷を軽減させ、回復を促進させるか否かをクロスオーバー試験にて検討した。

本研究の主な結果は以下の2つである。①一過性の伸張性運動は、最大筋力を有意に低下させるが、クルクミンを摂取することにより運動後の筋力低下を抑制することが明らかになった。②一過性の伸張性運動は血中CK活性を有意に増加させるが、クルクミン摂取により、これらの増加が有意に抑制される可能性が示された。

クルクミンが筋損傷指標に与える影響

本研究は、筋損傷の指標としてMVC、ROM、CIR、自覚的筋痛を評価した。一過性の伸張性運動によってMVC、ROMは有意に低下し、CIR、VASは有意に増加した。しかしながら、これらの指標の経時的变化は異なっていた。MVCとROMは、運動直後に最も著しい低下が認められたが、CIRのピークは運動4～5日後であり、筋痛は運動2～3日後においてピークが認められた。本研究で認められた各筋損傷指標の経時的变化のパターンは、先行研究とほぼ同様であった（Chen et al. 2007; Lavender and Nosaka. 2008）。

本研究では、運動前後においてクルクミンを摂取することによって、伸張性運動後のMVC低下が有意に抑制されることが示された。MVCの低下は筋損傷の指標の中で最も筋損傷を的確に反映する指標とされている（Warren et al. 1999）。また、MVC低下の程度と損傷した筋線維数は、有意な相関関係があることが示されている（Raastad et al. 2010）。先行研究において、一過性の伸張性運動後に生じる筋損傷によって起こる筋力低下は、イブプロフェンやケトプロフェンなどの抗炎症作用を有する薬剤により、有意に抑制されることが報告されている（Hasson et al. 1993; Sayers et al. 2001）。これらの作用機序として、炎症反応を促進するCOX活性を阻害することによる抗炎症作用の関与が想定されている。COX活性を阻害

することにより疼痛が緩和され、腫脹も抑制されると考えられる。本研究で用いたクルクミンも抗炎症作用を有する物質である。その作用機序として、炎症性物質の産生調節を司る NF- κ B 活性の阻害がある (Jobin et al. 1999; Singh and Aggarwal. 1995)。NF- κ B は COX より上流で炎症反応を調節する因子である。すなわち、本研究において、クルクミン摂取が、一過性の伸張性運動による MVC の低下を有意に抑制させた機序の 1 つとして、クルクミンの NF- κ B 活性阻害が、COX の活性化を抑制した可能性が考えられる。また、本研究では運動開始 1 時間前にクルクミンを摂取しており、運動時の血中クルクミン濃度は最も高い状態であった。このことから、運動直後における炎症物質の産生を抑制した可能性が考えられる。さらに、先行研究において、一過性の伸張性運動直後に生じる MVC の低下は、骨格筋収縮における、細胞膜の電気変異から収縮に至るまでの一連の過程である興奮収縮連関の機能低下により引き起こされる可能性が報告されている (Warren et al. 2002)。MVC の低下には、筋損傷だけではなく、局所的な疲労の影響を大きく受けることが考えられることから、他の筋損傷指標と高い相関を示さない場合もある (Nosaka et al. 2006)。局所的疲労を引き起こす要因としては、①筋収縮のエネルギー源であるクレアチンリン酸の枯渇、②筋における水素イオンの蓄積、③筋収縮のエネルギーであるグリコーゲンの枯渇、④低血糖、⑤血中アミノ酸濃度の変化などがある (井澤ら. 2001)。本研究で行った運動プロトコールでは、ATP に再合成されることなく残った ADP や無機リンが、アクチン-ミオシンの架橋形成の遅延や架橋不全をもたらし、興奮収縮連関を直接阻害した可能性が考えられる。また、筋収縮が起こることで産生される乳酸から遊離した水素イオンが筋に蓄積し、この結果、筋小胞体からのカルシウムイオンの放出や、トロポニンへの結合を低下させることにより、収縮機構が低下した可能性がある。これらのことより、運動直後には局所的な疲労の蓄積により筋力が発揮できなくなった可能性が考えられる。本研究において、運動前後にクルクミンを摂取することにより、運動直後における MVC の低下を有意に抑制した機序として、クルクミンが局所性疲労の原因となる物質の除去や代謝に関与した可能性も考えられるが、詳細は不明である。

また、先行研究において、培養筋芽細胞にクルクミンを添加すると、筋芽細胞の分化が促進されることが報告されている (Thaloor et al. 1999)。クルクミンは外傷後に筋芽細胞の分化を促すことにより、筋の再生を促進させる物質であること (Thaloor et al. 1999) が示唆されていることから、クルクミンは一次的損傷により壊れた筋線維を再生させているのかもしれない。

クルクミンが血中筋損傷指標に与える影響

本研究では、筋損傷指標として血中 CK 活性を評価した。これらは先行研究においても、広く筋損傷指標として用いられている指標である (Jamurtas et al.2005; Lavender and Nosaka. 2008)。本研究において、一過性の伸張性運動 4 日後に CK 活性は有意に増加した。すなわち、本研究で実施した一過性の伸張性運動により、筋損傷が引き起こされたことが示唆される。先行研究では、一過性の伸張性運動により筋損傷が生じると、CK は運動後 24~48 時間以内に血中において増加し、96~120 時間後に最大値を示すとされている (Clarkson et al. 1992)。また、CK は、伸張性運動などによる筋線維の細胞膜の破綻により、血中に漏出してくることで、安静時と比べて血中濃度が劇的に増加する物質であるとも報告されている (Rodenburg et al. 1994)。これらのことから、強い機械的な力により筋線維が損傷されて CK が血中に漏出するには、細胞膜の破綻と血管透過性の亢進が影響していることが考えられる。本研究では、クルクミンを摂取することにより、運動 72 時間後における CK の増加が有意に抑制された。血管透過性の亢進に関与する物質として、ヒスタミンやブラジキニンがある。クルクミンは肥満細胞の活性化を抑制し、ヒスタミン産生を減少させている可能性が示唆されている (Nugroho et al. 2009)。また、クルクミンはブラジキニンの血管透過性亢進作用を増強するプラスタグランジンの産生を抑制させる可能性も報告されている (Moriyuki et al. 2010)。このようにクルクミンは、炎症反応における血管透過性の亢進を抑制し、血中における血中 CK 活性の増加を有意に抑制した可能性が考えられる。

まとめ

本研究では、運動習慣のない健康な若年男性 14 名に、肘関節屈筋群の伸張性運動前後にクルクミンを摂取させ、筋損傷の指標（MVC、ROM、CIR、筋痛）、および血中筋損傷指標（CK）を測定してクルクミンが筋損傷に与える影響を評価した。

伸張性運動により、MVC、ROM は有意に低下し、CIR、筋痛、CK は有意に増加した。すなわち、本研究プロトコールにより、筋損傷が生じたと考えられる。さらに、運動前後にクルクミンを摂取することにより、MVC の低下は有意に抑制され、CK の増加は抑制された。これらのことから、クルクミン摂取により筋損傷が一部軽減され、回復が促進される可能性が示唆された。

第5章 研究課題2：筋損傷の軽減に効果的なクルクミン摂取タイ

ミングの検討

第1節 目的

本研究課題では、クルクミン摂取のタイミング（運動前あるいは運動後）の違いが、筋損傷の軽減および筋損傷からの回復に及ぼす影響を検討することを目的とした。

第2節 方法

1) 被験者

運動習慣がなく、喫煙や服薬習慣のない健康な成人男性24名を対象とした。被験者には、あらかじめ実験の趣旨、ならびに実験遂行に伴う危険性について説明を行うとともに、参加同意の署名を得た。なお、本研究は国立スポーツ科学センター倫理委員会の承認を受けて実施した。

2) 実験手順

本研究は3群の単盲検パラレルデザイン試験にて行った。24名の対象者を無作為に3群に割り付け、運動前に7日間クルクミンを摂取する群（PRE; n = 8, 年齢; 28.8 ± 3.6 歳, 身長; 170.8 ± 4.9 cm, 体重; 65.2 ± 11.0 kg, 体脂肪率; 18.0 ± 5.0 %）、運動後に4日間クルクミンを摂取する群（POST; n = 8, 年齢 29.8 ± 3.4 歳, 身長 173.2 ± 5.6 cm, 体重 71.2 ± 5.6 kg、体脂肪率 19.2 ± 5.3 %）、対照条件としてプラセボを摂取するコントロール群（CON; n = 8, 年齢 28.0 ± 3.2 歳, 身長 173.2 ± 2.7 cm, 体重 65.7 ± 5.9 kg、体脂肪率 19.7 ± 4.8 %）とした。1回あたりのクルクミンあるいはプラセボ摂取量は90 mg とし、朝晩2回摂取させた (Fig. 21)。Evans et al. (2002)、研究課題1に基づいて、筋損傷を誘発させる運動として肘関節屈筋群における伸張性運動を行わせた。各試行の運動前、運動直後、および運動1~4日後において筋損傷指標を評価した。筋損傷の指標として、MVC、自覚的筋痛 (VASにて評価)、ROM、

血中 CK 活性を測定した。

実験を行う 3 日前から実験期間中において、激しい運動やアルコール摂取、および測定に影響のある服薬、サプリメント摂取は控えるように指示した。

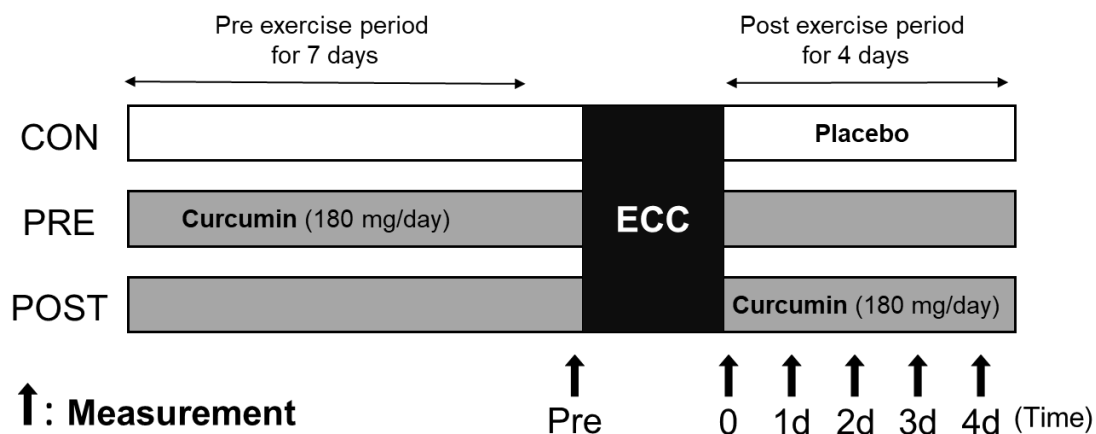


Fig. 21. 実験プロトコール

3) クルクミン摂取

本研究で摂取させたクルクミンは、研究課題 1 で使用したものと同一のものを用いた。1 回あたりの摂取量をセラクルミン 90 mg (クルクミン: 90 mg×1 カプセル) とし、対照条件にはプラセボ (乳糖) を用いた。カプセルの成分がクルクミンかプラセボか分からないよう同じ色・形のカプセルに充填して、被験者に摂取させた。クルクミンおよびプラセボは、PRE 群では運動前 7 日間、POST 群では運動後 4 日間、CON 群では運動後 4 日間、経口にて摂取を行った。PRE 群では、クルクミン摂取の急性効果を避けるため運動負荷 24 時間前までにクルクミンを摂取するよう指示した。クルクミンは朝晩食後の 2 回摂取とし、1 日当たり 180 mg を摂取させた。これは EFSA (European Food Safety Authority) のデータベースを基に、クルクミンの ADI が 3 mg/kg/day であることから、健常成人の体重を 60 kg と仮定した際の摂取量として決定した (European Food Safety Authority. 2014)。

4) 運動負荷

運動負荷は、Evans et al. (2002) と研究課題 1 に基づき、等速性筋力器 (BIODEX System 4; Biodex Medical Systems, Inc., Shirley, NY, USA) を用いて行なった。肘関節屈筋群の伸張性運動 (最大努力で 30 回、 $120^{\circ}/\text{秒}$) とし、この運動前、運動直後、および 1~4 日後に筋損傷指標を測定した。運動側は利き手と非利き手どちらか一側とし、各群において均等になるようカウンターバランスをとり行なった。

運動負荷当日は、運動前の採血、ROM、自覚的筋痛 (評価は VAS)、MVC を測定した。続いて、被験者を等速性筋力器に座らせて身体および手首を固定した (Fig. 22)。肘関節の角度規定については、肘関節伸展角度 0° の肢位を 180° と規定した。運動範囲については 180° 範囲中の 50° から 170° とした (Fig. 22)。上腕の肢位は、被験者の前額面に対して肩関節の屈曲位 45° になるように設定した。対象は、軽い力で 5 回の練習を行い、ダイナモメーターの設定した角速度やタイミングに慣れさせた。次に、伸張性収縮の局面において、被験者に最大努力で運動を行わせた。そして、ダイナモメーターによって 12 秒間かけて受動的に元の肢位に戻した。この動作を 30 回繰り返した。また、運動中に検者は被験者が最大努力で運動ができるように声かけを行った。

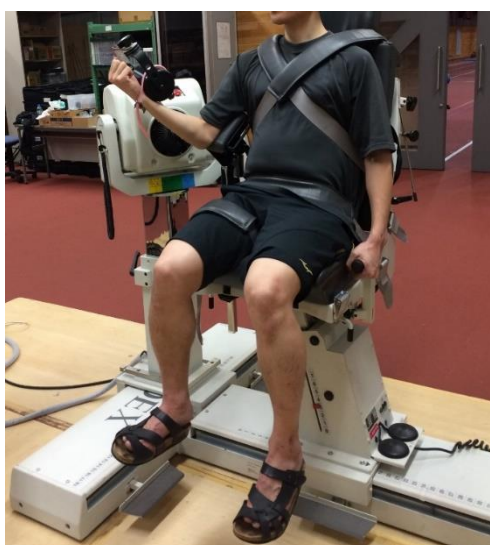


Fig. 22. 運動負荷中の姿勢

5) 測定項目および測定方法

それぞれの測定は、以下の手順で行った。

運動前: 採血→VAS 記入→ROM 測定→MVC 測定

運動直後: MVC 測定→ROM 測定→VAS 記入→採血

測定項目と測定ポイントは Fig. 21 (p. 54) に示す。

① 最大筋力: Maximal Voluntary Contraction (MVC) torque

MVC は、筋力計 (VTE-002; VINE, Tokyo, Japan) を用いて、肘関節屈曲動作における等尺性最大筋力を測定した。被験者は椅子に座り、肩関節および肘関節 90°屈曲位、掌が被験者側に向くようにして手首をベルトで固定した (Fig. 23)。運動肢の肘関節屈曲動作における 5 秒間の等尺性最大筋力発揮を行った。得られたデータは A/D 変換 (PowerLab/16SP; ADInstruments, Castle Hill, Australia) を用いて A/D 変換し、100Hz でパーソナルコンピュータに取り込んだ。取り込んだデータはソフトウェア (LabChart, version 7.2.5; ADInstruments, Dunedin, New Zealand) を用いて分析した。30 秒のインターバルを挟んで 3 回測定を行い、その中から最大値を MVC として採用した。



Fig. 23. MVC 測定中の姿勢

②自覚的筋痛

研究課題 1 と同様な方法で測定を行った。なお、主観的筋痛は、①触診時、②伸展時の 2 種類を評価した。①触診時圧痛は、検者が被験者の主働筋（上腕屈筋群）の、肩峰と外側上顆間遠位 60 %部位を 3 秒間触診した時の痛みを主観的に評価させた。また、②伸展時痛については、立位の被験者に対し、検者により受動的に肘関節を伸展させた時の痛みを主観的に評価させた。

③肘関節可動域: Range of Motion (ROM)

研究課題 1 と同様な方法で測定を行った。

④血中筋損傷マーカー (CK)

肘窩部の静脈より採血を行った。シリコン採血管に採取した血液は、血冷却遠心分離 (4°C、3000 rpm、15 分) にて、血清を分離した。分離した血清は、測定まで -80 °C の冷凍庫で凍結保存した。CK は Iatro LQ CKJ II (LSI Medience Corporation, Tokyo, Japan) を用いて測定を行った。

⑤血漿クルクミン濃度

研究課題 1 と同様な方法で分析を行った。

6) 統計処理

運動前の全ての項目値において、3 群間で対応のない 1 元配置分散分析を行った。また、全ての項目で、経時的变化およびサプリメント摂取条件の違いについて、繰り返しのある対応のない二元配置分散分析を行った。交互作用および主効果において有意差が認められた場合、下位検定として Tukey's test を行った。なお、全ての統計処理において有意水準は 5 % 未満とした。データは全て、平均値 ± 標準偏差 (SD) で示した。

第3節 結果

1) 血漿クルクミン濃度

本研究では、PRE 群では運動負荷前 7 日間、POST 群では運動負荷後 4 日間、クルクミンを、CON 群では運動負荷後 4 日間プラセボを摂取させた。運動前と運動後 4 日間の各測定ポイントにおける血漿クルクミン濃度の変化を Fig. 24 に示す。

CON 群の全測定ポイントにおいて、血中にクルクミンはほぼ検出されなかった。また、POST 群の運動前における血漿クルクミン濃度はほぼ検出されなかったが、運動後 1~4 日後においては運動前に比べて有意な上昇を示した。一方 PRE 群では、運動前における血中クルクミン濃度は 42.70 ng/mL であり、その後 1~4 日後において運動前と比較して有意に減少した。

また、運動前では CON 群および POST 群と比べて PRE 群で有意に高値を示したが、運動 1~4 日後においては、CON 群および PRE 群と比べて POST 群で有意に高値を示した。

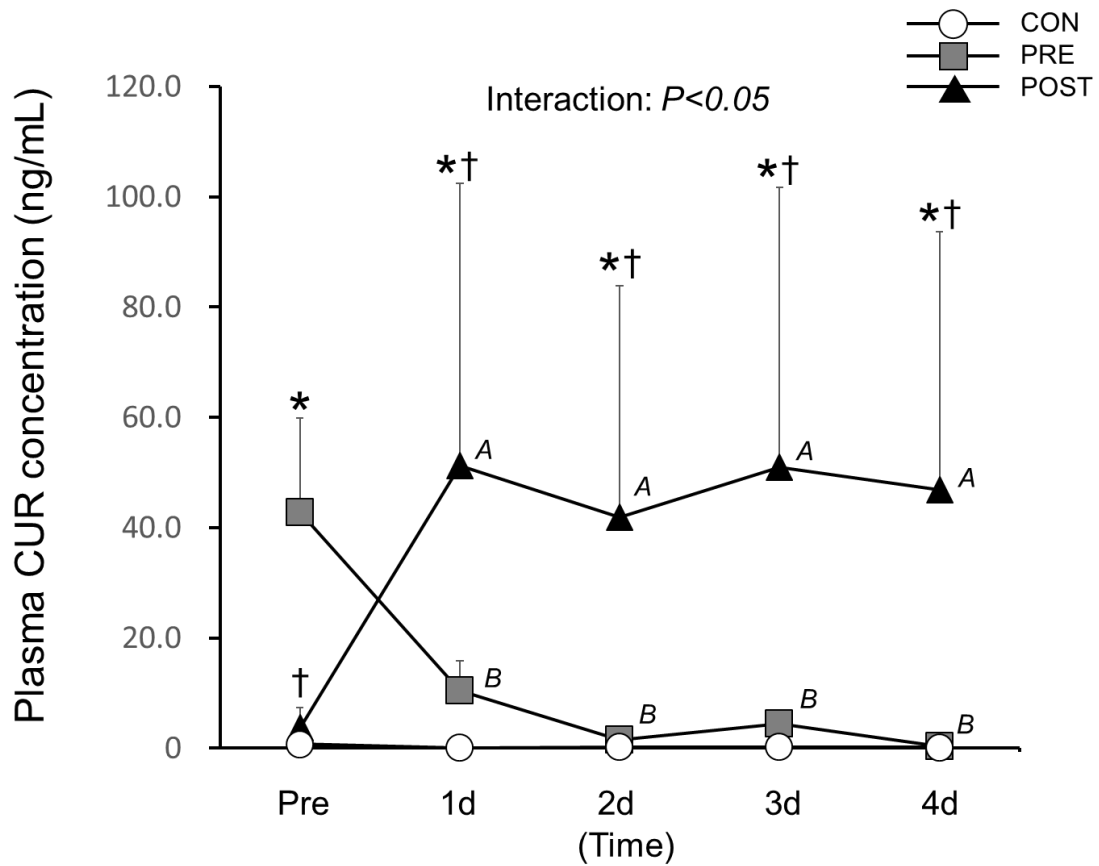


Fig. 24. 運動前および運動 1~4 日後における
血漿クルクミン濃度の変化

CUR, curcumin; *CON*, group that ingested placebo; *PRE*, group that ingested curcumin pre-exercise; *POST*, group that ingested curcumin post-exercise

Values are means \pm SD (n = 8 for each group)

A, <0.05 vs. Pre in the POST; B, <0.05 vs. Pre in the PRE

* P < 0.05 vs. CON; † P < 0.05 vs. PRE

2) 筋損傷指標 (MVC、筋痛、ROM)

①最大筋力 (MVC)

運動前と運動後4日間の各測定ポイントにおける MVC の経時的变化を Fig. 25 に示す。運動前の値において、3 群間で有意な差は認められなかった。それぞれの群において、運動前の値に対し、運動直後以降の全測定ポイントにて有意な MVC の減少が認められた。しかしながら、3 群間における有意な差は認められなかった。

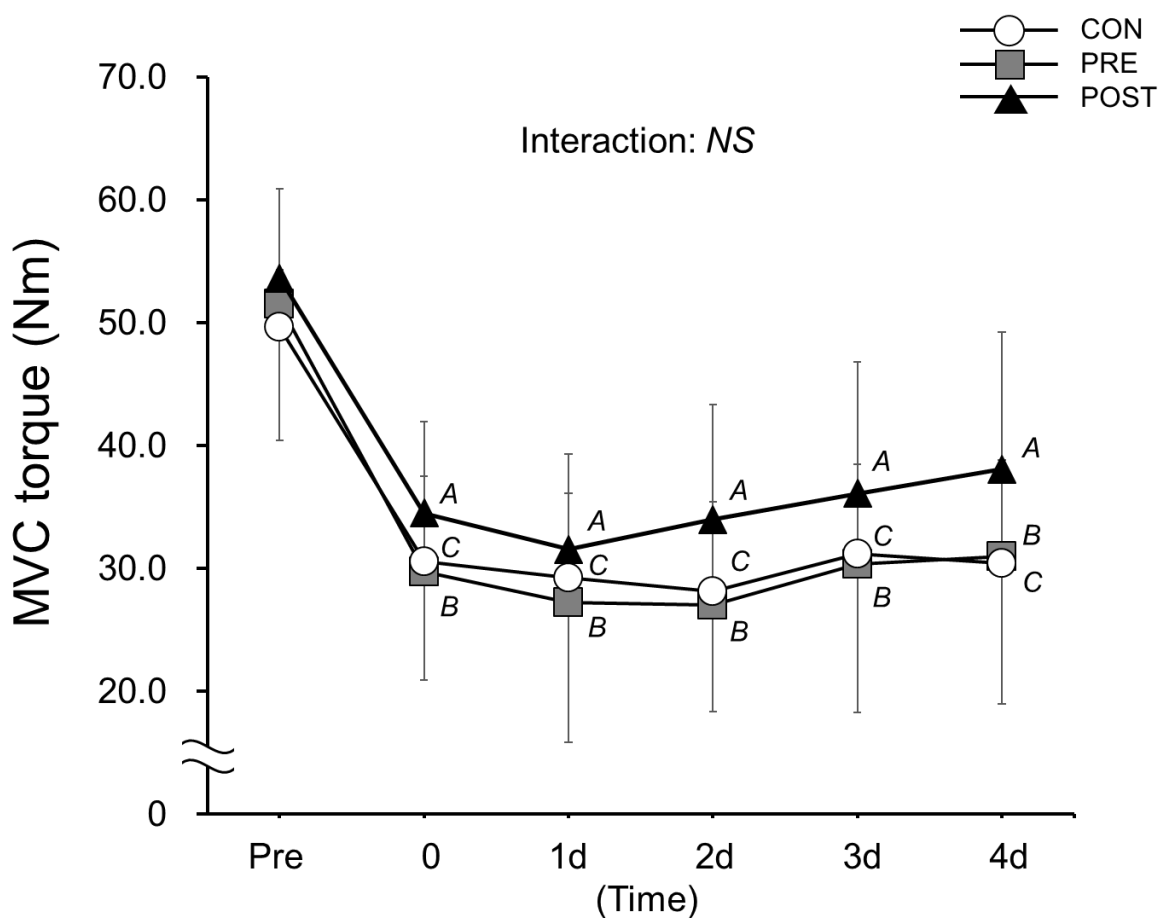


Fig. 25. 運動前、運動直後、および運動1~4日後における MVC の変化

CON, group that ingested placebo; PRE, group that ingested curcumin pre-exercise; POST, group that ingested curcumin post-exercise

Values are means ± SD (n = 8 for each group)

A, <0.05 vs. Pre in the POST; B, <0.05 vs. Pre in the PRE; C, <0.05 vs. Pre in the CON

NS, no significant interaction effect

②自覚的筋痛

運動前と運動後4日間の各測定ポイントにおけるVASの経時的变化をFig. 26 (a: 触診時痛、b: 伸展時痛)に示す。それぞれ評価法の運動前の値において、3群間で有意な差は認められなかった。各群の運動2~3日後においてVASのピーク値が認められた。また、触診時および伸展時のすべての群において運動前の値に対し、運動1~4日後の各測定ポイントにおいて有意なVASの増加が認められた。

触診時における筋痛は、交互作用が認められ、POST群における運動3日後のVASは、CON群およびPRE群と比較して有意に低値を示した。

伸展時における筋痛は、交互作用が認められなかった。各群間に統計学的な有意差は認められなかったが、クルクミンを運動後に摂取した群において運動4日後に、筋痛を軽減する傾向が認められた ($p = 0.054$)。

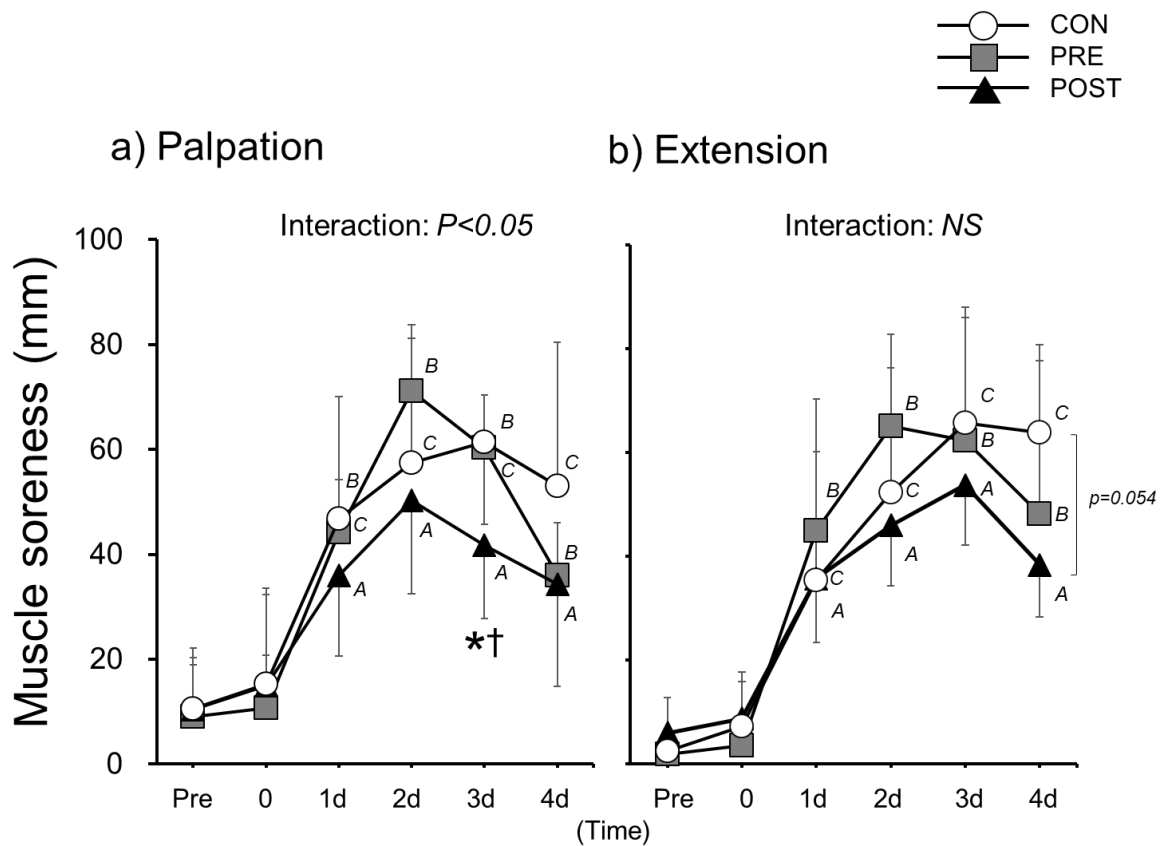


Fig. 26. 運動前、運動直後、および運動1~4日後におけるVASの変化

a) Palpation of the upper arm

b) Extension of the elbow joint

VAS, visual analogue scale (range: 0, no pain; 100, extremely sore); CON, group that ingested placebo;

PRE, group that ingested curcumin pre-exercise; POST, group that ingested curcumin post-exercise

Values are means \pm SD (n = 8 for each group)

A, < 0.05 vs. Pre in the POST; B, < 0.05 vs. Pre in the PRE; C, < 0.05 vs. Pre in the CON

* $P < 0.05$ vs. CON; † $P < 0.05$ vs. PRE; NS, no significant interaction effect

③肘関節可動域 (ROM)

運動前と運動後4日間の各測定ポイントにおけるROMの経時的变化をFig. 27に示す。

運動前の値において、3群間で有意な差は認められなかった。それぞれの群において、運動前の値に対し、運動直後以降の全測定ポイントにて有意なROMの減少が認められた。

ROMの変化には交互作用が認められ、3群間における各測定ポイントの多重比較分析を行ったところ、運動3~4日後におけるROMの低下はプラセボを摂取したCON群と比べて、クルクミン摂取運動後に摂取したPOST群が有意に小さかった。

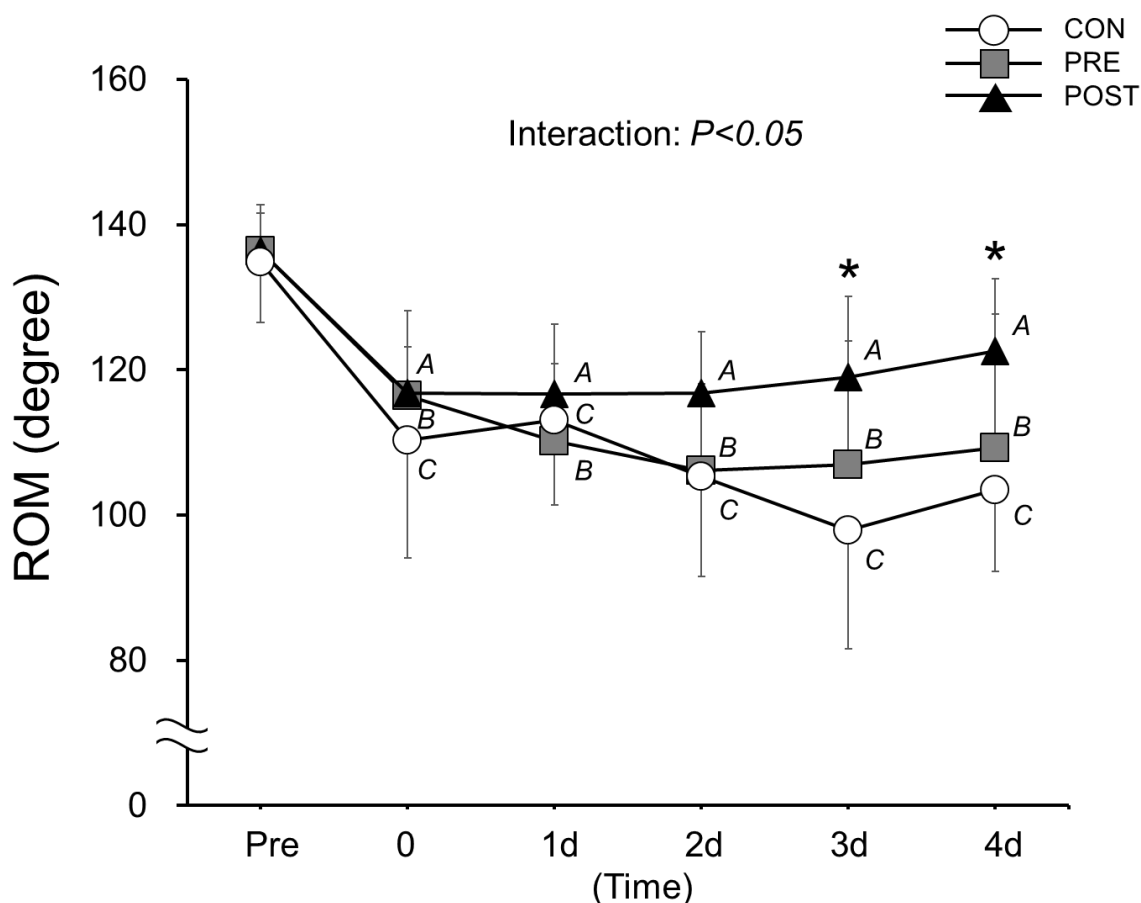


Fig. 27. 運動前、運動直後、運動1~4日後におけるROMの変化

CON, group that ingested placebo; PRE, group that ingested curcumin pre-exercise; POST, group that ingested curcumin post-exercise

Values are means \pm SD (n = 8 for each group)

A, <0.05 vs. Pre in the POST; B, <0.05 vs. Pre in the PRE; C, <0.05 vs. Pre in the CON

* $P < 0.05$ vs. CON

3) 血中筋損傷指標 (CK)

運動前と運動後4日間の各測定ポイントにおける血中CK活性の経時的変化を Fig. 28 に示す。運動前の値において、各条件間で有意な差は認められなかった。血中CK活性のピーク値は、全ての群において運動4日後に認められた。運動前の値に対し、CON群では運動4日後に、PRE群およびPOST群では運動3~4日後において、有意な血中CK活性の増加が認められた。しかしながら、血中CK活性は交互作用が認められず、各条件間において統計学的な有意差は認められなかった。

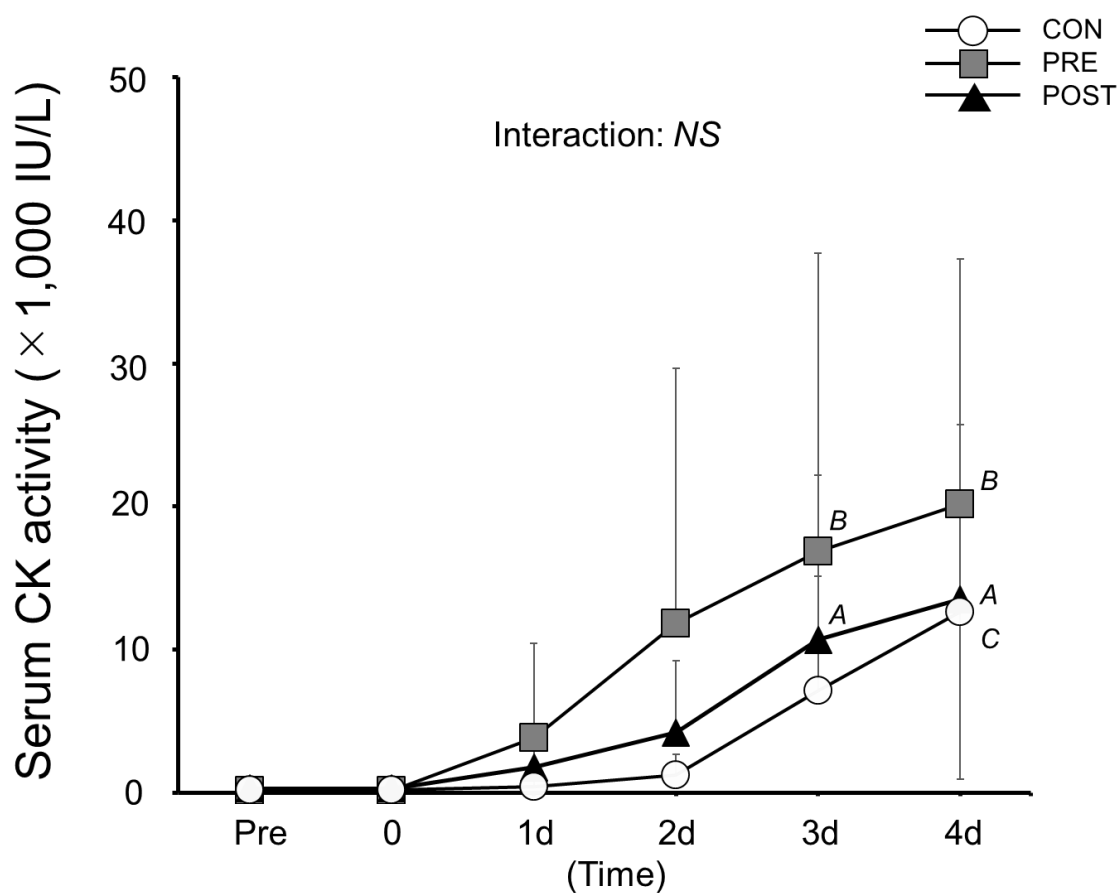


Fig. 28. 運動前、運動直後、運動1~4日後における血中CK活性の変化

CON, group that ingested placebo; PRE, group that ingested curcumin pre-exercise; POST, group that ingested curcumin post-exercise

Values are means \pm SD (n = 8 for each group)

A, <0.05 vs. Pre in the POST; b, <0.05 vs. Pre in the PRE; C, <0.05 vs. Pre in the CON

NS, no significant interaction effect

第4節 考察

本研究では、筋損傷の軽減及び回復促進のために効果的なクルクミン摂取のタイミングを検証するために、運動前か運動後かのクルクミン摂取が一過性の伸張性運動後に生じる筋損傷に与える影響を検討した。

本研究の結果、クルクミンを運動後に摂取することにより、伸張性運動後のROMの低下を有意に軽減し、筋痛の増加を有意に抑制することが明らかになった。すなわち、筋損傷からの回復を促進するためには、運動後にクルクミンを摂取することが効果的である可能性が示唆された。

クルクミン摂取タイミングの違いがROMおよび筋痛に与える影響

本研究では筋損傷の指標として、肘関節のROMとVASを用いた筋痛を評価した。運動前にクルクミンを摂取した群ではROM、筋痛ともにCON群と比較して、差は認められなかった。一方で、運動後にクルクミンを摂取した群では、運動3日後～4日後においてROMの低下が有意に軽減されることが示された。また、運動3日後に筋痛の増加が有意に抑制され、運動4日後に抑制される傾向にあることが認められた。

先行研究において、クルクミンは、NF- κ B活性を抑制することにより発痛増強物質であるPG (Clutterbuck et al. 2013)、その律速酵素であるCOXの産生を抑制する (Kang et al. 2004) ことが報告されている。また、発痛物質であるヒスタミンの産生を抑制する作用があることも報告されている (Nugroho et al. 2009)。加えて、クルクミンは、侵害受容器の脱感作や一過性受容体電位イオンチャンネルを介した疼痛性刺激の抑制と関連していることも報告されている (Leamy et al. 2011; Yeon et al. 2010)。これらのことから、運動後にクルクミンを摂取すると発痛物質の産生の減少や痛覚の低下から、筋痛が抑制された可能性が考えられる。一方で、本研究で評価したROMと、筋痛が有意に軽減されたポイントが一致することから、運動後にクルクミンを摂取することにより、筋痛の発生に伴い制限された可動域が改

善した可能性が考えられる。

クルクミン摂取タイミングの違いがMVC および血中CK 活性に与える影響

本研究で測定した MVC および血中 CK 活性は運動前後で有意に変化したが、クルクミン摂取タイミングの異なる 3 群間に有意な差は認められなかった。

MVC は筋損傷指標の中でも筋損傷の程度を最も反映すると言われている (Warren et al. 1999)。先行研究によると、クルクミンは NF- κ B の活性を抑制することにより損傷した筋線維の再生を促進する作用があることが報告されている (Thaloor et al. 1999)。さらにクルクミンは NF- κ B の活性を抑制し、筋力の低下を抑え、筋再生を促進する効果があることが知られている (Mourkioti et al. 2009)。さらに、上腕における伸張性運動による筋損傷からの筋再生は、運動後 3 日目から始まるともいわれる (Jones et al. 1986)。本研究は、筋損傷からの回復期間のフォローアップが 4 日間であった。そのため、クルクミン摂取による筋損傷への効果を見出すには期間が十分ではなかった可能性が考えられる。

一方で、血中 CK 活性もまた筋損傷を反映する血中の指標としてしばしば用いられている。しかし、運動後の血中 CK 活性の変化には個人差が大きいことが知られており、その原因として、先天的な遺伝の影響 (Heled et al. 2007; Vincent et al. 2010) や、後天的な要因である過去のトレーニング歴 (Chen. 2006) による影響を受けることが報告されている。このような影響から、運動後の血中 CK 活性についてはハイレスポンダーとローレスポンダーを定義して区別している報告も存在する (Chen. 2006)。本研究では、被験者の異なる独立した 3 群を設定して実験を行った。そのため、血中 CK 活性の個人のばらつきが大きく、特に運動前クルクミン摂取群には血中 CK 活性が 50,000 IU/L 以上に上昇した被験者が一人いた。血中 CK 活性を用いて筋損傷の程度を評価する際には、同一被験者で比較するのが望ましいと考えられる。

まとめ

本研究は、健康な成人男性 24 名に、肘関節屈筋群の一過性の伸張性運動を負荷し、筋損傷を誘発した。クルクミンの摂取タイミングの異なる 2 群（運動前あるいは運動後）と、プラセボを摂取するコントロール群の計 3 群を設定し、クルクミン摂取のタイミングの違いが筋損傷指標（MVC、ROM、筋痛、血中 CK 活性）に与える影響を異なる被験者間で比較し、筋損傷に効果的なクルクミン摂取タイミングを検討した。

クルクミンを運動後に摂取すると、運動 3~4 日後の筋痛の増加や ROM の低下は有意に抑制された。一方で、クルクミンを運動前に摂取すると、筋損傷指標の変化に影響を及ぼさなかった。これらの結果より、クルクミンを事前に摂取しても筋損傷に対する保護効果は極めて小さく、クルクミンを運動後に摂取することが筋痛の軽減や ROM の回復に効果的である可能性が示唆された。

第6章 研究課題3：運動前・運動後のクルクミン摂取が筋損傷および炎症反応に及ぼす影響

第1節 目的

本研究課題では、運動前あるいは運動後クルクミン摂取が伸張性運動後の筋損傷及び炎症反応に及ぼす影響を検討することを目的とした。

第2節 方法

1) 被験者

運動習慣がなく喫煙や服薬習慣のない健康な成人男性 20 名を対象とした。被験者には、あらかじめ実験の趣旨、ならびに実験遂行に伴う危険性について説明を行うとともに、参加同意の署名を得た。なお、本研究は国立スポーツ科学センター倫理委員会の承認を受けて実施した。

2) 実験手順

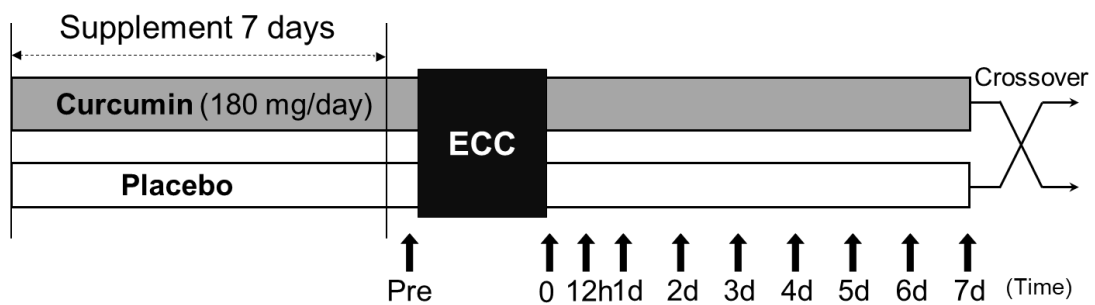
本研究は被験者をクルクミンの摂取条件が異なる 2 群に分け、それぞれの試験において二重盲検クロスオーバー試験にて行った。20 名の対象者を無作為に 2 群に割り付け、運動前に 7 日間クルクミンを摂取する実験 1 (Exp. 1; $n = 10$, 年齢; 28.5 ± 3.4 歳, 身長; 170.8 ± 5.0 cm, 体重; 64.9 ± 10.1 kg, 体脂肪率; 18.3 ± 4.4 %)、運動後に 7 日間クルクミンを摂取する実験 2 (Exp.2; $n = 10$, 29.0 ± 3.9 yrs, 172.6 ± 5.1 cm, 70.7 ± 5.8 kg, 20.0 ± 5.6 %) を実施した。

1 回あたりのクルクミンあるいはプラセボ摂取量は 90 mg とし、朝晩 2 回摂取させた (Fig. 29)。Evans et al. (2002)、研究課題 1 および 2 に基づいて、筋損傷を誘発させる運動として肘関節屈筋群における伸張性運動を行わせた。各試行の運動前、運動直後、および運動 1～7 日後において筋損傷指標を評価した。筋損傷の指標として、MVC、自覚的筋痛 (VAS にて評価)、ROM、 T_2 、血中 CK 活性を測定した。また、運動前、運動直後、運動 12 時間後、運

動1、3、5、および7日後において血中炎症指標として、IL-8、TNF- α を、血中酸化ストレス指標として、d-ROMs、BAPを評価した。

実験を行う3日前から実験期間中において、激しい運動やアルコール摂取、および測定に影響のある服薬、サプリメント摂取は控えるように指示した。

Exp. 1



Exp. 2

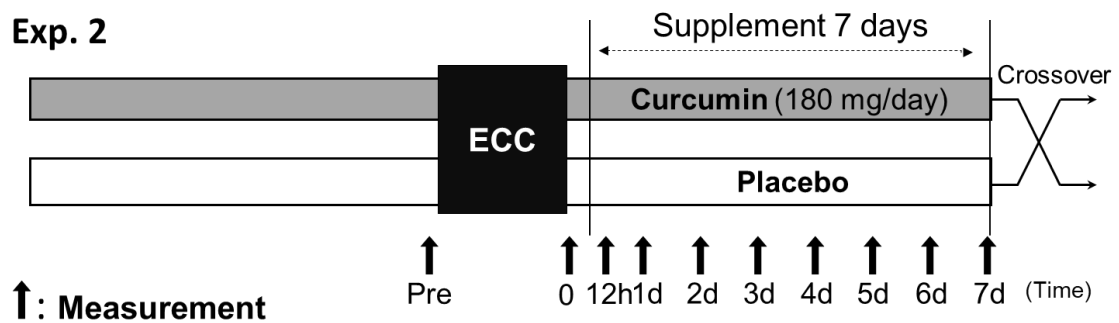


Fig. 29. 実験プロトコール

3) クルクミン摂取

本研究で摂取させたクルクミンは、研究課題 1 および研究課題 2 で使用したのと同じものを用いた。1 回あたりの摂取量をセラクルミン 90 mg (クルクミン: 90 mg×1 カプセル) とし、対照条件にはプラセボ (乳糖) を用いた。プラセボとクルクミンは同じ色・形のカプセルに充填されており、被験者・験者ともに、見た目ではカプセルの成分がクルクミンかプラセボか分からないようにして実験を行った。クルクミンおよびプラセボは、Exp. 1 では運動前 7 日間、Exp. 2 では運動後 7 日間、経口にて摂取を行った。Exp. 1 のクルクミン摂取条件では、クルクミン摂取の急性効果を避けるため運動負荷 24 時間前までにクルクミンを摂取するよう指示した。クルクミンは朝晩食後の 2 回摂取とし、1 日当たり 180 mg を摂取させた。これは EFSA のデータベースを基に、クルクミンの ADI が 3 mg/kg/day であることから、健常成人の体重を 60 kg と仮定した際の摂取量として決定した (European Food Safety Authority. 2014)。

4) 運動負荷

運動負荷は、Evans et al. (2002) と研究課題 1 および 2 に基づき、等速性筋力器(BIODEX System 4; Biodex Medical Systems, Inc., Shirley, NY, USA)を用いて行なった。肘関節屈筋群の伸張性運動 (最大努力で 30 回、120°/秒) とし、この運動前、運動直後、および運動 1~7 日後に筋損傷マーカーを測定した。

2 試行目における運動負荷は、1 試行目における運動負荷の影響を少なくするため、1 試行目の腕と反対側を用いるものとした。さらに、各被験者における摂取物の順番と運動を行う腕の選定は、ランダム化して行った。各群において組み合わせ条件が均等になるようカウンターバランスをとり行った。

運動負荷当日は、運動前の T₂、採血、ROM、自覚的筋痛 (評価は VAS)、MVC を測定した。続いて、被験者を等速性筋力器に座らせて身体および手首を固定した (Fig. 22)。肘関節の角度規定については、肘関節伸展角度 0°の肢位を 180°と規定した。運動範囲について

は 180°範囲中の 50°から 170°とした (Fig. 22)。上腕の肢位は、被験者の前額面に対して肩関節の屈曲位 45°になるように設定した。対象は、軽い力で 5 回の練習を行い、ダイナモメーターの移動する速度やタイミングに慣れさせた。次に、伸張性収縮の局面において、対象に最大努力で運動を行わせた。そして、ダイナモメーターによって 12 秒間かけて受動的に元の肢位に戻した。この動作を 30 回繰り返した。また、運動中に検者は被験者が最大努力で運動ができるように声かけを行った。

5) 測定項目および測定方法

それぞれの測定は、以下の手順で行った。

運動前: T₂ 測定→採血→VAS 記入→ROM 測定→MVC 測定

運動後: T₂ 測定→MVC 測定→ROM 測定→VAS 記入→採血

測定項目と測定ポイントは Fig. 29 (p. 70) に示す。

①最大筋力: Maximal Voluntary Contraction (MVC) torque

研究課題 2 と同様な方法で測定を行った。

②自覚的筋痛

研究課題 1 および 2 と同様な方法で測定を行った。

③肘関節可動域: Range of Motion (ROM)

研究課題 1 および 2 と同様な方法で測定を行った。

④T₂

3T の MRI (MAGNETOM Skyra; Siemens Healthineers, Erlangen, Germany) を用いて上腕の横断画像を撮影した。肩峰と外側上顆間遠位部 60%部位を中心に 13 枚の横断面 (repetition

time, 2000 ms; echo time, 20/30/40/50/60/70 ms; slice thickness, 5 mm; field of view, 200 mm; matrix, 256 × 256; number of excitations, 1) を撮影した (Fig. 30)。得られた画像は、脂肪を含まないように関心領域 (ROI; 27 mm²) を設定し、上腕筋 (表層・深層) および上腕二頭筋 (長頭・短頭) における 12 個 (3 個/部位 × 4 部位) の ROI の T₂ を測定し、平均を算出して代表値とした (Fig. 31)。検者内信頼性を示す級内相関 (ICC) は 0.97 であった。

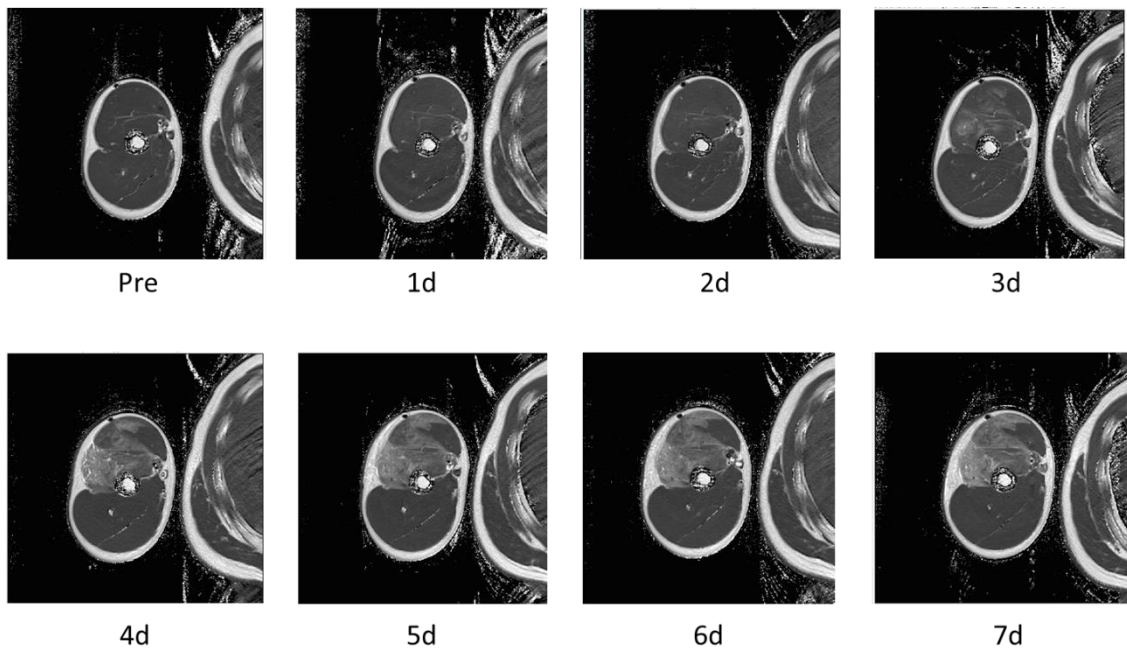


Fig. 30. 同一被験者における運動前・運動後 7 日間の T₂ 変化例

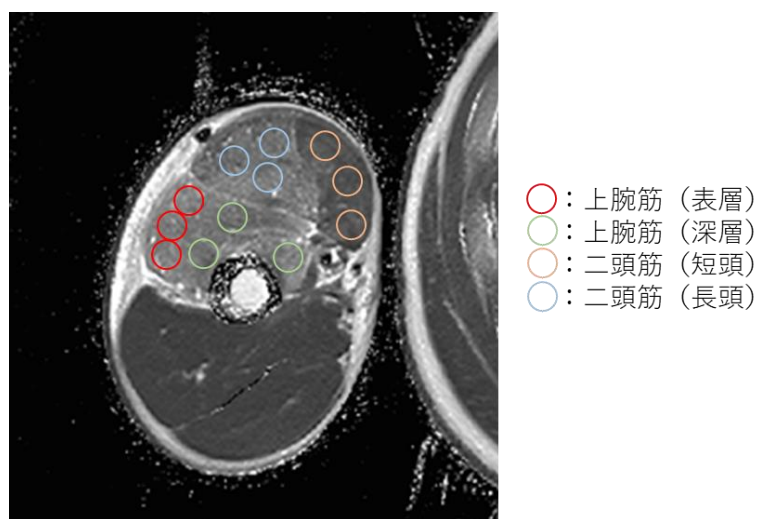


Fig. 31. ROI 設定例

⑤血中筋損傷マーカー (CK)

研究課題 2 と同様な方法で分析を行った。

⑥血中炎症マーカー (IL-8、TNF- α)

IL-8 および TNF- α は、抗凝固剤として EDTA-2Na が入った真空採血管にて肘窩部の静脈より採血し、直ちに転倒混和した後、速やかに冷却遠心分離 (4°C、3000 rpm、15 分) にて、血漿を分離した。分離した血漿は、測定まで -80°C の冷凍庫で凍結保存した。測定は、R&D System 社製の Quantikine を用いて、高感度サンドイッチ ELISA 法にて行った。なお、これら炎症マーカー (IL-8、TNF- α) は風邪やアレルギーによる影響を受けるため、これらの評価は実験期間中に風邪症状の無かった 8 名を対象とした。

⑦血中酸化ストレスマーカー (d-ROMs、BAP)

d-ROMs および BAP は、シリコン採血管に採血した。肘窩部の静脈より採血した血液は、血冷却遠心分離 (4°C、3000 rpm、15 分) にて、血清を分離した。分離した血清は、測定まで -80°C の冷凍庫で凍結保存した。測定は、フリーラジカル解析装置 FREE Carrio Duo (Diacron International SaS, Grosseto, Italy) を用いて行った。なお、これら酸化ストレスマーカー (d-ROMs、BAP) は風邪やアレルギーによる影響を受けるため、これらの評価は実験期間中に風邪症状の無かった 8 名を対象とした (炎症マーカーで除外した人と同一人物を除外)。

⑧血漿クルクミン濃度

研究課題 1 および 2 と同様な方法で分析を行った。

6) 統計処理

筋損傷指標のすべての項目で、経時的変化およびサプリメント摂取条件の違いについて、

2 要因の対応あり二元配置分散分析を行った。血中クルクミン濃度は、2 要因の対応なし二元配置分散分析を行った。その後、交互作用において有意差が認められた場合、下位検定として単純主効果検定と多重比較検定 (Bonferroni) を行った。時間における主効果が認められた場合、下位検定として Tukey's test を行った。なお、全ての統計処理において有意水準は 5 %未満とした。データは全て、平均値 ± 標準偏差 (SD) で示した。

第3節 結果

1) 血漿クルクミン濃度

運動前と運動 1、3、5 および 7 日後の各測定ポイントにおける血漿クルクミン濃度の経時的変化を Fig. 32 に示す。Exp. 1 では、運動前における血中クルクミン濃度は 38.8 ± 17.8 ng/mL であり、その後、運動 1、3、5、および 7 日後において運動前と比較して有意に減少した。一方、Exp. 2 の運動前における血漿クルクミン濃度はほぼ検出されなかった (5.3 ± 6.1 ng/mL) が、その後、運動 1、3、5、および 7 日後においては運動前に比べて有意な上昇を示した。また、運動前では Exp. 2 と比べて Exp. 1 で有意に高値を示し、運動 1、3、5、および 7 日後においては、Exp. 1 と比べて Exp. 2 群で有意に高値を示した。

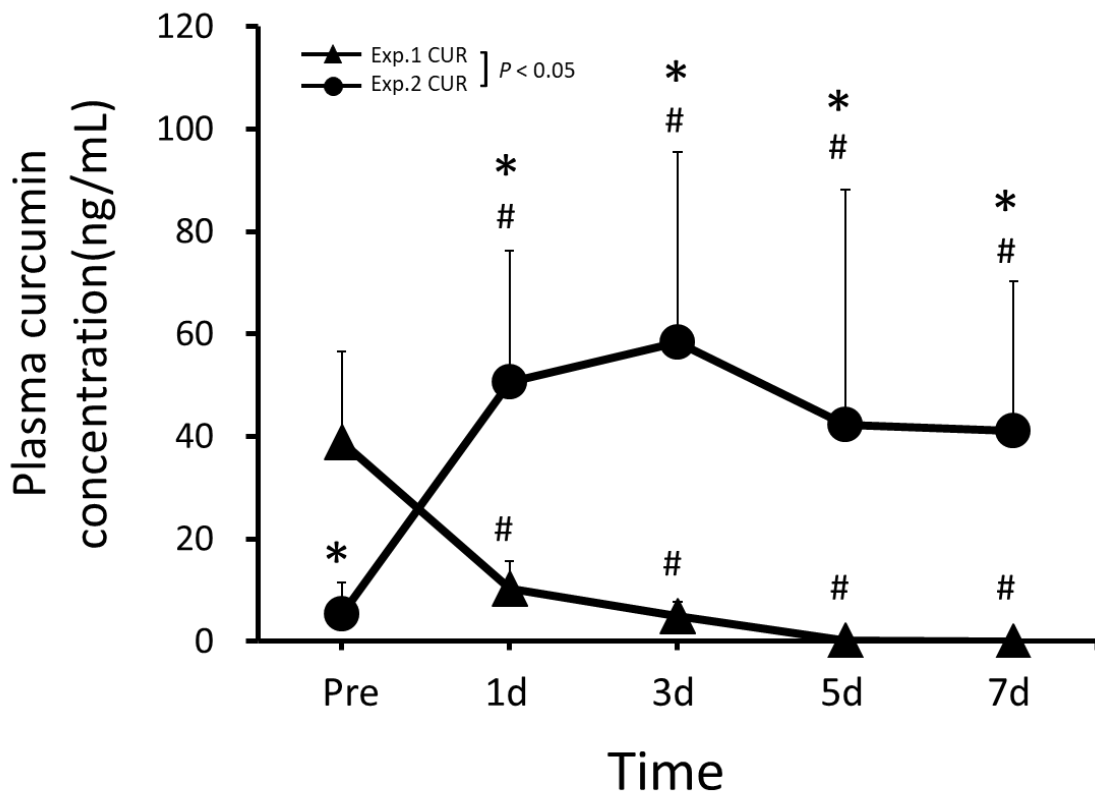


Fig. 32. 運動前、運動 1、3、5、7 日後における血漿クルクミン濃度の変化
CUR, trial that ingested curcumin

$P < 0.05$ vs. Pre; * $P < 0.05$ vs. experiment 1 curcumin; $P < 0.05$: a significant interaction effect

Values are means \pm SD (n = 10 for each group)

2) 筋損傷指標 (MVC、筋痛、ROM、T₂)

① 最大筋力 (MVC)

運動前と運動後 7 日間の各測定ポイントにおける MVC の経時的变化を Fig. 33 に示す。運動前の値において、Exp. 1、Exp. 2 とともに、両条件に有意な差は認められなかった。また、Exp. 1、Exp. 2 とともに、運動前の値に対し運動直後以降の全測定ポイントにて有意な MVC の減少が認められた。

Exp. 1 では MVC の変化に交互作用は認められず、サプリメント条件間において有意な差は認められなかった。一方、Exp. 2 では MVC の変化に交互作用が認められた。運動 3~7 日後の各測定ポイントにおける MVC の低下はプラセボ摂取条件と比べて、クルクミン摂取条件の方が有意に低値を示した (Fig. 33b)。

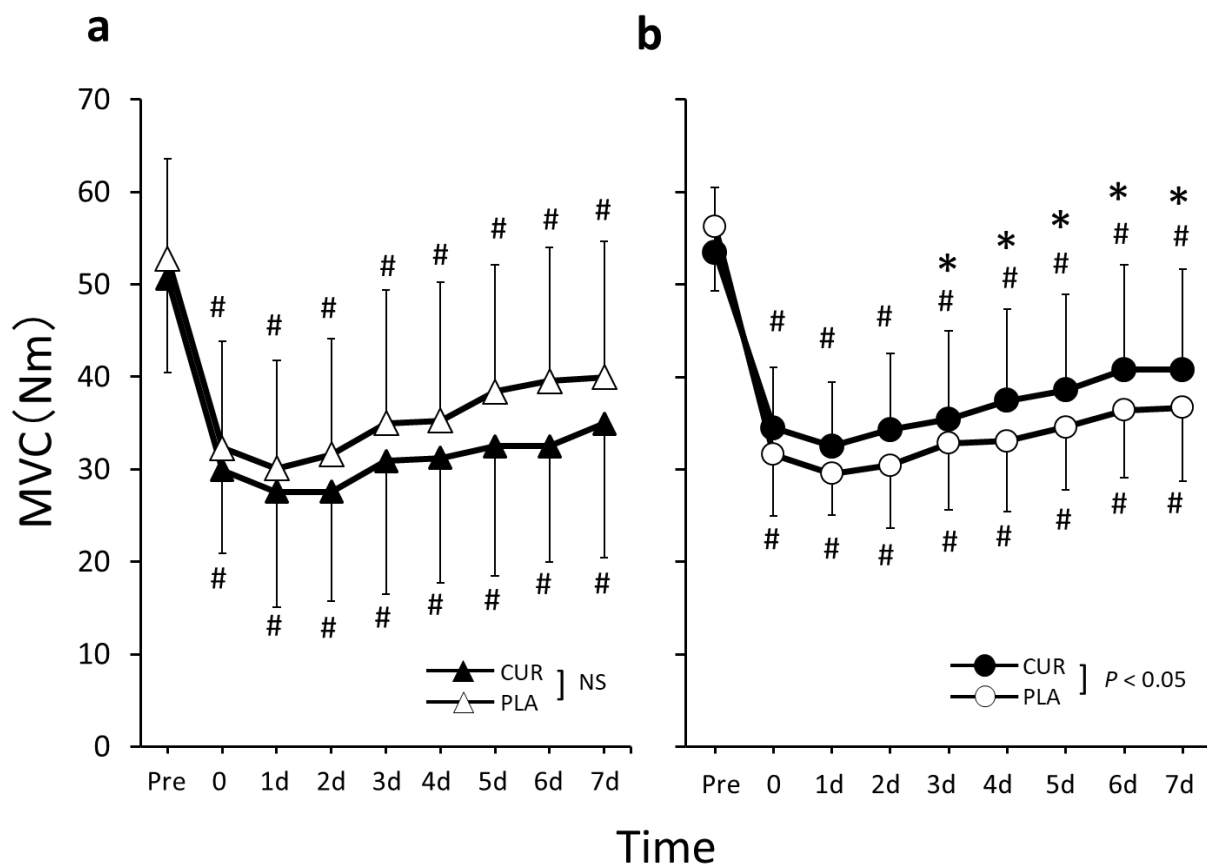


Fig. 33. 運動前、運動直後、および運動 1~7 日後における MVC の変化

a) MVC in the experiment 1

b) MVC in the experiment 2

CUR, trial that ingested curcumin; PLA, trial that ingested placebo;

Values are means \pm SD (n = 10 for each group)

$P < 0.05$ vs. Pre; * $P < 0.05$ vs. placebo; $P < 0.05$: a significant interaction effect;

NS, no significant interaction effect

② 自覚的筋痛

運動前と運動後4日間の各測定ポイントにおける触診時のVASの経時的变化をFig. 34に示す。運動前の値において、Exp. 1、Exp. 2ともに、両条件に有意な差は認められなかった。また、Exp. 1では運動1~4日後に、Exp. 2では運動1~5日後において、運動前の値に対し、有意なVASの増加が認められた。すなわち、一過性の伸張性運動後に筋痛は有意に増加した。各群の運動2~3日後においてVASのピーク値が認められた。

Exp. 1では、VASの変化に交互作用は認められず、サプリメント条件間において有意な差は認められなかった。

一方、Exp. 2では、VASの変化に交互作用が認められた。運動3~6日後の各測定ポイントにおけるVASの増加はプラセボ摂取条件と比べて、クルクミン摂取条件の方が、有意に小さかった(Fig. 34b)。すなわち、運動後のクルクミンの摂取は一過性の伸張性運動による筋痛の増加を有意に抑制させることが示された。

また、肘関節伸展時においても、触診時と同様の結果が認められた。

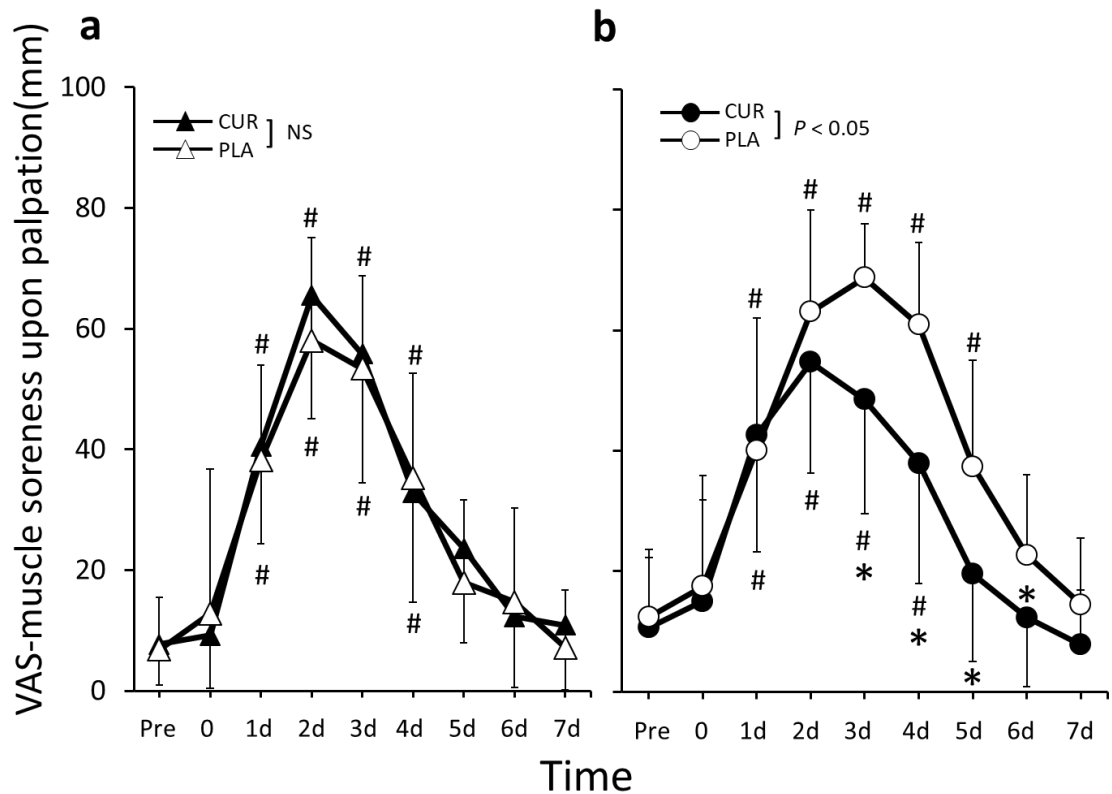


Fig. 34. 運動前、運動直後、および運動1~7日後における触診時のVASの変化

a) Palpation of the upper arm in the experiment 1

b) Palpation of the upper arm the experiment 2

CUR, trial that ingested curcumin; PLA, trial that ingested placebo;

Values are means \pm SD (n = 10 for each group)

$P < 0.05$ vs. Pre; * $P < 0.05$ vs. placebo; $P < 0.05$: a significant interaction effect;

NS, no significant interaction effect

③ 肘関節可動域 (ROM)

運動前と運動後7日間の各測定ポイントにおけるROMの経時的变化をFig. 35に示す。運動前の値において、Exp. 1、Exp. 2ともに、両条件に有意な差は認められなかった。また、Exp. 1、Exp. 2ともに運動前の値に対し運動直後以降にて有意なROMの減少が認められた。

Exp. 1では、ROMの変化に交互作用は認められず、サプリメント条件間において有意な差は認められなかった。一方、Exp. 2では、ROMの変化に交互作用が認められた。運動3～6日後の各測定ポイントにおけるROMの低下はプラセボ摂取条件と比べて、クルクミン摂取条件の方が、有意に低値を示した。

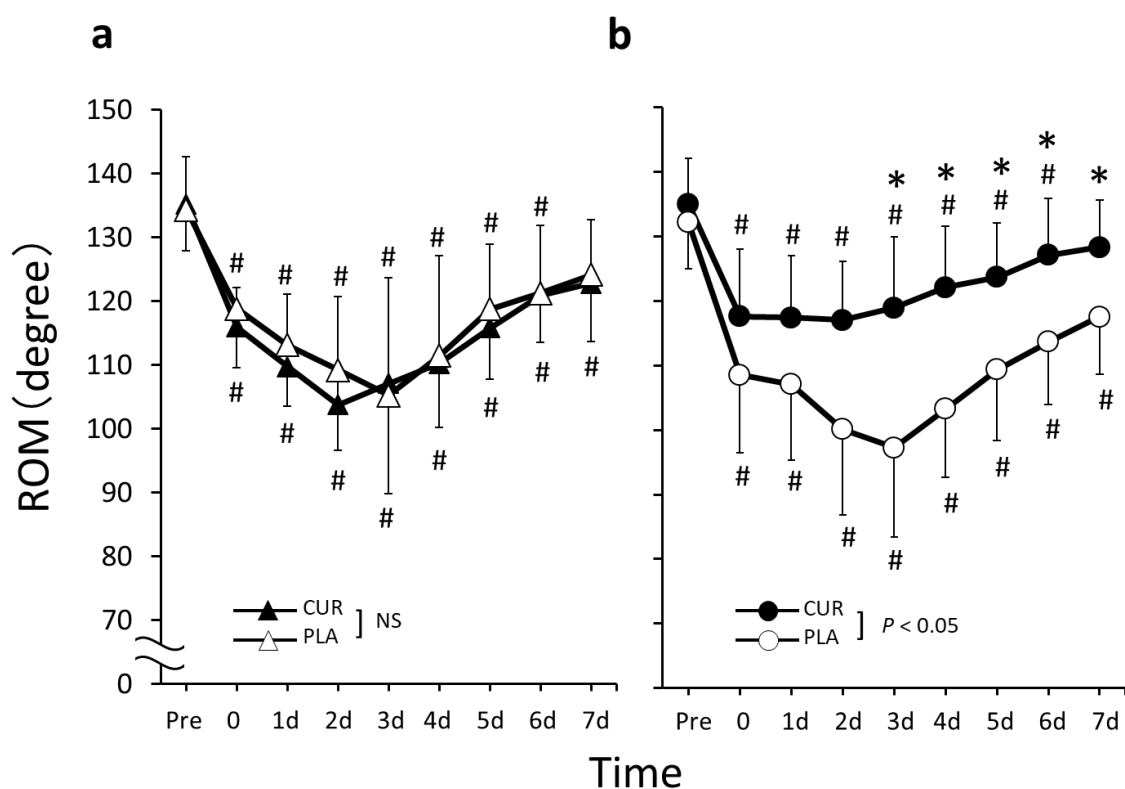


Fig. 35. 運動前、運動直後、運動1～7日後におけるROMの変化

a) ROM in the experiment 1

b) ROM in the experiment 2

CUR, trial that ingested curcumin; PLA, trial that ingested placebo;

Values are means \pm SD (n = 10 for each group)

P < 0.05 vs. Pre; * P < 0.05 vs. placebo; P < 0.05: a significant interaction effect;

NS, no significant interaction effect

④ T₂

運動前と運動後4日間の各測定ポイントにおける T₂ の経時的変化を Fig. 36 に示す。運動前の値において、Exp. 1、Exp. 2 ともに両条件に有意な差は認められなかった。また、Exp. 1、Exp. 2 ともに運動 2~7 日後において、運動前の値に対し有意な T₂ の増加が認められた。

Exp. 1、Exp. 2 ともに VAS の変化に交互作用は認められず、サプリメント条件間において有意な差は認められなかった。Exp. 2 の T₂ ピーク値においては、各条件間に統計学的な有意差は認められなかったが、クルクミンを運動後に摂取した群において、T₂ を軽減する傾向が認められた (p = 0.072)。

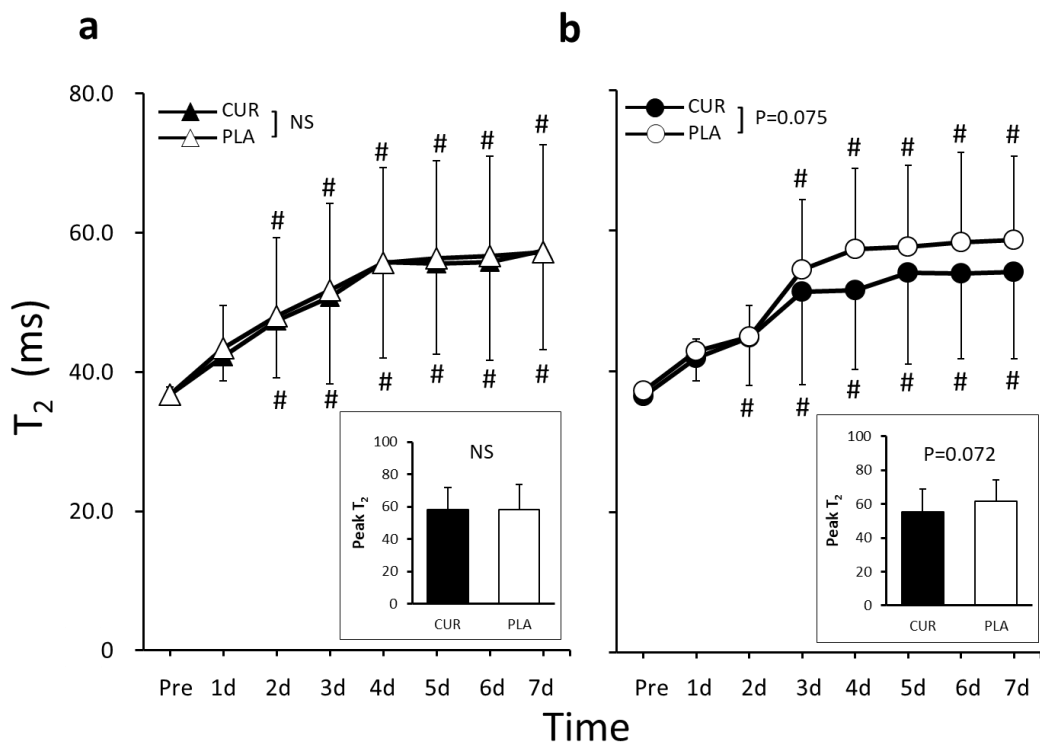


Fig. 36. 運動前、運動直後、運動 1~7 日後における T₂ の変化

a) T₂ in the experiment 1

b) T₂ in the experiment 2

CUR, trial that ingested curcumin; PLA, trial that ingested placebo;

Values are means ± SD (n = 9 for each group)

P < 0.05 vs. Pre; NS, no significant interaction effect

Insets: peak T₂ for the CUR and PLA conditions

3) 血中筋損傷指標 (CK)

運動前と運動後7日間の各測定ポイントにおける血中CK活性の経時的变化を Fig. 37 に示す。運動前の値において、Exp. 1、Exp. 2 ともに両条件に有意な差は認められなかった。また、Exp. 1 では運動3~5日後に、Exp. 2 では運動3~7日後において、運動前の値に対し有意な血中CK活性の増加が認められた。

Exp. 1 では、血中CK活性の変化に交互作用は認められず、サプリメント条件間において有意な差は認められなかった。一方、Exp. 2 では、血中CK活性の変化に交互作用が認められた。運動5~7日後の各測定ポイントにおける血中CK活性の増加はプラセボ摂取条件と比べて、クルクミン摂取条件の方が、有意に低値を示した。

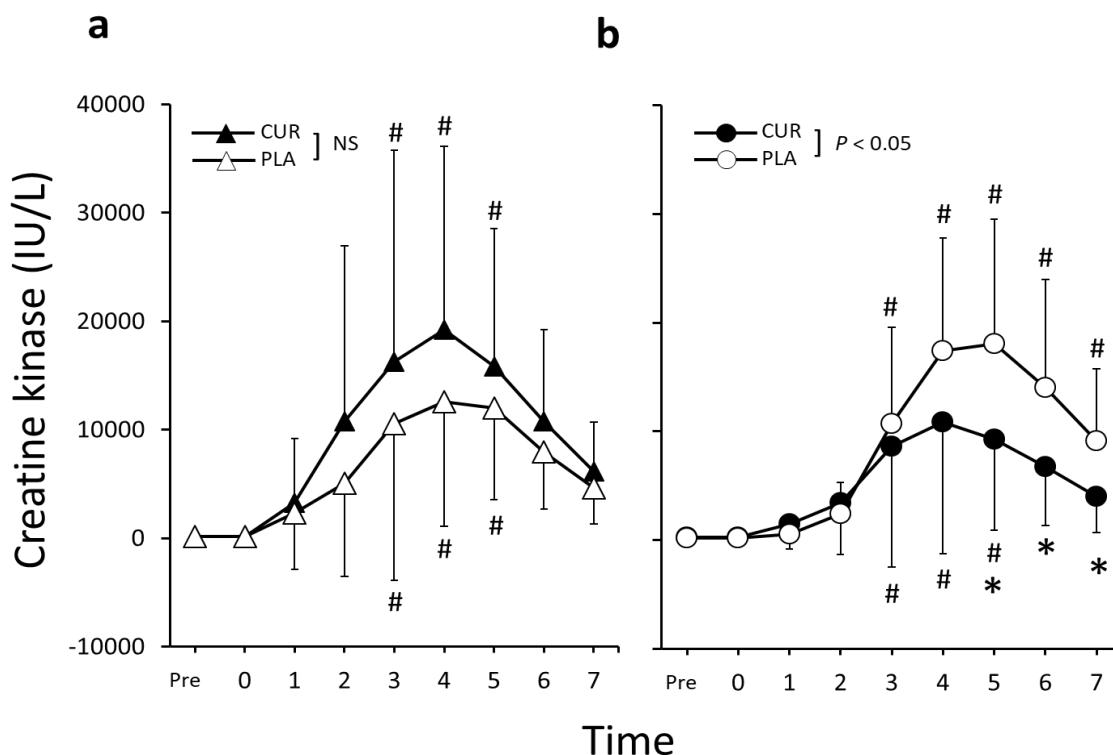


Fig. 37. 運動前、運動直後、運動1~7日後における血中CK活性の変化

a) CK in the experiment 1

b) CK in the experiment 2

Values are means \pm SD (n = 10 for each group)

$P < 0.05$ vs. Pre; * $P < 0.05$ vs. placebo; $P < 0.05$: a significant interaction effect;

NS, no significant interaction effect

4) 血中炎症指標 (IL-8、TNF- α)

① IL-8

運動前と運動後の各測定ポイントにおける血中 IL-8 濃度の経時的变化を Fig. 38 (a: Exp. 1、b: Exp. 2) に示す。運動前の値において、各サプリメント摂取条件間で有意な差は認められなかった。Exp. 1 では、運動前の値に対し、運動 12 時間後に血中 IL-8 濃度はプラセボ摂取条件において有意に上昇した。また、血中 IL-8 濃度の変化に交互作用が認められた。運動 12 時間後における血中 IL-8 濃度の増加はプラセボ摂取条件と比べて、クルクミン摂取条件の方が、有意に小さかった。一方、Exp. 2 では、血中 IL-8 濃度の変化に交互作用は認められず、サプリメント条件間において有意な差は認められなかった。

② TNF- α

運動前と運動後の各測定ポイントにおける血中 TNF- α 濃度の経時的变化を Fig. 38 (c: Exp. 1、d: Exp. 2) に示す。運動前の値において、各サプリメント摂取条件間で有意な差は認められなかった。Exp. 1 では、血中 TNF- α 濃度は両条件下において、運動前の値に対し、統計的に有意な変化は認められなかった。また、全ての測定ポイントにおいて各サプリメント条件間の有意差は認められなかった。一方、Exp. 2 では、血中 TNF- α 濃度はプラセボ摂取条件において、運動前の値に対し、運動 1 日後と 7 日後において有意に低値を示した。しかしながら、全ての測定ポイントにおいて各サプリメント条件間に有意差は認められなかった

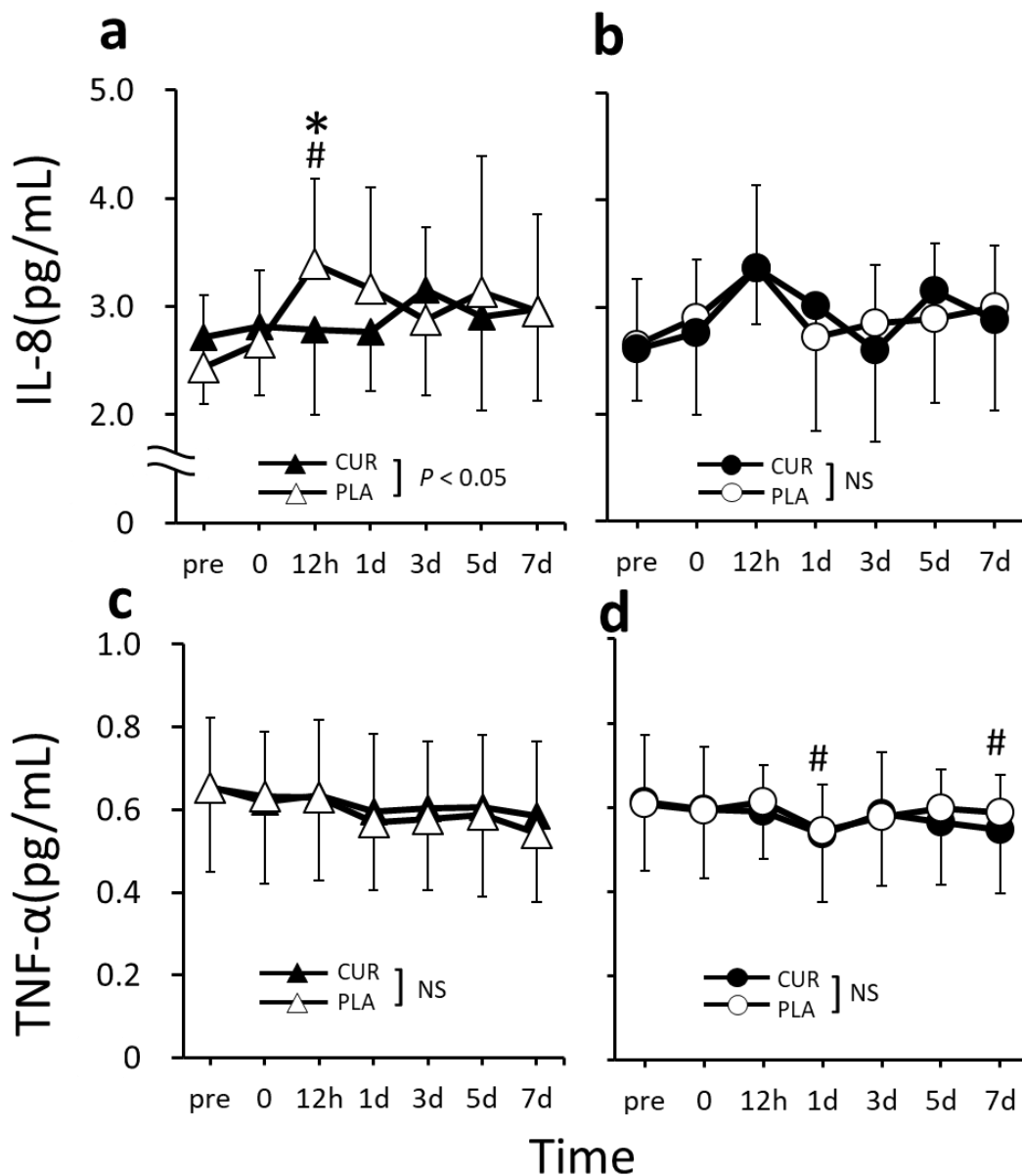


Fig. 38. 運動前、運動後における血中炎症指標の変化

a) IL-8 in the experiment 1, b) IL-8 in the experiment 2

c) TNF- α in the experiment 1, d) TNF- α in the experiment 2

CUR, trial that ingested curcumin; PLA, trial that ingested placebo;

Values are means \pm SD (n = 8 for each group)

$P < 0.05$ vs. Pre; * $P < 0.05$ vs. placebo; $P < 0.05$: a significant interaction effect;

NS, no significant interaction effect

5) 血中酸化ストレス指標 (d-ROMs、BAP)

運動前と運動後の各測定ポイントにおける血中酸化ストレス度のマーカーとして d-ROMs、抗酸化力の指標として BAP を測定した (Fig. 39)。運動前の値において、Exp. 1、Exp. 2 ともに各サプリメント摂取条件間で有意な差は認められなかった。また、d-ROMs および BAP は両条件下において、運動前の値に対し統計的に有意な変化は認められなかった。また、Exp. 1、Exp. 2 ともに全ての測定ポイントにおいて各サプリメント条件間の有意差は認められなかった。また、酸化ストレス状態を示す BAP/d-ROMs ratio においても Exp. 1、Exp. 2 ともに全ての測定ポイントにおいて各サプリメント条件間の有意差は認められなかった。

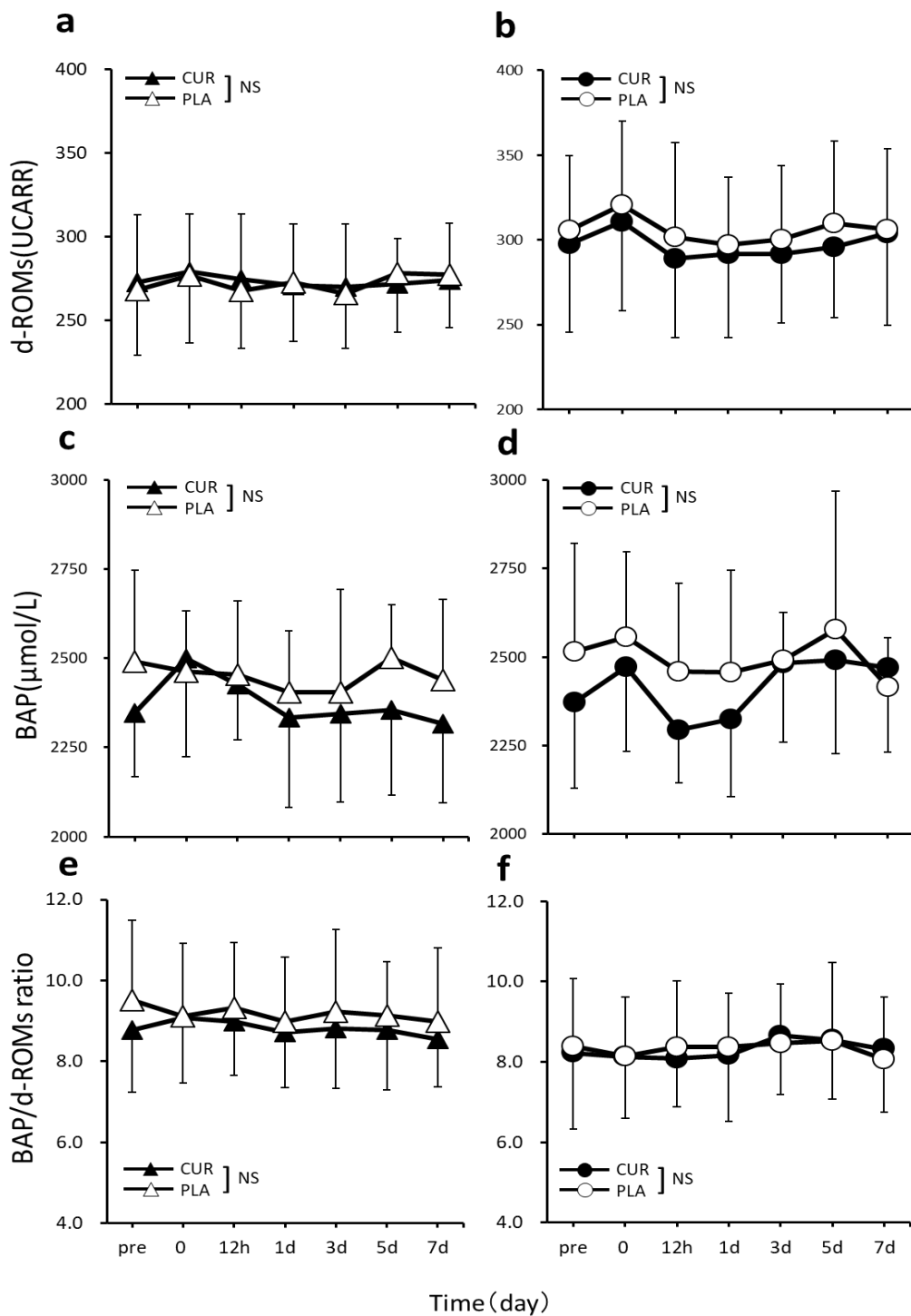


Fig. 39. 運動前、運動後における酸化ストレス指標の変化

- a) d-ROMs in the experiment 1, b) d-ROMs in the experiment 2
- c) BAP in the experiment 1, d) BAP in the experiment 2
- e) BAP/d-ROMs ratio in experiment 1, f) BAP/d-ROMs in the experiment 2

CUR, trial that ingested curcumin; *PLA*, trial that ingested placebo;

Values are means \pm SD (n = 8 for each group)

NS, no significant interaction effect

第4節 考察

本研究では、健康な成人男性における運動前・運動後のクルクミン摂取が筋損傷および炎症反応に及ぼす影響を二重盲検比較試験にて検討した。

本研究の主な結果は以下の4つである。①クルクミンを運動前に摂取すると伸張性運動後の筋損傷指標の回復に影響を及ぼさなかった。②クルクミンを運動後に摂取すると、伸張性運動後の MVC と ROM の低下、および筋痛と血中 CK 活性の増加は、プラセボ摂取条件と比較して有意に軽減した。③血中 IL-8 濃度は、クルクミンを運動前に摂取した群において運動 12 時間後に、プラセボ摂取条件と比較して有意に低値を示したが、運動後にクルクミンを摂取した実験では条件間に有意な差は認められなかった。④TNF- α 、d-ROMs および BAP は、クルクミン摂取タイミングの違いに関わらず、サプリメント条件間で有意な変化は認められなかった。

これらの結果から、運動前のクルクミン摂取は伸張性運動後の炎症の増加を一部軽減する可能性が示され、運動後のクルクミン摂取は筋損傷からの回復を促進する効果を有することが示唆された。

運動前のクルクミン摂取が炎症指標に与える影響

本研究では、Exp. 1 において運動前にクルクミンを摂取すると運動 12 時間後の IL-8 の上昇を有意に抑制したが、筋損傷指標の回復に影響を及ぼさなかったことが示された。IL-8 は好中球の動員と脱顆粒の鍵となる役割を持つ炎症関連メディエーターである (Harada et al. 1994) また、IL-8 の発現は転写因子 NF- κ B によって調節される (Rottner et al. 2009)。これらのことから、本研究において、運動前からクルクミンを摂取したことによって運動後に上昇する IL-8 が抑制されたことが考えられる。また、IL-8 が抑制されたことで好中球の動員に影響を与えた可能性も考えられたが、筋痛の改善や血中 CK 活性などの間接的な筋損傷指標に影響を与えるほどの変化ではなかったのかもしれない。

運動後のクルクミン摂取が筋損傷指標に与える影響

本研究において、Exp. 2における運動後のクルクミン摂取は、運動3日後以降のMVC低下を有意に抑制した。本研究では、条件間における伸張性運動の総仕事量 (Exp. 1: 1534 ± 401 J vs. 1571 ± 360 J; Exp. 2: 1597 ± 229 J vs. 1759 ± 310 J) に有意な差はなかったことから、メカニカルストレスによる一次的筋損傷は同程度であったと考えられる。したがって、運動後のクルクミン摂取は、炎症反応による二次的損傷を抑制している可能性を考えていたが、本研究で測定した血中レベルの炎症指標には差がなかったことから、別のメカニズムがMVC低下の抑制に関与しているのかもしれない。

運動後にクルクミンを摂取すると血中CK活性はプラセボ摂取条件と比較して有意に低値を示した。CKが筋中から血中に出現するまでには細胞膜の破綻や膜の透過性の亢進が関与していると言われている。先行研究によりクルクミンは、血管の透過性亢進に関連のあるヒスタミンやPGの産生を抑制することが報告されている (Moriyuki et al. 2010; Nugroho et al. 2009)。さらに、血中クルクミン濃度依存的に細胞膜の構造が変化することによって細胞の恒常性が保たれることが報告されている (Barry et al. 2009)。したがって、運動後の血液中のクルクミン濃度を高いレベルに維持することは、血管の透過性亢進を抑制し、CK上昇を減弱させ、回復を早める要因の1つである可能性がある。

また、本研究で測定した T_2 は一過性の伸張性運動によって、運動5日間後においても依然として高値を示した。運動後にクルクミンを摂取すると、プラセボ摂取条件と比べて低値を示す傾向が認められた。伸張性運動による T_2 の増加はMRIを用いた多くの先行研究で報告されており (Takahashi et al. 1994; Warren et al. 1999)、結合組織の損傷や毛細血管の浸透圧の増加により生じる浮腫 (Brendstrup et al. 1962)、分解されたタンパク質含量の形成およびタンパク質結合イオンの放出によるZ帯の損傷 (Fridén et al. 1984) が関与することが示されている。クルクミンは、細胞膜の保護効果を有しており (Barry et al. 2009; Thapa et al. 2013)、ヒスタミンやPGの産生を抑制することも報告されている (Moriyuki et al. 2009; Nugroho et al. 2009)。これらことから、伸張性運動によって引き起こされる毛細血管の浸透圧の増加や浮腫を抑制させるのに運動後のクルクミンの摂取は効果があったのかもしれない。さらに、 T_2 の増加はCKやMbなど

の筋タンパクの増加と関連していることが報告されていることから (Rodenburg et al. 1994)、運動後にクルクミンを摂取すると T_2 が低下傾向を示した理由として、血中への CK 漏出の軽減やより早い CK の除去が寄与している可能性も考えられる。

本研究では筋損傷の指標として肘関節の ROM と VAS を用いた筋痛を評価した。運動後にクルクミンを摂取すると、プラセボ摂取条件と比較して運動 2 日後以降に有意な ROM の改善、運動 3 日後以降に有意な筋痛の回復が認められた。先行研究において、クルクミンは発痛物質の産生を抑制する作用に加えて、神経終末からの痛覚の伝達物質である P 物質の放出を減少させる効果も有している (Enyeart et al. 2008)。これらのことから、運動後にクルクミンを摂取すると発痛物質の産生の減少や痛覚の感受性の低下などから筋痛が抑えられた可能性が考えられる。

一方で、運動時における ROM の制限因子としては、筋損傷による筋の短縮、浮腫・腫脹などが挙げられる。本研究で腫脹の指標として測定した T_2 は統計的に有意ではなかったが、運動後にクルクミンを摂取した条件において減少傾向を示した。先行研究において、クルクミンは血管透過性の亢進するヒスタミンや COX を抑制することが報告されている (Moriyuki et al. 2009; Nugroho et al. 2009)。すなわち筋損傷による浮腫を抑制している可能性が考えられる。これらのことから、運動後にクルクミンを摂取することで、筋痛と腫脹の発生に伴い制限された可動域が改善することが考えられる。

クルクミン摂取が酸化ストレス指標に与える影響

本研究では、酸化ストレス状態を把握する指標として、d-ROMs および BAP を測定した。これらの指標は摂取条件、時間の主効果ともに有意差が認められなかった。先行研究において、ダウンヒル走などの全身運動では酸化ストレスマーカーが有意に上昇することが認められている (Rosendal et al. 2005; Takahashi et al. 2014)。そのため、本研究で用いた局所的な運動ではなく、全身性の運動の損傷モデルを用いた場合において検討していく必要があると考えられる。

また、先行研究においてマウスにクルクミンを摂取させたグループにおいて Mb で評価した筋損傷は軽減されたが、酸化ストレス指標 (MDA、SOD、GSH) には有意差がなかった (Boz

et al. 2014)。また、ダウンヒル走前後にクルクミンを摂取すると酸化ストレスマーカーFRAP、カタラーゼ、および GPx に有意な差は認められなかったが、筋痛や T₂ の変化に改善が認められたことが報告されている (Drobnic et al. 2014)。さらに McGinley によるレビューによると、クルクミンと同様に抗酸化能力をもつビタミン C や E が伸張性運動後の筋損傷に及ぼす影響は、ほぼ無効であることが述べられている (McGinley et al. 2009)。これらのことから、本研究で測定したクルクミン摂取による酸化ストレスへ及ぼす影響と筋損傷やパフォーマンスには影響がない可能性が考えられる。一方で、長期的な抗酸化物質の摂取がパフォーマンスに悪影響を及ぼすとする報告 (Gomez-Cabrera et al. 2008) など、抗酸化物質とパフォーマンスの関係には一致した見解が得られていないため、今後、さらなる検討の必要があると考えられる。

まとめ

本研究は、健康な成人男性 20 名に、肘関節屈筋群の一過性の伸張性運動を負荷して、筋損傷を誘発した際に、運動前あるいは運動後のクルクミンの摂取が筋損傷指標 (MVC、ROM、筋痛、T₂、血中 CK 活性)、炎症指標 (IL-8、TNF- α)、酸化ストレス指標 (d-ROMs、BAP) に与える影響を検討した。

クルクミンを運動前に摂取すると、運動 12 時間後に増加した炎症反応は抑制されるが、筋損傷指標には影響を及ぼさないことが示された。一方で、クルクミンを運動後に摂取すると、運動後の炎症反応には影響を及ぼさないが、筋損傷指標が有意に改善することが示された。

第7章 総合討論

本論文ではクルクミン摂取が一過性の伸張性運動後に生じる筋損傷および炎症反応に及ぼす影響を検討し、早期回復に有効であるか否かを検証することを目的とした。まず、研究課題1では、運動習慣のない成人男性において、運動前後のクルクミン摂取が、肘関節屈筋群における一過性の伸張性運動後の筋損傷を軽減させるか否かを検討した。研究課題2では、効果的なクルクミン摂取のタイミングについて検討した。研究課題3では、運動前あるいは運動後のクルクミン摂取が筋損傷および炎症反応にどのように影響するか検討した。本研究で検討した課題と結果の模式図を Fig. 40 に示す。

研究課題1では、運動前後にクルクミンを摂取することにより、伸張性運動後の MVC の低下は有意に抑制され、血中 CK 活性の増加は有意に抑制された。すなわち、運動前後のクルクミン摂取により筋損傷が一部軽減される可能性が示唆された。しかしながら、先行研究において、クルクミンの生理作用として膜保護作用 (Dikshit et al. 1999) があることや、抗炎症 (Srimal et al. 1973)、抗酸化作用 (Sharma.1976) を有していることが報告されていることから、クルクミン摂取が筋損傷軽減の予防もしくは回復のどちらに貢献したかは明らかではなかった。そこで、研究課題2では、運動前と運動後のクルクミン摂取が筋損傷に及ぼす影響を検討することで、クルクミンは筋損傷を予防するのか、あるいは回復促進するのか、どちらに効果があるかを検証した。その結果、運動後にクルクミンを摂取した群において、有意な ROM の改善と筋痛の低下が認められた。すなわち、筋損傷からの回復に運動後のクルクミン摂取が有効であることが示唆された。さらに研究課題3では、運動後のクルクミン摂取が筋損傷からの回復を促進する機序に関与すると考えられる筋損傷後の炎症反応にクルクミンが及ぼす影響について検討した。運動後にクルクミンを摂取した実験においてのみ MVC の低下や ROM の減少を有意に軽減し、筋痛の増加や血中 CK の上昇を有意に抑制することが示された。しかしながら、本研究で評価した炎症反応が筋損傷の回復に寄与する可能性については明らかではなかった。本研究の結果から、クルクミンは筋損傷および炎症反応を軽減する効果を有するが、運動前に

クルクミンを摂取しても、筋損傷を予防する効果は極めて小さく、運動後のクルクミン摂取は筋損傷からの回復を促進する効果を有する可能性が示唆された。

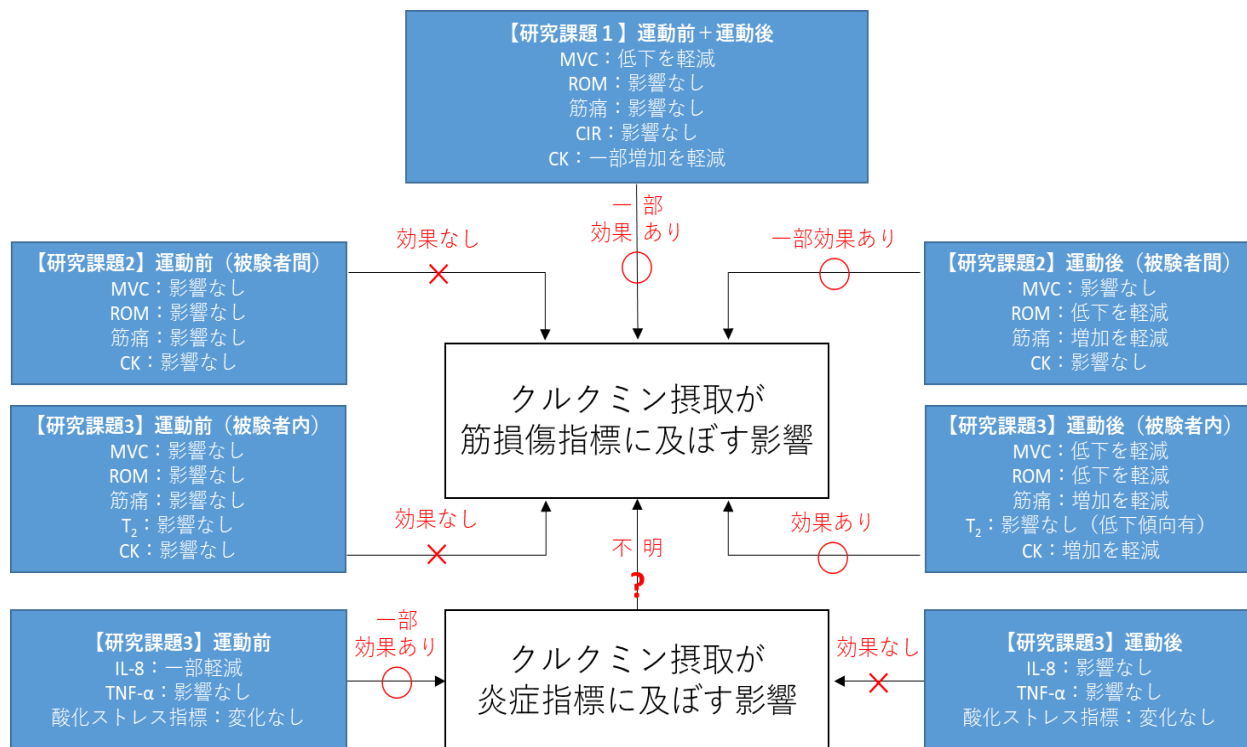


Fig. 40. 本研究の研究課題と結果の模式図

クルクミンが筋の保護作用に及ぼす影響

運動前のクルクミン摂取は、筋や膜保護作用し、筋損傷を予防するという仮説のもと研究課題2、3を行ったが、仮説に反して筋損傷の予防効果は認められなかった。

研究課題2、および3において運動前にクルクミンを7日間摂取すると、一過性運動後の筋損傷指標はプラセボ摂取と比較して有意な差は認められなかった。研究課題2および3の運動前のクルクミン摂取において、CKやROM、筋痛の変化のピークは運動後2~4日後に認められた。この時の血中クルクミン濃度は、運動2日後には10 ng/mL以下になり、運動3日後にはほぼ0 ng/mLを示し、わずかに検出されるほど低値であった。これらのことから、運動前みのクルクミン摂取では、運動後の筋損傷指標が変動するときに、血中クルクミン濃度が低値を示すことが筋損傷指標に影響を及ぼさなかったことに関与しているかもしれない。一方で、

研究課題 1 では、運動前後にそれぞれ 1 回 (150 mg) のクルクミン摂取により、運動直後において MVC の低下を有意に抑制した。本研究において、運動前後にクルクミンを摂取することにより、運動直後における MVC の低下を有意に抑制した機序として、運動前のクルクミン摂取により、運動中のクルクミン濃度が高く保たれたことが局所性疲労の原因となる物質の除去や代謝に関与した可能性も考えられるが詳細は不明である。

さらに、研究課題 1 における運動直後の MVC の低下率は 40 % であり、運動 4 日後の血中 CK 活性は平均で 7,600 IU/L あった。研究課題 2、3 における MVC の低下率および血中 CK 活性の増加は、研究課題 1 と比較してはるかに大きい値を示しており、本研究の筋損傷の程度は大きかったことが考えられる。このことから、筋損傷の程度が大きかったために、クルクミンの効果が見出せなかった可能性もあるかもしれない。

研究課題 3 では、運動前にクルクミンを摂取すると、運動 12 時間後に IL-8 の上昇が有意に軽減されたが、筋損傷指標の改善には影響を及ぼさなかった。同様に先行研究において McFarlin et al. (2016) は運動前後のクルクミン摂取は、ダウンヒル走後の IL-8、TNF の上昇を有意に抑えたが、筋痛の軽減には効果がなかったことを報告している (McFarlin et al. 2016)。また、運動前後のクルクミン摂取により IL-8 の上昇を抑制しても、血中 CK 活性上昇の抑制には有意差がなかったとの報告もある (Drobic et al. 2014)。本研究において、運動前からクルクミンを摂取したことによって運動後に上昇する IL-8 が抑制されたことが考えられる。しかし、それらは筋痛の改善や血中 CK 活性などの間接的な筋損傷指標には影響を与えない可能性が考えられる。

クルクミンが筋の回復促進に及ぼす影響

運動後のクルクミンを摂取は、筋損傷に伴って生じた炎症反応を軽減することで筋損傷の拡大を抑制し、損傷からの回復を促進するという仮説のもと、研究課題 2、3 を行った。その結果、運動後のクルクミン摂取により、筋損傷指標は有意な改善が認められたが、仮説に反して、

筋損傷からの回復を促進する要因として本研究で評価した血中レベルの炎症反応の関与は明らかではなかった。

研究課題 2、3 において運動後にクルクミンを継続的に摂取すると、筋痛の増加は有意に抑制された。クルクミンが筋痛を抑制するメカニズムは、発痛物質・増強物質である COX や PG、ヒスタミンの産生を抑制する作用が考えられる (Clutterbuck et al. 2013; Kang et al. 2004; Moini Zanjani et al. 2014; Nugroho et al. 2009)。さらに、神経終末からの痛覚の伝達物質である P 物質の放出を減少させる効果も有している (Enyeart et al. 2008)。加えて、侵害受容器の脱感作や一過性受容体電位イオンチャンネルを介した疼痛性刺激の抑制と関連していることも報告されている (Leamy et al. 2011; Yeon et al. 2010)。本研究では、運動後にクルクミンを 4 日間 (研究課題 2)、および 7 日間 (研究課題 3) に渡り摂取すると、血中クルクミン濃度はフォローアップ期間を通して平均で 40~60 ng/mL 程度に保たれていた。加えて、先行研究において、運動 2 日前から運動 3 日後までの 5 日間 (Nicol et al. 2015)、また、運動 2 日前から運動 1 日後までの 4 日間 (Drobnic et al. 2014) の連続的なクルクミン摂取により、伸張性運動後の筋痛を軽減することを報告している。すなわち、クルクミンを運動前後に継続的に摂取すると、筋痛の発生を有意に軽減させることが報告されている。これらのことから、運動後にクルクミンを継続的に摂取し、血中のクルクミン濃度を高めておくことが発痛物質の産生の減少や痛覚の感受性の低下などから筋痛が抑えられた可能性が考えられる。

一方で、COX や PG、ヒスタミンは血管透過性の亢進に関与している。研究課題 3 で腫脹の指標として測定した T_2 は、統計的に有意ではなかったが、運動後にクルクミンを摂取した条件において減少傾向を示した。すなわち筋損傷による浮腫を抑制している可能性が考えられる。研究課題 2 と 3 で運動後にクルクミンを摂取した条件において、ROM と筋痛が有意に軽減されたポイントが一致することから、運動後の継続的なクルクミン摂取が、筋痛と腫脹の発生に伴い制限された ROM を改善することが考えられる。

以上のことから、本研究で認められた筋痛の低下と ROM の改善は、運動後にクルクミンを継続的に摂取し、血中クルクミン濃度を高い状態で保ったことが、発痛物質の産生の減少や痛覚の感受性の低下、また血管透過性の亢進の抑制に関与した結果である可能性が示された。

本研究において、研究課題 1 では、運動前後のクルクミン摂取により、運動 2 日後以降、研究課題 3 では運動後のクルクミン摂取により、運動 3 日後以降、MVC 低下が有意に抑制された。先行研究において、伸張性運動後に筋損傷がおこると NF- κ B が上昇することがマウス (Ji et al. 2004) やヒト (García-López et al. 2007) で報告されている。また、NF- κ B は筋形成の調節において重要な因子であり、NF- κ B の活性を抑制することにより損傷した筋線維の再生を促進する作用があることも報告されている (Thaloor et al. 1999)。加えて、クルクミンは筋芽細胞に直接作用して細胞増殖、融合および分化を増加させる作用があり、筋損傷後にクルクミンを投与したマウスでは正常組織構造が損傷からわずか 10 日後に認められたことが示された (Mourkioti et al. 2009)。さらに、NF- κ B 活性の阻害は筋力を改善し、再生を促進する (Mourkioti et al. 2009)。これらのことから、筋の再生を促進することで、MVC の回復促進に寄与している可能性が考えられる。しかし本研究において、筋再生マーカーを検討していないため、今後のさらなる検討が必要である。

本研究では、クルクミンの有する抗炎症作用が二次的損傷を抑制し、筋損傷が軽減されるという仮説のもと、炎症指標として研究課題 3 において IL-8、TNF- α を測定した。これらは NF- κ B に発現が制御されており、先行研究においてクルクミン摂取により軽減されることが報告されているサイトカインである。その結果、研究課題 3 の運動後にクルクミンを摂取した実験では、測定した炎症指標に対するクルクミンの有意な効果は認められなかった。先行研究において、Nicol らは、片足レッグプレス (120 %1RM50 回+100 %1RM20 回) 後に IL-6 と TNF- α を測定したところ、炎症指標に対してクルクミンによる有意な効果は認められなかったが、運動後の筋痛を軽減することが報告されている。これらのことから、炎症指標にクルクミンが及ぼす影響は、本研究で測定した血中の評価では明らかではなかったが、筋損傷指標の改善に影響を与えない可能性が考えられた。

血中クルクミン濃度と指標の関連性に関して

本研究の3つの課題において、クルクミンの異なる摂取タイミングと摂取量では、筋損傷指標に及ぼす影響は異なることが示された。3つの研究課題における、血中のクルクミン濃度を Fig. 41 に示す。

短時間で比較的高容量のクルクミンを摂取した研究課題1では、運動直後の MVC の低下は有意に抑制され、運動3日後の CK の上昇が有意に抑制された。また、比較的低用量のクルクミンを運動前あるいは運動後に連続7日間摂取した研究課題2および3では、運動前に摂取することで運動12時間後における IL-8 の上昇が抑制されたが（研究課題3）、筋損傷指標に影響を及ぼさず（研究課題2, 3）、運動後に摂取することで、運動3日後以降の筋痛、ROM（研究課題2）、MVC、筋痛、CK、ROM（研究課題3）を改善した。これらの結果から、クルクミンにはそれぞれの筋損傷指標に対して効果のある濃度、すなわち至適濃度が存在する可能性が考えられる。

研究課題1では、クルクミンを運動1時間前に摂取することで運動直後の MVC の低下が有意に抑制されたが、研究課題2および3において、運動前7日間クルクミンを摂取しても条件間における有意な差は認められなかった。運動直後の MVC の低下が抑制された要因として、筋損傷だけではなく、局所的な疲労の影響を大きく受けることが考えられることから、筋収縮に関わる物質の代謝やエネルギーに関してクルクミンが影響を与えた可能性が考えられる。

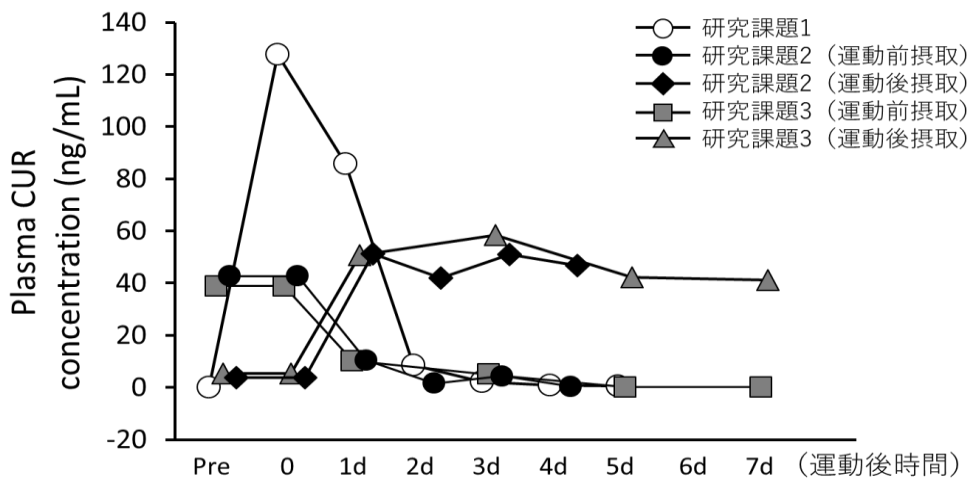


Fig. 41. 研究課題1~3におけるクルクミン血中濃度の変化

先行研究において、クルクミンをヒト白血球単球細胞（THP-1）に添加すると、添加後 10 分程度でも細胞内にクルクミンが移行することが報告されており、積極的に細胞内に取り込まれることが報告されている（Nakagawa et al. 2014）。また、クルクミンはラットの胸腺細胞において、小胞体に蓄積することが報告されている（Jaruga et al. 1998）。このため、研究課題 1 においてもクルクミンが細胞内に短時間で取り込まれ、筋収縮のメカニズムに関して何らかの有益な効果を発揮した可能性が考えられる。加えて、研究課題 2 および 3 における濃度（約 40~60 ng/mL）では運動直後の MVC に効果が認められなかった。先行研究において、クルクミンは二相性の容量依存性反応を示すことが報告されており、低用量と高用量では異なる機能を示す可能性が示唆されている（Demirovic and Ratta. 2011）。これらのことから、MVC 発揮に関してクルクミンの至適摂取量がある可能性が予想されるが、詳細については不明である。

筋痛および ROM については、研究課題 2 および 3 における運動前 7 日間摂取と比較して運動後 4 日間および 7 日間の連続摂取で有意な改善が認められた。さらに、実験 1 における運動前後の単回摂取では有益な効果が認められなかったことから、筋痛や ROM については MVC と比較してクルクミンが低濃度（約 40~60ng/mL）であっても、連続で摂取することが効果的な生理作用を発揮するために重要である可能性が考えられる。一方で、血中クルクミン濃度が低値を示しているにも関わらず、研究課題 1 において運動 3 日後における CK の上昇は有意に抑制された。さらに、研究課題 3 の運動前クルクミン摂取における IL-8 の上昇も、運動後 12 時間後に有意に抑制された。先行研究において、クルクミンをヒト白血球単球細胞 THP-1 に添加すると、添加後 24 時間が経過しても細胞内にクルクミンが残存していることが報告されており、細胞内へのクルクミン取り込み速度と比較して細胞内での代謝の速度は低速である可能性が示唆されている（Nakagawa et al. 2014）。これらのことから、本研究で用いたクルクミンの血中半減期は 12 時間程度であるが、クルクミン摂取をやめてから 24 時間経過した時点においても細胞内にクルクミンは残存している可能性があるため、CK に関与する血管透過性の亢進や IL-8 の変化に影響を与えた可能性が考えられる。

これらのことから、本研究においてもクルクミンにはそれぞれの筋損傷指標に対して至適濃度が存在する可能性が考えられる。しかしながら、クルクミンの投与量反応は、主に in vitro 試験（腫瘍細胞株の場合）、および in vivo 試験（動物モデル）で行われているため、現時点で詳細は不明である。健康なヒトにおけるクルクミンの用量反応の性質を評価するためにはさらなる疫学および臨床試験が必要である。

本研究における研究限界

・ Contralateral repeated bout effect

研究課題 1 および 3 はクロスオーバーデザインを用い、運動負荷は 1 試行目とは逆の腕で 2 試行目を行った。その際、試行間のウォッシュアウト期間は 4 週間以上とした。最近の研究において、片側で行った筋力トレーニングの効果が運動をしていない反対側にも生じる現象、すなわち Contralateral repeated bout effect は 4 週間以上ウォッシュアウト期間を設けても残存し、8 週間経過しないと消失しないことが報告された (Chen et al. 2016)。このことから、本研究においてもその影響がみられた可能性が考えられる。それぞれの研究課題における実際のウォッシュアウト期間は 5 週間～19 週間（研究課題 1）、4 週間～17 週間（研究課題 3）であった。そこで各指標において、試行間（1 試行目 vs 2 試行目）で検定を行った（二元配置分散分析）が、交互作用が認められないことが確認できた。そのため、本研究における Contralateral repeated bout effect は極めて小さいと考えられる。

・ サプリメント摂取期間の統制

研究課題 2 において、全ての群でサプリメントの摂取期間が統一できなかった。本研究において、被験者はクルクミンあるいはプラセボのどちらかわからないようにサプリメントを摂取している。よって、サプリメントの薬効に関しては、十分に盲検化されていると考えられる。しかしながら、サプリメント摂取期間は運動前後で統一されていないため、何かしらのバイアスがかかってしまった可能性も完全には否定できない。

・ 炎症指標と酸化ストレス指標の評価法

研究課題3における炎症指標と酸化ストレス指標は血液のみで評価され、筋組織では評価していない。先行研究において、運動後の炎症マーカーと酸化ストレスマーカーの濃度は、筋組織と血中で異なることが報告されている（Karanth et al. 2005; Rosendal et. al 2005）。これらのマーカーを筋肉組織から評価した場合、有意な変化およびクルクミンの効果が認められる可能性も考えられる。また、本研究において分析した炎症マーカーは IL-8 と TNF- α のみであった。その他のサイトカイン（例えば、代表的な炎症性サイトカインである IL-6）を検討しなかった理由として、IL-6 は筋以外の組織からも産生されることや、指標自体が鋭敏であるため、指標の変動の解釈が難しくなる可能性があったためである。今回は検討しなかったサイトカインについても今後検討していく必要があると考えられる。

・筋損傷の程度の違い

本研究の結果を解釈する上で、下記の影響を考慮する必要があると考えられる。

【運動負荷の違い】

本研究全体を通して、運動負荷は肘関節屈筋群の伸張性運動を用いた。研究課題1では最大負荷で50回、研究課題2および3では最大努力で30回とした。しかしながら、筋損傷の程度は、運動回数の少なかった研究課題2および3の方が大きかった。これは、研究課題2および3では、運動負荷の際に手首をアタッチメントに固定したことにより、力発揮の際手関節による緩衝がなくなったため、より直接的に上腕に負荷が生じたことが要因であると考えられる。

【被験者の運動習慣の違い】

被験者の運動歴や身体活動量に関して、研究課題1では日頃から運動習慣のない被験者を用い、研究課題2および3ではレクリエーションレベルでの運動習慣がある被験者を用いた。これらの被験者の身体活動レベルの違いが、筋損傷の程度およびクルクミンの効果に影響を及ぼした可能性がある。

まとめ

本論文ではクルクミン摂取が一過性の伸張性運動後に生じる筋損傷を軽減させるか否かを検証することを目的とし3つの実験を行った。その結果、①運動前後に1回ずつのクルクミンを摂取すると、筋損傷が一部軽減され筋損傷からの回復が促進された。②運動前における継続的なクルクミン摂取は、運動後の炎症を一部軽減したが、筋損傷指標に影響を及ぼさなかった。③運動後における継続的なクルクミン摂取は、運動後の炎症反応には影響を及ぼさなかったが、筋損傷指標が有意に改善した。これら本研究の結果より、本研究で測定した血中の指標では、クルクミンが炎症反応に及ぼす影響は明らかではなかったが、①クルクミン摂取は筋損傷の軽減および筋損傷からの回復促進に有用であること、②運動前にクルクミンを摂取しても、筋損傷を予防する効果は極めて小さいが、運動後の継続的なクルクミン摂取は筋損傷からの回復を促進する効果を有することが示唆された。

今後の課題

本研究において、一過性の伸張性運動後の筋損傷に対して、クルクミンの摂取が有用であることを示した。しかしながら、これらの運動負荷は実験室的研究であり、実際の試合前後におけるクルクミン摂取の有用性を筋損傷やパフォーマンス発揮を指標として検証することは、アスリートにおける新たな栄養面からのリカバリー戦略を考える一助となる可能性が高い。今後は、アスリートにおけるクルクミン摂取が試合後の筋損傷指標及びフィジカルパフォーマンスに与える影響を検討し、実際の競技現場におけるクルクミン摂取が有用であることを検討する必要がある。

また、本研究において、短期的なクルクミン摂取が筋損傷を軽減することを示した。一方で、長期的なクルクミン摂取は、慢性疾患の治療や健康を保つために効果的だが、筋肥大に関してはクルクミンの持つ抗炎症作用が肥大効果を弱めてしまうかもしれない。これらが明らかになれば、クルクミン摂取の有用性は、試合時の短期的なコンディショニングのみならず、トレーニング期間における活用が予想される。競技者や運動愛好家にとってはもちろん、将来的には中高齢者におけるサルコペニアの予防につながる知見になる可能性も期待できる。そこで、今

後は、長期的なクルクミン摂取が筋肥大や筋機能（筋力・パワー）に及ぼす影響についても明らかにしていきたい。

第 8 章 結論

本論文ではクルクミン摂取が伸張性運動後に生じる筋損傷を軽減させ、早期回復に有効であるかを検証した。本研究により得られた主な知見を以下に記す。

1) クルクミン摂取が伸張性運動後の筋損傷に及ぼす影響（研究課題 1）

一過性の伸張性運動により、MVC、ROM は有意に低下し、CIR、筋痛、CK は有意に増加した。すなわち、本研究プロトコールにより筋損傷が生じたと考えられる。さらに、運動前後にクルクミンを摂取することにより、MVC の低下は有意に抑制され、CK の増加は有意に抑制された。これらのことから、クルクミン摂取により筋損傷が一部軽減され、筋損傷からの回復が促進される可能性が示唆された。

2) 筋損傷からの早期回復に効果的なクルクミン摂取のタイミングの検討（研究課題 2）

クルクミンを運動後に摂取すると、運動 3~4 日後の筋痛の増加や ROM の低下は有意に抑制された。一方で、クルクミンを運動前に摂取すると、筋損傷指標の変化に影響を及ぼさなかった。これらの結果より、クルクミンを事前に摂取しても筋損傷に対する影響は極めて小さく、クルクミンを運動後に摂取することが筋痛の軽減や ROM の回復に効果的である可能性が示唆された。

3) 運動前・運動後のクルクミン摂取が筋損傷および炎症反応に及ぼす影響（研究課題 3）

クルクミンを運動前に摂取すると、運動 12 時間後に増加した炎症反応は抑制されるが、筋損傷指標には影響を及ぼさなかったことが示された。一方で、クルクミンを運動後に摂取すると、運動後の炎症反応には影響を及ぼさなかったが、筋損傷指標が有意に改善することが示された。これらの結果から、運動前のクルクミン摂取は炎症反応を抑制し、運動後のクルクミン摂取は筋損傷指標を改善し、筋損傷からの回復を促進する可能性が示唆された。

これら本研究の結果より、本研究で測定した血中の指標では、クルクミンが炎症反応に及ぼす影響は明らかではなかったが、①クルクミン摂取は筋損傷の軽減および筋損傷からの回復促進に有用であること、②運動前にクルクミンを摂取しても、筋損傷を予防する効果は極めて小さいが、運動後の継続的なクルクミン摂取は筋損傷からの回復を促進する効果を有することが示唆された。

本研究で得られた、クルクミン摂取が一過性の伸張性運動後の筋損傷に及ぼす効果に関する知見は、一般健常者における運動の習慣化や、アスリートにおけるコンディショニング、パフォーマンス向上および効果的なリカバリーのために有用となる可能性があると考えられる。

謝辞

本研究を終えるにあたり、ご指導・ご助言を賜りました筑波大学体育系 前田清司教授に深甚の謝意を表します。また、本研究を遂行するにあたり、親切丁寧なご指導・ご助言を賜りました国立スポーツ科学センタースポーツ研究部 高橋英幸先生に厚く御礼申し上げます。そして、研究計画や本研究を遂行するにあたり、海外から親切にご指導してくださいました Edith Cowan University 野坂和則先生に深く御礼申し上げます。

そして論文作成に際して多大なるご指導・ご助言を頂きました国立スポーツ科学センター千野謙太郎氏、日本学術振興会特別研究員 下山寛之氏には、研究に対する真摯な姿勢や的確な指針を示していただき、心より感謝申し上げます。そして、本研究を進めるにあたり、連日の実験・測定補助を快く引き受けてくださいました国立スポーツ科学センターメディカルセンター大西貴弘氏や、いつも家族のように温かく見守り支えて頂きました岩原康こ氏、小椋真理子氏、近藤衣美氏に、厚く御礼申し上げます。また、本研究で使用したクルクミンを提供してくださいました株式会社セラバリューズの方々に深く御礼申し上げます。そして、被験者を引き受けてくれた皆様、研究活動の全域にわたりお世話になりました筑波大学スポーツ医学研究室、国立スポーツ科学センターの皆様心より感謝申し上げます。

引用文献・参考図書

- Appell HJ, Soares JM, Duarte JA. Exercise, muscle damage and fatigue. *Sports Med.* 1992; 13 (2): 108-115.
- Armstrong RB, Warren GL, Warren JA. Mechanisms of exercise-induced muscle fibre injury. *Sports Med.* 1991; 12 (3): 184-207.
- Armstrong RB. Mechanisms of exercise-induced delayed onset muscular soreness: a brief review. *Med Sci Sports Exerc.* 1984; 16 (6): 529-538.
- Asai A and Miyazaki T. Metabolic fate of food colorant curcuminoid and its body fat-lowering activity. *Food and Food Ingredients J Jpn.* 2003; 208 (2): 95-105.
- Askari G, Ghiasvand R, Karimian J, Feizi A, Paknahad Z, Sharifirad G, Hajishafiei M. Does quercetin and vitamin C improve exercise performance, muscle damage, and body composition in male athletes? *J Res Med Sci.* 2012; 17 (4): 328-331.
- Bank J, Song DH. Curcumin protects against ischemia/reperfusion injury in rat skeletal muscle. *J Surg Res.* 2013; 179 (1): 49-51.
- Bar DPR, Rodenburg AJB, Koot RW, Amelink HGJ. Exercise-induced muscle damage: recent development. *Basic and Applied Myology.* 1994; 4 (1): 5-16
- Barry J, Fritz M, Brender JR, Smith PE, Lee DK, Ramamoorthy A. Determining the effects of lipophilic drugs on membrane structure by solid-state NMR spectroscopy: the case of the antioxidant curcumin. *J Am Chem Soc.* 2009; 131 (12): 4490-4498.
- Bisht S, Feldmann G, Soni S, Ravi R, Karikar C, Maitra A, Maitra A. Polymeric nanoparticle-encapsulated curcumin ("nanocurcumin"): a novel strategy for human cancer therapy. *J Nanobiotechnology.* 2007; 5: 3.
- Boz I, Belviranlı M, Okudan N. Curcumin Modulates Muscle Damage but not Oxidative Stress and Antioxidant Defense Following Eccentric Exercise in Rats. *Int J Vitam Nutr Res.* 2014; 84 (3-4): 163-172.
- Brendstrup P. Late edema after muscular exercise. *Arch Phys Med Rehabil.* 1962; 43: 401-405.
- Brouet I, Ohshima H. Curcumin, an anti-tumour promoter and anti-inflammatory agent, inhibits induction of nitric oxide synthase in activated macrophages. *Biochem Biophys Res Commun.* 1995; 206 (2): 533-540.

Cerný D, Lekić N, Váňová K, Muchová L, Hořínek A, Kmoníčková E, Zídek Z, Kameníková L, Farghali H. Hepatoprotective effect of curcumin in lipopolysaccharide/-galactosamine model of liver injury in rats: relationship to HO-1/CO antioxidant system. *Fitoterapia*. 2011; 82 (5): 786-791.

Chainani-Wu N. Safety and anti-inflammatory activity of curcumin: a component of tumeric (*Curcuma longa*). *J Altern Complement Med*. 2003; 9 (1): 161-168.

Chapman DW, Newton M, McGuigan M, Nosaka K. Effect of lengthening contraction velocity on muscle damage of the elbow flexors. *Med Sci Sports Exerc*. 2008; 40 (5): 926-933.

Chen TC, Nosaka K, Sacco P. Intensity of eccentric exercise, shift of optimum angle, and the magnitude of repeated-bout effect. *J Appl Physiol*. 2007; 102 (3): 992-999.

Chen TC, Nosaka K. Responses of elbow flexors to two strenuous eccentric exercise bouts separated by three days. *J Strength Cond Res*. 2006; 20 (1): 108-116.

Chen TC, Chen HL, Lin MJ, Yu HI, Nosaka K. Contralateral Repeated Bout Effect of Eccentric Exercise of the Elbow Flexors. *Med Sci Sports Exerc*. 2016; 48 (10): 2030-2039.

Chen TC. Variability in muscle damage after eccentric exercise and the repeated bout effect. *Res Q Exerc Sport*. 2006; 77 (3): 362-371.

Cheung K, Hume P, Maxwell L. Delayed onset muscle soreness: treatment strategies and performance factors. *Sports Med*. 2003; 33 (2): 145-164.

Childs A, Jacobs C, Kaminski T, Halliwell B, Leeuwenburgh C. 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*. 2001; 31 (6): 745-753.

Choi Y, Maeda S, Yoshizawa M, Tanabe K, Miyaki A, Tanabe Y, Komine H, Hirayama A, Shiraki H, Ajisaka R. High circulating levels of oxidized LDL in strength-trained athletes. *J Exerc Nutr Biochem*. 2011; 15 (2): 105-110.

Clarkson PM, Nosaka K, Braun B. Muscle function after exercise-induced muscle damage and rapid adaptation. *Med Sci Sports Exerc*. 1992; 24 (5): 512-520.

Clarkson PM, Sayers SP. Etiology of exercise-induced muscle damage. *Can J Appl Physiol*. 1999; 24 (3): 234-248.

Cleak MJ, Eston RG. Delayed onset muscle soreness: mechanisms and management. *J Sports Sci.* 1992; 10 (4): 325-341.

Clifford T, Bell O, West DJ, Howatson G, Stevenson EJ. The effects of beetroot juice supplementation on indices of muscle damage following eccentric exercise. *Eur J Appl Physiol.* 2016; 116 (2): 353-362.

Clutterbuck AL, Allaway D, Harris P, Mobasheri A. Curcumin reduces prostaglandin E2, matrix metalloproteinase-3 and proteoglycan release in the secretome of interleukin 1 β -treated articular cartilage. *F1000Res.* 2013; 2:147.

Davis JM, Murphy EA, Carmichael MD, Zielinski MR, Groschwitz CM, Brown AS, Gangemi JD, Ghaffar A, Mayer EP. Curcumin effects on inflammation and performance recovery following eccentric exercise-induced muscle damage. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2007; 292 (6): R2168-73.

Davison G, Callister R, Williamson G, Cooper KA, Gleeson M. The effect of acute pre-exercise dark chocolate consumption on plasma antioxidant status, oxidative stress and immunoendocrine responses to prolonged exercise. *Eur J Nutr.* 2012; 51 (1): 69-79.

Demirovic D, Rattan S. Curcumin induces stress response and hormetically modulates wound healing ability of human skin fibroblasts undergoing ageing in vitro. *Biogerontology.* 2011; 12 (5): 437-444.

Dikshit M, Rastogi L, Shukla R, Srimal RC. Prevention of ischaemia-induced biochemical changes by curcumin & quinidine in the cat heart. *Indian J Med Res.* 1995; 101: 31-35.

Dixon CB, Robertson RJ, Goss FL, Timmer JM, Nagle EF, Evans RW. The effect of acute resistance exercise on serum malondialdehyde in resistance-trained and untrained collegiate men. *J Strength Cond Res.* 2006; 20 (3): 693-698.

Dohi K, Satoh K, Ohtaki H, Shioda S, Miyake Y, Shindo M, Aruga T. Elevated plasma levels of bilirubin in patients with neurotrauma reflect its pathophysiological role in free radical scavenging. *In Vivo.* 2005; 19 (5): 855-860.

Drobnic F, Riera J, Appendino G, Togni S, Franceschi F, Valle X, Pons A, Tur J. Reduction of delayed onset muscle soreness by a novel curcumin delivery system (Meriva®): a randomised, placebo-controlled trial. *J Int Soc Sports Nutr.* 2014; 11: 31.

Duarte JA, Appell HJ, Carvalho F, Bastos ML, Soares JM. Endothelium-derived oxidative stress may contribute to exercise-induced muscle damage. *Int J Sports Med.* 1993; 14 (8): 440-443.

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

Enyeart JA, Liu H, Enyeart JJ. Curcumin inhibits bTREK-1 K⁺ channels and stimulates cortisol secretion from adrenocortical cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008; 370 (4): 623-628.

European Food Safety Authority. 2014. Refined exposure assessment for curcumin (E 100). *EFSA J.* 12 (10): 3876.

Evans RK, Knight KL, Draper DO, Parcell AC. Effects of warm-up before eccentric exercise on indirect markers of muscle damage. *Med Sci Sports Exerc.* 2002; 34 (12): 1892-1899.

Fielding RA, Manfredi TJ, Ding W, Fiatarone MA, Evans WJ, Cannon JG. Acute phase response in exercise. III. Neutrophil and IL-1 beta accumulation in skeletal muscle. *Am J Physiol.* 1993; 265 (1 Pt 2): R166-172.

Fridén J. Muscle soreness after exercise: implications of morphological changes. *Int J Sports Med.* 1984; 5 (2): 57-66.

García-López D, Cuevas MJ, Almar M, Lima E, De Paz JA, González-Gallego J. Effects of eccentric exercise on NF-kappaB activation in blood mononuclear cells. *Med Sci Sports Exerc.* 2007; 39 (4): 653-664.

Goel A, Boland CR, Chauhan DP. Specific inhibition of cyclooxygenase-2 (COX-2) expression by dietary curcumin in HT-29 human colon cancer cells. *Cancer Lett.* 2001; 172 (2): 111-118.

Goldfarb AH, Bloomer RJ, McKenzie MJ. Combined antioxidant treatment effects on blood oxidative stress after eccentric exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 2005; 37 (2): 234-239.

Gomez-Cabrera MC, Domenech E, Romagnoli M, Arduini A, Borrás C, Pallardo FV, Sastre J, Viña J. Oral administration of vitamin C decreases muscle mitochondrial biogenesis and hampers training-induced adaptations in endurance performance. *Am J Clin Nutr.* 2008; 87 (1): 142-149.

Güzel NA, Hazar S, Erbas D. Effects of different resistance exercise protocols on nitric oxide, lipid peroxidation and creatine kinase activity in sedentary males. *J Sports Sci Med.* 2007; 6 (4): 417-422.

Halliwell B, Whiteman M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *Br J Pharmacol*. 2004; 142 (2): 231-255.

Harada A, Sekido N, Akahoshi T, Wada T, Mukaida N, Matsushima K. Essential involvement of interleukin-8 (IL-8) in acute inflammation. *J Leukoc Biol*. 1994; 56 (5): 559-564.

Haramizu S, Ota N, Hase T, Murase T. Catechins attenuate eccentric exercise-induced inflammation and loss of force production in muscle in senescence-accelerated mice. *J Appl Physiol*. 2011; 111 (6): 1654-1663.

Harris RC, Söderlund K, Hultman E. Elevation of creatine in resting and exercised muscle of normal subjects by creatine supplementation. *Clin Sci (Lond)*. 1992; 83 (3): 367-374.

Hasson SM, Daniels JC, Divine JG, Niebuhr BR, Richmond S, Stein PG, Williams JH. Effect of ibuprofen use on muscle soreness, damage, and performance: a preliminary investigation. *Med Sci Sports Exerc*. 1993; 25 (1): 9-17.

Hayden MS, Ghosh S. Signaling to NF-kappaB. *Genes Dev*. 2004; 18 (18): 2195-2224.

Heled Y, Bloom MS, Wu TJ, Stephens Q, Deuster PA. CK-MM and ACE genotypes and physiological prediction of the creatine kinase response to exercise. *J Appl Physiol*. 2007; 103 (2): 504-510.

Hellsten Y, Frandsen U, Orthenblad N, Sjødin B, Richter EA. Xanthine oxidase in human skeletal muscle following eccentric exercise: a role in inflammation. *J Physiol*. 1997; 498 (Pt 1): 239-248.

Hultman E, Söderlund K, Timmons JA, Cederblad G, Greenhaff PL. Muscle creatine loading in men. *J Appl Physiol*. 1996; 81 (1): 232-237.

Jajtner AR, Hoffman JR, Townsend JR, Beyer KS, Varanoske AN, Church DD, Oliveira LP, Herrlinger KA, Radom-Aizik S, Fukuda DH, Stout JR. The effect of polyphenols on cytokine and granulocyte response to resistance exercise. *Physiol Rep*. 2016; 4 (24): e13058.

Jamurtas AZ, Theocharis V, Tofas T, Tsiokanos A, Yfanti C, Paschalis V, Koutedakis Y, Nosaka K. Comparison between leg and arm eccentric exercises of the same relative intensity on indices of muscle damage. *Eur J Appl Physiol*. 2005; 95 (2-3): 179-185.

Jaruga E, Salvioli S, Dobrucki J, Chrul S, Bandorowicz-Pikuła J, Sikora E, Franceschi C, Cossarizza A, Bartosz G. Apoptosis-like, reversible changes in plasma membrane asymmetry and permeability, and transient

modifications in mitochondrial membrane potential induced by curcumin in rat thymocytes. *FEBS Lett.* 1998; 433 (3): 287-293.

Ji LL, Gomez-Cabrera MC, Steinhafel N, Vina J. Acute exercise activates nuclear factor (NF)-kappaB signaling pathway in rat skeletal muscle. *FASEB J.* 2004; 18 (13): 1499-1506.

Jiménez-Jiménez R, Cuevas MJ, Almar M, Lima E, García-López D, De Paz JA, González-Gallego J. Eccentric training impairs NF-kappaB activation and over-expression of inflammation-related genes induced by acute eccentric exercise in the elderly. *Mech Ageing Dev.* 2008; 129 (6): 313-321.

Jobin C, Bradham CA, Russo MP, Juma B, Narula AS, Brenner DA, Sartor RB. Curcumin blocks cytokine-mediated NF-kappa B activation and proinflammatory gene expression by inhibiting inhibitory factor I-kappa B kinase activity. *J Immunol.* 1999; 163 (6): 3474-3483.

Jones DA, Newham DJ, Round JM, Tolfree SE. Experimental human muscle damage: morphological changes in relation to other indices of damage. *J Physiol.* 1986; 375: 435-448.

Jurenka JS. Anti-inflammatory properties of curcumin, a major constituent of *Curcuma longa*: a review of preclinical and clinical research. *Altern Med Rev.* 2009; 14 (2): 141-153.

Kang G, Kong PJ, Yuh YJ, Lim SY, Yim SV, Chun W, Kim SS. Curcumin suppresses lipopolysaccharide-induced cyclooxygenase-2 expression by inhibiting activator protein 1 and nuclear factor kappaB bindings in BV2 microglial cells. *J Pharmacol Sci.* 2004; 94 (3): 325-328.

Karant J, Jeevaratnam K. Oxidative stress and antioxidant status in rat blood, liver and muscle: effect of dietary lipid, carnitine and exercise. *Int J Vitam Nutr Res.* 2005; 75 (5): 333-339.

Kawanishi N, Kato K, Takahashi M, Mizokami T, Otsuka Y, Imaizumi A, Shiva D, Yano H, Suzuki K. Curcumin attenuates oxidative stress following downhill running-induced muscle damage. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013; 441 (3): 573-578.

Kim GY, Kim KH, Lee SH, Yoon MS, Lee HJ, Moon DO, Lee CM, Ahn SC, Park YC, Park YM. Curcumin inhibits immunostimulatory function of dendritic cells: MAPKs and translocation of NF-kappa B as potential targets. *J Immunol.* 2005; 174 (12): 8116-8124.

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

- Lal B, Kapoor AK, Asthana OP, Agrawal PK, Prasad R, Kumar P, Srimal RC. Efficacy of curcumin in the management of chronic anterior uveitis. *Phytother Res.* 1999; 13 (4): 318-322.
- Lavender AP, Nosaka K. Changes in markers of muscle damage of middle-aged and young men following eccentric exercise of the elbow flexors. *J Sci Med Sport.* 2008; 11 (2): 124-131.
- Leamy AW, Shukla P, McAlexander MA, Carr MJ, Ghatta S. Curcumin ((E,E)-1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione) activates and desensitizes the nociceptor ion channel TRPA1. *Neurosci Lett.* 2011; 503 (3): 157-162.
- Lee J, Goldfarb AH, Rescino MH, Hegde S, Patrick S, Apperson K. Eccentric exercise effect on blood oxidative-stress markers and delayed onset of muscle soreness. *Med Sci Sports Exerc.* 2002; 34 (3): 443-448.
- Lenn J, Uhl T, Mattacola C, Boissonneault G, Yates J, Ibrahim W, Bruckner G. The effects of fish oil and isoflavones on delayed onset muscle soreness. *Med Sci Sports Exerc.* 2002; 34 (10): 1605-1613.
- Li Q, Verma IM. NF-kappaB regulation in the immune system. *Nat Rev Immunol.* 2002; 2 (10): 725-734.
- Lin JG, Yang SH. Effects of acupuncture on exercise-induced muscle soreness and serum creatine kinase activity. *Am J Chin Med.* 1999; 27 (3-4): 299-305.
- Lin YG, Kunnumakkara AB, Nair A, Merritt WM, Han LY, Armaiz-Pena GN, Kamat AA, Spannuth WA, Gershenson DM, Lutgendorf SK, Aggarwal BB, Sood AK. Curcumin inhibits tumor growth and angiogenesis in ovarian carcinoma by targeting the nuclear factor-kappaB pathway. *Clin Cancer Res.* 2007; 13 (11): 3423-3430.
- MacIntyre DL, Reid WD, McKenzie DC. Delayed muscle soreness. The inflammatory response to muscle injury and its clinical implications. *Sports Med.* 1995; 20 (1): 24-40.
- Marchiani A, Rozzo C, Fadda A, Delogu G, Ruzza P. Curcumin and curcumin-like molecules: from spice to drugs. *Curr Med Chem.* 2014; 21 (2): 204-222.
- McBride JM, Kraemer WJ, Triplett-McBride T, Sebastianelli W. Effect of resistance exercise on free radical production. *Med Sci Sports Exerc.* 1998; 30 (1): 67-72.
- McFarlin BK, Venable AS, Henning AL, Sampson JN, Pennel K, Vingren JL, Hill DW. Reduced inflammatory and muscle damage biomarkers following oral supplementation with bioavailable curcumin. *BBA Clin.* 2016; 5: 72-78.

McGinley C, Shafat A, Donnelly AE. Does antioxidant vitamin supplementation protect against muscle damage? *Sports Med.* 2009; 39 (12): 1011-1032.

McLoughlin TJ, Mylona E, Hornberger TA, Esser KA, Pizza FX. Inflammatory cells in rat skeletal muscle are elevated after electrically stimulated contractions. *J Appl Physiol.* 2003; 94 (3): 876-882.

Menon VP, Sudheer AR. Antioxidant and anti-inflammatory properties of curcumin. *Adv Exp Med Biol.* 2007; 595: 105-125.

Miles MP, Clarkson PM. Exercise-induced muscle pain, soreness, and cramps. *J Sports Med Phys Fitness.* 1994; 34 (3): 203-216.

Moini Zanjani T, Ameli H, Labibi F, Sedaghat K, Sabetkasaei M. The Attenuation of Pain Behavior and Serum COX-2 Concentration by Curcumin in a Rat Model of Neuropathic Pain. *Korean J Pain.* 2014; 27 (3): 246-252.

Morgan DL. New insights into the behavior of muscle during active lengthening. *Biophys J.* 1990; 57 (2): 209-221.

Moriyuki K, Sekiguchi F, Matsubara K, Nishikawa H, Kawabata A. Curcumin Inhibits the proteinase-activated receptor-2-triggered prostaglandin E2 production by suppressing cyclooxygenase-2 upregulation and Akt-dependent activation of nuclear factor- κ B in human lung epithelial cells. *J Pharmacol Sci.* 2010; 114 (2): 225-229.

Mourkioti F, Kratsios P, Luedde T, Song YH, Delafontaine P, Adami R, Parente V, Bottinelli R, Pasparakis M, Rosenthal N. Targeted ablation of IKK2 improves skeletal muscle strength, maintains mass, and promotes regeneration. *J Clin Invest.* 2006; 116 (11): 2945-2954.

Nakagawa K, Zingg JM, Kim SH, Thomas MJ, Dolnikowski GG, Azzi A, Miyazawa T, Meydani M. Differential cellular uptake and metabolism of curcuminoids in monocytes/macrophages: regulatory effects on lipid accumulation. *Br J Nutr.* 2014; 112 (1): 8-14.

Nakazato K, Ochi E, Waga T. Dietary apple polyphenols have preventive effects against lengthening contraction-induced muscle injuries. *Mol Nutr Food Res.* 2010; 54 (3): 364-372.

Nicol LM, Rowlands DS, Fazakerly R, Kellett J. Curcumin supplementation likely attenuates delayed onset muscle soreness (DOMS). *Eur J Appl Physiol.* 2015; 115 (8): 1769-1777.

- Nirmala C, Puvanakrishnan R. Protective role of curcumin against isoproterenol induced myocardial infarction in rats. *Mol Cell Biochem.* 1996; 159 (2): 85-93.
- Nolan GP, Ghosh S, Liou HC, Tempst P, Baltimore D. DNA binding and I kappa B inhibition of the cloned p65 subunit of NF-kappa B, a rel-related polypeptide. *Cell.* 1991; 64 (5): 961-969.
- Nosaka K, Aldayel A, Jubeau M, Chen TC. Muscle damage induced by electrical stimulation. *Eur J Appl Physiol.* 2011; 111 (10): 2427-2437.
- Nosaka K, Chapman D, Newton M, Sacco P. Is isometric strength loss immediately after eccentric exercise related to changes in indirect markers of muscle damage? *Appl Physiol Nutr Metab.* 2006; 31 (3): 313-319.
- Nosaka K, Newton M, Sacco P, Chapman D, Lavender A. Partial protection against muscle damage by eccentric actions at short muscle lengths. *Med Sci Sports Exerc.* 2005; 37 (5): 746-753.
- Nosaka K, Sacco P, Mawatari K. Effects of amino acid supplementation on muscle soreness and damage. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2006; 16 (6): 620-635.
- Nosaka K, Sakamoto K, Newton M, Sacco P. The repeated bout effect of reduced-load eccentric exercise on elbow flexor muscle damage. *Eur J Appl Physiol.* 2001; 85 (1-2): 34-40.
- Nugroho AE, Ikawati Z, Sardjiman, Maeyama K. Effects of benzylidenecyclopentanone analogues of curcumin on histamine release from mast cells. *Biol Pharm Bull.* 2009; 32 (5): 842-849.
- Panwalkar A, Verstovsek S, Giles F. Nuclear factor-kappaB modulation as a therapeutic approach in hematologic malignancies. *Cancer.* 2004; 100 (8): 1578-1589.
- Pelosi L, Giacinti C, Nardis C, Borsellino G, Rizzuto E, Nicoletti C, Wannenes F, Battistini L, Rosenthal N, Molinaro M, Musarò A. Local expression of IGF-1 accelerates muscle regeneration by rapidly modulating inflammatory cytokines and chemokines. *FASEB J.* 2007; 21 (7): 1393-1402.
- Philippou A, Bogdanis G, Maridaki M, Halapas A, Sourla A, Koutsilieris M. Systemic cytokine response following exercise-induced muscle damage in humans. *Clin Chem Lab Med.* 2009; 47 (6): 777-782.
- Pizza FX, Koh TJ, McGregor SJ, Brooks SV. Muscle inflammatory cells after passive stretches, isometric contractions, and lengthening contractions. *J Appl Physiol.* 2002; 92 (5): 1873-1878.

Priyadarsini KI, Maity DK, Naik GH, Kumar MS, Unnikrishnan MK, Satav JG, Mohan H. Role of phenolic O-H and methylene hydrogen on the free radical reactions and antioxidant activity of curcumin. *Free Radic Biol Med.* 2003; 35 (5): 475-484.

Proske U, Morgan DL. Muscle damage from eccentric exercise: mechanism, mechanical signs, adaptation and clinical applications. *J Physiol.* 2001; 1 (537) (Pt 2): 333-345.

Ra SG, Miyazaki T, Ishikura K, Nagayama H, Komine S, Nakata Y, Maeda S, Matsuzaki Y, Ohmori H. 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 (1): 51.

Raastad T, Owe SG, Paulsen G, Enns D, Overgaard K, Crameri R, Kiil S, Belcastro A, Bergersen L, Hallén J. Changes in calpain activity, muscle structure, and function after eccentric exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 2010; 42 (1): 86-95.

Rahman I, MacNee W. Role of transcription factors in inflammatory lung diseases. *Thorax.* 1998; 53 (7): 601-612.

Rodenburg JB, de Boer RW, Schiereck P, van Echteld CJ, Bär PR. Changes in phosphorus compounds and water content in skeletal muscle due to eccentric exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1994; 68 (3): 205-213.

Rodrigues BM, Dantas E, de Salles BF, Miranda H, Koch AJ, Willardson JM, Simão R. Creatine kinase and lactate dehydrogenase responses after upper-body resistance exercise with different rest intervals. *J Strength Cond Res.* 2010; 24 (6): 1657-1662.

Rosendal L, Sogaard K, Kjaer M, Sjøgaard G, Langberg H, Kristiansen J. Increase in interstitial interleukin-6 of human skeletal muscle with repetitive low-force exercise. *J Appl Physiol.* 2005; 98 (2): 477-481.

Rottner M, Freyssinet JM, Martínez MC. Mechanisms of the noxious inflammatory cycle in cystic fibrosis. *Respir Res.* 2009; 10 (1): 23.

Rowlands DS, Thomson JS. Effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate supplementation during resistance training on strength, body composition, and muscle damage in trained and untrained young men: a meta-analysis. *J Strength Cond Res.* 2009; 23 (3): 836-846.

Ruby AJ, Kuttan G, Babu KD, Rajasekharan KN, Kuttan R. Anti-tumour and antioxidant activity of natural curcuminoids. *Cancer Lett.* 1995; 94 (1): 79-83.

Safran MR, Seaber AV, Garrett WE Jr. Warm-up and muscular injury prevention. An update. *Sports Med.* 1989; 8 (4): 239-249.

Sahlin K, Cizinsky S, Warholm M, Höberg J. Repetitive static muscle contractions in humans--a trigger of metabolic and oxidative stress? *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1992; 64 (3): 228-236.

Sanchez-Martinez J, Santos-Lozano A, Garcia-Hermoso A, Sadarangani KP, Cristi-Montero C. Effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate supplementation on strength and body composition in trained and competitive athletes: A meta-analysis of randomized controlled trials. *J Sci Med Sport.* 2018; 21 (7): 727-735.

Sasaki H, Sunagawa Y, Takahashi K, Imaizumi A, Fukuda H, Hashimoto T, Wada H, Katanasaka Y, Takeya H, Fujita M, Hasegawa K, Morimoto T. Innovative preparation of curcumin for improved oral bioavailability. *Biol Pharm Bull.* 2011; 34 (5): 660-665.

Satoskar RR, Shah SJ, Shenoy SG Evaluation of anti-inflammatory property of curcumin (diferuloyl methane) in patients with postoperative inflammation. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol.* 1986; 24 (12): 651-654.

Sayers SP, Knight CA, Clarkson PM, Van Wegen EH, Kamen G. Effect of ketoprofen on muscle function and sEMG activity after eccentric exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 2001; 33 (5): 702-710.

Sen R, Baltimore D. Multiple nuclear factors interact with the immunoglobulin enhancer sequences. *Cell.* 1986; 46 (5): 705-716.

Sharma OP. Antioxidant activity of curcumin and related compounds. *Biochem Pharmacol.* 1976; 25 (15): 1811-1812.

Sharma RA, Euden SA, Platton SL, Cooke DN, Shafayat A, Hewitt HR, Marczyklo TH, Morgan B, Hemingway D, Plummer SM, Pirmohamed M, Gescher AJ, Steward WP. Phase I clinical trial of oral curcumin: biomarkers of systemic activity and compliance. *Clin Cancer Res.* 2004; 10 (20): 6847-6854.

Shen YC, Yen JC, Liou KT. Ameliorative effects of caffeic acid phenethyl ester on an eccentric exercise-induced skeletal muscle injury by down-regulating NF- κ b mediated inflammation. *Pharmacology.* 2013; 91 (3-4): 219-228.

Shishodia S, Singh T, Chaturvedi MM. Modulation of transcription factors by curcumin. *Adv Exp Med Biol.* 2007; 595: 127-148.

- Shoji M, Nakagawa K, Watanabe A, Tsuduki T, Yamada T, Kuwahara S, Kimura F, Miyazawa T. Comparison of the effects of curcumin and curcumin glucuronide in human hepatocellular carcinoma HepG2 cells. *Food Chem.* 2014; 151: 126-132.
- Singh S, Aggarwal BB. Activation of transcription factor NF-kappa B is suppressed by curcumin (diferuloylmethane). *J Biol Chem.* 1995; 270 (42): 24995-25000.
- Srimal RC, Dhawan BN. Pharmacology of diferuloyl methane (curcumin), a non-steroidal anti-inflammatory agent. *J Pharm Pharmacol.* 1973; 25 (6): 447-452.
- Stofan DA, Callahan LA, DiMARCO AF, Nethery DE, Supinski GS. Modulation of release of reactive oxygen species by the contracting diaphragm. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000; 161 (3 Pt 1): 891-898.
- Strimpakos AS, Sharma RA. Curcumin: preventive and therapeutic properties in laboratory studies and clinical trials. *Antioxid Redox Signal.* 2008; 10 (3): 511-545.
- Surh YJ, Chun KS, Cha HH, Han SS, Keum YS, Park KK, Lee SS. Molecular mechanisms underlying chemopreventive activities of anti-inflammatory phytochemicals: down-regulation of COX-2 and iNOS through suppression of NF-kappa B activation. *Mutat Res.* 2001; 480-481: 243-268.
- Takahashi H, Kuno S, Miyamoto T, Yoshioka H, Inaki M, Akima H, Katsuta S, Anno I, Itai Y. Changes in magnetic resonance images in human skeletal muscle after eccentric exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1994; 69 (5): 408-413.
- Takahashi M, Suzuki K, Kim HK, Otsuka Y, Imaizumi A, Miyashita M, Sakamoto S. Effects of curcumin supplementation on exercise-induced oxidative stress in humans. *Int J Sports Med.* 2014; 35 (6): 469-475.
- Takekura H, Fujinami N, Nishizawa T, Ogasawara H, Kasuga N. Eccentric exercise-induced morphological changes in the membrane systems involved in excitation-contraction coupling in rat skeletal muscle. *J Physiol.* 2001; 1 (533) (Pt 2): 571-583.
- Thalacker-Mercer AE, Dell'Italia LJ, Cui X, Cross JM, Bamman MM. Differential genomic responses in old vs. young humans despite similar levels of modest muscle damage after resistance loading. *Physiol Genomics.* 2010; 40 (3): 141-149.
- Thaloor D, Miller KJ, Gephart J, Mitchell PO, Pavlath GK. Systemic administration of the NF-kappaB inhibitor curcumin stimulates muscle regeneration after traumatic injury. *Am J Physiol.* 1999; 277 (2 Pt 1): C320-329.

Thapa A, Vernon BC, De la Peña K, Soliz G, Moreno HA, López GP, Chi EY. Membrane-mediated neuroprotection by curcumin from amyloid- β -peptide-induced toxicity. *Langmuir*. 2013; 29 (37):11713-11723.

Tiidus PM. Radical species in inflammation and overtraining. *Can J Physiol Pharmacol*. 1998;76(5):533-8.

Urso ML, Clarkson PM. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology*. 2003; 189 (1-2): 41-54.

Tsuchiya Y, Yanagimoto K, Nakazato K, Hayamizu K, Ochi E. Eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids-rich fish oil supplementation attenuates strength loss and limited joint range of motion after eccentric contractions: a randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group trial. *Eur J Appl Physiol*. 2016; 116 (6): 1179-1188.

Urso ML, Clarkson PM. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology*. 2003; 189 (1-2): 41-54.

Vareed SK, Kakarala M, Ruffin MT, Crowell JA, Normolle DP, Djuric Z, Brenner DE. Pharmacokinetics of curcumin conjugate metabolites in healthy human subjects. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2008; 17 (6): 1411-1417.

Venkatesan N, Punithavathi D, Arumugam V. Curcumin prevents adriamycin nephrotoxicity in rats. *Br J Pharmacol*. 2000; 129 (2): 231-234.

Vincent B, Windelinckx A, Nielens H, Ramaekers M, Van Leemputte M, Hespel P, Thomis MA. Protective role of alpha-actinin-3 in the response to an acute eccentric exercise bout. *J Appl Physiol*. 2010; 109(2): 564-573.

Wahlström B, Blennow G. A study on the fate of curcumin in the rat. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)*. 1978; 43 (2): 86-92.

Warren GL, Ingalls CP, Lowe DA, Armstrong RB. Excitation-contraction uncoupling: major role in contraction-induced muscle injury. *Exerc Sport Sci Rev*. 2001; 29 (2): 82-87.

Warren GL, Ingalls CP, Lowe DA, Armstrong RB. What mechanisms contribute to the strength loss that occurs during and in the recovery from skeletal muscle injury? *J Orthop Sports Phys Ther*. 2002; 32 (2): 58-64.

Warren GL, Lowe DA, Armstrong RB. Measurement tools used in the study of eccentric contraction-induced injury. *Sports Med*. 1999; 27 (1): 43-59.

Yang F, Lim GP, Begum AN, Ubada OJ, Simmons MR, Ambegaokar SS, Chen PP, Kayed R, Glabe CG, Frautschy SA, Cole GM. Curcumin inhibits formation of amyloid beta oligomers and fibrils, binds plaques, and reduces amyloid in vivo. *J Biol Chem*. 2005; 280 (7): 5892-5901.

Yeon KY, Kim SA, Kim YH, Lee MK, Ahn DK, Kim HJ, Kim JS, Jung SJ, Oh SB. Curcumin produces an antihyperalgesic effect via antagonism of TRPV1. *J Dent Res*. 2010; 89 (2): 170-174.

Zhang F, Altorki NK, Mestre JR, Subbaramaiah K, Dannenberg AJ. Curcumin inhibits cyclooxygenase-2 transcription in bile acid- and phorbol ester-treated human gastrointestinal epithelial cells. *Carcinogenesis*. 1999; 20 (3): 445-451.

井澤鉄也: 疲労. からだを動かすしくみ, (中本哲 井澤鉄也 若山章信 著), pp.67-78, 杏林書院, 東京, 2001.

江口裕伸 鈴木敬一郎: 運動と酸化ストレスと免疫. 運動と免疫 からだをまもる運動のふしぎ, (大野秀樹 木崎節子 編著), pp.195-205, ナッパ, 東京, 2009.

斎藤大蔵: 運動と免疫関連細胞. 運動と免疫 からだをまもる運動のふしぎ, (大野秀樹 木崎節子 編著), pp.29-34, ナッパ, 東京, 2009.

白木仁: 運動器の構造と機能. 公認アスレティックトレーナー専門科目テキスト第2巻 運動器の解剖と機能, (日本体育協会 発行), pp.20, 文光堂, 東京, 2007.

奈良信雄: 各種疾患の概要. 臨床医学講座臨床医学総論/臨床検査医学総論, (奈良信雄 著), pp.239-240, 医歯薬出版株式会社, 東京, 2001.

野坂和則: 筋とコンディショニング. 筋の科学事典 構造・機能・運動, (福永哲夫 編), pp.455-456, 朝倉書店, 東京, 2002.

松原修: 病理学総論. 臨床医学講座病理学/病理学検査, (松原修 丸山隆 中田穂出美 都竹正文 著), pp.31-47, 医歯薬出版株式会社, 東京, 2000.

松村譲児: 筋. プロメテウス解剖学アトラス 解剖学総論/運動器系, (坂井建雄 松村譲児 監訳), pp.56, 医学書院, 東京, 2007.

鮫島宗一: 総論. 炎症と生体防御, (鮫島宗一 編), pp.1-5, 岩波書店, 東京, 1976.

参考図書

Majeed D and Badmaev V. Curcuminoids - antioxidant phytonutrients. *NutriScience Publishers, Inc. New Jersey, USA*. 2003.

勝田茂 編著 *運動生理学 20 講*, 朝倉書店, 東京, 1993.

福永哲夫 編 *筋の科学事典-構造・機能・運動-*, 朝倉書店, 東京, 2002.