

〈研究資料〉

トライアスロンのレースにおける酸化ストレスとパフォーマンスとの関連性

都築 孝允^{*,**}・月岡 恵惟^{***}・田中 智美^{****}・長登 健^{**}

Relationship between oxidative stress and performance in triathlon race

Takamasa TSUZUKI^{*,**}, Kei TSUKIOKA^{***}, Tomomi HASEGAWA-TANAKA^{****}
and Takeshi NAGATO^{**}

Abstract

目的：本研究の目的は、大学生トライアスリートを対象に、ショートディスタンス・トライアスロンにおけるパフォーマンスと酸化ストレスとの関連性について明らかにすることであった。

方法：10名の大学生トライアスリートは、ショートディスタンス・トライアスロンのレースとして、関東学生トライアスロン選手権に参加した。レース前後に指先より微量の血液を採取し、酸化度を示すd-ROMsおよび抗酸化力を示すBAPを測定し、潜在的抗酸化能(BAP÷d-ROMs)および相対的酸化ストレス度(Oxidative Stress Index: OSI; d-ROM÷BAP×補正值)を算出した。各パラメータの変化率とパフォーマンスとの関連性は相関分析を用いて評価した。

結果：二元配置分散分析の結果、d-ROMsおよびOSIはレース後に減少し、一方BAPおよびBAP/d-ROMs比はレース後に増加した。さらに、BAPおよびBAP/d-ROMs比において交互作用が認められ、上位群と下位群では増加の程度が異なることが示された。また、BAP/d-ROMs比の変化率とレースタイムとの間に有意な相関関係が認められ、BAP/d-ROMs比の増加率が大きいほど、パフォーマンスが良いことが示された($r = -0.646, p < 0.05$)。

結論：大学生トライアスリートにおいて、レース前後の酸化ストレス指標における還元(抗酸化)側への増加率とパフォーマンスが関連する可能性が示唆される。

Key words: トライアスロン, 酸化ストレス, d-ROMs, BAP

I. 緒 言

トライアスロン競技は水泳(スイム)、自転車(バイク)、長距離走(ラン)の3種目を連続して行

う複合競技であり、オリンピックではショートディスタンス(スイム1.5 km, バイク40 km, ラン10 km)が採用されている¹⁾。一般的に、有酸素系のエネルギー需要が高い持久的種目においては、運動中における酸素摂取量の増加に伴い、活性酸素種(Reactive Oxygen Species: ROS)の発生量が増加する²⁾。一方、生体恒常性を維持するため、発生したROSは抗酸化機構により酵素的または非酵素的に速やかに還元される。そして、ROSの産生が過剰になり酸化-還元のバランスが酸化側に傾いた状態を酸化ストレスという¹⁵⁾。

これまで、ROSの増加は筋収縮による力発揮の

* 名城大学薬学部

Faculty of Pharmacy, Meijo University

** 順天堂大学スポーツ健康科学部

School of Health and Sports Science, Juntendo University

*** 順天堂大学大学院スポーツ健康科学研究科

Graduate School of Health and Sports Science, Juntendo University

**** 城西国際大学経営情報学部

Faculty of Management & Information Sciences, Josai International University

減弱や筋疲労を生じさせる¹³⁾ため、酸化ストレスはパフォーマンス低下の一要因として考えられてきた。酸化ストレスとパフォーマンスとの関連性は必ずしも明らかにはされていないが、先行研究の報告によると、自転車競技やアルペンスキーといった持久的種目において、酸化ストレスとパフォーマンスの間に負の相関が認められることが報告されている⁵⁾⁷⁾¹⁴⁾。また、トライアスロン競技においても酸化ストレスとパフォーマンスとの関連性は検討されており、酸化ストレスの指標である酸化型グルタチオンのレース後の変化が大きいほどレースタイムが長いことや、反対に生体内の抗酸化物質として働く還元型グルタチオンのレース前の値が高いほどパフォーマンスが良いことが報告されている⁸⁾。しかしながら、トライアスロンの酸化ストレス指標を検討している研究は、ロングディスタンス・トライアスロン(アイアンマンレース; スイム3.8 km, バイク180 km, ラン42.195 km)を対象としたものが多く⁹⁾、我々の知る限り、酸化ストレス指標とパフォーマンスとの関連をショートディスタンス・トライアスロンの実際のレースで検討したものはない。

ところで近年では、酸化度を示す Reactive Oxygen Metabolites (d-ROMs) および抗酸化力を示す Biological Anti-Oxidant Potential (BAP) という指標が開発され^{11) 16)}、陸上競技の長距離選手においてコンディションの評価やパフォーマンスを推測できる可能性が報告され注目されている¹⁷⁾。従来の酸化ストレス指標は、発生した ROS によるタンパク質や脂質の酸化物の増加や体内の抗酸化物質の減少などを個々に評価するのに対して、d-ROMs は血中のヒドロキシペルオキシド (ROOH) 濃度を測定し、生体内の酸化ストレス度を総合的に評価する指標である¹⁶⁾。BAP は酸化鉄をどの程度還元できるかという還元力(抗酸化力)を測定する指標であり、酸化-還元反応を用いて測定する方法である¹¹⁾。また、これらの測定の利点として、微量の血液から短時間で簡便に測定ができるため¹⁶⁾、現場への応用性が高いと考えられている。

そこで本研究は上述の指標を用いて、ショートデ

ィスタンス・トライアスロンにおけるパフォーマンスと酸化ストレスとの関連性について明らかにすることを目的とした。

II. 方 法

1. 対象者

本学トライアスロン部に所属する男子大学生トライアスリート10名を対象とした。被験者の身体特性は表1に示した。対象者は普段から週4~6日のトレーニングを行っており、レースの2週間前の練習量は、スイム: 10~12 km/週, バイク: 100~160 km/週, ラン: 20~30 km/週ほどであった。対象者の身体特性は、実験日から2週間以内に測定した値を用いた。体重および体脂肪率は体組成成分測定器 Body Composition Analyzer InBody730 (株式会社バイオスペース)を用いて測定した。身体組成の測定は早朝に行い、対象者には測定が終わるまで朝食や水分を取らないよう指示した。対象者には事前に研究の目的、手順および考えられる不利益や危険性について口頭および文書で説明し、本人の意思により研究参加の同意を得た。本研究は、順天堂大学スポーツ健康科学部研究等倫理委員会の承認を得て行われた(29-10号)。

2. 実験デザイン

ショートディスタンス・トライアスロン(スイム1.5 km, バイク40 km, ラン10 km)のレースとして、関東学生トライアスロン選手権を対象とした。スイムタイム, バイクタイム, ランタイムおよび総タイムは日本学生トライアスロン連合が提示する公

表1 被験者の身体特性およびレースタイム

身体特性	
身長 (cm)	169.5 ± 2.1
体重 (kg)	63.5 ± 5.6
体脂肪率 (%)	12.1 ± 3.1
レースタイム	
総合	2:14'01" ± 10'24"
スイム	26'06" ± 3'55"
バイク	1:06'37" ± 4'24"
ラン	42'21" ± 3'47"

式記録を用いた(表1)。レース前後の酸化ストレス指標を分析するために指先より微量の血液を採取した。レース前の採血は前日の早朝に一晩絶食の状態で行い、レース後はゴール後10分以内に採血した。解析する際は、総合タイムをもとにパフォーマンスの上位群と下位群に分けて検討した。

3. 酸化ストレス指標

血液を遠心分離し、血清を回収しフリーラジカル解析装置(Free Carrioduo, Diacron社)を用いて、酸化度を示すd-ROMsおよび抗酸化力を示すBAPを測定マニュアルに従い分析した。d-ROMsは生体内の活性酸素やフリーラジカルにより生じた血中のヒドロキシペルオキシド(ROOH)濃度を、呈色反応を用いて505 nmでの吸光度の変化率から算出する。単位にはU.CARR.が用いられ、1 U.CARR.は過酸化水素0.08 mg/dLに相当する。基準値として、正常値:200-300, ボーダーライン:301-320, 軽度の酸化ストレス:321-340, 中程度の酸化ストレス:341-400, 強度の酸化ストレス:401-500, かなり強度の酸化ストレス:501以上が適用されている¹⁶⁾。一方、BAPはチオシアン酸誘導体を含む試薬と鉄イオンを含む試薬の混合液に血清を加え、血清が三価鉄(Fe^{3+})から二価鉄(Fe^{2+})に還元する際の吸光度の変化率から算出する。単位は μM を用い、基準値として、最適値:2200以上, ボーダーライン:2000-2199, 抗酸化力がやや不足:1800-1999, 抗酸化力が不足:1600-1799, 抗酸化力がかなり不足:1400-1599, 抗酸化力が大幅に不足:1399以下が適用されている¹¹⁾。また、潜在的抗酸化能($BAP \div d-ROMs$)および相対的酸化ストレス度(Oxidative Stress Index: OSI; $d-ROMs \div BAP \times$ 補正值)を算出した¹⁰⁾。OSIの算出に用いる補正值は基準となる集団の平均値が1.0になる値として設定されているため、本研究ではレース前の全体の平均値が1.0となるように補正值は8.2を用いた。加えて、各指標のレース前後での変化率(%)を算出した。また、我々の研究室で事前に確認した測定値の再現性は、d-ROMs: CV=0.5%, BAP: CV=0.9%であった。

4. 統計処理

得られたデータは、全て平均値 \pm 標準偏差で示した。統計解析には、GraphPad Prism 8(GraphPad Software社, San Diego, CA, USA)を用い、対応のある二元配置分散分析(時間 \times 群)を行い、交互作用に統計的な有意差が認められた場合、Bonferroniの事後検定を行った。また、パフォーマンスと酸化ストレス指標の変化率との相関関係はピアソンの相関分析を用いた。有意水準は $p < 0.05$ とした。

III. 結 果

1. レース前後における酸化ストレス指標

図1にレース前後のd-ROMs, BAP, BAP/d-ROMs比およびOSIを示した。二元配置分散分析の結果、いずれの項目においても時間による主効果が認められ、d-ROMsおよびOSIはレース後に減少し、一方BAPおよびBAP/d-ROMs比は、レース後に増加した。さらに、BAPおよびBAP/d-ROMs比において交互作用が認められ、事後検定の結果、BAPおよびBAP/d-ROMs比はレース前後で上位群および下位群ともに有意に上昇していた。また、レース前のBAPは下位群と比較して上位群の方が低い傾向にあったが($p = 0.063$)、レース後には有意な差は認められなかった。上位群と下位群では増加の程度が異なることが示された。一方、BAP/d-ROMs比については、レース前後ともに上位群と下位群で有意な差は認められなかった。加えて、OSIにおいても交互作用に傾向がみられ($p = 0.055$)、上位群と下位群では減少の程度が異なる傾向が示された。

2. 酸化ストレス指標とパフォーマンスとの関連性

図2には、レース前後のd-ROMs, BAP, BAP/d-ROMs比およびOSIの変化率とパフォーマンスとの関係を示した。BAP/d-ROMs比の変化率とレースタイムとの間に有意な相関関係が認められ、BAP/d-ROMs比の増加率が大きいほど、パフォーマンスが良いことが示された($r = -0.646, p < 0.05$)。また、BAPおよびOSIの変化率とレースタ

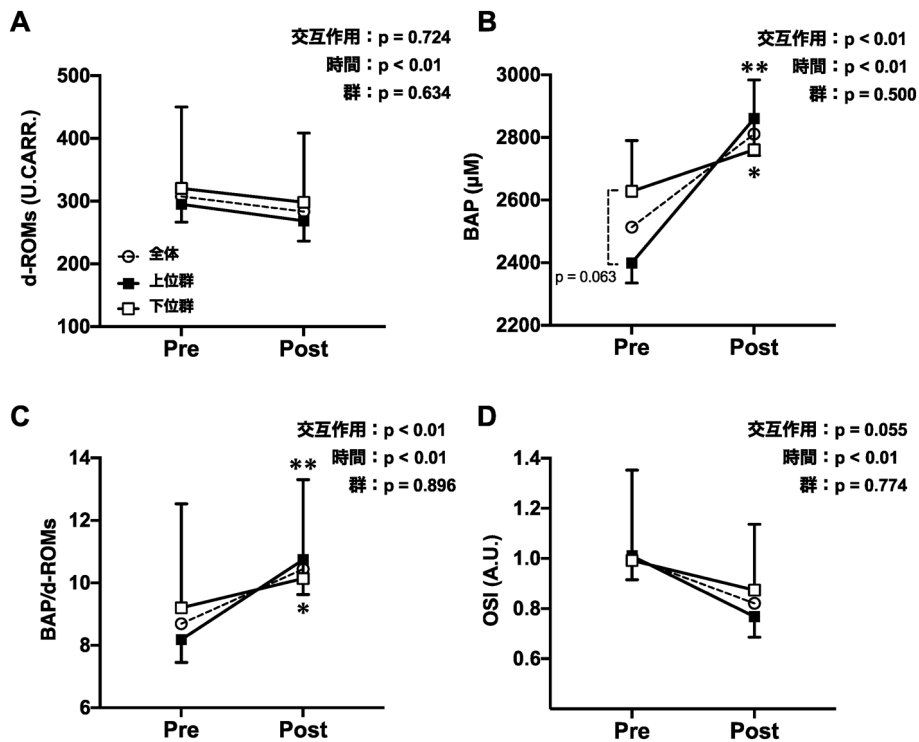


図1 レース前後における酸化ストレス指標
 レース前後の d-ROMs (A), BAP (B), BAP/d-ROMs (C), および OSI (D) を示した。
 データは平均値±標準偏差で示した. ** $p < 0.01$ vs. Pre, * $p < 0.05$ vs. Pre.

イムの間には相関傾向が見られ、BAPの増加率が大きいほど、またはOSIの減少率が小さいほど、パフォーマンスが良い傾向が示された (ΔBAP : $r = -0.582$, $p = 0.08$, ΔOSI : $r = -0.623$, $p = 0.053$). d-ROMsの変化率とレースタイムの間には有意な相関関係は認められなかった。

IV. 考 察

本研究の目的は、大学生トライアスリートを対象にショートディスタンス・トライアスロンにおけるパフォーマンスと酸化ストレスとの関連性を明らかにすることであった。本研究の結果、レースパフォーマンスの良かった選手ほどレース前後での抗酸化力の指標の増加の程度が大きく、また潜在的抗酸化能の増加率とパフォーマンスに有意な相関関係が認められた。これは、抗酸化力または酸化-抗酸化バランスの指標とパフォーマンスとの関連性を支持するエビデンスの一つと成り得ると考えられる。

本研究で対象とした関東学生トライアスロン選手

権の特徴として、1) 幅広い競技力の大学生トライアスリートが出場すること、2) 日本学生トライアスロン選手権の予選であるため、ベストに近いパフォーマンスが発揮されること、3) バイクにおけるドラフティングが禁止であり、他の選手との駆け引き等の心理的な影響は少なく、個々の身体的な能力がレース結果に大きな影響を与えることが挙げられ、パフォーマンスと生理的指標の関連性を検討するのに適していたと考えられる。加えて、本研究の主な特徴は実際のスポーツ現場を想定し、従来の酸化ストレス指標の測定より、微量の血液で分析が可能であり、かつ短時間(5分程度)で測定できる酸化ストレス指標としてd-ROMsおよびBAPを用いた点である¹¹⁾。これらの指標は両方を測定し、潜在的抗酸化能や相対的酸化ストレス度を算出することで、酸化-抗酸化のバランスを評価することが重要である。

本研究において、レースパフォーマンスを元に選手を二分位に分けて検討したところ、レースパフ

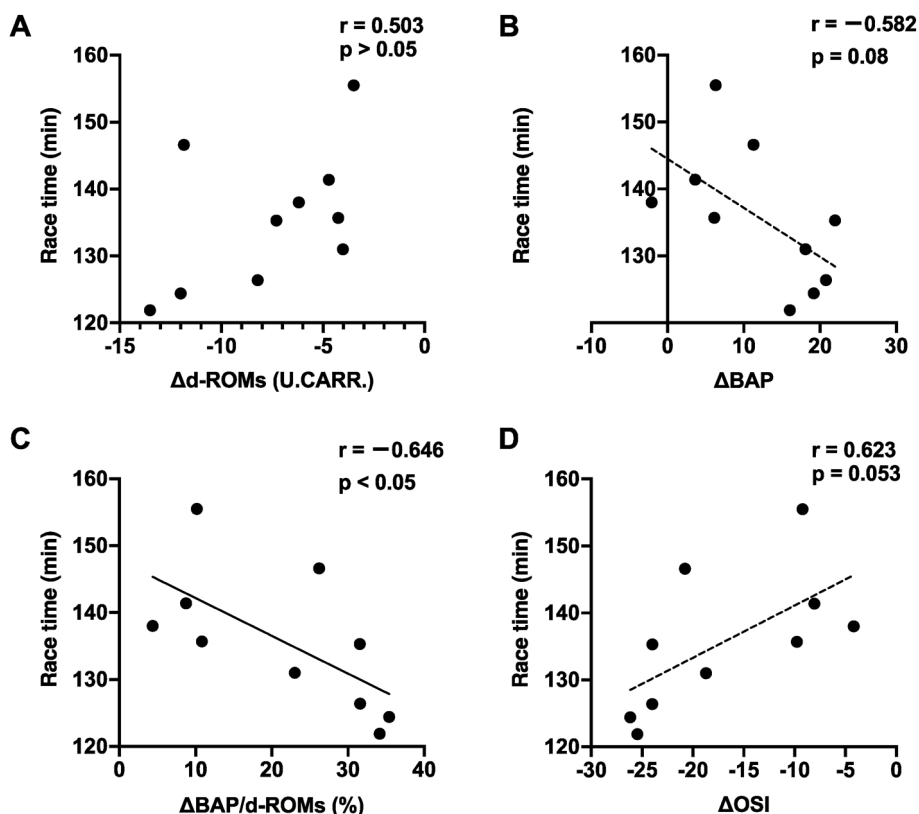


図2 酸化ストレス指標の変化率とパフォーマンスとの関係
レース前後のd-ROMs (A), BAP (B), BAP/d-ROMs (C), および OSI (D) の変化率と総合タイムとの関係を示した。

パフォーマンスの良い選手ほど、抗酸化力の指標であるBAPおよび潜在的抗酸化能を示すBAP/d-ROMs比の増加の程度が大きいことが明らかとなった。加えて、レース前後のBAP/d-ROMs比の増加率とパフォーマンスに相関関係が認められたことから、酸化-還元バランスを還元側に傾けることで良いパフォーマンス発揮に繋がる可能性が考えられる。この点については、因果関係を証明するためにさらなる研究が必要である。一方、レース後に酸化度の指標であるd-ROMsは低下し、レース後に酸化ストレスが上昇したと報告している先行研究⁶⁾⁹⁾¹²⁾とは異なる結果となった。この結果については2つの理由が考えられる。我々の別の研究において、大学生トライアスリートを対象にデュアスロン(1st Run: 5 km, Bike: 30 km, 2nd Run: 5 km)を行わせたところ、BAPは運動の継続時間が長くなるにつれて増加し続けるのに対し、d-ROMsは1st Run終了時

には増加したが、それ以降、運動を継続しているにも関わらず低下していくことを見出している(未発表データ)。そのため長時間運動の後半では、抗酸化能の亢進により発生したROSが速やかに還元されていく可能性が考えられる。もう1つは、精神的ストレスやそれに伴う自律神経系の乱れによってもd-ROMsが増加することが報告されており³⁾⁴⁾、レース前日の緊張などによりレース前のd-ROMs値が既に高かった可能性が考えられる。したがって、継続的に同一選手の酸化ストレス指標を測定することで、各選手のペースラインを把握しておくことが必要であると考えられる。しかしながら、d-ROMsの変化率とパフォーマンスには相関関係は見られなかったことから、d-ROMsのみの変化がパフォーマンスに与える影響は小さいと推察できる。

本研究において、主に3つの限界がある。1つは、サンプル数が少ないということである。2つ目

は、酸化ストレス指標として d-ROMs および BAP 以外の指標を測定していない点である。一般的に、酸化ストレスを評価する上では、複数の酸化ストレス指標を測定することが望ましいと考えられているが、本研究では指先から微量の採血しかしていないため、複数項目を測定することができなかった。しかしながら、本研究で用いた測定項目は微量の血液で測定ができることをメリットとしており、現場での汎用性を考えた場合、十分価値のある基礎データと成り得る。3つ目は、実際のレースを対象としたため、被験者の行動やサンプル採取において厳密にコントロールができなかった点である。この点については、今後実験室での研究やレースをシミュレートした実験のデータと照らし合わせていく必要がある。

V. 結 論

大学生トライアスリートにおいて、レース前後の潜在的抗酸化能の増加率とパフォーマンスが関連する可能性が示唆される。

謝辞

本研究に協力して下さった対象者の皆様に心より感謝申し上げます。本研究は、平成29年度スポーツ健康科学部学内共同研究による助成を受け実施されました。ここに深く感謝の意を表します。

利益相反

本研究に関わる利益相反はありません。

文 献

- Bentley, D. J., Millet, G. P., Vleck, V. E. & McNaughton, L. R. (2002) Specific aspects of contemporary triathlon: implications for physiological analysis and performance. *Sports Med* 32, 345-359.
- Davies, K. J., Quintanilha, A. T., Brooks, G. A. & Packer, L. (1982) Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochem Biophys Res Commun* 107(4), 1198-1205.
- Ebata, C., Tatsuta, H., & Tatemichi, M. (2017) Potential objective biomarkers for fatigue among working women. *J Occup Health* 59, 286-291.
- 久光直子, Hlaing, T., 郭試瑜, 石川慎太郎, 久光正 (2017) Small Island Stress 負荷がラットの血液流動性および活性酸素代謝産物に与える影響. *昭和学会誌*, 77(2), 156-161.
- Knez, W. L., Jenkins, D. G. & Coombes, J. S. (2014) The effect of an increased training volume on oxidative stress. *Int J Sports Med* 35(1), 8-13.
- Knez, W. L., Jenkins, D. G. & Coombes, J. S. (2007) Oxidative stress in half and full Ironman triathletes. *Med Sci Sports Exerc* 39(2), 283-288.
- Lewis, N. A., Howatson, G., Morton, K., Hill, J. & Pedlar, C. R. (2015) Alterations in redox homeostasis in the elite endurance athlete. *Sports Med* 45(3), 379-409.
- Margaritis, I., Tessier, F., Richard, M. J. & Marconnet, P. (1997) No evidence of oxidative stress after a triathlon race in highly trained competitors. *Int J Sports Med* 18(3), 186-190.
- Neubauer, O., Konig, D., Kern, N., Nics, L., & Wagner, K. H. (2008) No indications of persistent oxidative stress in response to an ironman triathlon. *Med Sci Sports Exerc* 40(12), 2119-2128.
- Nojima, J., Motoki, Y., Tsuneoka, H., Kuratsune, H., Matsui, T., Yamamoto, M., Yanagihara, M., Hinoda, Y., & Ichihara, K. (2011) 'Oxidation stress index' as a possible clinical marker for the evaluation of non-Hodgkin lymphoma. *Br J Haematol*. 155(4), 528-530.
- Pasquini, A., Luchetti, E., Marchetti, V., Cardini, G., & Iorio, E. L. (2008) Analytical performances of d-ROMs test and BAP test in canine plasma. Definition of the normal range in healthy Labrador dogs. *Vet Res Commun* 32(2), 137-143.
- Pinho, R. A., Silva, L. A., Pinho, C. A., Scheffer, D. L., Souza, C. T., Benetti, M., Carvalho, T. & Dal-Pizzol, F. (2010) Oxidative stress and inflammatory parameters after an Ironman race. *Clin J Sport Med* 20(4), 306-311.
- Reid, M. B. (2001) Invited Review: redox modulation of skeletal muscle contraction: what we know and what we don't. *J Appl Physiol* (1985) 90(2), 724-731.
- Schippinger, G., Fankhauser, F., Abuja, P. M., Winklhofer-Roob, B. M., Nadlinger, K., Halwachs-Baumann, G. & Wonisch, W. (2009) Competitive and seasonal oxidative stress in elite alpine ski racers. *Scand J*

- Med Sci Sports 19(2), 206-212.
- 15) Styskal, J., Van Remmen, H., Richardson, A., & Salmon, A. B. (2012) Oxidative stress and diabetes: what can we learn about insulin resistance from antioxidant mutant mouse models? *Free Radic Biol Med* 52(1), 46-58.
- 16) 関泰一 (2009) d-ROMS テストによる酸化ストレス総合評価. *生物試料分析*, 32(4), 301-306.
- 17) 谷口耕輔, 杉田正明 (2017) 実業団女子長距離走選手における酸化ストレス測定を用いたコンディション評価に関する研究. *トレーニング科学*, 29(1), 43-54.

(平成30年8月30日 受付)
(平成31年2月8日 受理)