

陸上長距離選手の鉄剤摂取が 生体に及ぼす影響について

岐阜大学 今井 一
(共同研究者) 同 熊谷 佳代
同 有川 一
筑波大学 香田 郡秀

The Effects of Iron Ingestion in the Bodies of Long Distance Runners

by

Hajime Imai, Kayo Kumagai, Hajime Arikawa
*Department of Health and Physical Education, Faculty of Education,
Gifu University*
Kunihide Koda
Institute of Health and Sports Science, University of Tsukuba

ABSTRACT

High-performance liquid chromatographic (HPLC) analysis of human serum albumin (HSA) using an ion-exchange (DEAE-form) column shows three components; the principal component corresponds to human mercaptalbumin (HMA), the secondary to nonmercaptalbumin (HNA) having mixed disulfide with cystine (HNA (Cys)) or oxidized glutathione (HNA (Glut)), and the tertiary to HNA oxidized more highly than mixed disulfide. The purpose of this study was to examine HSA redox state to determine the effects iron ingestion may have on oxidative stress levels in long distance runners. Subjects for the study were university track athletes (n=8; 19.8 ± 0.4 years old). Students were divided into two groups, those who took iron (iron group) and those who did not (no iron group). Blood samples were taken before and after an intensive three-day training camp, and then analyzed by HPLC. The amount of iron ingested by the iron group was 39 mg/day.

The overall average percentage (\bar{f} [HMA]) of reduced form albumin for both groups was $78.9 \pm 0.5\%$ before camp, and $68.0 \pm 1.2\%$ after camp, with both groups showing significant post-camp decreases ($p < 0.05$). Examined separately, (\bar{f} [HMA]) values for the iron group was $78.6 \pm 0.7\%$ before camp and $69.2 \pm 1.4\%$ after camp, and values for the no iron group were $78.5 \pm 1.0\%$ and $69.0 \pm 1.5\%$ respectively. While decreases were seen for both groups, a significant difference between the two groups was not found. These results suggest that iron, taken in this amount, has no particular effect on oxidative stress levels.

要 旨

イオン交換カラムを使用したヒト血清アルブミン (HSA) の高速液体クロマトグラフィ (HPLC) 分析では3つの成分を示す。1番目はメルカプトアルブミン [HMA], 2番目はSH基がシスチンや酸化型グルタチオンと結合したノンメルカプトアルブミン [HNA (Cys) & HNA (Glut)], 3番目はSH基がさらにそれ以上酸化されたノンメルカプトアルブミン [HNA (Oxi)] である。

本研究は大学生陸上長距離選手 ($n = 8$; 19.8 ± 0.4 歳) を対象に鉄剤の摂取が酸化ストレスに及ぼす影響をヒト血清アルブミン (HSA) の酸化・還元状態から検討することを目的とした。学生を鉄剤を摂取する群 (以下, 摂取群) としない群 (以下, 非摂取群) の2群に分け, 3日間の強化合宿前後に採血を行い, HPLC分析を行った。摂取群の鉄剤摂取量は39mg/日とした。還元型アルブミンの割合の平均値 (\bar{f} [HMA]) は全体では合宿前 $78.9 \pm 0.5\%$, 合宿後 $68.0 \pm 1.2\%$ で合宿後有意に減少した ($p < 0.005$)。群別では摂取群が合宿前 $78.6 \pm 0.7\%$, 合宿後 $69.2 \pm 1.4\%$, 非摂取群が合宿前 $78.5 \pm 1.0\%$, 合宿後 $69.0 \pm 1.5\%$ であった。合宿後両群ともに減少したが, 両群間に有意な差はみられなかった。

これらのことから今回の鉄剤摂取量では, 鉄剤摂取が酸化ストレスレベルにとくに影響を与えないことが示唆された。

緒 言

ヒト血清アルブミン (human serum albumin, HSA) は肝臓で合成される単純タンパク質 (分子量, 66 kDa) で, その総量の約40%は血液中に存在し, 総血清タンパク質の約50%を占めている¹⁾。ヒト血清アルブミンの分子構造上の大きな特徴の一つに, N末端より34番目に非常に反応性に富むフリーのSH基 (システイン残基; Cys-34) が存在し, この残基が搬送体タンパク質としてのアルブミンの機能の一部を担っている。この特徴的なSH基がいかなる物質とも結合していないフリーの状態のときのアルブミンを還元型アルブミンまたはメルカプトアルブミン (human mercaptalbumin, HMA) と呼んでいる。それに対して, このSH基が血中の含硫アミノ酸などと分子間共有結合したときのアルブミンを酸化型アルブミンまたはノンメルカプトアルブミン (human nonmercaptalbumin, HNA) と呼んでいる。このうち酸化型アルブミンにはSH基に対する結合リガンドの違いによって数種類のタイプが存在し, SH基がシスチンと結合したアルブミン (HNA (Cys)), 酸化型グルタチオンと結合したアルブミン (HNA (Glut)), さらにそれ以上に酸化されてSH基が-SOH (スルフェン酸), -SO₂H (スルフィン酸), -SO₃H (スルホン酸) などの構造になった酸化型アルブミン (HNA (Oxi)) が報告されている²⁾。また, 血清アルブミンはこの特徴的なSH基を有してい

るために、活性酸素、フリーラジカルに対する酸化物質の一つとして働いており、ヒト血清アルブミン (HSA) の酸化・還元状態は生体における酸化ストレスを評価するマーカー (バイオマーカー) となる³⁻⁶⁾。

これまでわれわれはヒト血清アルブミン (HSA) を還元型アルブミン (HMA) と酸化型アルブミン (HNA) とに分離観測できる特殊なカラムを用いた高速液体クロマトグラフィ (high-performance liquid chromatography, HPLC) 分析において、健康者のヒト血清アルブミン (HSA) を検討し、若年者 (HMA の正常範囲は、ほぼ70~75%) に比べて高齢者では還元型アルブミン (HMA) の割合が有意に減少し、加齢によって生体内の酸化還元状態はより酸化状態になっていること^{2,3)} を報告している。また、極度の酸化ストレスが加わった時の例として、ラットに疲労困憊運動を行わせることにより還元型アルブミン (HMA) の割合が有意に減少すること⁷⁾、加えて大学生を対象に数日間にわたり繰り返し行われる激しい運動トレーニング (スポーツ合宿) により還元型アルブミン (HMA) の割合が有意に減少すること^{5,8)}、プロポリスを摂取することにより、その減少が有意に緩和されること⁹⁾ などを報告している。

陸上長距離選手には特徴的に鉄含有量の低下がみられるため鉄剤を摂取しながらトレーニングを行っている選手が多い。鉄や銅はラジカルを消去する一方、還元によってラジカルを発生させる二面性があり、鉄などの酸化ストレスに対して功罪のあるミネラルの過剰摂取は注意が必要とされている。選手強化では選手自身の安全性を確保して実施することが肝要である。

そこで、本研究では大学陸上長距離選手の強化合宿を対象として鉄剤の摂取が生体に及ぼす影響を主にヒト血清アルブミン (HSA) 酸化・還元状態から検討することを目的とした。

1. 方法

1.1 被験者

大学陸上部に所属する男子中・長距離選手8名を被験者とした。被験者の年齢、身長、体重、経験年数の平均値と標準誤差はそれぞれ 19.8 ± 0.4 歳、 167.8 ± 3.3 cm、 53.3 ± 2.7 kg、 6.4 ± 0.9 年であった。運動能力、経験年数等の要因ではほぼ均等になるように、鉄剤を摂取する群 (摂取群: $n = 4$)、と鉄剤を摂取しない群 (非摂取群: $n = 4$) の2つのグループに分けた。また、コントロールとして健康な男子大学生13名 (年齢 19.8 ± 0.4 歳) を被験者とした。なお、事前に実験内容についての十分な説明を行い、採血を含めた実験実施に関する同意を得られたボランティアのみを対象とした。

1.2 実験方法

3日間で計5回の練習で構成された強化合宿を対象とした。練習時間は、1日目: 午前約2時間、午後約2時間30分、2日目: 午前約3時間、午後約3時間30分、3日目: 午前約3時間であった。練習内容はジョギング (アップ, ダウン, ロング)、インターバルトレーニング、ペース走、タイムトライアル、ストレッチ等であった。水分摂取は自由飲水とした。

採血を合宿前後の計2回、合宿前は初回練習開始前、合宿後は最終回練習終了後の40分以内に実施し、採血量は約10mlであった。血液の分析項目は、HSAの酸化還元状態と一般血液性状 (白血球数 (WBC)、赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン量 (Hb)、ヘマトクリット (Ht)、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、血小板数、網状赤血球数、血清鉄、不飽和鉄結合能 (UIBC)、フェリチン) とした。HSA分析用の血液 (約3ml) は採血後、遠心機 (KUBOTA2100, 久保田

製作所) を用いて 3000 rpm, 20 分間遠心した。得られた血漿はコスモナイスフィルター (0.45 μ m, ナカライテスク社) を用いて加圧濾過し, HPLC 分析まで -80 $^{\circ}$ C で保存した³⁾。

鉄剤摂取に関しては, 摂取群は合宿期間中 1 日に鉄剤 13 錠 (鉄分含有量 3mg/錠, 計 39 mg) とし今回は許容上限摂取量の 40mg を越えないように設定した。鉄剤は 1 日目, 2 日目は 3 回, 3 日目は 2 回に分けて合宿前後の採血の間に摂取させた。なお, 被験者は摂取群の鉄剤以外のサプリメントは合宿期間中一切摂取しなかった。

各群 2 名ずつポラール・ハートレイトモニター (キャノントレーディング社) を用いて心拍数を毎回練習中ウォーミングアップ前からクーリングダウン後までの間を 5 秒毎に測定した。また, 練習前後に体内脂肪計 (TBF-102, タニタ社) を用いて体重・体脂肪率を測定した。

5 段階の指標を用いた自覚的コンディションの調査を起床時およびその日の練習終了後に行った。また, 練習中の環境温度を測定するために WBGT 計 (WBGT-101, 京都電子工業社) を用いて 5 分毎に WBGT (Wet-Bulb Globe Temperature) を測定した。

1. 3 HSA の分析

HSA の分析は今井らの改良法¹⁰⁾ を用い, 次のように構成された HPLC システムにより行った。

HPLC 用カラム: Shodex Asahipak ES-502N 7C

(昭和電工), 1 本; カラム温度, 35 \pm 0.5 $^{\circ}$ C

オートサンプラー: AS-8010 (東ソー社); 注入

量, 2 μ l

ポンプ: CCPM (東ソー社); 流量, 1 ml/分

蛍光検出器: ES-8000 (東ソー社); 励起波長,

280 nm; 検出波長, 340 nm

スーパーシステムコントローラー: SC-8020 (東

ソー社)

溶出: A, B 二液グラジェント法 (エタノール濃

度勾配, 0 \rightarrow 5 %)

A 液; 0.05 M 酢酸ナトリウム - 0.40 M 硫酸ナトリウム (pH 4.85)

B 液; 0.05 M 酢酸ナトリウム - 0.40 M 硫酸ナトリウム - 10% エタノール (pH 4.85)

このシステムにより, 還元型アルブミン [HMA], シスチンやグルタチオンと共有結合した酸化型アルブミン [HNA (Cys) & HNA (Glut)], それ以上に酸化された酸化型アルブミン [HNA (Oxi)] の 3 つの分画の分離が可能である。それぞれの分画を HMA, HNA-1, HNA-2 とした。3 つの分画の割合は HPLC システム内蔵のコンピュータにより, 各分画をガウス近似して求めた。健康成人男子の HPLC プロファイルの 1 例を図 1 に示す。このプロファイルにおいて還元型アルブミン (HMA) は 74.8%, シスチンやグルタチオンと共有結合した酸化型アルブミン (HNA-1) は 23.8%, それ以上に酸化された酸化型アルブミン (HNA-2) は 1.4% である。この測定法は, 採血量が少ない (1 回の分析に約 1 ml) こと, 前処理などの余分な手間もかからず, 短時間 (1 検体: 約 40 分間) で分析できる利点がある。

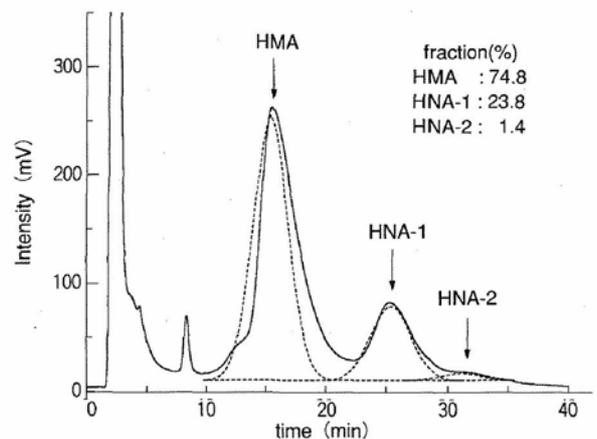


図 1 健康成人男子の HPLC プロファイルの一例 (Y.K.: 19 歳)

1. 4 統計処理

各変数の測定結果を平均値 \pm 標準誤差で示した。2 群の比較は, Stat View Ver.5.0 を用いて

Wilcoxon signed-ranks test, Mann-Whitney U-test を行なった。3群の比較においてはノンパラメトリックの一元配置分散分析的解釈の Kruskal-wallis test に水準間の検定がないため、単に2群の検定を行い、Bonferroni 的にPを割り引いて解釈した。なお、有意水準は5%とした。

2. 結果

図2にHPLCによるHSAの分析結果を示す。コントロール群において \bar{f} (HMA) 値, \bar{f} (HNA-1) 値, \bar{f} (HNA-2) 値はそれぞれ76.3 ± 1.0%, 21.8 ± 0.9%, 1.9 ± 0.1%であった。陸上長距離選手の合宿前後の \bar{f} (HMA) 値, \bar{f} (HNA-1) 値, \bar{f} (HNA-2) 値は、合宿前それぞれ78.8 ± 0.5%, 19.0 ± 0.5%, 2.2 ± 0.1%, 合宿後それぞれ68.0 ± 1.2%, 29.1 ±

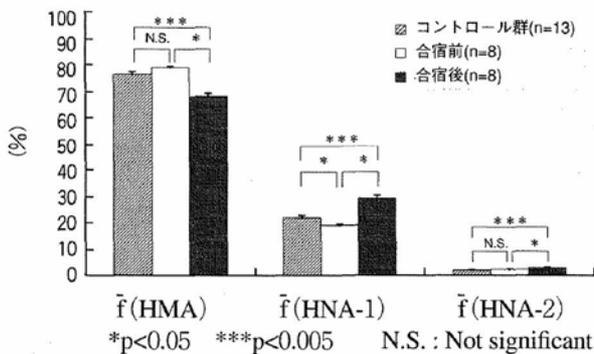


図2 コントロール群と陸上長距離選手の合宿前後におけるヒト血清アルブミン (HSA) の \bar{f} (HMA) 値, \bar{f} (HNA-1) 値, \bar{f} (HNA-2) 値

1.1%, 2.9 ± 0.1%であった。合宿前後では合宿後、 \bar{f} (HMA) 値は有意に減少し、 \bar{f} (HNA-1) 値, \bar{f} (HNA-2) 値は有意に増加した (p<0.05)。

図3に合宿前後における摂取群, 非摂取群別のHSAの分析結果を示す。合宿前の \bar{f} (HMA) 値, \bar{f} (HNA-1) 値, \bar{f} (HNA-2) 値は、摂取群それぞれ77.7 ± 0.6%, 20.1 ± 0.5%, 2.2 ± 0.2%, 非摂取群それぞれ79.9 ± 0.3%, 17.8 ± 0.33%, 2.3 ± 0.1%であった。合宿後の \bar{f} (HMA) 値, \bar{f} (HNA-1) 値, \bar{f} (HNA-2) 値は、摂取群それぞれ67.6 ± 1.5%, 29.4 ± 1.4%, 3.0 ± 0.2%, 非摂取群それぞれ68.4 ± 1.9%, 28.9 ± 1.9%, 2.7 ± 0.1%であった。 \bar{f} (HMA) 値, \bar{f} (HNA-1) 値, \bar{f} (HNA-2) 値において合宿前後ともに両群間に有意な差はみられなかった。

表1に一般血液性状 (白血球数 (WBC), 赤血球数 (RBC), ヘモグロビン量 (Hb), ヘマトクリット (Ht), 平均赤血球容積 (MCV), 平均赤血球色素量 (MCH), 平均赤血球色素濃度 (MCHC), 血小板数, 網状赤血球数, 血清鉄, 不飽和鉄結合能 (UIBC), フェリチン) の合宿前後の検査結果を示す。合宿前後の変化では白血球数に増加傾向がみられたものの摂取群, 非摂取群ともに有意な差はみられず、群間においても同様であった。

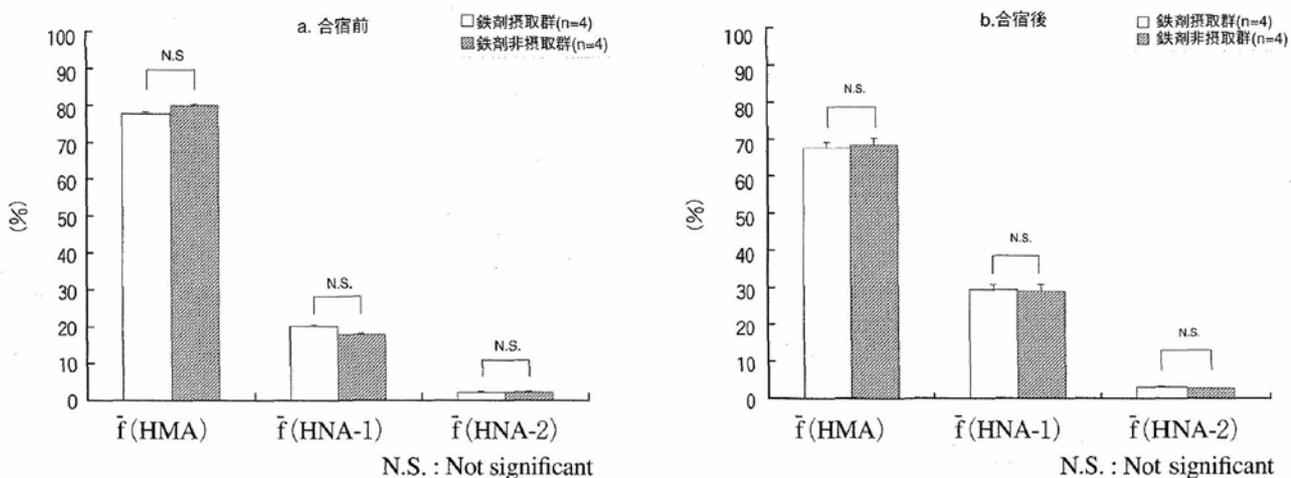


図3 合宿前 (a), 合宿後 (b) の鉄剤摂取群と非摂取群におけるヒト血清アルブミン (HSA) の \bar{f} (HMA) 値, \bar{f} (HNA-1) 値, \bar{f} (HNA-2) 値

表1 一般血液性状の合宿前後の変化

群	合宿		WBC (μl)	RBC ($\text{万}/\mu\text{l}$)	Hb (g/dl)	Ht (%)	MCV (fl)	MCH (pg)
鉄剤摂取群 (n=4)	pre	平均値	4667.5	501.5	14.68	45.30	90.3	29.33
		S E	129.5	12.3	0.13	0.63	1.44	0.53
	post	平均値	11540.0	492.8	14.65	43.70	89.0	29.78
		S E	1150.1	14.9	0.28	0.92	1.08	0.51
鉄剤非摂取群 (n=4)	pre	平均値	5740.0	491.0	14.60	44.63	91.3	29.83
		S E	586.9	19.9	0.38	1.37	2.50	0.93
	post	平均値	11987.5	481.3	14.63	42.85	89.5	30.43
		S E	985.3	15.0	0.41	1.13	2.63	0.94
群	合宿		MCHC (%)	血小板数 ($\text{万}/\mu\text{l}$)	網状赤血球数 (%)	血清鉄 ($\mu\text{g}/\text{dl}$)	UIBC ($\mu\text{g}/\text{dl}$)	フェリチン (ng/ml)
鉄剤摂取群 (n=4)	pre	平均値	32.43	23.88	0.93	95.5	214.8	71.6
		S E	0.22	1.91	0.25	11.8	12.5	8.23
	post	平均値	33.53	27.08	1.23	152.5	150.5	87.9
		S E	0.25	3.02	0.21	13.0	11.1	9.77
鉄剤非摂取群 (n=4)	pre	平均値	32.73	22.05	1.70	108.0	249.5	37.4
		S E	0.24	2.09	0.27	16.0	23.2	10.76
	post	平均値	34.13	23.90	1.53	168.3	186.3	44.5
		S E	0.11	2.06	0.08	20.6	29.7	11.49

練習中の心拍数は全体で 136.9 ± 2.5 拍/分、群別では摂取群 134.8 ± 4.1 拍/分、非摂取群 139.0 ± 3.0 拍/分で両群間に有意な差はみられなかった。各練習前後の体重は両群ともに有意に減少した ($p < 0.05$) が、両群間に有意な差はみられなかった。また、練習後の体重減少率は約2~3%であった。

図4に起床時の自覚的コンディションを示す。最終日に疲労感と食欲に両群間に有意な差がみられた ($p < 0.05$)。摂取群において疲労感に1日目~3日目にかけて悪化傾向がみられた。図5に練習終了時の自覚的コンディションを示す。食欲に改善傾向がみられたものの両群間ほぼ同様の傾向を示した。

練習中のWBGTの平均値±標準偏差は、1日目午前 28.6 ± 0.8 °C、午後 26.5 ± 0.6 °C、2日目午前 26.8 ± 0.8 °C、午後 27.0 ± 0.4 °C、3日目 29.2 ± 1.2 °C、全体では 27.6 ± 1.3 °Cであった。

3. 考察

HSAのHMA-HNA動態が種々の病態において有意に影響されることが既に多数報告されている^{11~15)}。健常者においても運動負荷が生体に対

してどのような酸化ストレスとなり、それが生体内での酸化還元状態、とくにHSAのHMA-HNA動態に及ぼす影響について報告がある^{5,8)}。

通常の状態でも、生体内ではわずかながら活性酸素種やフリーラジカルが生じ、その結果として過酸化脂質などの有害な過酸化生成物が生じている。それに対して生体は細胞内外に強力な抗酸化物質を有することによって、通常それを是正あるいは制御しようとしている^{16~18)}。ところが激しい身体運動時においては、通常以上の酸素消費によるエネルギー産生の増大やさらに細胞内での相対的な低酸素状態によって、生体内では通常量以上の活性酸素種やフリーラジカルが発生し¹⁹⁾、その結果種々の過酸化生成物が通常以上に生じている^{19~22)}ことが報告されている。運動時のそのような生体内酸化還元状態の不均衡に対して、抗酸化物質、とくにスーパーオキシド・ディスムターゼ (SOD) 活性の上昇^{23~25)}、GSH-GSSG動態の変化^{26~29)}、血清タンパク質由来のSH含量の低下³⁰⁾などが報告されている。しかし一方で、研究対象の種族や運動の相違、さらに加えてそれらの運動条件(強度、量、時間など)の相違のため、得られている結果は必ずしも一致し

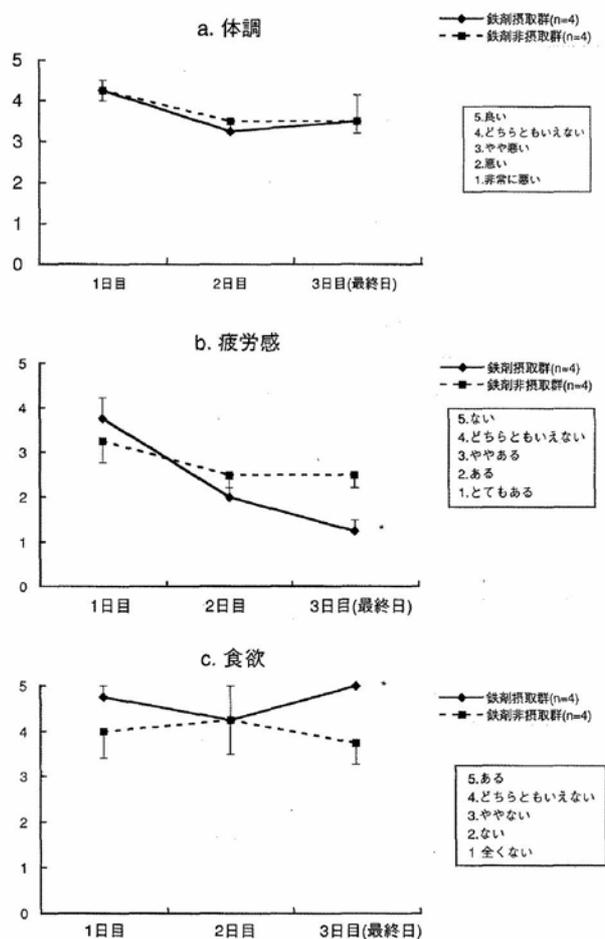


図4 起床時の自覚的コンディション * $p < 0.05$ (v.s. 非摂取群)

ていないのが現状である。本研究のオリジナリティーはHSAの酸化・還元状態を生体における酸化ストレスを評価するマーカー（バイオマーカー）としている点である。

今回の研究では、陸上長距離選手の3日間の強化合宿前後におけるHSAのHMA-HNA動態は合宿後 \bar{f} (HMA)値が有意に減少し、 \bar{f} (HNA-1)値、 \bar{f} (HNA-2)値はともに有意に増加した($p < 0.05$)。また、このHMA-HNA変換は、主にHMAと[HNA(Cys) & HNA(Glut)]との交換であった。これは活性酸素・フリーラジカルの産生の促進によって増加した血中のシスチン、酸化型グルタチオンにより還元型アルブミンが酸化型アルブミンに変換したと推測される。 \bar{f} (HMA)値におけるコントロール群との比較では合宿前は差がみられず、合宿後は有意に減少していた。合宿後 \bar{f} (HMA)値が減少することは従来の報告と一

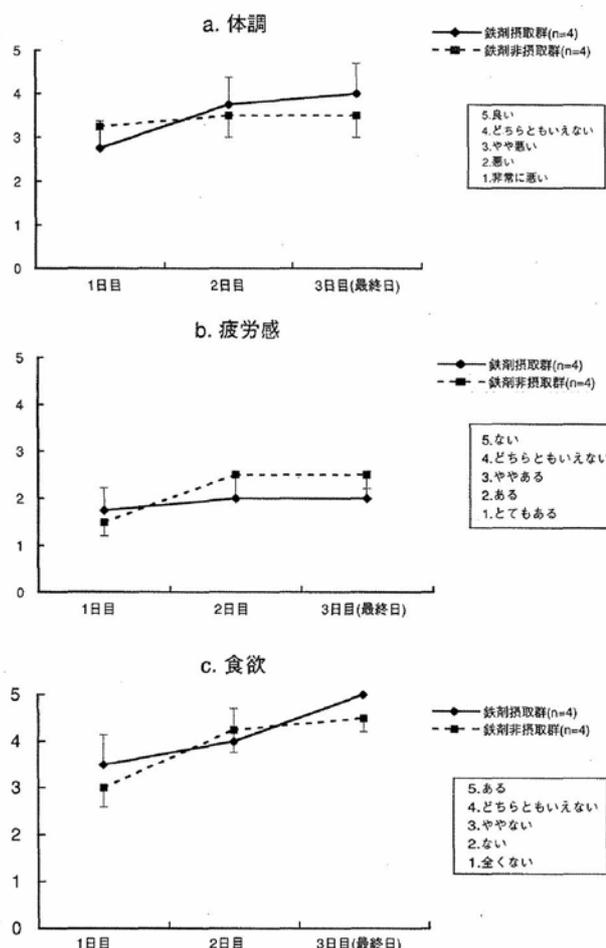


図5 練習終了時の自覚的コンディション

致するが、その減少の傾向は従来報告されている健康成人男子の正常範囲（約70~75%）を下回る剣道の強化合宿のデータ⁵⁾よりもD大学の水泳訓練のデータ³¹⁾と同様の傾向がみられ、合宿後の \bar{f} (HMA)値は、ほぼ健康成人男子の正常範囲であった。このことから今回の合宿は被験者にとって激しいトレーニングになっていなかったことが推測された。

摂取群と非摂取群との比較では合宿前後において \bar{f} (HMA)値、 \bar{f} (HNA-1)値、 \bar{f} (HNA-2)値はほぼ同値を示し有意な差はみられなかった。急性運動によって乳酸が大量に発生した骨格筋ではpHが低下し、フェリチンから鉄が遊離し、フェントン反応を誘導し、さらに増加したカテコールアミンは鉄イオンと複合体を形成し、白血球の活性酸素産生能を高め、脂質過酸化を促進する^{32, 33)}。また、スポーツ性貧血も体内の鉄の貯蔵が減少す

ることから、激しい運動による活性酸素の産生を防ぐ一種の防御反応という考えもある。そのため鉄剤の摂取は慎重に行う必要がある。合宿後、摂取群と非摂取群との間に \bar{f} (HMA) 値、 \bar{f} (HNA-1) 値、 \bar{f} (HNA-2) 値に差がみられなかったことは、今回の鉄剤摂取量では、鉄剤摂取が酸化ストレスの増加に影響しなかったことが推測された。

一般血液性状の合宿前後の変化については、運動により白血球が増加する³⁴⁾が、両群ともに白血球数において増加傾向がみられたものの有意な差はみられず、その他の項目においても有意な差はみられなかった。鉄剤摂取の有無による相違もみられなかった。

練習中の心拍数は両群ともに有意な差はみられず、鉄剤摂取の有無による相違はみられなかった。起床時と練習終了時の自覚的コンディションの調査においては、両群ともにほぼ同様の傾向がみられた。起床時「疲労感」において3日目に摂取群が悪化する傾向がみられた。練習中のWBGTは日本体育協会が示している熱中症予防のための運動指針³⁵⁾によると全体の平均値では「警戒」域、午前は「嚴重警戒」、午後は「警戒」域に分類された。暑熱環境下では同じ練習内容でも酸化ストレスの程度が異なる報告³⁶⁾もあることから、今回の合宿後における \bar{f} (HMA) 値減少には暑熱環境の要因も加わっていることが考えられた。練習中は自由飲水であったが、練習後の体重減少率が比較的高かったのは暑熱環境の影響と推測された。

4. まとめ

陸上長距離選手の強化合宿(3日間、練習回数:5回)を対象として鉄剤の摂取(39 mg/日)が生体に及ぼす影響を主にHSAの酸化・還元状態から検討した。合宿後、還元型アルブミンの割合は有意に減少し、酸化型アルブミンの割合は有意に増加した。運動による酸化ストレスが数日繰り返し加わったことと暑熱環境のためと考えられ

たが、鉄剤摂取群と非摂取群に差はみられなかった。このことより今回の鉄剤摂取量では、鉄剤摂取が酸化ストレスを増加させるまでには至らなかったことが示唆された。

持久的競技者に特徴的な鉄含有量の低下は、酸化ストレスの低減という視点では合目的変化であるという示唆もあり、鉄剤を摂取してトレーニングを行うことはかえって生体に負担をかけることが推察される。今後、鉄剤摂取量、運動強度、期間等の要因を考慮してさらに検討を進めたい。

謝 辞

研究助成を賜りました財団法人石本記念デサントスポーツ科学振興財団に厚く御礼申し上げます。また、本研究実施にあたり多大の御協力をいただきました岐阜大学教育学部今井研究室の遠藤憲一君、中野佳美さんに深く感謝いたします。

文 献

- 1) Peters T. Jr.; All about Albumin. 9-75, Academic Press, New York (1996)
- 2) Era S., Hamaguchi T., Sogami M. et al.; Further studies on the resolution of human mercapt- and nonmercaptalbumin and on human serum albumin in the elderly by high-performance liquid chromatography. *Int J Peptide Protein Res* 31, 435-442 (1988)
- 3) Era S., Kuwata K., Imai H. et al.; Age-related change in redox state of human serum albumin. *Biochim. Biophys. Acta*, 1247, 12-16 (1995)
- 4) Hayashi T., Era S., Kawai K. et al.; Observation for redox state of human serum and aqueous humor albumin from patients with senile cataract. *Pathophysiology* 6, 237-243 (2000)
- 5) Imai H., Hayashi T., Negawa T. et al.; Strenuous exercise-induced change in redox state of human serum albumin during intensive kendo training. *Jpn. J. Physiol.*, 52 (2), 135-140 (2002)
- 6) Tomida M., Hayashi T., Ishimaru J. et al.; Observation for the redox state of human synovial fluid albumin from patients with temporomandibular

- joint disorders. *Acta Sch. Med. Univ. Gifu*, 51, 21-28 (2003)
- 7) Hayashi T., Suda K., Imai H. et al.; Simple and sensitive high-performance liquid chromatographic method for the investigation of dynamic change in the redox state of rat serum albumin. *J. Chromatogr. B*, 772, 139-146 (2002)
 - 8) 有川 一, 今井 一, 熊谷佳代 他: 暑熱環境が緩和された剣道夏季強化合宿が選手のコンディションに及ぼす影響. *教育医学*, 45, 747-756 (1999)
 - 9) Imai H., Hayashi T., Negawa T. et al.; Redox state of human serum albumin during kendo training camp : The effect of propolis ingestion. *Jpn J. Physiol.*, 51 (Suppl), S265 (2001)
 - 10) 今井 一, 林 知也, 中村浩二 他: 高速液体クロマトグラフィーによるヒト血清アルブミンの酸化・還元状態の解析. *教育医学*, 43 (4), 421-431 (1998)
 - 11) Hayakawa A., Kuwata K., Era S. et al.; Alteration of redox state of human serum albumin in patients under anesthesia and invasive surgery., *J. Chromatogr. B*, 698, 27-33 (1997)
 - 12) Kida K., Era S., Kuwata K. et al.; High-performance liquid chromatographic studies on composition of mercapt- and nonmercapt-albumin in patients with chronic renal failure and with rheumatoid arthritis., *Acta Sch. Med. Univ. Gifu*, 33, 1119-1132 (1985) (in Japanese)
 - 13) Sogami M., Era S., Nagaoka S. et al.; HPLC-studies on nonmercapt-mercapt conversion of human serum albumin., *Int. J. Peptide Protein Res.*, 25, 398-402 (1985)
 - 14) Sogami M., Era S., Nagaoka S. et al.; High-performance liquid chromatographic studies on nonmercapt ⇌ mercapt conversion of human serum albumin.II., *J. Chromatogr.*, 332, 19-27 (1985)
 - 15) Suzuki E., Yasuda K., Takeda N. et al.; Increased oxidized form of human serum albumin in patients with diabetes mellitus., *Diabetes Res. Clin. Pract.*, 18, 153-158 (1992)
 - 16) Halliwell B., Gutteridge J. M. C.; Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine ; Some problems and concepts., *Arch. Biochem. Biophys.*, 246, 501-514 (1986)
 - 17) Halliwell B., Gutteridge J. M. C.; The antioxidants of human extracellular fluids., *Arch. Biochem. Biophys.*, 280, 1-8 (1990)
 - 18) Machlin L. J., Bendich A.; Free radical tissue damage : protective role of anti-oxidant nutrients., *FASEB J.*, 1, 441-445 (1987)
 - 19) Sjodin B., Westing Y. H., Apple F. S.; Biochemical mechanisms for oxygen free radical formation during exercise., *Sports Med.*, 10, 236-254 (1990)
 - 20) Duthie G. G., Robertson J. D., Maughan R. J. et al.; Blood antioxidant status and erythrocyte lipid peroxidation following distance running., *Arch. Biochem. Biophys.*, 282, 78-83 (1990)
 - 21) Maughan R. J., Donnelly A. E., Gleeson M. et al.; Delayed-onset muscle damage and lipid peroxidation in man after a downhill run., *Muscle and Nerve*, 12, 332-336 (1989)
 - 22) Sumida S., Tanaka K., Kitao H. et al.; Exercise-induced lipid peroxidation and leakage of enzymes before and after vitamin E supplementation., *Int. J. Bio-chem.*, 21, 835-838 (1989)
 - 23) Jenkins R. R., Friedland R., Howald H. ; The relationship oxygen uptake to superoxide dismutase and catalase activity in human skeletal muscle., *Int. J. Sports Med.*, 5, 11-14 (1984)
 - 24) Lukaski H. C., Hoverson B. S., Gallagher S. K. et al.; Physical training and copper, iron, and zinc status of swimmers., *Am. J. Clin. Nutr.*, 51, 1093-1099 (1990)
 - 25) Ohno H., Kayashima S., Nagata N. et al.; Changes in immunoreactive manganese-superoxide dismutase concentration in human serum after 93 h strenuous physical exercise., *Clin. Chim. Acta*, 215, 213-219 (1993)
 - 26) Ji L. L., Fu R.; Responses of glutathione system and antioxidant enzymes to exhaustive exercise and hydroperoxide., *J. Appl. Physiol.*, 72, 549-554 (1992)
 - 27) Robertson J. D., Maughan R. J., Duthie G. G. et al.; Increased blood antioxidant systems of runners in response to training load., *Clin. Sci.*, 80, 611-618 (1991)
 - 28) Sastre J., Asensi M., Gasco E. et al.; Exhaustive physical exercise causes oxidation of glutathione status in blood : prevention by antioxidant administration., *Am. J. Physiol.*, 263, R992-R995 (1992)
 - 29) Sen C. K., Marin E., Kretzschmar M. et al.; Skeletal muscle and liver glutathione homeostasis in response to training, exercise, and immobilization., *J. Appl. Physiol.*, 73, 1265-1272 (1992)
 - 30) Inayama T., Kumagai Y., Sakane M. et al.; Plasma

- protein-bound sulfhydryl group oxidation in humans following a full marathon race., *Life Sci.*, 59, 573-578 (1996)
- 31) 田島東海男, 中村一成, 今井 一 他; 水泳訓練における学生のコンディション変化に関する研究. 防衛大学校紀要, 社会科学編, 第84輯, 1-29 (2002)
- 32) 中野 稔; 遷移金属と生体細胞障害—鉄と銅を中心に. 学会出版センター, 29-44 (1994)
- 33) 吉川敏一, 西村俊一郎, 近藤元治; 運動と活性酸素. 体力科学, 43, 241-246 (1994)
- 34) Suzuki K et al.; Capacity of circulating neutrophils to produce reactive oxygen species after exhaustive exercise. *J Appl Physiol* 81, 1213-1222 (1996)
- 35) 川原 貴, 森本武利; スポーツ活動中の熱中症予防ガイドブック. (財)日本体育協会 (1995)
- 36) 有川 一, 今井 一, 香田郡秀 他; 剣道夏期強化合宿における暑熱環境の影響. 武道学研究, 35 (別冊), 56 (2002)