# 骨格筋損傷指標としての皮膚ガス中一酸化窒素の有用性

名古屋工業大学大学院　伊　藤　　宏
（共同研究者）同　山　﨑　良比古
名古屋工業大学　津　田　孝　雄

# The Skin-Gas Nitric Oxide Concentration is Useful for an Index of Exercise-Induced Muscle Damage

by

Hiroshi Itoh, Yoshihiko Yamazaki
*Graduate School of Engineering,*
*Nagoya Institute of Technology*
Takao Tsuda
*Research Fellow, Nagoya Institute of Technology*

## ABSTRACT

We examined whether skin-gas NO concentrations on the surface of damaging muscle would be a useful index for muscle damage or not. Seven healthy male students volunteered as the subjects, and none of them performed muscle damaging exercise at least within six months. The subjects performed 8 sets of 15 repetition maximum (RM) knee flexion-extension exercise consisting of predominantly isokinetic eccentric contraction. The skin-gas samples were obtained from the surface on belly muscle of rectus femoris before exercise and 1, 2, 3, 7days after exercise. The skin-gas NO concentration was measured by a chemiluminescence analyzer. Knee extension muscle strength (1RM), circumference of thigh, muscle soreness (visual analog scale; VAS), leukocytes, and serum creatine kinase activity were also measured.

The skin-gas NO concentration significantly increased 2days after the exercise compared to pre-exercise values ($p<0.01$), and returned to pre-exercise levels 7days after exercise. The peak skin-gas NO concentration of each subject was about 1.4 times more than pre-exercise value, and that was significantly higher than the pre-exercise value. Although no significant difference was found in circumference of thigh during experimental period, muscle strength significantly ($p<0.05$) decreased, and VAS significantly ($p<0.05$) increased compared to the pre-exercise values after 1-3 days after exercise. Total leukocytes and neutrophils significantly ($p<0.01$) increased at 7days after exercise, and basophils significantly increased at 2 ($p<0.05$), 3, 7 ($p<0.01$) days after exercise compared to the pre-exercise values, however, there was no significant difference in eosinophils, monocytes, lymphocytes during experimental period. Serum CK activity increased significantly at 3 days after exercise compared to pre-exercise values ($p<0.05$), and returned to re-exercise levels 7days after exercise.

These results suggest that the skin-gas NO concentrations on the surface of damaging muscle may be a useful index for decreasing muscle strength and muscle soreness.

## 要　旨

本研究では，皮膚から放出される一酸化窒素（Nitric Oxide: NO）濃度が運動に伴う筋の損傷の指標となり得るか否かを確かめようとした．被験者は，少なくとも6ヶ月以内に大腿四頭筋の筋損傷を伴う運動を行っていない健康な男子大学生7人（22.1±0.3歳; 平均±標準誤差）とした．被験者は，大腿四頭筋の伸張性収縮を伴う膝伸展，屈曲運動を15 repetition maximum（RM），8セット行い，運動前，運動終了1，2，3，7日後に大腿直筋の筋腹皮膚表面上から皮膚ガスを採集し，オゾン化学発光法によってNO濃度を測定した．また，大腿四頭筋の伸展における筋力（1RM），大腿周径囲，大腿直筋の筋腹における筋痛指標（visual analog scale：VAS），さらに血中の白血球数と血清クレアチンキナーゼ（creatine kinase: CK）活性についても測定した．

皮膚ガス中NO濃度は，運動終了2日後に有意（$p<0.01$）に上昇し，7日後には回復傾向が認められた．また，各被験者の運動後の皮膚ガス中NO濃度ピーク値は運動前の値に比べ約1.4倍と有意（$p<0.01$）に高かった．大腿周径囲は運動前後で有意な変化が認められなかったが，筋力は運動終了1日から3日後まで有意（$p<0.05$）に低下，一方，VASは有意（$p<0.05$）に増大したが，筋力，VASともに7日後には運動前の値に回復する傾向が認められた．白血球数については，総白血球数，好中球が運動後7日目に有意（$p<0.01$）に高く，好塩基球が運動後2日目以降有意（$p<0.05$または$p<0.01$）に増大し，7日後も同様に有意（$p<0.01$）に高かった．一方，好酸球，単球，リンパ球については運動前後で有意な変化は認められなかった．血清CK活性は，運動終了後に上昇し，3日後には運動前の値に比べて有意（$p<0.01$）に高かったが7日後には回復する傾向が認められた．

以上，本研究で見られた筋損傷に伴う皮膚ガス中NO濃度の増大は，筋力低下や痛みを反映する

可能性が示唆された.

## 緒　言

気管支喘息患者では，気道粘膜にある気道上皮細胞に誘導型一酸化窒素合成酵素（inducible nitric oxide synthase; iNOS）が発現して生成される一酸化窒素（nitric oxide; NO）が直接的に気道過敏性を亢進させるため，呼気中NO濃度変化が気管支喘息患者における気道炎症の状態や治療の効果の非侵襲的なモニターとして有用であると考えられている[5]．一方，我々[14]は，皮膚から放出されるガス（皮膚ガス）の中にもNOが含まれることを明らかにし，高感度，高精度な皮膚ガス中NO濃度分析システムを構築することに成功している．NOは重要な内皮由来血管弛緩因子のひとつとして，組織での血流，血圧の調節に対して重要な役割を担っている[8]．このことから，我々[21]は，運動に伴って血流，皮膚ガス中NO濃度ともに増大することを確かめ，皮膚ガス中NO濃度は，血管内皮型NOS（endothelial NO synthase; eNOS）由来のNO産生程度をモニターできる可能性を報告している．しかし，皮膚ガス中NO濃度と生体の炎症反応の程度との関係については明らかではない．

運動，特に骨格筋の伸張性収縮を伴う運動時に筋損傷が引き起こされることは良く知られている．これまでにも，筋損傷と筋力の低下，関節可動域の減少，遅延性の筋痛，筋組織の膨張や微細構造の変化，そして血中への酵素などのタンパク質の逸脱などとの関係について数多くの研究がなされてきた[6,9,10,13,15,20]．筋損傷には，筋収縮時の機械的な衝撃による一次的な損傷に加え，損傷部位における炎症反応が二次的損傷を誘発する．二次的損傷を誘発する炎症反応には，過剰に活性化された好中球やマクロファージにiNOSが強く誘導され，大量のNOが生成されるなど，NOは細胞の壊死や再生とも密接に関わっていると考えられている[7,9]．しかし，これまでに筋損傷と皮膚ガス中NO濃度との関係については確かめられていない．もしも皮膚ガス中NO濃度変化が運動に伴う筋損傷，筋痛，炎症の程度を反映するならば，皮膚ガス中NO濃度は非侵襲的，非観血的で画期的な筋損傷指標として運動後の疲労回復や体調管理，パフォーマンス向上に対して欠かせないものとなる可能性がある．

以上のことから，本研究では，男子大学生を対象に大腿四頭筋の伸張性収縮を繰り返し行わせ，運動前後の使用筋表面上の皮膚ガス中NO濃度変化と骨格筋損傷指標の変化との関係について明らかにしようとした．また，これらの結果から皮膚ガス中NO濃度が非侵襲的，非観血的筋損傷指標となりうるか否かを検討した．

## 1．研究方法

### 1．1　被験者

被験者は，非喫煙者でビタミン剤を含めた特別な薬物を服用していない健康な男子大学生7名とした．被験者には，財団法人スポーツ医・科学研究所で承認された本研究の目的と実験内容を十分説明し，被験者として参加することに同意を得た．被験者は全員，少なくとも半年以内，筋力トレーニングを含めた特別な運動習慣がなく，研究期間内も実験以外の運動は制限した．**表1**に被験者の身体的特性を示した．

**表1**　被験者の身体的特性

| N=7 | Age（years） | Height（cm） | Mass（kg） | BMI（kg/m$^2$） |
|---|---|---|---|---|
| Mean ± SE | 22.1 ± 0.3 | 173.1 ± 2.4 | 62.7 ± 2.1 | 20.9 ± 0.6 |

BMI（Body Mass Index）

### 1．2　筋力測定

実験当日の運動負荷を決定するために，被験者は，実験の1週間前に，実験室にて筋力測定を行った．被験者は，レッグエクステンション用のトレーニング機器に両膝を90度に曲げて座り，左脚を一回だけ水平に伸展することができる負荷を1 repetition maximum（RM）の筋力として測定した．筋力発揮時，被験者の上半身と運動を行わない脚はできるだけリラックスするように注意した．筋力測定は，運動直前，運動後1，2，3，7日後に同様に行った．

### 1．3　運動負荷

運動は，筋力測定と同様にレッグエクステンション用のトレーニング機器を用いて，3秒に一回の左脚の膝伸展，屈曲運動を15RM，8セット，セット間に2分間の休息を挟んで行った．ただし，本研究での膝伸展，屈曲運動は最初の1秒で脚を水平になるように伸展，その状態を維持，その後2秒間できるだけ等速度で膝の角度が90度になるまで屈曲させるというものである．そのため，本研究での運動負荷は，膝伸展においては大腿四頭筋の短縮性収縮であるが，主には等速性の屈曲運動による大腿四頭筋の伸張性収縮であった．本研究で言う15RMは，上記の運動を15回実施することが限界となる負荷で行ったことを意味する．各被験者の膝伸展，屈曲運動の1セット目から8セット目までの具体的な負荷は，一週間前に測定した1RMのそれぞれ75，70，65，60，55，50，45，40%の負荷を基準とし，各被験者，各セットにおいて上記のリズムが維持できなくなった場合は，負荷を調整して15回が限界となるように左脚の膝伸展，屈曲運動を行わせた．

### 1．4　皮膚ガス採集および皮膚ガス中NO濃度測定方法

本研究では，骨格筋の皮膚表面に密着してガス採集が可能な円筒形のエラストマーを加工して皮膚ガス採集装置（長さ60mm，直径12mm）を開発した．皮膚ガス採集部位は膝伸展の主要筋である左脚の大腿直筋の中央（筋腹）とし，実験期間中に同部位で測定を可能とするためマジックで測定部位を印した．採集装置の先には交換用ミニバルブ付スリーブ（6 $\phi$；ジーエルサイエンス社製）が装着され，それと三方活栓を連結させてシリンジに吸引した皮膚ガスを，テドラーフィルム（ジーエルサイエンス社製）を加工して作成したサンプルバッグに採集して測定用ガスとした．実際の皮膚ガス採集手順は次のようであった．すなわち，1）被験者の大腿直筋の筋腹に採集装置を密着させた後，装置内の空気を吸引，2）窒素ガス（99.9% $N_2$）10mlを注入，3）そのまま30秒間保ち，4）皮膚表面から採集バッグ内に放出されたガスを含む10mlの気体をサンプルバッグに採集した．皮膚ガス中NO濃度は，以前に我々が用いた方法[14]と同様にNO測定装置（pico-device社製）を用いた化学発光法によって測定した．

### 1．5　採血と血中測定項目

安静時の採血として正中皮下静脈から一回につき約7mlの採血を行った．最初に2mlを真空採血管（EDTA-2K）で採取し，白血球数（電気抵抗検出法）の測定に用いた．次に5mlの真空採血管に採取した後，3000rpmで10分間遠心分離して得られた血清をクレアチンキナーゼ活性（UV法）の測定に用いた．

### 1．6　筋痛指標と周径囲

筋痛の評価には，直線の片方の端の0に「痛みなし」，もう一方の端にある10に「想像出来うる最高の痛み」を示した視覚的アナログスケール（Visual Analog Scale：VAS）[3]を用いた．被験者には運動前後の左脚大腿四頭筋の筋腹を触診させ，自らの主観で痛みの程度について自由に記述

させた．周径囲については大腿直筋の筋腹で測定し，同部位で特定できるように印して測った．

### 1．7　皮膚ガス，血液採集およびその他の項目の測定時間

被験者は，少なくとも食後2時間以上経過してから実験に参加し，運動実施は10時から13時の間のランダムな時間とした．被験者は，室温25℃に保たれた実験室で，座位で約20分間の安静を保った後，安静時の皮膚ガスサンプルとして3分間の皮膚ガスを連続して3回採集し，これらの平均値を安静時の皮膚ガス中NO濃度とした．測定全項目について運動直前，運動後1，2，3，7日に実施し，皮膚ガスサンプル採集を終了後に採血，周径囲，筋力測定の順に実施した．

### 1．8　統計処理

全ての結果は平均値±標準誤差で表した．各測定項目の時間による変化について反復測定一元配置分散分析後，有意性が確認された場合はpost hoc検定にFisherのPLSD法を用いて各時間の変化について検定を実施した．有意水準は$p<0.05$とした．

## 2．結　果

### 2．1　筋損傷，筋痛の指標

運動後の筋機能の低下，損傷指標として測定した筋力（1RM），大腿周径囲，筋痛の指標を表2に示した．筋力は運動終了1日後から3日後まで有意（$p<0.05$）に低下した．被験者全員の筋力が運動2日後に最低値を示したが，7日後には回復し，運動実施前に対して有意な差は認められなかった．筋痛指標も筋力と同様に運動終了2日後に一番変化が大きく，1日後から3日後まで有意（$p<0.05$）に高い値が認められたが7日後には運動実施前の値に回復した．被大腿周径囲については運動前後で有意な差が認められなかった

### 2．2　白血球数

表3に運動前後における白血球数の変化を示した．総白血球数，好中球数は，運動前の値に対して運動3日後までは有意な変化が認められなかったが，7日後は運動前の値に対して有意に高かった．好塩基球は，運動終了1日後から増大（$p=0.05$）し，2，3，7日後には運動前の値に比べ倍程度の有意（$p<0.05$または$p<0.01$）に高い値が見られた．一方，好酸球，単球，リンパ球数につ

表2　運動前後の筋力，大腿周径囲および筋痛指標の変化

| | Pre | Days after exercise | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 7 |
| 1RM（kg） | 67.0 ± 2.0 | 61.8 ± 2.4 * | 54.3 ± 2.7 * | 61.1 ± 2.4 * | 68.1 ± 1.8 |
| Circumference（cm） | 49.7 ± 1.9 | 49.9 ± 1.8 | 49.3 ± 1.8 | 49.1 ± 1.8 | 49.0 ± 1.8 |
| VAS（cm） | 1.0 ± 0.0 | 3.2 ± 0.6 * | 6.1 ± 0.8 * | 4.2 ± 0.7 * | 1.3 ± 0.3 |

Values are Mean ± SE. RM, repetition maximum; VAS, visual analog scale * $p<0.05$ significantly different vs the pre-exercise values.

表3　運動前後の白血球数の変化

| | Pre | Days after exercise | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 7 |
| Total leukocytes（$10^6$/l） | 5114.3 ± 593.0 | 5000.0 ± 433.3 | 5285.7 ± 642.0 | 5057.1 ± 632.8 | 6128.6 ± 751.7 ** |
| Neutrophils（$10^6$/l） | 2670.0 ± 589.8 | 2542.4 ± 436.0 | 2905.8 ± 619.9 | 2688.4 ± 582.7 | 3729.5 ± 762.0 ** |
| Eosinophils（$10^6$/l） | 116.8 ± 20.6 | 122.1 ± 22.0 | 103.2 ± 17.6 | 113.3 ± 23.1 | 114.3 ± 23.8 |
| Basophils（$10^6$/l） | 16.0 ± 4.0 | 23.8 ± 3.4 | 26.4 ± 3.8 * | 30.3 ± 4.0 ** | 28.2 ± 4.5 ** |
| Monocytes（$10^6$/l） | 310.9 ± 32.6 | 282.9 ± 26.5 | 315.7 ± 25.4 | 326.9 ± 29.1 | 327.9 ± 29.6 |
| Lymphocytes（$10^6$/l） | 2000.6 ± 109.8 | 2028.9 ± 121.6 | 1934.6 ± 74.6 | 1898.2 ± 109.0 | 1928.9 ± 88.5 |

Values are Mean ± SE. * $p<0.05$, ** $p<0.01$ significantly different vs the pre-exercise values.

いては運動前後で有意な変化が認められなかった．

### 2．3　皮膚ガス中NO濃度

図1に皮膚ガス中NO濃度の運動前後の経時的変化を示した．皮膚ガス中NO濃度は，運動前の値（11.9±0.9ppb）に対して運動終了1日後に高くなる傾向が見られ，2日後（15.8±0.7ppb）には有意（$p<0.05$）に高くなったが，3日後には運動実施前の値に回復する傾向が認められた．皮膚ガス中NO濃度の最大値は，運動前の値に比べて約1.4倍の有意（$p<0.05$）に高い値（16.1±0.6ppb）が認められた．

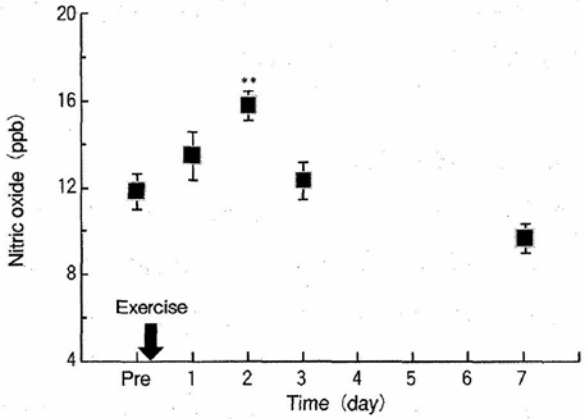


図1　運動前後の皮膚ガス中一酸化窒素濃度の変化
Values are Mean ± SE.
**$p<0.01$ significantly different vs the pre-exercise values.

### 2．4　血中CK活性

血中の骨格筋損傷指標として血清CK活性の変化を図2に示した．CK活性は運動終了2日後から上昇し始めて3日後には運動実施前の値に対して有意（$p<0.05$）に高くなったが，7日後には回復する傾向が認められた．

### 3．考　察

骨格筋損傷を引き起こす運動モデルとしては伸張性収縮を主とした運動様式が一般的であるが，先行研究の中でも運動方法，強度，反復回数などの運動の条件は必ずしも一致していない．本研究では，大腿四頭筋に損傷を誘発する目的で伸張性

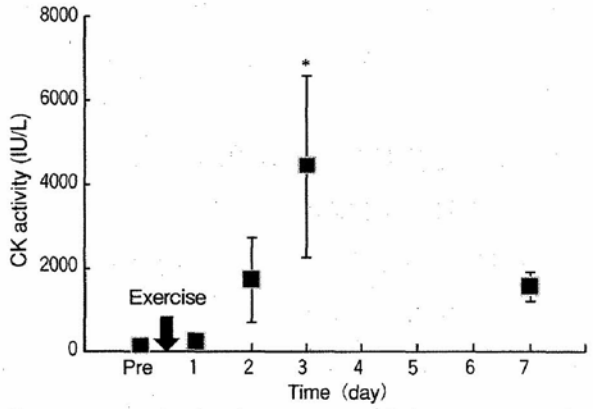


図2　運動前後のクレアチンキナーゼ活性の変化
Values are Mean ± SE.**
*$p<0.05$ significantly different vs the pre-exercise values.

収縮を伴う膝伸展，屈曲運動（15RM，8セット）を被験者に行わせた．先行研究の中には，被験者に機械を用いた等速性かつ伸張性の最大筋収縮を行わせたものが多い[10, 13]が，本研究では15RMの強度であったため最大伸張性筋収縮とは言えない．しかし，本研究の伸張性筋収縮の反復回数は合計120回と多いこと，最大下の運動強度でも十分に筋損傷が起こる[12, 15]こと，さらに本研究でも先行研究[10, 13]と同様に運動後に著しい筋力低下や血清CK活性の上昇が認められたことから，本研究の運動様式，条件は筋損傷を誘発するのに適切であったと言える．しかし，先行研究[10, 13, 15]と異なり，本研究では，運動後の周径囲に運動前後に有意な変化が認められなかった．この違いの理由について明確な説明はできないが，本研究で用いた運動様式や条件が影響しているのかもしれない．

本研究では，運動終了2日後の皮膚ガス中NO濃度が運動前に対して有意（$p<0.01$）に上昇し，各被験者の運動後の皮膚ガス中NO濃度のピーク値は運動前の値に比べ有意（$p<0.01$）に高かった．生体内のNOは，L－アルギニンが酸化されてL－シトルリンを生じる際に生成され，この反応は様々なNOSによって触媒される．NOSには血管内皮細胞に局在するeNOS，神経細胞に局在す

るNOS（neuronal NOS; nNOS）のように細胞内に恒常的に発現している構成型NOS（constitutive NOS; cNOS）と，サイトカインなどに誘導されて多量のNOを生じさせる誘導型NOS（inducible NOS; iNOS）があり，これらのNOSが必要に応じて生体内の様々な生理機能を調節している[8]．本研究で得られた運動前後の皮膚ガス中NO濃度の結果は，上述した様々な合成系によって生成されたNOと生体内での作用によって消費されたNOの総和を表していると考えられる．また，NOはガス状で，作用する部位で産生されるや否やすぐに皮膚などから体外へ放出されてしまう[8, 17]ため，皮膚ガス中NO濃度は，生体の深層部ではなく皮膚表面に近い組織でのNO産生の増減を反映しているだろう．我々[21]は，手首底背屈運動後に中指，第一関節における皮膚表面血流量と皮膚ガス中NO濃度が増大したことを確かめ，この皮膚ガス中NO濃度の変化は血流の変化によってeNOS由来のNO生成量が増大した可能性を報告している．しかし，本研究での皮膚ガス中NO濃度の測定は，いずれも運動直後ではないため，皮膚ガス中NO濃度の上昇に測定時の血圧，血流の変化が影響した可能性は小さい．

本研究で運動後の皮膚ガス中NO濃度が上昇した理由として，運動に伴う筋損傷に続く二次的な損傷が炎症作用を伴う酸化ストレスによって引き起こされたこと，すなわち，運動後の二次的筋損傷には炎症反応に伴ったiNOSの発現が生体内での急激なNO生成を増大させた可能性が挙げられる．筋損傷と酸化ストレスに関する報告は意外に少ない[3, 7, 10]が，Nikolaidis et al.は本研究と類似した運動負荷，すなわち若い女性を対象に大腿四頭筋における15回の等速性かつ伸張性の最大筋収縮を5セット実施し，運動後3日前後をピークに酸化ストレスの増大を示す血中の抗酸化物質（還元型グルタチオン）濃度の上昇，抗酸化酵素（カタラーゼ）活性の低下および過酸化脂質（TBARS）濃度の上昇を報告している．そして，これらの結果から，損傷した筋細胞で好中球などの食細胞がスーパーオキシド（superoxide; $O_2^-$）を大量に生成し，その結果として活性酸素種（reactive oxygen species; ROS）の増大による筋組織における過酸化障害が二次的損傷を引き起こした[9, 10]と推察している．実際，筋損傷部位では食細胞による炎症反応によって組織や細胞の病理学的な変化[1]が認められており，それをきっかけに細胞内の$Ca^{2+}$が上昇し，タンパク分解酵素やリン脂質分解酵素活性が高まって[18]筋細胞壊死が亢進される[1, 18]．運動に伴う二次的筋損傷は，炎症反応とそれに伴うROSの増大で引き起こされることがヒトのダウンヒル走でも確かめられている[2]．一方，本研究における血中の白血球数の変化について，好塩基球は運動終了2日以降，好中球数は運動終了7日後に運動前の値に対して有意な上昇が認められものの，単球，リンパ球などには運動前後で有意な変化は認められなかった．先行研究[6, 15]では運動後の炎症性サイトカインや白血球各種の反応は必ずしも筋損傷とは同期しておらず，本研究ではサイトカインなどの炎症を発現する物質についての情報もない．また，本研究では，筋損傷を直接示す形態学的，組織化学的資料も酸化ストレス指標についての情報もないため，実際の筋損傷部位での炎症反応や細胞や組織の変化を知ることはできない．しかし，本研究でも認められた筋力の低下は，筋損傷の程度をもっとも反映する[19]ため，本研究でも筋力の低下した筋組織の二次的損傷が炎症反応に伴う酸化ストレスによって亢進したと考えられる．

ところで，NO自体もフリーラジカル（·NO）であり，ROSのひとつであるため，それ自体が過酸化障害の要因にもなるが，NOは$O_2^-$と高い反応性を持ち，瞬時に反応して$O_2^-$を消去に貢献している．しかし，その反応の結果生じるペルオキシニトリト（peroxynitrite; $ONOO^-$）は，最終

的にはROSの中でもっとも反応性が高く，毒性が強いヒドロキシラジカル（hydroxy radical; ·OH）を生じさせる．これらのことから生体内での過酸化反応にNOが直接的，間接的に関与していることが推察される．実際，NOの生理作用は酸素飽和度や活性酸素であるスーパーオキシドと密接に関わる[4]ため，ミトコンドリアにおける電子伝達系の亢進についてNOが調節の鍵を握っている[11]．

以上，本研究における運動後の皮膚ガス中NO濃度の上昇は，運動後の二次的筋損傷を誘発する炎症反応に伴った急激なiNOSの発現が，生体内での多量のNO生成を亢進したことに起因していると推察される．しかし，一方では生成されたNOは$O_2^-$の消去にも費やされ，筋損傷に伴う炎症反応とNOの生成，消去についての詳細なメカニズム解明は今後の研究が待たれる．

本研究では，筋痛指標が運動終了2日後に最大となり，皮膚ガス中NO濃度のピークとも一致した．運動に伴う筋痛のメカニズムは依然として明らかではなく，痛みと筋組織で生成されるNO濃度の関係についても確かめられていない．しかし，生体内で生成されるNOと痛みについては，その促進性と抑制性の両作用が麻酔や偏頭痛などとの関係から報告され，末梢での過剰なNO生成が痛みを誘発することが指摘されている[16]．本研究で見られた筋痛は，筋損傷部位でのiNOS発現によるの多量のNO生成が痛みを誘発した可能性がある．

## 4．まとめ

本研究は，皮膚ガス中NO濃度が運動に伴う骨格筋の損傷指標となり得るか否かを確かめようとした．健康な男子大学生7人に15RM，8セットの左脚大腿四頭筋の伸張性収縮を伴う膝伸展，屈曲運動を行わせ，運動前後の左脚大腿直筋の筋腹皮膚表面上から採集した皮膚ガス中のNO濃度を測定した．また，同時に筋力，筋痛指標，大腿周径囲，血中の白血球数とCK活性についても測定した．皮膚ガス中NO濃度は，運動終了2日後に有意（$p<0.01$）に上昇し，7日後には運動前の値に戻る傾向が認められた．また，各被験者の運動後のピーク値は運動前の値に比べ約1.4倍と有意（$p<0.01$）に高かった．これらの結果は，筋機能の低下を表す筋力の低下や筋痛指標と上昇と同期したが，白血球数や組織損傷指標である血清CK活性の反応とは一致しなかった．

以上，本研究で見られた筋損傷に伴う皮膚ガス中NO濃度の増大は，炎症反応に伴うiNOS発現によるNO産生の程度を反映している可能性が推察され，皮膚ガス中NO濃度が運動後の筋力低下や痛みの指標となる可能性が認められた．

## 謝　辞

本稿を終えるにあたり，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財団に心から深謝いたします．また，本研究実施にあたり多大なご協力をいただいた名古屋工業大学大学院，大桑哲男教授および実験に携わった学生諸氏，日本福祉大学，山根真紀助教，財団法人スポーツ医・科学研究所に厚く御礼申し上げます．

## 文　献

1) Best, T.M., Fiebig, R., Corr, D.T., Brickson, S. and Ji, L.: Free radical activity, antioxidant enzyme, and glutathione changes with muscle stretch injury in rabbits, *J. Appl. Physiol.*, 87, 74-82（1999）

2) Close, G.L., Ashton, T., Cable, T., Doran, D. and MacLaren, D.P.: Eccentric exercise, isokinetic muscle torque and delayed onset muscle soreness: the role of reactive oxygen species, *European journal of applied physiology.*, 91, 615-621（2004）

3) Cook, D.B., O'Connor, P.J., Eubanks, S.A., Smith, J.C. and Lee, M.: Naturally occurring muscle pain during exercise: assessment and experimental evidence, *Medicine and science in sports and*

*exercise.*, 29, 999-1012 (1997)

4) Inoue, M., Sato, E.F., Park, A.M., Nishikawa, M., Kasahara, E., Miyoshi, M., Ochi, A. and Utsumi, K.: Cross-talk between NO and oxyradicals, a supersystem that regulates energy metabolism and survival of animals, *Free Radic Res.*, 33, 757-770 (2000)

5) Kharitonov, S.A., Yates, D., Robbins, R.A., Logan-Sinclair, R., Shinebourne, E.A. and Barnes, P.J.: Increased nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients, *Lancet.*, 343, 133-135 (1994)

6) Malm, C., Sjodin, T.L., Sjoberg, B., Lenkei, R., Renstrom, P., Lundberg, I.E. and Ekblom, B.: Leukocytes, cytokines, growth factors and hormones in human skeletal muscle and blood after uphill or downhill running, *The Journal of physiology.*, 556, 983-1000 (2004)

7) Maruhashi, Y., Kitaoka, K., Yoshiki, Y., Nakamura, R., Okano, A., Nakamura, K., Tsuyama, T., Shima, Y. and Tomita, K.: ROS scavenging activity and muscle damage prevention in eccentric exercise in rats, *J. Physiol Sci.*, 57, 211-216 (2007)

8) Moncada, S. and Higgs, E.A.: The discovery of nitric oxide and its role in vascular biology, *Br. J. Pharmacol.*, 147, S193-201. (2006)

9) Nikolaidis, M.G., Jamurtas, A.Z., Paschalis, V., Fatouros, I.G., Koutedakis, Y. and Kouretas, D.: The effect of muscle-damaging exercise on blood and skeletal muscle oxidative stress: magnitude and time-course considerations, *Sports medicine.*, 38, 579-606 (2008)

10) Nikolaidis, M.G., Paschalis, V., Giakas, G., Fatouros, I.G., Koutedakis, Y., Kouretas, D. and Jamurtas, A.Z.: Decreased blood oxidative stress after repeated muscle-damaging exercise, *Medicine and science in sports and exercise.*, 39, 1080-1089 (2007)

11) Nisoli, E., Clementi, E., Paolucci, C., Cozzi, V., Tonello, C., Sciorati, C., Bracale, R., Valerio, A., Francolini, M., Moncada, S. and Carruba, M.O.: Mitochondrial biogenesis in mammals: the role of endogenous nitric oxide, *Science.*, 299, 896-899 (2003)

12) Nosaka, K. and Clarkson, P.M.: Muscle damage following repeated bouts of high force eccentric exercise, *Medicine and science in sports and exercise.*, 27, 1263-1269 (1995)

13) Nosaka, K., Newton, M. and Sacco, P.: Delayed-onset muscle soreness does not reflect the magnitude of eccentric exercise-induced muscle damage, *Scandinavian journal of medicine & science in sports.*, 12, 337-346 (2002)

14) Ohkuwa, T., Mizuno, T., Kato, Y., Nose, K., Itoh, H. and Tsuda, T.: Effect of hypoxia on nitric oxide (NO) in skin gas and exhaled air., *Int. J. Biomed. Sci.*, 2, 100-104 (2006)

15) Peake, J.M., Nosaka, K., Muthalib, M. and Suzuki, K.: Systemic inflammatory responses to maximal versus submaximal lengthening contractions of the elbow flexors, *Exercise immunology review.*, 12, 72-85 (2006)

16) Salamon, E., Esch, T. and Stefano, G.B.: Pain and relaxation (review), *International journal of molecular medicine.*, 18, 465-470 (2006)

17) Sheel, A.W., Road, J. and McKenzie, D.C.: Exhaled nitric oxide during exercise, *Sports medicine.*, 28, 83-90. (1999)

18) Toumi, H. and Best, T.M.: The inflammatory response: friend or enemy for muscle injury?, *British journal of sports medicine.*, 37, 284-286 (2003)

19) Warren, G.L., Lowe, D.A. and Armstrong, R.B.: Measurement tools used in the study of eccentric contraction-induced injury, *Sports medicine.*, 27, 43-59 (1999)

20) Zainuddin, Z., Newton, M., Sacco, P. and Nosaka, K.: Effects of massage on delayed-onset muscle soreness, swelling, and recovery of muscle function, *Journal of athletic training.*, 40, 174-180 (2005)

21) 伊藤宏, 大桑哲男, 山崎良比古, 津田孝雄: 運動時の血流, 血圧の変化と皮膚表面から放出される一酸化窒素との関係, デサントスポーツ科学, 29, 167-174 (2007)