

個人の内因性抗酸化能に応じた強度別身体活動量の検討

佐賀大学 原 めぐみ
(共同研究者) 同 松本 明子

Investigation of Individual Endogenous Antioxidant Capacity by Intensity of Physical Activity

by

Megumi Hara

*Department of Preventive Medicine,
Saga University*

Akiko Matsumoto

*Department of Social and Environmental
Medicine, Saga University*

ABSTRACT

Endogenous antioxidant enzyme superoxide dismutase 2 (*SOD2*) gene polymorphisms were measured in stored DNA specimens from 6,410 men and women. Physical activity data were collected from these subjects over a 10-day period using an accelerometer. Urine levels of the gene damage marker 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) were also measured. The relationship between amount of physical activity by intensity and urine 8-OHdG level for each polymorphism was then investigated by multiple regression analysis. Urine 8-OHdG level tended to be higher in individuals with the Val/Val polymorphism, which is believed to have low antioxidant enzyme induction activity. A significant negative relationship was found between total amount of physical activity and urine 8-OHdG level for Val/Val ($\beta = -0.03$, $P < 0.01$) but not

Ala/Val+Ala/Ala ($\beta = -0.01, P=0.39$). By intensity of physical activity, the same relationship was found at moderate- to high-intensity tasks of ≥ 3 metabolic equivalents (METs), but no relationship was found at physical activity of ≥ 6 METs. These results suggest the possibility that gene damage preventative effects of physical activity vary according to the antioxidant enzyme induction ability of the individual and the intensity of physical activity.

要 旨

本研究では加速度計で連続10日間測定した身体活動量と遺伝子損傷マーカーである尿中 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) のデータの揃った6,410人の男女の保存DNAを用いて、内因性抗酸化酵素の遺伝子である superoxide dismutase 2 (SOD2) の遺伝子多型を測定し、多型ごとに強度別身体活動と尿中 8-OHdG レベルの関連について重回帰分析を用いて検討した。尿中 8-OHdG レベルは抗酸化酵素誘導の活性が低いとされる Val/Val 型で高い傾向を認めた。総身体活動量と尿中 8-OHdG レベルの関連は Val/Val 型で有意な負の関連を認めたが ($\beta = -0.03, P < 0.01$)、Ala/Val+Ala/Ala 型ではそのような関連は認められなかった ($\beta = -0.01, P = 0.39$)。Val/Val 型強度別では、3METs 以上の中高強度の身体活動においても同様の関連を認めたが、6METs 以上の身体活動では認められなかった。身体活動による遺伝子損傷防止効果は、個人の抗酸化酵素誘導能および運動強度によって異なる可能性が示唆された。

緒 言

疫学研究では身体活動量の増加が結腸がん、乳がん、子宮内膜がんなどの種々のがん¹⁻⁴⁾や循環器疾患の発症に予防的に働くことが報告されている⁵⁻⁸⁾。その生物学的なメカニズムのひとつとして、DNAの酸化的損傷の抑制が考えられている⁹⁻¹¹⁾。身体活動は、酸化的損傷を受け

たグアニン塩基を除去修復する遺伝子修復酵素 8-oxoguanine-DNA glycosylase (OGG1) の活性を増加させる¹²⁾ことで、DNAの酸化的損傷の抑制に寄与すると考えられる。

身体活動による遺伝子損傷抑制効果のその他のメカニズムとして、内因性の抗酸化酵素の誘導による抗酸化能の改善が考えられる。抗酸化酵素は、細胞内に発生した活性酸素を酸素と過酸化水素に不均化することで、活性酸素による遺伝子損傷を抑制し、がんの発症を予防する可能性や、動脈硬化を抑制して循環器疾患を予防する可能性が示唆されている。これまでにいくつかの臨床研究において、乳がんや前立腺がんのがん患者において運動が抗酸化能の改善につながったことが報告されているほか^{13,14)}、内因性の抗酸化酵素の遺伝子多型ががんリスクの上昇と関連するという報告もある¹⁵⁾。

内因性の抗酸化酵素の1つである superoxide dismutase 2 (SOD2) 遺伝子の Val16Ala (c.47T>C, rs4880) 多型は、Ala 型で SOD2 活性が高いことに加え、一過性の運動による SOD2 の誘導も Ala 型で高いことが報告されているが¹⁶⁾、習慣的な身体活動による影響は十分解明されていない。

我々は、佐賀市民約12,000人について加速度計付き歩数計(スズケン社製ライフコーダ)を使用した身体活動量の測定を実施しており^{17,18)}、これまでに身体活動量と遺伝子損傷マーカーである 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) と負の関連を報告した¹⁹⁾。また、近年、仕事での身体活

動量が低い人では余暇時間の運動が遺伝子損傷マーカーと負の関連を示したとする報告もなされている²⁰⁾。身体活動による酸化了的遺伝子損傷の減少は、SOD2などの内因性の抗酸化能の向上と関連する可能性が示唆されるが、SOD2の遺伝子多型と習慣的な身体活動との交互作用による遺伝子損傷マーカーとの関連については、これまでに明らかになっていない。

本研究は、個人の内因性抗酸化能に応じた遺伝子損傷防止に適した強度別身体活動量を明らかにすることを目的に検討を行うこととした。

1. 研究方法

1. 1 対象

生活習慣と遺伝的素因（遺伝子型）が、がんやその他の生活習慣病および寿命に与える影響を検討するための多施設共同分子疫学コホート研究（J-MICC Study）の佐賀地区の第2次調査¹⁸⁾に参加の一般地域住民のうち、調査票に基づく生活習慣の情報、10日間のライフコーダーによる身体活動量の計測データ、尿中の8-OHdGのデータが揃った男女6,410人を対象とした。なお、本コホート研究の実施に当たっては、佐賀大学のヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会の承諾を得たうえで、調査担当医師が口頭および文書で研究協力の諸条件を説明し同意を得た後に調査を実施している。全参加者より遺伝子解析の同意が得られており、すでにDNAの抽出は完了している。

1. 2 遺伝子多型の測定

本研究実施期間中に、すでに抽出し保存されていたDNAサンプルを用いて、TaqMan SNP genotyping assaysにより、SOD2 Val16Ala (c.47T>C, rs4880)多型を測定した。今回測定したCアレル（Alaをコード）の頻度は14%であり、National Center for Biotechnology informationの

SNPデータベースのウェブサイト (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs4880#frequency_tab) のEast AsianのCアレル頻度とほぼ一致した。

1. 3 身体活動量の評価

調査実施日から連続10日間、加速度計（ライフコーダー EX, スズケン, 名古屋）を右腰膝の中央線上に装着し返却してもらった。本機器は4秒ごとに9段階の運動強度を記録集積するものであり、返却後は個人の測定データをパソコン上に転送保存した。10日のうちの最初の3日間を除外した7日間のうち、微小体動以上の活動が8時間/日以上装着が確認された者が本研究対象となっている。身体活動のMETsに時間をかけて身体活動量（METs・時）を算出し、加速度強度1～3（3METs未満）を低強度の身体活動、加速度強度4～6（3～6METs）を中等度の身体活動、加速度強度7～9（6METs以上）を高強度の身体活動と分類した（表1）²¹⁾。

表1 加速度計付き歩数計を用いた強度別の身体活動量の評価

身体活動の強度のレベル	メッツ		加速度計により測定される活動レベル
低強度	1.8	歩行レベル未満の身体活動	1.0
	2.3		2.0
	2.9		3.0
中強度	3.6	歩行～軽いジョギングレベルの身体活動	4.0
	4.3		5.0
	5.2		6.0
高強度	6.1	軽いジョギングを超える身体活動	7.0
	7.1		8.0
	>8.3		9.0

出典：Kumahara et al, British Journal of Nutrition, 2014²¹⁾

1. 4 尿中8-OHdGの測定

尿中の8-OHdGは、産業医科大学職業性腫瘍学講座においてHPLCシステムを用いて測定した。繰り返し測定の変動係数は7%と良好であった。8-OHdG level (ng/mg)はクレアチニン (mg/mL)で割って補正した。尿中8-OHdG (ng/mgCr)は正規分布していなかったためLog変換

表 2 対象者の特性

特 性	Val/Val (n=4,923)		Ala/Val (n=1,377)		Ala/Ala (n=110)		P value [†]
男性 (%)	3116	(63.3)	861	(62.5)	67	(60.9)	0.78
年齢	60.5	[8.1]	60.0	[8.2]	59.4	[8.1]	0.03
BMI, kg/m ²	22.7	[3.0]	22.7	[3.1]	22.3	[2.7]	0.73
喫煙 (%)	582	(11.8)	183	(13.3)	12	(10.9)	0.31
飲酒 (%)	2627	(53.4)	750	(54.5)	59	(53.6)	0.75
コーヒー飲用 (%)	2771	(56.3)	779	(56.6)	63	(57.3)	0.96
緑茶飲用 (%)	4013	(81.5)	1117	(81.1)	96	(87.3)	0.27
緑黄色野菜の摂取 (%)	1403	(28.5)	378	(27.5)	32	(29.1)	0.73
果物摂取 (%)	877	(17.8)	211	(15.3)	19	(17.3)	0.10
総エネルギー摂取, kcal/day [SD]	1651	[338]	1643	[345]	1668	[360]	0.58
ビタミン C サプリメント使用 (%)	473	(9.6)	121	(8.8)	9	(8.2)	0.59
総身体活動, MET h/day [SD]	3.655	[1.756]	3.62	[1.72]	3.95	[2.27]	0.90
強度別身体活動, MET h/day [SD]							
低強度 (<3 METs) [SD]	2.24	[0.892]	2.21	[0.87]	2.26	[0.95]	0.30
中強度 (3-6 METs) [SD]	1.199	[1.045]	1.21	[1.09]	1.47	[1.57]	0.37
高強度 (>6 METs) [SD]	0.213	[0.56]	0.2	[0.55]	0.22	[0.51]	0.64
中高強度 (≥3 METs) [SD]	1.412	[1.278]	1.41	[1.32]	1.69	[1.8]	0.59
尿中 8-OHdG (ng/mg Cre) 幾何平均値	3.96	[1.65]	3.87	[1.36]	3.82	[1.66]	0.13

[†] 共分散分析 または χ^2 test で検定 .SD: 標準偏差

した.

1. 5 その他の調査

自記式調査票への回答により, 性, 年齢, 生活習慣, 既往歴などの情報を得た. 身長, 体重は実測し, 体重を身長の2乗で除して Body Mass Index (BMI) を算出した.

1. 6 統計解析

対象者の特性および身体活動量を *SOD2* の遺伝子型ごとに比較するために, 連続変数は共分散分析, 分類変数は X^2 検定で検定した. Val/Val 型群と, Ala 型保有群 (Ala/Val 型, Ala/Ala 型) の2群に分けて, 対象者の基本特性と尿中 8-OHdG (ng/mgCr) について Spearman の順位和検定を実施し, 遺伝子多型と身体活動の尿中 8-OHdG (ng/mgCr) に対する交互作用も検討した. さらに, 身体活動量を4分位でカテゴリー化し, 各カテゴリー内の尿中 8-OHdG (ng/mgCr) 幾何平均値を Val/Val 型群と Ala 型保有群でそれぞれ求めた.

有意水準は $P < 0.05$ とし, 統計解析には SAS ver.9.4 を使用した.

2. 研究結果

対象者の特性を *SOD2* 多型ごとに表 2 に示す. Ala アレルの保有数が多い程年齢が低かった他は, 性, BMI, 喫煙, 飲酒, コーヒー飲用, 緑茶飲用, 緑黄色野菜の摂取, 果物の摂取, 総エネルギー摂取量, ビタミン C サプリメントの使用, 総身体活動量, 強度別身体活動量, 尿中 8-OHdG (ng/mgCr) 幾何平均値は, *SOD2* 多型間で有意な差は認めなかった.

総身体活動4分位と対象者の特性の関連について, *SOD2* の Val/Val 型と Ala 型保有群で層別解析を行った (表 3). 両群ともに, 総身体活動量が高い群ほど, 男性, 飲酒者の割合, 総エネルギー摂取量が有意に高く, 年齢, BMI, 尿中 8-OHdG (ng/mgCr) 幾何平均値は有意に低かった. また, Val/Val 型群においては身体活動量が高い群でコーヒー飲用者の割合が有意に高かった. いずれの特性も身体活動の関連の間に *SOD2* 遺伝子多型による有意な交互作用は認めなかった.

身体活動と尿中 8-OHdG (ng/mg Cr) との関連について, *SOD2* の Ala 型保有の有無で層別解析

表 3 総身体活動 4 分位と対象者の特性の関連

	Val/Val (n=4,923)					Ala/Ala+Ala/Val (n=1,487)				
	Q1	Q2	Q3	Q4	P for trend	Q1	Q2	Q3	Q4	P for trend
総身体活動 (MET h/day)	1.81	2.89	3.90	6.00		1.83	2.91	3.91	5.99	
男性 (%)	33.0	32.8	36.4	44.7	<0.01	33.6	35.7	34.3	46.9	<0.01
年齢	62.8	60.3	59.7	59.3	<0.01	61.8	59.6	58.9	59.7	<0.01
BMI, kg/m ²	23.1	22.5	22.6	22.5	<0.01	23.2	22.7	22.2	22.5	<0.01
喫煙 (%)	13.6	11.8	10.2	11.8	0.1	15.8	14.2	11.7	10.8	0.17
飲酒 (%)	47.3	51.9	54.7	59.6	<0.01	48.0	53.7	56.0	60.2	<0.01
コーヒー飲用 (%)	49.6	57.8	59.7	59.0	<0.01	56.4	59.0	56.4	54.7	0.7
緑茶飲用 (%)	81.7	82.7	80.5	81.2	0.56	88.7	83.1	79.5	80.0	0.33
緑黄色野菜の摂取 (%)	28.5	30.6	27.8	27.1	0.24	28.6	26.6	28.5	26.6	0.87
果物摂取 (%)	19.3	17.1	18.2	16.8	0.36	15.2	15.5	15.4	15.7	0.99
総エネルギー摂取, kcal/day	1603	1620	1667	1713	<0.01	1592	1657	1612	1722	<0.01
ビタミン C サプリメント使用 (%)	8.8	9.4	10.6	9.7	0.49	7.9	9.7	8.8	8.7	0.86
尿中 8-OHdG (ng/mg Cr) 幾何平均値	4.12	4.01	3.98	3.69	<0.01	4.14	3.83	3.72	3.81	0.01

Q1: 総身体活動第 1 四分位, 0.15~2.46(MET h/day)

Q2: 総身体活動第 2 四分位, 2.46~3.36(MET h/day)

Q3: 総身体活動第 3 四分位, 3.36~4.52(MET h/day)

Q4: 総身体活動第 4 四分位, 4.52~16.3(MET h/day)

表 4 尿中 8OHdG (ng/mg creatinine) と身体活動の関連 (Spearman の順位相関)

	Val/Val (n=4,923)		Ala/Ala+Ala/Val (n=1,487)		交互作用 P value
	r	P value	r	P value	
総身体活動, MET h/day	-0.09	<0.01	-0.03	0.22	0.04
強度別身体活動, MET h/day					
低強度 (<3 METs)	-0.04	<0.01	-0.06	0.03	0.63
中強度 (3-6 METs)	-0.08	<0.01	0.00	0.96	<0.01
高強度 (>6 METs)	-0.08	<0.01	-0.02	0.54	0.03
中高強度 (≥ 3 METs)	-0.10	<0.01	-0.01	0.83	<0.01

MET, metabolic equivalent; 8-OHdG, 8-hydroxydeoxyguanosine;

を行った (表 4)。総身体活動量と尿中 8-OHdG (ng/mg Cr) は、Val/Val 型群では有意な負の相関を認めたのに対し (r=-0.09 P<0.01) と Ala 型保有群では認められず (r=-0.03, P=0.22)。SOD2 の遺伝子多型は、総身体活動量と尿中 8-OHdG (ng/mg Cr) との関連において有意な交互作用を示した。強度別に検討したところ、中強度の身体活動 (3~6METs) および中高強度 (3METs 以上) の身体活動において、同様の関連が認められた。一方、3METs 未満の低強度の身体活動では両群ともに尿中 8-OHdG (ng/mg Cr) と有意な負の相関を認めなかった。

SOD2 遺伝子多型と身体活動 4 分位ごとに、交絡因子である可能性のある性、年齢、喫煙、飲酒、総エネルギー摂取、BMI を補正した尿中 8-OHdG

(ng/mg Cr) の調整幾何平均値を求め図示した (図 1)。Val/Val 型群の方が調整幾何平均値が高く、総身体活動、中高強度の身体活動ともに有意な負の関連を認めた。一方、Ala 型保有群では身体活動量と調整幾何平均値の間に有意な相関は認めなかった。

3. 考 察

本研究では、抗酸化酵素である SOD2 の遺伝子多型の Val/Val 型群と Ala 型保有群において、身体活動と遺伝子損傷マーカーである尿中 8-OHdG (ng/mg Cr) の関連について検討した。Val/Val 型では総身体活動、中高強度の身体活動が高い程、尿中 8-OHdG (ng/mg Cr) の調整幾何平均値が有意に低いことが明らかになった。一方、Ala 型保

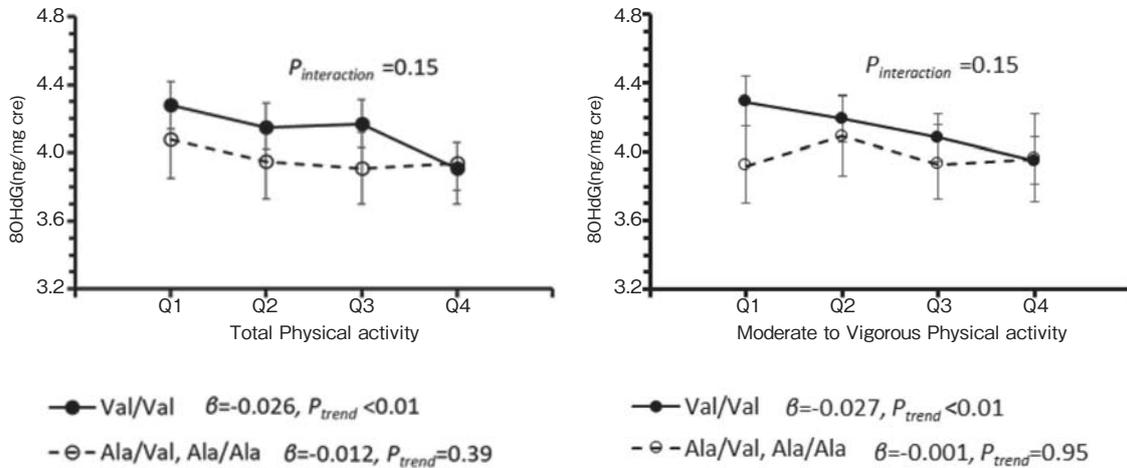


図1 SOD2 遺伝子多型, 身体活動4分位別の尿中8-OHdG (ng/mL Cr) 調整幾何平均値
 総身体活動 (a) および中高強度の身体活動 (b) の4分位ごとに, 性, 年齢, 喫煙,
 飲酒, 総エネルギー摂取, BMI で補正した尿中8-OHdG (ng/mL Cr) 調整幾何平均

有群ではこのような関連は明らかではなかった。SOD2 多型による交互作用は境界域 (P=0.15) であり, 統計学的に有意な交互作用は検出されなかったものの, 個人の抗酸化能の特性によって身体活動による遺伝子損傷抑制作用が異なる可能性が示唆された。

これまでに実施された SOD2 遺伝子多型と運動に関する研究では, 主に抗酸化酵素活性への影響について検討されているが, 運動強度や実施期間によってその効果に違いがみられている。Bresciani らは, 健常成人に最大酸素摂取量の 75% 強度の激しい運動を 1 日 40 分間, 2 週間実施し, その前後の変化を SOD2 遺伝子多型ごとに検討したところ, Ala 型で SOD2 の mRNA への転写および酵素活性が上昇したことを報告している¹⁶⁾。一方, Jówko らは, 健常成人に 1 日 1.5 時間, 週 4 日の水泳トレーニングを 12 週間実施し抗酸化酵素の活性を測定したところ, 血清の SOD 活性は, Ala/Ala 型で低かったと報告している²²⁾。我々の研究は習慣的な身体活動と酸化的 DNA 損傷マーカーである尿中 8-OHdG に対する SOD2 遺伝子多型の影響を検討したものであり, 有意な負の関連が Val/Val 型でのみ認められた。習慣的

な運動によって, 抗酸化能が改善したことで遺伝子損傷が抑制されたと考えると, 後者の研究結果を支持する結果と言える。Val 型は Ala 型に比べて抗酸化能が低く, 一過性の高強度の運動に対しては酵素活性を上昇させにくい, 長期間にわたる運動や, 習慣的な身体活動によって抗酸化能が Ala 型保有者と同程度まで改善できることが期待される。抗酸化酵素の活性の低い遺伝子型であっても, 身体活動を増加することで, 抗酸化酵素の活性の高い遺伝子型と同程度の遺伝子損傷抑制が期待できる可能性が示唆された。

本研究の特徴は, 6,410 人の地域住民に加速度計付き歩数計を用いて客観的に評価した身体活動量を使用した点である。抗酸化酵素の遺伝子多型と身体活動に関する研究で最大規模である。一方, 本研究の限界は, 遺伝子損傷マーカーとの関連を検討したものの, 抗酸化酵素の活性は測定できていない点である。今後, 抗酸化能の測定を進めることで, 抗酸化酵素の遺伝子多型, 酸化的遺伝子損傷マーカーとともに, 包括的に身体活動の影響を評価したい。

4. 結 語

SOD2 遺伝子多型は、総身体活動、および、中高強度の身体活動と遺伝子損傷マーカーの負の関連に交互作用を示すことが明らかとなった。個人の抗酸化能に応じた遺伝子損傷防止に適した強度別身体活動量を提示できる可能性が示唆された。

謝 辞

本研究に対し、助成賜りました公益財団法人石本記念デサントスポーツ科学振興財団に深謝いたします。また、本研究を実施するにあたり、専門的立場から支援して下さった佐賀大学医学部社会医学講座予防医学分野の西田裕一郎講師、田中恵太郎教授、測定を短期間で実施した赤尾千穂研究員、ならびに、本コホート研究に参加された地域住民の皆様、調査に携わったすべての人に、心より感謝いたします。

文 献

- 1) Kruk J., Czerniak U., Physical activity and its relation to cancer risk: updating the evidence., *Asian Pac. J. Cancer. Prev.*, 14:3993-4003 (2013)
- 2) Arem H., Moore S.C., Park Y., Ballard-Barbash R., Hollenbeck A., Leitzmann M., et al., Physical activity and cancer-specific mortality in the NIH-AARP Diet and Health Study cohort., *Int. J. Cancer.*, 135:423-31 (2014)
- 3) Friedenreich C.M., Neilson H.K., Farris M.S., Courneya K.S., Physical Activity and Cancer Outcomes: A Precision Medicine Approach., *Clin. Cancer Res.*, 22:4766-75 (2016)
- 4) Li Y., Gu M., Jing F., Cai S., Bao C., Wang J., et al., Association between physical activity and all cancer mortality: Dose-response meta-analysis of cohort studies., *Int. J. Cancer.*, 138:818-32 (2016)
- 5) Kohl H.W., 3rd., Physical activity and cardiovascular disease: evidence for a dose response., *Med. Sci. Sports Exerc.*, 33:S472-83; discussion S93-4 (2001)
- 6) Ahmed H.M., Blaha M.J., Nasir K., Rivera J.J., Blumenthal R.S., Effects of physical activity on cardiovascular disease., *Am. J. Cardiol.*, 109:288-95 (2012)
- 7) Matthews C.E., Cohen S.S., Fowke J.H., Han X., Xiao Q., Buchowski M.S., et al., Physical activity, sedentary behavior, and cause-specific mortality in black and white adults in the Southern Community Cohort Study., *Am. J. Epidemiol.*, 180:394-405 (2014)
- 8) Kyu H.H., Bachman V.F., Alexander L.T., Mumford J.E., Afshin A., Estep K., et al., Physical activity and risk of breast cancer, colon cancer, diabetes, ischemic heart disease, and ischemic stroke events: systematic review and dose-response meta-analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *BMJ.* 354:i3857 (2016)
- 9) Westerlind K.C., Physical activity and cancer prevention--mechanisms., *Med. Sci. Sports Exerc.*, 35:1834-40 (2003)
- 10) Rogers C.J., Colbert L.H., Greiner J.W., Perkins S.N., Hursting S.D., Physical activity and cancer prevention : pathways and targets for intervention., *Sports Med.*, 38:271-96 (2008)
- 11) Na H.K., Oliynyk S., Effects of physical activity on cancer prevention., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1229:176-83 (2011)
- 12) Radak Z., Zhao Z., Koltai E., Ohno H., Atalay M., Oxygen consumption and usage during physical exercise: the balance between oxidative stress and ROS-dependent adaptive signaling., *Antioxid. Redox. Signal.*, 18:1208-46 (2013)
- 13) Knop K., Schwan R., Bongartz M., Bloch W., Brixius K., Baumann F., Sport and oxidative stress in oncological patients., *Int. J. Sports Med.*, 32:960-4 (2011)
- 14) Tomasello B., Malfa G.A., Strazzanti A., Gangi S., Di Giacomo C., Basile F., et al., Effects of physical activity on systemic oxidative/DNA status in breast cancer survivors., *Oncol. Lett.*, 13:441-8 (2017)
- 15) Crawford A., Fassett R.G., Geraghty D.P., Kunde D.A., Ball M.J., Robertson I.K., et al., Relationships between single nucleotide polymorphisms of antioxidant enzymes and disease., *Gene.*, 501:89-103 (2012)
- 16) Bresciani G., Gonzalez-Gallego J., da Cruz I.B., de Paz J.A., Cuevas M.J., The Ala16Val MnSOD gene polymorphism modulates oxidative response to exercise., *Clin. Biochem.*, 46:335-40 (2013)
- 17) Hara M., Higaki Y., Imaizumi T., Taguchi N.,

- Nakamura K., Nanri H., et al., Factors influencing participation rate in a baseline survey of a genetic cohort in Japan., *J. Epidemiol.*, 20:40-5(2010)
- 18) Hara M., Shimanoe C., Otsuka Y., Nishida Y., Nanri H., Horita M., et al., Factors associated with non-participation in a face-to-face second survey conducted 5 years after the baseline survey., *J. Epidemiol.*, 25:117-25(2015)
- 19) Hara M., Nishida Y., Shimanoe C., Otsuka Y., Nanri H., Yasukata J., et al., Intensity-specific effect of physical activity on urinary levels of 8-hydroxydeoxyguanosine in middle-aged Japanese., *Cancer Sci.*, 107:1653-9(2016)
- 20) Kawakami R., Kashino I., Kasai H., Kawai K., Li Y.S., Nanri A., et al., Leisure-time physical activity and DNA damage among Japanese workers., *PLoS One.*, 14:e0212499(2019)
- 21) Kumahara H., Schutz Y., Ayabe M., Yoshioka M., Yoshitake Y., Shindo M., et al., The use of uniaxial accelerometry for the assessment of physical-activity-related energy expenditure: a validation study against whole-body indirect calorimetry., *Br. J. Nutr.*, 91:235-43(2004)
- 22) Jowko E., Gromisz W., Sadowski J., Cieslinski I., Kotowska J., SOD2 gene polymorphism may modulate biochemical responses to a 12-week swimming training., *Free Radic. Biol. Med.*, 113:571-9(2017)