

生体内 DNA 酸化的損傷（尿中8-OHdG 排泄量）に及ぼす 一過性運動負荷時における環境温度の影響

齋藤恭世*・田中英登**・原川早織*・須田和裕***

Effect of a Single Bout of Exercise Under Different Ambient Temperature on Oxidative DNA Damage in Human: Change in Urine 8-Hydroxy-deoxyguanosine (8-OHdG) Levels

Yasuyo SAITO *, Hideto TANAKA **, Saori HARAKAWA * and Kazuhiro SUDA ***

Summary

The present study examined the effect of a single bout of exercise on oxidative DNA damage in humans under different environments to determine whether or not thermoregulation during exercise causes oxidative stress. We determined the urinary 8-OHdG levels of six healthy male volunteers (21.3±1.0 years) and studied five test condition: Change in urinary 8-OHdG levels 1) routine life (Control), 2) HRmax 60-70 % of a single bout of cycling exercise for 60min in a room maintained at 25 °C (neutral environment ; Neutral EX), 3) HRmax 60-70 % of a single bout of cycling exercise for 60min in a room maintained at 35 °C (heat environment; Heat EX), 4) HRmax 60-70 % of a single bout of cycling exercise for 60 min in a room maintained at 0-5 °C (cold environment; Cold EX), 5) when legs were immersed in a water temperature of 43 °C for 60 min in a room maintained at 30 °C (Heat BATH). The urine 8-OHdG was used at selected time points: pre-, just post-experiment, 2 hr post-experiment and 6 hr post-experiment. Urinary 8-OHdG excretion increased in all experiments compared to each experimental control. But, only Heat EX insignificant. Rectal temperature during the experimental load rose in Heat EX from the 30 min point, and exceeded 38 °C from the 50 min point. These results indicate that a single bout of exercise in a room maintained in a heat environment, exceeding 38 °C in rectal thermoregulatory response in humans, increased heat shock protein, thus increasing antioxidant enzyme, decreased oxidative DNA damage, and activated oxidative DNA repair enzyme.

Key words: exercise, reactive oxygen species, oxidative stress, 8-hydroxydeoxyguanosine, thermoregulatory response

-
- * 横浜国立大学大学院修士課程（〒240-8501 横浜市保土ヶ谷区常盤台79-2）
Master's Program in Health and Physical Education, Yokohama National University
 - ** 横浜国立大学教育人間科学部（〒240-8501 横浜市保土ヶ谷区常盤台79-2）
Faculty of Education and Human Science, Yokohama National University
 - *** 東京工業大学社会理工学研究科（〒152-8522 目黒区大岡山2-12-1）
Department of Human System Science, Tokyo Institute of Technology

I. 緒言

過度の活性酸素の生成は生体内で酸化ストレスを引き起こし、その結果、酸化傷害の蓄積が生活習慣病をはじめとする疾病の誘起・促進に繋がることが報告されている^{11,13}。これに対して、ヒトをはじめとする好気性生物は酸素毒性に対する防御機構を獲得・適応し、進化してきたのである。生体には幾重もの活性酸素に対する防御機構が備わっており^{3,17,20,30,35,36}、生体の恒常性（ホメオスタシス）を維持している。従って、生体内で何らかの原因により活性酸素に対する防御機構が低下、もしくは活性酸素の生成量が防御機構のキャパシティを超えた場合に酸化損傷（酸化ストレス）が生じることになる。

身体運動時は酸素摂取量の増加に伴い、生体内での活性酸素の生成量は高まる可能性が考えられる^{15,19,35}。従って、身体運動は、生体内で生成された過剰の活性酸素が防御機構を上回ることで酸化ストレスを引き起こし^{15,17}、酸化傷害を惹起するのではないだろうか。だが、一方で、低酸素環境²⁰や不活動²⁹においても活性酸素が生じるという報告から、身体運動により酸素摂取量が高まるということだけで酸化ストレスを生じて傷害をもたらすとは一概にいえぬ。

近年、活性酸素による生体影響を解明するために、生体構成成分である DNA と活性酸素との反応で生成した物質をマーカーとして測定し、その生体影響を明らかにすることが試みられている^{1,2,7,22,23,25,26,33}。DNA 周辺で発生した過酸化水素 (H_2O_2) は鉄塩や銅塩などと反応すること（Fenton 反応）により、非常に有害なヒドロキシラジカル ($HO\cdot$) を生成する¹⁹。そして、DNA の構成成分の 1 つであるデオキシグアノシン (dG) が、 $HO\cdot$ により酸化され、8-hydroxy-deoxyguanosine (8-OHdG) を生成する^{12-14,31}。この 8-OHdG は、生体内で代謝されることなく、血液を経て最終的に尿中に排出される⁹。つまり、DNA 酸化的ストレスマーカーである尿中 8-OHdG は、非侵襲的に酸化ストレスの変化を鋭敏かつ経時的に反映しうる指標である。しかしながら、現在のところ身体運動による尿中 8-OHdG 排泄量の指標を用いた DNA 酸化的損傷の有無を検討したこれまでの研究結果は、必ずしも一致していない^{1,5-7,9,16,22,23,25-27,34,36}。これらの先行研究報告における運動時 DNA 酸化的損傷の有無の不一致を推察すると、運動と DNA 酸化的損傷の関係は、身体運動

を行うと酸素摂取量が高まることにより生体内で活性酸素が生成され、その結果として DNA 酸化的損傷が惹起するというような単純な機構では起こっていないと思われる^{5,6,34}。

Ohtuka ら²¹の研究報告では、ヒトを安静の状態です 10 分間 42°C の水中に浸けておくと、赤血球 TBARS 濃度が有意に増加し、GSH（還元型グルタチオン）が低下することを示している。また、多くの先行研究は、高温、低温環境下における安静時の生体内活性酸素ストレスの影響を及ぼすことを示唆している^{4,8,18,21,24,28,37}。しかし、これらの研究結果はいずれも安静時における反応を検証している。そこで、運動時の環境温度の相違や体温上昇が生体内 DNA 酸化的損傷に影響を及ぼしているのではないかと推測し、本研究では、運動時の生体内活性酸素生成に及ぼす環境温度および体温変動への影響を明らかにするため、異なった環境温度下での一過性運動時の尿中 8-OHdG 排泄量により測定した。

II. 方法

A. 被験者

被験者は、健康的な成人男子 6 名（年齢；21.3 ± 1.0 歳，身長；172.7 ± 5.8 cm，体重；72.0 ± 13.4 kg，BMI；24.1 ± 4.5 kg/m²）に協力を得た。被験者の服装は、T-シャツとショートパンツであった。また、実験前日 21:00～実験終了までは、ビタミン剤、カフェイン、アルコール飲料、煙草の摂取を禁止とした。なお、被験者には事前に実験の趣旨や安全性を説明し、承諾を得た後に実験を実施した。

B. 実験プロトコール

以下の条件で実験を行った。

1. 日常生活における尿中 8-OHdG 排泄量の変動をみるため実験と同時刻に採尿を行った：Control（環境温度 20°C～25°C）
2. 中立環境下（環境温度 25°C，湿度 50%）における HRmax60～70% の一過性運動負荷：Neutral EX
3. 高温環境下（環境温度 35°C，湿度 50%）における安静時：Heat ES と HRmax60～70% の一過性運動負荷（中立環境下での一過性運動負荷におけるの同等負荷強度）：Heat EX
4. 低温環境下（環境温度 0～5°C，湿度 50%）における安静時：Cold ES と HRmax60～70% の一過

生体内 DNA 酸化的損傷（尿中8-OHdG 排泄量）に及ぼす一過性運動負荷時における環境温度の影響

性運動負荷（中立環境下での一過性運動負荷においての同等負荷強度）：Cold EX

5. 下肢温浴（環境温度30℃，湿度50% ウォーターバス43℃）における温熱負荷：Heat BATH

実験は，人工気象室にて行った．実験負荷時間は9：00～10：30の間に行った．

運動は，各条件下同様，各被験者のHRmax60～70%となる負荷に設定した自転車エルゴメーター（モナーク社製，ERGOMEDIC 818E）を用いて，60分間行った．また，運動時における体温上昇と安静時における体温上昇との酸化ストレスを比較検証するために温熱負荷条件を設定した．温熱負荷は，膝までウォーターバスに浸かり60分間安静を保った．

被験者は，実験室内（環境温度20～25℃）で30～40分間の安静を保持した後，人工気象室（各条件に設定された環境温度）に実験開始10分前に入室し，心拍数測定用電極の貼付，直腸温の挿入，呼吸マスクの装着を行った．運動負荷の場合においては，装着終了後，被験者は自転車エルゴメーターの上で10分間の安静を保持した後，運動を開始した．温熱負荷の場合においては，装着終了後，30℃の人工気象室内で10分間の安静後，下肢温浴を開始した．そのとき，被験者には膝下まで湯に浸かるよう指示した（Figure 1）．また，水分補給は，実験室入室から20分間隔で摂取させた．

C. 実験時測定項目

1. 心拍数

心拍数は，心拍数測定器（日本光電社製，Life Scop6）により，実験中連続計測し，5分毎に記録した．

2. 呼気ガス

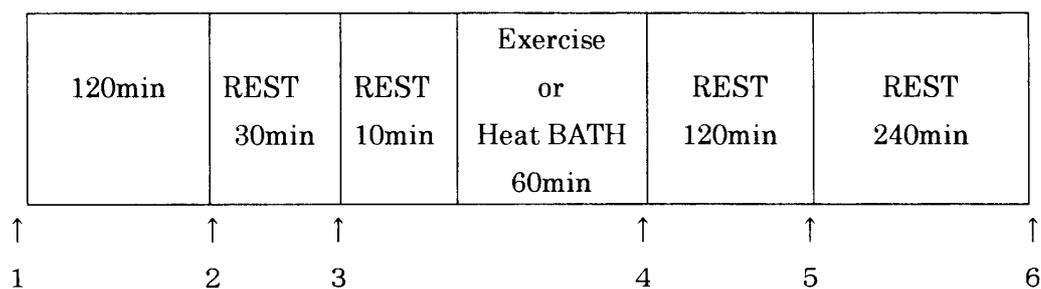
酸素摂取量，炭酸ガス排泄量は呼気代謝分析器（ミナト医科学社製，AE-300）により breath by breath 法により測定した．

3. 直腸温

直腸温の測定は，サーミスタの先端を直腸温に10～12cm 挿入し，5分毎に記録した．

D. 尿サンプル採取（Figure 1）

被験者には，排尿間隔を2時間以上空けることを説明し，実験当日は実験室入室2時間前に排尿を済ませ，その排尿時間も覚えておくように指示した．実験室入室後，被験者のその日の体調，睡眠時間，排尿時間を確認し，体重を測定した後に採尿を実施した．採尿時には，排尿の全量を回収し，液量を計測し，排尿時間も記録した．また，尿サンプルは約2.5ml をスピッツに採集し，分析開始まで凍結保存をした．負荷後の採尿時（負荷直後，負荷終了2時間後，負荷終了6時間後）においても同様に行った．



1. Urination
2. Collection of urine sample (-2.5 hr)
3. Enter into a Climatic Chamber
4. Go out a Climatic Chamber, Collection of urine sample (0 hr)
5. Collection of urine sample (2 hr)
6. Collection of urine sample (6hr)

Fig. 1 Experimental procedure

E. 尿中8-OHdG 分析

尿中8-OHdG の濃度の分析には、特異的なモノクローナル抗体を使用し、生体試料中の8-OHdG を簡易・迅速に測定できる ELISA キット（日本老化制御研究所）を用いた。凍結された尿サンプルは解凍し、3分間3000rpmでの遠心分離機し、得られた上清を検体として用いた。

F. 統計処理

統計量は、平均値±標準偏差で示した。負荷前後の比較については、対応のあるt検定と分散分析を用いた。有意水準は $p < 0.05$ とした。

Ⅲ. 結果

A. 実験条件別での尿中8-OHdG 排泄量の動態 (Figure 2)

1. 日常安静時: Control

実験を行った被験者4名に対して日常生活において尿中8-OHdG の動態を測定したところ、大きな変化はみられなかった。

2. 中立環境下: Neutral EX (環境温度25℃, 湿度50%) における HRmax60~70%の一過性運動負荷

中立環境下における運動負荷後の尿中8-OHdG 排泄量の動態は、運動前の値 (-2.5h: 11.20±5.50ng/h/kg) と比較して運動終了後2時間後 (19.01±6.54ng/h/kg) で有意に増加し ($p < 0.01$)、そして、運動終了6時間後 (10.45±3.24ng/h/kg) に前値へ回復した。

3. 高温環境下 (環境温度35℃, 湿度50%) における安静時: Heat ES と HRmax60~70%の一過性運動負荷: Heat EX

高温環境での60分暴露後の尿中8-OHdG 排泄量の動態に変化は見られなかった。

高温環境下における運動負荷後の尿中8-OHdG 排泄量の動態は、運動前の値 (-2.5h: 11.36±4.09ng/h/kg) と比較して運動終了直後 (13.99±6.57ng/h/kg) に上昇し、運動終了2時間後まで (15.42±5.53ng/h/kg) 持続し、6時間後 (11.24±3.54ng/h/kg) には前値へと回復した。有意差は認められなかった。

4. 寒冷環境下 (環境温度0~5℃, 湿度50%) における安静時: Cold ES と HRmax60~70%の一過性運動負荷: Cold EX

低温環境での60分暴露後の尿中8-OHdG 排泄量の動態に変化は見られなかった。

低温環境下における運動負荷後の尿中8-OHdG 排泄量の動態は、中立環境下での運動負荷後と同様に、運動前の値 (-2.5h: 9.75±4.17ng/h/kg) と比較して運動終了2時間後 (21.41±4.85ng/h/kg) で有意に増加した ($p < 0.01$)。だが、中立環境下とは違って、運動終了6時間後 (20.11±12.49ng/h/kg) まで尿中8-OHdG 排泄量は持続した ($p < 0.01$)。

5. 下肢温浴: Heat BATH (環境温度30℃ 湿度50% ウォーターバス 43℃) における温熱負荷

下肢温浴による温熱負荷後の尿中8-OHdG 排泄量は、負荷直後から負荷終了6時間後まで徐々に増加した。(運動前の値10.47±4.18ng/h/kg vs 6時間後23.73±6.78ng/h/kg: $p < 0.01$)

B. 実験中の直腸温変化と酸素摂取量

Figure 3には、各実験中の体温上昇を示した。Heat EXを除くそれぞれの実験における体温上昇は、同等の変動を示した。Heat EXにおいては、他の実験条件の体温と比較して負荷30分以降から大きな上昇を示し、そして負荷50分以後の直腸温は38℃を越えた。またFigure 4には、各実験中の酸素摂取量を示した。酸素摂取量はCold EXで最も高い値を示した。

Ⅳ. 考察

今回の実験に用いた8-OHdGは、遺伝子DNAの構成成分の1つであるデオキシグアノシン(dG)が活性酸素のヒドロキシラジカルにより酸化され、生成される物質で、葛西らの研究により1984年にみつけられたものである^{11,12}。この8-OHdGは、DNA中に生成するが、定常的に修復酵素系で異物として検出され、正常塩基と入れ替わりに切り出された後、生体内で代謝されることなく、血液を経て、最終的に尿中に排泄される^{12,13}。このことから、DNA酸化のストレスマーカーである尿中8-OHdGは、非侵襲的に酸化ストレスの変化を鋭敏かつ経時的に反映しうる指標とされている。

だが一方で、運動後の尿中8-OHdG排泄量の変化における先行研究結果は必ずしも一致していない。これらの矛盾は、おそらく分析評価方法の相違から生ずるのかもしれない。つまり、尿サンプルの採取時間が関わってくると考えられる。このことについて

生体内 DNA 酸化的損傷（尿中8-OHdG 排泄量）に及ぼす一過性運動負荷時における環境温度の影響

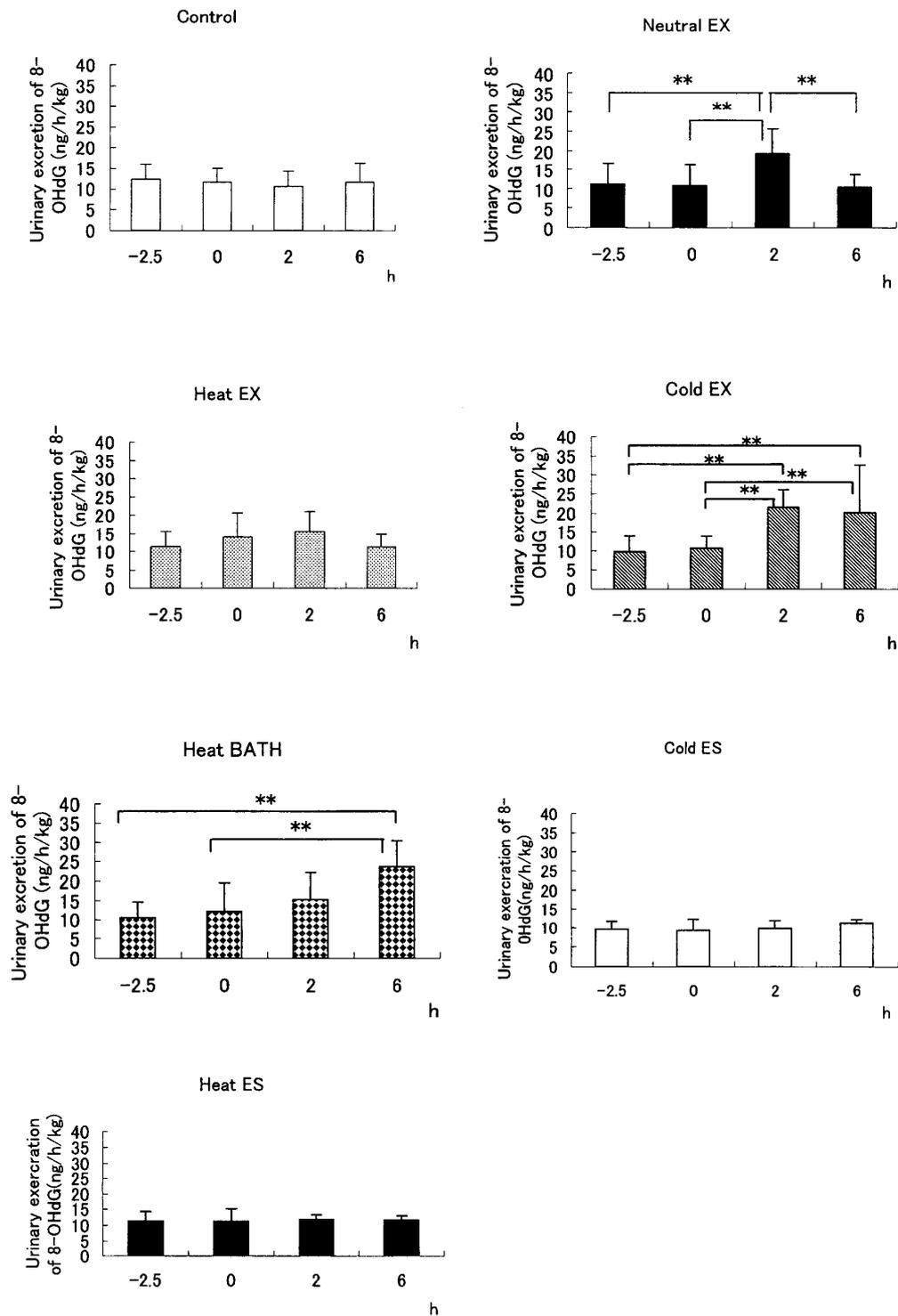


Fig. 2 The urinary excretion of 8-OHdG compare before exercise or Heat BATH (-2.5 h) with just after (0 h), after 2 hour (2 h) and after 6hour (6 h). Values are the means \pm SD, **: $p < 0.01$. Neutral EX: HRmax 60-70 % of a single bout of exercise for 60 mins in a room maintained at 25 °C, Heat EX: HRmax 60-70 % of a single bout of exercise for 60mins in a room maintained at 35°C, Cold EX: HRmax 60-70 % of a single bout of exercise for 60 mins in a room maintained at 0-5 °C, Heat BATH: immersed leg at 43 °C water temperatures for 60 mins for 60 mins in a room maintained at 30 °C.

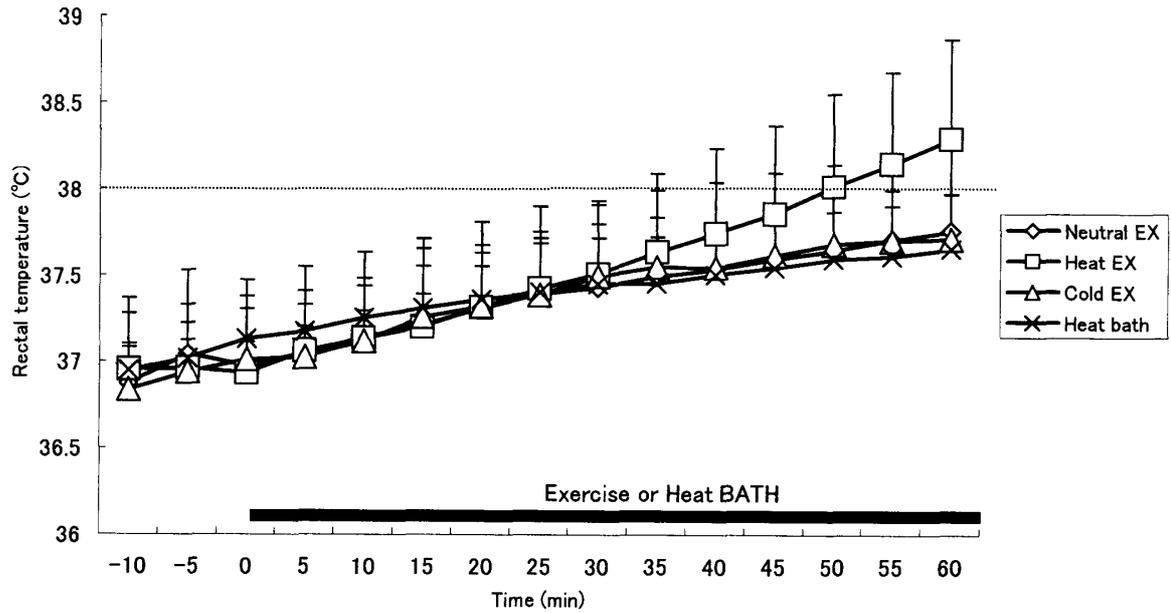


Fig. 3 Change of mean rectal temperature during each experiments.

- ◇: HRmax 60-70 % of a single bout of exercise for 60 mins in a room maintained at 25 °C,
- : HRmax 60-70 % of a single bout of exercise for 60 mins in a room maintained at 35 °C,
- △: HRmax 60-70 % of a single bout of exercise for 60 mins in a room maintained at 0-5 °C,
- ×: immersed leg at 43 °C water temperatures for 60 mins for 60 mins in a room maintained at 30 °C.

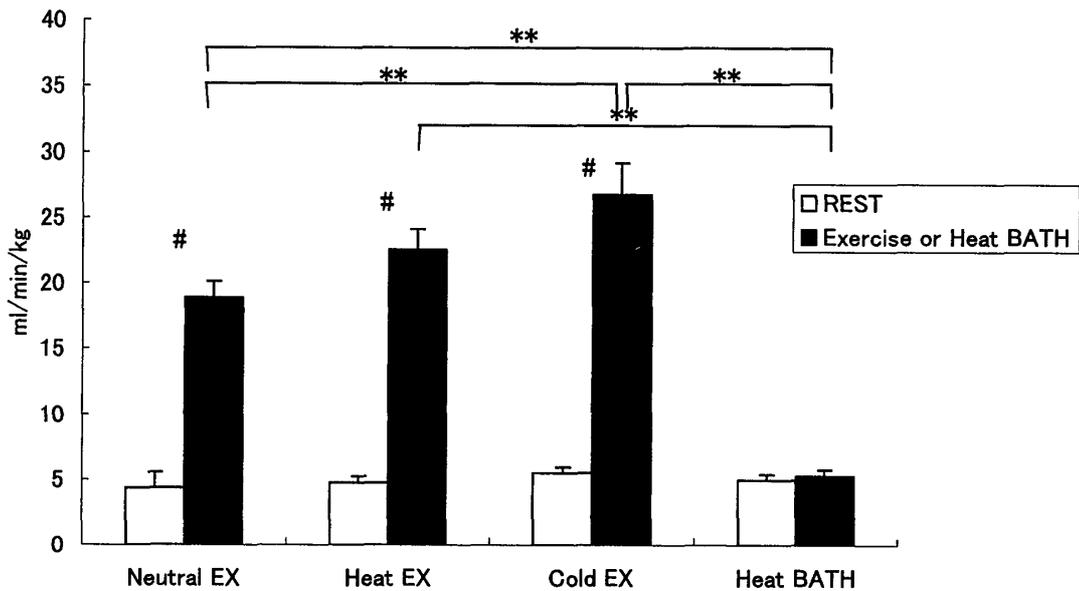


Fig. 4 Mean oxygen intake during each condition. Values are mean \pm SD. #: $P < 0.01$, significant difference between the same conditions. **: $P < 0.01$, significant difference during Exercise or Heat BATH.

生体内 DNA 酸化的損傷 (尿中8-OHdG 排泄量) に及ぼす一過性運動負荷時における環境温度の影響

て先行研究では、運動後の尿中8-OHdG 排泄量は24時間蓄尿したサンプルを用いた場合とそれより短い時間で蓄尿したサンプルに矛盾を生じると指摘している^{10,33)}。例えば、神林ら¹⁰⁾は、尿中8-OHdG の修復や排泄は運動終了後比較的短時間に完了すると推測し、24時間蓄尿では安静時レベルの尿を含むため運動における酸化ダメージを正確に定量化していない可能性のあることを指摘している。今回の我々の実験においても中立環境下 (25℃) での一過性運動負荷後の尿中8-OHdG 排泄量の動態において運動終了2時間後に著しく増加し運動終了6時間後に回復したことから、尿中8-OHdG の修復や排泄は運動終了後比較的短時間に完了することが再確認された。

安静時において高温環境および低温環境のいずれもが生体に活性酸素ストレスの影響を及ぼすとされている²⁰⁾。しかしながら、今回の我々の実験結果では、暴露後の尿中8-OHdG 排泄量の動態に変化が見られなかった。つまり、安静時においての高温・低温環境下暴露は DNA 酸化的損傷に影響を及ぼさないと考えられる。

一方で、低温環境下での一過性運動負荷後の尿中8-OHdG 排泄量は、コントロールと比較して著しい増加傾向を示した (Figure 2)。確かに、低温環境下暴露だけでは尿中8-OHdG 排泄量に影響を与えないため、環境温度からの検知からでは直接的な影響を及ぼしている可能性は低いと考えられる。しかし、低温環境下において運動をおこなったことで大量の酸素が供給され (Figure 4)、活性酸素が生成され、DNA 酸化的損傷が上昇したのではないかと推測できる。また、中立環境下での一過性運動負荷後の尿中8-OHdG 排泄量と異なり低温環境下での尿中8-OHdG 排泄量は、運動終了6時間後にも前値 (9.75 ± 4.17ng/h/kg) と比較して増加していた。このことは今回の実験結果からはわからないが、異なる環境温度での一過性運動が生体内の酸化ストレスに影響を与えていることは間違いない。

しかし高温環境下での一過性運動負荷後の尿中8-OHdG 排泄量では、前値 (-2.5h) と比較して有意な増加が認められなかった (Figure 2)。先行研究から、これは高温環境下での運動負荷により上昇した体温が抗酸化酵素レベルを上昇させたことで、酸化的 DNA 損傷の軽減および DNA 修復プロセスの活性化が関与したのではないかと考えられる。Inoue ら⁹⁾による報告では、ヘパリン採血した静脈血を等量の

完全無血清培地 (ASF101) と混合し37-42℃ で培養した場合には40℃ で8-OHdG 量の減少が認められた。ヒトのリンパ球を種々の温度で培養すると、温度依存性に DNA 損傷の修復が起こるとしている。ヒトの体温 (体内環境) において生体内の抗酸化酵素は36-38℃ で最も活性が安定するが、発熱による体温上昇は抗酸化酵素の働きを加速化すると報告もある。今回の実験で、高温環境下での一過性運動負荷で尿中8-OHdG 排泄量がそれほど増加しなかったのは、この温度依存性から暑い中での運動により体温が38℃ 以上の上昇したことで、DNA 損傷の修復機構が活性酸素の生成量を上回った可能性が考えられる。これは、外気からのストレスから守るため生体内の恒常性を維持する作用が促進されたと考えられる。

このように、運動による酸化ストレス傷害は運動時の環境温度に左右され、またヒトの体温上昇と酸化ストレスには密接な関係があるとみている。

また、上記で示した Inoue ら⁹⁾の研究報告から、ヒトの深部体温の上昇が40℃ に近づくほど尿中8-OHdG 排泄量も減少するのではないかと考えられる。そこで体温だけを上昇させた下肢温浴を行ったが、尿中8-OHdG 排泄量は有意に増加した (Figure 2)。Inoue ら⁹⁾の研究報告から推察すると、おそらく今回の実験での下肢温浴における温熱ストレスは、深部体温が38℃ 以上上昇しなかったため、尿中8-OHdG 排泄量に影響を与えたのではないかと考えられる。この下肢温浴における温熱ストレスの結果について、高温環境下での一過性運動の影響と比較して考えると、深部体温がより40℃ に近づいた高温環境下での一過性運動は8-OHdG を減少させる抗酸化システムの活性化や DNA 損傷の修復が起こったのではないかと推測できる。

以上本研究結果は、環境温度の違いによる一過性運動負荷時での体温上昇が生体内 DNA 酸化的損傷に影響を与えることを示した。ヒトの体温上昇が深部体温38℃ を越える高温環境下での一過性運動負荷は、抗酸化酵素が増加し、DNA 酸化的損傷が軽減および酸化 DNA 修復酵素が活性化されることが示唆された。

V. まとめ

本研究では、運動による体温上昇が生体内 DNA 酸化的損傷に影響しているか否かを検証するため、

異なった環境温度下での一過性運動時の尿中8-OHdG排泄量により追跡検証することを目的とした。

各実験条件における尿中8-OHdGの排泄量は実験前のコントロールを比較して増加を示したが、高温環境下での一過性運動負荷においては、有意な増加を示さなかった。このことを体温上昇の検知から推察すると、高温環境下での一過性運動負荷の直腸温は、他の実験条件の体温と比較して負荷30分以降から大きな上昇を示し、そして負荷50分以後の直腸温は38℃を越えた。この結果から、高温環境下における運動による深部体温38℃以上の体温上昇は抗酸化酵素レベルを高め、生体内DNA酸化損傷を軽減することが示唆された。高温環境下での激しい運動後に尿中8-OHdG排泄量が軽減される詳しいメカニズムはまだ証明されていないが、DNA修復能やDNAの酸化ストレスに対する防御機構が運動による体温上昇により高められた可能性が考えられる。

謝辞

本研究にあたり、初期の測定段階で有益な助言を頂いた日本体育大学大学院の中島早苗様および東京学芸大学連合大学院の松崎愛様に心より感謝の意を表します。

引用文献

- 1) Alessio H M (1993) Exercise-induced oxidative stress. *Med Sci Sports Exerc* 25(2): 218-224
- 2) Almar M, Villa J G, Cuevas M J, Rodriguez-Marroyo J A, Avila C and Gonzalez-Gallego J (2002) Urinary levels of 8-hydroxydeoxyguanosine as a marker of oxidative damage in road cycling. *Free Rad Res* 36(3): 247-253
- 3) 荒尾 孝 (1992) 運動負荷と生体内過酸化脂質及び活性酸素消去系酵素活性. *運動生化学* 3-4: 76-83
- 4) Freeman M L, Spitz D R and Meredith M J (1990) Does heat shock enhance oxidative stress? Studies with ferrous and ferric iron. *Radiation Research* 124: 288-293
- 5) Hartmann A, Plappert U, Raddatz K, Grunert-Fuchs M and Speit G (1994) Does physical activity induce DNA damage? *Mutagenesis* 9: 269-272
- 6) Hartmann A, Andreas M, Grunert-Fuchs M, Poch B and Speit G (1995) Vitamin E prevents exercise-induced DNA damage. *Mutation Research* 346: 195-202
- 7) Hartmann A, Pfuhrer S, Dennog C, Germadnik D, Pilger A and Speit G (1998) Exercise-induced DNA effect in human leukocytes are not accompanied by increased formation of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine or induction of micronuclei. *Free Radical Bio.Med* 24: 245-251
- 8) Himms-Hagen J (1990) Brown adipose tissue thermogenesis: interdisciplinary studies. *FASEB J* 4: 2890-2898
- 9) Inoue Z, Mu Z, Sumikawa K, Adachi K and Okochi T (1993) Effect of physical exercise on the content of 8-hydroxyguanosine in nuclear DNA prepared from human lymphocytes. *Jpn J Cancer Res* 84: 720-725
- 10) 神林 勲, 石村宣人, 中村寛成, 内田英二, 武田秀勝, 藤井博匡 (2004) 短時間の高強度間欠的運動は尿中8-OHdG含有量を増加させる. *日本運動生理学雑誌* 11(2) 61-67
- 11) Kasai H, Iwamoto-Tanaka N, Miyamoto T, Kawanami K, Kawanami S, Kido R and Ikeda M (2001) Life style and urinary 8-hydroxydeoxyguanosine, a marker of oxidative DNA damage; effect of exercise, working conditions, meat intake, BMI and smoking. *Jpn J Cancer Res* 92: 9-15
- 12) 葛西 宏 (2001) 酸化ストレスのマーカー8-OHdGの測定. *FFI Journal* No.194: 10-16
- 13) 蔵重 淳 (2001) DNA酸化損傷バイオマーカー8-OHdGの測定. *臨床検査* 45(3)
- 14) Loft S, Fischer-Nielsen A, Jeding I B, Vistisen K and Poulsen H E (1993) 8-hydroxy-deoxyguanosine as a urinary biomarker of oxidative damage. *Journal of Toxicology and Environmental Health* 40: 391-404
- 15) 増田和実, 田辺 解, 久野譜也 (2001) 運動と酸化ストレスと健康. *筑波大学体育科学系紀要* 25: 1-11
- 16) Niess A M, Hartmann A, Grunert-Fuchs M, Poch B and Speit G (1996) DNA damage after exhaustive treadmill running in trained and untrained man. *Int J Sports Med* 17: 397-403
- 17) 野口範子 (2003) 運動に関連する酸化ストレスと抗酸化作用. *日本運動生理学会誌* 10(1): 1-8
- 18) Oono H, Kondo T, Fujiwara Y, Tagami S, Kuroshima A and Kawakami Y (1991) Effect of cold stress on glutathione and related enzymes in rat erythrocytes. *Int J Biometeorol* 35: 111-113
- 19) 大野秀樹, 大石修司, 木崎節子 (1995) 運動と活性酸素. *化学と生物* 33(8): 520-527

生体内 DNA 酸化的損傷 (尿中8-OHdG 排泄量) に及ぼす一過性運動負荷時における環境温度の影響

- 20) 大野秀樹, 大河原知水, 山下 均, 木崎節子, 中尾千登世, 佐藤祐造, 宮崎裕美, 芳賀脩光 (1998) 酸化ストレスとSOD 日本運動生理学会誌 15 (1): 29-31
- 21) Ohtsuka Y, Yabunaka N, Fujisawa H, Watanabe I and Agishi Y (1994) Effect of thermal stress on glutathione metabolism in human erythrocytes. *Eur J Appl Physiol* 68: 87-91
- 22) Okamura K, Doi T, Hamada K, Sakurai M, Yoshioka Y, Matsuzono R, Migota T, Sumida S and Sugawa-Katayama Y (1997) Effect of repeated exercise on urinary 8-hydroxy-deoxyguanosine excretion in humans. *Free Rad Res* 26: 507-514
- 23) Okamura K, Doi T, Sakurai M, Hamada K, Yoshioka Y, Sumida S and Sugawa-Katayama Y (1997) Effect of endurance exercise on the tissue 8-hydroxy-deoxyguanosine content in dogs. *Free Rad Res* 26: 523-528
- 24) Ookawara T, Kizaki T, Yamashita H, Ohishi S, Saitoh D, Suzuki K, Taniguchi N and Oono H (1995) Changes in immunoreactive manganese-superoxide dismutase content in rat tissues under heat or cold environment. *Pathophysiology* 2: 161-166
- 25) Pilger A, Germadnik D, Formanek D, Zwick H, Winkler N and Rudiger W (1997) Habitual long-distance running dose not enhance urinary excretion of 8-hydroxydeoxyguanosine. *Eur J Appl Physiol* 75: 467-469
- 26) Poulsen H E, Loft S and Vistisen K (1996) Extreme exercise and oxidative DNA modification. *Journal of Sports Sciences* 14: 343-346
- 27) Radak Z, Pucsuk J, Boros S, Jofai L and Taylor A W (2000) Changes in urine 8-hydroxydeoxyguanosine levels of super-marathon runners during a four-day race period. *Life Sciences* 66(18): 1763-1767
- 28) Schmidt M C, Askew E W, Roberts D E, Prior R L, Ensign W Y and Hesslink R E (2002) Oxidative stress in humans training in a cold, moderate altitude environment their response to a phytochemical antioxidant supplement. *Wilerness and Environment Medicine* 13: 94-105
- 29) Sen C K, Marin E, Kretzschmar M and Hanninen O (1992) Skeletal muscle and liver glutathione homeostasis in response to training, exercise and immobilization. *J Appl Physiol* 73: 1265-1272
- 30) Sen C K (1995) Oxidants and antioxidants in exercise. *J Appl Physiol* 78: 675-686
- 31) Shinenaga M, Gimeno C and Ames B (1989) Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine as a biological marker of in vivo oxidative DNA damage. *Proc Natl Acad Sci USA* 86: 9697-9701
- 32) Simon-Schnass (1994) Risk of oxidative stress during exercise at high altitude exercise and oxygen toxicity (Sen C K et al eds) Elsevier Amsterdam: 191-210
- 33) Sumida S, Doi T, Sakurai M, Yoshioka Y and Okamura K (1997) Effect of a single bout of exercise and β -carotene supplementation on the urinary excretion of 8-hydroxydeoxyguanosine in humans. *Free Rad Res* 27: 607-618
- 34) Sumida S, Okamura K, Doi T, Sakurai M, Yoshioka Y and Sugawa-Katayama Y (1997) No influence of a single bout of exercise on urinary excretion of 8-hydroxy-deoxyguanosine in humans. *Biochemistry and molecular Biology International* 42(3) 601-609
- 35) 田辺 解, 増田和実, 河野一郎, 久野譜也 (2002) 筋収縮と活性酸素 体育の科学 52: 635-642
- 36) Viguie C A, Frei B, Shigenaga M K, Ames B N, Packer L and Brook G A (1993) Antioxidant status and indexes of oxidative stress during consecutive days of exercise. *J Appl Physiol* 75(2): 566-572
- 37) Vreugdenhil P K, Belzer F O and Southard J H (1991) Effect of cold storage on tissue and cellular glutathione. *Cryobiology* 28: 143-149
(平成16年10月15日受付, 平成17年4月5日訂正, 平成17年4月28日受理)