

原著論文

エリートサッカー選手における唾液中コルチゾールを用いた
コンディション評価の可能性

Possibility of using salivary cortisol in elite soccer players for condition evaluation

中村真理子¹⁾, 中村大輔¹⁾, 大岩奈青¹⁾, 早川直樹²⁾

Mariko Nakamura¹⁾, Daisuke Nakamura¹⁾, Nao Ohiwa¹⁾, Naoki Hayakawa²⁾

Abstract: [Purpose] The purpose of the present study was to 1) assess the validity of the lateral flow device (LFD), compared with the enzyme immunoassay (EIA) method, for determining salivary cortisol concentrations; and 2) evaluate the saliva cortisol response to training and soccer games. [Method] Sixteen U-22 Japan men's national soccer players participated in the present study. Sixteen players (20.8 ± 1.0 yrs, 177.3 ± 8.6 cm, 71.9 ± 7.2 kg) participated in training camp A, and 12 players (21.1 ± 0.9 yrs, 177.5 ± 9.3 cm, 72.0 ± 8.1 kg) participated in training camp B. Saliva samples were collected at the time of awakening, after training (training camp A), and after the game (training camp B). Saliva sample cortisol concentrations were analyzed by conventional EIA and LFD and the results of each method were compared. [Results] Salivary cortisol concentrations that were analyzed by LFD showed fluctuations that synchronized with EIA methods in Camp A and Camp B, respectively. A positive correlation was observed between cortisol value obtained by LFD analysis and that by EIA method ($r = 0.73$, $p < 0.0001$). No proportional bias was observed. Moreover, the salivary cortisol concentration that was determined by LFD analysis changed according to training load. [Conclusion] The salivary cortisol concentration analysis by LFD was determined to be useful for individual condition evaluation in elite athletes.

Key words : football, saliva, cortisol, athletes, condition

キーワード : サッカー, 唾液, コルチゾール, アスリート, コンディション

¹⁾ 国立スポーツ科学センター, ²⁾ 公益財団法人 日本サッカー協会

¹⁾Japan Institute of Sports Sciences, ²⁾Japan Football Association

E-Mail : mariko.nakamura@jpnpsport.go.jp

受付日 : 2018 年 9 月 10 日

受理日 : 2019 年 2 月 8 日

I. 背景

エリートサッカー選手は、1シーズンが約10ヶ月と長期にわたり、所属チームおよび代表チームにおいて最適なパフォーマンス発揮が求められる。そのため、シーズンを通して良いコンディションを維持することは重要であり、適切なコンディション評価を日常的に行う必要がある。

コルチゾールは、副腎皮質で合成される代表的な糖質コルチコイド・ホルモンであり、精神的ストレス²⁾ や一過性高強度運動ストレス⁶⁾ などによって増加する。唾液中コルチゾール濃度は、血中コルチゾール濃度と高い正の相関が認められ¹³⁾、運動ストレスや選手のコンディションとの関連が示唆されている^{14,18)}。サッカー選手においても短期間のトレーニング合宿後に起床時の唾液中コルチゾール濃度が顕著に増加する¹⁶⁾、もしくは、オーバートレーニング状態にある選手で唾液中コルチゾール濃度が増加することが報告されている⁸⁾。コンディション評価において、唾液を試料として用いることは、非侵襲的で被験者への負担が少なく、利便性の高い有用な指標となる可能性が報告されている¹²⁾。これらのことから、唾液中コルチゾールは、選手のコンディションを評価できる有用な指標となりうると考えられる。

唾液中コルチゾール濃度の測定に関しては、酵素免疫測定法 (enzyme immunoassay; EIA 法、もしくは enzyme-linked immunoassay ; ELISA 法) を用いて行われている。この測定方法はコルチゾール、テストステロン等血中もしくは唾液中などのホルモン測定を行う際に用いられる一般的な方法で、トレーニング負荷のモニタリングやコンディション評価などにも広く用いられている^{10,14,18)}。一方で、競技現場では測定が簡便でかつ信頼性の高い数値の即時フィードバックが必要となる¹¹⁾。従来の唾液中コルチゾールの解析に用いられている EIA/ELISA 法は、侵襲性が低くかつ信頼性の高い解析方法で競技現場において活用しやすい指標ではあるものの、競技現場において日常的な選手のコンディション評価に唾液中コルチゾールを用いるには、測定時間や設備、解析を行う専門の

人材などいくつかの改善点が存在した⁷⁾。近年、唾液中のコルチゾール濃度を簡便に測定できる機器、lateral flow device (LFD, Soma biosciences, Wallingford, UK) が開発されたことにより^{7,15)}、唾液中コルチゾール濃度の測定がより簡便に、短時間でおこなえるようになった。しかしながらこれまでに LFD の妥当性⁷⁾ および運動トレーニングに対する応答性を確認した研究¹⁵⁾ はあるが、対象者はいずれもレクリエーションレベルの運動習慣を有する男女であり、実際の競技現場でエリートアスリートを対象とし LFD を活用してトレーニング中の唾液中コルチゾール濃度の変化について検討した研究はない。実際にトレーニング合宿時などにおけるエリートサッカー選手のコンディション変化を、この簡易デバイス LFD により測定した唾液中コルチゾール濃度を用いて客観的に評価できれば、我々スポーツ科学者やコーチが競技現場で日常的なコンディション評価指標として活用することができ、非常に有意義であると考えられる。

そこで、本研究では、エリートサッカー選手を対象に起床時およびトレーニングに伴う唾液中コルチゾール濃度を測定し、1) 従来の EIA 法と比較し、LFD を用いた唾液中コルチゾール濃度解析方法の妥当性、2) トレーニングに伴う LFD を用いた唾液中コルチゾール濃度の変化、以上 2 点について検証し、LFD を用いた唾液中コルチゾール測定法がエリートアスリートのコンディション評価に有用か検討することを目的とした。

II. 方法

1. 対象

国内において行われる合宿 A に召集された U-22 日本代表男子サッカー選手 16 名 (20.8 ± 1.0 歳, 177.3 ± 8.6 cm, 71.9 ± 7.2 kg) および、合宿 A に召集された選手のうち合宿 B にも召集された U-22 日本代表男子サッカー選手 12 名 (21.1 ± 0.9 歳, 177.5 ± 9.3 cm, 72.0 ± 8.1 kg) の選手を対象とした。実施に先立ち、本人および未成年の場合は保護者の同意が得られた選手を対象に実

施した。本研究は、独立行政法人日本スポーツ振興センター国立スポーツ科学センター倫理審査委員会の承認を得て実施した。

2. 測定方法

国内で実施された合宿 A、合宿 B において唾液を採取し、得られた唾液サンプルを元に従来の EIA 法と LFD によって解析した唾液中コルチゾール濃度を比較した。また、それぞれの合宿のトレーニングに伴う唾液中コルチゾール濃度の変化を比較検討した。

1) 各合宿のトレーニング内容

合宿 A

1 日目の午前中はトレーニングなし。午後は、20 分間のウォーミングアップを行い、Yo-Yo 間欠性回復テスト (Intermittent recovery-Test, IR2) の低速度を 7 分間実施した。Yo-Yo テストの運動強度は $77 \pm 22\%$ HRmax であった。その後、ボールを用いた低強度トレーニングや、クールダウンなどを含め 60 分程度行い、合計 90 分の軽めの調整トレーニングを行った。

合宿 B

トレーニング内容については、午前中はランニング、ボールを用いた低強度トレーニング等軽めの調整を行い、午後は大学チームとの 90 分のゲームを実施した。

2) 唾液採取のタイミングおよび採取方法

合宿 A では、合宿集合 1 日目の起床時および午後のトレーニング後の 2 ポイントにおいて唾液の採取を行った。合宿 B では、合宿集合 1 日目の起床時および午後の練習試合後、翌日の起床時の 3 ポイントにおいて唾液の採取を行った。

唾液の採取のタイミングについては、起床時コルチゾール濃度の個人内変化の安定性が高いこと^{17,19)}、起床時のコルチゾール濃度が前日のトレーニング負荷を反映していると報告されていることから³⁸⁾、起床時に採取し、これをベースラインとした。またトレーニングに伴うコルチゾール値の変化を確認するため、午後の測定はトレーニング直後および試合直後に採取した。起床時の唾液

測定について、合宿 A、B ともに選手は起床後メディカルルームに集合し、30 秒間のうがいをした後、コンディションシートの記入をしながら 5 分間の座位安静をとった。安静の後、LFD 測定用スワブ (Oral Fluid Collector II Swab, SOMA Bioscience Limited, Oxfordshire, UK) を口に含み唾液を染み込ませ、規定量 (0.5 ml) の唾液を採取した。唾液を採取したスワブを専用の緩衝液 (Oral Fluid Collector II Buffer, SOMA Bioscience Limited, Oxfordshire, UK) に入れ解析まで保存した⁷⁾。その後、EIA 解析に用いる唾液を採取するため、舌下に EIA 用スワブを置き、2 分間採取した。EIA 用スワブについては、冷蔵保存で保管した。

合宿 A のトレーニング後、合宿 B の試合後の測定について、選手はそれぞれグラウンドサイドに設置した唾液採取ルームに集合し、30 秒間のうがいをを行った。その後、起床時と同様にコンディションシートの記入をしながら 5 分間の座位安静をとった後、LFD 用のスワブおよび EIA 用スワブを用いて、唾液を採取した。

うがいについては、30 秒間×3 回と規定している先行研究もあるが¹⁾、30 秒間×3 回と 30 秒間×1 回の 2 つの口腔洗浄方法間で唾液の分泌速度や測定される濃度の信頼性を確認していることから (unpublished data)、被験者の時間的な負担、競技現場で導入しやすい方法等を考慮し、30 秒間×1 回とした。

3) 解析方法

唾液採取後、LFD スワブはその場で解析キット LFD Reader を用い解析し、唾液中コルチゾール濃度の測定を行った。EIA 用スワブについては、冷蔵保存で持ち帰り、国立スポーツセンター (以下 JISS) 生化学実験室にて 3000rpm で 10 分間遠心分離機にかけ、 -80°C で凍結保存した。その後、サリメトリックス社製の EIA キット (Cortisol Salivary Immunoassay Kit, SALIMETRICS) を用い、EIA 法にて濃度を測定した。

EIA 法で求めたコルチゾールの単位は $\mu\text{g/dL}$ から nM へ変換し、LFD Reader で求めたコルチ

ゾール濃度と単位を同一にし、比較検討した。

3. 統計

各測定値は、平均値±標準偏差で表した。LFDとEIAによるコルチゾール値の差の検定には繰り返しのある二元配置の分散分析を用いた。合宿Bにおけるトレーニングおよび試合前後の各測定値の差の検定は、繰り返しのある一元配置の分散分析を用いた。いずれも有意差が認められた場合にはFisher's PLSDを用いて多重比較および群間の差の検定を行った。EIAとLFDの測定値の関係性を検討するために、Pearson相関係数を算出した。また、Bland-Altman分析⁴⁾により、2つの測定方法の妥当性を確認した。統計学的有意水準は5%未満とした。

Ⅲ. 結果

1. LFDを用いた唾液中コルチゾール濃度解析の妥当性（EIA法との比較）

合宿Aおよび合宿BにおけるLFDおよびEIAそれぞれの唾液中コルチゾール濃度の変化を図1に示す。合宿Aは起床時に比べトレーニング後に唾液中コルチゾール濃度が低下し（図1A）、合宿Bでは起床時に比べ試合後唾液中コルチゾール濃度が増加した（図1B）。合宿A、BいずれもLFD解析による唾液中コルチゾール濃度がEIAの唾液中コルチゾール濃度に比べ高値を示した（図1A・B）。また、LFDとEIAによる唾液中コルチゾール濃度との間に正の相関関係が認められた（ $r = 0.73$, $p < 0.0001$, 図2）。

Bland-Altman分析を行った結果、LFDとEIA

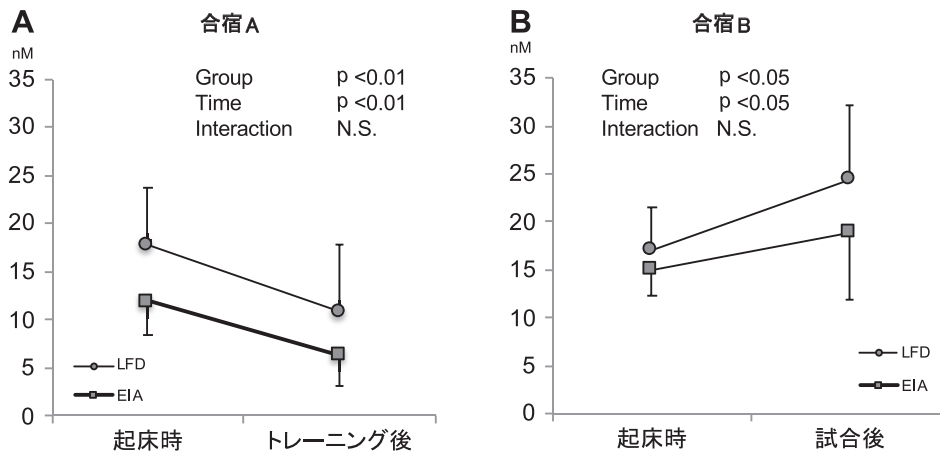


図1. LFDとEIA法による唾液中コルチゾール濃度の変化(合宿Aおよび合宿B)

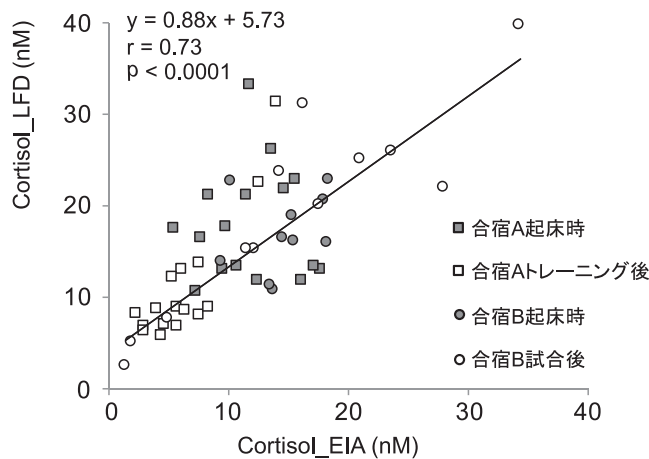


図2. LFDとEIA法による唾液中コルチゾール濃度の関係

による唾液中コルチゾール濃度の差の平均は -4.3nM であり、誤差の許容範囲は -15.1 ~ 6.4nM であった (図3)。95% 信頼区間は -17.9 ~ 9.3 であり、LFD と EIA による唾液中コルチゾール濃度には系統誤差は認められなかった (図3)。

2. トレーニングに伴う LFD を用いた唾液中コルチゾール濃度の変化

トレーニング強度が比較的低かった合宿 A において、LFD による唾液中コルチゾール濃度は起床時に比べトレーニング後に有意に低下した (図 1A)。一方、90 分の試合を行った合宿 B では、LFD および EIA とともに起床時に比べ試合後の唾液中コルチゾール濃度が有意に増加した (図 1B)。

合宿 B において、12 名のうちゲームに出場した選手 9 名の唾液中コルチゾール濃度の縦断的变化の結果を図 4 に示す。唾液中コルチゾール濃度は起床時に比べ試合後に有意に増加し、翌日起床時には前日の起床時とほぼ同レベルまで回復した (図 4, $p < 0.05$)。さらに、対象選手 12 名の全員の唾液中コルチゾール濃度の個別変化を図 5 に示す。試合に出場した 9 名の選手の唾液中コルチゾール濃度は増加傾向にあり試合に出場しなかった 3 名の選手の唾液中コルチゾール濃度 (図 5 破線 A、F、K 選手) は低下していた (図 5)。また、

いずれの選手も翌日起床時には前日の起床時と同程度の数値まで回復していた (図 5)。

IV. 考察

本研究では、エリートサッカー選手を対象に、起床時およびトレーニングに伴う唾液中コルチゾール濃度を測定し、1) 従来の EIA 法と比較し、LFD を用いた唾液中コルチゾール濃度解析の妥当性、2) トレーニングに伴う LFD を用いた唾液中コルチゾール濃度の変化について検証した。その結果、EIA 法と LFD による唾液中コルチゾール測定値には有意な相関関係が認められ、系統誤差も認められず妥当性が確認された。また、トレーニング負荷に応じて唾液中コルチゾールは変化し、LFD による唾液中コルチゾールは選手個々のトレーニング負荷のモニタリングにも有用である可能性が示された。

1. LFD を用いた唾液中コルチゾール濃度解析の妥当性 (EIA 法との比較)

EIA 法と LFD で解析した唾液中コルチゾール濃度は合宿 A ではトレーニング後共に低下し、合宿 B では試合後共に増加した (図 1A・B)。また、2つの解析方法における唾液中コルチゾール濃度に有意な相関関係が認められ (図 2)、系統誤差も認められなかった (図 3)。Fisher らは⁷⁾、

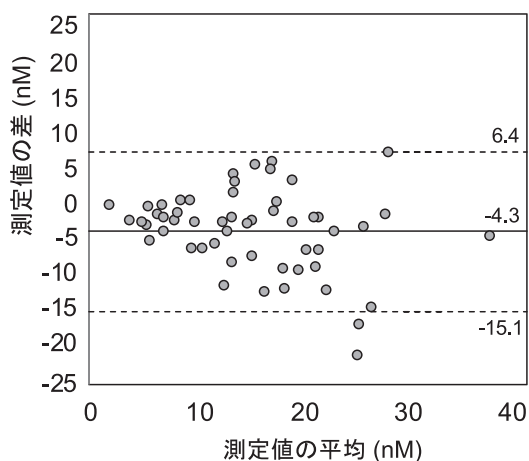


図3. 2つの測定値に関するBland-Altman plot

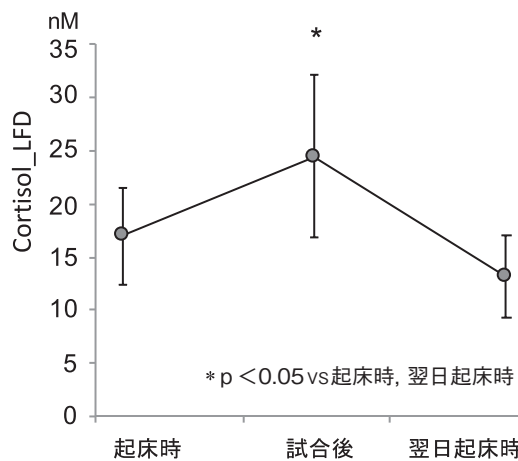


図4. 試合前後におけるコルチゾール濃度の変化(合宿B)

レクリエーションな運動習慣のある健常男女 10 名を対象に、安静時の唾液コルチゾール濃度を EIA 法と LFD により測定し、その妥当性を検討した。その結果、彼らは EIA 法と LFD による唾液中コルチゾール濃度の解析結果において、相関関係が認められ ($r = 0.52$, 95% 信頼区間 $-1.41 \sim 1.20$)、系統誤差がないことを報告し、LFD による唾液中コルチゾールの濃度の解析方法の妥当性について報告した⁷⁾。我々の結果も先行研究を支持する結果となり、エリートサッカー選手においても LFD による唾液中コルチゾール濃度測定の妥当性が確認できた。

2. トレーニングに伴う LFD を用いた唾液中コルチゾール濃度の変化

コルチゾールは一過性高強度運動ストレス⁶⁾や短期合宿後に増加することが知られており¹⁶⁾、その増加の程度は運動強度、運動時間などに依存することが報告されている⁹⁾。合宿 B は、午前中の練習に加え、90 分の試合を行ったことから、試合による運動ストレスが起床時よりも試合後に唾液中コルチゾール濃度を有意に増加させた要因の一つとして考えられる (図 1B)。その一方で、合宿 A においては、起床時に比べて

トレーニング後の唾液中コルチゾール濃度が低下した (図 1A)。これは、コルチゾールが持つ起床後 20 ~ 30 分の間に急激に増加する起床時コルチゾール反応や、朝濃度が高く午後になると濃度が低下するという日内変動が関係している可能性がある^{8,16,17)}。つまり、トレーニング強度が高くなれば唾液中コルチゾール濃度は増加せず、起床時に比べ午後に低下するという日内変動内の変化を示す可能性が考えられる。

また、LFD を用いた唾液中コルチゾール濃度の変化をみると、合宿 B で試合に出場した 9 名の選手の唾液中コルチゾール濃度は、試合後有意に増加し、翌日起床時には前日の起床時とほぼ同程度まで回復することが確認された (図 4)。さらに 12 名全員の選手の唾液中コルチゾール濃度を個別にみると、ゲームに出場していない 3 名の選手のコルチゾールは低下し (図 5)、翌日の起床時には前日の起床時と同等レベルまで回復することが示された。これらのことから、LFD を用いた唾液中コルチゾール濃度は、トレーニング強度に対する選手個々の応答の評価も可能であることが確認された。

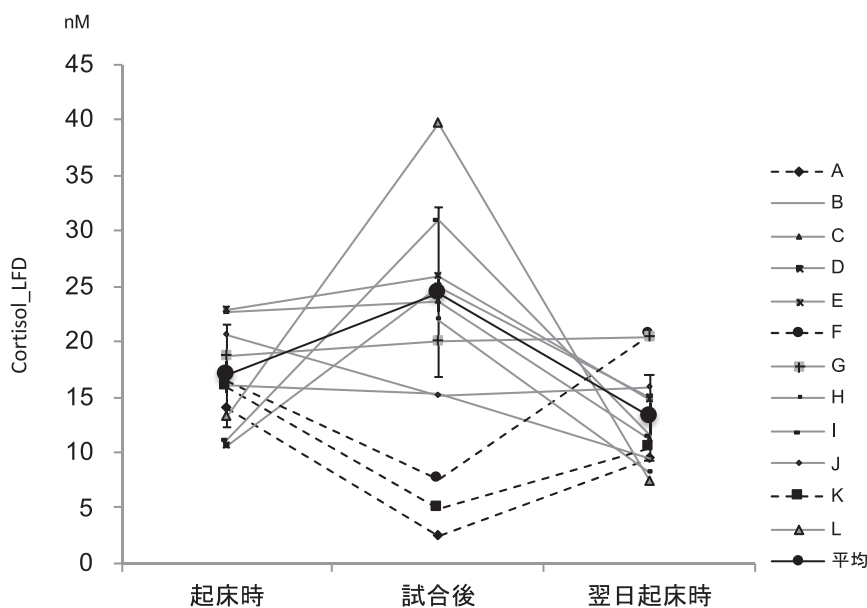


図5. 試合前後における選手個人別のコルチゾール濃度の変化(合宿B)
実線は試合に出場した選手を示し、破線は試合に出場していない選手を示す。

3. 研究の限界

本研究ではトレーニング負荷を定量評価できてきない。選手のコンディション評価を行う際には、選手のコンディションに影響を与えるトレーニングや試合中の移動距離や加減速から得られるデータなどの外的要因 (External load)^{5,20,21)} とトレーニングや試合によって受ける身体的、精神的な負荷などの内的要因 (Internal load) の2つの側面から評価検討を行う必要がある。従って、今後は走行距離やトレーニング時の心拍数、起床時の主観的コンディションなどをモニタリングしつつ、唾液中コルチゾール濃度の有用性を検討する必要があると考えられる。

V. 結論

エリートサッカー選手を対象として、LFD を用いてトレーニングに伴う唾液中コルチゾール濃度の変化を検証した結果、以下のことが明らかとなった。

① LFD 解析による唾液中コルチゾール濃度は EIA 法の濃度と相関関係が認められ、妥当性が確認された。

② LFD 解析による唾液中コルチゾール濃度はトレーニング内容に応じて変化した。

これらの結果から、LFD を用いた唾液中コルチゾール濃度測定はエリートサッカー選手のコンディション評価に有用である可能性が示された。

文献

- 1) 秋本崇之, 赤間高雄, 香田泰子, 和久貴洋, 林栄輔, 龍野美恵子, 杉浦弘一, 天野和彦, 河野一郎. 高強度トレーニングによる安静時唾液中分泌型 IgA 変動. 体力科学, 47: 245-252, 1998.
- 2) Alix-Sy D, Le Scanff C, Filaire E. Psychophysiological responses in the pre-competition period in elite soccer players. J Sports Sci Med, 7 (4) : 446-454, 2008.
- 3) Anderson T, Lane AR, Hackney AC, Anderson T, Lane AR, Hackney AC. The cortisol awakening response: association with training load in endurance runners. Int J Sports Physiol Perform, 13 (9) : 1158-1163, 2018.
- 4) Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. Lancet, 8; 1 (8476) : 307-310, 1986.
- 5) Castillo D, Weston M, McLaren SJ, Cámara J, Yanci J. Relationships between internal and external match load indicators in soccer match officials. Int J Sports Physiol Perform, 12 (7) : 922-927, 2017.
- 6) Duclos M, Gourarne C, Bonnemaïson D. Acute and chronic effects of exercise on tissue sensitivity to glucocorticoids. J Appl Physiol, 94: 869-875, 2003.
- 7) Fisher RN, McLellan CP, Sinclair WH. The validity and reliability for a salivary cortisol point of care test. J Athl Enhancement, 4: 2015. doi:10.4172/2324-9080.1000204
- 8) Gouarné C, Groussard C, Gratas-Delamarche A, Delamarche P, Duclos M. Overnight urinary cortisol and cortisone add new insights into adaptation to training. Med Sci Sports Exerc, 37 (7) : 1157-1167, 2005.
- 9) Hakkinen K, Pakarinen A. Acute hormonal responses to two different fatiguing heavy resistance protocols in male strength athletes. J Appl Physiol, 74 (2) : 882-887, 1993.
- 10) Hayes LD, Grace FM, Baker JS, Sculthorpe N. Exercise-induced responses in salivary testosterone, cortisol, and their ratios in men: a meta-analysis. Sports Med, 45 (5) : 713-726, 2015.
- 11) Hopkins WG. Measures of reliability in sports medicine and science. Sports Med, 30: 1-15, 2000.
- 12) 井澤修平, 城月健太郎, 菅谷渚, 小川奈美子, 鈴木克彦, 野村忍. 唾液を用いたストレス評価. 日本補完代替医療学会誌, 4 (3) : 91-

- 101, 2007.
- 13) 井澤修平, 鈴木克彦. 唾液中コルチゾールの測定キットの比較 - 唾液中・血漿中コルチゾールの相関ならびに測定法間の比較 -. 日本補完代替医療学会誌, 4 (3) : 113-118, 2007.
 - 14) Lindsay A, Lewis JG, Scarrott C, Gill N, Giesege SP, Draper N. Assessing the effectiveness of selected biomarkers in the acute and cumulative physiological stress response in professional rugby union through non-invasive assessment. *Int J Sports Med*, 36: 446-454, 2015.
 - 15) Macdonald LA, Bellinger PM, Minahan CL. Reliability of salivary cortisol and Immunoglobulin-A measurements from the IPRO[®] before and after sprint cycling exercise. *J Sports Med Phys Fitness*, 57 (12) : 1680-1686, 2017.
 - 16) Minetto MA, Lanfranco F, Tibaudi A, Baldi M, Termine A, Ghigo E. Changes in awakening cortisol response and midnight salivary cortisol are sensitive markers of strenuous training-induced fatigue. *J Endocrinol Invest*, 31 (1) : 16-24, 2008.
 - 17) Pruessner JC, Wolf OT, Hellhammer DH, Buske-Kirschbaum A, von Auer K, Jobst S, Kaspers F, Kirschbaum C. Free cortisol levels after awakening: a reliable biological marker for the assessment of adrenocortical activity. *Life Sci*, 61 (26): 2539-2549, 1997.
 - 18) Sarraf V, Doran DA, Clarke ND, Atkinson G, Reilly T. Effects of carbohydrate beverage ingestion on the salivary IgA response to intermittent exercise in the heat. *Int J Sports Med*, 32: 659-665, 2011.
 - 19) Schmidt-Reinwald A, Pruessner JC, Hellhammer DH, Federenko I, Rohleder N, Schürmeyer TH, Kirschbaum C. The cortisol response to awakening in relation to different challenge tests and a 12-hour cortisol rhythm. *Life Sci*, 64 (18) :1653-1660, 1999.
 - 20) Thorpe RT, Atkinson G, Drust B, Gregson W. Monitoring Fatigue Status in Elite Team Sport Athletes: Implications for Practice. *Int J Sports Physiol Perform*, 12 (Suppl 2) : S227-S234, 2017.
 - 21) Weaving D, Marshall P, Earle K, Nevill A, Abt G. Combining internal- and external-training-load measures in professional rugby league. *Int J Sports Physiol Perform*, 9: 905-912, 2014.