

# Dynamic Response of Exhaled Hydrogen Sulfide during Ramp Exercise in Healthy Humans

Yoshifumi Yasuda

## Abstract

In the last two decades numerous findings on the generation and biological roles of endogenous gaseous transmitters (GTs), such as nitric oxide (NO), carbon monoxide (CO) and hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) have emerged. Endogenous hydrogen sulfide, most recently identified as GTs, following the discovery of NO and CO, is produced both enzymatically and non-enzymatically in the mammalian cells. Enzymatic production of H<sub>2</sub>S is generated via three different enzymes: cystathionine beta-synthase (CBS), cystathionine gamma-lyase (CSE) and 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase (MST). This production involves diverse and pivotal pathophysiological roles including neurotransmission, cellular metabolism, immunological/inflammatory response, and vascular regulation. It has also been reported that small amounts of H<sub>2</sub>S is contained in the human breath, similar to that of NO and CO, however, it is not well known where H<sub>2</sub>S in the exhaled gas originates, and whether H<sub>2</sub>S exhalation increases during incremental exercise in healthy humans. Therefore, we examined the dynamic response of exhaled H<sub>2</sub>S during a ramp exercise in relation to other respiratory variables. Eight healthy male students performed a ramp bicycle exercise to near maximum intensity. Respiratory and gas exchange parameters and the concentration of H<sub>2</sub>S in the expired gas were continuously measured by the mixing-chamber method at 30-s intervals before, during and after exercise.

The concentration of H<sub>2</sub>S in the expired gas ( $F_{H_2S}$ ) slightly increased after the onset of unloaded exercise from an at-rest, but decreased gradually after the onset of ramp exercise. Therefore H<sub>2</sub>S output ( $\dot{V}_{H_2S}$ ), the product of the delta fraction of H<sub>2</sub>S ( $\Delta F_{H_2S}$ ) between expired and inspired gas, increased almost linearly during ramp exercise. A significant relationship was observed between oxygen uptake ( $\dot{V}O_2$ ) and  $\dot{V}_{H_2S}$ , and between minute ventilation ( $\dot{V}_E$ ) and  $\dot{V}_{H_2S}$  during ramp exercise.  $\dot{V}_{H_2S}$  decreased rapidly after the end of ramp exercise. These results indicate that  $\dot{V}_{H_2S}$  increases with an increase of exercise intensity during exercise and decreases after the end of exercise, similar to the changes found in other GTs; however, origin of exhaled H<sub>2</sub>S is still uncertain.

# ランプ負荷運動時における呼気硫化水素排出量の動態

安田好文

## 1. はじめに

Palmer ら (1987)<sup>1)</sup> により、血管内皮細胞由来の血管拡張因子 (Endothelium-derived relaxing factor: EDRF) として一酸化窒素 (NO) が同定され、ガス状分子が生体の情報伝達に関与することが初めて明らかにされ、世界の注目を集めたことは記憶に新しい。その後 NO は L-arginine を基質として、3 種の合成酵素 (NO synthase) を介して血管内皮細胞だけでなく、神経細胞、マクロファージなど多くの体細胞において生成され、多様な生理・病理作用に関係することが明らかにされている<sup>2)</sup>。また、一酸化炭素 (CO) も、炭素化合物の不完全燃焼により生成され、ヘモグロビンとの強い親和性から生物への高い毒性を有することは古くから知られていたが、ヘムを基質とし、2 種類の合成酵素 (Hemoxygenase 1 and 2) を介して生成され、NO と同様に多様な生理・病理作用に関係することが明らかにされたのは 1990 年代以降である<sup>3,4)</sup>。さらに、これら二種のガス状伝達物質の発見に続いて、硫化水素 (H<sub>2</sub>S) が海馬神経細胞の長期増強 (long-term potentiation) に関与することが報告され<sup>5)</sup>、H<sub>2</sub>S のガス状伝達物質としての役割が明らかにされた。これまでに H<sub>2</sub>S は、cysteine を基質として 3 種類の酵素により合成され、NO、CO と同様に多様な生理・病理作用に関係するとともに、これらのガスと相補的かつ相反的に機能することが明らかにされている<sup>6)</sup>。

これまで、NO および CO は、ヒト呼気ガス中に発見され、運動によりその排出量が増大することが明らかにされている<sup>7,8,9)</sup>。しかしながら、H<sub>2</sub>S についてはその測定装置の問題もあり、運動時において呼気 H<sub>2</sub>S を連続的に測定した報告は見当たらない。そこで、本研究では口臭ガスモニターとして市販されている Halimeter (RH17K, Interscan)<sup>10)</sup> を用いて、運動時における呼気 H<sub>2</sub>S の連続測定の可能性とともにその動態について検証した。

## 2. 研究方法

### 1) 被験者

被験者は、健康な男子学生 8 名である。被験者の、年齢、身長、体重の平均と標準偏差は、それぞれ  $20.9 \pm 0.8$  歳、 $174.2 \pm 5.3$  cm、 $65.2 \pm 1.5$  kg であった。いずれの学生も本年 4 月に実施した学内定期健康診断の結果、異常は認められていない。被験者には、実験開始前に実験の目的および方法等について説明を行い、書面での承諾を得た。本研究は、豊橋技術科学大学安全衛生委員会（倫理委員会）において承認済みであり、実験に際してはヘルシンキ宣言に準拠し、安全面には十分な配慮をした。

### 2) 実験装置および実験方法

運動には、本研究室で開発した自転車エルゴメータ<sup>11)</sup>を用い、3分間の無負荷運動に続いて、ランブ負荷法による漸増運動を行なわせた。負荷上昇勾配は  $20$  W/min とし、心拍数が  $180$  beats/min を超えるか、あるいは急激な換気の上昇が観察された時点で運動を終了させた。運動中は、メトロノームに合わせてペダル回転数を  $70$  rpm に調節するように指示したが、運動後半になりペダル回転数が上昇することに関しては特に注意はしなかった。

呼気ガスの測定には、本研究室で開発した呼気ガス連続測定システム<sup>12)</sup>を用いた。このシステムは、フェイスマスクマスク、ニューモタコグラフ、質量分析計、呼気用チェンバー、および PC より構成され、Mixing chamber 法により、毎分換気量、酸素摂取量、炭酸ガス排出量が任意時間ごとに算出され、リアルタイムでディスプレイに表示されるとともに、実験終了後に全てのデータが、記録紙および磁気媒体に記録される。本実験では、計測間隔を  $30$  秒とし、また換気量とガス濃度との遅れ時間を  $5$  秒として積算した。質量分析計の校正には、既知濃度の三種混合ガス ( $N_2$ :  $78.96\%$ ,  $O_2$ :  $12.04\%$ ,  $CO_2$ :  $9.00\%$ ) を用いた。

一方、呼気硫化水素の測定には、口臭測定器として市販されている Halimeter (RH17K, Interscan) を用いた<sup>10)</sup>。この装置は、呼気硫化水素混合物用に開発されたもので、高分解能 ( $1$  ppb) を有する。液晶パネルでの濃度表示と同時に、アナログ出力も備えている。本研究では、このアナログ出力を、記録計（ペンレコーダ）に接続するとともに、A/D 変換器を用いて高速 ( $200$ Hz) にサンプリングした。アナログ出力値にはオシロスコープで観察する限り高周波のノイズが含まれており、従って、実験後に低周波帯域通過フィルター (LPF) および移動平均法を用いて、データの平滑化を行った。さらに  $H_2S$  濃度データは、 $30$  秒ごとに平均化するとともに、換気量との応答遅れ時間を  $30$  秒として計算した。呼気  $H_2S$  排出量 ( $\dot{V}_{H_2S}$ ) の算出は、 $30$  秒毎に算出された呼気および吸気中の  $H_2S$  濃度の差 ( $\Delta F_{H_2S}$ ) と遅れ時間を考慮した  $\dot{V}_{E(STPD)}$  の積から求めた。なお、Halimeter の校正には、既知濃度の標準ガス ( $H_2S=4.45$  ppm) をガス分割器 (SGD-SC-5L, Horiba) により  $1/5$  に希釈して使用した。

図 1 に、呼気ガス連続測定システムに組みこんだ硫化水素測定系の全体図を示す。なお、心電

図モニター装置 (Lifescop6, Nihonkohden) を用いて実験中の心電図および心拍数の変化を確認した。

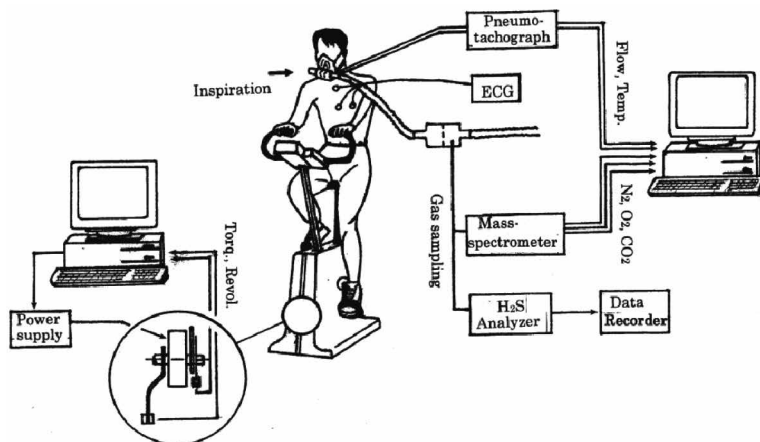


図 1. 実験装置の概要

### 3. 実験結果

図 2 に 1 名の被験者の  $H_2S$  のアナログ出力値を 200 Hz でサンプリングした結果とその周波数特性、10Hz の LPF 通過後の波形特性、さらには 500 点の移動平均処理後のデータを示す。Halimeter のアナログ出力値には、20、40、60、80 Hz の固有周波数を有する電氣的ノイズが混入していることが明らかとなった。従って、10 Hz の LPF 処理を行うことにより、S/N の大幅な改善が認められた。さらに 500 点の移動平均を行うことによりデータの平滑化が図られ、これにより得られた結果は、別途ペンレコーダーにて記録した結果とよく一致した。

図 3、4 に、2 名の被験者の、安静、0W 運動時、ランプ負荷運動時、および運動終了後 3 分間における呼気硫化水素濃度 ( $F_{H_2S}$ )、呼気硫化水素排出量 ( $\dot{V}_{H_2S}$ )、酸素摂取量 ( $\dot{V}_{O_2}$ )、および毎分換気量 ( $\dot{V}_E$ ) の時系列データを、さらには運動時の  $\dot{V}_{H_2S}$  と  $\dot{V}_{O_2}$ 、および  $\dot{V}_E$  との関係を示す。安静から無負荷運動の開始に伴って  $F_{H_2S}$  わずかに上昇し、ピークを迎えるが、その後ランプ負荷運動中も継続して減少した。両被験者とも運動終了後に  $F_{H_2S}$  の一過性的上昇がみられたが、実験終了後に本人に聞き取りを行い、げっぷをしたことを確認した。ランプ負荷運動時の  $\dot{V}_E$ 、 $\dot{V}_{O_2}$  については、運動強度に比例して、ほぼ直線的に増大した。運動終了後の  $\dot{V}_{H_2S}$  の変化については、 $\dot{V}_{O_2}$ 、 $\dot{V}_E$  と同様に急激に減少した。無負荷およびランプ負荷運動中の  $\dot{V}_{O_2}$  と  $\dot{V}_{H_2S}$ 、 $\dot{V}_E$  と  $\dot{V}_{H_2S}$  の間には、両被験者とも高い直線性が認められた ( $r > 0.98$ )。そこで、被験者全員の  $\dot{V}_{O_2}$  と  $\dot{V}_{H_2S}$ 、 $\dot{V}_E$  と  $\dot{V}_{H_2S}$  との関係を、図 5、6 に示す。 $\dot{V}_{O_2}$  と  $\dot{V}_{H_2S}$  の関係については、 $\dot{V}_{O_2}$  が 1,000 ml/min あたりまでは  $\dot{V}_{H_2S}$  に被験者間の違いは見られないが、1,000 ml/min 超える範囲では、

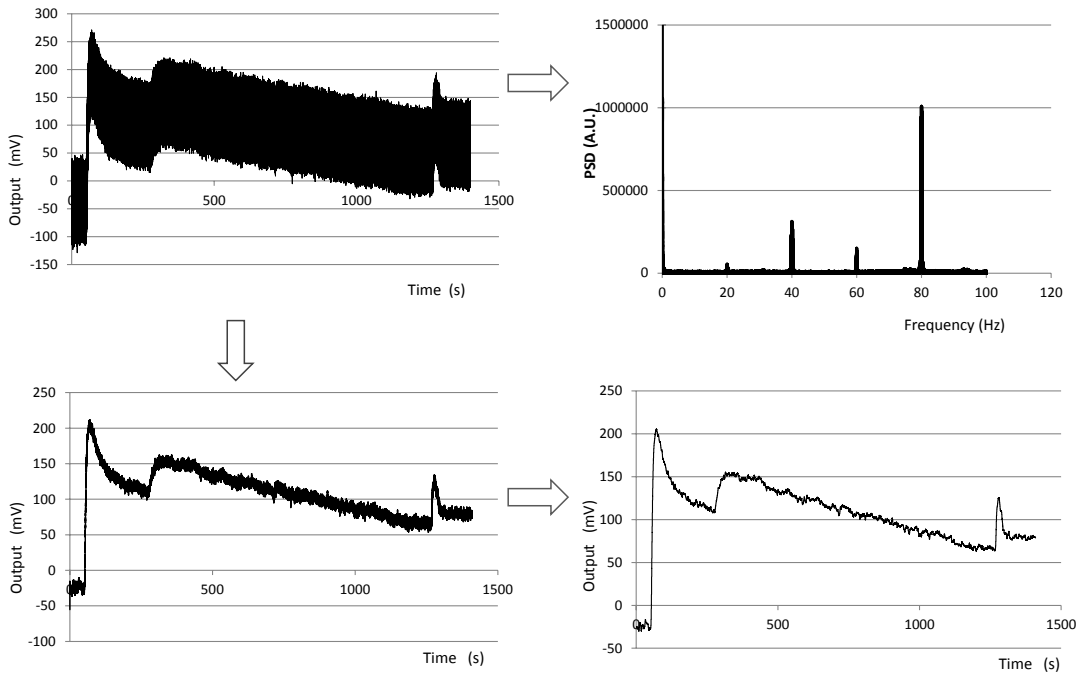


図 2. 200 Hz でサンプリングした Halimeter 出力値 (左上)、そのパワースペクトrogram (右上)、10 Hz の LPF 処理後の波形 (左下)、および 500 点の移動平均処理後の波形 (右下)

個人差が増大した。全体としては、両者の関係はやや S 字型の変化を示す。一方、 $\dot{V}_E$  と  $\dot{V}_{H_2S}$  との関係は、やや曲線的な関係となり、 $\dot{V}_E$  の増大に伴い  $\dot{V}_{H_2S}$  の増大は抑制される傾向を示す。そこで全被験者について  $\dot{V}_{O_2}$  と  $\dot{V}_{H_2S}$ 、および  $\dot{V}_E$  と  $\dot{V}_{H_2S}$  の関係を直線近似するとともに、相関係数 ( $r$ ) を算出した結果を表 1 に示す。全てのデータにおいて有意な相関が認められたが、回帰直線の傾きは、個人間で大きく変化することも明らかになった。 $\dot{V}_{O_2}$  と  $\dot{V}_{H_2S}$ 、および  $\dot{V}_E$  と  $\dot{V}_{H_2S}$  間の回帰直線の傾きの変動係数は、それぞれ 0.43、0.44 であった。

表 1.  $\dot{V}_{O_2}$  と  $\dot{V}_{H_2S}$ 、および  $\dot{V}_E$  と  $\dot{V}_{H_2S}$  の回帰直線の傾きとその相関係数 ( $r$ ) の比較

$\dot{V}_E$ vs $\dot{V}_{H_2S}$									
	Subj. 1	Subj. 2	Subj. 3	Subj. 4	Subj. 5	Subj. 6	Subj. 7	Subj. 8	Mean (SD)
slope	9.570	17.314	15.398	12.910	5.493	22.898	14.977	27.196	15.72 (6.94)
r	0.990	0.998	0.986	0.987	0.915	0.995	0.993	0.998	0.983 (0.03)
$\dot{V}_{O_2}$ vs $\dot{V}_{H_2S}$									
	Subj. 1	Subj. 2	Subj. 3	Subj. 4	Subj. 5	Subj. 6	Subj. 7	Subj. 8	Mean (SD)
slope	0.398	0.511	0.575	0.359	0.179	0.641	0.547	0.921	0.516 (0.22)
r	0.983	0.991	0.990	0.968	0.959	0.959	0.993	0.970	0.976 (0.01)

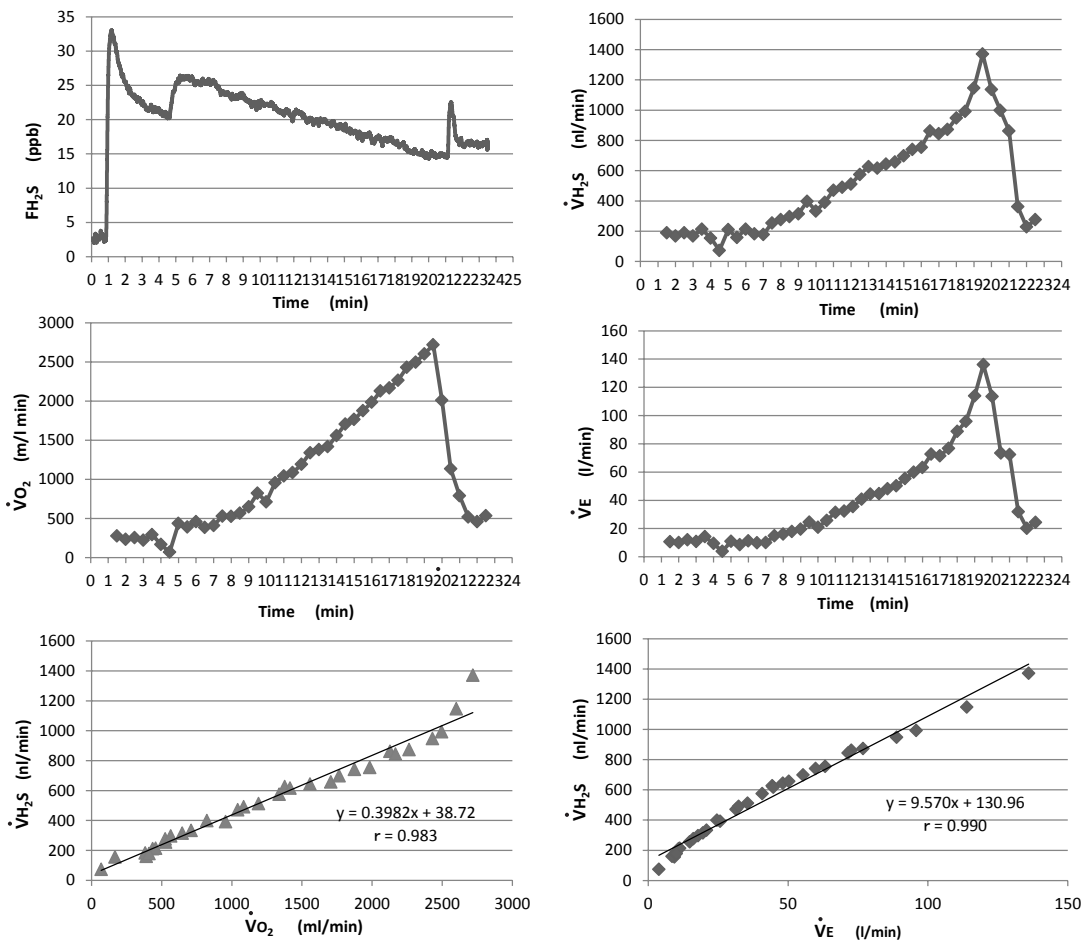


図3. 1名の被験者における安静、0W、およびランプ負荷運動時の呼気  $\text{H}_2\text{S}$  濃度、呼気  $\text{H}_2\text{S}$  排出量、毎分換気量、および酸素摂取量、毎分換気量と呼気  $\text{H}_2\text{S}$  排出量との関係

#### 4. 考察

本研究では、口臭測定用に開発された Halimeter を用いて、自転車エルゴメータを用いたランプ負荷法による最大下運動を行わせ、呼気  $\text{H}_2\text{S}$  濃度 ( $\text{FH}_2\text{S}$ )、および呼気  $\text{H}_2\text{S}$  排出量 ( $\dot{\text{V}}\text{H}_2\text{S}$ ) を 30 秒ごとに連続的に測定するとともに、換気・ガス交換パラメータとの関係を検証した。その結果、以下のことが明らかになった。

- ① Halimeter の出力信号には、高周波のノイズが混入しており、このままでは測定データとして使用することは難しい。従ってローパスフィルター、移動平均法等を用いることにより、安定した出力値を得ることができた。この値は、低周波帯域特性を有する記録計の変化とおおむね一致した。

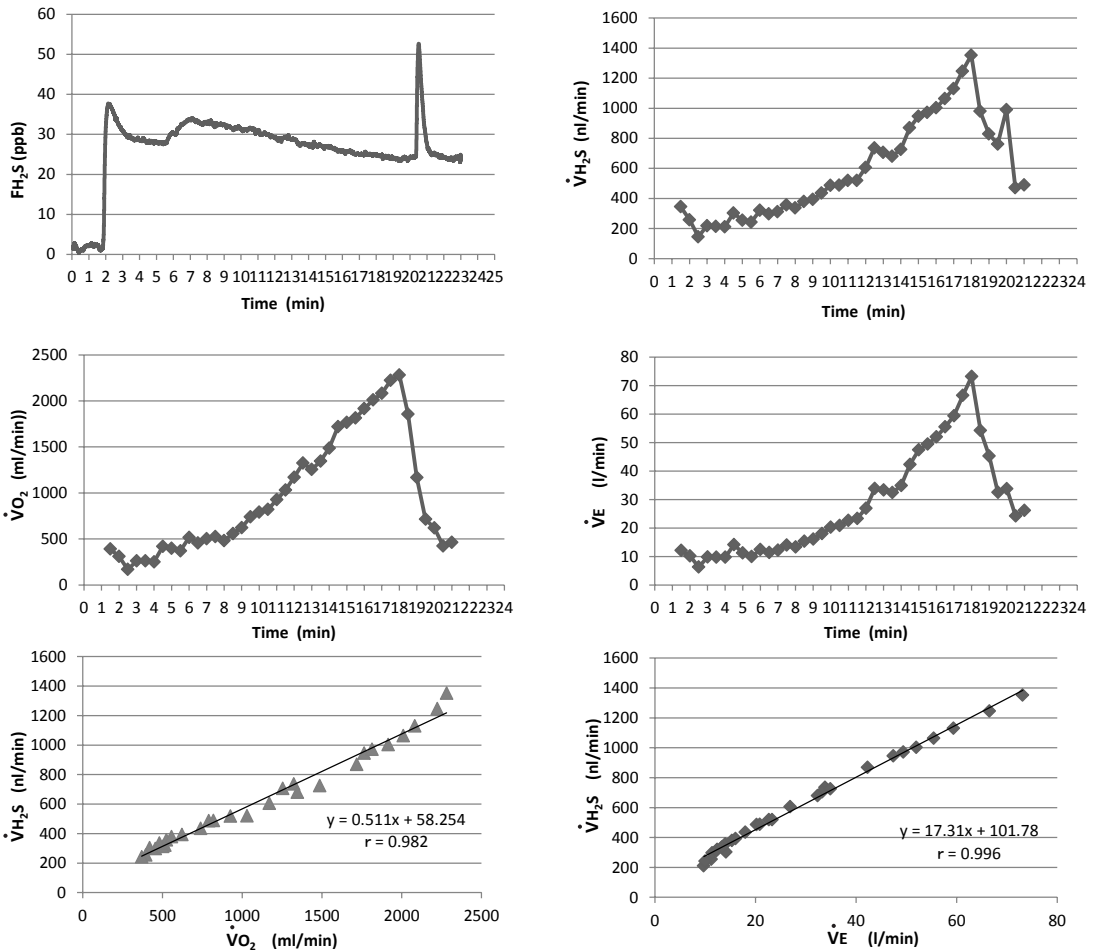


図 4. 他の被験者における安静、0W、およびランプ負荷運動時の呼気 H<sub>2</sub>S 濃度、呼気 H<sub>2</sub>S 排出量、毎分換気量、および酸素摂取量、毎分換気量と呼気 H<sub>2</sub>S 排出量との関係

② 運動強度の増大に伴って FH<sub>2</sub>S は漸減し、逆に VH<sub>2</sub>S は運動強度に比例してほぼ直線的に増大した。その結果、運動中における VO<sub>2</sub> と VH<sub>2</sub>S、および VE と VH<sub>2</sub>S 間に有意の相関関係が認められた ( $r > 0.9$ )。また、VO<sub>2</sub> と VH<sub>2</sub>S、および VE と VH<sub>2</sub>S の回帰式の傾きには、大きな個人差が存在した。

上記①に関して、これまで、Halimeter の呼気ガス連続測定への応用に関する報告は見当たらない。製造元の解説書を参照すると、Halimeter は一定時間の呼吸停止後の呼気中の、あるいは鼻呼吸時の口腔気中の揮発性硫化物 (VSC) の濃度を測定することが目的であり、主にそのピーク値を口臭 (oral malodour) の指標として用いることが指示されており<sup>10)</sup>、Halimeter を用いた先行研究においてもそのような計測が行われている<sup>13,14)</sup>。本実験結果から、Halimeter を連続的

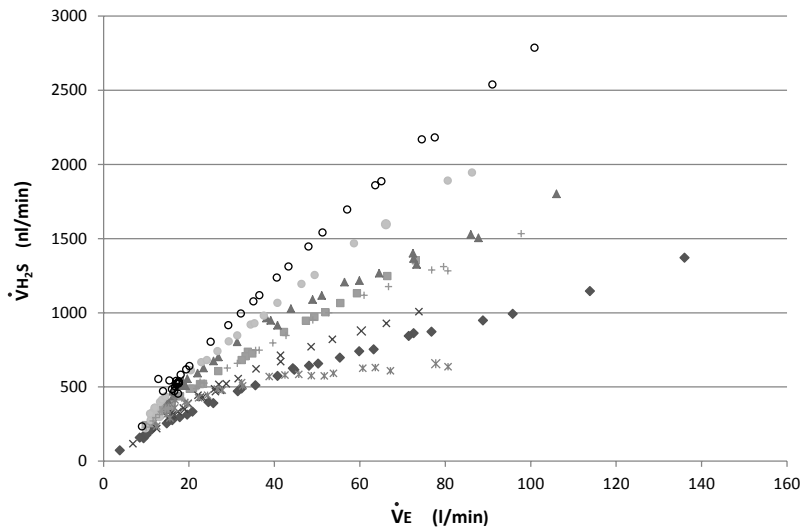


図 5. 全被験者における運動時酸素摂取量と呼気 H<sub>2</sub>S 排出量との関係

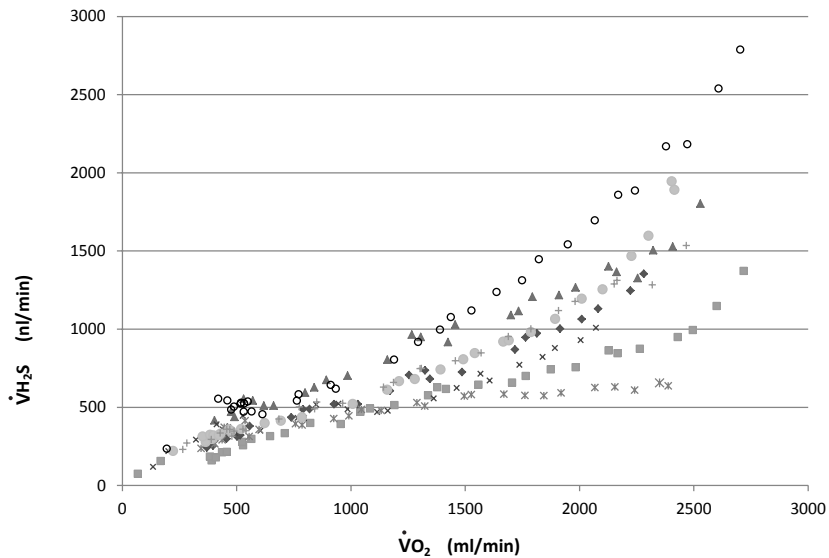


図 6. 全被験者における運動時毎分換気量と呼気 H<sub>2</sub>S 排出量との関係

に呼気 H<sub>2</sub>S 測定に用いる上での問題点が明らかになった。すなわち結果で示したように、アナログ出力値には、高周波ノイズが含まれ、これらの選択的な除去なしには安定した結果が得られないこと、また、キャリブレーションガスを 10 分間流入しても基線が収束しないこと、さらには純窒素ガスを 0 level の校正に用いたが、その値が時間とともに変化するなど、その応答性、安定性に問題があることも明らかになった。しかしながら、本研究結果から、長時間の連続測定



にも適用可能であることも明らかになったことから、上記問題点を理解した上で使用すれば、呼気硫化水素連続測定装置としての役割は十分に果たすものと考ええる。今後は、他の分析方法、例えばガスクロマトグラフとの比較実験を断続的に行うなど、測定精度の検証に努める必要がある。

一方、上記②の結果から、ランプ負荷運動時の呼気  $\text{H}_2\text{S}$  濃度は減少するものの、呼気  $\text{H}_2\text{S}$  排出量は増大することが明らかとなった。これまで運動時における呼気  $\text{H}_2\text{S}$  濃度、さらには呼気  $\text{H}_2\text{S}$  排出量の変化を測定した報告は見当たらない。しかしながら、運動時の呼気 NO、呼気 CO の変化に関しては、いくつかの先行研究が報告されている。Chirpaz-Oddou ら (1997)<sup>15)</sup> は、3 分間の漸増負荷法による最大運動時の呼気 NO 濃度、および呼気 NO 排出量を、男性健常者、男性鍛錬者、女性健常者と比較し、いずれの群も運動強度の上昇に伴い呼気 NO 濃度の減少、および呼気 NO 排出量の直線的な増加を報告している。宮村ら (1998)<sup>16)</sup> も、女子マラソン選手を対象に、自転車を用いたランプ負荷運動中の呼気 NO 濃度、および呼気 NO 排出量を計測し、呼気 NO 濃度の減少、および呼気 NO 排出量の増大を報告している。運動中の呼気 NO の由来については、当初は運動により体内の NO 生成が促進すると考えられていた<sup>17)</sup>。Yasuda ら<sup>18)</sup> は、鼻呼吸と口呼吸時の呼気 NO 排出量の比較から、呼気 NO 排出量の約 50% は、鼻腔が関与していることを示唆した。一方、呼気 CO 濃度、および呼気 CO 排出量に関して Yasuda ら (2011)<sup>19)</sup> は、ランプ負荷運動中の呼気 CO 濃度、および呼気 CO 排出量を計測し、運動負荷の増大に伴い呼気 CO 濃度の減少、および呼気 CO 排出量の増大を報告している。同時に喫煙者および非喫煙者の比較から、呼気 CO 排出量には血中に含まれる CO が関係していることを示唆している。同様に、Zavorsky ら<sup>20)</sup> は、運動時の毎分換気量と一酸化ヘモグロビンの減少時間との間に双曲線形相関が存在することから、換気の増大により、血中 CO が呼気に拡散することを示唆している。以上のように、運動時における NO、あるいは CO 排出量の増大には、体内の産生量の増大が関係するとの考え方と、血液中に含まれる NO、あるいは CO が呼気に拡散するとの考え方が提唱されている。

運動時における呼気 NO、および CO の研究結果を、そのまま呼気  $\text{H}_2\text{S}$  増大の原因に適用できるか否かについては不明である。これまで、体内の  $\text{H}_2\text{S}$  生成経路は大きく 2 つ考えられており、一つは各種体細胞における酵素反応によるもの、もう一つは、口腔、さらには小腸等に生息する細菌由来のものに分類される。前者については、すでに 3 種の酵素、すなわち cystathionine beta-synthase (CBS)、cystathionine gamma-lyase (CSE)、および 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase (MST) が特定され、L、D-cysteine を基質として種々の細胞において  $\text{H}_2\text{S}$  が生成されるとともに (図 7)<sup>21)</sup>、生成された  $\text{H}_2\text{S}$  が、多様な生理・病理作用に関係することも明らかである。一方、口腔内に棲息する細菌の中には  $\text{H}_2\text{S}$  を産生するものがあり、これが口臭と関係することも報告されている<sup>22)</sup>。しかしながら、細菌由来の  $\text{H}_2\text{S}$  が、運動時の呼気  $\text{H}_2\text{S}$  にどのように関係するかは全く明らかにされていない。さらに、本実験結果において、げっぶにより呼気  $\text{H}_2\text{S}$  濃度の顕著な増大が 2 名の被験者において観察された (図

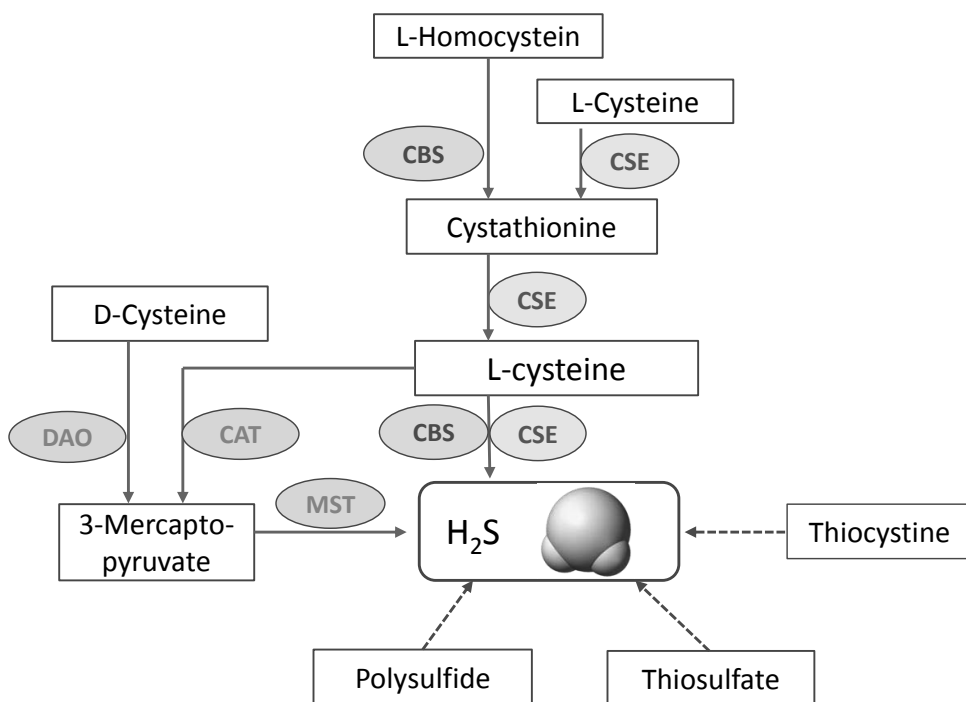


図7. 酵素および非酵素反応による硫化水素生成経路の概要  
 実線は酵素反応、点線は非酵素反応による硫化水素の生成経路を示す。

3 および 4)。消化管由来の  $H_2S$  が、細菌によるものなのか、あるいは消化管の粘膜細胞等で生成されるものについては、現時点では不明である<sup>23)</sup>。以上のことから、呼気ガス中に含まれる  $H_2S$  の発生源は複雑であり、従って、運動時の呼気  $H_2S$  排出量増大の原因を特定することは現時点では困難と考えられる。今後は、*in vitro* の実験系も含めて、さらに詳細な検討が必要であろう。

### 謝辞

本研究を進めるにあたり多くの人から協力を得た。先ず本実験の被験者を快く引き受けてくれた本学学生に、また、実験およびデータ整理に全面的に協力いただいた本学工学研究科博士前期課程、木梨公介、竹内隼人、石川晃君に心からのお礼を申し上げる。さらに、Halimeterの使用に関し、(株)タイヨウ、鈴木登、池田大祐氏から専門的なアドバイスをいただいた。記してお礼申し上げます。

参考文献

- 1) Palmer RM, Ferrige J, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 327: 524-526, 1987
- 2) Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: Physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 43: 109-142, 1991
- 3) Wu L, Wang R. Carbon monoxide: endogenous production, physiological functions, and pharmacological applications. *Pharmacol Rev* 57: 585-630, 2005
- 4) Kim HP, Ryter SW, Choi AMK. CO as a cellular signaling molecule. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 46: 411-449, 2006
- 5) Abe K, Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator. *J Neurosci* 16: 1066-1071, 1996
- 6) Kajimura M, Fukuda R, Bateman RM, Yamamoto T, Suematsu M. Interactions of multiple gas-transducing systems: hallmarks and uncertainties of CO, NO, and H<sub>2</sub>S gas biology. *Antioxid Redox Signal* 13: 157-192, 2010
- 7) Gustasson LE, Leone AM, Persson MG, Wiklund NP, Moncada S. Endogenous nitric oxide is present in the exhaled air of rabbits, guinea pigs and humans. *Biochem Biophys Res Commun* 16: 852-857, 1991.
- 8) Sheel AW, Edwards MR, McKenzie DC. Relationship between decreased oxyhaemoglobin saturation and exhaled nitric oxide during exercise. *Acta Physiol Scand* 169: 149-156, 2000
- 9) Horvath I, Borka P, Apor P, Kollai M. Exhaled carbon monoxide concentration increases after exercise in children with cystic fibrosis. *Acta Physiol Hung* 86: 237-244, 1999
- 10) <http://www.gasdetection.com/gas-detection-products/the-halimeter-measure-bad-breath-scientifically/>
- 11) 安田好文、田村成昭、西岡将輝：マイクロコンピュータを用いた自動制御型自転車エルゴメータの開発、豊橋技術科学大学人文社会工学系紀要、12: 131-141, 1990
- 12) 安田好文、重松浩一、臼井支朗、宮村実晴：ガス交換連続測定システムの開発とその問題点 - ミキシングチェンバー法について -、呼吸と循環、35:631-638, 1987
- 13) Kim JG, Kim YJ, Yoo SH, Lee SJ, Chung JW, Kim MO, Park DK, Hahm K. Halimeter ppb levels as the predictor of erosive gastroesophageal reflux disease. *Gut Liver* 4: 320-325, 2010
- 14) Hughes FJ, McNab R. Oral malodour - a review. *Arch Oral Biol* 53: S1-S7, 2008
- 15) Chirpaz-Oddou MF, Favre-Juvin A, Flore P, Eterradosi J, Delaire M, Grembert F, Therminarias A. Nitric oxide response in exhaled air during an incremental exhaustive exercise. *J Appl Physiol* 82: 1311-1318, 1997
- 16) 宮村実晴、安田好文、青木克之、櫻村修生、小林寛道：肺 NO 産生能から見た短期高所トレーニングの効果、デサントスポーツ科学、19: 44-58, 1998
- 17) Sheel AW, Road J, Mckenzie DC. Exhaled nitric oxide during exercise. *Sports Med* 28: 83-90, 1999
- 18) Yasuda Y, Itoh T, Miyamura M, Nishino H. Comparison of exhaled nitric oxide and cardiorespiratory indices between nasal and oral breathing during submaximal exercise in humans. *Jpn J Physiol* 47: 465-470, 1997
- 19) Yasuda Y, Ito T, Miyamura M, Niwayama M. Effect of ramp exercise on exhaled carbon monoxide in humans. *J Physiol Sci* 61: 279-286, 2011
- 20) Zavorsky GS, Smoliga JM, Longo LD, Uhranowsky KA, Cadman CR, Duffin J, Fisher J. Increased carbon monoxide clearance during exercise in humans. *Med Sci Sports Exerc* 44: 2118-2124, 2012
- 21) Kolluru GK, Shen X, Bir SC, Kevil CG. Hydrogen sulfide chemical biology: Pathological roles and detection. *Nitric Oxide* 35: 5-20, 2013
- 22) Washio J, Sato T, Koseki T, Takahashi N. Hydrogen sulfide-producing bacteria in tongue biofilm and their relationship with oral malodor. *J Med Microbiol* 54: 889-895, 2005
- 23) Linden DR, Levitt MD, Farrugia G, Szurszewski H. Endogenous production in the gastrointestinal tract: still in search of a physiologic function. *Antioxid Redox Signal* 12: 1135-1146, 2010

