

Individual Difference in Exercise-included Oxidative Reactions

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-03 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/518

運動負荷時における生体内過酸化反応の個人差

喜多尾 浩代・香 城 諭*

Individual Difference in Exercise-induced Oxidative Reactions

Hiroyo KITAO・Satoshi KOJO*

緒言

好気性生物にとって酸素は、ホルモン等の生理的活性物質の合成や、生体エネルギー源であるATPの合成に、欠くことのできない単体であるが、生体内で生じるこのような酸素消費の過程において、酸素分子が外部から電子を受容し、反応性に富む活性酸素が生成される。

活性酸素には、スーパーオキシド、ヒドロキシラジカル、アルコキシラジカル、ペルオキシラジカルなどがあり、過酸化水素や一重項酸素は、活性酸素を容易に生じうるため、活性酸素として取り扱うことが多い。活性酸素は、生体内に微生物が侵入した際に殺菌作用を発揮するため、感染症の成立を防御するには必要不可欠な物質である。しかし、活性酸素が必要以上に生成されると、生体膜(細胞膜、細胞内顆粒膜、赤血球膜など)を構成する脂質や蛋白質の過酸化反応が増大する。活性酸素や、過酸化反応により生じた過酸化脂質は、生体膜に機能的損傷を与え、種々の組織障害を引き起こす可能性がある¹⁾²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾⁶⁾とされている。

このような活性酸素の生成の増加は、運動による生体内への酸素摂取量の増大によっても生じ、運動負荷時に発生した大量の活性酸素は、細胞内のDNAの損傷を引き起こして、細胞の機能低下や細胞障害をもたらす危険性があるとされている⁴⁾。しかし生体内には、発生した活性酸素を速やかに除去し、脂質過酸化やDNA損傷を防御する機構を備えていることが明らかになってきており、その機構を担うものとして、スー

パーオキシドディスムターゼ、カタラーゼ、グルタチオンペルオキシダーゼ、及びセルロプラズミンといった抗酸化酵素や、ビタミンEならびにビタミンCといった抗酸化補酵素が挙げられる⁷⁾⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾。すなわち、生体内における活性酸素の生成機構と防御機構の不均衡が、過酸化反応による組織障害性の病態をもたらす一つの原因であると考えられる。

そこで本研究では、相対的にほぼ同強度の運動を負荷した際に生じる脂質過酸化反応と、酸素ストレスに対する防御機能の個人差について検討することを目的とした。

I. 方法

1. 被検者

健康な男子大学生16名を被検者とした。このうち、運動部に所属し継続的に運動を行っている鍛練者8名をTraining群(T群)、運動部に所属せず不定期に運動を行っている非鍛練者8名をControl群(C群)とした。被検者の身体特性は、表1. に示す如くであった。

2. 実験手順

各被検者に対する運動の負荷強度を決定する

表1. 身体特性および最大酸素摂取量

項目	Training 群 (n=8)		Control 群 (n=8)	
	Mean	SD	Mean	SD
年齢 (歳)	20.50	1.41	21.63	0.70
身長 (cm)	170.49	5.69	172.25	6.28
体重 (kg)	64.74	6.58	66.71	3.53
$\dot{V}O_{2max}$ (ml/kg/min)	55.03	6.84 *	42.45	5.58

$\dot{V}O_{2max}$: 最大酸素摂取量

* : $p < 0.05$

ため、実験に先立ち自転車エルゴメーターにより、最大酸素摂取量 ($\dot{V}O_2\text{max}$) の測定を行った。T 群と C 群の $\dot{V}O_2\text{max}$ の平均値は表 1 に示す如くであり、T 群は C 群に比べて有意な ($P < 0.05$) 高値を示した。

実際の各被検者に対する運動負荷は、自転車エルゴメーターにより、 $\dot{V}O_2\text{max}$ の 80~85% に相当する負荷強度での最大下駆動運動を 30 分間実施した。その際、運動負荷前の空腹安静時、運動終了直後、および運動終了後 30 分経過時において採血し、血液分析を行った。なお、運動負荷に際し、各被検者の生理学的反応 (心電図、心拍数) をモニタリングした。

3. 血液分析の項目と測定方法

末梢静脈血 10ml を無菌的にヘパリン採血し、白血球を分離した後、比重遠心法により好中球を単離した。単離した好中球を用い、スーパーオキシド (O_2^-) が産生される速度を、チトクローム C 法¹³⁾によって測定した。

血清は末梢静脈血を遠心分離することにより分取し、4℃で冷蔵保存した。この血清を用いて、過酸化脂質 (ROOH) 濃度、スーパーオキシドディスムターゼ (SOD) 活性、カタラーゼ (CAT) 活性、グルタチオンペルオキシダーゼ (GPX) 活性、セルロプラスミン (Cp) 濃度、ビタミン E (Vit.E) 濃度、ビタミン C (Vit.C) 濃度、乳酸脱水素酵素 (LDH) 活性、クレアチンホスホキナーゼ (CPK) 活性、乳酸 (La) 濃度を測定した。

過酸化脂質濃度はチオバルビツール酸 (TBA) を用いた八木法 (蛍光法) により、スーパーオキシドディスムターゼ活性はニトロブルーテトラゾリウム (NBT) 還元法、カタラーゼ活性は過酸化水素消費を利用した比色法、グルタチオンペルオキシダーゼ活性は NADPH を利用した共役酵素法、セルロプラスミン濃度は免疫ネフェロメトリー法 (免疫比濁法)、ビタミン E 濃度は蛍光法、ビタミン C 濃度は高速液体クロマトグラフィー法 (HPLC)、乳酸脱水素

酵素活性は Wróblewski 法 (酵素法)、クレアチンホスホキナーゼ活性は NADP を利用した紫外外部吸収 (UV) 法、乳酸濃度は LACTATE CARD (京都第一科学株式会社、京都) を用いた電極法¹⁴⁾によって測定した。

また、白血球数 (WBC) とヘマトクリット (Ht) については、EDTA 加全血を用いて、インピーダンス方式を利用した自動分析装置によって測定した。

4. 統計学的処理

過酸化脂質濃度、乳酸濃度、セルロプラスミン濃度、ビタミン E 濃度、ビタミン C 濃度、および白血球数は、ヘマトクリットから算出される血液濃縮率を基に、運動終了直後と運動終了後 30 分経過時の測定値を補正した。

運動負荷による、活性酸素と過酸化脂質の動態、および抗酸化系物質への影響を中心に、解析を行った。まず、各変量について、Training 群 (T 群) と Control 群 (C 群) の群間差、および安静時、運動終了直後、運動終了後 30 分経過時の経時的変化において、二要因分散分析を行った。その結果、有意な差が認められた場合、多重比較検定 (LSD 法) を行い、水準間の差の検定を行った。

次に、各変量ごとに、運動終了直後と安静時とを比較して認められる変化に注目して、全被検者をそれぞれ 2 群に分類した。その後 T 群と C 群の比較と同様に、各変量に対して、群間と測定時間とによる二要因分散分析を施し、有意な差が認められた場合、さらに LSD 法によって多重比較検定を行った。

なお、全ての解析において、有意水準は 5% 未満とした。

II. 結果

1. 鍛練者と非鍛練者との比較

方法で記した各測定項目 (変量) に対して、Training 群 (T 群) と Control 群 (C 群) の群間、および各測定時間における各水準間の差の検定

を行い、その基礎統計値と検定結果を表2.に示した。

血清過酸化脂質濃度では、全ての採血時点の測定値において、Control群（C群）がTraining群（T群）に比べ高値を示す傾向があったが、両群の間に有意な差は認められなかった。また、両群の血清過酸化脂質濃度は、運動終了直後に減少傾向を示したが、各測定時間の間に、それぞれ有意な差は認められなかった（表2.）。

好中球のスーパーオキシド（ O_2^- ）産生速度は、全ての採血時点において、C群がT群に比べ高値を示す傾向があったものの、両群の間に有意な差は認められなかった。また、両群の O_2^- 産生速度は、運動終了直後に、T群は、安静時に比べ36.4%、C群は8.3%の上昇傾向を示したが、各測定時間の間に、それぞれ有意な差は認められなかった（表2.）。

血清乳酸濃度は、両群において、運動終了直後に安静時に比べ有意な増加が認められ、運動終了30分経過時には、運動終了直後に比べ有意な減少が認められた。ただし、血清乳酸濃度は、いずれの採血時点においても、両群間に差は認められなかった（表2.）。

血清乳酸脱水素酵素（LDH）活性では、全ての採血時点の測定値において、T群がC群に比べ高値を示す傾向が認められたが有意な差ではなく、両群のLDH活性は、運動終了直後に有意な上昇を示した。群別にみると、T群は安静時に比べて16.1%、C群は9.2%の上昇を示し、C群では、運動終了後30分経過時に、運動終了直後に比べ有意な低下を示した（表2.）。

血清クレアチンホスホキナーゼ（CPK）活性においても、全ての採血時点で、T群がC群に比べ高値を示す傾向が認められたが、有意な差ではなかった。両群のCPK活性は、運動終了直後に有意に上昇し、群別にみると、T群は安静時に比べて10.6%、C群は7.4%の上昇を示した。また運動終了後30分経過時に、CPK活性は両群とも、運動終了直後に比べ有意な低下を示した（表2.）。

血清スーパーオキシドディスムターゼ（SOD）活性では、両群間に有意な差は認められなかった。ただし、T群の血清SOD活性は、運動終了直後に上昇傾向を示し、運動終了後30分経過時に低下する傾向を示した。またC群では、運動終了直後に安静時に比べて、低下する傾向が認められた（表2.）。

血清カタラーゼ（CAT）活性およびグルタチオンペルオキシダーゼ（GPX）活性では、全ての採血時点の測定値において、T群がC群に比べ高値を示す傾向が認められたが、有意な差ではなかった（表2.）。

また、血清セルロプラスミン（Cp）濃度は、運動終了直後において、T群がC群に比べ高値を示したが、有意な差は認められなかった。群別に検討すると、T群は運動終了直後に安静時と比べて5.2%の上昇傾向を示し、運動終了後30分経過時には安静時レベルに回復した。一方C群は、どの時点においても、安静時とほぼ同レベルを維持していた（表2.）。

血清ビタミンE濃度は、いずれの時点においても、両群ともに有意な変化は認められなかった。また血清ビタミンC濃度では、全ての採血時点で、C群がT群に比べ高値を示す傾向が認められたが、両群間に有意な差は認められなかった。なお、運動終了直後に、C群の血清ビタミンC濃度は有意に増加し、T群では増加傾向が認められた（表2.）。

なお、血清中の酸化系および抗酸化系物質の濃度や活性値に、 $\dot{V}O_{2max}$ との相関は認められなかった。

2. スーパーオキシド産生速度の動態により分類した2群の比較

全被検者を対象に、運動終了直後に安静時と比較して、スーパーオキシド産生速度が上昇する群（ O_2^-+ 群）と低下する群（ O_2^- 群）の2群に分類し、各変量に対して、群間および各測定時間における各水準間の差の検定を行い、その基礎統計値と検定結果を表3.に示した。

表2. 鍛練者と非鍛練者の比較

項目		Pre		Post		Recover	
		Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
O ₂ ⁻ (nmol/min·10 ⁶)	T (n= 8)	0.486	0.175	0.663	0.363	0.616	0.367
	C (n= 7)	0.725	0.223	0.785	0.519	0.718	0.492
SOD (%)	T (n= 8)	7.274	2.503	8.504	2.147	6.812	2.879
	C (n= 7)	7.706	3.520	7.089	3.467	6.907	3.779
GPX (U)	T (n= 8)	2.914	2.681	3.075	1.189	3.497	0.707
	C (n= 7)	1.470	0.598	2.595	1.236	3.078	1.119
ROOH (nmol/ml)	T (n= 8)	3.498	1.077	3.143	1.149	2.794	0.777
	C (n= 7)	4.710	2.108	3.455	1.979	3.564	2.828
CAT (U/l)	T (n= 8)	1.68	0.93	1.91	0.94	1.88	1.03
	C (n= 7)	1.63	1.11	1.63	0.94	1.23	1.25
Cp (mg/dl)	T (n= 8)	21.15	3.95	22.26	3.75	21.20	3.83
	C (n= 7)	21.26	1.99	21.26	1.94	21.18	2.12
CPK (IU/l)	T (n= 8)	198.3	138.2	219.4	147.6 *a*b	203.1	138.1
	C (n= 6)	154.7	112.3	166.2	118.8 *a*b	156.0	110.3
LDH (IU/l)	T (n= 8)	298.9	34.4	346.9	64.6 *a	318.4	56.7
	C (n= 6)	276.3	49.1	301.7	48.7 *a*b	266.0	49.1
Vit.C (μg/ml)	T (n= 8)	4.14	1.28	4.95	0.75		
	C (n= 7)	5.26	2.21	6.10	2.40 *a		
Vit.E (mg/dl)	T (n= 8)	1.03	0.16	1.04	0.20		
	C (n= 7)	1.13	0.27	1.11	0.26		
La (mmol/l)	T (n= 8)	1.10	0.62	7.30	1.77*a*b	2.20	0.48*a
	C (n= 7)	1.73	0.81	7.50	2.18*a*b	2.46	0.94
WBC (10 ³ /μl)	T (n= 8)	4.91	1.48	7.40	2.40*a*b	5.39	1.92*a
	C (n= 7)	5.33	0.87	6.83	1.38*a*b	5.03	1.25

a : Preとの比較

b : Recoverとの比較

* : p<0.05

Pre : 安静時

Post : 運動終了直後

Recover : 運動終了後30分経過時

T : 鍛練者群

C : 非鍛練者群

表3. スーパーオキシド産生速度の動態により分類した2群間の比較

項目		Pre		Post		Recover	
		Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
O ₂ ⁻ (nmol/min・10 ⁶)	O ₂ ⁻ + (n=10)	0.640	0.269	* $\left[\begin{array}{l} 0.971 \\ 0.411 \end{array} \right.$	0.434*a	* $\left[\begin{array}{l} 0.915 \\ 0.379 \end{array} \right.$	0.450*a
	O ₂ ⁻ - (n=6)	0.593	0.207		0.155*a		0.170*a
SOD (%)	O ₂ ⁻ + (n=10)	* $\left[\begin{array}{l} 9.347 \\ 5.653 \end{array} \right.$	3.056	* $\left[\begin{array}{l} 9.657 \\ 5.585 \end{array} \right.$	2.389	* $\left[\begin{array}{l} 8.845 \\ 4.422 \end{array} \right.$	2.778
	O ₂ ⁻ - (n=6)		2.842		1.899		2.329
GPX (U)	O ₂ ⁻ + (n=10)	2.798	2.385	3.215	1.172	3.007	0.988
	O ₂ ⁻ - (n=6)	1.286	0.322	2.117	0.847*b	3.564	0.835*a
ROOH (nmol/ml)	O ₂ ⁻ + (n=10)	3.668	1.464	4.257	3.634	3.254	1.099
	O ₂ ⁻ - (n=6)	5.193	1.985	3.493	2.173	3.397	3.136
CAT (U/l)	O ₂ ⁻ + (n=10)	1.65	0.96	2.03	1.01	1.60	1.15
	O ₂ ⁻ - (n=6)	1.62	1.02	1.35	0.44	1.50	1.13
Cp (mg/dl)	O ₂ ⁻ + (n=10)	21.30	3.75	22.21	3.47	21.44	3.48
	O ₂ ⁻ - (n=6)	21.42	1.50	21.43	1.93	20.95	2.04
CPK (IU/l)	O ₂ ⁻ + (n=9)	162.1	100.1	178.6	108.0 *a*b	167.0	105.1
	O ₂ ⁻ - (n=6)	201.5	153.8	216.3	164.9 *a*b	200.8	148.9
LDH (IU/l)	O ₂ ⁻ + (n=9)	281.0	41.6	319.7	60.6 *a*b	287.7	58.8
	O ₂ ⁻ - (n=6)	298.0	38.9	329.7	65.5	301.0	59.0
Vit.C (μg/ml)	O ₂ ⁻ + (n=10)	4.51	2.22	5.20	1.89		
	O ₂ ⁻ - (n=6)	5.35	0.98	6.41	1.59*a		
Vit.E (mg/dl)	O ₂ ⁻ + (n=10)	1.07	0.22	1.04	0.21		
	O ₂ ⁻ - (n=6)	1.08	0.21	1.13	0.24		
La (mmol/l)	O ₂ ⁻ + (n=10)	1.40	0.68	8.00	1.98*a*b	2.56	0.75*a
	O ₂ ⁻ - (n=6)	1.35	0.89	6.76	1.69*a*b	2.28	1.12
WBC (10 ³ /μl)	O ₂ ⁻ + (n=10)	5.34	1.01	7.55	1.87*a*b	5.46	1.45
	O ₂ ⁻ - (n=6)	4.68	1.39	6.31	1.80	4.99	1.83

a : Preとの比較

b : Recoverとの比較

* : p<0.05

Pre : 安静時

Post : 運動終了直後

Recover : 運動終了後30分経過時

O₂⁻+ : 安静時と比較して運動終了直後にスーパーオキシド産生速度が上昇する群O₂⁻- : 安静時と比較して運動終了直後にスーパーオキシド産生速度が低下する群

O_2^- 群は、いずれの採血時点においても、 O_2^- 群に比べて、SOD活性が有意な高値を示していた。また、LDH活性と白血球数において、安静時と比較して運動終了直後に有意な高値が認められた(表3.)。

一方 O_2^- 群では、GPX活性において、運動終了30分経過時の活性値が、安静時および運動終了直後に比較して有意な高値を示していた。また、ビタミンC濃度において、運動終了直後に、安静時に比べ有意な増加が認められた(表3.)。

3. 過酸化脂質濃度の動態により分類した2群の比較

全被検者を対象に、運動終了直後に安静時と比較して、過酸化脂質濃度が増加する群($ROOH+$ 群)と減少する群($ROOH-$ 群)の2群に分類し、各変量に対して、群間および各測定時間における各水準間の差の検定を行い、その基礎統計値と検定結果を表4.に示した。

$ROOH-$ 群は、ビタミンC濃度において、運動終了直後に、安静時に比べ有意な増加が認められた。また、LDH活性とCPK活性においても、安静時と比較して運動終了直後に有意な高値が認められた(表4.)。

3. 乳酸濃度の増加率により分類した2群の比較

運動終了直後の乳酸濃度を安静時と比較して、乳酸濃度の増加率が平均より大きい群($La+L$ 群)と小さい群($La+S$ 群)の2群に、全被検者を対象として分類した。各変量の基礎統計を施した後、各変量に対して、群間および各測定時間における各水準間の差の検定を行った。

その結果、表5.に示した通り、2群間の全ての測定値において有意な差は認められず、また各変量の経時変化においても、2群間に明らかな違いは認められなかった。

III. 考察

本研究では、鍛練者(T群)と非鍛練者(C群)の比較において、安静時のスーパーオキシド(O_2^-)産生速度および過酸化脂質濃度で、両群に有意な差を認めなかったが、T群はC群に比べ低値傾向を示した。このことは、定期的な運動により、 O_2^- や過酸化脂質の生成を抑制する生体防御機構が亢進している可能性が考えられる。

本研究における被検者の最大酸素摂取量($\dot{V}O_{2max}$)は、T群で平均55.03ml/kg/min、C群では平均42.45ml/kg/minであった。角田たち¹⁵⁾は、 $\dot{V}O_{2max}$ の平均が55.7ml/kg/minの群と41.5ml/kg/minの群間で、安静時の過酸化脂質濃度を比較したところ、 $\dot{V}O_{2max}$ の高い群が低い群に比べ低値を示したが、群間に有意な差は認められなかったと報告しており、角田たちの報告は、本研究結果と一致するものであった。しかし、川上たち¹⁶⁾によると、 $\dot{V}O_{2max}$ の平均が68.8ml/kg/minの群と48.6ml/kg/minの群との比較において、安静時の過酸化脂質濃度は、 $\dot{V}O_{2max}$ の高い群が低い群に比べ有意な低値を示し、有酸素性運動能力が特に優れた者は、高いレベルの有酸素性トレーニング効果により、安静時の過酸化脂質濃度を低く維持している可能性を報告している。

本研究におけるT群の $\dot{V}O_{2max}$ が、川上たちの研究における $\dot{V}O_{2max}$ 高値群の $\dot{V}O_{2max}$ と比較して、その平均値が低かったため、群間に明確な差が現われなかった可能性が考えられる。これらのことから、定期的な運動が、過酸化脂質産生の一要因である O_2^- 生成に対する抑制機構を向上させるため、安静時の血清過酸化脂質濃度は、T群がC群に比べ低い傾向を示していると考えられる。あるいは、生体内での脂質過酸化反応に対する抑制機構が亢進するため、安静時の血清過酸化脂質濃度において、T群がC群に比べ低値傾向を示した可能性がある。

表4. 過酸化脂質濃度の動態により分類した2群間の比較

項目		Pre		Post		Recover	
		Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
O ₂ ⁻ (nmol/min・10 ⁶)	ROOH+ (n= 4)	0.829	0.195	1.090	0.601	1.019	0.388
	ROOH- (n=12)	0.553	0.220	0.652	0.348	0.612	0.436
SOD (%)	ROOH+ (n= 4)	11.200	3.300	10.081	2.466	8.882	2.718
	ROOH- (n=12)	6.883	2.813	7.480	2.908	6.622	3.470
GPX (U)	ROOH+ (n= 4)	2.090	0.131	2.412	0.347	2.814	1.355
	ROOH- (n=12)	2.278	2.338	2.934	1.324	3.350	0.802
ROOH (nmol/ml)	ROOH+ (n= 4)	3.701	2.193	6.383	5.329	3.566	1.406
	ROOH- (n=12)	4.420	1.699	3.166	1.607*a	3.221	2.212*a
CAT (U/l)	ROOH+ (n= 4)	1.95	1.17	2.03	0.34	1.25	0.39
	ROOH- (n=12)	1.53	0.90	1.69	1.01	1.67	1.26
Cp (mg/dl)	ROOH+ (n= 4)	21.25	1.74	21.95	1.67	20.91	1.50
	ROOH- (n=12)	21.38	3.42	21.91	3.31	21.38	3.35
CPK (IU/l)	ROOH+ (n= 4)	147.5	47.0	156.0	57.3	149.3	50.0
	ROOH- (n=11)	188.9	138.7	207.4	147.3 *a*b	191.9	138.0
LDH (IU/l)	ROOH+ (n= 4)	290.0	64.7	303.8	89.4	273.3	81.3
	ROOH- (n=11)	287.0	31.4	330.9	50.0 *a*b	300.2	48.7
Vit.C (μg/ml)	ROOH+ (n= 4)	4.13	2.33	4.89	2.43		
	ROOH- (n=12)	5.06	1.73	5.91	1.63*a		
Vit.E (mg/dl)	ROOH+ (n= 4)	0.99	0.12	1.01	0.16		
	ROOH- (n=12)	1.10	0.23	1.10	0.23		
La (mmol/l)	ROOH+ (n= 4)	1.03	0.49	6.98	2.10*a*b	2.56	1.40
	ROOH- (n=12)	1.50	0.78	7.72	1.92*a*b	2.42	0.72
WBC (10 ³ /μl)	ROOH+ (n= 4)	4.73	1.01	6.32	1.23*a*b	4.99	1.77
	ROOH- (n=12)	5.22	1.23	7.34	2.04*a*b	5.38	1.56

a : Preとの比較

b : Recoverとの比較

* : p<0.05

Pre : 安静時

Post : 運動終了直後

Recover : 運動終了後30分経過時

ROOH+ : 安静時と比較して運動終了直後に過酸化脂質濃度が増加する群

ROOH- : 安静時と比較して運動終了直後に過酸化脂質濃度が減少する群

表5. 乳酸濃度の動態により分類した2群間の比較

項目		Pre-		Post		Recover	
		Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
O ₂ ⁻ (nmol/min・10 ⁶)	La+L(n=6)	0.687	0.248	0.979	0.387	0.995	0.550
	La+S(n=10)	0.583	0.242	0.630	0.446	0.545	0.292
SOD (%)	La+L(n=6)	9.621	3.923	9.400	3.533	8.431	3.562
	La+S(n=10)	6.966	2.833	7.368	2.443	6.441	3.192
GPX (U)	La+L(n=6)	1.929	0.774	2.626	0.505	2.840	0.724
	La+S(n=10)	2.412	2.503	2.910	1.449	3.441	1.026
ROOH (nmol/ml)	La+L(n=6)	4.512	1.803	5.088	4.605	3.545	1.322
	La+S(n=10)	4.077	1.849	3.300	1.720	3.165	2.377
CAT (U/l)	La+L(n=6)	1.07	0.20	1.28	0.51	0.88	0.42
	La+S(n=10)	1.98	1.06	2.07	0.96	1.97	1.21
Cp (mg/dl)	La+L(n=6)	22.32	4.20	23.24	4.15	22.31	4.02
	La+S(n=10)	20.76	2.12	21.13	1.70	20.63	2.10
CPK (IU/l)	La+L(n=6)	171.2	126.2	185.2	137.7 *a*b	173.5	134.1
	La+S(n=9)	182.3	124.5	199.3	131.8 *a*b	185.2	118.7
LDH (IU/l)	La+L(n=6)	289.5	42.4	315.2	64.2 *a*b	284.7	55.4
	La+S(n=9)	286.7	41.0	329.3	61.1 *a*b	298.6	60.9
Vit.C (μg/ml)	La+L(n=6)	5.18	2.29	5.89	1.89*a		
	La+S(n=10)	4.61	1.64	5.51	1.88*a		
Vit.E (mg/dl)	La+L(n=6)	0.98	0.18	0.97	0.19		
	La+S(n=10)	1.13	0.21	1.14	0.21		
La (mmol/l)	La+L(n=6)	1.17	0.24	9.53	1.17*a*b	2.96	0.81*a
	La+S(n=10)	1.51	0.91	6.34	1.06*a*b	2.15	0.82*a
WBC (10 ³ /μl)	La+L(n=6)	5.73	0.70	8.10	1.90*a*b	5.95	1.56
	La+S(n=10)	4.71	1.25	6.47	1.68*a*b	4.88	1.49

a : Preとの比較

b : Recoverとの比較

* : p<0.05

Pre : 安静時

Post : 運動終了直後

Recover : 運動終了後30分経過時

La+L : 安静時と比較して運動終了直後の乳酸濃度増加率が平均より大きい群

La+S : 安静時と比較して運動終了直後に乳酸濃度増加率が平均より小さい群

経時的变化の検討では、両群において、筋の損傷の指標として用いられるCPKとLDHの活性が、運動終了直後に有意な上昇を示しており、また血清乳酸濃度と白血球数は、運動終了直後に有意な上昇を示し、その後30分経過時には安静時の状態にまで回復していた。これまでに、激運動後における、筋細胞からの逸脱酵素（CPKやLDHなど）の血中増加率と、活性酸素および過酸化脂質濃度の上昇率との関連が報告されている¹⁷⁾¹⁸⁾。また、筋の損傷の機序の一つに、活性酸素やその他のフリーラジカルによる、細胞膜の脂質過酸化ならびにカルシウム調節関連酵素の酸化¹⁹⁾などが、関与していると考えられている。さらに、運動負荷時の脂質過酸化に対するこれまでの研究において、漸増負荷方法を採用した疲労困憊運動を負荷した際には、運動終了直後で血清過酸化脂質濃度の増加を認めている¹⁵⁾¹⁶⁾²⁰⁾。上記の疲労困憊運動は、高強度ではあるが短時間運動であるため、本研究では、さらに血清過酸化脂質濃度の上昇を予想して、高強度かつ持続的運動となる負荷方法を運動負荷に採用した。ところが本研究の結果では、筋の損傷の指標として用いられるCPKとLDHの活性が、運動終了直後に有意な上昇を示しているにもかかわらず、血清過酸化脂質濃度は、安静時に比較して運動終了直後に減少傾向を示した。この結果は、これまでの激運動を短時間負荷した時の報告とは一致せず、その理由は明らかではない。しかし他の研究でも、本研究で採用したような最大下の持続的運動負荷時には、本研究結果と同様の傾向を認めており²¹⁾²²⁾、一定強度での持続的な運動負荷方法では、負荷強度の影響を比較的受けることなく、運動中に血清脂質の過酸化に対する防御機構の動員が促され、血清中の過酸化脂質濃度の緩徐な上昇を抑制すると考えられる。これに対し、本研究の運動負荷において、好中球による O_2^- 産生速度は、運動終了直後に上昇傾向を認めており、 O_2^- の生成量は運動終了直後に増加し、筋細胞の膜透過性を亢進させる可能性が示唆された。

T群とC群の抗酸化酵素の動態についての検討では、群間および経時的变化のいずれにおいても、有意な差は認められなかった。しかし、運動終了直後に O_2^- 産生速度の上昇が大きい傾向を示すT群において、血清スーパーオキシドディスムターゼ（SOD）活性とセルロプラスミン活性が上昇する傾向を認めた。SODは O_2^- の消去反応（ $2O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$ ）を触媒して、酸素毒に対する防御作用を発現し、セルロプラスミンは脂質過酸化反応の触媒に活性作用を示す Fe^{2+} を、不活性な Fe^{3+} に変換する作用を有するため、脂質過酸化の抑制に働く。また、このセルロプラスミンは、 O_2^- を H_2O に還元して O_2^- を除去する働きも備えており、SOD、GPX、やカタラーゼなどの活性が低い細胞外液、殊に血液中では、これらの酵素に代わって活性酸素除去系に作用し、組織傷害の防止に働いていることが報告されている²³⁾²⁴⁾。また、骨格筋中のSOD活性と血清中のMn-SODは、持久的運動トレーニングによって上昇することが報告されていることから¹²⁾¹⁶⁾²⁵⁾²⁶⁾、T群はC群に比べ、血中の O_2^- 消去反応において、SODとセルロプラスミンを効率よく作用させており、そのためT群における血中 O_2^- の消去機能は、C群より優れている可能性がある。

また、GPX活性もセルロプラスミンと同様に、脂質過酸化の抑制に関与している。GPXは、グルタチオンの酸化に共役して、過酸化水素、脂肪酸過酸化物、などの様々なヒドロキシペルオキシドを還元する反応を触媒する²⁷⁾²⁸⁾。本研究で血清中のGPX活性は、両群において運動終了直後および運動終了後30分経過時に、安静時に比べて上昇する傾向を示したことから、血中での脂質過酸化の抑制に有効だと考えられる。一方セルロプラスミン活性は、前述した通りT群で運動終了直後に上昇傾向を認めたが、C群ではそのような変化が認められなかったことから、T群は血中における脂質過酸化抑制が亢進していると考えられる。本研究では、血清過酸化脂質濃度は、T群がC群に比べ、いずれの採

血時点においても低い傾向を確認している。つまり、血清過酸化脂質濃度における結果からも、T群はC群に比べ、これらの酵素による血中での脂質過酸化抑制が優れている可能性が示唆された。

さらに、過酸化脂質に対する抗酸化補酵素である、ビタミンEおよびビタミンCの動態について検討を加えた。ビタミンCは直接的抗酸化作用があるのではないが、ビタミンEがペルオキシラジカルに抗酸化作用を施してビタミンEラジカルへと変化した際、ビタミンEラジカルの還元を行い、ビタミンEを再生させる役割を持っている。血清中のビタミンEおよびビタミンCは、全ての採血時点の測定値において、C群がT群に比べ高値傾向を示した。血清ビタミンE濃度では、両群において運動終了直後に変化を認めなかったが、ビタミンC濃度は、運動終了直後にT群において増加傾向、C群では有意な増加を示し、これまでの報告²⁰⁾²²⁾と一致した。ビタミンE濃度において、運動終了直後に変化が生じなかったのは、ビタミンEが抗酸化作用に利用されて血中濃度が減少しても、直ちにビタミンCにより再生されているか、または本研究では、他の酵素に比べてビタミンEは、抗酸化作用にあまり関与していない可能性も考えられる。しかし、血清ビタミンC濃度が運動終了直後に増加傾向を示していることから、本研究における運動負荷時には、体内組織に貯蔵されているビタミンCが血中に多量動員され、ビタミンEの再生が生じている可能性よりも、ビタミンEは血中において、脂質の過酸化反応の抑制に比較的関与しにくい可能性が強い。

以上のことより、T群に限らず全ての被検者において、高強度かつ持続的な運動に参加した際にも、様々な酸素ストレスに対する防御機構が、生体内で働くことが明らかになった。そして、この防御機構により、血中における脂質の過酸化反応は抑制されていると考えられる。また本研究では、T群とC群の間に有意な差ではなかったものの、T群はC群に比較して、脂質

の過酸化に対する様々な防御機構の働きが充進していることが明らかになり、定期的に運動を実施することが、血清過酸化脂質濃度の増加の抑制に影響を与える可能性が示唆された。

しかし、各被検者の $\dot{V}O_2\text{max}$ と各酸化系および抗酸化系物質の変動率とに、相関が認められないことから、有酸素能力以外の要因によって、酸素ストレスに対する生体反応に個体差が生じている可能性が高い。

そこで次に、本研究の目的に示したように、酸素ストレスに対する防御機構の個人差について検討してみた。結果で示したように、安静時と比較して運動終了直後に、スーパーオキシド産生速度が上昇する群(O_2^- +群)は、低下する群(O_2^- -群)より、どの採血時点においてもSOD活性が有意に高かった。また O_2^- +群は、運動終了直後におけるビタミンC濃度の上昇が小さいことから、ビタミンCが血中に動員された際に、 O_2^- の不活性化のために、多く使用されている可能性がある。さらに、 O_2^- +群では O_2^- 消去系の働きが強化されており、そのため運動負荷によって O_2^- 産生量が増加しても、過酸化脂質濃度は運動終了直後において、有意な上昇を示さなかったと考えられる。これらのことから、 O_2^- 産生量が多い人は、生体の適応反応により O_2^- 消去系を高めることで、酸素ストレスに対する生体防御を成立させている可能性が示唆された。そしてそのことは、血清SOD活性が安静時において高値を示す人、すなわち O_2^- 消去系に優れている人が、どの採血時点においても、 O_2^- 産生速度が高値であることから裏付けられた。しかし、 O_2^- +群は以上のごとく O_2^- 消去系を強化しているものの、LDH活性や白血球数の上昇が著しく、炎症や組織損傷は生じている可能性がある。一方 O_2^- -群では、GPX活性が運動終了後30分経過時に、安静時および運動終了直後に比較して有意な上昇を示していた。これは O_2^- 消去系が強化されていないため、脂質過酸化を抑制しようとする生体内の適応反応の可能性があるが、 O_2^- の生成量が少ないために

GPXの消費量の減少が生じた結果である可能性も否定できず、この現象の成因については不明である。

さらに、安静時と比較して運動終了直後に過酸化脂質濃度が増加する群 (ROOH+群) では、運動終了直後におけるビタミンC濃度の増加は有意でなく、この結果は、ビタミンCが血中に動員された後、脂質過酸化の抑制に多く利用されたために生じた可能性がある。

また、運動終了直後に認められる乳酸濃度の増加率の大小によって分類した2群間に、全ての測定項目において明らかな違いは認められず、乳酸産生の上昇率と、血中酸化系物質および抗酸化系物質との関係は認められなかった。

すなわち、運動習慣の有無、最大酸素摂取能力、運動負荷時の乳酸産生量に関係なく、抗酸化ストレスに対する抑制機構の亢進を示す人の存在が明らかになった。しかし、このような生体防御機能の亢進をもたらす要因が何であるのかについては、本研究で明らかにできなかったため、今後さらに、抗酸化ストレス反応における個体差の成立機序に関する研究が必要と考える。

IV. 結語

運動負荷時における脂質過酸化反応の個人差について検討することを目的として、健康な男子大学生計16名を対象に、 $80\sim 85\% \dot{V}O_2\max$ に相当する強度の自転車駆動運動を30分間負荷し、運動負荷前安静時、運動終了直後、および運動終了後30分経過時における、血清中の酸化系物質と抗酸化系物質の濃度ならびに活性について比較検討した。

その結果、安静時のスーパーオキシド産生速度と過酸化脂質濃度において、鍛練者群(8名)が非鍛練者群(8名)に比べて低値傾向を示した。また鍛練者群は、運動負荷によるスーパーオキシド産生速度の上昇が著しい傾向を示し、血清スーパーオキシドディスムターゼ活性とセ

ルロプラスミン活性に上昇傾向を認めた。これらの結果から、定期的な身体運動は、酸化ストレス時におけるスーパーオキシドディスムターゼとセルロプラスミンの血中への動員を高め、スーパーオキシドや過酸化脂質の生成を抑制する機構を亢進させる可能性が示唆された。

一方、鍛練者と非鍛練者にかかわらず、安静時と比較して運動終了直後にスーパーオキシド産生速度が上昇する群(10名)は、スーパーオキシド産生速度が運動終了直後に低下する群(6名)より、どの時点においてもスーパーオキシドディスムターゼ活性が有意な高値を示した。この結果から、運動時にスーパーオキシド産生が著しい人は、適応反応によりスーパーオキシドの消去機能を亢進させ、様々な酸素ストレスに対して生体を防御している可能性が示唆された。

謝辞：稿を終えるにあたり、実験遂行に協力していただいた奥村知章氏に、深く感謝いたします。

V. 文献

- 1) 吉川敏一, 西村俊一, 近藤元治 : 運動と活性酸素, 体力科学, 43, 241-246, 1994
- 2) 浅田浩二 : 活性酸素一生成の抑制と消去一, 蛋白質核酸酵素, 23, 200-213, 1978
- 3) 中村哲也 : 生体における過酸化脂質の生成と抑制, 油化学, 29, 309-315, 1980
- 4) 八木國夫 : 酸素の特性と生体における酸化機構, 代謝, 17, 1695-1702, 1980
- 5) 八木國夫 : 過酸化脂質の生成と組織障害, 最新医学, 39, 1368-1373, 1984
- 6) 八木國夫 : 過酸化脂質の生成と障害, 治療学, 19, 671-676, 1987
- 7) Jenkins, R. R. : Free radical chemistry; Relationship to exercise., Sports Med., 5, 156-170, 1988
- 8) Halliwell, B., and Gutteridge, J. M. C. : Oxygen free radicals and iron in relation to

- biology and medicine ; Some problem and concepts., Arch. Biochem. Biophys., 246, 501-514, 1986
- 9) 吉川敷一, 西村俊一郎, 近藤元治: 酸素ストレス, Medical Immunology, 26, 5, 395-400, 1993
- 10) 樋口満: 活性酸素の酵素的消去システム, 臨床スポーツ医学, 11, 7, 760-767, 1994
- 11) 角田聡: 運動時の非酵素的な抗酸化機構, 臨床スポーツ医学, 11, 7, 769-776, 1994
- 12) 樋口満: 運動と活性酸素 —その発生と消去—, 体力科学, 43, 26-27, 1994
- 13) Bulter, J., Jayson, G. G., and Swallow, A. J.: The reaction between the superoxide anion radicals and cytochrome C., Biochem. Biophys. Acta., 488, 215-222, 1975
- 14) 喜多尾浩代, 奥田清: 運動負荷時における血中乳酸濃度の唾液によるモニタリング, 金沢大学教育学部紀要, 自然科学, 44, 107-112, 1995
- 15) 角田聡, 田中喜代次, 喜多尾浩代, 渡辺一志, 中塘二三生, 増原光彦: 血清過酸化脂質に及ぼす最大運動と最大下長時間運動の影響, デサントスポーツ科学, 8, 231-239, 1987
- 16) 川上和延, 山倉文幸, 高岡郁夫, 鈴木勝彦, 大森大二郎, 南谷和利: 高い有酸素能力を有する者における血清過酸化脂質と赤血球抗酸化酵素活性の運動による変動, 体力科学, 43, 426-433, 1994
- 17) 角田聡: スポーツ合宿時における血液生化学成分の経日的変動 —特に過酸化脂質について—, 教育医学, 32, 4-10, 1986
- 18) Maughan, R. J., Donnelly, A. E., Glesson, M., Whiting, P. H., Walker, K. A., and Clough, P. J.: Delayed-onset muscle damage and lipid peroxidation in man after a downhill run., Muscle Nerve., 12, 332-336, 1989
- 19) Schere, N. M., and Deamer, D. W.: Oxidative stress impairs the function of sarcoplasmic reticulum by oxidation of sulfhydryl groups in the Ca^{2+} -ATPase., Arch. Biochem. Biophys., 246, 589-601, 1986
- 20) 伊藤宏, 森美喜夫: ビタミンC・Eの摂取が最大運動後の血中過酸化脂質および尿酸濃度に及ぼす影響, デサントスポーツ科学, 15, 277-285, 1995
- 21) Rokitzki, L., Logemann, E., Sagredos, A. N., Murphy, M., Wetzel, R. W., and Keul, J.: Lipid Peroxidation and antioxidative vitamins under extreme endurance stress., Acta. Physiol. Scand., 151, 149-158, 1994
- 22) 川合ゆかり, 勝村俊仁, 大谷由美子, 高波嘉一, 丸山千寿子: 有酸素運動による酸素障害の可能性と抗酸化ビタミンの動態について, デサントスポーツ科学, 15, 219-228, 1995
- 23) Goldstein, I. M., Kaplan, H. B., Edelson, H. S., and Weissmann, G.: Caeruloplasmin ; A scavenger of superoxide anion radicals., J. Bio. Chem., 254, 4040-4075, 1979
- 24) Blake, D. R., Blann, A., Bacon, P. A., Farr, M., Gutteridge, J. M. C., and Halliwell, B.: Ferroxidase and ascorbate oxidase activities of caeruloplasmin in synovial fluid from rheumatoid patients., Clinical Sci., 64, 551-553, 1983
- 25) Jenkins, R. R., Friedland, R., and Howald, H.: The relationship of oxygen consumption to superoxide dismutase and catalase activity in human skeletal muscle., Int. J. Sports Med., 5, 11-14, 1984
- 26) Ohno, H., Yamashita, H., Ookawara, T., Saitoh, D., Wakabayashi, K., and Taniguchi, N.: Training effects on concentrations of immunoreactive superoxide dismutase isoenzyme in human plasma., Acta. physiol. Scand., 146, 291-292, 1992
- 27) Little, C., and O'Brien, P. J.: An intracellular GSH-peroxidase with a lipid peroxide substrate., Biochim. Biophys. Res. Commun., 31, 145-150, 1968
- 28) Christophersen, B. O.: Reduction of linolenic acid hydroperoxide by a glutathione peroxidase., Biochim. Biophys. Acta., 176, 463-470, 1969