

運動誘発性酸化ストレスとその性差

林 知也¹, 煙山奨也², 中山登稔¹

(1明治国際医療大学生理学ユニット, 2明治国際医療大学応用柔道整復学Ⅱユニット)

我々は、これまでに運動誘発性酸化ストレスの性差に関して研究を行っており、いくつかの知見を見出してきた。本シンポジウムでは、運動誘発性酸化ストレスと、我々が用いている血漿中酸化ストレスマーカーであるアルブミンの酸化・還元状態について説明した上で、我々が行った運動誘発性酸化ストレスの性差の研究に関して、主要な知見を述べる。

【酸化ストレスと運動】

活性酸素とは反応性が非常に高く、反応した物質を酸化させる酸素種のことであり、生体内では、細胞膜の脂質二重層の過酸化、タンパク質から成る酵素・受容体の変性、DNA 鎖の切断などを生じさせる。生体内には活性酸素によるそのような障害を防ぐために、抗酸化物質が存在し、発生した活性酸素を速やかに消去してくれている。通常は活性酸素の発生系と抗酸化物質による消去系のバランスがとれているが、何らかの原因で、前者が後者を上回ることがある。この状態が酸化ストレスと呼ばれ、これが長く続くと細胞障害が起き、やがては疾病を導く。

日常生活の中で運動を行なうことは非常に有益であるが、過度の運動は酸化ストレスを誘発させることになる。運動中は骨格筋の酸素消費量が安静時に比し約 100 倍以上になり、ATP 産生時のミトコンドリア内で多量の活性酸素が発生することが考えられる。既に述べたように、生体内では活性酸素の消去系が多量に存在するので、軽度の運動では酸化ストレスはほとんど誘発されず、されても軽度である。それに対し、疲労困憊運動を行なわせたラットでは、その運動を行なっていないコントロール群に比し、骨格筋や肝臓などで活性酸素が多量に発生していることが明らかになっている¹⁾。すなわち、高強度の運動では、活性酸素の発生系が消去系を上回るので、強度の酸化ストレスが誘発されることになる。

【血漿中酸化ストレスマーカーとしてのアルブミンの酸化・還元状態】

生体内における活性酸素は直接測定が難しいため、酸化ストレスの測定法の多くは酸化物の測定である。その酸化物には数多くの種類があり、酸化ストレスの状態を示すには酸化物ごとに一長一短があるため、目的によって使い分けられることが多い。細胞外液中の酸化物の一つとして、血漿アルブミンが挙げられる。このタンパク質は、血漿中に豊富に存在し、構造的な特徴の一つとして反応性の高い SH 基を一つだけ有することが挙げられる。生体内においては、この SH 基がフリーなアルブミン（還元型アルブミン）と、活性酸素の間接・直接的な反応により SH 基が酸化されたアルブミン（酸化型アルブミン）とが混在して

おり、これらの比をアルブミンの酸化・還元状態と呼んでいる。アルブミンの持つ、尿中に漏出しにくい、半減期が長い（約 21 日）等の特性から、この酸化・還元状態が比較的長期の全身的な酸化ストレスの指標になりうる可能性がある。酸化ストレスが増大していると考えられる病態や老化などの生理的状態において、このアルブミンの酸化・還元状態を指標とした研究がなされており、還元型アルブミンが減少し、酸化型が増加していることが報告されている^{2, 3)}。このことから、アルブミンの酸化・還元状態は、細胞外液中の酸化ストレスマーカーとして有用であることが考えられる。

我々は運動誘発性酸化ストレスについて、アルブミンの酸化・還元状態が有用な指標になりえるかどうか実験を行った。トレッドミル上でラットに疲労困憊運動を行わせ、その直後のアルブミンの酸化・還元状態を測定し、コントロール群と比較した。その結果、疲労困憊運動直後のラットアルブミンの還元型の割合は、コントロール群の $23.8 \pm 1.8\%$ に比し、 $31.0 \pm 3.5\%$ と有意に高かった ($n = 7, p < 0.01$)⁴⁾。またヒトにおいても、高強度運動を連続して行う剣道の強化合宿前後で、合宿後に酸化型アルブミンが有意に増加していたことを報告している⁵⁾。これらのことから、アルブミンの酸化・還元状態は運動誘発性酸化ストレスにおいても、有用なマーカーになることが示された。

【運動誘発性酸化ストレスの性差】

運動誘発性酸化ストレスに関して、性差が既に報告されており、 17β -エストラジオール (E_2) が抗酸化特性を持っており、性周期に伴うそれらの増加によって、女性では男性に比し、抗酸化能が高くなることが示されている⁶⁾。その一方で E_2 が性周期中に最も低値を示す卵胞前期において、酸化ストレス状態の性差に関する報告はほとんどない。また、 E_2 以外に性差を示す一般的な生理学的パラメーターとして基礎代謝量があるが、酸化ストレスとの関係は明らかでない。

そこで、男性と、 E_2 濃度が最も低い卵胞前期の女性の各々の被験者グループで、アルブミンの酸化・還元状態を指標とした酸化ストレスと、基礎代謝量との関係を調べることを目的に実験を行った。被験者は男女ともに、週 1 回程度運動を行っている者を対象とした。酸化ストレスを誘発させるために、3 日間連続して自転車エルゴメーターにて最大酸素摂取量の 75% の運動を 20 分間負荷した。運動 1 日目と 3 日目の運動負荷前後に得られた血漿を用いて、特殊な高速液体クロマトグラフィーシステム⁷⁾にて、アルブミンの酸化・還元状態を測定した。運動とは別の日に、基礎代謝量測定時にほぼ近い条件下で安静時代謝量 (REE) の測定を行った。結果として、アルブミ

ンはSH基の状態によって、フリーな状態である還元型、酸化型グルタチオンやシスチンによって間接的に酸化された可逆性酸化型(HNA-1)と、過酸化水素などの活性酸素によって直接酸化された不可逆性酸化型(HNA-2)の3種類に分画された。全アルブミン分画に対するHNA-1分画の比(%)の時系列変化を図1に示す。性別でみると、女性群は男性群に比し、全ての時系列において低値を示したがバラつきが大きい有意差を示さなかった。男女合わせたデータは、運動負荷直前に比し、各々の運動負荷後は1日目、3日目ともに有意に増加しなかったが、3日間全体では増加傾向が見られ、3日目の運動負荷直後は1日目の運動負荷直前に比し有意に増加していた。1日目の運動負荷直前のデータに注目し、REEとHNA-1濃度の相関を見ると、相関係数が $r = 0.79$ ($p < 0.01$)と有意に比較的高い正の相関を示し、REEが高いと、HNA-1が高くなる関係が見られた。

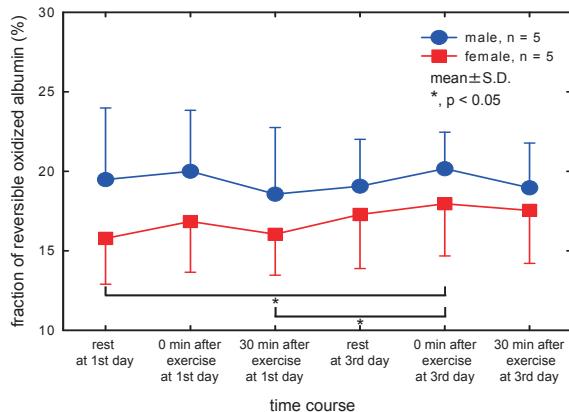


図1: 高強度の運動による可逆性酸化型アルブミン(HNA-1)分画比(%)の変化

これらの結果は、運動誘発性酸化ストレスが血漿中のアルブミンを直接酸化するよりも、バッファ的な作用によってアルブミンを間接的に酸化することが多いことを示しており、かつ酸化ストレスが蓄積する可能性を示唆している。性差においては、統計的な有意差は認められなかったものの、女性の方が常に酸化ストレスが低い傾向であることが示された。この理由として、 E_2 以外に、全身的代謝状態を予想し、基礎代謝量の指標としてのREEと酸化ストレス状態との関係を調べたところ、両者は比較的高い相関関係が示された。一般的に基礎代謝量は男性に比し、女性の方が低いため、女性の低い酸化ストレスの状態には、 E_2 以外に、基礎代謝量が反映していることが示唆された。

【運動誘発性酸化ストレスに対する持久トレーニングの影響とその性差】

一般的に持久トレーニングは、最大酸素摂取量の増加など、エネルギー代謝機能を亢進させ、その一方で抗酸化系能力の増強によって酸化ストレスを軽減させることが示されている。しかし、その性差に関して明らかでない部分が多い。そこでトレーニングによる酸化ストレス軽減の性差に関して、週1回程度運動を行っている男女それぞれに4週間の比較的短期の持久トレーニングを

行わせ、その前後に運動による酸化ストレスを誘発させ、アルブミンの酸化・還元状態を測定するとともに、エネルギー代謝量などについても測定を行った。女性のトレーニング期間は、卵胞前期から次の卵胞前期までとした。トレーニングは最大酸素摂取量の60%での1時間の自転車エルゴメーター運動とし、これを週3回、4週間に亘って行わせた。トレーニング期間の直前、直後に最大酸素摂取量の75%の定常運動を自転車エルゴメーター上にて20分間負荷した。結果として、男女各々のトレーニング前後でのREEは、ほぼ同じであり有意な変動は見られなかった。最大酸素摂取量/除脂肪量は、男性ではトレーニング後に有意に増加した($p < 0.05$)が、女性ではトレーニング前後でほぼ同じ値であり有意差が認められなかった。HNA-1分画値は、男性ではトレーニング前後ともに、安静時の値に比し、定常運動直後の値が有意に増加した($p < 0.05$)。またこの値は、トレーニング前に比し、トレーニング後に有意に低下した($P < 0.05$)。女性ではトレーニング前後ともに、安静時の値に比し、定常運動直後にやや増加する傾向であったが有意差はなく、トレーニングによる有意な変動も認められなかった。

本研究での男性におけるトレーニング前に対するトレーニング後のHNA-1分画値の有意な低下は、生体内の酸化ストレスが持久トレーニングによって抑えられたことを示している。これはエアロビックな持久トレーニングに伴う抗酸化酵素活性の増大によるものと考えられた。また、本研究では、女性はトレーニング前でも酸化ストレスの影響を受けにくく、トレーニング後でも大きな変化は認められなかったことが示された。このことから、女性では、比較的短期の持久トレーニングによる抗酸化能の変動が生じにくいことが示唆された。

これらの領域での性差をより明らかにするために、今後はトレーニングの種類の変更や期間の延長、各種抗酸化物質の測定などを行う必要がある。また、卵胞後期、黄体期などで運動誘発性酸化ストレス状態を測定することによって、 E_2 の関与をより明らかにする必要がある。

【文献】

- 1) Davies KJ, Quintanilha AT, Brooks GA, Packer L, Biochem Biophys Res Commun, 107(4):1198-1205, 1982.
- 2) Era S, Hamaguchi T, Sogami M, et al, Int J Pept Protein Res, 31(5):435-442, 1988.
- 3) Era S, Kuwata K, Imai H, et al, Biochim Biophys Acta, 1247(1):12-16, 1995.
- 4) Hayashi T, Suda K, Imai H, et al, J Chromatogr B, 772(1): 139-146, 2002.
- 5) Imai H, Hayashi T, Negawa T, et al, Jpn J Physiol, 52 (2): 135-140, 2002.
- 6) Kerksick C, Taylor L IV, Harvey A, Willoughby D, Med Sci Sports Exerc, 40(10):1772-1780, 2008.
- 7) Hayashi T, Era S, Kawai K, et al, Pathophysiology, 6(4):237-243, 2000.