

高強度間欠的運動が血清総抗酸化能に与える影響

日下部 未来¹ 神林 勲² 白井 夕貴³
高橋 寿美子³ 木本 理可⁴ 武田 秀勝⁵

Effect of intermittent sprint cycle exercise on serum total antioxidant capacity

Miku Kusakabe¹, Isao Kambayashi², Yuki Usui³
Sumiko Takahashi³, Rika Kimoto⁴ and Hidekatsu Takeda⁵

Abstract

To investigate the effect of high-intensity intermittent sprint cycle exercise on serum total antioxidant capacity. Eightteen male students belonging to the physical education course in the university (age; 19.9 ± 0.6 yr, height; 175.3 ± 1.1 cm, weight; 67.9 ± 1.1 kg) performed intermittent sprint cycle exercise for 20-sets. Each set consisted of 7-sec maximal pedaling (resistance was set at 8 % of body weight) and 53-sec recovery (unloaded pedaling by 60 rpm). Oxygen uptake and heart rate were measured continuously during exercise. Blood samples were collected before exercise (Baseline), just after exercise (0 h) and 1-hour after exercise (1 h). Serum total antioxidant capacity (superoxide and alkyl-oxy radical scavenging activity) was measured by electron spin resonance (ESR) with spin-trapping method. Serum alkyl-oxy radical scavenging activity (mmol/l Torolx equivalent) significantly increased ($p < 0.001$) at 0 h (1.86 ± 0.2) and 1 h (2.01 ± 0.2) compared to Baseline (1.18 ± 0.1), however, no difference was serum superoxide scavenging activity. Also, alkyl-oxy radical scavenging activity was significantly ($p < 0.05$) higher than superoxide scavenging activity at Baseline. It is clear that high-intensity intermittent sprint cycle exercise induces transient change of serum total antioxidant capacity. Results also suggest that change in serum total antioxidant capacity after high-intensity exercise might be affected positive or negative effect.

(*Hokkaido J. Phys. Educ. Hlth. Sport Sci.* 44 : 1-7, 2010)

Key words: ESR Spin-trapping, Oxidative-stress, Antioxidant, Scavenging

緒 言

ヒトは、生命活動を営む上で酸素を消費しており、そのため生体内では絶えず活性酸素種 (Reactive

oxygen species, ROS) が生成される。ROSには、スーパーオキシド (superoxide, O_2^-)、過酸化水素 (hydrogen peroxide, H_2O_2)、一重項酸素、ヒドロキシラジカル (hydroxyl radical, $\cdot OH$) 等がある (大野ら, 2000)。これらの ROS は生理活性物質の調節や異

1. 東海大学国際文化学部
〒005-8601 札幌市南区南沢5条1丁目1-1
2. 北海道教育大学岩見沢校スポーツ教育課程
〒068-8642 岩見沢市緑が丘2-34-1
3. 北海道教育大学大学院教育学研究科
〒068-8642 岩見沢市緑が丘2-34-1
4. 枝幸町立枝幸南中学校
〒098-5953 北海道枝幸郡枝幸町字風烈布
5. 札幌医科大学保健医療学部
〒060-8556 札幌市中央区南1条西17丁目

1. School of International Cultural Relations, Tokai University, 5-1-1-1 Minaminosawa Minami-Ku Sapporo 005-8601
2. Department of Sport Education, Hokkaido University of Education Iwamizawa, 2-34-1 Midorigaoka Iwamizawa 068-8642
3. Graduate School of Education, Hokkaido University of Education, 2-34-1 Midorigaoka Iwamizawa 068-8642
4. Esashi Municipal, Esashi Minami Junior High School, Fuureppu Esashi-Esashi Hokkaido 098-5953
5. School of Health Science, Sapporo Medical University, Minami 1-jo Nishi 17-chome Chuo-ku Sapporo 060-8556

連絡先 日下部未来

Corresponding author Miku Kusakabe

物の殺菌といった生理的に重要な代謝に寄与し, 生体にとって不可欠なものである。一方, ROSは反応性に富んだ酸素種のため, 脂質, タンパク質およびDNA等の生体組織に酸化損傷を与え(酸化ストレス), 酸化ストレスの蓄積が炎症や癌, 動脈硬化などの疾病の誘発あるいは促進に関与することが指摘されている。生体には生成されたROSを消去する抗酸化システムが備わっており, スーパーオキシドジスムターゼ (superoxide dismutase, SOD), カタラーゼ(catalase, CAT), グルタチオンペルオキシダーゼ (glutathione peroxidase, GPx)等の抗酸化酵素や, ビタミンC, ビタミンEおよび尿酸等の非酵素的な抗酸化物質が存在する。これらのことより, 生体内の恒常性は, ROS生成と抗酸化システムとのバランスを保つことが重要であり, 健康の維持・増進にとって有益となる。

ROSの生成は酸素摂取量に比例するため(野口, 2003), 運動等の身体活動は酸化ストレスを増大させる。酸化ストレスの程度は負荷する運動の種類, 強度, 継続時間等によって異なるが, 高強度運動により増大する報告は多く(Finaud et al., 2006; Leewenburgh et al., 2001; Ogonovszky et al., 2005; Pizza et al., 2005; Poulsen et al., 1996), 筋痛の誘発や組織障害, 脂質過酸化の招来を示している。高強度運動時における抗酸化システムの報告も多くあるが, 評価に用いる手法がそれぞれ異なることから他の研究結果との比較が困難な状態である。例えば, 75% $\dot{V}O_2\text{max}$ のダウNHil走(Jenifer et al., 2003)を行った報告ではORAC(Oxygen Radical Absorbance Capacity)法を用い, また, 30秒間の全力ペダリング運動からなるWingate test(Groussard et al., 2003)を実施した報告では, Randox test法やGPx専用の測定キットを用いた抗酸化能が評価されている。このほかにも, SOD様活性, TRAP(Total radical trapping antioxidant parameter)法, DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)法が用いられているが, これらの手法は間接的な測定方法や限定されたROSが測定対象であるなど課題が残されているため, 抗酸化システムの評価には正確性・簡易性および統一基準の確立が必要とされた。

電子スピン共鳴(electron spin resonance, ESR)装置は, 測定試料の形状(液体, 気体, 固体)に影響することなく, 非破壊的に, 選択的にROSを測定できる唯一の手段であり, 著者らの研究グループではESRを応用した新たな抗酸化能の測定法を開発した(Kohri et al., 2009)。個々の抗酸化酵素や抗酸化物質は, ネットワークを形成して酸化ストレスの軽減に作用しているため, 個別に抗酸化酵素・抗酸化物質の濃度や活性を評価するのではなく, 血中の総合的な抗酸化能(ROS消去能)を評価しなければならない。先行研究においても, 特定の抗酸化酵素の評価では, 生体における抗酸化能力の全てを評価しているとは言えないと報告している(田辺ら, 2003)。

そこで, 本研究ではESRを用いた測定法により, 高強度間欠的運動が血清総抗酸化能 [O_2^- およびアルコキシルラジカル ($\cdot RO$) 消去能] に与える影響について検討することを目的とした。

方 法

1. 被検者

被検者は大学運動部(種目は陸上部, 野球部, バレーボール部)に所属し, 日常定期的に運動を行っている健康な男性18名(19.9 ± 0.6歳, 175.3 ± 1.1cm, 67.9 ± 1.1kg)とした。実験に先立ち, 全員に本研究の趣旨および安全性についての十分な説明を行い, 自主的な参加の同意を書面により得た。なお, 本研究は札幌医科大学の倫理委員会の承認を得て実施された。

2. 実験の概要

本研究では, 事前に漸増負荷運動により各被検者の最大酸素摂取量(Maximum-oxygen uptake, $\dot{V}O_2\text{max}$)を測定した後, 高強度間欠的運動を実施した。採血は, 運動開始2時間前(Baseline)運動終了直後(0 h), 運動終了1時間後(1 h)に行い, その後血清を抽出し, 血清総抗酸化能の分析に用いた。また, 運動による水分の損失を補うため, 市販のミネラルウォーターを運動による体重の減少分を摂らせた。なお, 被検者には, 運動実験前日は激しい運動を行わないよう指示し, 高強度間欠的運動の前日の夕食, 当日の朝食は同じものを摂取させた。

3. 運動プロトコール

1) 漸増負荷運動

運動は, 自転車エルゴメーター(COMBI社製, エアロバイク75XLII)を用いて, 室温25.8 ± 1.2 °C, 湿度48.5 ± 3.4%の実験室において行われた。被検者は, 体重, 身長および体脂肪率の測定後, ストレッチ運動などのウォーミングアップを約20分間行った。自転車エルゴメーターの椅子の高さとハンドルの位置を調節した後, 靴とペダルを粘着性のテープにより固定し, 呼気ガス分析用のガスマスクを装着した。自転車エルゴメーター上で4分間の安静状態を保持した後, 3分間, 30 wattsの負荷でメトロノームのリズムにあわせた毎分60回転(60 rpm)のペダリング運動を行わせた。その後, 60 rpmで毎分30 watts増加するランプ負荷法により疲労困憊に至るまでの漸増負荷運動を実施した。疲労困憊の判断は, 50 rpm以上でペダリングできなくなった時点とした。

2) 高強度間欠的運動

運動は, 13:00~18:00の間に, 室温27.2 ± 0.2 °C, 湿度59.6 ± 1.3%の実験室において行われ, 自転車エルゴメーター(COMBI社製, パワーマックスVII)を用

いた。被検者は、体重、身長、体脂肪を測定し、ウォームアップとしてストレッチ、自転車エルゴメーターを用いた 100 watt の負荷での 10 分間のペダリング運動を行った。自転車エルゴメーターの椅子の高さとハンドルの位置を調節した後、靴とペダルを粘着性のテープにより固定し、呼気ガス分析用のガスマスクを装着した。自転車エルゴメーター上で 3 分間安静状態を保持した。その後、高強度間欠的運動として、体重×0.08 kp の負荷（坂井ら, 1999）で 7 秒間の全力ペダリングと 53 秒間の無負荷でのペダリングを 1 セットとして、連続的に 20 セット実施させた。各セットにおいて全力ペダリング時の 7 秒間の平均パワーを記録し、体重あたりの相対値を分析に用いた。運動終了後、体重を測定し、体重の減少量と同量の水分を運動後 30 分のうちに摂取させた。

4. 呼吸循環器系指標の分析

漸増負荷運動、高強度間欠的運動中の酸素摂取量 (Oxygen uptake, $\dot{V}O_2$) の測定は、自動呼気ガス分析装置 (ミナト医科学社製, AE-300S) を用いて、breath-by-breath 法によって行った。測定されたデータを 8 呼吸ごとに移動平均し、さらに漸増負荷運動では、30 秒毎、高強度間欠的運動では、15 秒毎に単純平均したものを分析に用いた。漸増負荷運動において、得られた $\dot{V}O_2$ のうち、最高値を $\dot{V}O_{2max}$ とした。呼気ガス分析と同時に、スポーツ心拍数計 (POLAR 社製, RS400™) により心拍数 (Heart Rate, HR) を測定し、連続的に 15 秒毎に記録したものを分析に用いた。

5. 採血および血清の抽出

採血は、Baseline, 0 h および 1 h の 3 度、翼付静注針 (テルモ社製) およびヘパリンコーティングしないシリンジを用いて、肘静脈より行った。採取した血液は、30 分間、37 °C で温浴の後、3500 rpm, 0 °C で 10 分間遠心分離を実施し、血清を抽出した。分注した血清サンプルは分析時まで -80 °C で凍結保存した。

6. 血清総抗酸化能の測定

$O_2^{\cdot-}$ 消去能および $\cdot RO$ 消去能の分析は、既報 (Kohri et al., 2009) に若干の修正を加えて、ESR (JES-RE1X, 日本電子株式会社製) を用いたスピントラップ法にて実施した。前処理した混合液に光ファイバー式可視光照射装置 (RUVF-203SR, ラジカルリサーチ社製) にて可視光を照射することにより $O_2^{\cdot-}$ および $\cdot RO$ を発生させ信号を検出し (Control signal), 一方では同じ系に血清を添加した際の $O_2^{\cdot-}$ および $\cdot RO$ の信号を検出した (Serum signal)。なお、トラップ剤には、CYPMPO (2-(5,5-Dimethyl-2-oxo-2 λ 5-[1,3,2]dioxaphosphinan-2-yl)-2-methyl-3,4-dihydro-2H-pyrrole-1-oxide) を用いた。

血清 $O_2^{\cdot-}$ 消去能の測定は、Control signal としてリポフラビン (20 μM) を 5 μl, EDTA (50 mM) を

10 μl, CYPMPO (100 mM) を 10 μl, リン酸緩衝液 (Phosphate buffered; PB) (100 mM) を 75 μl 加え、Serum signal としてリポフラビン (20 μM) を 5 μl, EDTA (50 mM) を 10 μl, CYPMPO (100 mM) を 10 μl, PB (100 mM) を 45 μl, リン酸緩衝生理食塩水 [Phosphate buffered saline; PBS (-)] にて 10 倍希釈した血清試料 30 μl を加え、それぞれをよく混和した後、シリンジ付きディスク偏平セルで 100 μl の混合液を吸い上げ、それを ESR にセットし、信号を検出した。血清 $\cdot RO$ 消去能の測定には、Control signal として AAPH (2,2'-azobis (amidinopropane) dihydrochloride) (10 mM) を 10 μl, CYPMPO (100 mM) を 10 μl, PB (100 mM) を 80 μl 加え、Serum signal として AAPH (10 mM) を 10 μl, CYPMPO (100 mM) を 10 μl, PB (100 mM) を 50 μl, PBS (-) にて 10 倍希釈した血清サンプル 30 μl を加え、それぞれをよく混和した後、シリンジ付きディスク偏平セルで 100 μl の混合液を吸い上げ、それを ESR にセットした。なお、ESR の測定条件は、いずれも Sweep width = ± 7.5 mT, Sweep Time = 2 min, Gain = 2.5 × 100, Modulation Width = 1.0 × 0.1 mT, Time constant = 0.3 sec, Center Field = 336.2 mT, Power = 6 mW, Frequency = 9.43 GHz で行った。また、血清 $O_2^{\cdot-}$ および $\cdot RO$ 消去能には、前述したそれぞれの Control signal の系に標準物質である Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) (50 μM) を添加した $O_2^{\cdot-}$ および $\cdot RO$ 信号 (Trolox signal) を評価基準として用いた。Fig.1 は、 $O_2^{\cdot-}$ およ

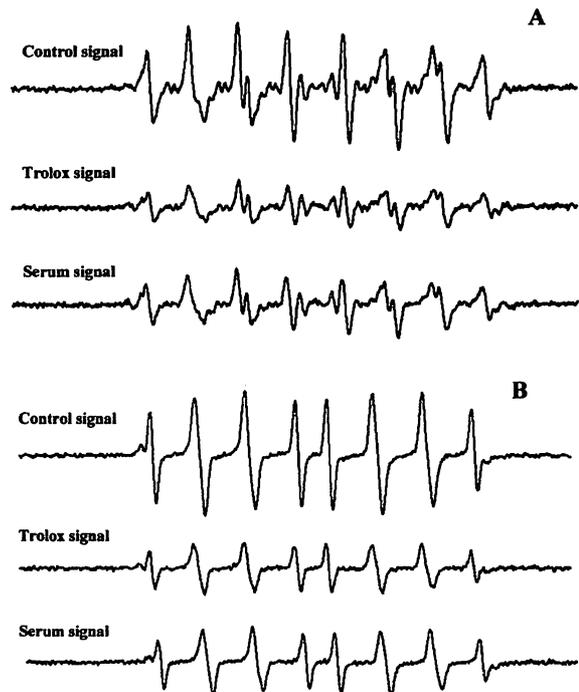


Fig. 1 ESR spectrum of superoxide (A) and alkyl-oxy (B) signal. Aqueous solution was illuminated with weak Visible light arc and ESR spectrum was recorded.

び `RO の ESR シグナルの典型例を示している。

血清 O_2^- および `RO 消去能の評価には, スピン
トラップ剤 CYPMPO (CYP) と抗酸化物質 (AOx)
が, 単位濃度あたりで反応した O_2^- および `RO 濃度
の比率を以下の式 (1) で算出し (式参照; [I_0 : Contr
ol signal で, 全ての O_2^- または `RO 発生量に対応,
 I : 抗酸化物質存在下での ESR 信号, $I_0 - I$: 抗酸化
物質が消去した O_2^- または `RO 量]), [mmol/l
Trolox equivalent] に換算して求めた。

$$[(I_0 - I)/I] / [(AOx)/(CYP)] \dots (1)$$

7. 統計処理

測定した値は全て平均値±標準誤差 (Mean ± SE)
で表した。Stat View を用いた反復測定分散分析を行
い, 有意差が認められた場合は適宜 Bonferroni 法にて
Post-hoc 多重比較を行った。危険率は, 全て 5% 未
満で有意とした。

結 果

1. 漸増負荷運動

漸増負荷運動の継続時間, 最大運動負荷および
 $\dot{V}O_2\max$ は, それぞれ, $10.42 \pm 0.01\text{min}$, $399.3 \pm$
 7.7 watts , $53.3 \pm 2.3 \text{ ml/kg/min}$ であった。最大心
拍数と RER が, それぞれ $192.8 \pm 2.4 \text{ bpm}$, $1.27 \pm$
 0.02 であることから, 各被検者は疲労困憊に達したと考
えられる。

2. 高強度間欠的運動

高強度間欠的運動における体重あたりの平均パワーの
変化を Fig.2 に示した。平均パワーはセット数が増える
につれて低下した。被検者 18 名のうち 1 名については 14
セット目終了時点で, これ以上の継続が困難であると判
断し, 運動を中止させた。さらに 2 名において, 運動中,
自動呼気ガス分析装置の不具合により呼気ガスデータを
とることができなかった。運動中の $\dot{V}O_2$ の被検者全員
の平均値は, $40.5 \pm 2.8 \text{ ml/kg/min}$ であり, 運動強度
は $79.1\% \dot{V}O_2\max$ であった。また, HR は $160.3 \pm$
 2.6 bpm であった。

3. 高強度間欠的運動前後の血清総抗酸化能の変化

血清総抗酸化能の変化を Fig.3 に示した。血清 O_2^-
消去能 (mmol/l Trolox equivalent) の平均値は,
Baseline では 1.9 ± 0.3 , 0h では 2.1 ± 0.2 , 1h では
 2.0 ± 0.2 であり, 運動前後における経時的な変化は認
められなかった。血清 `RO 消去能 (mmol/l Trolox
equivalent) の平均値は, Baseline では 1.2 ± 0.1 , 0h
では 1.9 ± 0.2 , 1h では 2.0 ± 0.2 であり, Baseline と
比較して, 0h, 1h において有意な増加を示した ($p <$
 0.001)。個人差の影響を配慮し, 各被検者の Baseline
の値を 1 としたときの相対値の経時的変化を検討したと

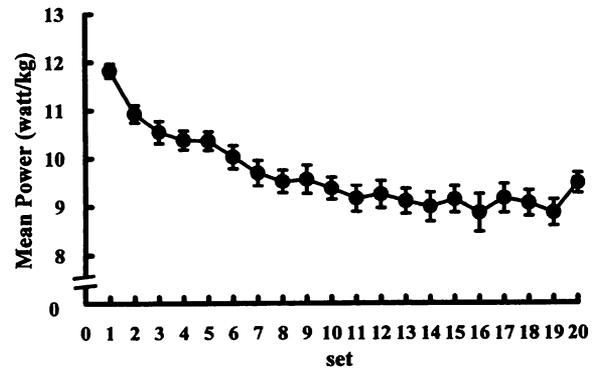


Fig. 2 Change of power output during the high-intensity intermittent sprint cycle exercise.

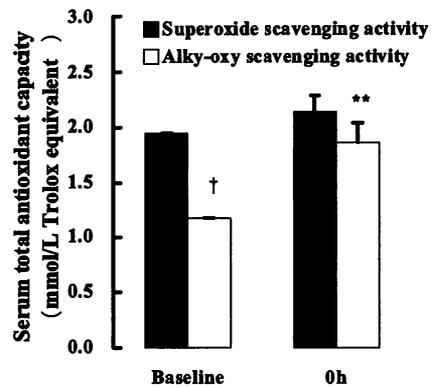


Fig. 3 Serum total antioxidant capacity before and after the intermittent sprint cycling. Individual date and mean values ±SE. **donete $p < 0.001$ when compared with baseline. †donete $p < 0.05$ when compared with serum superoxide scavenging activity.

ころ, 絶対値における経時的変化と同様の結果が得られ
た。また, Baseline において, 血清 `RO 消去能は血
清 O_2^- 消去能と比較して有意な低値を示し ($p < 0.05$),
その他の測定ポイントに有意差は認められなかった。

考 察

本研究は, 大学で運動部に所属している男子大学生 18
名を対象に高強度間欠的運動を 20 分間行わせ, 血清総抗
酸化能に与える影響を ESR を用いた新しい測定法によ
り検討した最初の研究である。

本研究で用いた高強度間欠的運動は, 体重の 8% に設
定された負荷での 7 秒間の全力ベダリング運動と無負荷
での 53 秒間のベダリング運動を 1 セットとし, それを 20
セット行わせた。この運動は, 有酸素系エネルギー代謝
の依存度も高く, 筋内でも虚血-再灌流と同様の脱酸素
化および再酸素化を生じるとされている運動であり, 20
分間という短時間の運動ではあるが, ロードサイクリン
グ (Almar et al., 2002) やスーパーマラソン (Radak
et al., 2000) といった長時間にわたる有酸素運動後の
酸化ストレス状態と同様の結果を示すことを明らかにし

ている(神林ら, 2004)。これまでに、高強度間欠的運動を実施した際、運動後に尿中のDNA酸化ストレス指標である尿中8-ヒドロキシ-デオキシグアノシン(8-hydroxy-deoxyguanosine, 8-OHdG)レベルの有意な増加を明らかにしているが(神林ら, 2004, 2005a, 2005b)、酸化指標においては、光照射を利用した新しい測定方法での結果を示すのは初めてである。これまで、測定キットを用いた方法や間接的にROSを生成させる手法では、化学反応で用いる酵素の劣化や試薬の調合・混合液の反応に時間を要するため、簡易性には欠けていた。しかしながら、本研究では、光照射によってROSを発生させ、血清の総合的なROS消去能をESRによってリアルタイムに測定するため、より正確に、より簡易に評価することが可能になった。

本研究の結果より、血清 O_2^- 消去能では高強度間欠的運動による影響が示されなかったものの、血清 $\cdot RO$ 消去能においては、Baselineと比較して、0h, 1hにおいて有意な増加を O_2^- 示した。また、Baselineにおいて、血清 $\cdot RO$ 消去能は消去能と比較し有意な低値を示し、その他の測定ポイントにおいては差がみられなかった。これらのことから、高強度間欠的運動前後における血清総酸化能は、測定対象となるROSによって異なる消去能を示すことが明らかとなった。

O_2^- は酸素から生成された最初の還元体であり、その後生体内の状態に応じてより障害性の強いROSへと変化していく。 O_2^- の消去は特異的に反応するSODによって H_2O_2 に不均化され、生成された H_2O_2 はCATやGPxによって消去される。 O_2^- は他のROSの前駆体となっており、一般に O_2^- による障害性はそれほど強くはない(吉川, 1998)。一方、 $\cdot RO$ は脂質代謝の過程で生成され、 $\cdot RO$ の消去には主に低分子抗酸化物質が携わっている。 $\cdot RO$ と反応して生成される脂質ペルオキシドラジカル($\cdot ROO$)は脂質過酸化の連鎖反応を引き起こす強力なROSの1つであり、細胞膜や血漿リポタンパク内に存在する脂溶性のビタミンEが $\cdot RO$ を捕捉することによって連鎖反応を停止させる(大野ら, 2001)。このようにして、生体内の酸化システムは細胞障害の原因となるROS生成や連鎖反応を阻止している。運動時には増大したROSに対抗するため、血清総酸化能は各々の抗酸化酵素や物質の減少および増加を相互に補い、酸化ネットワーク環境を調整している。Nikolaidis et al (2008)は、一般に「最良」の抗酸化物質はなく、異なる抗酸化物質がそれぞれの抗酸化物質を保護する必要なときに、ROSによる攻撃からの大きな防御を備えていると報告している。これらのことを踏まえると、高強度間欠的運動前後の血清総酸化能は、酸化システムの第1線で働くSOD様の抗酸化物質は十分に満たされているため、血清 O_2^- 消去能では変化がなく、運動後にみられた $\cdot RO$ 消去能の変動は、SOD様のものではない抗酸化物質が血中へ動員されたことが示唆される。

この要因としては、高強度間欠的運動によって損傷した筋や細胞組織中の抗酸化物質が血中へと漏出した結果、運動後の $\cdot RO$ 消去能が高値を示したことが考えられる。筋損傷のマーカであるクレアチンキナーゼ(Creatine Kinase, CK)は、骨格筋や心筋が障害を受けた際に血液中へ流出する逸脱酵素であり、激運動時において筋線維が損傷し増加する。Ruizら(2005)は、自転車エルゴメーターを用いた70% $\dot{V}O_2\max$ の強度での90分間のペダリング運動において、血中のCK濃度を運動前と比較し、運動後で有意に増加したと報告している。本研究では運動後のCKレベルの測定を実施していませんが、また先行研究と比較すると運動継続時間が4倍近く異なるが、本研究で実施した高強度間欠的運動は、ハイパワーと不完全回復状態で間欠的に反復する激運動であること、運動強度が79.1% $\dot{V}O_2\max$ であることから、筋損傷が引き起こされたことを推察する。このようなことから、酸化ストレスに対抗するために血清中の抗酸化能が亢進した可能性が考えられる。しかしながら、筋組織による抗酸化物質の漏出が生体の酸化還元(レドックス)バランスにとって有益であるかどうかは検討の余地がある。

先行研究においては、ROSの著しい増加は筋力低下や疲労につながる一方で、低レベルのROSは恒常性環境に重要であり、通常の生成過程に必要な(Reid et al., 1993; Better et al., 2004)と示している。Radakら(2005)は、適度な酸化ストレスによって骨格筋を前処理すると、酸化ストレスに対抗する生理学的機能にとって有効な効果があることを示しており、ROSの効果はホルメティック(低濃度では有効であり、高濃度では毒となる)であると報告している。また、最近では、酸化ストレスが引き起こす筋疲労や生体組織への酸化損傷を防ぐためにビタミンCやEなどの抗酸化サプリメントを摂取し、生体の酸化能を高めることは有益であると考えられている(Mastaloudis et al., 2004)が、ビタミンC摂取がミトコンドリア生成に必要な酵素の表出を妨げ、トレーニングによる持続的パフォーマンスの上昇を抑制したことを報告している(Gomez et al., 2005)。著者らの研究室においても、Fig.2に示した平均パワーの低下の程度(1セットから20セットにかけての低下率)と血清総酸化能との相関関係を検討したところ、各セットにおける平均パワーの低下が著しいものほど、血清総酸化能が高いことを確認している(未発表データ)。このような背景から、酸化システムの亢進は、生体内の酸化還元バランスを破綻させ、代謝機能や筋に悪影響を及ぼす可能性が推察される。さらには、病的状態である場合において、腎不全患者の O_2^- 消去活性は健常者と比較して有意に高く(原, 1995)、また、血液透析患者のSOD, CAT活性は健常人よりも高値を示し、透析によりその活性が低値を示すと報告している(Chauhan et al., 1982; 大和田ら, 1991)。よって、本研究における0hおよび1hでの $\cdot RO$ 消去能の増加も、生体機能のエラーを通知するものであり、病

的状態に近い程度の酸化ストレスに曝されていたことを推察する。これらのことから、ROS生成と抗酸化システムは、どちらも低濃度を維持することが生体機能に負担をかけることなく「最良」の体内環境を保つのかもしれない。しかしながら、酸化還元に関与するメカニズムは明らかにされていないことが多く、今後詳細な検討が必要である。

最後に、ESRを用いた血清総抗酸化能の測定法は、対象となるROSを限定することなく、正確に、簡易に評価できる非常に優れた方法である。また、高強度運動時の影響を明らかにできたことから、今後、測定対象となるROSの種類を増やし、健康の維持・増進を基礎として、運動や食生活に関わる幅広い分野への応用が期待できる。

ま と め

本研究は、大学で運動部に所属している男子大学生を対象に高強度間欠的運動を実施し、血清総抗酸化能に与える影響をESRを用いた新しい測定方法により検討を試みた。その結果、血清 O_2^- 消去能では高強度間欠的運動による経時的変化は見られなかったが、血清 $^{\cdot}RO$ 消去能は運動後に有意な高値を示し、また、Baselineにおいては、 $^{\cdot}RO$ 消去能は O_2^- 消去能と比較して有意に低値を示した。以上のことから、高強度間欠的運動時における血清総抗酸化能は、対象となるROSによって異なる消去能を示すことが明らかとなった。本研究の結果より、筋損傷による血中への抗酸化物質漏出が血清総抗酸化能の亢進に関与していると考えられるが、その亢進が酸化還元バランスにとって好ましいかどうかは今後検討が必要である。

参考文献

- Almar, M., Villa, J. G., Cuevas, M. J., Rodriguez-Marruyo, J. A., Avila, C. and Gonzalez-Gallego, J. (2002) Urinary levels of 8-hydroxydeoxyguanosine as a maker of oxidative damage in road cycling exercise. *Free. Radic. Res.*, 36:247-253.
- Bettors, J. L., Criswell, D.S., Shanely, R. A. (2004) Trolox attenuates mechanical ventilation-induced diaphragmatic dysfunction and proteolysis. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.*, 170:1179-1189.
- Chauhan, D. P., Gupta, P. H., Nampoothiri, M. P.N., Singhal, P. C., Chugh, K.S., and Nair, C.R. (1982) Determination of erythrocyte superoxide dismutase, catalase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, reduced glutathione and malonydialdehyde in uremia. *Clinica. Chimica. Acta.*, 12:153-159.
- Finaud, J., Lac, G., Filaire, E. (2006) Oxidative stress : relationship with exercise and training. *Sports. Med.*, 36:327-358.
- Gomez-Cabrera, M., Borrás, C., Pallardo, F. V., Sastre, J., Ji, L. L. and Vina, J. (2005) Decreasing xanthine oxidase-mediated oxidative stress prevents useful cellular adaptations to exercise in rats. *J. Physiol.*, 567:113-120.
- Grossard, C., Rannou-Bekono, F., Machefer, G., Chevanne, M., Vincent, S., Sergent, O., Cillard, J. and Gratas-Delamarche, A. (2003) Changes in blood lipid peroxidation markers and antioxidants after a single sprint anaerobic. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 89:14-20.
- 原直 (1995) 慢性腎不全における赤血球中のカタラーゼ活性に関する研究, 聖マリアンナ医科大学雑誌, 23:531-543.
- Jenifer, M. (2003) Effect of vitamin E and eccentric exercise on selected biomarkers of oxidative stress in young and elderly men. *Free. Rad. Bio. Med.*, 34:1575-1588.
- 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*, 11:61-67.
- 神林勲, 石村宣人, 中村寛成, 木本理可, 武田秀勝 (2005a) 大学ラグビー選手の間欠的ハイパワー発揮能力に及ぼすクレアチン経口摂取の効果. *北海道スポーツ医・科学雑誌*, 10:9-16.
- 神林勲, 石村宣人, 中村寛成, 木本理可, 内田英二, 武田秀勝, 藤井博匡 (2005b) 運動によるDNA酸化損傷と好中球スーパーオキシド生成能の関係. *北海道体育学研究*, 40:1-7.
- Kohri, S., Fujii, H., Oowada, S., Endoh, N., Sueishi, Y., Kusakabe, M., Shimmei, M., Kotake, Y. (2009) An oxygen radical absorbance Capacity-like assay that directly quantifies the antioxidant's scavenging capacity against AAPH-derived free radicals. *Analytical Biochemistry*, 386:167-171.
- Leewenburgh, C., Heinecke, J.W. (2001) Oxidative stress and antioxidants in exercise. *Curr. Med. Chem.*, 8:829-838.
- Mastaloudis, A., Jason, D. M., Dawn, W. H., Sridevi, D., Maret, G. T. (2004) Antioxidant supplementation prevents exercise-induced lipid peroxidation, but not inflammation, in ultramarathon runners. *Free. Rad. Bio. Med.*, 10:1329-1341.
- Nikolaidis, M. G., Athanasios, Z. J., Vassilis, P.,

- Ioannis, G. F., Yiannis, K., Dimitris, K. (2008) The effect of muscle-damaging exercise on blood and skeletal muscle oxidative stress. *Sports. Med.*, 38:579-606.
- 野口範子 (2003) 運動に関連する酸化ストレスと抗酸化作用. *日本運動生理学雑誌*, 10:1-8.
- 大野秀樹, 跡見順子, 伏木亨 (2000) 身体運動・栄養・健康生命科学 Q&A : 活性酸素と運動 (第2版). 杏林書院 : 東京, pp.12-15.
- 大野秀樹, 鈴木健二, 人見嘉哲, 木本記代子, 伊藤長栄, 宮澤伸子, 木崎節子 (2001) 運動とフリーラジカル. *体力科学*, 50:389-416.
- Ogonovszky, H., Sasvari, M., Dosek, A., Berkes, I., Kaneko, T., Tahara, S., Nakamoto, H., Goto, S. and Radak, Z. (2005) The effects of moderate, strenuous, and overtraining on oxidative stress markers and DNA repair in rat liver. *Can. J. Appl. Physiol.*, 30: 186-195.
- 大和田滋, 大湊政之, 深沢学, 安田隆, 杉山誠, 前波輝彦, 小澤定延, 石田尚志 (1991) ESR を応用したスーパーオキシドディスムターゼの測定法の検討. 腎とフリーラジカル研究会, 腎とフリーラジカル-活性酸素とその関連物質の測定法-. 東京医学社 : 東京, pp. 28-32.
- Pizza, F. X., Peterson, J. M., Bass, J. H. (2005) Neutrophils contribute to muscle injury and impair its resolution after lengthening contractions in mice. *J. Physiol.*, 562:899-913.
- Poulsen, H. E., Loft, S., Vistisen, K. (1996) Extreme exercise and oxidative DNA modification. *J. Sports. Sci.*, 14: 343-346.
- Reid, M.B., Khawli, F. A., Moody, M. R. (1993) Reactive oxygen in skeletal muscle, III : contractility of unfatigued muscle. *J. Appl. Physiol.*, 75:1081-1087.
- Radak, Z., Pucsek, 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. Sci.*, 66:1763-1767.
- Radak, Z., Chung, H. Y., and Goto, S. (2005) Exercise and hormesis: oxidative stress-related adaptation for successful aging. *Biogerontology*, 6:71-75.
- Ruiz, J. M. (2005) The effect of an antioxidant-supplemented beverage on exercise-induced oxidative stress : results from a placebo-controlled double-blind study in cyclists. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 95:543-549.
- 田辺解, 増田和実, 衣笠竜太, 菅原順, 鯉坂隆一, 松田光生, 河野一郎, 久野譜也 (2003) 中高年女性における血中の抗酸化能力および酸化還元バランスに対する異なるタイプの運動トレーニングの影響. *日本運動生理学雑誌*, 10:65-76.
- 吉川敏一 (1998) フリーラジカルの科学. 講談社サイエントイク:東京, pp.15-46.

〔平成21年6月25日受付〕
〔平成21年10月13日受理〕