

中強度有酸素運動における温度条件の差異が 運動誘発性酸化ストレスに与える影響

木本理可¹, 塚本未来², 東郷将成³, 舛谷夕貴⁴
内田英二⁵, 武田秀勝⁶, 神林 勲⁷

Effect of temperature during moderate aerobic exercise on exercise-induced oxidative stress

Rika Kimoto¹, Miku Tsukamoto², Masanari Togo³, Yuki Masuya⁴,
Eiji Uchida⁵, Hidekatsu Takeda⁶, Isao Kambayashi⁷

Abstract

The purpose of this study was to investigate the effect of hot and normal environmental temperatures on exercise-induced oxidative stress and antioxidant capacity associated with moderate aerobic exercise and recovery. Ten healthy men (age 21.0 ± 0.4yr) participated in the study. They completed 2 exercise sessions at 40% relative humidity in a warm (32-34°C) and a normal (20°C) environment in a randomized crossover fashion. The exercise regimen consisted of pedaling a cycle ergometer for 60 min at an intensity of 50% $\dot{V}O_2$ peak. Urine samples were collected before exercise (Pre) and 1.5 hours after exercise (1.5h) for analyzing 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) level in urine. Blood samples were collected Pre, immediately after exercise (0h) and 1.5h to analyze the alkoxyl radical ($\cdot RO$) scavenging ability in serum. Body surface and eardrum temperatures in the hot environment exercise were significantly higher than in the normal environment exercise. There was no significant difference in biomarkers and antioxidant capacity between before and after exercise in either exercise sessions. These results suggest that a hot environment does not have a significant effect on exercise-induced oxidative stress.

Key words : hot environment, urinary 8-OHdG level, antioxidant capacity, moderate constant load exercise

1. 旭川工業高等専門学校一般人文科
〒071-8142 旭川市春光台2-2-1-6
2. 東海大学国際文化学部
〒005-8601 札幌市南区南沢5-1-1-1
3. 酪農学園大学大学院酪農学研究科
〒069-8501 江別市文京台緑町582
4. 北海道教育大学大学院教育学研究科
〒002-8502 札幌市北区あいの里5-3-1-5
5. 大正大学人間学部
〒170-8470 東京都豊島区西巣鴨3-20-1
6. 北星学園大学社会福祉学部
〒004-8631 札幌市厚別区大谷地西2-3-1
7. 北海道教育大学札幌校
〒002-8502 札幌市北区あいの里5-3-1-5

著者連絡先 木本 理可
kimoto@asahikawa-nct.ac.jp

1. Humanities and Social Science Subjects, National
Institute of Technology, Asahikawa College
2-2-1-6 Shunko-dai Asahikawa 071-8142
2. School of International Culture Relations, Tokai
University
5-1-1-1 Minaminosawa Minami-ku Sapporo
005-8601
3. Graduate School of Dairy Science, Rakuno Gakuen
University
582 Midorimachi Bunkyo-dai Ebetsu 069-8501
4. Graduate School of Education, Hokkaido University
of Education
5-3-1-5 Ainosato Kita-ku Sapporo 002-8502
5. Faculty of Human Sciences, Taisho University
3-20-1 Nishi-sugamo Toshima-ku Tokyo 170-8470
6. School of Social Welfare, Hokusei Gakuen University
2-3-1 Oyachi Atsubetsu-ku Sapporo 004-8631
7. Hokkaido University of Education Sapporo
5-3-1-5 Ainosato Kita-ku Sapporo 002-8502

緒 言

近年、健康の維持・増進のために、積極的に運動を行う人が増加している。特に、中強度有酸素運動は、生活習慣病の予防・改善効果（佐藤ほか、2006）や脂質代謝量の増加（坂本ほか、1995）等が期待され、多くの機関や施設において実施されている。そのような中で、発汗促進や脂質代謝促進を期待して、ホットヨガなどのように暑熱環境下で行う運動が注目されるようになってきた。森本（2001）は、30℃以上の暑熱環境では、発汗による体温調節応答が起こり、発汗促進効果が期待できることを報告している。また、田中ほか（2008）は、一定負荷運動の実施前に41℃で10分間の半身浴を行うことによって、運動時の脂質代謝が促進されたことを報告している。以上のように、運動時の外的要因による暑熱曝露は、健康面において有益な影響を期待できる。一方で、深部体温の過度な上昇等により、熱中症のリスクが高まるなど、身体に負の影響を与える可能性も考えられる。その1つに、運動誘発性酸化ストレスの増加が挙げられる。

酸化ストレスとは、活性酸素種（Reactive oxygen species；ROS）による脂質やタンパク質、DNA等生体組織の酸化損傷のことである。その増加や蓄積が、生活習慣病をはじめとする多くの疾病や生理的な老化の促進につながると考えられている。運動時には、酸素摂取量が通常の10～15倍に達し、活動筋組織への酸素流量が安静時の約100倍に達する（Sen et al., 1994）ため、生体内のROSの産生量が増加する。同時に、エネルギーとして利用されたATPの中間代謝物であるヒポキサンチンやキサンチンにより、キサンチンオキシダーゼを介したROSの産生が増大する（Sutton et al., 1980）。その結果、運動時には酸化ストレス増大のリスクが高まることが知られている。これまでの報告では、運動誘発性酸化ストレスは、疲労困憊までの漸増負荷運動等の高強度運動では増加する（神林ほか、2004；Ogonovszky et al., 2005；Finaud et al., 2006）が、中強度有酸素運動では増加しない（Viguie et al., 1993；Tozzi et al., 2002；木本ほか、2010；長島、2011）という見解が多い。しかしながら、これらの研究の多くは常温環境下で行っているものである。

これまでに、暑熱曝露による酸化ストレスの変化について、いくつかの報告がある。Ohtsuka et al. (1994) は男性を25℃、39℃、42℃の湯に10分間浸からせたとこ、42℃で赤血球中のグルタチオンレベルの有意な減少と、脂質過酸化の有意な増加が認められたことを報告している。また、Huang et al. (2012) は水兵の7日間のボイラー室における作業により、酸化ストレス指標である尿中8-ヒドロキシ-2'-デオキシグアノシン（8-hydroxy-2'-deoxyguanosine；8-OHdG）レベルが有意に高くなったことを報告している。これらの報告は、

暑熱環境が酸化ストレスの増大や抗酸化能の阻害を誘因する可能性を示唆するものである。また、Flanagan et al. (1998) は、運動実施時の酸化損傷マーカーと深部体温との関係を調査し、高体温状態がROS生成の原因となることを報告している。しかしながら、暑熱環境下における運動実施が酸化ストレスに与える影響について検討した研究は、Kaldur et al. (2014) やKnez and Periard (2014) が比較的強度の高い運動について検討を行っているものの、未だ報告が少ないのが現状である。特に、中強度運動についてはごく少数の報告しか見当たらないが、McAnulty et al. (2005) はトレッドミルによる50% $\dot{V}O_2$ maxの運動を35℃で行い、運動後に脂質過酸化の指標で有意な増加を認めている。したがって、安全性が高く、健康の維持・増進に有益であるとされる中強度運動時においても、暑熱環境下であれば酸化ストレス増加の可能性は考慮する必要がある、より多様な指標を用いて詳細に検討していくことが、運動実施時のリスク軽減を考える上で重要である。

また、酸化ストレスに対抗する機能として、ヒトには抗酸化能が備わっている。齋藤ほか（2005）は、体温が38℃以上に達すると、抗酸化能の活性化によって運動誘発性酸化ストレスが抑制される可能性を示唆している。また、鈴木ほか（2007）は、体温上昇によって、抗酸化酵素の活性化が生じたことを報告しており、環境温度による体温上昇が抗酸化能活性化の要因となる可能性が考えられる。しかしながら、暑熱環境下における運動時の抗酸化能と酸化ストレスの変化について同時に検討した研究は例が少なく、その関係については一致した見解が得られていない。

そこで本研究は、ROS生成増大や抗酸化能亢進の可能性のある暑熱環境下における中強度運動の実施が、酸化ストレスの増大につながるかを明らかにすることを目的とし、被検者に常温環境下および暑熱環境下の2条件で60分間の中強度一定負荷運動を実施させ、運動前後の酸化ストレスレベルの変化を検討した。同時に、電子スピン共鳴装置（Electron spin resonance；ESR）を用いて、運動前後における抗酸化能の変化についても検討を行った。

方 法

1. 被検者

被検者は、運動部に所属する男子大学生10名（年齢21.0±0.4歳、身長174.5±2.2cm、体重70.1±3.1kg、BMI 22.9±0.7kg/m²）であった。なお、被検者は全員非喫煙者であった。実験に先立ち、ヘルシンキ宣言に基づいて、全員に本研究の趣旨及び安全性について十分な説明を行い、自主的な参加の同意を書面により得た。また、本研究は北海道教育大学研究倫理委員会の承認のもとに実施した。

2. 実験の概要

中強度一定負荷運動に先立ち、自転車エルゴメーター（COMBI社製，エアロバイク 75XL II）を用いた漸増負荷運動により，各被検者の最高酸素摂取量（peak oxygen uptake； $\dot{V}O_2$ peak）を測定した．運動負荷と酸素摂取量の関係から，50% $\dot{V}O_2$ peakに相当する負荷を算出した上で，カルボーネン法により算出した目標心拍数を考慮し，得られた値の75～80%に相当する負荷を用い，60分間の一定負荷自転車こぎ運動を環境温度20℃（Normal Ex）および32～34℃（Heat Ex）の2条件で実施した．また，暑熱環境が酸化ストレスに与える影響を検討するため，運動負荷を行わない安静時暑熱環境条件（Heat Rest）も設定した．湿度はどの条件においても40%程度になるよう調整した．なお，3回の測定は少なくとも1週間以上の間隔をあけて実施した．一定負荷運動開始前の安静時から運動終了30分後まで，自動呼気ガス分析装置（ミナト医科学社製，AE-300S）により呼気ガスおよび血圧を，スポーツ心拍計（POLAR社製，RS400™）により心拍数（Heart rate；HR）を連続的に測定した．採血は運動前（Pre），運動終了直後（0h）および運動終了1.5時間後（1.5h）に，採尿はPreおよび1.5hに実施した．本研究では，酸化ストレス指標として尿中8-OHdGレベルを，総抗酸化能の指標として血清アルコキシルラジカル（Alkoxy radical； $\cdot RO$ ）消去能を測定した．また，外注分析により，白血球数および血中尿酸値の測定を行った．なお，被検者には実験前日から終了まで，激しい運動や飲酒を制限し，実験前の2食は検者が準備した同一の食事を摂取させ，飲料は水のみとした．

3. 運動プロトコル

1) 漸増負荷運動

運動は，前述の自転車エルゴメーターを用いて，実験室において行った．被検者は，ストレッチ運動を20分間実施した後，自転車エルゴメーター上で足とペダルを固定し，呼気ガス分析用のガスマスク（King System社製，Inflatable Face Mask），血圧計およびスポーツ心拍計を装着した．その状態で4分間の安静状態を保持し，ウォーミングアップとして2分間，60wattsで60rpmのペダリング運動を行った．その後，60rpmを維持した状態で，毎分30watts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．なお，疲労困憊の判断はペダリング頻度が50rpmを下回った時点とした．

2) 中強度一定負荷運動

運動は，前述の自転車エルゴメーターを用いて，同一被検者に対してNormal ExおよびHeat Exの2つの環境条件下で行った．被検者は，運動開始前に採尿（Pre）を行い，衣服を着用しない状態で体重を測定した．その後，採血（Pre）を行い，各温度に設定された実験室内

でストレッチ運動を20分間実施した．漸増負荷運動と同様に，自転車エルゴメーター上でガスマスク，血圧計およびスポーツ心拍計を装着し，その状態で3分間の安静状態を保持した後，ウォーミングアップとして1分間，目標負荷の半分の負荷で60rpmを維持したペダリング運動を行った．その後，連続的に目標負荷に達するまで負荷を増加させ，60分間のペダリング運動を行った．運動終了直後に採血（0h）を行い，運動終了後，衣服を着用しない状態で体重を測定し，体重の減少量に相当する水分（市販のミネラルウォーター）を摂取させた．運動終了1.5時間後に採尿および採血（1.5h）を行い，実験終了とした．

4. 呼吸循環器機能の測定

運動中の酸素摂取量（Oxygen uptake； $\dot{V}O_2$ ），二酸化炭素摂取量（ CO_2 production； $\dot{V}CO_2$ ），換気量（Ventilation； $\dot{V}E$ ）および呼吸交換比率（Respiratory exchange ratio；RER）の測定は，前述の自動呼気ガス分析装置を用いて，安静時から運動終了30分後まで行った．なお，漸増負荷運動では呼気ガス採取法を，一定負荷運動ではbreath-by-breath法を用いた．breath-by-breath法では測定されたデータを8呼吸毎に移動平均し，さらに15秒毎に単純平均したものを分析に用いた．また，呼気ガス分析と同時に，付属の血圧計により血圧を3分毎に，前述のスポーツ心拍計によりHRを15秒毎に連続的に測定した．

5. 体表面温度，鼓膜温および主観的運動強度の測定

体表面温度の測定は，赤外線サーモグラフィ（NEC Avio赤外線テクノロジー社製，Thermo Shot F30 series）を使用し，胸部と大腿部前面を撮影した．撮影は，運動前の自転車エルゴメーター上で安静時と運動開始から運動終了30分後まで10分毎に行った．撮影された画像からその部位の最高温度を求めるために，レポート作成プログラム（日本アビオニクス販売社製，サーモトレーサ用NS92000）を用いて解析した．また，鼓膜温の測定は，耳式体温計（テルモ社製，テルモ耳式体温計M30）を使用し，体表面温度の測定時に加えて，運動終了50分後，70分後，90分後にも測定した．主観的運動強度（Rating of Perceived Exertion；RPE）は，鼓膜温測定と同時に実施した．

6. 採尿と採血

採尿はPreおよび1.5hの2度行った．採尿ではすべての尿を採取し，尿量を計測した後，分析用に分注した．採血は医師の指示を受けた看護師が実施し，Pre，0hおよび1.5hの3度，真空管（テルモ社製）を用いて肘静脈より15ml採取した．採取した血液10mlは，常温で1時間放置した後，3000rpm，4℃で10分間遠心分離を施し，血清の抽出に供した．残りの血液5mlは，外注分析に

より白血球数および血中尿酸値の測定に用いた。分注した尿および血清サンプルは分析時まで-80℃で冷凍保存した。

7. 尿中8-OHdGレベルの測定

凍結させた尿サンプルは、常温で融解した後、遠心分離機（久保田商事株式会社製，パーソナル冷却遠心機2700）を用い，2000 rpmで5分間遠心分離を行い，沈殿物を除いた上澄みを尿中8-OHdGレベルの分析に用いた。尿中8-OHdG濃度の分析は酵素結合免疫測定（Enzyme-linked immunosorbent assay；ELISA）法による測定キット（日本老化制御研究所製，New 8-OHdG Check）を用いて行った。本研究では尿中8-OHdGレベル（ng/kg/h）として，尿中8-OHdG濃度に尿量を乗じ，被検者の体重および前回排泄時からの経過時間で除したものをを用いた。なお，測定方法は神林ほか（2004）と同様の方法である。

8. 血清総抗酸化能の測定

血清・RO消去能の測定は，既報（Kohri et al., 2009）に若干の修正を加えて，ESR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（ラジカルリサーチ社製，RUVF-203SR）にて可視光を照射することにより・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，ROの信号を検出した（Serum signal）。なお，スピントラップ剤には，2-(5,5-Dimethyl-2-oxo-2λ5-[1,3,2] dioxaphosphinan-2-yl)-2-methyl-3,4-dihydro-2H-pyrrole-oxide（CYPMPO，ラジカルリサーチ社製）を用いた。

9. 統計処理

測定結果は，全て平均値±標準誤差で表した。Normal ExとHeat Exの2群間の差の検定には，対応のあるt検定を用い，各群における変数の経時的変化および3群間の差の検定には，対応のある二要因分散分析を用い，F値が有意であった場合は，適宜Bonferroni法にてpost-hoc多重比較を行った。危険率はすべて5%未満を有意とした。

結 果

1. 中強度有酸素運動時における呼吸循環器系指標と体重の変化

本研究における $\dot{V}O_2$ peakから評価した運動強度は，Normal Exで $51.8 \pm 1.0\%$ $\dot{V}O_2$ peak，Heat Exで $58.3 \pm 1.4\%$ $\dot{V}O_2$ peakであり，2条件間に有意な差が認められた（ $p < 0.01$ ）。2条件における運動時の呼吸循環器系指標の変化についてTable 1に示した。収縮期血圧，安静時および回復期の総酸素摂取量以外のすべての項目にお

いて，2条件間に有意な差が認められた。体重減少量は，Normal Exで 720.0 ± 70.8 g，Heat Exで 1305.0 ± 68.1 gであり，有意な差が認められた（ $p < 0.01$ ）。体重減少率はNormal Exで $1.0 \pm 0.0\%$ ，Heat Exで $1.8 \pm 0.1\%$ であったことから，両条件とも被検者は脱水症状を引き起こしていなかったと判断した。

2. 運動中および運動後における体表面温度と鼓膜温およびRPEの変化

2つの運動条件における体表面温度の変化についてFig. 1に示した。胸部では運動開始10分後，20分後および運動終了20分後，30分後以外の6点，大腿部前面では運動終了10分後，20分後，30分後以外の7点でNormal Exに比較してHeat Exで有意な高値が認められた。また，胸部ではNormal Exの安静時，運動開始10分後および40分後と比較して運動終了30分後で有意な高値が認められた（ $p < 0.05$ ）。さらに，大腿部前面ではNormal Exの安静時と比較して運動開始20分後および30分後で有意な高値（ $p < 0.05$ ）が，運動終了10分後，20分後および30分後において他の7点と比較して有意な高値（ $p < 0.01$ ）が認められ，Heat Exの安静時と比較して運動終了10分後および20分後で有意な高値（ $p < 0.05$ ）が認められた。鼓膜温の変化についてはTable 2に示した。鼓膜温は，Normal Exに比較してHeat Exではいずれの計測時においても有意な高値が，Heat Restでは開始70分後以降に有意な高値が認められた。Normal Exにおいて，安静時および運動中と比較して運動終了後で有意な低値が，Heat Exにおいて，安静時および運動終了後と比較して運動中で有意な高値が認められた。

また，各条件におけるRPEの変化についてTable 3に示した。Heat Restに比較して，Normal Exでは運動中において，Heat Exでは運動中および運動終了後30分後までにおいて有意な高値を認めたが，運動を負荷した

Table 1 Cardio-respiratory data during constant load exercise.

Variables	Normal Ex	Heat Ex	Significance
$\dot{V}O_2$ (ml/kg/min)	28.2±0.6	31.9±1.3	p<0.01
$\dot{V}CO_2$ (ml/kg/min)	27.1±0.5	29.1±0.7	p<0.01
$\dot{V}E$ (l/min)	52.9±2.2	56.1±2.4	p<0.05
RER	0.96±0.01	0.94±0.01	p<0.05
HR (bpm)	144.8±2.6	152.2±2.2	p<0.05
BP-sys (mmHg)	172.1±7.6	165.8±6.1	N.S.
BP-dia (mmHg)	75.5±5.5	68.4±3.7	p<0.05
ΣVO_2 rest (ml/kg)	14.9±0.3	18.1±0.7	N.S.
ΣVO_2 ex. (ml/kg)	1694.1±38.7	1914.8±77.2	p<0.01
ΣVO_2 rec. (ml/kg)	172.8±3.8	203.2±8.5	N.S.

All variables are presented mean±SE. Cardio-respiratory data represent mean values from start to end and sum of oxygen uptake for 30 minutes after exercise, respectively.

$\dot{V}O_2$; oxygen uptake, $\dot{V}CO_2$; CO_2 production, $\dot{V}E$; ventilation, RER; respiratory exchange ratio, HR; heart rate, BP-sys; systolic blood pressure, BP-dia; diastolic blood pressure.

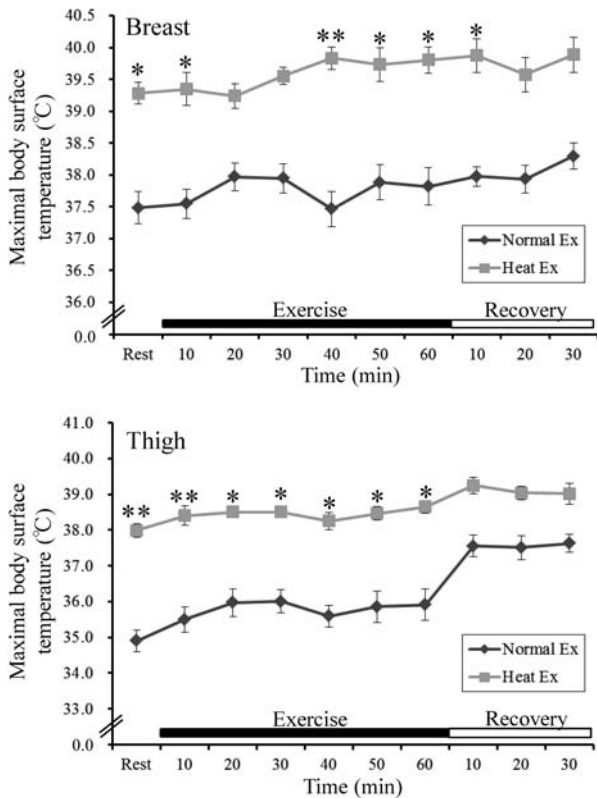


Fig.1 Changes of maximal body surface temperature in the breast (top) and the anterior surface of thigh (bottom) during and after each exercise.
* : p<0.05 (vs Normal Ex), ** : p<0.01 (vs Normal Ex)

Table 2 Change of Eardrum temperature during rest, exercise and recovery in Normal Ex, Heat Ex and Heat Rest.

	Normal Ex	Heat Ex	Heat Rest
Rest	35.7±0.2 ##	36.9±0.1 *	36.2±0.1
Exercise (10~30min)	35.9±0.2 ##	37.4±0.1 ** §#	36.3±0.1
Exercise (40~60min)	35.9±0.2 ##	37.8±0.1 ** §§##	36.4±0.1
Recovery (10~30min)	35.1±0.2	37.1±0.1 **	36.4±0.1 **
Recovery (50~90min)	34.7±0.2	36.5±0.1 **	36.2±0.1 **

All data are presented mean ± SE. * : p<0.05 (vs Normal Ex), ** : p<0.01 (vs Normal Ex), § : p<0.05 (vs Heat Rest), §§ : p<0.01 (vs Heat Rest), # : p<0.05 (vs Recovery), ## : p<0.01 (vs Recovery)

Table 3 Change of RPE during rest, exercise and recovery in Normal Ex, Heat Ex and Heat Rest.

	NormalEx	Heat Ex	Heat Rest
Rest	6.8±0.5	6.5±0.3	6.0±0.0
Exercise (10~30min)	10.8±0.4 ** §§	11.2±0.4 ** §§	6.0±0.0
Exercise (40~60min)	13.3±0.5 ** §§##	14.1±0.3 ** §§##	6.0±0.0
Recovery (10~30min)	7.5±0.5	8.3±0.5 ** §	6.0±0.0
Recovery (50~90min)	6.2±0.1	6.2±0.2	6.0±0.0

All data are presented mean ± SE. * : p<0.05 (vs Heat Rest), ** : p<0.01 (vs Heat Rest), § : p<0.05 (vs Rest), §§ : p<0.01 (vs Rest), # : p<0.05 (vs Exercise 10~30 min), ## : p<0.01 (vs Exercise 10~30 min)

2条件間では有意な差は認められなかった。

3. 各条件における白血球数および血中尿酸値の変化

各条件における白血球数および血中尿酸値の変化について Table 4 に示した。白血球数は、Normal Ex および Heat Ex において、Pre および 0h と比較して 1.5h で有意な増加を示したが、Heat Rest においては有意な変化は認められなかった。また、1.5h において、Normal Ex および Heat Ex で Heat Rest に比較して有意な高値が認められた。血中尿酸値は、Normal Ex および Heat Ex において、Pre および 1.5h と比較して 0h で有意な高値を示し、Heat Rest において、Pre および 0h と比較して 1.5h で有意な低値を示した。各条件間には有意な差は認められなかった。

Normal Ex および Heat Ex の 0h は、発汗による血液濃縮の可能性が考えられるため、ヘマトクリット値を用いて補正值を算出した。その結果、血中尿酸値の補正值 (Fig. 2) では Normal Ex において、Pre と 0h 間に認められていた有意差が消失した。

4. 各条件における尿中8-OHdG レベルおよび血清・RO 消去能の変化

各条件における尿中8-OHdG レベルおよび血清・RO 消去能の変化について Table 4 に示した。両指標とも、いずれの条件においても、有意な変化は認められなかった。また、Pre を 1 とした相対値として分析を加えても、両指標には有意な変化は認められなかった。

考 察

本研究では、健康な男子大学生 10 名を対象に、50% $\dot{V}O_2$ peak に相当する負荷で、60分間の一定負荷運動を常温環境下 (20°C) と暑熱環境下 (32~34°C) の 2条件で実施させ、温度環境の違いが運動誘発性酸化ストレスおよび抗酸化能に与える影響について検討した。その結果、尿中8-OHdG レベルで評価した酸化ストレス指標および血清・RO 消去能で評価した総抗酸化能には、2条件間に有意差は認められず、両条件ともに運動前後で有意な変化は認められなかった (Table 4)。これらのことから、60分間の中強度有酸素運動を行う場合、32°C 程度の暑熱環境下で実施したとしても、DNA 酸化損傷を伴う運動誘発性酸化ストレスが高まる危険性は低いことが明らかとなった。

暑熱環境下では、著しい体温の上昇や発汗の増大をもたらすため、活動筋を含めた生体への負担は高くなる。本研究においても、2条件の運動負荷を物理的に同等にしたにもかかわらず、Heat Ex における % $\dot{V}O_2$ peak や運動中の総酸素摂取量は Normal Ex と比較して有意に高い値であった (Table 1)。Cadenas and Davies (2000) は、生理的条件下において利用される酸素の 1~2%

Table 4 Change of biochemical markers, oxidative stress and antioxidant markers before and after constant load exercise.

Variables		Pre	0 h	1.5h
Blood leukocyte count (10 ³ /μl)	Normal Ex	6.1±0.4	8.0±0.5	11.2±0.8***§§
	Heat Ex	5.9±0.5	7.9±0.7	9.5±0.7***##
	Heat Rest	5.9±0.7	5.6±0.7	6.2±0.7
Blood uric acid level (mg/dl)	Normal Ex	5.9±0.4	6.2±0.4**	5.8±0.3§§
	Heat Ex	5.9±0.2	6.5±0.3**	6.0±0.3§§
	Heat Rest	6.1±0.3	6.0±0.3	5.8±0.3**§§
Urinary 8-OHdG level (ng/kg/h)	Normal Ex	8.1±1.9	—	9.7±1.4
	Heat Ex	7.8±1.1	—	11.3±2.4
	Heat Rest	8.9±1.4	—	8.3±0.8
Serum RO scavenging capacity (mmol/ml Trolox equivalen)	Normal Ex	1.9±0.3	2.0±0.2	2.1±0.8
	Heat Ex	1.9±0.2	2.3±0.4	1.9±0.2
	Heat Rest	1.7±0.2	2.0±0.3	1.9±0.4

All data are presented mean ± SE.

***: p<0.01 (vs Pre), §§: p<0.01 (vs 0 h), ##: p<0.01 (vs Heat Rest)

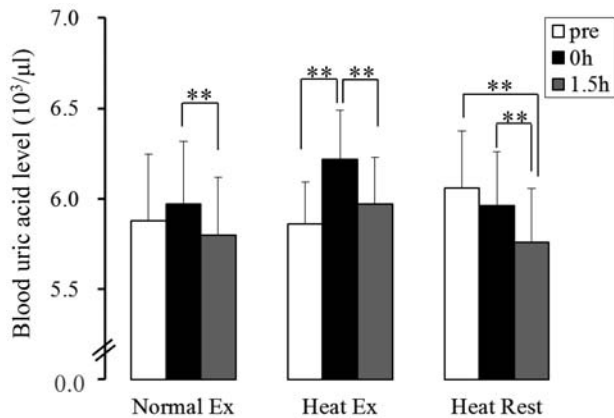


Fig.2 Change of blood uric acid level before and after exercise. ** : p<0.01

はスーパーオキシドになることを報告している。スーパーオキシドは他のROSの前駆体であるため、酸素摂取量が増大し、スーパーオキシド生成が増大すると他のROS生成も増加する。運動時には、酸素摂取量が通常の10～15倍に達し、活動筋組織への酸素流量が安静時の約100倍に達する (Sen et al., 1994) ため、活動筋ではROSが生成され、蛋白質や脂質、DNAなどと反応することが知られている。したがって、Heat Exにおいて生体内ではROS生成が増大していたと考えられるが、本研究で用いた酸化ストレスレベルに有意な増加は認められなかった。

このような結果が認められた理由について、活動筋における抗酸化能の働きが挙げられる。中強度有酸素運動では、有酸素性エネルギー供給機構を用いてATPを産生しており、このエネルギーを産生している電子伝達系では、ミトコンドリアの呼吸鎖内においてスーパーオキシドや過酸化水素などのROSが生成される。Heat Exでは酸素摂取量の増大が生じており、電子伝達系においてもROS生成が増大していたことが予想されるが、細

胞質や細胞膜上に存在する抗酸化酵素や抗酸化物質の働きにより増大したROSが消去され、酸化ストレスレベルは有意な変化を示さなかった可能性がある。

電子伝達系以外にも、運動時におけるROSの主な発生源となる機構がある。NADPHオキシダーゼ系は、骨格筋に損傷が生じた場合、炎症部位に好中球などの炎症性細胞の浸潤が生じることで、ROSを産生する (増田と田辺, 2003)。本研究では、50% $\dot{V}O_2$ peak程度の中強度有酸素運動を用いたことから、運動後に筋損傷が起こっていたとは考えにくい。また、白血球数は、Normal ExおよびHeat Exにおいて、Preおよび0hと比較して1.5hで有意な増加を示したが、2条件間では有意な差は認められなかった (Table 4)。白血球は運動時間および強度に比例して増加し、より激しい運動で血中への好中球の動員が増大することが報告されている (McCarthy and Dale, 1988)。本研究では、Heat ExはNormal Exと比較して% $\dot{V}O_2$ peakが有意に高かったことから、より多くの白血球増加が認められることが予想された。しかしながら、2条件間に有意な差は認められず、好中球の動員によってROS生成が高まりやすい状況にあったとも考えられない。また、運動時には筋組織の血管抵抗の減少や体温上昇に伴う血流の増大による血液の貯留が生じ、代償的に消化器や腎臓などでは血液量の低下を生じることが知られている (江口ほか, 2009)。運動後はこの血流の改善により虚血・再灌流状態が生じ、ヒポキサンチン・キサンチンオキシダーゼ系によりROSが生成される。しかしながら、この系についても高強度運動時に影響が大きくなることが知られており、本研究ではこれらの機構が関与した可能性は少なく、ROS生成の増大は電子伝達系のみを抑えられていたと考えられる。

一方で、Heat ExではNormal Exと比較して、体表面温度および鼓膜温が有意に高く (Fig. 1, Table 2)、血中尿酸値もPreと比較して0hに有意に増加する (Fig. 2) など、身体への高いストレス状態が観察された。Flanagan et al. (1998) は、運動実施時の酸化損傷マーカーと深部体温との関係を調査し、高体温状態はROS生成の原因となることを認めている。また、McAnulty et al. (2005) は、運動による体温上昇は酸化ストレスを増加させることを報告している。本研究のHeat Exにおける高体温状態は、酸化ストレス増大のリスクを高める可能性が考えられるが、同時に抗酸化能の亢進を導いた可能性がある。鈴木ほか (2007) は、65% $\dot{V}O_2$ peakで30分間のペダリング運動を室温35℃で実施したところ、食道温38℃以上で抗酸化酵素活性増加の可能性を報告している。齋藤ほか (2005) は、最大心拍数の60～70%の一定負荷運動を環境温度25℃、35℃、0℃～5℃の3条件で実施したところ、深部体温38℃以上の上昇は、抗酸化酵素の活性を高め、生体内のDNA酸化損傷の軽減およびDNA修復プロセスを活性化させる可能性があることを報告している。本研究で用いた鼓膜温は、体温調節

中枢である視床下部に近く、体温の変化を反映しているため、深部体温の指標として用いられている。Heat Exにおける運動中の鼓膜温は、38℃前後まで上昇した (Table 2)。したがって、Heat Exにおいて抗酸化酵素が活性化した可能性が考えられるが、本研究では運動前後の血清・RO消去能には変化が認められず、Normal Exとも有意な差は認められなかった (Table 4)。血清・RO消去能は、血清中の様々な抗酸化酵素および抗酸化物質の影響を総合的に反映しており、個々の酵素や物質の変動は検討できない。そのため、その詳細については今後のさらなる検討が必要である。また、尿酸はキサンチンオキシダーゼ (XO) によって合成されるプリン代謝の最終生成物であり、この酵素は肝臓、脂肪細胞や血管構成細胞など様々な細胞に分布し、生体で生み出されるROSの主要な発生源のひとつである。そのため、尿酸値の増大はROSの過剰生成と関連があると言われている。一方で、尿酸は血中においてビタミンCに匹敵する強力な抗酸化作用を有していることが知られており (益崎ほか, 2013)、疲労困憊までの自転車こぎ運動において体内尿酸量と血漿および尿中チオバルビツール酸反応物 (thiobarbituric acid reactive substances; TBARS) 値に関連があることが報告されている (北ほか, 1999)。Heat Exにおいて、血中尿酸値がPreと比較して0hで有意に増加し、1.5hにはPreの値にほぼ戻る動きが認められた。 (Table 4, Fig. 2) この変化は、尿酸が生体内で抗酸化物質として働き、増加したROS生成を相殺する一因となった可能性を示している。

暑熱環境が各指標に与える影響を検討するために設定したHeat Rest条件においても、酸化ストレス指標および総抗酸化能には有意な変化が認められなかった (Table 4)。先行研究では、暑熱環境自体がROS生成の増大や酸化ストレスレベルの増加を導くとの報告 (Ohtsuka et al., 1994; Huang et al., 2012) があるが、本研究における暑熱環境設定 (32℃~34℃, 湿度40%前後) では、その危険性が低いことが明らかとなった。

本研究において、運動中のRERに注目すると、Heat ExではNormal Exと比較して有意に低い値を示し (Table 1)、より脂質の代謝が高まっていたことが示唆される。したがって、暑熱環境下での運動は脂質がよりよく燃焼され、運動誘発性酸化ストレスが高まる危険性は低いという点で、健康維持・増進や適性体重の維持を目的とする運動者に対し、効果的な運動環境と言える。しかしながら、常温環境下と比較して多量の発汗が予想されるため、実施するにはこまめな水分補給等の注意も必要である。

総 括

本研究は、健康な男子大学生10名を対象に、50% $\dot{V}O_2$ peakに相当する負荷で、60分間の一定負荷運動を常温

環境下 (20℃) と暑熱環境下 (32~34℃) の2条件で実施させ、運動前、中、後の各指標の変化から、温度環境の違いが運動誘発性酸化ストレスおよび抗酸化能に与える影響について検討した。結果は以下の通りである。

1. Heat Exでは、Normal Exと比較して、% $\dot{V}O_2$ peakや運動中の総酸素摂取量、体表面温度および鼓膜温が有意に高く、血中尿酸値の相対値変化がより大きく増加するなど、身体への高いストレス状態が観察された。
2. 運動前後の尿中8-OHdGレベルおよび血清・RO消去能は、両条件ともに有意な変化は認められず、2条件間に有意差は認められなかった。
3. 運動中のRERは、Heat ExではNormal Exと比較して有意に低い値を示した。

以上のことから、暑熱環境下における中強度有酸素運動は、常温環境下に比較して身体へのストレスレベルが高い可能性があるが、DNA酸化損傷を伴う運動誘発性酸化ストレスが高まる危険性は低いことが明らかとなった。RERの結果から、暑熱環境下では脂質代謝の高まりが期待できるため、安全面に留意して実施することで、健康の維持・増進に効果的な運動環境であることが示唆された。

文 献

- Cadenas, E. and Davies, A. (2000) Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free. Radic. Biol. Med.*, 29 : 222-230.
- 江口裕伸・藤原範子・大河原知水・鈴木敬一郎・谷口直之 (2009) 酸化ストレスと健康. *生物試料分析*, 32 : 247-256.
- Finaud, J., Lac, G., and Filaire, E. (2006) Oxidative stress : relationship with exercise and training. *Sports. Med.*, 36 : 327-358.
- Flanagan, S. W., Moseley, P. L., and Buettner, G. R. (1998) Increased flux of free radicals in cells subjected to hyperthermia : detection by electron paramagnetic resonance spin trapping. *FEBS Lett.*, 431 : 285-286.
- Huang, Y.K., Lin, C.W., Chang, C.C., Chen, P.F., Wang, C.J., Hsueh, Y.M., and Chiang, H.C. (2012) Heat acclimation decreased oxidative DNA damage resulting from exposure to high heat in an occupational setting. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 112 (12) : 4119-4126.
- Kaldur, T., Kals, J., Oopik, V., Zilmer, M., Zilmer, K., Eha, J., and Unt, E. (2014) Effects of heat acclimation on changes in oxidative stress and inflammation caused by endurance capacity test in the heat. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2014 : 107-137.

- 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.
- 木本理可・神林勲・塚本未来・内田英二・東郷将成・武田秀勝 (2010) 一時的なビタミンC経口摂取が中高年者における中強度有酸素運動後の酸化還元状態に与える影響. 北海道体育学研究, 45 : 11-18.
- Knez, W.L. and Periard, J.P. (2014) The impact of match-play tennis in a hot environment on indirect markers of oxidative stress and antioxidant status. *Br. J. Sports. Med.*, 48 : 59-63.
- Kohri, S., Fujii, H., Oowada, S., Endoh, N., Sueishi, Y., Kusakabe, M., Shimmei, M., and Kotake, Y. (2009) An oxygen radical absorbance Capacity-like assay that directly quantifies the antioxidant's scavenging capacity against AAPH-derived free radicals. *Anal. Biochem.*, 386 : 167-171.
- 北加代子・三上俊夫・曲剛健・田崎洋佑・伊藤朗 (1999) 激運動時における尿酸の抗酸化作用とアラントインの生成について. 体力科学, 48 (1) : 187-199.
- 増田和実・田辺解 (2003) 高齢者の運動と活性酸素. 体力科学, 52 : 73-82.
- 益崎裕章・中山良朗・玉城泰太郎 (2013) 尿酸とメタボリックシンドローム. 成人病と生活習慣病, 43 (8) : 994-1000.
- McAnulty, S. R., McAnulty, L., Pascoe, D. D., Gropper, S. S., Keith, R. E., Morrow, J. D., and Gladden, L. B. (2005) Hyperthermia increases exercise-induced oxidative stress. *Int. J. Sports. Med.*, 26 : 188-192.
- McCarthy, D. A. and Dale, M. M. (1988) The leucocytosis of exercise. A review and model. *Sports Med.*, 6 : 333-363.
- 森本武利 (2001) ヒトの高温適応. 日本生気象学会雑誌, 38 : 13-18.
- 長島未央子 (2011) 長時間自転車運動が鍛錬者の酸化ストレス度及び血中ビタミン濃度におよぼす影響. 体力科学, 60 (3) : 279-286.
- 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.
- Ohtsuka, Y., Yabunaka, N., Fujisawa, H., Watanabe, I., and Agishi, Y. (1994) Effect of thermal stress on glutathione metabolism in human erythrocytes. *Eur. J. Physiol. Occup. Physiol.*, 68 (1) : 87-91.
- 齋藤恭世・田中英登・原川早織・須田和裕 (2005) 生体内DNA酸化的損傷 (尿中8-OHdG排泄量) におよぼす一過性運動負荷時における環境温度の影響. 日本生理学雑誌, 12 : 85-93.
- 坂本静男・平野清孝・村永信吾・鳥羽泰光 (1995) 最大脂質燃焼量の運動処方および運動の効果判定への応用に関する検討. 日本臨床スポーツ医学会誌, 3 (1) : 57-62.
- 佐藤誠也・前澤善朗・横手幸太郎・齋藤康 (2006) メタボリックシンドローム治療. 日本脈管学会機関誌, 46 : 475-480.
- Sen, C.K., Rankinen, T., Väisänen, S., and Rauramaa, R. (1994) Oxidative stress after human exercise : effect of N-acetylcysteine supplementation. *J. Appl. Physiol.* 76 (6) : 2570-2577.
- Sutton, J.R., Toews, C.J., Ward, G.R., and Fox, I.H. (1980) Purine metabolism during strenuous muscular exercise in man. *Metab. Clin. Exp.*, 29 : 254-260.
- 鈴木崇士・古川貴仁・宮澤太機・今井大喜・河端隆志・藤本繁夫・宮側敏明 (2007) 暑熱運動時体温と酸化ストレスおよび抗酸化力の関係. 体力科学, 56 : 724.
- 田中裕子・山田純生・中島将宏・神谷訓康・小林聖典・河野祐治・作井大介・上坂建太・清水優子 (2008) 効率的な脂肪代謝を目的とした温熱刺激と運動の併用効果に関する研究. 理学療法学, 35 : 538.
- Tozzi-Ciancarelli, M.G., Penco, M., and Di Massimo, C. (2002) Influence of acute exercise on human platelet responsiveness : possible involvement of exercise-induced oxidative stress. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 86 (3) : 266-272.
- Viguie, C.A., Frei, B., Shigenaga, M.K., Ames, B.N., Packer, L., and Brooks, G.A. (1993) Antioxidant status and indexes of oxidative stress during consecutive days of exercise. *J. Appl. Physiol.* 75 (2) : 566-572.

〔平成27年4月13日 受付〕
〔平成27年8月14日 受理〕