

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

	大阪学院大学	角 田 聡
(共同研究者)	大阪市立大学	田 中 喜代次
	同	喜多尾 浩 代
	同	渡 辺 一 志
	大阪府立 看護短期大学	中 塘 二三生
	大阪体育大学	増 原 光 彦

Effects of Maximal and Prolonged Submaximal Exercises on Serum Lipid Peroxides

by

Satoshi Sumida

Osaka Gakuin University

Kiyoji Tanaka, Hiroyo Kitao and Hitoshi Watanabe

Osaka City University

Fumio Nakadomo

Osaka Prefectural College of Nursing

Mitsuhiko Masuhara

Osaka College of Physical Education

ABSTRACT

Controversies exist as to the magnitude and direction of changes in serum lipid peroxides associated with exercise. For this reason, this study investigates the effects of short-term exhaustive exercise and moderate prolonged exercise on lipid peroxidation in a variety of subjects. In the exhaustive test a work rate was increased 15~22.5W every minute until the termination of exercise, while a work rate corresponding to anaerobic threshold was maintained for 1 or 2 hours in the prolonged test. Serum lipid peroxides remained essentially unchanged in obese women and male

distance runners following one-hour exercise, and tended to decrease on a 2-hour run test in which other male distance runners were employed. However, significant increase in serum lipid peroxides was observed for both trained and untrained men immediately after the exhaustive exercise. One hour afterward, the value was at resting level. These results suggest that lipid peroxidation is accelerated in short-term exhaustive exercise where profound muscle hypoxia occurs. O_2^- produced by xanthine oxidase in uric acid metabolism may facilitate lipid peroxidation during exercise of high intensity. On the other hand, lipid peroxidation seems to be inhibited in an almost entirely aerobic condition.

要 旨

運動に伴う血清過酸化脂質の変動については、一致した見解が得られていない。そこで本研究は、異なる被検者の短時間の疲労困憊運動と最大下長時間運動が脂質過酸化に及ぼす影響について検討した。

疲労困憊運動では毎分15~22.5Wずつ負荷を増加し、長時間運動ではATに相当する強度で1または2時間実施した。肥満女性と長距離選手の1時間運動では、血清過酸化脂質はとくに変化しなかった。また、他の長距離選手の2時間走中には安静値に比べて低下傾向を示した。

しかし、疲労困憊運動の血清過酸化脂質は運動直後で有意に増加し、運動終了1時間後には安静値にもどった。これらの結果より、組織に低酸素状態を伴うような短時間の疲労困憊運動では、脂質過酸化が高進することが示唆される。また、激運動中の脂質過酸化の高進には、尿酸代謝系のキサンチンオキシダーゼの働きによって生成される O_2^- も関与しているものと推察される。一方、酸素の供給が十分なされる運動では、脂質過酸化は抑制されるかもしれない。

緒 言

近年、生体内における過酸化脂質の生成につい

て関心が高まり、とくにこれは老化、組織の細胞障害など健康との関連から注目されている。過酸化脂質は主に細胞膜、細胞下膜で活性酸素やフリーラジカルなどの作用により生成され、生成された過酸化脂質は細胞膜を損傷したり、細胞機能を低下させることが知られている²⁰⁾。

活性酸素やフリーラジカルの生成は、運動によって高進する⁴⁾という報告もあり、その前提に立てば運動と過酸化脂質の生成にある種の関連性が示唆される。Dillardら⁵⁾は50% $\dot{V}O_2\max$ 強度による1時間の自転車駆動で、過酸化脂質生成の指標とされる呼気中のペンタン濃度に増加傾向を認めている。また、堤ら²¹⁾も90rpmの回転速度による自転車駆動の疲労困憊時に、血漿過酸化脂質の増加を報告している。しかし、最大運動後に血漿過酸化脂質が増加しなかった報告もみられる²²⁾。

このように、運動強度や時間と過酸化脂質の関係には、明らかにされていない部分も多く、運動の面から健康を考える上で重要な課題の一つであると思われる。

そこで本研究は、運動と過酸化脂質の関係を解明する資料を得るために、最大運動と最大下の長時間運動における血清過酸化脂質の変動を検討した。

方 法

実験 1 : 被検者は大学の運動部に所属する18~24歳の男性鍛練者11名と, 日常定期的に運動を実施していない19~22歳の男性非鍛練者10名である。運動負荷方法はモナーク製自転車エルゴメーターを用い, 1分間に60回転(60rpm)で0Wのウォーミングアップを4分間行った後, 疲労困憊にいたるまで毎分15Wずつ負荷を漸増する方法を採用した。

実験 2 : 被検者は18~20歳の理想体重に近い男性非鍛練者8名と, 疾病を有しない18~21歳の理想体重より約20%少ない瘦身の男性非鍛練者8名である。実験2ではモナーク製自転車エルゴメーターを用い, 60rpmで60Wのウォーミングアップを3分間行った後, 60Wから疲労困憊にいたるまで毎分15Wずつ負荷を漸増する方法を用いた。

実験 3 : 被検者は19~28歳の男性非鍛練者7名である。運動負荷方法はモナーク製自転車エルゴメーターを用い, 90rpmで90Wのウォーミングアップを3分間行った後, 135Wから疲労困憊にいたるまで毎分22.5Wずつ負荷を漸増する方法とした。

実験 4 : 被検者は19~21歳の大学陸上競技部に所属する男性長距離選手7名である。運動負荷にはトレッドミル走を用いた。運動の内容は, 各被

検者のAnaerobic Threshold (AT) に相当する走速度での1時間走とした。なお, 各選手のAT出現時の走速度は, 150~220m/minの範囲であった。

実験 5 : 被検者は37~48歳の日常定期的に運動を実施していない女性肥満者7名である。

ここではモナーク製自転車エルゴメーターを用い, 各被検者のATに相当する負荷(30, 45, 60, 75, 90Wのいずれかによる固定負荷, 60rpm)での1時間駆動を行わせた。

実験 6 : 被検者は18~26歳の男性長距離選手7名である。運動負荷方法は各被検者のATに相当する走速度(平均240m/min)による2時間のロードラングとした。

各実験の被検者の身体特性は表1に示したとおりである。

採血は, 実験1が安静時, 運動終了直後, 運動終了後60, 180分に, 実験2, 3が安静時, 運動終了直後, 運動終了後30, 60分に, 実験4, 5が安静時と運動終了直後に, 実験6が安静時, 運動中10, 65分, 運動終了直後にそれぞれ行った。血液は採血後10°Cの冷蔵庫に20~30分間放置し, 遠心分離にて血清を分離した。分離された血清は, -20°C~-30°Cで凍結保存し測定に供

表1 Physical characteristics of the subjects

Experiment	Subject	Sex	Age (yr)	Height (cm)	Weight (kg)	$\dot{V}O_2\text{max}$ (ml/kg/min)
1	trained n=11	male	20.8±1.8	167.1±4.7	57.3±4.9	55.7±6.0
1	untrained n=10	male	19.8±0.9	170.9±5.1	60.9±6.3	41.5±5.3
2	untrained n=8	male	19.9±0.7	174.1±3.8	64.3±6.4	—
2	untrained n=8 (lean)	male	19.6±1.4	173.0±6.4	50.5±5.2	—
3	untrained n=7	male	21.7±2.8	177.3±3.5	66.1±6.7	—
4	trained n=7	male	19.6±0.7	170.7±3.3	55.6±2.9	62.7±4.3
5	untrained n=7	female	41.7±3.5	154.8±4.1	65.6±3.8	26.8±3.7
6	trained n=7	male	22.2±2.8	169.0±6.2	56.1±2.1	69.6±5.6

Values are means ± standard deviation.

した。血清過酸化脂質は、Hb-MB法¹⁵⁾(実験1~3)とTBA法²⁵⁾(実験4~6)により測定した。また、実験1~3では血清尿酸をウリカーゼ・ペルオキシダーゼ法により測定した。

結 果

図1は、実験1の鍛練者と非鍛練者の血清過酸化脂質の変動を示したものである。鍛練者と非鍛練者の間には、すべて有意な差は認められなかったが、鍛練者の方が非鍛練者より低値を示す傾向にあった。運動前の安静値と比較して、鍛練者、非鍛練者とも運動直後に有意な増加を示した。鍛練者は安静値の20.5%、非鍛練者は13.9%の増加であった。運動終了後60分には両者とも安静レベルまで回復しており、180分経過時でもほぼ同様の値を示した。

実験2の非鍛練者と痩身非鍛練者の血清過酸化脂質の変動を図2に示した。非鍛練者と痩身非鍛練者の変動は類似しており、両者の間には有意な差は認められなかった。非鍛練者は運動直後に有意な増加を示したが、痩身非鍛練者は増加傾向を

示すにとどまった。非鍛練者の安静値に対する増加率は11.8%であった。運動終了後60分には両者とも安静値より低値を示した。

実験3の非鍛練者による90rpmの自転車駆動時の血清過酸化脂質変動を図3に示した。安静値に対し運動直後には11.3%の有意な増加が、また運動終了後30分においても9.3%の有意な増加が認められた。運動終了後60分では有意な差は認められなかったが、安静値よりも高値であった。

図4は、実験4、5の血清過酸化脂質の変動を示したものである。ATに相当する運動強度で、1時間のトレッドミル走(実験4)と自転車駆動(実験5)を負荷した結果、いずれの実験においても運動直後に増加する傾向が認められた。ちなみに実験4の長距離選手では8.4%、実験5の肥満女性では13.8%の増加率であった。

実験6の長距離選手による2時間走中の血清過酸化脂質の変動を図5に示した。ランニング開始10分後の値は、安静値に対し6.8%の有意な低下となり、65分後と運動終了直後においても10分値とほぼ同様の値であった。

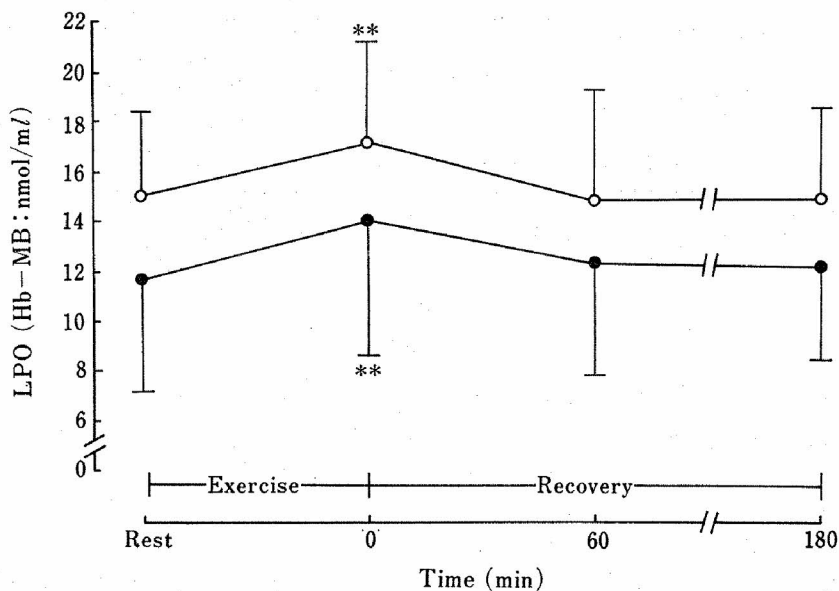


図1 Serum lipid peroxides before and after exhaustive cycling exercise in 11 trained (●) and 10 untrained men (○). Values are means ± S. D. ** Significantly different from pre-exercise value (p<0.01)

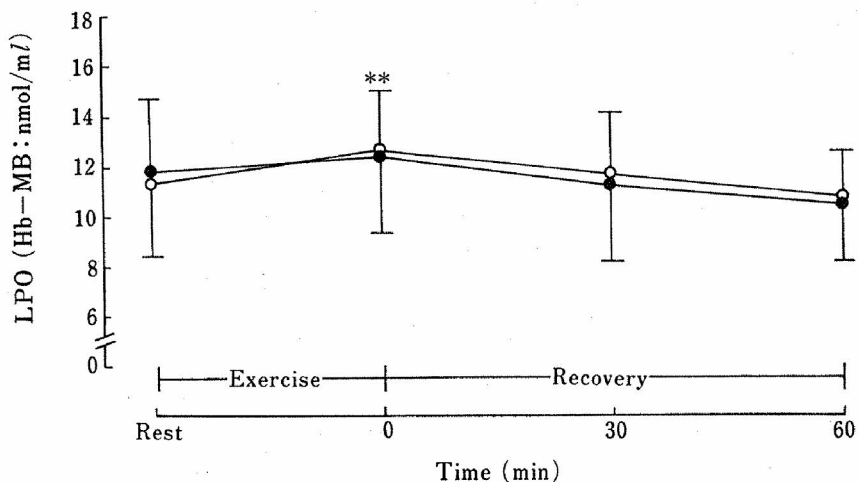


図2 Serum lipid peroxides before and after exhaustive cycling exercise in 8 normal-weight (○) and 8 lean men (●). Values are means ± S.D. **Significantly different from pre-exercise value (p<0.01)

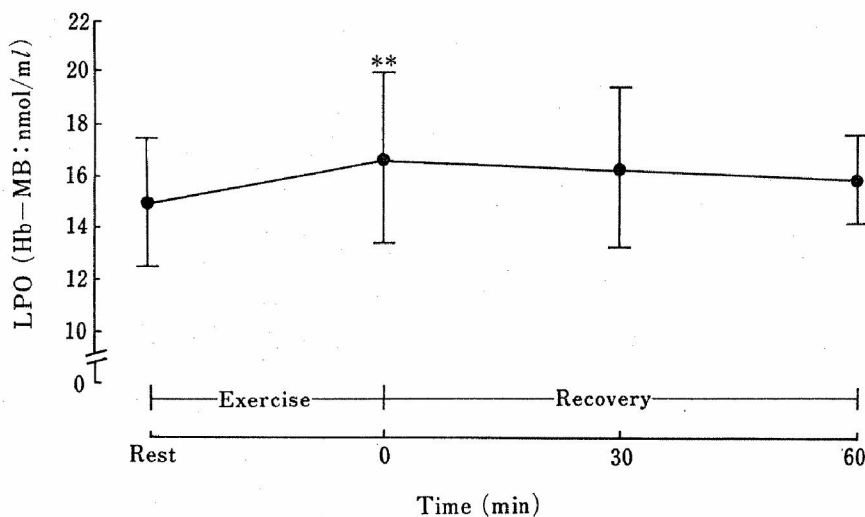


図3 Serum lipid peroxides before and after exhaustive cycling in 7 untrained men. Values are means ± S.D. **Significantly different from pre-exercise value (p<0.01)

図6は、実験1, 2, 3の血清尿酸値の変動を示したものである。各実験とも運動終了直後には増加傾向を示すにとどまったが、運動終了後30, 60, 180分にはそれぞれ安静値に対し有意な増加となった。運動終了後60分には、すべて7.0mg/dlを上回る異常高値を示し、安静値の38.1~52.8%の増加率であった。

考 察

身体運動には酸素の供給が必要不可欠であるが、最近では運動中の酸素消費に伴う酸素障害が注目されている^{16,17)}。酸素障害には反応性の高い分子種であるスーパーオキシドアニオン(O₂⁻)、一重項酸素(¹O₂)、過酸化水素(H₂O₂)、水酸ラジカル(・OH)などが関与し、主に生体膜中の高度不飽和脂肪酸と反応して過酸化脂質を生成する¹⁸⁾。

しかし、生体にはこの反応系に対する防御機構も存在し、 $2O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$ の反応に働くスーパーオキシドディスムターゼ (SOD)、 $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$ の反応に働くカタラーゼ、ヒドロペルオキシドを消去するグルタチオンペルオキシダーゼ(GSH-Px)、抗酸化剤として働くビタミンEなどがある。

このように過酸化脂質の生成を抑制する機構が存在するにもかかわらず、運動による脂質過酸化の高進が報告されている^{7,10,19,23,24}。

血清中の過酸化脂質が、すべて生体組織の脂質過酸化を反映しているとは考えられないが、少なくとも運動による組織細胞内の脂質過酸化が高進していることより、生成された過酸化脂質が血中へ漏出することが推察される。そこで本研究では、各種運動負荷時の生体内脂質過酸化を血清レベルから検討すべく、血清過酸化脂質の測定を行った。

短時間で疲労困憊にいたるような激しい運動は、生体組織の脂質過酸化を高進させ^{3,7}、血液中の過酸化脂質の増加を招来する^{2,21}と言われて

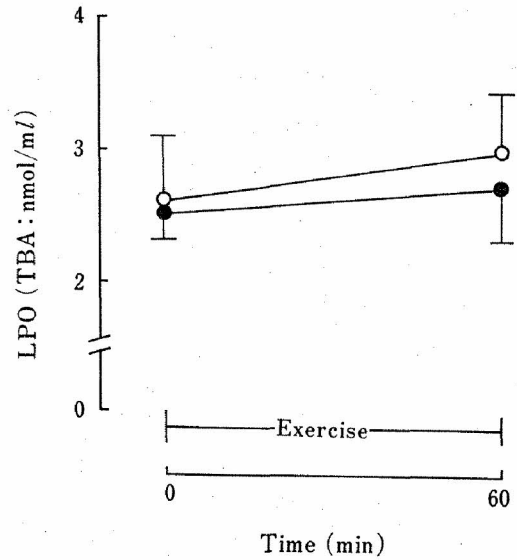


図4 Serum lipid peroxides (TBA) before and after 1-hour moderate exercise on a bicycle ergometer in 7 obese women (○) and on a treadmill in 7 male distance runners (●). Values are means ± S.D.

いるが、本研究の実験1、2、3においても先行研究と同様の結果が得られた。すなわち、自転車エルゴメーターを用いた負荷漸増法による疲労困憊にいたる運動では、運動終了直後に実験1の鍛練者で20.5%、非鍛練者で13.9%、実験2の非鍛

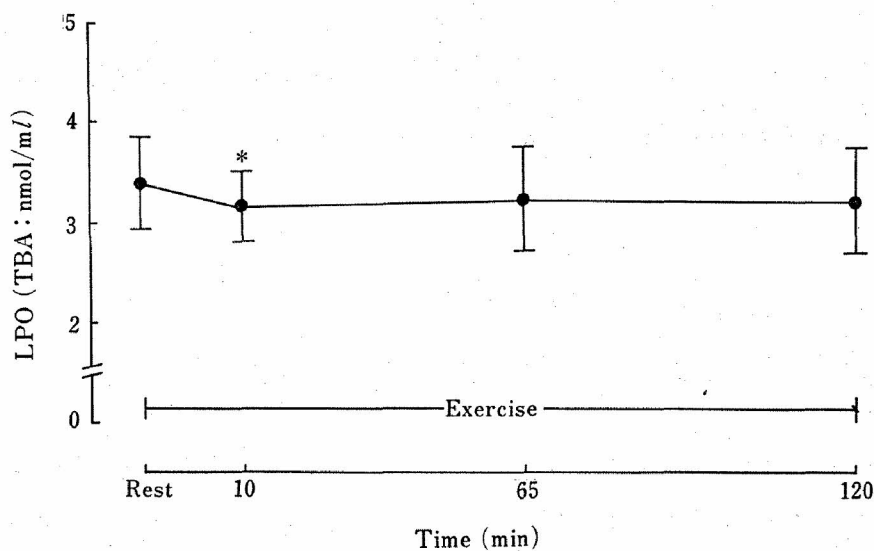


図5 Serum lipid peroxides (TBA) before, during and after 2-hour prolonged running in 7 male distance runners. Values are means ± S.D. *Significantly different from pre-exercise value ($p < 0.05$)

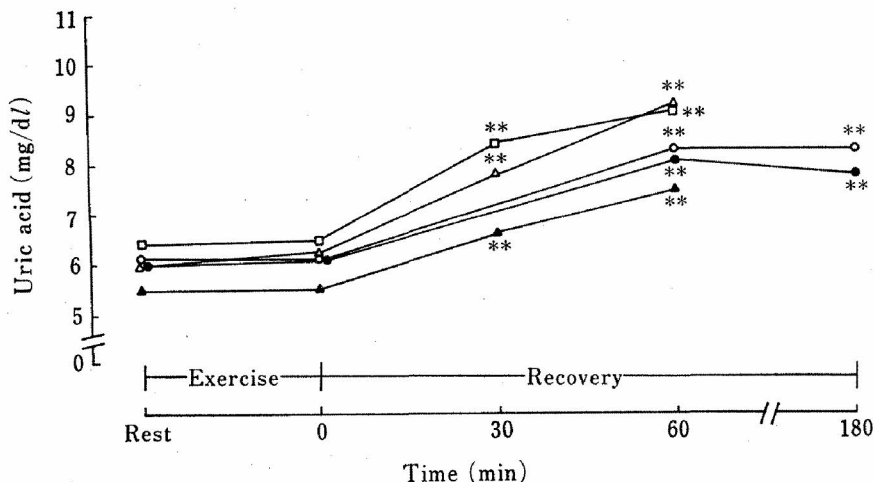


図6 Serum uric acid before and after exhaustive exercise in experiments 1 (○, ●), 2 (△, ▲) and 3 (□). Significantly different from pre-exercise value (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$)

練者で11.8%, 実験3の非鍛練者で11.3%の有意な増加が認められた。

しかし、長距離選手を用いた最大自転車駆動では、血漿過酸化脂質は増加しなかったという Viinikkaら²²⁾ の報告もある。一方、実験4, 5のAT水準による1時間運動では、ともに運動終了直後で有意な増加は認められなかった。また、実験6の長距離選手のAT水準による2時間走では、運動開始10分後に有意な減少を示し、以後10分後の値を維持した。

本研究で血清過酸化脂質の変動にこのような結果の違いがみられた背景には、被検者の特性(性, 年齢, 鍛練度など)を考慮する必要があるが、主に運動負荷方法の違いによる影響が大きいものと推察される。

運動に伴って血清過酸化脂質が増加する機序はよく知られていないが、短時間で疲労困憊にいたる運動では、激しい筋活動に伴う組織の低酸素状態が関与していると言われている²¹⁾。すなわち、筋組織の細胞内における呼吸代謝の電子伝達系で、細胞内呼吸の結果生じる電子を受けとる酸素が不足するために、不対電子が形成され活性酸素が生成されると指摘されている。この活性酸素の

増加により細胞内過酸化脂質が増加し、血中へ漏出してくるものと考えられる。また、激しい運動直後の血清過酸化脂質の増加には、血液濃縮が関係していることも推察されるが、実験1の運動直後のヘマトクリット値の増加率は、鍛練者で7.9%, 非鍛練者で6.3%と比較的低値であった。しかるに、血清過酸化脂質はヘマトクリット値に比べて2倍以上の増加率を示した。

すなわち、これらの結果は、血清過酸化脂質の増加には血液濃縮の影響が関与するものの、組織細胞内からの漏出も十分考えられることを示唆する。

ところで、われわれはこの過酸化脂質増加機序に、尿酸産生系も関与していると考えている。従来より、激しい運動によって血清尿酸値が増加することはよく知られている^{8,11,12,14)}。この増加機序には組織のプリン体代謝が高進する産生高進系と、腎臓からの排泄が抑制される排泄抑制系が考えられている。そこで脂質過酸化と最も関連性があると考えられるのは、尿酸産生系のヒポキサンチンからキサンチン, キサンチンから尿酸にいたる過程で働くキサンチンオキシダーゼである。

この酵素が働く時に活性酸素の一つである O_2^-

が生じる¹⁾。激しい運動によって尿酸代謝が高進することは、活性酸素の O_2^- の生成も増加するものと推察される。

この O_2^- はSODによって H_2O_2 と O_2 に、 H_2O_2 はカタラーゼによって H_2O と O_2 になるが、これら脂質過酸化抑制酵素の働きですべて H_2O と O_2 にまで反応するとは考え難く、生成した活性酸素 O_2^- の一部は脂質過酸化に作用すると考えられる。

本研究の実験1, 2, 3の血清尿酸値の変動(図6)を見ても、運動終了後30, 60, 180分ですべて有意な増加が認められ、60分では各実験とも正常域を上回る値であった。これらの結果からも疲労困憊にいたるような激しい運動では、尿酸代謝系の活性酸素の生成に伴う生体内脂質過酸化の高進が示唆される。

実験4, 5, 6におけるAT水準の長時間運動では、運動中の酸素供給は十分に行われていたものと考えられるので、細胞内の呼吸代謝や尿酸代謝からの活性酸素による脂質過酸化は、激しい運動時ほどには高進しなかったものと言える。中高年女性肥満者と長距離選手を対象としたAT水準による1時間運動では、増加傾向を示したが、長距離選手を対象としたAT水準による2時間走では、むしろ運動中低値を示す傾向が認められた。この運動中に低値を示したのは、対象が鍛練者ということもあり、トレーニングによる脂質過酸化抑制系の酵素活性の増大^{9,16,18)}が関与しているものと考えられる。

さらに、実験1の安静値で鍛練者の方が低値を示したことも興味深く、同様の機序により過酸化脂質の生成が抑制されていると推察される。しかし、鍛練者と非鍛練者の脂質過酸化については不明な点も多く、今後トレーニングの影響も含めて詳細に検討する必要がある。

結 語

疲労困憊にいたる運動とAT水準による長時間

運動負荷時の血清過酸化脂質を測定し、運動と脂質過酸化について検討した。結果は次に示すとおりである。

1) 実験1, 2, 3の運動負荷方法は若干異なるが、すべて比較的短時間で疲労困憊にいたる運動であり、各実験とも運動終了直後に血清過酸化脂質の有意な増加が認められた。

2) AT水準の運動強度で行った実験4, 5, 6の長時間運動では、運動終了直後に血清過酸化脂質の増加は認められず、むしろ実験6では運動開始10分後に有意な減少を示した。

以上のことより、血清過酸化脂質の変動は、運動負荷方法とくに強度によって異なり、組織細胞内で低酸素状態が生じる運動、ならびに血清尿酸値が異常高値を示すような運動において、その運動終了直後に顕著に上昇すると考えられる。また、酸素の供給が十分になされるような長時間運動では、血清過酸化脂質の上昇は認められないと言える。

文 献

- 1) Banister, E.W., W. Rajendra, and B.J.C. Mutch.; Ammonia as an indicator of exercise stress implications of recent findings to sports medicine, *Sports Med.*, **2**: 34—46 (1985)
- 2) Brady, P.S., P.K. Ku and D.E. Ullrey.; Lack of effect of selenium supplementation on the response of the equine erythrocyte glutathione system and plasma enzymes to exercise, *J. Anim. Sci.*, **47**: 492—496 (1978)
- 3) Brady, P.S., L.J. Brady and D.E. Ullrey.; Selenium, vitamin E and the response to swimming stress in the rat, *J. Nutr.*, **109**: 1103—1109 (1979)
- 4) Davies, K.J.A., A.T. Quintanilha, G.A. Brooks and L. Packer.; Free radicals and tissue damage produced by exercise, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **107**: 1198—1205 (1982)
- 5) Dillard, C.J., R.E. Litov, W.M. Savin, E.E. Dumelin, and A.L. Tappel; Effects of

- exercise, vitamin E, and ozone on pulmonary function and lipid peroxidation, *J. Appl. Physiol.*, **45** : 927—932 (1978)
- 6) 福沢健治 ; 過酸化脂質の生成防止, 過酸化脂質と疾患, 八木國夫, 五島雄一郎編, 121—129, 医学書院, 東京 (1981)
 - 7) Gee, D.L., and A.L. Tappel.; The effect of exhaustive exercise on expired pentane as a measure of in vivo lipid peroxidation in the rat, *Life Sci.*, **28** : 2425—2429 (1981)
 - 8) 伊藤 朗, 三上俊夫, 丹 信介, 後藤浩史, 井川幸雄 ; 各種運動時の血清尿酸値の動態, 尿酸, **8** : 38—47 (1984)
 - 9) Jenkins, R.R., R. Friedland, and H. Howald.; The relationship of oxygen uptake to superoxide dismutase and catalase activity in human skeletal muscle, *Int. J. Sports Med.*, **5** : 11—14 (1984)
 - 10) 岸原千秋 ; 運動負荷におけるラット自発行動量と過酸化脂質およびその関連酵素活性に関する研究, 北海道医学雑誌, **55** : 575—585 (1980)
 - 11) Knochel, J.P., L.N. Dotin, R.J. Hamburger.; Heatstress, exercise, and muscle injury, Effects on urate metabolism and renal function, *Ann. Inter Med.*, **81** : 321—328 (1974)
 - 12) 三上俊夫, 丹 信介, 栗林 徹, 伊藤 朗 ; 運動性高尿酸現象に関する研究, 尿酸, **7** : 191—202 (1983)
 - 13) 中野稔 ; 過酸化脂質の生成, 酸素の活性化, 過酸化脂質と疾患, 八木國夫, 五島雄一郎編, 12—19 医学書院, 東京 (1981)
 - 14) Nichols, J., A.T. Miller, and E.P. Hiatt.; Influence of muscular exercise on uric acid excretion in man, *J. Appl. Physiol.*, **3** : 501—507 (1951)
 - 15) Ohishi, N., H. Ohkawa, A. Miike, T. Tatand, and K. Yagi.; A new assay method for lipid peroxides using a methylene blue derivative, *Biochem. Int.*, **10** : 205—211 (1985)
 - 16) Quintanilha, A.T., and L. Packer.; Vitamin E, physical exercise and tissue oxidative damage, *Ciba F. Symp.*, **101** : 56—69 (1983)
 - 17) Quintanilha, A.T.; Effects of physical exercise and/or vitamin E on tissue oxidative metabolism, *Bioch. Soc. T.*, **12** : 403—404 (1984)
 - 18) Salminen, A., and V. Vihko.; Endurance training reduces the susceptibility of mouse skeletal muscle to lipid peroxidation in vitro, *Acta Physiol. Scand.*, **117** : 109—113 (1983)
 - 19) Salminen, A., and V. Vihko.; Lipid peroxidation in exercise myopathy, *Exp. Mol. Pathol.*, **38** : 380—388 (1983)
 - 20) Tappel, A.L.; Lipid peroxidation damage to cell components, *Fed. Proc.*, **32** : 1870 (1973)
 - 21) 堤 達也, 青木和江, 後藤芳雄, 喜多尚武 ; 運動筋での低酸素状態が考えられる断続運動時の血漿過酸化脂質及び中性脂質の動態, 体力研究, **54** : 24—37 (1983)
 - 22) Viinikka, L., J. Vuori, and O. Ylikorkala.; Lipid peroxides, prostacyclin, and thromboxane A₂ in runners during acute exercise, *Med. Sci. Sports Exerc.*, **16** : 275—277 (1984)
 - 23) Wilhelm, J., and J. Sonka.; Effect of sublethal gamma irradiation and exercise on succinate oxidase and metabolites of lipid peroxides I, Rat liver, *Agressologie*, **21** : 81—86 (1980)
 - 24) Wilhelm, J., and J. Sonka.; Effects of sublethal gamma irradiation and exercise on succinate oxidase and metabolites of lipid peroxides II, Rat skeletal muscle, *Agressologie*, **21** : 87—91 (1980)
 - 25) Yagi, K.; A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma, *Biochem. Med.*, **15** : 212—216 (1976)