

ウォーキングによるトレーニングが 中高年者の抗酸化能力に及ぼす影響

名古屋工業大学 伊藤 宏
(共同研究者) 中部大学 下田 次雄
名古屋工業大学 山崎 良比古

Effects of Training by Walking on Anti-oxidative Capacity in Middle-Aged and Elderly Persons

by

Hiroshi Itoh
Nagoya Institute of Technology
Tsugio Shimoda
Chubu University
Yoshihiko Yamazaki
Nagoya Institute of Technology

ABSTRACT

The purpose of this study was to investigate the effect of training by walking on plasma reduced glutathione (GSH) and glutathione reductase (GR) levels as indicators of anti-oxidative capacity in healthy middle-aged and elderly females. The effect of training by walking on plasma lipoprotein variables as indicators of cardiovascular fitness was also determined. Seventeen subjects had been habitual walkers for more than one year and measured their steps every day during three weeks before the blood sampling.

The average daily steps (mean \pm SD) of the subjects was 11019.1 ± 3658.9 (steps/day). Physical activity levels tended to increase GSH and GR levels in the

plasma. Although there was no significant relationship between the plasma GSH concentrations and the average daily steps, GR activity significantly ($r=0.610$, $p<0.01$) correlated with the average daily steps. The average daily steps did not influence plasma lipid peroxides, total cholesterol, HDL-cholesterol, and triglyceride concentrations. Furthermore, we made a comparison about the above blood parameters between the group which average daily steps were lower than 12000 steps/day (L) and the group which average daily steps were more than 12000 steps/day (H). There was no significant difference in any blood parameters between the L and H group.

These results suggest that training by walking can increase anti-oxidative capacity such as glutathione system, especially in GR activity in the plasma, but can not influence plasma lipoprotein variables.

要 旨

本研究は、ウォーキングが抗酸化能力の指標である血中の還元型グルタチオン (reduced glutathione: GSH) 濃度およびグルタチオンリダクターゼ (glutathione reductase: GR) 活性に影響を及ぼすか否かを明らかにしようとした。また、ウォーキングが心臓血管系疾患の指標となる血中の総コレステロール、高密度リポ蛋白 (high density lipoprotein: HDL) コレステロール、中性脂肪に及ぼす影響についても検討した。被験者は、1年以上それぞれの強度、持続時間 (週3-6日, 30-90分) でウォーキングを行っている健康な中高年の女性、17名とした。安静時の採血を行う前3週間にわたり、被験者の毎日の歩数を万歩計を用いて計測した。被験者の1日あたりの平均歩数 (平均値 ± 標準偏差) は 11019.1 ± 3658.9 (歩/日) だった。血漿GSH濃度、GR活性は、1日あたりの平均歩数が多い者ほど増大する傾向が見られ、GRについては有意 ($r=0.610$, $p<0.01$) な相関が認められた。血漿リポ蛋白については、1日あたりの平均歩数と有意な相関は認められなかった。さらに1日あたりの平均歩数が12000歩未満 (L) のグループと12000歩以上 (H) のグループに分け、血漿GSH、GR、過酸

化脂質、総コレステロール、HDLコレステロールおよび中性脂肪についてグループ間で比較した。血漿GR活性についてはH群がL群に比べ高くなる傾向が見られたが、いずれの項目についてもグループ間で有意な差は認められなかった。

以上の結果、ウォーキングによる日常の身体活動レベルの増加は、グルタチオン系、特にGR活性を上昇させ、中高年者の抗酸化能力を向上させることが明らかになった。一方、血漿リポ蛋白濃度については、日常の身体活動レベルによる影響は認められなかった。

緒 言

非活動的な生活習慣は、心臓病、高血圧、糖尿病など様々な生活習慣病の主要因として考えられている。これまでに中高年者を対象としたウォーキングやジョギングによる持久性トレーニングが、心肺機能や血中リポ蛋白濃度に好影響を及ぼすことから、心臓血管系疾患の予防に効果的であることが報告されている^{6, 10, 12, 17}。そのためウォーキングのような軽運動が、安全で効果的な健康増進手段として、特に中高年者を対象に推奨されている¹⁴。

一方、運動による酸素消費量の増大は、体内

での活性酸素の生成を促進するため、組織や細胞に障害をもたらす可能性が考えられる。しかし、実際には体内で生成された活性酸素に対する防御機構としての抗酸化ビタミンやグルタチオン系の働きが活性酸素による障害を抑制している^{5, 13)}。また、トレーニングは様々な組織における抗酸化酵素活性を高めるなど、抗酸化能力を向上させることが報告されている^{2, 3, 9, 11)}。我々⁴⁾も、ラットで、トレッドミルを用いた低強度のトレーニングが、安静時の血中および組織での活性酸素種生成（サリチル酸と水酸化ラジカルの反応物：2,3-DHBA）を抑制することを明らかにしている。また、その主な理由として、低強度のトレーニングがグルタチオン系による抗酸化能力を向上させたことが考えられた。このことから、ヒトでもウォーキングのような低強度の運動がグルタチオン系を亢進し、抗酸化能力を向上させる可能性が考えられる。しかし、ヒトを対象としたトレーニングが、グルタチオン系に及ぼす影響について報告した先行研究は少なく^{3, 11)}、特にウォーキングのような低強度な有酸素運動が、ヒトの抗酸化能力に及ぼす影響についての報告は見あたらない。

本研究は、ウォーキングを実施している中高年者を対象に、ウォーキングを含めた日常の身体活動レベルが抗酸化能力の指標である血中の還元型グルタチオン（reduced glutathione: GSH）濃度および酸化型グルタチオン（oxidized glutathione: GSSG）を還元してGSHを再生する過程に介在するグルタチオンリダクターゼ（glutathione reductase: GR）活性に影響を及ぼすか否かを明らかにしようとした。また、身体活動レベルと血漿リポ蛋白濃度についても検討した。

1. 研究方法

1. 1 被験者

被験者は、名古屋市内の保健所などで行われている「市民健康づくり教室」に積極的に参加している50-70歳の女性で、週3回から6回のウォーキングを1年以上継続して行っている17名とした。「市民健康づくり教室」では問診および血液検査による健康診断を行っており、喫煙者、ビタミン剤などを常用している者、糖尿病などの疾病の疑いがあると判断された者は被験者から除外した。被験者には本研究の趣旨を十分に説明し、了解を得た。被験者は、全員が主に家事に従事していて、特定の職業に従事している者はいなかった。また、ウォーキング以外に激しい運動を定期的に行っている者はいなかった。

1. 2 研究方法

1. 2. 1 ウォーキングと歩数

ウォーキングの強度、持続時間についての特別な指示は与えず、被験者それぞれが生活習慣として行っている強度、持続時間で行ったが、通常の歩行中に橈骨動脈から触診で自らの心拍数を測定させた結果、最大心拍数の60-75%の強度でウォーキングを実施していた。ウォーキングを行う時間帯は早朝または夜間がほとんどで、1日あたりのウォーキングにかけた時間は約30分から90分と個人差が大きかった。採血する前3週間、起床から就寝までの全ての歩数を万歩計（デジタル歩数計: ALNESS 200S, 山佐時計器社製）を用いて計測した。

1. 2. 2 採血および測定項目

被験者は、朝食後3時間以上経過した午前11時に集合し、イスに座って約20分間の安静を保った後、安静時の血圧、心拍数（全自動血圧計: BP203RV, フクダ電子社製）、身長、体重、体脂肪率（脂肪計付ヘルスメーター: TBF-501, タニタ社製）を測定し、その後、正中皮下静脈

から約7mlの採血を行った。ヘパリン入り試験管に採取した血液は5000rpmで10分間遠心し、血漿を分離し、総コレステロール（酵素法）、高密度リポ蛋白（high density lipoprotein: HDL）コレステロール（選択阻害法）、中性脂肪（酵素法）および過酸化脂質（TBA法）の測定に用いた。残りの血漿は、1Mの過塩素酸溶液（0.1mM エチレンジアミン四酢酸、0.1mM 二亜硫酸ナトリウムを含む）にて除蛋白し、遠心分離後、上清を濾過し、高速液体クロマトグラフィー電気化学検出法にてGSH濃度およびGR活性を測定した。

1. 2. 3 統計処理

全てのデータは平均値±標準偏差で示し、データは分散分析を実施後、post hoc test (Scheffe's F) を用いて検定を行い、有意水準は $p<0.05$ とした。

2. 結果

表1に被験者の1日あたりの平均歩数および身体特性を示した。また、身体活動量の違いで検討するため、被験者を1日あたりの平均歩数が12000歩未満(L)のグループと12000歩以上(H)のグループに分けた。その結果、1日あたりの平均歩数はH群がL群に比べ有意($p<0.001$)に高かったが、年齢、身長、体重、体格指数(BMI)、体脂肪率、血圧、心拍数については有意な差は認められなかった。

血液の測定結果については表2に示し、表1と同様に身体活動量でグループ分けをして比較、検討した。GR活性についてはH群がL群に対して大きくなる傾向を示したが、有意な差は認められなかった。GSHの他、総コレステロール、HDLコレステロールおよび中性脂肪のリポ蛋白についても、H群とL群との間に有意な差は認められなかった。

表1 被験者の身体特性

Parameters	All (n=17)	L (n=9)	H (n=8)
Average daily steps (steps/day)	11019.1 ± 3658.9	8263.5 ± 1784.9	14119.1 ± 2492.7 ***
Age (year)	58.4 ± 5.7	56.3 ± 5.1	60.1 ± 5.8
Height (cm)	151.2 ± 4.8	152.3 ± 4.2	150.0 ± 5.4
Mass (kg)	52.5 ± 6.2	52.4 ± 6.3	52.6 ± 6.5
BMI (kg/m ²)	23.0 ± 2.5	22.7 ± 2.9	23.3 ± 1.9
%Fat (%)	28.5 ± 4.2	29.0 ± 4.6	27.9 ± 4.0
Systolic blood pressure (mm Hg)	124.8 ± 19.2	123.4 ± 20.7	126.3 ± 18.6
Diastolic blood pressure (mm Hg)	76.7 ± 11.9	74.3 ± 13.3	79.3 ± 10.4
Heart rate (beats/min)	76.5 ± 12.9	79.7 ± 15.3	73.0 ± 9.2

平均値±標準偏差

L: 12000 (歩/日) 未満, H: 12000 (歩/日) 以上

BMI: Body Mass Index (体格指数: 体重 kg/身長 cm²)

*** $p<0.001$; LとH間の有意差

表2 血漿測定項目の結果

Parameters	All (n=17)	L (n=9)	H (n=8)
Total cholesterol (mg/dl)	215.6 ± 26.0	218.1 ± 21.8	212.7 ± 31.4
HDL cholesterol (mg/dl)	64.1 ± 14.5	65.9 ± 15.9	62.1 ± 13.6
Triglyceride (mg/dl)	137.6 ± 52.7	132.1 ± 55.8	143.8 ± 52.0
Lipid peroxides (nmol/ml)	2.9 ± 0.7	2.7 ± 0.5	3.1 ± 0.9
Reduced glutathione (μmol/ml)	2.0 ± 0.5	1.9 ± 0.5	2.1 ± 0.5
Glutathione reductase (nmol/min mg protein)	152.1 ± 22.6	143.0 ± 10.5	162.3 ± 28.6

平均値±標準偏差

L: 12000 (歩/日) 未満, H: 12000 (歩/日) 以上

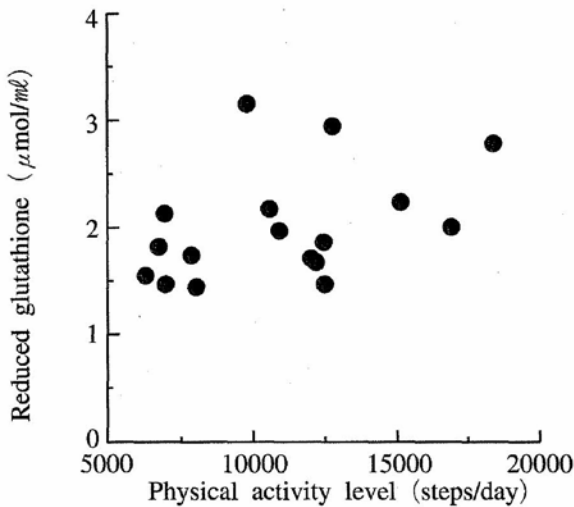


図1 一日あたりの平均歩数と血漿還元型グルタチオン濃度との関係

図1には、1日あたりの平均歩数と血漿GSH濃度との関係を示した。歩数の増加に伴って血漿GSH濃度が増大する傾向がみられたが、有意な相関は認められなかった。

同様に1日あたりの平均歩数と血漿GR活性との関係を図2に示した。血漿GR濃度は1日あたりの平均歩数と有意 ($r=0.610, p<0.01$) な相関が認められ、1日あたりの歩数が多い者ほど血漿GR活性が高くなる傾向が認められた。

3. 考 察

健康のための身体活動量として、1日あたり8千歩から1万歩程度が推奨されている¹⁴⁾。本研究の被験者全員の1日あたりの平均歩数は、 11019.1 ± 3658.9 (歩/日) で1万1千歩を越えており、被験者が積極的にウォーキングに取り組んでいることがうかがえた。

運動時には、体内の主要なグルタチオン貯蔵臓器である肝臓から血液を介してグルタチオンが全身に配分される⁸⁾。GSHは、グルタチオンペルオキシダーゼ (glutathione peroxidase: GPX) を触媒としてGSSGへと酸化される際、過酸化水素およびその他の過酸化物を還元し、水酸化物を生ずる。一方、GRはGSSGを還元してGSH

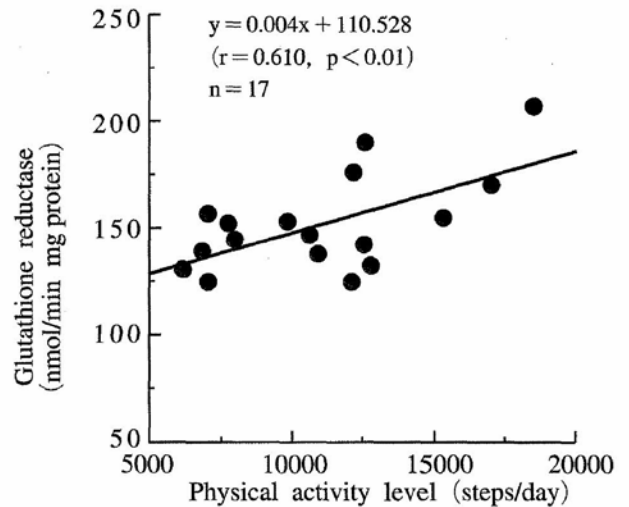


図2 一日あたりの平均歩数と血漿グルタチオンリダクターゼ活性との関係

を再合成する反応を触媒する。これらの酵素を介したグルタチオン系は、運動時に増大する活性酸素による組織や細胞の過酸化を抑制するために大きく貢献している。ところでトレーニングは、肝臓、心臓、骨格筋でのこれらの抗酸化酵素活性を高め⁹⁾、より高強度のトレーニングで活性が高くなる²⁾ことが報告されている。ヒトでもHellstenら³⁾は、自転車を用いたスプリントトレーニングが外側広筋のGR、GPX活性を高めたことを報告している。またRobertsonら¹¹⁾は、非鍛練者に比べ高強度なトレーニングを行っている長距離ランナーの方が、赤血球GSH濃度やGPX活性などが高かったことを報告しているが、ウォーキングのような低強度なトレーニングが抗酸化能力に及ぼす影響についての報告は見あたらない。

本研究では、図1、2で示したように、1日あたりの歩数が多い者ほど血漿GSH濃度、GR活性が高くなる傾向が見られ、特にGR活性については有意 ($r=0.610, p<0.01$) な相関が認められた。また、一日あたりの身体活動量によってグループに分け、血漿GSH濃度、GR活性について検討したが、H群ではGR活性が高くなる傾向が見られた。これらの結果から、低強度な日常の

ウォーキングでもグルタチオン系を亢進し、抗酸化能力を向上させることが明らかとなった。これらの結果は、我々⁴⁾のラットを用いた先行研究の結果を支持するものである。本研究では、他の臓器や組織への影響については明らかではないが、ウォーキングによって生成された活性酸素による酸化ストレスが、肝臓や骨格筋でのグルタチオン貯蔵量を増大させ、それによって血漿GSH濃度が上昇した可能性も考えらる。また、肝臓、骨格筋、赤血球など様々な組織や細胞での抗酸化酵素活性が高まった可能性も考えられ、これらの要因のいずれか、あるいは両方がウォーキングによって誘発され、安静レベルでの血液や各組織内での活性酸素生成を抑制しているものと推察された。

血液中の低密度リポ蛋白 (low density lipoprotein: LDL) コレステロールに対する活性酸素による酸化変性は、血管の機能的障害を誘発し、動脈硬化の発症や進展に深く関与することが明らかにされている¹⁵⁾。一方、長距離ランナーのような持久性運動の鍛練者では、血中HDLコレステロールの増加^{7, 18)}や中性脂肪の低下⁶⁾が認められる。このように増加したHDLコレステロールは、細胞からの酸化LDLを引き抜いて血管の機能的障害を抑制する^{1, 16)}。これらのことから血中の抗酸化能力は血管の変性に密接に関与している可能性が考えられ、本研究では血漿リポ蛋白濃度についても検討した。

本研究では1日あたりの身体活動量とHDL-C間、HDL-CとGSHまたはGRとの間に有意な相関は認められず、また総コレステロール、HDLコレステロール、中性脂肪についてはL群とH群との間に顕著な差は認められなかった。Kukkonen-Harjulaら⁶⁾は、ウォーキングによるトレーニングで血漿中性脂肪濃度が低下したことを報告しているが、多くの先行研究^{10, 12, 17)}が、本研究と同様に、ウォーキングが血中リポ蛋白濃度にほと

んど影響を及ぼさないことを報告している。これらのことから、ウォーキングでは血中リポ蛋白濃度に影響を及ぼすには運動強度が低いのかもしい。また、本研究では体重、BMI、体脂肪率、および安静時の血圧と心拍数についてもL群とH群の間に有意な差が認められなかった。血中リポ蛋白や体重、BMI、体脂肪率は、食事の影響を強く受けるが、本研究では食事に関する指導は行わなかった。さらに、身体活動量でグループ分けをして比較するには本研究の被験者の身体活動量が比較的高かったため、さらに今後検討する必要がある。

以上、本研究では身体活動の程度は血漿リポ蛋白濃度や体重などの身体特性には影響しなかったが、血漿GR活性が一日平均歩数と有意な相関を示したこと、すなわちウォーキングが血漿の抗酸化能力を高めたことは、血管内での酸化LDLを低下させ血管の変性を抑制する効果も期待できるものと考えられる。

4. 結 論

ウォーキングを実施している中高年者の女性を対象に、日常の身体活動レベルが抗酸化能力の指標である血中の還元型グルタチオン (GSH) 濃度およびグルタチオンリダクターゼ (GR) 活性に及ぼす影響を検討した。結果は以下のとおりである。

1. 血漿GSH濃度、GR活性は、1日あたりの平均歩数が多い者ほど増大する傾向が見られ、GRについては有意 ($r=0.610$, $p<0.01$) な相関が認められた。

2. 血漿リポ蛋白に関する項目に関して1日あたりの平均歩数と有意な相関は認められなかった。

3. 1日あたりの平均歩数が12000歩未満 (L) のグループと12000歩以上 (H) のグループに分け、血漿GSH、GR、過酸化脂質、総コレステロール、HDLコレステロールおよび中性脂肪に

ついてグループ間で比較した。GR活性についてはH群がL群に比べ高くなる傾向が見られたが、どの項目についてもグループ間で有意な差は認められなかった。

以上の結果、ウォーキングによる日常の身体活動レベルの増加は、グルタチオン系、特にGR活性を上昇させ、中高年者の抗酸化能力を向上させることが明らかになった。一方、血漿リポ蛋白濃度については、日常の身体活動レベルによる影響は認められなかった。

謝 辞

最後に稿を終えるにあたり、研究助成を賜りました財団法人石本記念デサントスポーツ科学振興財団に心から深謝いたします。また、本研究実施にあたり多大なご協力をいただいた名古屋工業大学の桑哲男助教授、名古屋大学の島岡清教授、名古屋大学大学院生の山本貴子氏に厚くお礼申し上げます。

文 献

- 1) Berliner, J. A., Heinecke J. W. ; The role of oxidized lipoproteins in atherogenesis., *Free Radic. Biol. Med.*, 20, 707-727 (1996)
- 2) Criswell, D., Powers S., Dodd S., et al. ; High intensity training-induced changes in skeletal muscle antioxidant enzyme activity., *Med. Sci. Sports Exerc.*, 25, 1135-1140 (1993)
- 3) Hellsten, Y., Apple F. S., Sjodin B. ; Effect of sprint cycle training on activities of antioxidant enzymes in human skeletal muscle., *J. Appl. Physiol.*, 81, 1484-1487 (1996)
- 4) Itoh, H., Ohkuwa T., Yamamoto T., Sato Y., Miyamura M., Naoi M. ; Effects of endurance physical training on hydroxyl radical generation in rat tissues, *Life Sci.*, 63, 1921-1929 (1998)
- 5) Jenkins, R.R. ; Exercise, oxidative stress, and antioxidants: a review., *Int. J. Sport Nutr.*, 3, 356-375 (1993)
- 6) Kukkonen-Harjula, K., Laukkanen R., Vuori I., et al. ; Effects of walking training on health-related fitness in healthy middle-aged adults--a randomized controlled study., *Scand. J. Med. Sci. Sports*, 8, 236-242 (1998)
- 7) Lehtonen, A., Viikari J. ; The effect of vigorous physical activity at work on serum lipids with a special reference to serum high-density lipoprotein cholesterol., *Acta Physiol. Scand.*, 104, 117-121 (1978)
- 8) Lew, H., Pyke S., Quintanilha A. ; Changes in the glutathione status of plasma, liver and muscle following exhaustive exercise in rats., *FEBS Lett*, 185, 262-266 (1985)
- 9) Lew, H., Quintanilha A. ; Effects of endurance training and exercise on tissue antioxidative capacity and acetaminophen detoxification., *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokin.*, 16, 59-68 (1991)
- 10) Ready, A. E., Naimark B., Ducas J., et al. ; Influence of walking volume on health benefits in women post-menopause., *Med. Sci. Sports Exerc.*, 28, 1097-1105 (1996)
- 11) Robertson, J. D., Maughan R. J., Duthie G. G., Morrice P. C. ; Increased blood antioxidant systems of runners in response to training load, *Clin. Sci.*, 80, 611-618 (1991)
- 12) Santiago, M. C., Leon A. S., Serfass R. C. ; Failure of 40 weeks of brisk walking to alter blood lipids in normolipemic women., *Can. J. Appl. Physiol.*, 20, 417-428 (1995)
- 13) Sen, C. K. ; Oxidants and antioxidants in exercise., *J. Appl. Physiol.*, 79, 675-686 (1995)
- 14) Shimaoka, K., Okamoto A., Deguchi S., et al. ; Weight reduction profiles of participants in the weight control program for middle-aged women., *Nagoya J. Health Physical Fitness Sports*, 20, 91-98 (1997)
- 15) Steinberg, D. ; Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance., *J. Biol. Chem.*, 272, 20963-20966 (1997)
- 16) Steinberg, D., Parthasarathy S., Carew T. E., Khoo J. C., Witztum J. L. ; Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its

- atherogenicity, *N. Engl. J. Med.*, 320, 915-924 (1989)
- 17) Suter, E., Marti B., Gutzwiller F. ; Jogging or walking - comparison of health effects., *Ann. Epidemiol.*, 4, 375-381 (1994)
- 18) Williams, P. T. ; High-density lipoprotein cholesterol and other risk factors for coronary heart disease in female runners., *N. Engl. J. Med.*, 334, 1298-1303 (1996)