

# 高強度運動による活性酸素(ROS)産生が 循環機能に及ぼす影響

東 洋 大 学 小 河 繁 彦

(共同研究者) 南ウェールズ大学 Damian Bailey

## Effect of Different Exercise Mode on Reactive Oxygen Species Production and Blood Flow Regulation

by

Shigehiko Ogoh

*Department of Biomedical Engineering, Toyo University*

Damian Bailey

*Neurovascular Research Laboratory,*

*Faculty of Life Sciences and Education, University of South Wales, UK*

### ABSTRACT

Reactive oxygen species (ROS) production during exercise is thought to be related to an improvement in cognitive function. We hypothesized that high intensity interval exercise induced ROS production is lower compared with continuous high intensity exercise. Also, high intensity interval exercise contributes to improvement in cognitive function because of lower ROS production. In this experiment, in order to verify this hypothesis, we examined the influence of different exercise mode on ROS production. Continuous high intensity and high intensity interval exercise were performed, and the thiobarbituric acid reaction product (TBARS) value in plasma before and after each exercise was calculated as an index of ROS production. TBARS value increased significantly immediately after continuous exercise, while TBARS value tended to slightly increase after interval exercise, but significant difference was not observed.

In the present study, the validity of the hypothesis was proved by showing that the difference in exercise mode shows that ROS production is different despite a similar work exercise. This finding suggests that there is the physiological advantages in interval exercise as a therapy for preventing dementia.

## 要 旨

運動中の活性酸素（ROS）産生は認知機能改善に関連すると考えられる。我々は、高強度インターバル運動のROS産生が一定強度の高強度運動と比較して低値であり、高強度インターバル運動がより認知機能改善に貢献するとの仮説を立てた。本実験では、この仮説を検証する為、運動様式のROS産生への影響を検討した。高強度一定負荷運動及びインターバル運動を行い、各運動前後における血漿中チオバルビツール酸反応生成物質（TBARS）値をROS産生の指標として算出した。TBARS値は、一定負荷運動直後、有意に増加する一方、インターバル運動前後では、TBARSは運動後、わずかに増加する傾向であったが有意な差は観察されなかった。本研究において、同様の仕事量の運動でも運動様式の違いにより、活性酸素の産生が異なることが示され、仮説の妥当性が証明された。このことは、認知症予防の運動療法において、インターバル運動の生理学的利点を示すものである。

## 緒 言

運動習慣は、脳認知症発症を予防<sup>6,11)</sup>、また一過性の動的運動中（自転車運動）においても認知機能を高めることが報告されている<sup>9)</sup>。特に近年、高強度運動は、中等強度の運動と比較して代謝機能や心臓循環機能の刺激・適応により、認知機能をより高めることが指摘されており<sup>7)</sup>、さらに高強度運動による乳酸産生が脳エネルギー代謝に関連した脳への乳酸の取り込みを促進し、認知

機能亢進に密接に関連する可能性を示すデータを我々の研究チームが報告している<sup>4)</sup>。これらの最近の知見から、運動は、“認知症発症予防の有効な手段”であり、臨床研究分野においても重要な研究対象として注目されている。運動による刺激が、脳循環調節機能を亢進させ、結果として適切な脳循環動態により認知機能を改善させることが示唆されている<sup>11)</sup>。また、我々の先行研究では、運動により改善される認知機能が脳自己調節機能に関連する可能性を示している<sup>12)</sup>。一方、脳循環動態の変化が運動による認知機能改善に影響しないことについても報告している<sup>9)</sup>。このような研究バックグラウンドにおいて、運動による認知機能亢進の生理メカニズムが解明されているとは言えず、様々な生理要因により影響を受けることが考えられている。

高強度運動においてより認知機能を改善させることが指摘される一方、例えば、アイソメトリック運動など、様式の異なる短期の運動で認知機能がどの様に影響を受けるか明らかではない。ハンドグリップ運動などアイソメトリック運動は、器具も小さく、かつ運動時間も短い為、高齢者などにも簡易に実践できる。さらに、動的運動や動的レジスタンス運動よりも高血圧患者で安静時血圧をより低下させることが報告<sup>2,3,5,10)</sup>されており、運動中の血圧応答は大きい一方、運動後の体循環調節機能において好影響を与える可能性が高く、高齢者の認知機能改善のための運動として最適かもしれない。さらに、最近では、高強度インターバルトレーニングが、一定負荷での高強度運動と比較して、より認知を改善させる可能性が総説論

文等において指摘されている<sup>7)</sup>。この総説論文<sup>7)</sup>では、同じ運動量の刺激を維持するために、一定負荷運動より高強度の運動負荷が可能であり、その為、運動時間の短縮により高齢者の運動トレーニングのための最適な運動様式であることを提案しているが、一方、生理学的にその効果について調査している研究がほとんど見られないことも指摘している。

一方、高強度運動では多くの活性酸素 (ROS) が産生される。体内に取り込まれた酸素の代謝過程においてスーパーオキシドアニオンラジカルやヒドロキシルラジカルなどの ROS が産生され、細胞損傷や動脈硬化の促進等、生命科学的観点から運動を行うことのマイナス要因が指摘されている。我々の先行研究<sup>1)</sup>では、ROS の指標であるアスコルビン酸ラジカル等及びアストロサイトの指標である S100 $\beta$  が運動により増加、またこれらの増加と脳循環調節機能 (脳自己調節機能) の低下が有意な相関関係を示すことを報告した。つまり、運動による ROS 産生が、脳自己調節機能を低下させ、血液脳関門の透過性を増大させることをこの研究により明らかにした。実際、ROS は認知機能を低下させることが報告されている。しかしながら、運動により認知機能が亢進することが報告されており、運動による ROS 産生による認知機能への影響、つまり ROS 産生によるマイナス要因がどの様に運動中の脳神経活動に影響するのかは未だ明らかでない。これらの研究結果は、運動は認知機能を亢進させるという先行研究の示唆と矛盾し、この研究分野における“パラドックス”でもある。

本申請研究では、このパラドックスに関連した“高強度インターバルトレーニングによる ROS の産生が、脳循環動態及び脳機能にどの様に影響しているのか?”という疑問点を明らかにすることを大きな目的としている。本実験では、特に運動様式の違いに着目し、高強度インターバル運動と

継続負荷による高強度運動における、前述の運動パラドックスのキーファクターである ROS 産生への影響を検討した。さらに、この ROS 産生が運動による認知機能や脳循環動態へどの様に影響するかについても考察した。我々は、高強度インターバル運動の ROS 産生が一定強度の高強度運動と比較して低値であり、さらに異なる脳循環動態への影響に伴い、高強度インターバル運動がより認知機能改善に貢献するとの仮説を立て、この仮説を検証するための実験を行った。

## 1. 研究方法

本研究は、2つの実験プロトコル、一定負荷高強度運動 (Ex1) 及び高強度インターバル運動 (Ex2) から成り立つ。

被験者は、健康な大学生 5 名 (Ex1; 年齢:  $22 \pm 1$  歳, 身長:  $171 \pm 1$ cm, 体重  $68 \pm 2$ kg) 及び 4 名 (Ex2; 年齢:  $24 \pm 1$  歳, 身長:  $168 \pm 3$ cm, 体重:  $67 \pm 4$ kg) について各運動プロトコルを実施し、後述する測定を行った。これらの被験者のうち 2 名が両実験に参加、他の被験者はどちらか一方の運動プロトコルに参加した。本研究は、人を対象とする医学系研究に関する倫理指針: 本実験はヒトを対象とした研究であり、立命館大学倫理審査委員会の承認を経て、ヘルシンキ宣言に基づく倫理原理、臨床研究に関する倫理指針を遵守、インフォームドコンセント (被験者は実験の主旨、内容及び伴う危険性についてあらかじめ説明を受け、それらを十分に理解する) により被験者の同意を得て実施した。

### 1. 1 運動プロトコル

被験者は、本実験にあたり、自転車運動により最大酸素摂取量の測定をあらかじめ行い、本実験で行う運動負荷を決定した (最大酸素摂取量の測定は先行研究の方法に準ずる)。実験当日、被験者は少なくとも 2 時間前に軽い朝食をとり、研究

室に入室した。実験装置のセッティング後、被験者は、自転車のサドルに座り、10分間の安静を取った。90Wでの負荷での自転車運動による5分間のウォーミングアップの後、Ex1の被験者は、最大酸素摂取量の70%負荷の運動強度で20分間の自転車漕ぎ運動を行い、運動終了後、椅子に着座し60分間安静とした(図1)。一方、Ex2の被験者は、ウォーミングアップの後、最大酸素摂取量の85%の負荷強度で3分間、その後47.5%の強度で2分間の運動を4回繰り返し、計20分間の自転車漕ぎ運動を行う。運動終了後、Ex1と同様、椅子に着座し60分間安静とした。

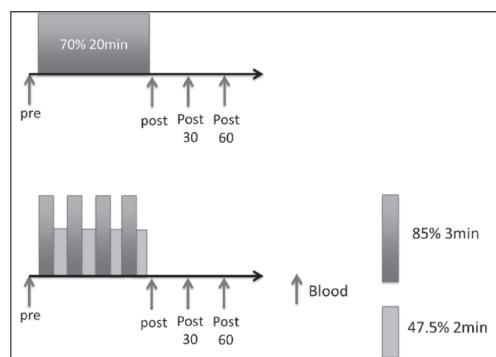


図1 運動プロトコル (上図: Ex1, 下図: Ex2)

## 1. 2 測定項目

### 1. 2. 1 活性酸素 (ROS) の測定

運動前、運動直後、30分後及び60分後に採血を行い、この採血からROS産生の指標として、血漿中チオバルビツール酸反応生成物質 (TBARS) の測定を行った (TBARS Assay Kit, Cayman chemical)。試験管に血漿を入れ、SDS水溶液とColor Reagentを添加混合し、90度以上で1時間加熱発色させた。その後、10分後氷上で反応を停止させ、遠沈し (4℃, 1,600g, 10分)、反応液の上清をクリアプレートに採り入れた。遠心上清について540nmの波長を分光光度計にて検出した。

### 1. 2. 2 認知機能の測定

認知機能の客観的評価としてストループ課題を用いた。ストループ課題は、認知を遂行する際の注意や行動を適切に制御する能力を測定する方法として広く適用され、実行能力の評価が可能である<sup>13)</sup>。ストループ課題は、以下の3条件について行い、これを1セットとして評価した<sup>12, 13)</sup>。Congruent task: 刺激語の漢字と色が統一された課題, Neutral task: 黒い漢字で表現されたランダムに出現する文字に対して反応する課題条件 (図2), Incongruent task: 異なる色と漢字で表現されたランダムに出現する刺激に対し、文字に反応する条件を設定した条件の3条件である。各条件をランダムに3回ずつ実施、合計3セット実施した。実行機能を評価するために、以下の式で逆ストループ干渉率を算出した<sup>12, 13)</sup>。

逆ストループ干渉率

$$= (\text{Incongruent task} - \text{Neutral task}) / \text{Neutral task} \times 100$$

また、被験者には、実験前日までに、一定のスコアを達成するまで、十分に練習を行い、学習効果が反映されないように考慮した。ストループ課題は、運動前及び運動後15、30、60分に行った。

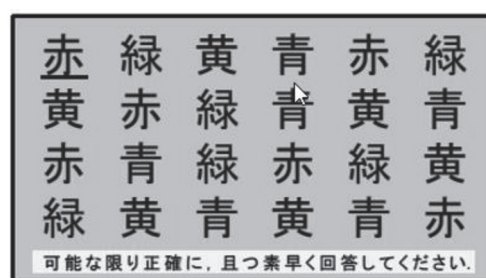


図2 ストループ課題 (Neutral task)

### 1. 2. 3 循環動態の測定

内頸動脈血流量は、ドップラー (ViVid-i, GE, Tokyo, Japan) により測定した<sup>8)</sup>。呼気終末二酸化炭素分圧 (P<sub>ET</sub>CO<sub>2</sub>) は、呼気ガス分析装置 (AE-310S, MINAI O MEDICAL SCIENCE CO,

Osaka, Japan) を用いて測定を行い、脳血流にセンシティブな動脈血二酸化炭素分圧 ( $\text{PaCO}_2$ ) の指標とした。また、平均心拍数 (HR) は、心電計 (日本光電社製, ZB-910P) を用いて測定を行った。主観的運動強度としてボルグスケール (RPE) を測定した。

## 2. 研究結果

心拍数及び RPE は、インターバル運動 (Ex1) の平均値 ( $\text{HR}:168 \pm 7\text{bpm}$ ,  $\text{RPE}:16 \pm 1$ ) と 20 分間連続運動 (Ex2) の平均値 ( $\text{HR}:162 \pm 15\text{bpm}$ ,  $\text{RPE}:16 \pm 1$ ) は、同様の値を示した。さらに、インターバル運動時、内頸動脈血流量は、運動直後高い値を示した (図 3)。ROS 産生の指標として TBARS 値は、Ex1 において、一定負荷運動直後、有意に増加した (図 4)。一方、Ex2 のインターバル運動前後では、TBARS は運動後、わずかに増加する傾向であったが有意な差は観察されな

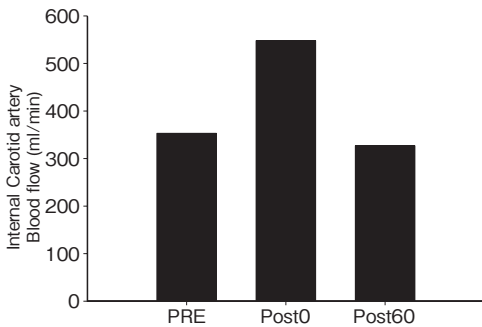


図3 インターバル運動による内頸動脈血流量への影響

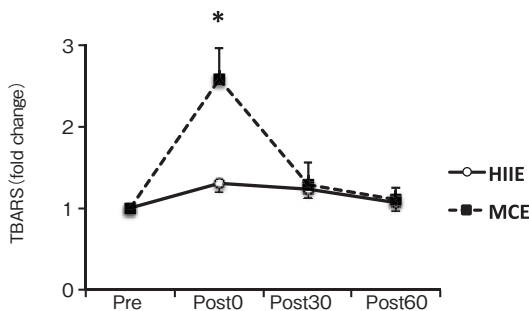


図4 運動後の脂質酸化ストレスの変化  
\* $p < 0.05$  vs. PRE

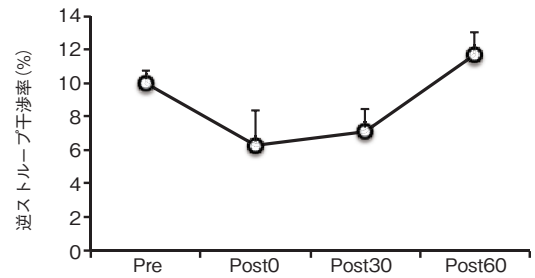


図5 運動による認知実行機能への影響  
(高強度インターバル運動のみ)

逆ストロープ干渉率が低値なほど実行機能が高まることを示す

かった。認知機能は、インターバル運動後、逆ストロープ干渉率で評価した実行機能が亢進する傾向がみられた (図 5)。

## 3. 考 察

本研究において得られた重要な知見は、運動前後の ROS 産生が、同じ仕事量の高強度運動においても、運動様式の違いにより影響を受けることである。つまり、図 4 に示されるように、連続した高強度運動では ROS 産生が大きくなる。一方、インターバル運動のように高強度の運動を行っているにもかかわらず、低強度の運動を高強度運動間に行うことにより ROS 産生が抑制された。さらに、インターバル運動後、ストロープ課題によって同定された認知実行機能も亢進傾向を示しており (図 5)、ROS 産生の抑制が脳機能の亢進に影響をもたらした可能性が示唆された。重要なことは、運動様式により、高強度の運動刺激でも ROS 産生のコントロール (抑制) が可能であることである。

ROS 産生は、運動強度に依存する<sup>1)</sup>が、特に、高強度においてその産生は顕著である。本研究では、連続運動と比較して、インターバル運動でより高強度の運動刺激であった (70% vs. 85%)。しかしながら、ROS 産生はインターバル運動において低値を示しており (図 4)、この知見は、ROS 産生において時間の影響、さらに運動様式



の違いがその産生を抑制, つまり同じ運動量の運動刺激を確保する場合, 低強度の運動を含むことにより, さらに高強度運動においても短時間の刺激により, ROS 産生が抑制される可能性が示された. 運動パラドックスを考慮する場合, 運動効果が得られ, また ROS 産生におけるマイナス要因 (認知機能の低下など) を抑制できる運動様式, どのように運動刺激を負荷していくかが重要かもしれない. 一方, 認知機能が, インターバル運動において亢進したことから, ROS 産生の抑制が, 運動による認知機能に影響した可能性が示された. しかしながら, 本研究では, 連続運動前後の認知機能の測定を行わなかった為, 認知機能と ROS 産生との関連性については明らかでなく, 今後の研究調査が必要であろう.

このインターバル運動の脳機能亢進の影響は, ROS 産生の抑制に加え, 脳循環動態への影響が, 連続運動と異なることが関連しているかもしれない. 我々は, 本研究において, 脳血管における拡張機能の評価を試みた. なぜなら, 連続高強度運動と比較して, 高強度インターバル運動でより脳疾患発症リスク軽減が軽減する生理メカニズムとして, 脳血管へのメカニカルな刺激, 特にシェアレイトが高強度インターバルトレーニングで大きくなることが考えられているからである<sup>7)</sup>. しかしながら, 十分に解析できるデータが本実験では得られず考察にまで至らなかった. 今後に取り組む実験の課題としたい. 以上, シェアレイトと運動様式に関して十分な生理学的エビデンスが得られているわけではなく, これらの疑問点を解決するためのデータを得るためのさらなる研究が必要である.

#### Limitation

本研究では, 実験サンプル数が少なく, 科学的実証を得られる知見は得られていない. しかしながら, 個人のデータの比較から, 活性酸素産生に

おいて運動様式の違いが影響することが示唆され, 今後の研究の指針となる重要な情報を提供した. しかしながら, 認知機能及び脳循環調節機能の測定が十分に得られなかった為, 本研究結果から活性酸素産生及び脳循環機能と脳機能との関連性について明らかにすることはできなかった. 本研究の知見をもとに今後の研究課題としたい.

#### 4. 結 語

本研究では, 一過性の高強度運動において, 運動様式の違いが, 同様の仕事量の運動にもかかわらず, 活性酸素の産生が異なることが明らかとなった. 高強度インターバル運動は, 連続高強度運動と比較して, 活性酸素産生が低値であった. このことは, 認知症予防の運動療法において, インターバル運動の生理学的利点を示すものである. また先行研究で報告されている, 運動インターバル運動がより, 循環系疾患発症リスクを軽減される生理学的エビデンスにおいて, 活性酸素産生が関連する可能性が示された.

#### 謝 辞

本研究の実施に対して助成をうけ賜いました, 公益財団法人石本記念デサントスポーツ科学振興財団に深く感謝いたします. また, 本研究の遂行にあたり, 多大なご協力を頂きました立命館大学の家光素行, 橋本健志, 吉川万紀, 橋爪夏香氏, ならびに東洋大学の鈴木一也氏に心より感謝の意を表します.

#### 文 献

- 1) Bailey D.M., Evans K.A., McEneny J., Young I.S., Hullin D.A., James P.E., Ogoh S., Ainslie P.N., Lucchesi C., Rockenbauer A., Culcasi M., Pietri S., Exercise-induced oxidative-nitrosative stress is associated with impaired dynamic cerebral autoregulation and blood-brain barrier leakage., *Exp. Physiol.*, **96**: 1196-1207, (2011)

- 2) Chrysant S.G., Current evidence on the hemodynamic and blood pressure effects of isometric exercise in normotensive and hypertensive persons., *J. Clin. Hypertens. (Greenwich)* 12: 721-726, (2010)
- 3) Cornelissen V.A., Smart N.A., Exercise training for blood pressure: a systematic review and meta-analysis., *J. Am. Heart Assoc.*, 2: e004473, (2013)
- 4) Hashimoto T., Tsukamoto H., Takenaka S., Olesen N.D., Petersen L.G., Sorensen H., Nielsen H.B., Secher N.H., Ogoh S., Maintained exercise-enhanced brain executive function related to cerebral lactate metabolism in men., *FASEB J.* 32: 1417-1427, (2018)
- 5) Inder J.D., Carlson D.J., Dieberg G., McFarlane J.R., Hess N.C., Smart N.A., Isometric exercise training for blood pressure management: a systematic review and meta-analysis to optimize benefit., *Hypertens. Res.*, 39: 88-94, (2016)
- 6) Lucas S.J., Ainslie P.N., Murrell C.J., Thomas K.N., Franz E.A., Cotter J.D., Effect of age on exercise-induced alterations in cognitive executive function: relationship to cerebral perfusion., *Exp. Gerontol.*, 47: 541-551, (2012)
- 7) Lucas S.J., Cotter J.D., Brassard P., Bailey D.M., High-intensity interval exercise and cerebrovascular health: curiosity, cause, and consequence., *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 35: 902-911, (2015)
- 8) Ogoh S., Lericollais R., Hirasawa A., Sakai S., Normand H., Bailey D.M., Regional redistribution of blood flow in the external and internal carotid arteries during acute hypotension., *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 306: R747-751, (2014)
- 9) Ogoh S., Tsukamoto H., Hirasawa A., Hasegawa H., Hirose N., Hashimoto T., The effect of changes in cerebral blood flow on cognitive function during exercise., *Physiol. Rep.*, 2: (2014)
- 10) Owen A., Wiles J., Swaine I., Effect of isometric exercise on resting blood pressure: a meta analysis., *J. Hum. Hypertens.*, 24: 796-800, (2010)
- 11) Tarumi T., Zhang R., Cerebral blood flow in normal aging adults: cardiovascular determinants, clinical implications, and aerobic fitness., *J. Neurochem.*, 144: 595-608, (2018)
- 12) Tsukamoto H., Hashimoto T., Olesen N.D., Petersen L.G., Sorensen H., Nielsen H.B., Secher N.H., Ogoh S., Dynamic Cerebral Autoregulation Is Maintained during High-Intensity Interval Exercise., *Med. Sci. Sports Exerc.*, (2018)
- 13) Tsukamoto H., Suga T., Takenaka S., Tanaka D., Takeuchi T., Hamaoka T., Isaka T., Ogoh S., Hashimoto T., Repeated high-intensity interval exercise shortens the positive effect on executive function during post-exercise recovery in healthy young males., *Physiol. Behav.*, 160: 26-34, (2016)