



運動による生体内の酸化還元反応の変化と、水素ガス吸入による酸化ストレス軽減の試み

渡辺慶太 (大学院体育学研究科) 宮崎誠司 (スポーツ医学研究所) 遠藤慎也 (健康学部)

Effect of exercise on redox reaction in plasma and attempt to reduce oxidative stress by inhalation of hydrogen gas

Keita WATANABE, Seiji MIYAZAKI and Shinya ENDO



Abstract

This study investigated changes in the redox reaction, which is a function for maintaining homeostasis. The following research was conducted here.

Changes in oxidative and antioxidant markers during exercise that rapidly increases oxidative stress In bicycle pedaling exercise corresponding to exercise load of 50% and 75% VO₂max, both oxidation and antioxidant markers increase during exercise, and the exercise load of 75% VO₂max has a large change.

Suppressing effect of oxidative stress caused by inhalation of hydrogen gas with high antioxidant capacity. It was suggested that inhalation of 670.000 ppm hydrogen gas before exercise changed the redox reaction in the bicycle pedaling exercise corresponding to the exercise load of 75% VO₂max.

(Tokai J. Sports Med. Sci. No. 33, 31-36, 2021)

I. 序論

生体は恒常性 (homeostasis) を維持するために、様々な方法を取得している。たとえば、運動時の心拍数や呼吸数増加などの生理学応答、外敵や異物が混入したときの免疫学的応答などである。1938年にH. セリエは「ストレスとは、どんな質問に対しても答えようとする身体の反応」というストレス理論を提示した。このように、さまざまな刺激により引起される非特異的な生体反応をストレスといい、この生体に加わる力をストレス

と呼ぶ。生体は、寒冷、暑熱、放射線などの物理的刺激、ホルマリン、毒物、酸素不足、栄養障害のような化学的刺激、身体的拘束や感染のような生物的刺激、怒り、不安、焦燥などの心理的要因などにさらされているが、どのような刺激に対しても生体内にあるいろいろな制御機構によって生体の恒常性を維持している。

生体は生命活動維持に多くのエネルギーを必要とする。そのため酸素を取り込み、有機物を水と二酸化炭素に分解することで多くのエネルギーを産生することができる。このため、運動を行ううえで外呼吸により酸素を生体内に取り込まなく

てはならない。しかしながら生体は酸素を活性化するうえで発生する活性酸素種 (Reactive Oxygen Species : ROS) には常に多くの酸化ストレスに曝された状態となるが、生体は酸化ストレスに対して様々な制御機構を働かせることで適応し、恒常性を維持している。

この ROS は生体内において DNA、脂質、蛋白質、酵素などの生体高分子と反応し、その結果として脂質過酸化、DNA 変異、蛋白質の変性、酵素の失活をもたらすといわれ、ROS を減少させる抗酸化物質の摂取が病的状態の予防だけでなくコンディショニングに重要になる。抗酸化物質は *vitamineC*・*E* や β カロチン、ポリフェノールなどがよく知られているが、近年水素ガスの有効性が示唆され始めてきている¹⁾。

そこで本研究は、研究①運動強度の違いが酸化および抗酸化マーカーに与える影響 研究②酸化ストレスを生体に与える強い強度の運動 (75% 最大酸素摂取量) における運動前水素ガス吸入が酸化および抗酸化マーカーに与える影響の2つの検討を行った。

II. 対象と方法

1. 対象

対象は日常的に運動習慣のない男性6名 (年齢: 22.8 ± 1.2 歳、身長: 164.6 ± 9.9 cm、体重 65.8 ± 8.2 kg) である。被験者の中に喫煙習慣ある、薬やサプリメントを服用しているはいなかった被験者には、測定前日の飲酒、激しい運動 飲酒は控えるように指示をした。また本研究は、東海大学「人を対象とする研究」に関する倫理委員会の承認を受け実施した。(承認番号: 20050)

2. 方法

1) 研究①

事前に最大酸素摂取量 (VO₂max) および、最大酸素摂取量時における自転車エルゴメータの負荷を測定した。なお、呼気ガスの分析は据置型呼

気分析器 (Quark CPET : COSMED 社製) を用いて、自転車エルゴメータの斬増負荷法により最大酸素摂取量を測定した。得られた最大酸素摂取量時のエルゴメータの負荷量の50%および75%の負荷量を30分間のペダリング運動を行った。酸化および抗酸化マーカーの測定は運動直前と直後に行い比較した。

2) 研究②

水素ガスの吸入が酸化および抗酸化マーカーに与える影響を調べるため75% VO₂max に相当する30分間の自転車ペダリング運動の直前に水素酸素吸入器 (SUISOKUN、三輪環境社製) にて生成された670.000ppm 水素酸素ガス (水素発生量、約600cc/min 水素67%、酸素33%) を経鼻より30分間吸入した。血漿中の酸化および抗酸化マーカーの測定は運動直前・直後に行い、水素ガスを吸わない場合と比較した。

3) 分析項目

(1) 酸化度の測定 (Diacron-Reactive Oxygen Metabolites : 以下 d-ROMs テスト)

酸化度の測定は、フリーラジカル解析装置 (FREE Carrio Duo : DiacronInternational 社製) を用いて行った。得られた血液をフリーラジカル解析装置に備え付けられた遠心分離器にて2分間遠心分離し (6000rpm)、遠心分離により得られた血清20 μ l を pH4.8の酸性緩衝液に入れ混合させた後、無色の芳香族アミン水溶液 (呈色液クロモゲン) 20 μ l を加えて混合し、フリーラジカル解析装置の光度計に入れ、3分間分析し、得られた結果を d-ROMs 値 (酸化度) として記録した。d-ROMs テストの基準値は、正常値: 200-300、ボーダーライン: 300-320、軽度の酸化ストレス: 321-340、中程度の酸化ストレス: 341-400、強度の酸化ストレス: 401-500、かなり強度の酸化ストレス: 501以上とされており、単位は CARR U である²⁾。

(2) 抗酸化力の測定 (Biological Antioxidant Potential : 以下 BAP テスト)

抗酸化力の測定は、フリーラジカル解析装置を用いて行った。三価鉄塩に無色のチオアシン酸塩 50 μ l を混合させ、光度計で 5 秒間分析した後、遠心分離によって得られた血清 10 μ l を加えて混合し再び光度計で 5 分間分析し、得られた結果を BAP 値（抗酸化力）として記録した。BAP テストの基準値は、最適値：2200以上、ボーダーライン：2000-2199、抗酸化力がやや不足：1800-1999、抗酸化力が不足：1600-1799、抗酸化力がかなり不足：1400-1599、抗酸化力が大幅に不足：1399以下とされており、単位は μ mol/L である²⁾。

(3) 潜在的抗酸化能 (BAP 値 / d-ROMs 値)

抗酸化力を表す BAP 値を、酸化度を表す d-ROMs 値で除することで潜在的抗酸化能を算出した。潜在的抗酸化能の基準値は 7.33 であり、数値が高くなるにつれ、酸化度に対して抗酸化力の割合が高くなる。

4) 分析方法

得られたデータの分析はエクセル統計 (ver3.21, BellCurve) を用い、多元配置分散分析を行った。有意差が認められた項目について Bonferroni の多重比較を用いて検討を行った。有意水準は 0.05 とした。

III. 結果及び考察

1. 研究①運動強度を変えた場合の酸化および抗酸化マーカーの変化

50% VO₂max の運動負荷においては運動前の d-ROMs 値は 281.3 \pm 39.0 CARRU、BAP 値 2145.5 \pm 236.8 μ mol/L、潜在的抗酸化能 (BAP / d-ROMs 比) 7.79 \pm 1.74 で、運動後には d-ROMs 値は 287.7 \pm 35.2 CARRU、BAP 値 2294.8 \pm 110.6 μ mol/L、潜在的抗酸化能 (BAP / d-ROMs 比) 8.09 \pm 1.24 であった。75% VO₂max の運動負荷においては運動前の d-ROMs 値は 308.3 \pm 60.6 CARRU、BAP 値 2222.2 \pm 90.8 μ mol/L、潜在的抗酸化能 (BAP / d-ROMs 比) 7.40 \pm 1.25 で、運動

後には d-ROMs 値は 324.5 \pm 53.3 CARRU、BAP 値 2579.7 \pm 138.3 μ mol/L、潜在的抗酸化能 (BAP / d-ROMs 比) 8.70 \pm 1.52 であった。

d-ROMs 値は運動前・後とも 50% VO₂max と 75% VO₂max の間に有意な差が、また運動前と後の間では 75% VO₂max のみ有意な差を認めた (図 1)。BAP 値は運動後に 50% VO₂max と 75% VO₂max の間に有意な差が、また運動前と後の間では 75% VO₂max のみ有意な差を認めた (図 2)。潜在的抗酸化能 (BAP / d-ROMs 比) は運動前・後ともに 50% VO₂max と 75% VO₂max の間に有意な差を認めなかったが、また運動前と後の間では 75% VO₂max のみ有意な差を認めた (図 3)。

運動時には、活動組織での酸素需要が増大し、生体は呼吸数、心拍数、心拍出量の増加をもって対応し酸素摂取量を増大させ、生体の酸素摂取量は安静時の 10-15 倍に達し、活動筋レベルでの酸素摂取量はおおよそ 100 倍にまで達するとされている⁵⁾。本研究結果においても運動負荷が多くなり、エネルギー需要が高まる状態において酸化ストレスが多くなり、合わせて還元能も増加していることが判明している。

生体は恒常性 (homeostasis) を維持する反応として、運動により心肺機能の向上や免疫系にも影響する。過度の酸化ストレスは脂質や DNA、タンパク質などの生体分子に変性的修飾や障害を与え、細胞機能障害や細胞死を引き起こすため、がんや老化、動脈硬化などの重要な原因の 1 つであると考えられている。一方、軽度の酸化ストレスは細胞の増殖やアポトーシスといった生体にとって防衛的に働く応答を誘導する。ホルミシス (Hormesis) 効果の裏付けとして、一定以上の運動強度を起こすことは生体が持つ酸化ストレスに対しておこる様々な制御機構を惹起する可能性はあると考えられる³⁾。

2. 研究②水素ガスの吸入が酸化および抗酸化マーカーに与える影響

75% VO₂max の運動負荷においては水素ガスを運動前に吸入した場合は、運動前の d-ROMs

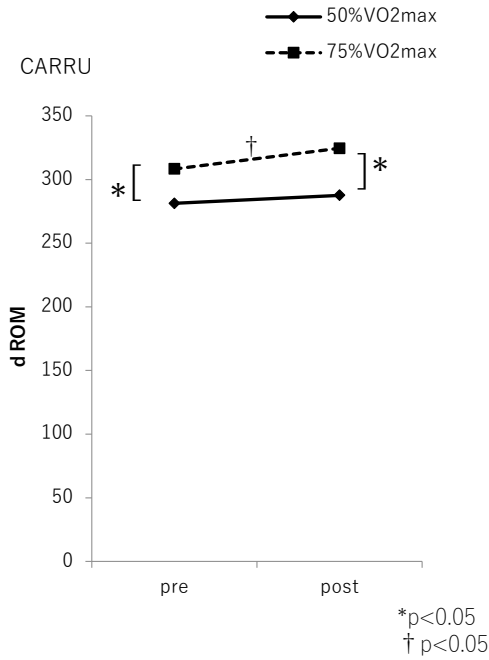


図1 50%または75% VO2max の運動負荷における d-ROM テストの変化
Fig. 1 Changes in d-ROM test at 50% or 75% VO2max exercise load

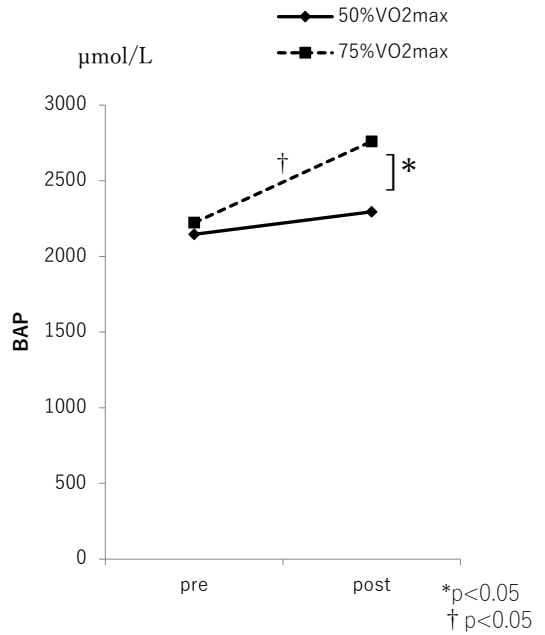


図2 50%または75% VO2max の運動負荷における BAP テストの変化
Fig. 2 Changes in BAP test at 50% or 75% VO2max exercise load

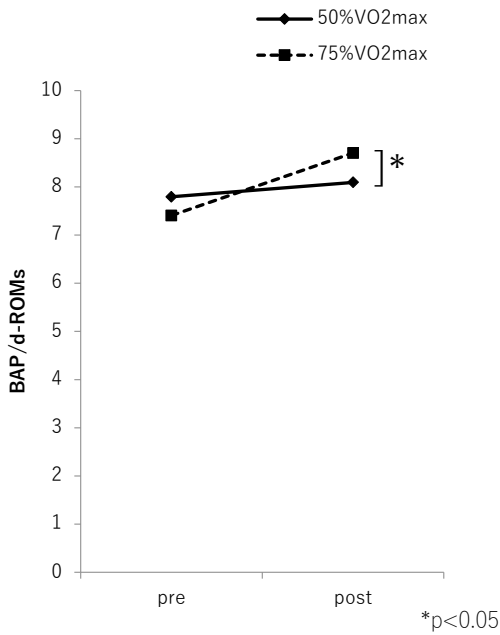


図3 50%または75% VO2max の運動負荷における BAP/d-ROM ratio の変化
Fig. 3 Changes in BAP / d-ROM ratio at 50% or 75% VO2max exercise load

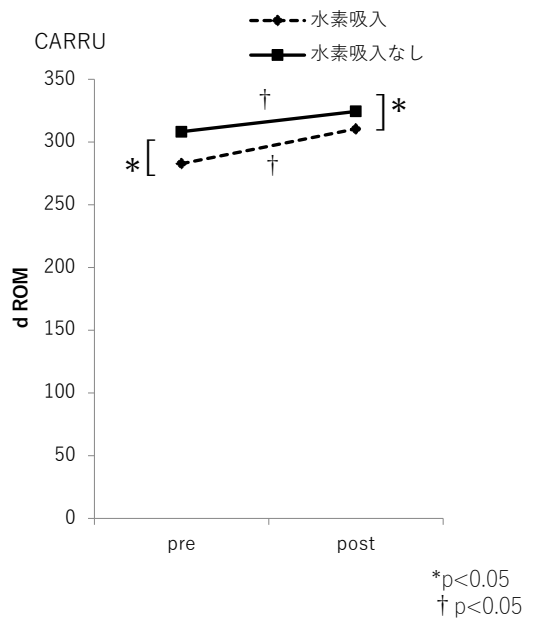


図4 75% VO2max の運動負荷における d-ROM test に対する水素ガス吸入の影響
Fig. 4 Effect of hydrogen gas inhalation on d-ROM test on exercise load of 75% VO2max

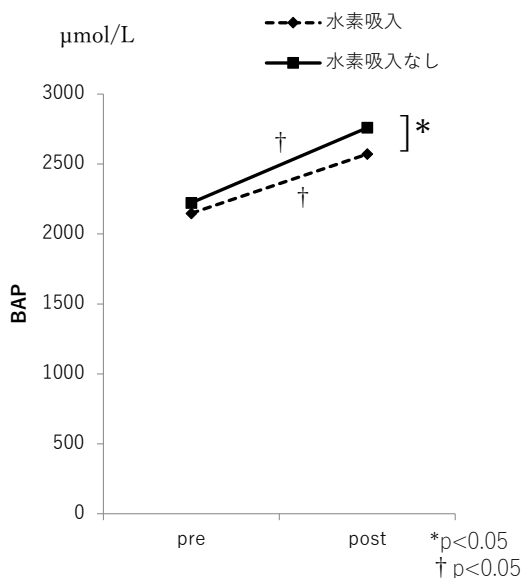


図5 75% VO₂max の運動負荷における BAPtest に対する水素ガス吸入の影響
Fig. 5 Effect of hydrogen gas inhalation on BAP test on exercise load of 75% VO₂max

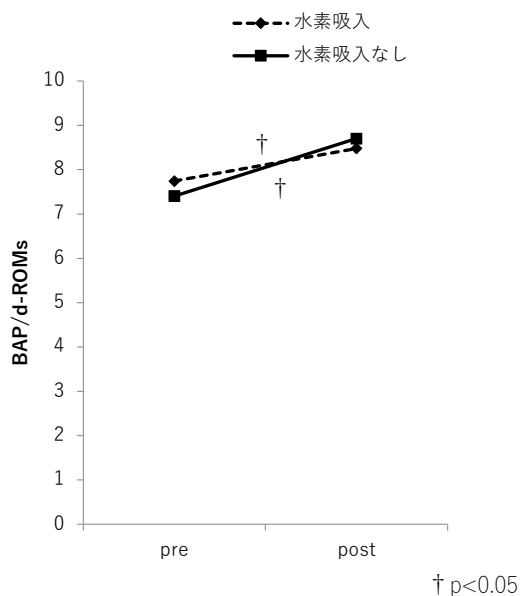


図6 75% VO₂max の運動負荷における BAP/d-ROM ratio に対する水素ガス吸入の影響
Fig. 6 Effect of hydrogen gas inhalation on BAP / d-ROM ratio on exercise load of 75% VO₂max

値は 282.8 ± 57.5 CARRU、BAP 値 2147.3 ± 267.4 μmol/L、潜在的抗酸化能 (BAP / d-ROMs 比) 7.74 ± 1.19 で、運動後には d-ROMs 値は 310.5 ± 58.7 CARRU、BAP 値 2571.2 ± 166.7 μmol/L、潜在的抗酸化能 (BAP / d-ROMs 比) 8.48 ± 1.34 であった。

d-ROMs 値は運動前・後とも水素ガス吸入群と非吸入群の間に有意な差が、また運動前と後の間でも水素ガス吸入群と非吸入群ともに有意な差を認めた (図4)。しかし、運動前 d-ROMs 値に差があり、変化量には差を認めていない。運動前の BAP 値は運動後に水素ガス吸入群と非吸入群の間に有意な差を認め、運動前と後の間には水素ガス吸入群と非吸入群ともに有意な差を認めた (図5)。潜在的抗酸化能 (BAP / d-ROMs 比) は運動前・後とも水素ガス吸入群と非吸入群の間に有意な差を認めなかったが、また運動前と後の間では両群とも有意な差を認めた (図6)。

この結果から水素ガスの吸入に d-ROM は変化なく、しかし BAP 値は低下することが明らかとなった。このことは水素ガスの吸入は ROS の発

生を抑え酸化ストレスの軽減のため還元能も増加しなかった可能性が示唆される。この評価には今後のさらなる検討が必要である。ただ、運動のような急激に起こる酸化ストレスと生活習慣で起こるような慢性に起こる酸化ストレスは同じとは言えない。さらには d-ROM テスト、BAP テストもどのような意味合いなのか、尿中8-OHdG や AGEs の値など組み合わせた中で水素ガスも含めた効果的な抗酸化物質の摂取のタイミングは今後の研究が必要と考える。

IV. 結語

1. 強度を変えた自転車ペダリング運動前後の酸化ストレス並びに抗酸化力を測定した。運動強度が上がると酸化ストレス並びに抗酸化力も増加していた。
2. 75% VO₂max の強度の自転車ペダリング運動直前に水素ガスを吸入した場合、吸入がない場合に比べ抗酸化能のみ低下していた。

参考文献

- 1) 大澤郁朗: 水素分子医学の現状と展望, 基礎老化研究 35, 1-8, 2011.
- 2) Halliwell B, Gutteridge JMC: Free Radicals in Biology and Medicine 3rd Ed, Oxford University Press, 1998, 1-936.
- 3) Zsolt R, Hae Y, Chung d, Erika K, Albert W. Taylor b, Sataro Goto: Exercise, oxidative stress and hormesis. Ageing Res Rev, 2008, 7, 34-72.