

運動による血中脂質及びGSH-px活性の変動

徳田修司・山田博・奥保宏

(2001年10月15日 受理)

Changes in plasma lipid and glutathione-peroxidase
activity due to aerobic bicycle exercise

TOKUDA Shuji · YAMADA Hirohisa · OKU Yasuhiro

Abstract

The purpose of this study was to investigate the effects of regular aerobic exercise on plasma lipid levels and GSH-px activity in human male subjects. An aerobic exercise group (5) and a rugby football player group (6) performed 30 minutes of aerobic exercise on a bicycle ergometer. Plasma NEFA, LPO concentration and plasma GSH-px activity were measured before, immediately after and 30 min. after the exercise.

The results were as follows: 1) Pre-exercise levels of plasma NEFA, LPO and GSH-px in the regular aerobic exercise group were lower than those of the rugby football player group. 2) In the regular aerobic exercise group, plasma NEFA levels were increased, but plasma LPO and GSH-px levels were showed no significant change as a result of the 30 min. bicycle ergometer exercise. In the rugby football player group, slight elevations of plasma NEFA and LPO were observed, but GSH-px was unchanged immediately after the exercise. 3) In the regular aerobic exercise group, plasma NEFA levels had decreased at 30 min. after the exercise, but they were higher than the pre-exercise levels. Plasma LPO levels were not changed, but at 30 min. after the exercise plasma GSH-px activity had increased compared with immediately after the exercise. In the rugby football player group, plasma NEFA levels were not changed. Plasma LPO was increased, but plasma GSH-px activity was unchanged at 30 min. after the exercise compared with immediately after the exercise. These results indicate that regular aerobic exercise may induce enzymatic adaptation with higher GSH-px activity and maintain a higher level of plasma LPO with exercise at a lower level.

keywords : aerobic exercise, plasma GSH-px, plasma LPO, plasma NEFA

I はじめに

近年、運動による健康づくりが重要視され、有酸素運動としてのウォーキングやジョギングが盛んになった。しかし、一方では運動による酸素ラジカルの有害性が指摘され、運動のやり方によっては運動が有害となることが指摘された。生体内で発生した酸素ラジカルは、過酸化脂質の生成を促し^{1),2),3),4),5)}、また細胞膜やDNAの損傷^{5),6)}を引き起こし、最終的には種々の疾病の原因となることが知られている。

生体では呼吸によって消費される総酸素量の約2%の活性酸素が常に発生しているといわれている。活性酸素種には O_2^- 、 H_2O_2 、 $OH\cdot$ などが知られており、生体にはこれらの活性酸素種を消去するシステムが備わっている。活性酸素種に対する防衛系としては、SOD (スーパーオキシドディスムターゼ)、GSH-px (グルタチオンパーオキシダーゼ)、カタラーゼなどの抗酸化酵素群やビタミンE、ビタミンCなどの抗酸化物質が生体には存在している。

酸素ラジカルに関する研究は数多くなされており、酸素ラジカルの発生と抗酸化作用の関係については動物実験により心筋、肝臓、骨格筋などの種々の組織を用いて研究がなされている^{7),8),9),10),11)}。一般に活性酸素種は、反応性に富んでおり変化が激しいことから捕捉することがむずかしく測定法はたくさん開発されており、化学的方法やHPLC法、スピンラッピング剤を用いたESR分析法などにより直接活性酸素を測定したり、ビタミンCやビタミンEなどの活性酸素関連低分子化合物の測定、免疫学的方法による抗酸化酵素活性の測定などが行われている¹²⁾。

この様に多くの測定法があるために、それらの実験の結果は必ずしも一定の見解が得られておらず、実験条件の違いや測定法の違いによるものであろうと説明されている。

生体内の抗酸化作用は、特定の栄養素や運動によって変動をされると考えられており、特定のサプリメントの作用や激しい運動による活性酸素種の動態についての報告は多い^{11),13)}。

種々の原因によって発生した O_2^- はSODの働きで H_2O_2 に変わり、次にカタラーゼやGSH-pxによって無害化される。この一連の化学反応の中で O_2^- の発生に関与するSOD活性と運動の関係についての研究は多い^{3),5),7),10),14)}。しかし、発生した H_2O_2 を処理するGSH-pxと運動の関係についての研究は比較的少ない。また、多くの研究が VO_2Max 80%以上の強度の高い運動や低酸素状態を意識したもの¹⁾であり、中等度の有酸素運動の運動強度での検討は少ない。有酸素運動においても酸素摂取量は増え、エネルギー源としての遊離脂肪酸が血中に増えることは予想され、酸素による脂肪酸酸化の動態を知ることは重要であると考えられる。

本実験では、運動による血中NEFA (遊離脂肪酸) や血中LPO (過酸化脂質) の動態と血中GSH-px活性の適応性について検討するために日頃ジョギングやランニングを定期的に行っている被検者と有酸素運動ではない運動の実践者を用いて、健康運動の運動強度である中等度の有酸素運動の前後で血中脂質の動態と抗酸化酵素活性について比較検討することを目的とした。

II 実験の方法

1. 被検者

Table 1に本実験の被検者の特性を示した。A群は、定期的な有酸素運動を実施しているグループとして日頃、1週間当たり4～5日ランニングを行っているグループで年齢18歳から52歳の男性5名であり、B群は、定期的な有酸素運動を行っていない対照群であり、日頃部活として練習しているラグビーフットボール選手で19歳から23歳の男性6名であった。A群の平均身長が 168.3 ± 2.73 cm, 平均体重が 61.9 ± 9.0 kg, 平均BMIが 21.8 ± 2.63 であった。また、B群の平均身長は 170.3 ± 3.69 cm, 平均体重が 72 ± 5.05 kg, 平均BMIが 25.5 ± 0.99 であった。

被検者には本実験の内容について説明し、被検者となることの同意を得て参加してもらった。

Table1. Physical characteristics of subjects

Group	n	Age(yr.)	Height (cm)	Weight (kg)	BMI
A	5	18~52	168.3 ± 2.73	61.9 ± 9.0	21.8 ± 2.63
B	6	19~23	170.3 ± 3.69	74.2 ± 5.1	25.5 ± 0.99

(Mean \pm SD)

2. 運動負荷と負荷強度

運動負荷は、モナーク社の自転車エルゴメータを用い、1分間に50回転のスピードで平均心拍数が一分間に120拍を維持するように設定した。自転車運動時間は、30分間とした。

3. 採血と測定項目および測定方法

被検者は、自転車運動実施前10分の空腹時に運動前値の採血、30分の自転車運動直後に運動直後値の採血、運動終了から30分して回復期30分値の採血を行った。血液は、採取後速やかに血漿を分離して測定まで -80°C に凍結保存した。

測定項目は、血漿中GSH-px (グルタチオンパーオキシダーゼ) と血漿中NEFA (遊離脂肪酸) および血漿中LPO (Lipid Hydroperoxide) であった。GSH-pxは、ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) 法によるBIOXYTECH社 (USA) のpl/GPx Enzyme Immunoassayキット、NEFAの測定は、アシルCoAシンセターゼとアシルCoAオキシダーゼを用いた(酵素法)カイノス社 (JAPAN) のキット、LPOの測定は、クロロホルム/メタノールで抽出した試料について二価の鉄イオンを用いた酸化還元反応を利用して直接測定し、マイクロプレートリーダーにより λ max: 500 nmで比色定量するCayman Chemical社 (USA) のキットを用いて測定した。

4. 結果の統計学的処理

有意差の検定は、一元分散分析を行い、危険率5%以下をもって有意水準とした。図中のデータは、平均値±標準誤差 (Mean ± SE) で示した。

Ⅲ 結果

1. 負荷強度

- ① 平均心拍数は、A群で運動開始5分目に116拍、運動開始10分から運動終了30分までの20分間で 123 ± 1.1 拍、B群で運動開始5分目に117拍、運動開始10分から運動終了30分までの20分間で 122 ± 1.2 拍であった。
- ② 負荷強度の平均は、A群で運動開始5分目に1.9kp、運動開始10分から運動終了30分までの20分間で 1.87 ± 0.1 kp、B群で運動開始5分目に1.9kp、運動開始10分から運動終了30分までの20分間で 1.82 ± 0.05 kpであった。

2. 血漿遊離脂肪酸 (pl/NEFA) の変動

Fig1. に pl/NEFA の変動を示す。

運動前安静時の pl/NEFA は、A群はB群に比べ有意に低い値を示した。運動直後および運動後30分の pl/NEFA 値もB群の方が高い値を示した。

A群では、運動直後および運動後30分ともに pl/NEFA が運動前値より有意に高く、平均値の増加は、それぞれ4.11倍および3.04倍であった。B群では、運動直後および運動後30分ともに運動前値に比べ変動がみられなかった。

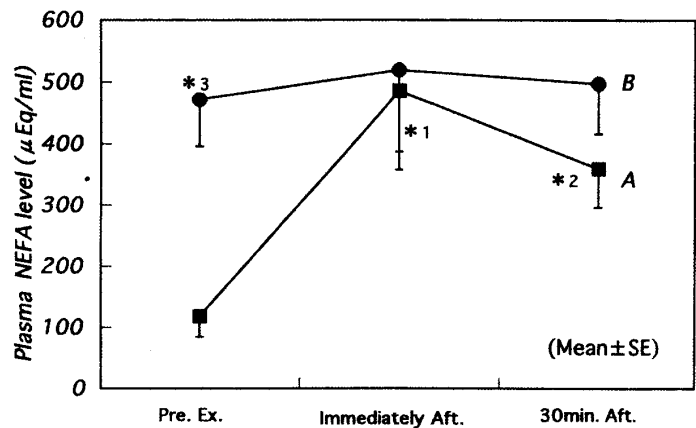


Fig.1 Changes in plasma NEFA concentration due to aerobic bicycle exercise

* 1 : Pre.Ex. vs. Immediately Aft. in A ; $p < 0.05$

* 2 : Pre.Ex. vs. 30 min. Aft. in A ; $p < 0.05$

* 3 : B vs. A in Pre. Ex. ; $p < 0.05$

3. 血漿過酸化脂質 (pl/LPO) の変動

Fig2. にpl/LPOの変動を示す。

運動前の安静時におけるpl/LPO濃度は、B群がA群よりわずかに高かった。運動直後および運動後30分におけるpl/LPO濃度もB群が高かったが有意ではなかった。

A群では運動前値と比べ運動直後にわずかに高く、運動後30分には運動前値に比べわずかに低い値を示したが有意な変動ではなかった。一方、B群では運動前値に比べ運動直後に1.3倍の増加、運動後30分に1.48倍の増加を示した。しかし有意な増加ではなかった。

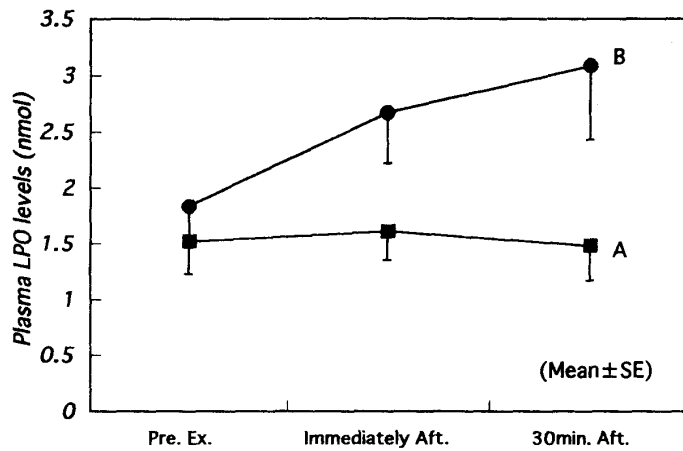


Fig.2 Changes in plasma LPO levels due to aerobic bicycle exercise

4. 血漿グルタチオンパーオキシダーゼ (pl/GSH-px) の変動

Fig3. にpl/GSH-pxの変動を示す。

pl/GSH-px濃度についてA群とB群を比較するとB群の方が運動前の安静時に約2.5倍、運動の直後に2.5倍と有意に高い値を示した。運動後30分の値は、1.8倍高かったが有意ではなかった。また、A群では運動前値に比べ運動直後にやや低下し、運動後30分に約1.3倍の増加 ($p < 0.1$) であった。しかし、B群では運動前値と比較してほとんど変動はみられなかった。

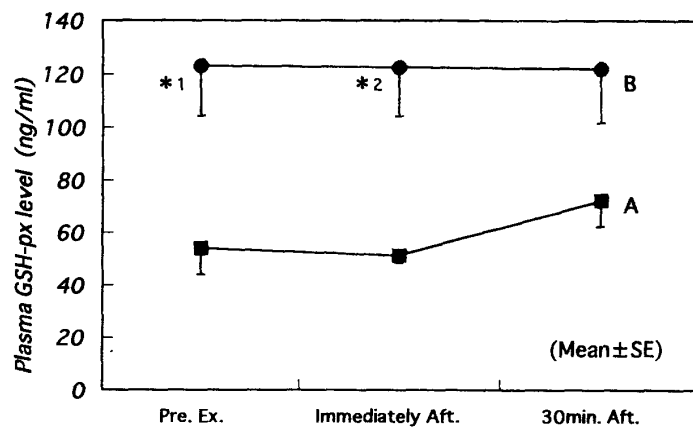


Fig.3 Changes in plasma GSH-px concentration aerobic bicycle exercise

* 1 : B vs. A in Pre. Ex. ; $p < 0.05$

* 2 : B vs. A in Immediately Aft. ; $p < 0.05$

IV 考 察

日頃、ジョギングやランニング等の有酸素運動を習慣的に実行している被検者では安静時の血中遊離脂肪酸値は、定期的な有酸素運動を実行していないB群に比べ低い値を示した。

このことはB群のBMIがA群に比べ高く、体脂肪量がB群で高かったこととも関係していると思われる。

しかし、A群では運動を開始するとpl/NEFA値は、安静時の2～3倍の増加を示した。一方、定期的な有酸素運動を実行していないB群では運動前値と運動後値を比較しても著明な変動がみられなかった。このことは、定期的な有酸素運動を実施しているとエネルギー源として貯蔵脂肪組織から血中に遊離脂肪酸を放出する働きが高く、有酸素運動のエネルギーとして脂肪酸を効果的に使うことができるような適応ができているものと考えられる。荒尾ら³⁾は、動物実験で急性の遊泳運動実験でも血清NEFAが著明に上昇したと報告し、Mougiosら¹⁵⁾もハンドボールの試合で徐々に血漿NEFAが増加したと報告している。Mullaら¹⁶⁾は、VO₂Maxの40%の強度より60%の時の方がNEFAの動員が大きかったと述べ、NEFAの血中への動員は運動強度にもよることが推測できる。また、運動により増加した脂肪酸のU/S比を調べてみるとこの比は大きくなる(U/S > 1)ことが示され^{15), 17), 18)}、不飽和脂肪酸が利用されるようになることが示唆される。

低酸素状態が考えられる運動や急性の運動、さらにVO₂Maxの80%以上の高強度の運動では運動直後に血中の過酸化脂質は増加し、高強度の運動では運動後60分でも高い値を示す^{1), 2), 3), 4)}。血中の過酸化脂質の変動は、A群においては運動による変動がほとんどみられず一定の値を保っている。しかし、B群では安静時のpl/LPOもA群より高く、さらに運動によって徐々に増加していた。このことは有酸素運動により酸素の摂取量が増えると脂肪酸の酸化が促進され、B群ではそれに伴ってpl/LPOも増えていると考えられる。

血中のグルタチオンパーオキシダーゼ(pl/GSH-px)活性は、B群では安静時にA群より高い値を示しているが運動による活性の上昇はみられない。しかし、A群では有酸素的な運動により運動後30分には高く(p < 0.1)になっている。運動による抗酸化酵素(SODとGSH-px)の活性の変動に関する研究は多く、心筋や肝臓、骨格筋、赤血球等の組織や器官における活性について測定されており^{7), 8), 9), 10), 14)}、SOD活性もGSH-px活性も適当な強度の運動では増加し、過酸化脂質を減少させる効果があるという結果を示した報告が多い。

一方、生体内の抗酸化酵素活性は、運動だけでなく摂取する栄養素によっても変動し、運動との併用がより効果的な抗酸化作用の増強を引き起こす事を示唆している。Sumidaら¹³⁾は、高脂肪食を与えたラットの抗酸化酵素活性は変化がなかったが5%のサフラワーオイルを与えたグループでは肝臓のGSH-px活性が有意に上がったと報告し、Avelliniら¹¹⁾は、馬にビタミンEとセレンウムのサプリメントを投与したところ細胞外液と赤血球において抗酸化作用が増加したと述べている。このように栄養による抗酸化作用の変動も重要な面であり、運動の効果を上げるためにも抗酸化物

質の補給，さらに抗酸化酵素に必要な微量元素の補充も大切であると考えられる。従って，被検者の栄養摂取状態も結果に反映されているものと考えられる。今回は，栄養状態の調査を行っていないので被検者の栄養因子の関与については言及できない。

定期的に有酸素運動を続けている被検者においては，安静な状態での血中抗酸化作用は，定期的有酸素運動を行っていない対照群に比べ低かった。しかし，運動を始めるとエネルギー源としての遊離脂肪酸の動員は，有酸素運動実施群が大きくなった。このことは有酸素運動群（A群）は血中脂質の過酸化を受けやすいと考えられる。しかし，A群では運動によって血漿中のGSH-px活性は運動の30分後に上昇しており，血中の過酸化脂質は安静時よりやや低く維持されていた。一方，B群では運動により血中脂質はあまり増加せず，しかし，血中過酸化脂質は増加した。このことは，B群の血漿GSH-px活性がほとんど変動していないことから，血中の脂質が運動の進行につれて増加する酸素から酸素ラジカルが生成し，脂肪酸を酸化し，過酸化脂質が増えたのであろうと推測された。

以上のことから，定期的に行う有酸素的運動は，血中の抗酸化酵素であるグルタチオンパーオキシダーゼの活性を高め，運動によりエネルギー源として遊離される脂肪酸の酸化による過酸化脂質の発生を低く保つような適応が成立していると考えられた。

V 総括

定期的に有酸素運動を実施しているグループと定期的な有酸素運動を実施していないグループをそれぞれ被検者とし，自転車を用いた有酸素運動を負荷し，血中の脂質（NEFA），過酸化脂質（LPO），グルタチオンパーオキシダーゼ（GSH-px）活性を比較検討した。その結果，(1)有酸素運動実施群（A群）では，安静時のNEFA値，LPO値，GSH-px活性値が有酸素運動を定期的に行っていない群（B群）よりいずれも低かった。(2)運動直後にA群では，NEFA値のみが増加し，LPO値，GSH-px活性値はそれほど変動しなかった。B群では，LPO値のみが僅かに増加したが，NEFA値とGSH-px活性値は変動しなかった。(3)運動後30分にA群では，運動直後に比べNEFA値とLPO値が低下，GSH-px活性値は増加した。一方B群では，運動直後と比べNEFA値とGSH-px活性値はほとんど変わらず，LPO値が増加した。以上の結果から，定期的に有酸素運動を続けていると運動により血中へ効率よく遊離脂肪酸が動員されるようになり，且つ遊離脂肪酸の酸化をGSH-px活性の増加により低くおさえるような適応が生じていることが推察された。

参 考 文 献

- 1) 堤 達也, 青木和江, 後藤芳雄, 喜多尚武 (1983): 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.
- 2) 荒尾 孝, 青木和江, 峰岸由紀子, 永松俊哉 (1990): 血清過酸化脂質に及ぼす運動負荷の影響—運動強度について—. 体力研究, 74, 10~17.
- 3) 荒尾 孝, 青木和江, 峰岸由紀子, 永松俊哉 (1990): 急性遊泳運動負荷がラット血清及び組織中の過酸化脂質と組織SOD活性に及ぼす影響. 体力研究, 76, 43~51.
- 4) 荒尾 孝 (1992): 運動負荷と生体内過酸化脂質及び活性酸素消去酵素活性. 運動生化学, 3, 4, 76~82.
- 5) Jan Karlsson(1994): Antioxidants and Exercise. Human Kinetics.
- 6) Zsolt RADAK, Helga OGONOVSKY, Albert W. TAYLOR and Sataro GOTO(2001): Exercise-induced Alteration of Oxidative DNA Damage. Adv Exerc Sports Physiol,7(2),43~46.
- 7) Miyazaki H., Ohishi S., Ookawara T., Kizaki T., Toshinai K., Ha S., Haga S., Ji LL. and Ohno H. (2001): Strenuous endurance training in humans reduces oxidative stress following exhausting exercise. European Journal of Applied Physiology, 84(1-2), 1~6.
- 8) Powers SK. and Lennon SL.(1999): Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. Proceedings of the Nutrition Society, 58(4),1025~1033.
- 9) Somani SM. and Husein K. (1996): Exercise training alters kinetics of antioxidant enzymes in rat tissues. Biochemistry Mol Biol Int, 38(3), 587~95.
- 10) Avula CPR. and Fernandes G. (1999) Modulation of antioxidant enzymes and lipid peroxidation in salivary gland and other tissues in mice moderate treadmill exercise. Aging Clinical and Experimental Research,11(4), 246~252.
- 11) Avellini L., Chiaradia E. and Gaiti A.(1999):Effect of exercise training, selenium and vitamin E on some free radical scavengers in horses(Equus caballus). Comparative Biochemistry and Physiology B Biochemistry and Molecular Biology, 123(2), 147~154.
- 12) 谷口直之 監修 (1994): 活性酸素実験プロトコール. 秀潤社
- 13) Sumida S., Satoko KUBO, Akiko KOJIMA and Yohko SUGAWAKATAYAMA(1995):Effects of Exercise Training and High Fat Diets on Antioxidant Status in Rats Treated with 1,2-Dimethylhydrazine. Adv Exerc Sports Physiol, 1(2), 23~29.
- 14) Koska J., Blazicek P., Marko M., Grna JD., Kvetnansky R. and Vigas M.(2000): Insulin, catecholamines, glucose and antioxidant enzymes in oxidative damage during different loads in healthy humans. Physiol Res, 49 Suppl, 1 S95~100.
- 15) Mougios V., Kotzamanidis C., Koutsari C. and Atsopardis S.(1995):Exercise induced changes in the concentration of individual fatty acids and triacylglycerols of human plasma. Metabolism, 44(5), 681~8.
- 16) Mulla NA., Simonsen L. and Bulow J.(2000):Post-exercise adipose tissue and skeletal muscle lipid metabolism in humans: the effects of exercise intensity. J Physiol, 524, 3919~28.
- 17) McClelland G., Zwingelstein G., Taylor CR. and Weber JN.(1995): Effect of exercise on the plasma nonesterified fatty acid composition of dogs and goats: species with different aerobic capacities and diets. Lipids, 30(2), 147~53.
- 18) Mougios V., Kouidi E., Kyparos A. and Deligiannis A.(1998): Effect of exercise on the proportion of unsaturated fatty acids in serum of untrained middle age individuals. Br J Sports Med, 32(1), 58~62.