

氏名(国籍)	ジョート ラダコ ZSOLT RADAK (ハンガリー)		
学位の種類	博 士 (体育科学)		
学位記番号	博 甲 第 1,583 号		
学位授与年月日	平成 8 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	体育科学研究科		
学位論文題目	The effects of single bout of exhaustive exercise, training at sea level and high altitude on antioxidant enzyme status and lipid peroxidation : protective effects of exogenous and native superoxide dismutase. (抗酸化系酵素および過酸化脂質に及ぼす激運動および常圧下, 低圧下トレーニングの影響: 外因性および内因性 SOD (superoxide dismutase) の効果)		
主査	筑波大学教授	医学博士	浅野 勝己
副査	筑波大学教授	医学博士	松田 光生
副査	筑波大学講師	医学博士	徳山 薫平
副査	筑波大学教授	理学博士	坂内 四郎

## 論 文 の 要 旨

### 1. 研究目的

運動トレーニングによる体内への酸素摂取量の増大に伴い活性酸素が生成され、これが酸化ストレスとして細胞内 DNA の損傷や細胞膜の過酸化による過酸化脂質 (TBARS) をもたらし、細胞機能の低下することが指摘されている。一方、生体には何重もの活性酸素消去系が備わっていて、生成された活性酸素を速やかに除去し、脂質過酸化や DNA 損傷を防御している。しかし疲労困憊に至るような激運動や低圧下トレーニングのような生体が著しい酸素不足に陥る状態における活性酸素の生成および消去系の各機能については未だ解明されていない。そこでラットの激運動および低圧下トレーニングの活性酸素および抗酸化系酵素に及ぼす影響を検討すると共に激運動における抗酸化物質 (SM-SOD) 投与の効果について明らかにする。

### 2. 実験(1)ラットの急性最大運動の各種臓器内抗酸化系酵素と活性酸素生成応答と SM-SOD 投与の効果:

活性酸素 (superoxide) を過酸化水素に不均化する抗酸化系酵素 (superoxide dismutase : SOD, ミトコンドリアに局在する Mn-SOD, および細胞質に存在する Cu-Zn-SOD) は、半減期が 4 ~ 5 分であるが、1989年に井上教授 (大阪市立大学) により発見された SM-SOD は半減期が 6 時間であり、この投与は抗酸化作用の亢進と持続化が期待される。

(方法) 6 週齢 Wistar 系ラット 49 匹を 7 匹ずつ 7 群に分けた。1 群は対照群とし、他の 6 群についてはその各半分に 1 mg/100g の SM-SOD を運動の 1 時間前に腹腔注入により投与し、15% 勾配で 24m/min の速度でトレッドミルによる最大運動 (65~70分) を行った。この運動直後、1 日後、および 3 日後のそれぞれの群について投与群および非投与群の血漿、骨格筋、肝臓、腎臓、および脳組織の活性酸素 (XO と TBARS) および抗酸化系酵素の各応答を検討した。

(結果) 1) 血漿: 最大運動直後の XO (xanthine oxidase) および TBARS (thiobarbituric acid-reactive substance) は、非投与群では対照群に比べそれぞれ約 10 倍および 1.7 倍の有意な増加を示した。一方、投与群ではそれぞれ約 2 倍および 1.2 倍にとどまり、投与群は非投与群に比べ有意に低値を示した。1 日後および 3 日後の値は、投与、非投与群ともほぼ同等で漸減傾向にあった。また血漿 XO と血中乳酸とは有意な相関を示した。

2) 骨格筋: 最大運動直後のヒラメ筋と前脛骨筋の TBARS は、非投与群では対照群に比べそれぞれ 3.7 倍お

よび6.7倍の有意な増加を示した。一方、投与群ではそれぞれ1.5倍および対照群と同等であり、投与群は非投与群に比べ有意に低値を示した。1日後および3日後の値は、投与、非投与群ともほぼ同等で漸減傾向にあった。Mn-SOD、およびCu-Zn-SODは、活性と濃度とも、両筋において非投与群は投与群に比べ対照群の3～4倍を示した。また抗酸化系酵素でH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>をH<sub>2</sub>Oへ還元するGPX (glutathione peroxidase) およびCAT (catalase) は、両筋群ともGPXは投与、非投与群とも増加傾向にあったが、CATは変化しなかった。

3) 肝臓：最大運動直後のXOおよびTBARSは、非投与群では対照群に比べ、それぞれ3倍および2倍の有意な増加を示した。一方、投与群ではそれぞれ約1.4倍および対照群とほぼ同等であり、投与群は非投与群に比べ有意に低値を示した。またMn-SOD、GPXおよびCATは非投与群で増加した。

4) 腎臓：最大運動直後のTBARSは、非投与群、投与群とも対照群とほぼ同等で変化は認められなかった。しかし、1日目に非投与群で1.5倍に増加したが、投与群では対照群よりも減少を示した。さらに3日目には両群とも対照群より増加した。一方、XOについては各群とも経日的な変化は認められなかった。

5) 脳(海馬と小脳)：最大運動直後のTBARS、Mn-SOD、Cu-Zn-SOD、GPXおよびCATは、非投与群、投与群とも対照群に対し経日的にも変化を示さなかった。

#### (考察と結論)

急性の最大運動は脳以外の血漿、骨格筋、肝臓および腎臓の各組織の活性酸素生成の亢進をもたらすことが明らかにされ、抗酸化系酵素はその亢進を防御できなかった。また筋ではミトコンドリア内電子伝達系および内皮細胞のXO系が同時に活性酸素の生成に関与しているが、肝臓ではXO系がより大きく貢献していることが考えられた。また腎臓ではTBARSの亢進はwash outのため3日後に遅延して顕著に現われた。脳では、脳関門のため酸化的ストレスが影響されないものと考えられた。

SM-SODの投与は、脳以外の各組織でTBARSを有意に減少させた。とくに肝臓、腎臓および筋の表層速筋にその顕著な効果が示された。またXOでは、脳および腎臓以外の肝臓および血漿においてその生成が抑制された。これらの結果からSM-SODは、運動時の内皮細胞を介する活性酸素の生成を防御することに大きく貢献しているものと考えられる。

最大運動後に血漿中XOの増加した事実は、本研究の新知見である。しかもXOが血中乳酸濃度と有意な相関を示したことから、XOは無氣的解糖代謝と関連していることが示唆された。すなわち有氣的運動よりも無氣的運動において酸化的ストレスが関与し、活性酸素生成の亢進の大きいことが推定された。

#### 3. 実験(2) ラットの常圧および低圧下トレーニングの骨格筋内抗酸化系酵素および過酸化脂質に及ぼす影響：

低酸素環境ではミトコンドリア内の活性酸素生成は減少するが、それに伴って骨格筋内SOD活性も低下することが考えられる。一方、持久性トレーニングは抗酸化系酵素の主にSOD活性の亢進をもたらすとされている。そこで低圧下トレーニングにより低酸素による抗酸化系酵素活性の低下を防御し、活性酸素の生成を抑制し得るかについて検討した。

(方法) 6週齢の雄性Wistar系ラット30匹を用い、10匹ずつ3群に分け、1群を対照群、他を常圧下トレーニング群、残りを4,000m相当高度での低圧下トレーニング群とした。常圧下トレーニング群は、勾配10%、27m/minの速度で1時間のトレッドミル走を週5日で4週間にわたり継続した。一方、低圧下トレーニング群は、4,000mにおいて勾配10%、15m/minの速度で他は常圧下と同様4週間継続した。

(結果) 1) 大腿四頭筋内Mn-SODは、常圧下トレーニングにより白筋部位で有意な増加を示したが、低圧下トレーニングでは白筋および赤筋部位ともにMn-SODの有意な増加が認められた。しかし、両筋ともGPXおよびCATに変化は認められなかった。

2) 大腿四頭筋内TBARSは、両トレーニング群において白筋および赤筋の両部位で変化を示さなかった。

#### (考察と結論)

以上の結果から骨格筋肉Mn-SODは、常圧下トレーニングよりも低圧下トレーニングにおいて有意な増加を

示すことが明らかとなり、抗酸化系酵素によって低圧下の活性酸素の生成を防御できるものと考えられる。

## 審 査 の 要 旨

本研究は、実験(1)において急性の最大運動をラットについて行い、血漿、骨格筋、肝臓、腎臓および脳組織内の活性酸素生成(XOおよびTBARS)および抗酸化系酵素の応答を検討した。さらに近年に発見された抗酸化物質(SM-SOD)を予め投与し、これらの反応機序について解明した。すなわち急性の最大運動は脳以外の組織の抗酸化系酵素を亢進し、活性酸素生成を防御できなかったことを認めた。とくに血漿中 XO の増大を確認し、無氣的運動での活性酸素亢進を明らかにした。さらに SM-SOD の投与により脳以外の臓器の TBARS と血漿と肝臓での XO に有意な減少を認めたことの 2 点は学問的に高く評価される。また実験(2)において低圧下トレーニングにより筋内抗酸化系酵素の亢進により、活性酸素生成を防御した事実を解明した点は注目に値する。しかし SM-SOD の投与量の妥当性や、血漿 XO 生成の機序および低圧下トレーニングの運動強度の設定基準についてのより詳細な検討の必要性が指摘された。

よって、著者は博士(体育科学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。