

中高年者における日常の身体活動量の相違が酸化ストレスに及ぼす影響

田 辺 解¹⁾ 増田和実²⁾ 菅原 順³⁾ 鯉坂隆一⁴⁾
 松田光生⁴⁾ 河野一郎⁴⁾ 久野譜也^{4,5)}

EFFECTS OF DAILY PHYSICAL ACTIVITY ON OXIDATIVE STRESS
IN MIDDLE-AGED AND ELDERLY PEOPLE

KAI TANABE, KAZUMI MASUDA, JUN SUGAWARA, RYUICHI AJISAKA, MITSUO MATSUDA,
 ICHIRO KONO and SHINYA KUNO

Abstract

The effect of daily physical activity on oxidative stress is still an unknown issue, especially in middle-aged and elderly individuals. In this study, we examined the relationships of oxidative stress and antioxidant capacity with daily physical activity, taking into consideration the dietary antioxidant vitamin intake (vitamin B₂, C and E) of middle-aged and elderly people (66.0±7.0 years, n=21; 10 males and 11 females, including 5 male trained runners). Daily physical activity was measured using both a calorie counter and a questionnaire over a period of two weeks. The plasma concentration of thiobarbituric acid reactive substance ([TBARS]) and both oxidized and reduced glutathione concentrations ([GSSG] and [GSH]) in whole blood were determined in blood samples obtained at rest and immediately after two periods of acute exercise: maximal cycle ergometric exercise and steady state cycle exercise at 80% of ventilatory threshold (VT) for 30 minutes. At a given statistically controlled dietary antioxidant vitamin intake level (vitamin B₂, C and E), the amount of daily physical activity was associated with neither [TBARS], [GSH] and the ratio of [GSSG]/[GSH] at rest, nor changes in levels of these substances after both exercise tests. These data suggest that the amount of daily physical activity may have little influence on oxidative stress or antioxidant capacity at rest and after acute cycle ergometric exercise. Further investigation would be necessary to clarify how much volume or intensity of physical activity induces increased oxidative stress, from the aspect of habitual physical training and nutrition.

(Jpn. J. Phys. Fitness Sports Med. 2002, 51 : 325~336)

key word : Activities of Daily Life, Aging, Antioxidant, Exercise, Oxidative Stress

I. 目 的

継続的な身体活動が生活習慣病などの様々な疾患を予防したり, 生活の活動レベルや QOL の向上に有効であることは周知の事実である。しかし

ながら, 激しい運動後に組織や血液中における酸化ストレスのマーカーが増大すること^{10,11,17,20,29)}や, 不活動およびギプス固定などの活動量の減少によっても酸化ストレスが高まることが報告されている^{13,30)}。また, 酸化ストレスは様々な

¹⁾ 筑波大学大学院博士課程体育科学研究科
〒305-8574 茨城県つくば市天王台1-1-1

²⁾ 金沢大学教育学部
〒920-1192 石川県金沢市角間町

³⁾ 独立行政法人産業技術総合研究所人間福祉医工学研究部門福祉機器グループ
〒305-8564 茨城県つくば市並木1-2-1

⁴⁾ 筑波大学体育科学系
〒305-8574 茨城県つくば市天王台1-1-1

⁵⁾ 筑波大学先端学際領域研究センター
〒305-8577 茨城県つくば市天王台1-1-1

*Doctoral Program in Health and Sport Sciences, University of Tsukuba
1-1-1 Tennodai, Tsukuba City, Ibaraki 305-8574, Japan*

*Faculty of Education, Kanazawa University Kakuma-machi, Kanazawa
City, Ishikawa 920-1192, Japan*

*National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, De-
vice Technology Group, Institute for Human Science and Biomedical
Engineering Namiki 1-2-1, Tsukuba City, Ibaraki 305-8564, Japan*

*Institute of Health and Sport Sciences, University of Tsukuba 1-1-1
Tennodai, Tsukuba City, Ibaraki 305-8574, Japan*

*Center for Tsukuba Advanced Research Alliance, University of
Tsukuba 1-1-1 Tennodai, Tsukuba City, Ibaraki 305-8577, Japan*

疾患を誘起・促進することが知られており³⁴⁾, 加齢に伴う老化現象の原因とする説もある^{19,37)}. これらのことから, 酸化ストレスは中高年者の健康と大きな関わりをもつと考えられる. さらに, 身体活動の過少もしくは過剰が酸化ストレスを高める可能性があり, ひいてはこの酸化ストレスの蓄積が加齢による老化現象を促進することも考えられる. しかしながら, 若年者を対象とした特別な運動トレーニングや一過性の運動と酸化ストレスの関係を検討した研究は多いもの^{9,16,18,21,25,29,31,36)}, 中高年者を対象とした研究は少ない^{8,14,22)}. また, 中高年者における家事や仕事などを含めた日常生活レベルの身体活動量の多少と生体の酸化ストレスとの関係を検討した研究はみられない. 疾病の予防や老化現象の抑制などの健康に関する様々な問題に対して, 運動の効果を吟味するためには, その前提として中高年者の身体活動量と酸化ストレスとの関係を明らかにする必要があると考えられる. さらに, 中高年者において, どの程度の身体活動量が酸化ストレスを高めるかもしくは抑制するかを明らかにすることは, 健康に関する様々なプログラムを作成するための基礎資料として重要であろう.

これまでに日常の身体活動量を推定する方法として, 回想法によるアンケート調査や歩数計による測定が用いられてきた^{8,14,15)}. しかしながら, これらの方法では, 正確な身体活動量の測定が困難であること, および身体活動の運動強度が加味されにくい等の問題から, 実際の日常の身体活動量を正確に定量化しているとは言い難い. 近年, 身体活動強度を加速度変化から測定可能な簡易型身体活動量測定器が考案され³⁵⁾, この測定器を用いた身体活動量測定の妥当性がいくつかの研究により報告されている^{5,40,41)}.

抗酸化ビタミンは抗酸化酵素の補酵素として働いたり, フリーラジカルを捕捉・消去する作用を持つといわれ, そのサプリメント効果も報告されている^{32,33)}. したがって, 食事からの抗酸化ビタミン摂取量は, 酸化ストレスもしくは酸化防御能力に影響を及ぼす可能性があり, 身体活動量と生体の酸化ストレスの関係に対する交絡因子の一

つとして考えられる.

そこで本研究では, 食事からの抗酸化ビタミン摂取量の影響を考慮した上で, 簡易型身体活動量測定器を利用して測定した中高年者の日常身体活動量の相違が, 安静時時及び一過性運動後における生体の酸化ストレスに対してどのような影響を及ぼすかについて検討することを目的とした.

II. 方 法

A. 被験者

被験者には, 糖尿病, 高脂血症, 動脈硬化症および過去10年間喫煙習慣のない 66.0 ± 7.0 歳の中高年健常男女21名(男性10名, 女性11名)を用いた. このうち男性5名は, 日頃から持久性トレーニングを行い, 定期的にマラソン大会に参加する中高年ランナーであった. なお, 実験に先立ち被験者に実験の趣旨と内容を十分に説明し, 実験参加の同意を得た. また本研究は, 東京大学大学院生命環境科学系倫理委員会の承認を受けて実施した.

B. 一過性運動プロトコール

1. 最大運動負荷

被験者は自転車エルゴメータ上での2分間の安静の後に, 20 wattsの負荷で4分間のウォーミングアップを行い, ひき続いて10 watts/分のランプ負荷自転車ペダリングテストを行った. なお, 被験者にはペダルの回転数を60回転/分に維持するように指示した. テストの中止条件は, ①心電図計によりモニターされた心拍数が予測最高心拍数に達した時点, ②最高血圧が250 mmHgを超えた時点, ③ペダルの回転数が50回転/分を維持できなくなった時点とし, 中高年者の安全性を考慮していずれか一つに該当した時点でテストを中止した. なお, ランプ負荷運動終了後にクーリングダウンとして, 無負荷でのペダリングを1分間行った.

ランプ負荷運動中の換気量($\dot{V}E$), 酸素摂取量($\dot{V}O_2$)および二酸化炭素排泄量($\dot{V}CO_2$)を, 呼吸ガス分析器(AE 300 S, ミナト医科学社製, 大阪)により breath by breath 法で測定し, 有氣的持久力の指標としてそれらの15秒ごとの平均値から最

高酸素摂取量 ($\dot{V}O_{2peak}$) および換気性作業域値 (Ventilatory threshold : VT) を求めた。 $\dot{V}O_{2peak}$ は運動中の酸素摂取量の最高値とし、VT はガス交換比 (R) の運動強度 (Load) に対する上昇点、 $\dot{V}CO_2$ の $\dot{V}O_2$ に対する上昇点と、 $\dot{V}E/\dot{V}CO_2$ が変化せずに $\dot{V}E/\dot{V}O_2$ が増加する点から総合的に判断した。

運動プロトコルに用いたランプ負荷法は、 $\dot{V}O_2$ の直線的な増加や各種の有氣的持久力の指標を得やすいことが示唆されている³⁸⁾。なお、被験者の安全のため、最大運動負荷実験は医師の立ち会いのもとで行われた。

2. 定常負荷運動

自転車エルゴメータ上での4分間の安静の後に80%VT強度の負荷値の半分で1分間のウォーミングアップを行い、それに続いて80%VT強度で29分間の自転車ペダリング運動を実施した。被験者には60回転/分のペダルの回転数を維持するように指示した。なお、定常負荷運動終了後に無負荷での自転車ペダリングにより、1分間のクーリングダウンを行った。定常負荷運動は、最大運動負荷を行った日から少なくとも2週間の間隔をおいて実施した。

3. 総仕事量の算出

最大運動負荷時の総仕事量 (W) は、次式の通りランプ負荷運動負荷時の仕事量とウォーミングアップ時の仕事量の総和を求めた。総仕事量 = ランプ負荷運動時間 (分) × 最高負荷 (watt) / 2 + ウォーミングアップ時間 (4分) × 20 watts。なお、仕事量の単位は watt・分とした。定常負荷運動時の総仕事量は、ウォーミングアップおよび定常負荷運動時の負荷に運動時間を乗じたものとした。

4. 血液サンプル採取と準備

血液サンプルは各運動プロトコルの前の安静時と運動直後3分以内に EDTA 2Na を含む真空採血管を用いて肘前静脈より採取した。被験者へは血液採取するまでの3時間、食事を摂取しないように指示した。なお、血液採取は8:00から13:00の間に行われた。

採取した血液サンプルを3000 rpm (4℃) で10分間遠心分離し、得られた血漿を使用して

TBARS 濃度を分析した。

総 GSH 濃度および GSSG 濃度の分析には全血を使用し、等量の MPA 試薬 (メタリン酸 10g, 蒸留水 100 ml) を加え、十分に混和し除タンパク質を行った。混合液を室温で5分間放置し、3000 rpm (4℃) で10分間遠心分離した。この上清を分析に使用するまで -20℃ で保存した。

C. 測定項目および測定方法

1. 日常の身体活動量

身体活動量の経時的かつ定量的な測定が可能な簡易型身体活動量測定器 (ライフコーダ, (株) スズケン, 名古屋) を被験者に2週間装着してもらい、身体活動による消費カロリー量を測定した。簡易型身体活動量測定器から算出される身体活動量は、加速度センサの振幅と振動頻度から運動強度 (0~9 : METs に相当) を算定し、それに対応する運動係数に体重を乗じて4秒間の消費カロリーに換算し、4秒毎に加算したものである。簡易型身体活動量測定器による消費カロリー量の測定の妥当性は、いくつかの研究^{5,40,41)} によって報告されている。

活動量測定器の装着と同時期に任意のアンケート調査 (直接記入法) を実施し、簡易型身体活動量測定器で測定できない自転車運動、水中運動および主に上肢を使う身体活動状況を調べた。アンケートに記入された活動時間と活動強度から池上⁷⁾ の換算式 ((0.83 × 活動強度 + 1) × 活動時間 × 体重 × 性年齢補正係数) により活動の消費カロリーを算定した。なお、種々の身体活動の活動強度の推定には池上⁷⁾ および Ainsworth たち¹⁾ の指標を参照した。

本研究における日常の身体活動量は、簡易型身体活動量測定器とアンケート調査による活動量調査から算定した消費カロリー量の総和を1日あたりに換算したものとした。なお、測定期間の中で体調不良の日、長距離の旅行に出かけた日および簡易型身体活動量測定器を装着しなかった日については、分析対象から除いた。

2. 抗酸化ビタミン摂取量の調査

日常の食事から摂取されるビタミン類などの抗

酸化物質も生体の酸化防御能力に影響する可能性があるため, 以下の方法で食事からの抗酸化ビタミンの摂取量を求めた。

被験者に毎日の朝, 昼, 夜の食事内容を任意の調査用紙に直接記入させ, この調査から, 食事により摂取した抗酸化ビタミン(ビタミン B₂, C および E) 摂取量を算出した。食事調査は身体活動量の調査と同時に開始し, 期間は1週間とした。調査した1週間のうち無作為に平日の2日と週末の1日を選び, この3日間の抗酸化ビタミン摂取量の合計を算出し, 1日あたりの抗酸化ビタミン摂取量を求めた。抗酸化ビタミン摂取量の算出には, PC用ソフトウェア(エクセル栄養君 ver. 2.3, 建帛社, 東京)を用いた。

3. 血液検査

1) 血漿チオバルビツール酸反応生成物(TBARS)の測定

本研究では, 脂質の過酸化物の一種であるマロンジアルデヒド, その前駆体である過酸化物, およびアルデヒド種を含む血漿中のチオバルビツール酸反応物(thiobarbituric acid reactive substance; TBARS)濃度を測定する方法として, 最も多く用いられる八木³⁹⁾の方法に従った。なお, TBARSの蛍光強度(励起波長515nm, 蛍光波長553nm)の測定には, 分光蛍光光度計(RF-5000, 株島津製作所, 京都)を用いた。

2) 血中GSHおよび血中GSSGの測定

除タンパク質された全血サンプル1mlに対して, 測定の直前に50 μ lのTEAM試薬(4Mトリエタノールアミン水溶液)を加え, 十分に混和し, この混合溶液を測定サンプルとした。血中の総グルタチオン(total GSH)濃度および血中酸化型グルタチオン(GSSG)濃度の測定にはGlutathione assay kit(Caymanchemical Co., AnnArbor, MI)を使用し, 405nmの吸光度をマイクロプレートリーダー(マイクロプレートリーダー Model 550, Bio-Rad社, Hercules, CA)により測定した。なおGSSG濃度の測定の際には, 1M 2-ビニルピリジンエタノール溶液(2-vinylpyridine (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO)/ethanol)により還元型グルタチオン(GSH)を完全に除去したサンプル

を調整し, total GSHと同様に測定した。さらに, 算出されたtotal GSH濃度からGSSG濃度を減じたものをGSH濃度とし, 酸化ストレスの指標の一つであるGSSG/GSH比を求めた。

3) 血漿サンプルのデータ処理

血漿サンプルから測定された各項目における運動後のデータは, すべて運動後の血漿量の変化率で補正した値とした。なお, 血漿量の変化率はDillとCostill⁶⁾の方法に準じて算出した。

D. 統計処理

統計量は平均値±標準偏差で示した。対応のない2群間の比較にはunpaired t-testを用いた。運動前後の変数の比較にはpaired t-testを用いた。各変数間における関連性を検討するにあたって, 単回帰もしくは2次多項式回帰分析を行い, データに最もよく合致する回帰分析を採択した。単回帰分析によって各変数間の回帰係数を求めた。相関係数の検定にはFisherの z 変換を用いた。抗酸化ビタミン摂取量, 年齢および性別は, 日常身体活動量と酸化ストレスの関係を検討する上での交絡因子として考えられるため, 抗酸化ビタミン摂取量と年齢の影響を一定とした時の偏相関係数を求めた。さらにGSSG/GSH, TBARSそしてGSHの各項目を従属変数, 日常身体活動量, 抗酸化ビタミン摂取量および年齢を独立変数, 性別をダミー変数として一括投入法の重回帰分析を行い, 各説明変数の標準化偏回帰係数を求めた。なお, $\dot{V}O_{2peak}/kg$ と酸化ストレスおよび酸化防御能力との関係を検討する際にも同様の統計処理を行った。全ての統計処理には, 統計解析ソフトウェアSPSS ver. 10.0 for Windows(株エス・ピーエス・エス, 東京)を用いた。有意水準は $p < 0.05$ とした。

Ⅲ. 結 果

A. 身体特性

被験者の身体特性, 持久性能力および各運動の総仕事量をTable 1に示した。年齢, 身長, 体重, $\dot{V}O_{2peak}$, $\dot{V}O_{2peak}/kg$ および各運動の総仕事量は, 女性に比べて男性で有意に高かった($p <$

Table 1. Physical characteristics of the participants in this study.

	All	Male	Female
	n= 21	10	11
Age (years)	66.0 ± 7.0	69.3 ± 8.6*	63.3 ± 3.3
Height (cm)	158.9 ± 7.4	165.3 ± 4.2**	153.0 ± 3.7
Weight (kg)	56.6 ± 7.6	61.4 ± 7.4**	52.3 ± 4.9
<i>Ramp exercise test</i>			
VO ₂ peak (ml/min)	1491.0 ± 441.0	1797.0 ± 436.0**	1214.0 ± 199.0
VO ₂ peak/kg (ml/min /kg)	26.1 ± 5.4	29.2 ± 5.8**	23.0 ± 3.2
Total work volume (watt·min)	840.0 ± 582.0	1191.0 ± 696.0**	520.0 ± 68.0
<i>80%VT exercise test</i>			
Load (watt)	54.7 ± 19.1	66.4 ± 21.7**	43.6 ± 6.4
VO ₂ (ml/min /kg)	12.7 ± 2.7	13.5 ± 3.3	11.7 ± 1.8
%VO ₂ peak (%)	49.2 ± 8.0	46.7 ± 8.1	51.4 ± 7.5
Total work volume (watt·min)	1606.0 ± 567.0	1877.0 ± 737.0*	1359.0 ± 120.0

All data are expressed as mean ± SD. Asterisks are representing significant differences from value of female (* : p < 0.05, ** : p < 0.01).

.05). 80%VT における負荷は男性で有意に高かった (p < 0.01) もの、VO₂ と %VO₂peak/kg に関する性差は認められなかった。

なお、最大運動負荷テストにおける運動中止理由は、全員、心拍数が予測最高心拍数に達した時点であった。また、テスト中にモニターした心電図には運動の継続に支障を来すような異常は認められなかった。

B. 日常の身体活動量と生体の酸化ストレス

1. 日常の身体活動量

日常の身体活動量を Table 2 に示した。全被験者における 1 日あたりの身体活動量の平均は 559.3 ± 195.9 kcal/日であり、その範囲は 168.1 kcal/日 ~ 961.8 kcal/日と大きな個人差がみられた。Paffenbarger²⁴⁾ たちより示された目標運動消費カロリーの 300 kcal/日を参照すると、非常に

活動量が多い被験者と少ない被験者が認められた。

2. 一過性運動の影響

最大運動負荷および定常負荷運動後の酸化ストレスマーカーと酸化防御能力マーカーの変動を Table 3 に示した。なお、個人によって運動強度および運動時間が異なるため、運動後の各パラメーターの変化量は総仕事量 (W) で標準化した。

両運動の直後に全てのパラメーターにおいて安静時と比較して有意な変化は認められなかったが、運動後の変動 (Δ) に個人差が見られた (最大運動負荷 : ΔTBARS/W -19 ~ 17%, ΔGSH/W -32 ~ 73%, ΔGSSG/GSH/W -61 ~ 194%, 定常負荷運動 : ΔTBARS/W -15 ~ 21%, ΔGSH/W -46 ~ 55%, ΔGSSG/GSH/W -85 ~ 146%)。

3. 日常の身体活動量と酸化ストレスおよび酸化防御能力の関係

Table 2. Daily physical activity and dietary antioxidant vitamins intake.

	Mean ^a	maximam	minimam	reference value
Daily physical activity (kcal/day)	559.3 ± 195.9	961.8	168.1	300.0 ²⁴⁾
vitamin B ₂ (mg/day)	1.8 ± 0.7	4.0	0.9	1.0-1.2 ¹²⁾
vitamin C (mg/day)	186.9 ± 91.5	449.6	52.6	100.0 ¹²⁾
vitamin E (mg/day)	8.9 ± 3.2	17.6	3.2	8.0-10.0 ¹²⁾

n = 21, a : Data are expressed as mean ± SD.

Table 3. Oxidative stress markers and antioxidant parameter at rest and after acute exercise.

	Ramp exercise test			80%VT exercise test		
	rest	post exercise	Δ	rest	post exercise	Δ
TBARS (nmol/ml)	1.96 \pm 0.27	1.91 \pm 0.27	-0.05 \pm 0.19	2.02 \pm 0.30	1.95 \pm 0.26	-0.07 \pm 0.18
TBARS/W ($\times 10^{-3}$ nmol/ml/watt \cdot min)	—	2.98 \pm 1.26	-0.11 \pm 0.35	—	1.33 \pm 0.42	-0.05 \pm 0.10
GSH (μ mol/l)	332.12 \pm 94.60	341.08 \pm 87.54	8.96 \pm 80.32	330.11 \pm 100.50	330.06 \pm 115.83	-0.05 \pm 65.18
GSH/W (μ mol/l/watt \cdot min)	—	0.53 \pm 0.24	0.02 \pm 0.14	—	0.21 \pm 0.07	-0.01 \pm 0.07
GSSG (μ mol/l)	52.36 \pm 25.20	51.09 \pm 33.13	-1.27 \pm 26.27	63.11 \pm 28.64	57.23 \pm 23.81	-5.88 \pm 21.89
GSSG/W ($\times 10^{-2}$ μ mol/l/watt \cdot min)	—	8.16 \pm 6.76	-0.31 \pm 4.78	—	4.18 \pm 3.38	0.47 \pm 1.52
GSSG/GSH	0.16 \pm 0.08	0.16 \pm 0.12	0.00 \pm 0.11	0.21 \pm 0.13	0.19 \pm 0.13	-0.02 \pm 0.10
GSSG/GSH/W ($\times 10^{-4}$ /watt \cdot min)	—	2.56 \pm 1.51	-0.11 \pm 1.95	—	1.58 \pm 2.11	0.02 \pm 1.21

n=21, a : Data are expressed as mean \pm SD. There was no significant change in value from rest to post exercise, W : total work volume, TBARS : thiobarbituric acid reactive substance, GSH : reduced glutathione, GSSG : oxidized glutathione.

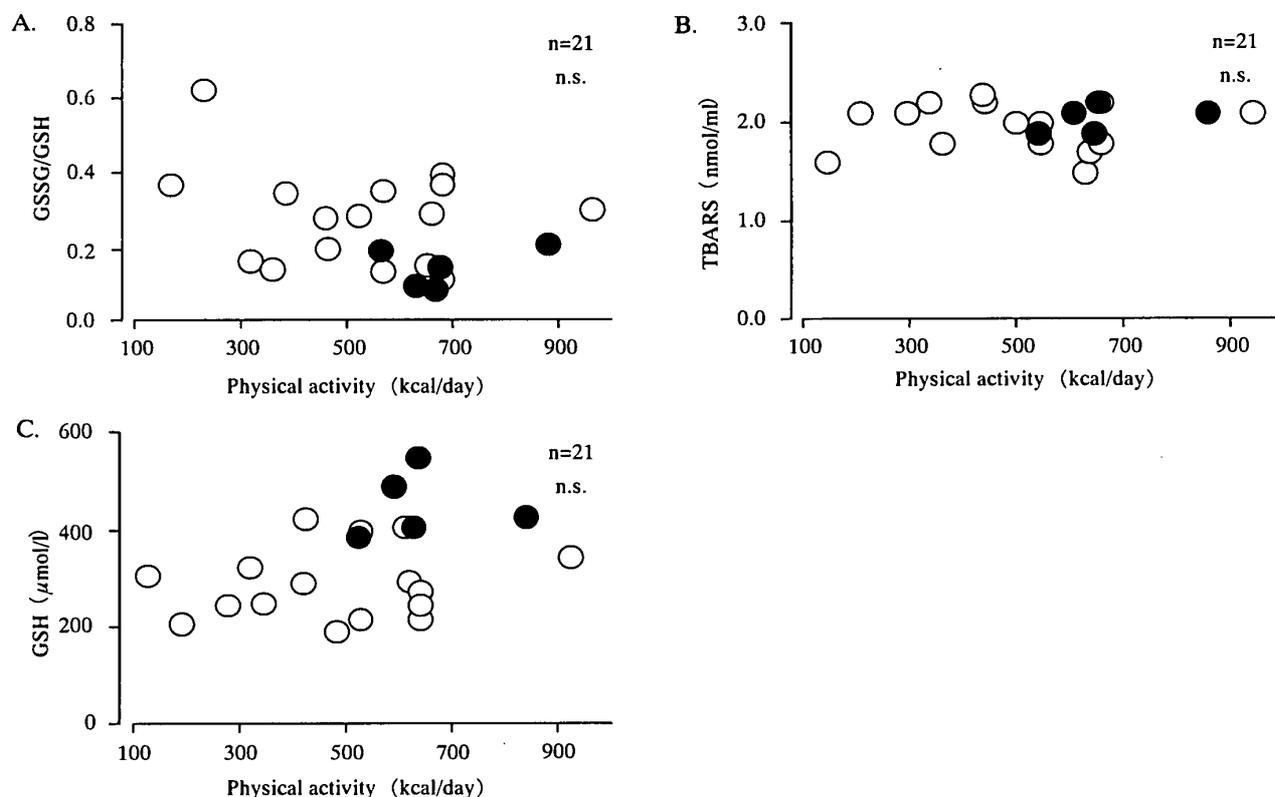


Figure 1. Relationships between daily physical activity and oxidative stress markers and antioxidant parameter at rest.

A : GSSG/GSH (glutathione, ratio of oxidized and reduced), B : TBARS (thiobarbituric acid reactive substance), C : GSH (reduced glutathione), ○ : healthy subject, ● : trained runner.

1) 安静

Figure 1 に日常の身体活動量と安静時の酸化ストレスおよび酸化防御能力との関係を示した。なお、安静時の値には定常負荷運動前の値を用いた。酸化ストレスマーカーである血中 GSSG/GSH と

Table 4. Partial correlation coefficients among oxidative stress markers, antioxidant parameter, daily physical activity, dietary antioxidant vitamins intake and age.

Rest							
	GSSG/GSH	D.P.A.	vit. B ₂	vit. C	vit. E	age	
GSSG/GSH	1.00						
D.P.A.	-0.27	1.00					
vit. B ₂	-0.19	0.20	1.00				
vit. C	0.24	0.13	0.26	1.00			
vit. E	-0.06	0.00	0.23	0.27	1.00		
age	0.06	-0.04	-0.09	-0.12	-0.08	1.00	
	TBA	D.P.A.	vit. B ₂	vit. C	vit. E	age	
TBA	1.00						
D.P.A.	0.04	1.00					
vit. B ₂	0.08	0.26	1.00				
vit. C	-0.05	0.07	0.23	1.00			
vit. E	-0.19	0.03	0.26	0.25	1.00		
age	-0.10	-0.05	-0.09	-0.11	-0.10	1.00	
	GSH	D.P.A.	vit. B ₂	vit. C	vit. E	age	
GSH	1.00						
D.P.A.	0.31	1.00					
vit. B ₂	0.56 *	0.04	1.00				
vit. C	-0.40	0.19	0.39	1.00			
vit. E	0.03	0.01	0.19	0.25	1.00		
age	0.29	-0.14	-0.24	0.02	-0.09	1.00	
Ramp exercise test							
	Δ GSSG/GSH/W	D.P.A.	vit. B ₂	vit. C	vit. E	age	
Δ GSSG/GSH/W	1.00						
D.P.A.	0.48 **0.051	1.00					
vit. B ₂	0.15	0.16	1.00				
vit. C	-0.01	0.07	0.22	1.00			
vit. E	0.09	-0.03	0.23	0.26	1.00		
age	0.26	-0.17	-0.14	-0.10	-0.10	1.00	
	Δ TBA/W	D.P.A.	vit. B ₂	vit. C	vit. E	age	
Δ TBA/W	1.00						
D.P.A.	0.20	1.00					
vit. B ₂	-0.08	0.28	1.00				
vit. C	0.23	0.02	0.24	1.00			
vit. E	0.33	-0.05	0.26	0.17	1.00		
age	-0.38	0.03	-0.13	-0.01	0.05	1.00	
	Δ GSH/W	D.P.A.	vit. B ₂	vit. C	vit. E	age	
Δ GSH/W	1.00						
D.P.A.	-0.10	1.00					
vit. B ₂	-0.12	0.25	1.00				
vit. C	-0.05	0.07	0.22	1.00			
vit. E	-0.05	0.01	0.24	0.26	1.00		
age	0.09	-0.05	-0.09	-0.10	-0.08	1.00	
80%VT exercise test							
	Δ GSSG/GSH/W	D.P.A.	vit. B ₂	vit. C	vit. E	age	
Δ GSSG/GSH/W	1.00						
D.P.A.	-0.34	1.00					
vit. B ₂	0.23	0.32	1.00				
vit. C	-0.01	0.06	0.22	1.00			
vit. E	0.03	0.03	0.23	0.26	1.00		
age	0.38	0.08	-0.18	-0.10	-0.09	1.00	
	Δ TBA/W	D.P.A.	vit. B ₂	vit. C	vit. E	age	
Δ TBA/W	1.00						
D.P.A.	0.26	1.00					
vit. B ₂	0.42	0.13	1.00				
vit. C	-0.50 *	0.19	0.39	1.00			
vit. E	-0.38	0.11	0.37	0.02	1.00		
age	0.39	-0.15	-0.25	0.11	0.08	1.00	
	Δ GSH/W	D.P.A.	vit. B ₂	vit. C	vit. E	age	
Δ GSH/W	1.00						
D.P.A.	0.64 *	1.00					
vit. B ₂	-0.31	0.40	1.00				
vit. C	0.17	-0.05	0.26	1.00			
vit. E	-0.28	0.19	0.14	0.30	1.00		
age	-0.24	0.11	-0.17	-0.06	-0.14	1.00	

n = 21, Asterisks are representing significant differences (* : p < 0.05), Δ : change in value from rest to post exercise, W : total work volume, TBARS : thiobarbituric acid reactive substance, GSH : reduced glutathione, GSSG : oxidized glutathione, D. P. A. : daily physical activity, vit. : vitamin.

血漿 TBARS 濃度において、日常の身体活動量との間に有意な相関関係は認められなかった (Figure 1-A & B). 酸化防御能力マーカーである血中 GSH 濃度と日常の身体活動量の間にも相関関係は認められなかった (Figure 1-C). なお、抗酸化ビタミン摂取量と年齢の影響を一定としたときの偏相関係数においても有意性は認められなかった (Table 4). さらに、安静時の血中 GSSG/GSH, 血漿 TBARS 濃度および血中 GSH 濃度を従属変数、日常身体活動量、抗酸化ビタミン摂取量および年齢を独立変数、性別をダミー変数として重回帰分析を行った結果、すべての重回帰式における日常身体活動量の標準化偏回帰係数に有意性はみられなかった。

継続的に持久性トレーニングを行っている中高年ランナーは、トレーニングを行っていない被験者と比較して血中 GSH 濃度が有意に高かった (中高年ランナー : $454 \pm 67 \mu\text{M}$, n = 5, その他の一般中高年者 : $292 \pm 74 \mu\text{M}$, n = 16, p < 0.01). また、 $\dot{V}\text{O}_2\text{peak}/\text{kg}$ と血中 GSH 濃度との間に有意な正の相関関係が認められた (r = 0.48, n = 21, p < 0.05). しかしながら、抗酸化ビタミン摂取量と年齢の影響を一定とした偏相関係数に有意性は認められなかった (r = 0.11, n = 21, n. s.).

2) 最大負荷運動

Figure 2 に日常の身体活動量と最大運動負荷後における各パラメーターの変化量との関係を示した。有意な相関関係が認められたのは、 $\Delta\text{GSSG}/\text{GSH}/\text{W}$ においてのみであった。 $\Delta\text{GSSG}/\text{GSH}/\text{W}$ は、日常の身体活動量が非常に多い被験者で高い傾向を示し (r = 0.62, n = 21, p < 0.05, Figure 2-A), 抗酸化ビタミン摂取量と年齢の影響を一定とした偏相関係数は有意な傾向にあった (r = 0.48, n = 21, p = 0.051, Table 4). $\Delta\text{GSSG}/\text{GSH}/\text{W}$ を従属変数とした重回帰分析における日常身体活動量の標準化偏回帰係数も有意な傾向がみられた ($\beta = 0.44$, n = 21, p = 0.07).

3) 定常負荷運動

Figure 3 は、日常の身体活動量と定常負荷運動後における各パラメーターの変化量との関係を示している。日常の身体活動量と $\Delta\text{GSSG}/\text{GSH}/\text{W}$

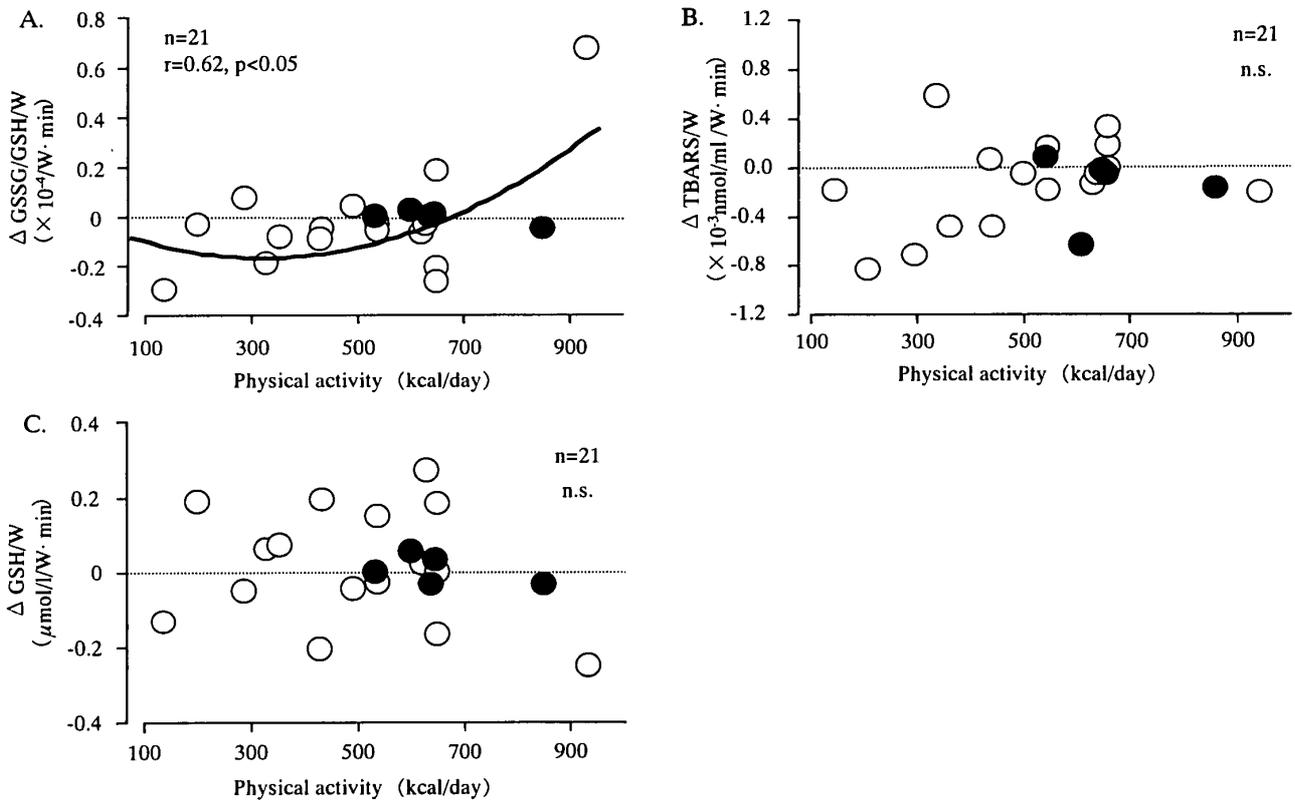


Figure 2 Relationships between daily physical activity and change in oxidative stress markers and antioxidant parameter after ramp exercise test.

A : Δ GSSG/GSH/W, B : Δ TBARS/W, C : Δ GSH/W, \circ : healthy subject, \bullet : trained runner.

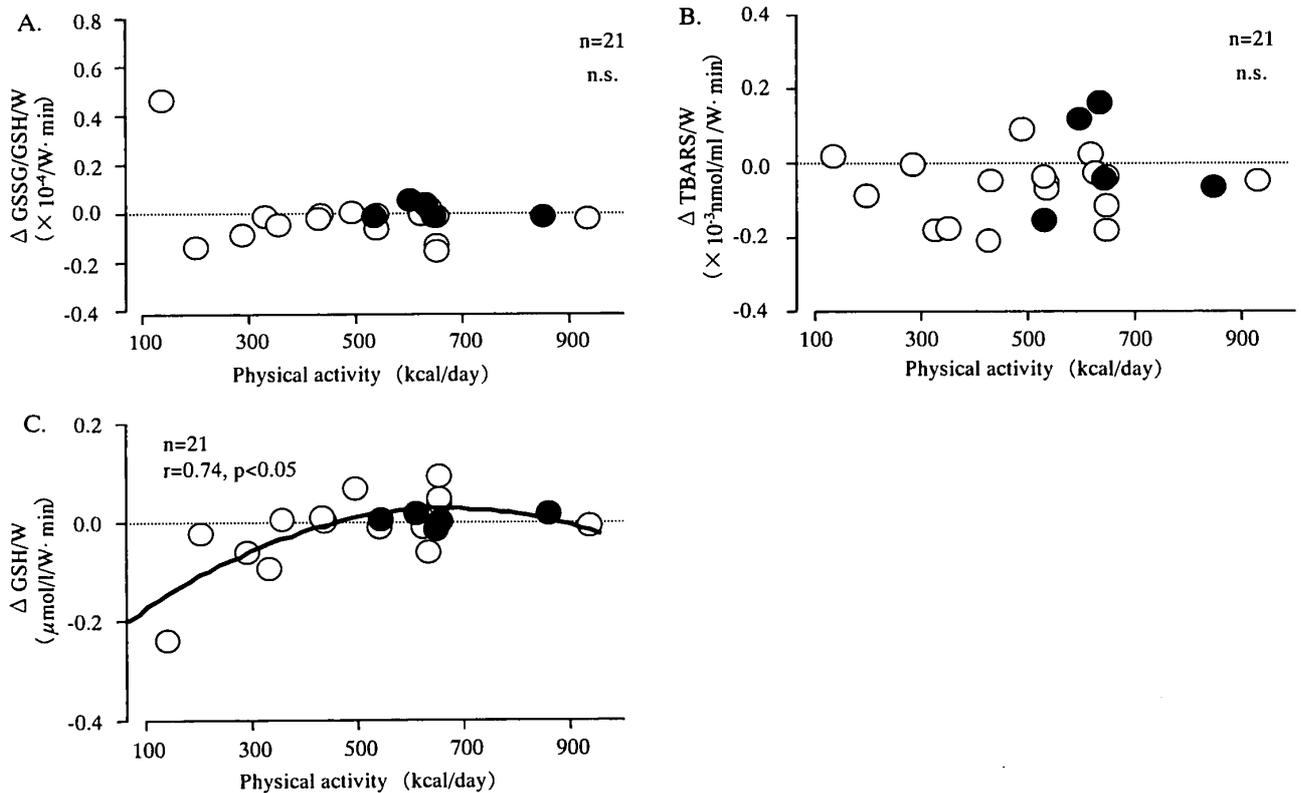


Figure 3 Relationships between daily physical activity and change in oxidative stress markers and antioxidant parameter after steady state cycle exercise at 80% of VT for 30 minutes.

The abbreviations are same as Figure 2.

および Δ TBARS/W の間に一定の関係は認められなかった (Figure 3-A & B, Table 4). 日常の身体活動量が少ない被験者において, 運動後に血中 GSH 濃度が低下する関係がみられた ($r=0.74$, $n=21$, $p<0.05$, Figure 3-C). 抗酸化ビタミン摂取量と年齢の影響を一定とした日常身体活動量と Δ GSH/W の偏相関係数も有意であった ($r=0.64$, $n=21$, $p<0.05$, Table 4). また, Δ GSH/W を従属変数とした重回帰分析における日常身体活動量の標準化偏回帰係数にも有意性が認められた ($\beta=0.67$, $n=21$, $p<0.01$).

G. 抗酸化ビタミン摂取量と生体の酸化ストレス

1. 食事からの抗酸化ビタミン摂取量

日常の抗酸化ビタミン摂取量を Table 2 に示した. 健康栄養情報研究会¹²⁾による一日あたりの各ビタミンの必要量を参考にすると, 必要量を十分に満たしている者とそうでない者がいた.

IV. 考 察

簡易型身体活動量測定器(ライフコーダ, (株)スズケン, 名古屋)による身体活動量測定の妥当性について, 横地と新実⁴¹⁾は, 簡易型身体活動量測定器および呼気ガス分析により測定した中高年者のエネルギー消費量の間有意な正の相関関係が認められたことを報告している ($r=0.90$, $n=21$, $p<0.001$, $y=0.91x+2.19$ (x :呼気ガス分析器, y :簡易型活動量測定器)). また, 他の研究^{5,40)}でも同様の傾向が認められている. 日常の身体活動には炊事や掃除など主に上半身を使う活動や自転車の移動なども含まれ, 家事を行う主婦などはこれらの身体活動の割合が高いことが予測される. 本研究で用いた測定器は内蔵された加速度計の振動により身体活動を感知するため, 腰部に取り付けた測定器の振動を伴わない身体活動は反映されにくい. また, 水中運動による身体活動量については測定できない. したがって, 主に上肢を使う身体活動, 自転車運動, および水中運動などは, アンケートを用いて調査し, その身体活動強度と時間から算出した身体活動量を加算し

た. ゆえに本研究で測定した身体活動量は, 日常生活における全ての身体活動量をおおむね反映していると考えられる.

中高年者における日常身体活動量が酸化ストレスに及ぼす影響を検討する上で, 食事からの抗酸化ビタミン摂取量, 年齢および性別は, 日常身体活動量と酸化ストレスの関係に対する交絡因子として考えられる. そこで本研究では, 抗酸化ビタミン摂取量と年齢の影響を一定とした時の日常身体活動量と酸化ストレスの偏相関係数の算出, および酸化ストレスもしくは酸化防御能力の各変数を従属変数, 日常身体活動量, 抗酸化ビタミン摂取量, 年齢そして性別を説明変数とした重回帰分析により, 交絡因子の影響を除いた際の日常身体活動量と酸化ストレスの関係を検討した.

高強度の運動トレーニング²¹⁾ および長期に渡る安静状態やギプス固定などの活動量減少¹³⁾が酸化ストレスを高めるという報告は, 身体活動量の過少もしくは過剰が生体の酸化ストレスに影響を及ぼす可能性を示唆するものである. しかしながら, 本研究において, 中高年者の日常身体活動量と安静時の酸化ストレスマーカー (GSSG/GSH および TBARS) との間に相関関係を認めなかった (Figure 1-A & B, Table 4). この内, 定期的に持久性トレーニングを行う中高年ランナーだけを見ても, 一定の関係は認められなかった. Asami たち³⁾は, 強制的な高強度運動に比べて自発運動を行う方が, ラット肝臓中の酸化的 DNA 損傷レベルを低値にする (コントロール群との差も認められなかった)ことを報告した. このことは, 高強度の激しい運動トレーニングは酸化ストレスを高めるが, 自発的に行う身体活動は酸化ストレスを引き起こさない可能性を示唆している. 上記のような動物実験の結果がそのままヒトに当てはまるとは限らないが, 本研究の被験者のように, 日常生活を支障なく営むことができる健全な中高年者や, 趣味としてトレーニングを実施する中高年者の活動レベルの範囲では, 日常身体活動量の多少は酸化ストレス状態に影響を及ぼさないと推察される.

継続的な身体活動は酸化防御能力を高める²¹⁾.

26,27,32) ことから, 日常の身体活動量の多少は中高年者の酸化防御能力に影響を及ぼすと考えられる. 本研究では, 日常の身体活動量と血中 GSH 濃度の間には相関関係は認められなかった (Figure 1-C, Table 4) もの, 定期的トレーニングを行う中高年ランナーは, トレーニングを行っていない被験者と比較して血中 GSH 濃度が有意に高かった ($p < 0.01$). さらに, 血中 GSH 濃度と $\dot{V}O_{2peak}/kg$ との間に有意な正の相関関係が認められた ($r = 0.48, n = 21, p < 0.05$). 中高年ランナーでの高い酸化防御能力および中高年者の有気的持久性能力と酸化防御能力の間にみられた関係は, 若年者を対象とした研究^{9,28)}を支持している. しかしながら, 抗酸化ビタミン摂取量と年齢の影響を一定にした場合に血中 GSH 濃度と $\dot{V}O_{2peak}/kg$ の関係が弱まったことは, $\dot{V}O_{2peak}/kg$ よりも食事からの抗酸化ビタミン摂取量や年齢が血中 GSH 濃度に影響を及ぼす可能性を示唆しており, 有気的持久性能力と酸化防御能力の関係については, 栄養面や年齢の影響を考慮した詳細な分析が必要であると思われる.

酸化防御能力はトレーニング時間よりもトレーニング強度に依存して高まるとされている^{4,26)}. 本研究では, 中高年者の日常身体活動量を活動時間と強度から算定した活動の総消費カロリー量として定量化し, 酸化防御能力との関連性を検討した (Cf. Figure 1-C). この評価法では活動強度を考慮することが不十分であると思われるため, 今後, 消費カロリーだけでなく, さらに活動強度と活動時間を区別して酸化防御能力との関係性を検討する必要があると考えられる.

若年者において運動直後に血中の酸化ストレスマーカーが高まること^{18,31)}, およびトレーニングの状態や運動習慣の相違によって, 一過性の運動に対する酸化ストレス応答に差異が生じることが報告されている^{2,23)}. 本研究は中高年者を対象に日常の身体活動量が一過性運動後の酸化ストレスに及ぼす影響を検討した最初の研究である. その結果, 日常の身体活動量が非常に多い被験者で最大運動負荷後の GSSG/GSH 変化量が大きい傾向にあった ($r = 0.62, n = 21, p < 0.05$, Figure

2-A). また, 日常の身体活動量が非常に少ない被験者で定常負荷運動後に血中 GSH 濃度が低下する関係がみられた ($r = 0.74, n = 21, p < 0.05$, Figure 3-C). さらに, 抗酸化ビタミン摂取量, 年齢および性別を考慮した偏相関および重回帰分析においても同様の関係が認められた (Table 4). しかしながら, 大部分の被験者で運動後のパラメーターの変動が見られないことおよびこの関係が最大値もしくは最小値により牽引されている可能性が高いことから, これらの関係は明確でないと考えられる. さらに, その他のパラメーターの変化量と日常の身体活動量の間には相関関係は認められなかった (Figure 2-B & C, Figure 3-A & B, Table 4) ことから, 日常の身体活動量は一過性運動負荷直後の活性酸素生成系, 脂質の過酸化状態に影響を及ぼさないと推察される.

中高年者における日常身体活動量と一過性運動後の酸化ストレスの間に密接な関係が認められなかった原因として, 本研究の被験者には両運動中に生じる活性酸素を消去するのに十分な酸化防御能力が備わっていたこと, 予想最高心拍数までの最大運動負荷や 80%VT 強度で30分間の定常負荷運動では活性酸素を多量に発生させる運動負荷でなかったことが考えられる.

食事からの抗酸化ビタミン摂取量を考慮した上で, 中高年者における日常身体活動量が酸化ストレスに及ぼす影響を検討した本研究の結論として, 中高年者が日常生活や健康目的で行う身体活動レベルでは酸化ストレスや酸化防御能力に影響を及ぼさない可能性が示された. 今後は消費カロリーだけでなく身体活動の強度と時間を区別した日常身体活動と酸化ストレスとの関係を検討する必要がある.

V. ま と め

本研究では, 家事や仕事を含めた日常身体活動量が, 安静時および一過性運動後の酸化ストレス応答に対してどのような影響を及ぼすかについて

1. 日常の身体活動量と安静時の酸化ストレスマーカー (GSSG/GSH, TBARS) との間に有意な相関関係は認められなかった.

2. 日常の身体活動量と最大運動負荷後における GSSG/GSH の変化量との間に統計的に有意な関係が認められた ($r=0.62$, $n=21$, $p<0.05$) が, 明確な関係ではなかった. 脂質の過酸化系の状態を示す TBARS の変化量との間には, 関連性は認められなかった.
3. 日常の身体活動量と定常負荷運動後の酸化ストレスマーカーの変化量 (Δ GSSG/GSH, Δ TBARS) との間に明確な関係は認められなかった.
4. 日常の身体活動量と定常負荷運動後の GSH 濃度の変化量との間に統計的には有意な関係がみられた ($r=0.73$, $n=21$, $p<0.05$) もの, 明確な関係ではなかった.

以上の結果から, 中高年者における日常身体活動量の相違は, 安静時もしくは一過性運動後の生体の酸化ストレスおよび酸化防御能力に影響を及ぼさない可能性が示唆された.

謝 辞

本研究は, 筑波大学先端学際領域研究センター (TARA センター)・TARA プロジェクト (代表: 久野 譜也) ならびに文部科学省・科学技術振興調整費 (代表: 村上和雄) による研究 (SAT プロジェクト) の一部である. また, データ解析に関してご協力を戴いた筑波大学体育科学系西嶋尚彦助教授に深く感謝申し上げます.

(受理日 平成14年4月3日)

参 考 文 献

- 1) Ainsworth, B. E., Haskell, W. L., Whitt, M. C., Irwin, M. L., Swartz, A. M., Strath, S. J., O'Brien, W. L., Bassett, D. R., Jr., Schmitz, K. H., Emplaincourt, P. O., Jacobs, D. R., Jr. and Leon, A. S. Compendium of physical activities: an update of activity codes and MET intensities. *Med. Sci. Sports Exerc.*, (2000), **32**, S498-504.
- 2) Alessio, H. M. and Goldfarb, A. H. Lipid peroxidation and scavenger enzymes during exercise: adaptive response to training. *J. Appl. Physiol.*, (1988), **64**, 1333-1336.
- 3) Asami, S., Hirano, T., Yamaguchi, R., Tsurudome, Y., Itoh, H. and Kasai, H. Effects of forced and spontaneous exercise on 8-hydroxydeoxyguanosine levels in rat organs. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, (1998), **243**, 678-682.
- 4) Criswell, D., Powers, S., Dodd, S., Lawler, J., Edwards, W., Renshler, K. and Grinton, S. High intensity training-induced changes in skeletal muscle antioxidant enzyme activity. *Med. Sci. Sports Exerc.*, (1993), **25**, 1135-1140.
- 5) 文谷知明, 星川秀利. カロリー計による運動時エネルギー消費量の検討. 武蔵丘短期大学紀要, (1995), **3**, 105-111.
- 6) Dill, D. B. and Costill, D. L. Calculation of percentage changes in volumes of blood, plasma, and red cells in dehydration. *J. Appl. Physiol.*, (1974), **37**, 247-248.
- 7) 池上晴夫. 運動適応のメカニズム: 運動の強度・量の表し方. 運動生理学, 朝倉書店, 東京, (1990), 100-109.
- 8) 伊藤宏, 下田次雄, 山崎良比古. 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. デサントスポーツ科学, (2000), **21**, 68-75.
- 9) Jenkins, R. R., Friedland, R. and Howald, H. The relationship of oxygen uptake to superoxide dismutase and catalase activity in human skeletal muscle. *Int. J. Sports Med.*, (1984), **5**, 11-14.
- 10) Kanter, M. M., Lesmes, G. R., Kaminsky, L. A., La Ham-Saeger, J. and Nequin, N. D. Serum creatine kinase and lactate dehydrogenase changes following an eighty kilometer race. Relationship to lipid peroxidation. *Eur. J. Appl. Physiol.*, (1988), **57**, 60-63.
- 11) Kanter, M. M., Nolte, L. A. and Holloszy, J. O. Effects of an antioxidant vitamin mixture on lipid peroxidation at rest and postexercise. *J. Appl. Physiol.*, (1993), **74**, 965-969.
- 12) 健康栄養情報研究会. 日本人の栄養所要量: 食事摂取基準. 第一出版, 東京, (1999), 81-127.
- 13) 近藤久雄, 糸川嘉則. 廃用性筋萎縮と酸化的ストレス. 臨床スポーツ医学, (1994), **7**, 785-790.
- 14) Kostka, T., Draai, J., Berthouze, S. E., Lacour, J. R. and Bonnefoy, M. Physical activity, fitness and integrated antioxidant system in healthy active elderly women. *Int. J. Sports Med.*, (1998), **19**, 462-467.
- 15) Kostka, T., Draai, J., Berthouze, S. E., Lacour, J. R. and Bonnefoy, M. Physical activity, aerobic capacity and selected markers of oxidative stress and the anti-oxidant defence system in healthy active elderly men. *Clin. Physiol.*, (2000), **20**, 185-190.
- 16) Kretzschmar, M., Muller, D., Hubscher, J., Marin, E. and Klinger, W. Influence of aging, training and acute physical exercise on plasma glutathione and lipid peroxides in man. *Int. J. Sports Med.*, (1991), **12**, 218-222.
- 17) Laaksonen, R., Fogelholm, M., Himberg, J. J., Laakso, J. and Salorinne, Y. Ubiquinone supplementation and exercise capacity in trained young and older men. *Eur. J. Appl. Physiol.*, (1995), **72**, 95-100.
- 18) Leaf, D. A., Kleinman, M. T., Hamilton, M. and Barstow, T. J. The effect of exercise intensity on lipid peroxidation. *Med. Sci. Sports. Exerc.*, (1997), **29**,

- 1036-1039.
- 19) Lenaz, G. Role of mitochondria in oxidative stress and ageing. *Biochim. Biophys. Acta*, (1998), **1366**, 53-67.
 - 20) Lovlin, R., Cottle, W., Pyke, I., Kavanagh, M. and Belcastro, A. N. Are indices of free radical damage related to exercise intensity. *Eur. J. Appl. Physiol.*, (1987), **56**, 313-316.
 - 21) Marzatico, F., Pansarasa, O., Bertorelli, L., Somenzi, L. and Della Valle, G. Blood free radical antioxidant enzymes and lipid peroxides following long-distance and lactacidemic performances in highly trained aerobic and sprint athletes. *J. Sports Med. Phys. Fitness*, (1997), **37**, 235-239.
 - 22) Meydani, M., Evans, W. J., Handelman, G., Biddle, L., Fielding, R. A., Meydani, S. N., Burrill, J., Fiatarone, M. A., Blumberg, J. B. and Cannon, J. G. Protective effect of vitamin E on exercise-induced oxidative damage in young and older adults. *Am. J. Physiol.*, (1993), **264**, R992-998.
 - 23) Niess, A. M., Hartmann, A., Grunert-Fuchs, M., Poch, B. and Speit, G. DNA damage after exhaustive treadmill running in trained and untrained men. *Int. J. Sports Med.*, (1996), **17**, 397-403.
 - 24) Paffenbarger, R. S., Jr., Hyde, R. T., Wing, A. L., Hsieh, C. C. Physical activity, all-cause mortality and longevity of college alumni. *N. Engl. J. Med.*, (1986), **314**, 605-613.
 - 25) Poulsen, H. E., Loft, S. and Vistisen, K. Extreme exercise and oxidative DNA modification. *J. Sports Sci.*, (1996), **14**, 343-346.
 - 26) Powers, S. K., Criswell, D., Lawler, J., Ji, L. L., Martin, D., Herb, R. A. and Dudley, G. Influence of exercise and fiber type on antioxidant enzyme activity in rat skeletal muscle. *Am. J. Physiol.*, (1994), **266**, R375-380.
 - 27) Powers, S. K., Ji, L. L. and Leeuwenburgh, C. Exercise training-induced alterations in skeletal muscle antioxidant capacity: a brief review. *Med. Sci. Sports Exerc.*, (1999), **31**, 987-997.
 - 28) Robertson, J. D., Maughan, R. J., Duthie, G. G. and Morrice, P. C. Increased blood antioxidant systems of runners in response to training load. *Clin. Sci.*, (1991), **80**, 611-618.
 - 29) Saxton, J. M., Donnelly, A. E. and Roper, H. P. Indices of free-radical-mediated damage following maximum voluntary eccentric and concentric muscular work. *Eur. J. Appl. Physiol.*, (1994), **68**, 189-193.
 - 30) Sen, C. K., Marin, E., Kretzschmar, M. and Hanninen, O. Skeletal muscle and liver glutathione homeostasis in response to training, exercise, and immobilization. *J. Appl. Physiol.*, (1992), **73**, 1265-1272.
 - 32) Sen, C. K. Glutathione homeostasis in response to exercise training and nutritional supplements. *Mol. Cell Biochem.*, (1999), **196**, 31-42.
 - 33) Sumida, S., Tanaka, K., Kitao, H. and Nakadomo, F. Exercise-induced lipid peroxidation and leakage of enzymes before and after vitamin E supplementation. *Int. J. Biochem.*, (1989), **21**, 835-838.
 - 34) 高橋周史, 吉川敏一, 近藤元治. 活性酸素と組織傷害. *臨床検査*, (1996), **40**, 132-136.
 - 35) 寺尾俊彦, 住本和博. 簡易な消費カロリー測定器と摂取カロリー測定器の開発. *学校保健研究*, (1987), **29**(suppl.), 109-110.
 - 36) Toshinai, K., Ohno, H., Bae, S. Y., Iwashita, T., Koseki, S., and Haga, S. Effect of different intensity and duration of exercise with the same total oxygen uptake on lipid peroxidation and antioxidant enzyme levels in human plasma. *Adv. Exerc. Sports Physiol.*, (1998), **4**, 65-70.
 - 37) Wei, Y. H. Oxidative stress and mitochondrial DNA mutations in human aging. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, (1998), **217**, 53-63.
 - 38) Whipp, B. J., Davis, J. A., Torres, F. and Wasserman, K. A test to determine parameters of aerobic function during exercise. *J. Appl. Physiol.*, (1981), **50**, 217-221.
 - 39) 八木国夫. Thiobarbituric acid 蛍光法による血漿又は血清中の過酸化脂質の微量定量法. *ビタミン*, (1975), **49**, 403-405.
 - 40) 山田誠二, 馬場快彦. 運動強度を加味したカロリーカウンターによる運動時消費エネルギー量の測定. *産業医科大学雑誌*, (1990), **12**, 77-82.
 - 41) 横地正裕, 新実光朗. 糖尿病患者の歩行時にカロリーカウンターによって測定されたエネルギー量の妥当性. *理学療法学*, (1995), **22**, 178-180.