

DB
1952
2003
HG

博士論文

運動誘発性酸化ストレスによる
血管内タンパク性スルフヒドリル基の酸化還元に関する研究

平成 15 年度

稲山 貴代

筑波大学

寄贈
稲山貴代氏

04010914

第1章 序論	1
第2章 文献研究	3
2.1 酸化ストレスと抗酸化システム	3
2.1.1 活性酸素・フリーラジカル	3
2.1.2 活性酸素の作用	6
2.1.3 生体内の抗酸化システム	6
2.2 血管内抗酸化システム	9
2.3 SH基が果たす役割	12
2.3.1 SH基とは	12
2.3.2 GSH	12
2.3.3 タンパク性SH基	14
2.4 運動によって誘起される酸化ストレス	16
2.5 運動誘発性酸化ストレスによるSH基の変動	17
2.5.1 血中GSH	17
2.5.2 その他の組織のGSH	20
2.5.3 タンパク性SH基	20
第3章 本研究の目的	22
3.1 本研究の背景	22
3.2 本研究の目的	22
3.2.1 一過性の運動負荷は血管内p-SH基の変動をもたらすのか(実験1)	22
3.2.2 運動負荷による血漿p-SH基の減少は酸化によるものなのか(実験2)	23
3.2.3 運動負荷によって減少した血漿p-SH基は回復するのか(実験3-1, 実験3-2)	23
第4章 ヒト血管内p-SH基は中等度の運動負荷の影響を受ける(実験1)	24
4.1 緒言	24
4.2 方法	25
4.2.1 対象者	25
4.2.2 実験計画	25

4.2.3	試薬ならびに分析方法	25
4.2.4	統計処理	27
4.3	結果	27
4.3.1	血漿タンパク質濃度ならびに CPK 活性	27
4.3.2	運動後の赤血球 SH 基の変動	27
4.3.3	運動後の血漿 SH 基の変動	27
4.4	考察	28
4.5	要約	29
第5章	運動誘発性血漿 p-SH 基の減少はシステインとの混合ジスルフィド形成による酸化である (実験2)	33
5.1	緒言	33
5.2	方法	33
5.2.1	実験計画	33
5.2.2	試薬	34
5.2.3	分析方法	34
5.2.4	統計処理	35
5.3	結果ならびに考察	35
5.3.1	運動による血漿 p-S-Cys の形成	35
5.3.2	システイン混合ジスルフィド形成のメカニズム	37
5.4	要旨	40
第6章	持久性運動負荷後の血漿 p-SH 基の回復過程は対象者のトレーニング状況によって異なる (実験3-1, 実験3-2)	43
6.1	緒言	43
6.2	方法	44
6.2.1	対象者	44
6.2.2	実験計画	44
6.2.3	試薬ならびに分析方法	44

6.2.4 統計処理	45
6.3 実験 3-1：中等度のトレーニング状況にある成人男性の結果	45
6.3.1 対象者	45
6.3.2 血漿 p-SH 基ならびにタンパク質濃度	45
6.3.3 血漿 CPK 活性ならびに TBARS 濃度	49
6.4 実験 3-2：高強度のトレーニング状況にある成人男性の結果	49
6.4.1 対象者	49
6.4.2 血漿 p-SH 基、タンパク質およびアルブミン濃度	49
6.4.3 血漿 CPK 活性ならびに TBARS 濃度	53
6.5 考 察	53
6.6 要 約	57
第7章 討 論	59
第8章 総 括	65
8.1 目 的	65
8.2 研究の概要	65
8.2.1 ヒト血管内 p-SH 基は中等度の運動負荷の影響を受ける（実験 1）	65
8.3.2 運動誘発性血漿 p-SH 基の減少はシステインとの混合ジスルフィド形成による 酸化である（実験 2）	66
8.3.3 持久性運動負荷後の血漿 p-SH 基の回復過程は対象者のトレーニング状況によっ て異なる（実験 3-1, 実験 3-2）	67
第9章 結 論	68
謝 辞	69
参考文献	70

本研究で使用する用語の定義

CPK	creatine kinase クレアチンキナーゼ
DTNB	5,5'-dithiobis 2-nitrobenzoic acid 5,5'-ジチオビス (2-ニトロ安息香酸)
DTT	dithiothreitol ジチオトレイトール
EDTA	ethylenediaminetetraacetic acid
ESR	electron spin resonance 電子スピン共鳴法
γ -GTP	γ -glutamyltranspeptidase γ -グルタミールトランスペプチダーゼ
GSH	reduced glutathione (還元型) グルタチオン
GSSG	oxidized glutathione 酸化型グルタチオン
Hb	hemoglobin ヘモグロビン
HPLC	high performance liquid chromatography 高速液体クロマトグラフィー
NO	nitric oxide 一酸化窒素
p-S-Cys	protein cysteine mixed disulfides タンパク-システイン混合ジスルフィド
p-SH 基	protein-bound sulfhydryl groups タンパク性 SH 基
p-S-SG	protein-bound GSH タンパク-グルタチオン混合ジスルフィド

RBC	red blood cell 赤血球
ROS	reactive oxygen species 活性酸素種
SDS	sodium dodecyl sulfate ラウリル硫酸ナトリウム
SE	standard error 標準誤差
SH 基	sulfhydryl groups スルフヒドリル基
SH \rightleftharpoons S-S	thiol disulfide exchange チオール/ジスルフィド交換
SOD	superoxide dismutase スーパーオキシドジスムターゼ
SSA	sulfosalicylic acid スルホサリチル酸
TBARS	thiobarbituric acid reactive substances チオバルビツール酸反応物質
TRX	thioredoxin チオレドキシン
VO ₂ max	maximum oxygen consumption 最大酸素摂取量
VT	ventilatory threshold 換気性作業閾値

参考論文

本論文は以下の原著論文をもとにまとめられている。

1. Inayama T, Kumagai Y, Sakane M, Saito M, Matsuda M (1996) Plasma protein-bound sulfhydryl group oxidation in humans following a full marathon race. *Life Sci* 59 (7): 573-578.
2. 稲山貴代, 松田光生, 齋藤実, 小林修平 (1998) フルマラソンによって減少した血漿蛋白性 sulfhydryl groups の回復. *臨床スポーツ医学* 15 (4): 418-423.
3. Inayama T, Kashiba M, Oka J, Higuchi M, Umegaki K, Saito M, Yamamoto Y, Matsuda M (2002) Physical Exercise Induces Oxidation of Plasma Protein Thiols to Cysteine Mixed Disulfides in Humans. *J Health Sci* 48 (5): 399-403.
4. Inayama T, Oka J, Kashiba M, Saito M, Higuchi M, Umegaki K, Yamamoto Y, Matsuda M (2002) Moderate physical exercise induces the oxidation of human blood protein thiols. *Life Sci* 70 (17): 2039-2046.