

第3章 本研究の目的

3.1 本研究の背景

血管内皮細胞やリポタンパク質の酸化を抑制し動脈硬化のリスクを軽減することは、ヒトの健康づくりにおいて重要な課題である。ヒト赤血球には高濃度の抗酸化酵素ならびに抗酸化物質が存在している。血漿では、濃度は低いものの多種多様な抗酸化物質が含まれ、酸化ストレスに対して備えている (Stocker and Frei, 1991, 二木, 1994)。ヒト血漿にラジカルを曝露させ抗酸化物質の減少と酸化物の生成を観察した *in vitro* の検討では (Wayner et al, 1987, Frei et al, 1988)、代表的な抗酸化物質であるビタミンCのみならず、アルブミン由来の p-SH 基が抗酸化物質として重要な機能を果たすことが示されているが、*in vivo* におけるその生物学的意義は十分解明されていない。

3.2 本研究の目的

一過性の運動負荷によって血中 (主に赤血球) GSH が酸化されることが報告されている (Lew et al, 1985, Gohil et al, 1988, Duthie et al, 1990, Ji and Fu, 1992, Viguie et al, 1993, Sen et al, 1994a, Sen et al, 1994c, Vina et al, 1995, Tessier et al, 1995, Laaksonen et al, 1996)。GSH は細胞内の代表的な抗酸化物質であるが、その濃度は細胞内 SH 基濃度の一部を説明しているにすぎない (Sen et al, 1997)。ヒト血中には血漿アルブミンならびに赤血球ヘモグロビン由来の高分子 SH 基が GSH よりも高濃度存在している。この血中 p-SH 基の酸化還元に及ぼす運動負荷の影響は知られていない。

本研究では、運動誘発性酸化ストレスによってヒト血管内において GSH のみならず p-SH 基も酸化され、それは *in vivo* における抗酸化機能を示唆するという仮説に基づいて実験を進めた。以下に本研究における目的について記す。

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)

細胞内では酸化ストレスに対する初期の応答として、protein S-thiolation が観察されることが報告されている (Thomas et al, 1995, Klatt and Lamas, 2000)。ヒト赤血球にはヘモグロビン由来

の p-SH 基が 8 mM、血漿には p-SH 基が約 0.5~0.7 mM 存在する。一過性の運動負荷によってヒト赤血球 GSH が酸化されることが知られているが、p-SH 基にもたらされる影響は不明である。

中等度の有酸素運動を負荷した健常な成人女性を対象に、赤血球および血漿中の低分子ならびに p-SH 基の変動を観察することで、一過性の運動負荷が血管内 p-SH 基にもたらす影響を明らかにすることを目的とした。

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)

運動によって誘起されたヒト血漿 p-SH 基の減少がタンパク質の酸化であることを確認するためには、p-SH 基に生じた反応を検証することが必要である。通常、酸化ストレスによってタンパク質が酸化される場合、p-SH 基と GSH との混合ジスルフィドが生じると考えられている (Inoue et al, 1995)。

運動負荷によって p-SH 基が減少した血漿サンプルを用い、p-SH 基と混合ジスルフィドを形成した低分子 SH 基を同定することで、運動誘発性血漿 p-SH 基の減少が酸化であることを証明し、試験管内反応を追うことによってその酸化還元反応の機序について考究した。

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)

一過性の運動負荷によって赤血球の GSH ならびに p-SH 基は酸化された。細胞内には高濃度の還元酵素が存在していることから、酸化された赤血球 GSH ならびに p-SH 基は速やかに還元される。しかし、血漿における SH 基の回復過程は不明である。*In vitro* の検討では、ヒト血漿 p-SH 基が抗酸化機能を担っていることが示唆されている。運動誘発性血漿 p-SH 基の減少がシステインとの混合ジスルフィド結合による酸化であったことから、運動負荷により酸化されたヒト血漿 p-SH 基が再還元される可能性は大きい。長時間の持久性運動を負荷したトレーニング状況の異なる健常な成人男性を対象に、血漿 p-SH 基の減少からの回復過程を観察することで、血漿 p-SH 基が還元される可能性を検討した。