

第8章 総括

8.1 目的

血管内には GSH のみならず p-SH 基が高濃度存在している。赤血球 GSH が一過性の運動負荷によって酸化されることは知られているが (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)、p-SH 基が受ける運動負荷の影響は不明である。

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 (Thomas et al, 1995, Klatt and Lamas, 2000)。また、*in vitro* の検討ではヒト血漿 p-SH 基の抗酸化機能が支持されている (Wayner et al, 1987, Frei et al, 1988)。一過性の運動負荷によってヒト血管内において GSH のみならず p-SH 基が酸化還元反応を示し、それは抗酸化システム的一端を担う可能性が考えられる。運動誘発性酸化ストレス下における血管内 p-SH 基の酸化還元反応について考究することを目的として、以下の3つの実験を行った。

8.2 研究の概要

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)

目的：

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 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。

概要：

非鍛錬者である健常な女性 6 名を対象に、個人の VT レベルの強度で 30 分ランニングを負荷した。その結果、赤血球の GSH ならびに p-SH 基は、運動終了後有意に減少し、2 時間後にはいずれも初期値に回復した。血漿では低分子 SH 基の有意な変動は認められなかったが、p-SH 基は運動直後有意に減少し 24 時間後においても継続して低値を示した。これらの結果が

ら、中等度の有酸素運動は赤血球 GSH のみならず赤血球ならびに血漿の p-SH 基に影響をもたらすことが明らかになった。赤血球 p-SH 基は GSH 同様運動終了後速やかに回復したことから、運動誘発性酸化ストレス下におけるヒト赤血球の抗酸化システムの一環として機能しており、その再還元には細胞内の還元酵素が関与する機序が考えられた。

8.2.2 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)

目的：

細胞内には GSH レダクターゼといった還元酵素が存在しており、酸化された赤血球 GSH ならびに p-SH 基は速やかに再還元される。しかし、赤血球とは異なり、*in vivo* におけるヒト血漿 p-SH 基の酸化還元の機序は十分解明されているとは言い難い。酸化ストレスが亢進した動物では、血漿アルブミンと GSH (およびシステイン) との結合が増加することが示されている (Inoue et al, 1995) が、ヒトにおいても同様の現象が観察されるか否かは、明らかになっていない。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メカニズムについて考究した。

概要：

運動負荷によって血漿 p-SH 基が減少した血漿サンプルを用いて、還元剤処置によって SH 基が減少した血漿タンパク質から遊離してくる低分子 SH 基を同定した。その結果、運動負荷による血漿 p-SH 基の減少に伴い、タンパク質とシステインとの混合ジスルフィド結合が増加したことを見いだした。一方運動前後いずれにおいても、血漿中に p-S-SG ならびに S-nitroso-albumin は検出されなかった。運動誘発性血漿 p-SH 基の減少はヒト血管内に生じた酸化ストレスによるタンパク質の酸化であることが証明された。さらに、試験管内での反応実験を検討することで、p-S-Cys は、 γ -GTP ならびに peptidase による p-S-SG の加水分解、あるいはまた p-SH 基との cyst(e)in の酸化的付加反応によって生じるというメカニズムが考えられた。

8.2.3 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)

目的:

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、一過性の運動負荷による血漿 p-SH 基の減少からの回復過程を観察することで、酸化された血漿 p-SH 基が還元される可能性を検討した (実験 3-1, 実験 3-2)。

概要:

フルマラソンレースに参加した中等度のトレーニング状況にある男子学生 (実験 3-1)、高強度のトレーニング状況にある男子学生 (実験 3-2) を対象とした。実験 3-1 および実験 3-2 のいずれにおいても、筋へのダメージの指標と考えられている血漿 CPK 活性はレース後有意に上昇したのに対し、血漿 TBARS 濃度はレースによる変動はみられなかった。血漿 p-SH 基は、実験 3-1 の中等度のトレーニング状況の男子学生では、初期値と比較してマラソンレース 0.5 時間後有意に減少し、24 時間、48 時間後まで継続して有意に低値を示した。一方、実験 3-2 の高強度のトレーニング状況の男子学生では、マラソン完走 0.5 時間後にみられた血漿 p-SH 基の有意な減少は 24 時間後に初期値まで回復した。ただし、このとき運動部の現役か現役に近い高強度のトレーニングを行っていた対象者では、マラソンによる血漿 p-SH 基の減少は観察されなかった。実験 3-2 の結果は、運動誘発性血漿 p-SH 基の酸化が再還元されうること、それゆえ循環血液中での抗酸化機能を意味する可能性があること、回復過程はトレーニング状況に左右される可能性があることが示唆された。