

(別紙様式博 5、例 2)

学位論文要旨

学位授与申請者

高見 真

題目：骨格筋エネルギー代謝および腸管バリアにおよぼす運動誘発性酸化ストレスに関する研究

本研究は、高強度運動により生じる酸化ストレスが生体へおよぼす影響を検討したものである。運動時に活性酸素種が発生する主要な臓器である骨格筋および腸管に着目し、それらの機能におよぼす酸化ストレスの影響を、マウスを用いた生体レベルの実験系により明らかにした。

第 1 章 序論

スポーツ競技者や運動愛好家は、競技力向上を目的に高強度（最大運動強度の 70 % 以上）の運動を頻繁に行う。運動の強度に依存し、骨格筋および腸管において活性酸素種の生成が高まる。活性酸素種が過剰に生成すると、酸化ストレスとして生体成分の酸化障害を引き起こし、骨格筋や腸管の機能が低下する恐れがある。運動時、骨格筋細胞のミトコンドリアでは、電子伝達系におけるエネルギー代謝の過程で活性酸素種の生成が増加する。そのため、ミトコンドリア内にある代謝酵素は活性酸素種による酸化の標的となることが考えられる。また腸管では、運動時の血流変化にともなう虚血再灌流機構により、活性化したキサンチンオキシダーゼが酸素と反応することで活性酸素種の生成が高まる。特に、小腸の上皮細胞ではキサンチンオキシダーゼ活性が高いため、バリア機能を担うタイトジャンクションタンパク質が活性酸素種の標的になりやすい。タンパク質は不可逆的な翻訳後酸化修飾を受けることにより、その構造が変化し、機能の低下につながる。そのため、エネルギー代謝およびバリア機能に関連するタンパク質が酸化修飾を受けることで、それらの機能が低下する可能性がある。以上のことから、本研究では、高強度運動による酸化ストレスが、骨格筋エネルギー代謝および腸管バリアへおよぼす影響について明らかにすることを目的とした。

第 2 章 高強度運動時の酸化ストレスが骨格筋エネルギー代謝におよぼす影響

習慣的な持久性運動は、骨格筋ミトコンドリアの代謝酵素を活性化し、エネルギー代謝能を高める。一方、運動強度が高い場合、エネルギー代謝能の向上が抑制されることが報告されているが、その機序は不明である。そこで、本章では、高強度の持久性運動

を負荷したマウスの骨格筋において、エネルギー代謝におよぼす酸化ストレスの影響を検討した。10 週齢の ICR 系雄性マウスを安静群と運動群（各群 5 匹）に分けた。運動群には、最大運動強度 80 %相当のトレッドミル走運動を週 5 回、2 週間負荷した。最終運動の翌日に腓腹筋を採取した。ミトコンドリア画分タンパク質において、脂質ヒドロペルオキシド修飾に由来する Hexanoyl lysine (HEL) 残基量、およびアルデヒドである 4-hydroxy-2-nonenal (HNE) による修飾量が、運動群で増加傾向であった (HEL 量: $P = 0.064$, HNE 修飾量: $P = 0.081$)。そこで、脂質過酸化物による修飾が報告されている Carnitine palmitoyl transferase 1, Aconitase 2, Malate dehydrogenase (MDH) 2 および Dynamin-related protein 1 について、それぞれの修飾量を測定した。その結果、クエン酸回路酵素 MDH 2 において、安静群と比較して運動群では、HEL 量が平均 2.6 倍 ($P = 0.022$)、HNE 修飾量が 3.1 倍増加した ($P = 0.031$)。一方、他のタンパク質の修飾量は 2 群間で有意な差を認めなかった。さらに、試験管内の実験において、MDH2 の活性は、反応させた過酸化脂質濃度に依存して低下することが観察され、脂質過酸化物による酸化修飾が MDH2 を不活性化させることが示唆された。以上より、高強度運動によるエネルギー代謝能向上の抑制には、MDH2 の酸化修飾が関与することが示唆された。

第 3 章 高強度運動時の酸化ストレスが腸管バリアにおよぼす影響

強度の高い運動により、腸管のバリア機能が低下することが報告されているが、その機序は不明である。そこで、本章では、高強度の持久性運動を負荷したマウスを用いて、腸管バリアにおよぼす酸化ストレスの影響を検討した。10 週齢の ICR 系雄性マウスを安静群と運動群（各群 6 匹）に分けた。運動群には最大運動強度 80 %相当のトレッドミル走運動を週 5 回、2 週間負荷した。最終運動の翌日、蛍光標識物質を用いた腸管透過性試験およびタイトジャンクションタンパク質の定量により、腸管バリア機能を評価した。その結果、運動群において腸管透過性が高値傾向を示した ($P = 0.053$)。一方、腸管バリアの維持に重要であるタイトジャンクションタンパク質 Claudin-1 と Occludin の量は、2 群間で有意な差を認めなかった。これらの半減期は、数時間から半日程度と短いため、運動翌日には既にタンパク質量が定常レベルに回復した可能性がある。そこで、運動直後における腸管バリア機能を評価した。その結果、腸管透過性は、運動終了 30 分後に 2.4 倍高まり ($P = 0.008$)、60 分後には安静時と同程度まで回復した。また、安静群と比較して運動群において Claudin-1 量は減少 ($P = 0.002$)、Occludin 量は減少傾向であった ($P = 0.0998$)。さらに、酸化ストレスによる影響を確認したところ、小腸における HEL 量は運動群で 1.2 倍増加した ($P = 0.034$)。また、活性酸素種の生成を抑制するため、キサンチンオキシダーゼ阻害剤アロプリノールを投与したところ、運動による腸管透過性亢進が抑制されることを観察した ($P = 0.032$)。以上より、高強度運動による腸管バリア機能の低下に酸化ストレスが関与することが示唆された。

第4章 総括および結論

高強度運動により生じる酸化ストレスが、骨格筋エネルギー代謝および腸管バリア機能の低下に関与することを、動物実験により明らかにした。骨格筋においては、MDH2の酸化修飾が増加し、このことがエネルギー代謝能の低下につながることを示唆した。また、小腸においても酸化修飾タンパク質の増加がみられ、バリア機能の低下につながる可能性を示した。したがって、競技力向上を目指すスポーツ競技者や運動愛好家は、骨格筋や腸管の酸化ストレスを制御することが体調を管理する上で重要と考える。また、酸化ストレスを制御する方策として、食事からの抗酸化成分摂取が有用と考えられ、その評価に本研究で得られた結果を応用できる可能性がある。以上より、本研究は競技力向上のための体調管理に新たな知見を加えるものとする。