

〈総説〉

酸化ストレスと健康

江口 裕伸¹⁾、藤原 範子¹⁾、大河原 知水²⁾、鈴木 敬一郎¹⁾、谷口 直之^{3),4)}

Oxidative stress and health

Hironobu Eguchi¹⁾, Noriko Fujiwara¹⁾, Tomomi Ookawara²⁾,
Keiichiro Suzuki¹⁾ and Naoyuki Taniguchi^{3),4)}

Summary Reactive oxygen species (ROS) are constantly generated in a biological system, and play important roles in a variety of normal biochemical functions and pathological processes. The most important source of superoxide anions *in vivo* are the electron transport chains in mitochondria and the endoplasmic reticulum in eukaryotic cells. ROS formed by neutrophils play beneficial roles in infectious disease and are eliminated under normal conditions by ROS scavengers such as superoxide dismutase, glutathione peroxidase and other antioxidants. An imbalance between the generation of ROS and the antioxidants, however, causes oxidative stress. The increased generation of ROS and an altered redox status have long been observed in many types of diseases, such as diabetes. In this review, we describe the regulation mechanisms and function of ROS, its correlation with diabetes, and the effects of physical exercise on the body's redox status.

Key words: Oxidative stress, Free radicals, Diabetes, Exercise, SOD

I. はじめに

生命活動によるエネルギーの産生は主に酸化的リン酸化に依存しており、酸素はこのエネルギー産生に重要な役割を果たしているが、取り

込まれた酸素の一部は代謝の過程においてスーパーオキシドなどの活性酸素となる。また炎症などにおいては白血球から多量の活性酸素が産生される。これらの活性酸素種は細菌などの異物の除去に役立つ一方で、その反応性の高さか

¹⁾兵庫医科大学 生化学講座

〒663-8501 兵庫県西宮市武庫川町1-1

²⁾兵庫医療大学薬学部医療薬学科 生化学

³⁾大阪大学産業科学研究所疾患糖鎖学 (生化学工業) 寄附研究部門

⁴⁾理化学研究所 システム糖鎖生物学研究グループ 疾患糖鎖研究チーム

¹⁾Department of Biochemistry, Hyogo College of Medicine

1-1 Mukogawa, Nishinomiya, Hyogo 663-8501, Japan

²⁾Department of Biochemistry, School of Pharmacy, Hyogo University of Health Sciences

³⁾Department of Disease Glycomics (SEIKAGAKU CORPORATION), The Institute of Scientific and Industrial Research, Osaka University

⁴⁾Systems Glycobiology Group, Disease Glycomics Team, Advanced Science Institute, RIKEN

ら周辺の細胞にも傷害を与え、機能障害を引き起こす。通常、これらの活性酸素種はスーパーオキシドディスムターゼ (SOD) をはじめとする多くの活性酸素消去酵素や低分子抗酸化物により除去され、生体を傷害から保護している。このバランスの破綻は疾患につながり、糖尿病では増加した活性酸素により酸化ストレスが生じ病態を悪化させるなど、酸化ストレスと疾患は密接に関与していることが明らかとなっている。本稿では基礎的な活性酸素の発生機序、生理的役割および糖尿病への関与について述べた上で、健康の維持・増進における運動と酸化ストレスとの関係について最近の知見を報告する。

II. 活性酸素の発生と消去

酸素は好気性生物においてエネルギー産生に必須であり、ヒト成人では安静時に1日あたりおよそ430 L消費している。活性酸素は健常時でも呼吸により取り込まれた酸素から生成されているが、その大部分はスーパーオキシドディスムターゼ (SOD) などの抗酸化酵素の働きにより除去される。活性酸素種は、体内での酸化反応に関わる高反応性で寿命が短い酸素種であると定義され、ヒトの生体内にはスーパーオキシドや過酸化水素、ヒドロキシラジカルなどが存在する。また酸素のラジカル以外にも一酸化窒素 (NO) をはじめとする窒素ラジカルやイオウラジカル (チルラジカル) も存在している (表1)。このうちヒドロキシラジカルは鉄イオ

ンや銅イオンなどの遷移金属の存在下でスーパーオキシドと過酸化水素から生成され (金属が触媒するハーバーワイス反応 (Harber-Weiss反応) または $O_2^{\cdot-}$ -assisted Fenton反応)、反応性が極めて高く非特異的に分子と反応するという特徴から、DNA傷害や脂質の過酸化、タンパク質変性など多くの組織傷害に関与していると考えられている^{1,2)}。肝細胞において活性酸素は90 nmol/min/g産生されると報告されており³⁾、そのうち呼吸の場であるミトコンドリアでは約15%を占めている⁴⁾。ミトコンドリアに存在するSODをノックアウトしたマウスは生存できない⁵⁾ことから、活性酸素は生体にとって有害であり、ま

表1 生体内で生じる主な活性酸素種

	名称	分子式
ラジカル (+)	スーパーオキシド	$O_2^{\cdot-}$
	ヒドロキシラジカル	HO^{\cdot}
	ヒドロペルオキシラジカル	HOO^{\cdot}
	ペルオキシラジカル	LOO^{\cdot}
	アルコキシラジカル	LO^{\cdot}
	二酸化窒素	NO_2
	一酸化窒素	NO
	チル/ペルチルラジカル	RS^{\cdot}/RSS^{\cdot}
	一重項酸素	$^1O_2 \Sigma g^+$
ラジカル (-)	過酸化水素	H_2O_2
	一重項酸素	$^1O_2 \Delta g$
	脂質ヒドロペルオキシド	$LOOH$
	次亜塩素酸	$HOCl$
	オゾン	O_3
	ペルオキシ亜硝酸	$ONOO^{\cdot}$

表2 ヒトに存在する3種類のSODとその特徴

	Cu, Zn-SOD	Mn-SOD	EC-SOD
分布	細胞質 (一部はミトコンドリア膜間腔にも存在)	ミトコンドリア	細胞外腔
分子量	32 kD	88 kD	135 kD
サブユニット	二量体	四量体	四量体
金属イオン (モノマーあたり)	1Cu, 1Zn	1Mn	1Cu, 1Zn
阻害剤			
CN	+	-	++
過酸化水素	+	-	++
SDS(2%)	-	+	++
KOマウス	正常に育つが、酸化ストレスに弱い。老化すると難聴、肝臓、貧血などを発症する	新生仔期に死亡する	正常に育つが、高酸素状態に弱い。アスベストの肺障害を受けやすい
特徴	家族性筋萎縮性側索硬化症の約20%に遺伝子変異がある。糖化により失活し断片化する	サイトカインによって誘導される	ヘパリンに親和性を持つ。分泌型タンパク質

た活性酸素消去酵素は酸素毒性からの組織保護に極めて重要であることがわかる。

活性酸素の消去酵素であるSODはスーパーオキシドアニオンラジカルの不均化反応、 $2O_2^{\cdot -} + 2H \rightarrow H_2O_2 + O_2$ を拡散律速 ($2 \times 10^9 M^{-1}S^{-1}$) に近い速さで触媒する酵素であり、この作用により細胞内のスーパーオキシドは10万分の1に低下する。この反応により生じた過酸化水素はカタラーゼやグルタチオンペルオキシダーゼなどによって速やかに代謝され、解毒される (図1)。

SODはヒトには、Cu,Zn-SOD、Mn-SOD、EC-SODの3種類のアイソエンザイムが存在している (表2)。Cu,Zn-SODは活性中心に銅を、構造安定性に寄与する亜鉛をサブユニットあたり1個ずつ有し、肝臓や赤血球のほか、すべての細胞に普遍的に発現している。Mn-SODはミトコンドリアに存在するマンガン含有酵素であり、種々のサイトカインなどの刺激によりその発現が誘導される誘導型の酵素である。EC-SOD (Extracellular-SOD) は分泌型の酵素であり、その構造内に銅と亜鉛をもつ誘導型の酵素である。これらSODのノックアウトマウス (KOマウス) の解析によると、Cu,Zn-SODのKOマウスは正常に発育するが、スーパーオキシドを生じさせるパラコートの投与により有意に生存率が低下すること、雌は正常に排卵および妊娠するが、死産が多い⁸⁾ ことなど、酸化ストレスに弱いことが認められている。近年、我々の研究室では、Cu,Zn-SODのKOマウスの腎臓において、グルタチオンS-トランスフェラーゼA4の発現量および活性が増強していることを見出し、代償的に抗酸化作用を示して腎臓を酸化ストレスから保護していることを報告した⁷⁾。Mn-SODのKOマウスでは心臓におけるコハク酸デヒドロゲナーゼおよびアコニターゼ活性の減少、拡張性心筋症、肝臓・骨格筋における過酸化物の蓄積、代謝性アシドーシスを起こし、新生児期に死亡する⁹⁾。EC-SODのKOマウスは正常に発育するが、高酸素状態での飼育により肺水腫が起り生存率が低下したり、アスベスト投与後の肺障害が著しいことが報告されている⁸⁻⁹⁾。このように、SODは酸化ストレスから生体を保護する上で重要な役割を担っていることが明らかとなっている。また、神経変性疾患である筋萎縮性側索硬化症ではCu,Zn-SODの突然変異が関与していること¹⁰⁻¹⁴⁾ や、Cu,Zn-SODは非酵素的糖化反応を受けやすいこと¹⁵⁾、糖尿病や遺伝的早老症の1つであるWerner症候群の赤血球中のCu,Zn-SODが糖化を受け、酵素活性が低下すること¹⁶⁻¹⁷⁾ などが報告されており、各種疾患とも深い関わりを持っている。

グルタチオンは種々の生理活性を有するトリペプチドで、細胞内に数mMの濃度で存在し、生体を酸化ストレスから保護している。酸化型グルタチオン (GSSG) はNADPH依存的にグルタチオンレダクターゼによって還元型グルタチオン (GSH) に還元され、再び生体を酸化ストレスから保護する。グルタチオンペルオキシダーゼ

グルタチオンは種々の生理活性を有するトリペプチドで、細胞内に数mMの濃度で存在し、生体を酸化ストレスから保護している。酸化型グルタチオン (GSSG) はNADPH依存的にグルタチオンレダクターゼによって還元型グルタチオン (GSH) に還元され、再び生体を酸化ストレスから保護する。グルタチオンペルオキシダーゼ

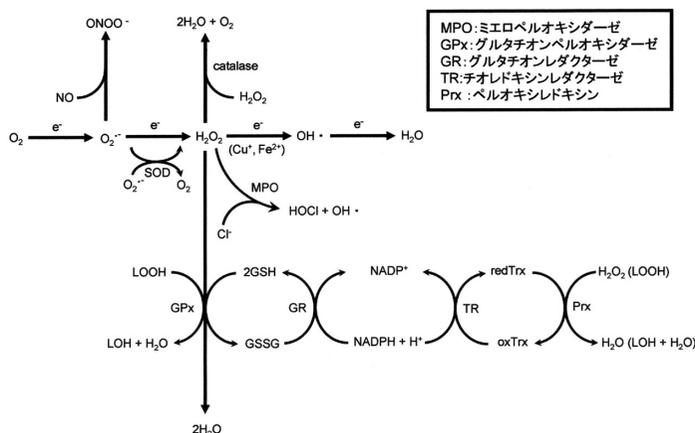


図1 抗酸化酵素による活性酸素種の消去機構

ーゼはGSHを利用して過酸化水素や脂質ヒドロペルオキシドを還元する酵素である。過酸化水素はカタラーゼによっても代謝されるが、グルタチオンペルオキシダーゼはカタラーゼに比べ、過酸化水素に対する反応性が非常に高い。このほか、分子内に存在する2つのシステイン残基のSH/SS交換によって酸化還元反応を制御するチオレドキシシンや、酸化型チオレドキシシンを還元するチオレドキシシンレダクターゼ、チオレドキシシン依存性のペルオキシダーゼであるペルオキシレドキシシンなど、多くの酵素および低分子化合物が活性酸素の消去に役立っている。

遊離した鉄イオンや銅イオンなどの遷移金属は、フェントン反応を引き起こしヒドロキシラジカルを生じる。これら微量金属は生体内ではフェリチンやトランスフェリン、セルロプラスミンなどに結合した状態で存在しており、これはヒドロキシラジカルの産生を抑制する上でも重要である。このように生体内で生じる活性酸素は生理的条件下では厳密に制御されているが、炎症や虚血、老化などの病態では活性酸素や活性窒素の産生量が消去系を凌駕し、生体は酸化ストレス状態になり、組織傷害を招く可能性を生じる。

Ⅲ. 生体内での活性酸素の役割

1) 炎症

炎症と活性酸素は密接な関わりがあり、炎症時に活性酸素は主に炎症巣に浸潤してくる好中球やマクロファージなどの食細胞や血管内皮のキサンチンオキシダーゼ、ホスホリパーゼA2によるアラキドン酸カスケード、細胞内ミトコンドリアなどにより産生される。好中球は殺菌において重要であり、その殺菌作用の中心的役割を活性酸素が担っている。NADPHオキシダーゼは好中球やマクロファージ、好酸球などの食細胞の形質膜に存在し、食細胞が貪食を行った際に活性化され、NADPHを電子供与体として酸素を1電子還元して大量のスーパーオキシドを産生することにより細菌などの異物排除を担っている。生成されたスーパーオキシドからはさらに不均化反応により過酸化水素が生成され、遷移金属の存在下では強力な酸化力を持つヒドロキシラジカルの産生が引き起こされ、異物消化

に役立っていると考えられる。スーパーオキシドを産生できない先天性疾患である慢性肉芽腫(Chronic granulomatous disease: CGD)では感染症を頻発することから¹⁸⁾、生体防御として活性酸素が重要であることが明らかとなっている。

主に多核白血球に存在するミエロペルオキシダーゼは、NADPHオキシダーゼにより生じた過酸化水素とハロゲンイオン(特にCl⁻)を用いて、次亜塩素酸を産生する。この次亜塩素酸はさらにO₂^{·-}と反応して(HOCl + O₂^{·-} → O₂ + OH· + Cl⁻)ヒドロキシラジカルなどの活性酸素を産生し、細菌などの殺菌および異物排除に役立っている。しかし常染色体劣性遺伝であるミエロペルオキシダーゼ欠損症では健康な例が少なくない。これはNADPHオキシダーゼなど他の機構で生じた活性酸素種が殺菌作用を担って、ミエロペルオキシダーゼの作用を代償しているためと考えられる。

2) 細胞接着

炎症時、白血球は多量の活性酸素を産生し異物排除に役立っているだけでなく、炎症の場への集積のために接着分子の発現を誘導し、炎症巣への白血球遊走を促進する。白血球の血管外遊走には主に、①セレクトリンを介したローリング、②インテグリンやICAM-1などによる強固な接着、③血管外への遊走のステップがある。セレクトリンは内皮細胞や血小板の顆粒中に存在し、刺激により数分以内に血管表面に発現し、白血球上にあるシアリルルイスXやPSGL-1などのリガンドと結合し、白血球を捕捉しローリングさせる。この白血球はインテグリンやICAM-1に捕捉され、強固に内皮細胞と結合し、血管外への遊走の足場を作る。活性酸素は内皮細胞のセレクトリンやICAM-1の発現を誘導し、細胞接着を誘導することが報告されている^{19,21)}。また、非特異的な細胞接着を抑制するため、細胞表面は糖衣(glycocalyx)によって覆われているが、活性酸素がこの糖衣を傷害し、非特異的な細胞接着を増加させる²²⁾など、さまざまな機序にて細胞接着を亢進させる働きを持つ。

しかし、過剰な白血球の浸潤や活性酸素の産生は非特異的に周辺組織を損傷してしまう。そのためこのような接着分子の発現はSODやカタラーゼのような抗酸化酵素や低分子抗酸化物によ

り抑制され、過剰な細胞接着を制御している²³⁾。我々のグループでは活性酸素が多量に存在すると、セレクチンのリガンドであるシアリルルイスXのシアル酸が切断され、細胞接着が抑制されることを見出した²⁴⁾。この結果は、少量の活性酸素は接着分子の発現誘導を介して細胞接着を亢進するが、多量の活性酸素が生成されると、細胞接着に関与している糖鎖を改変して過剰な白血球浸潤を抑制し、組織を酸化ストレス傷害から守るフィードバック作用を活性酸素が持っていることを示唆するものである。

3) 免疫

マクロファージは自然免疫の初期に関与する免疫細胞であり、細菌やウイルスなどの感染時にそれらを自身の中に取り込み（貪食作用）、細胞内殺菌システムにより排除していくものである。これら貪食した細菌を分解除去する過程において、マクロファージは細菌のエンドトキシン（リポポリサッカライド、LPS）やインターフェロン- γ （IFN- γ ）などにより活性化され、IL-1やIL-6、IL-12、TNF- α など種々のサイトカインや、NO・活性酸素などの生理活性物質を産生し、炎症反応に関与している。またヒト末梢血液中の白血球の50～70%を占める好中球は、マクロファージ同様、体内に侵入してきた細菌や真菌、原虫などの異物を貪食や遊走、粘着、脱顆粒などにより殺菌・排除し、感染防御を担っている。また、好中球の重要な異物処理機能であるNADPHオキシダーゼやミエロペルオキシダーゼなどによる強力な活性酸素の産生は異物排除に非常に有効であるが、同時に多量にかつ持続的に産生され続けると生体の組織傷害を引き起こすこともある。

4) シグナル伝達と転写制御因子

活性酸素はその酸化反応により、細胞内シグナル伝達にも関与する。Nuclear Factor κ B (NF- κ B) は細胞外刺激により核内に移行して遺伝子発現を誘導する転写因子のひとつであり、IL-1やIL-2、TNFなどのサイトカインをはじめ、セレクチンなどの接着分子、誘導型一酸化窒素合成酵素（iNOS）、シクロオキシゲナーゼ（COX-2）、Fasリガンドなど多くの炎症や免疫応答に関与する遺伝子の発現を制御している²⁵⁾。未

刺激状態のNF- κ Bは核への移行を抑制するI κ B (Inhibitory protein κ B) と結合して細胞質に存在しているが、IL-1やTNFなどの刺激によりI κ Bが分解され、NF- κ Bが遊離されて核内に移行し、DNAと結合することにより転写を開始する。抗酸化剤であるN-アセチルシステインはこのI κ BとNF- κ Bとの解離を阻害し、NF- κ Bの活性化を抑制する。また、DNAとNF- κ Bの結合も酸化還元反応によって制御されており、チオレドキシンがこの反応に関与している。

Nrf2 (nuclear factor E2 related factor 2) は塩基性ロイシンジッパー構造を持つ転写因子であり、親電子性物質や活性酸素、活性窒素などにより活性化され核に移行し、グルタチオンS-トランスフェラーゼやヘムオキシゲナーゼ1、チオレドキシ還元酵素など酸化ストレス防御遺伝子群の発現を制御している転写因子である²⁶⁻²⁷⁾。Nrf2は酸化ストレスのセンサーであるKeap1 (Kelch-like ECH-associated protein 1) により制御されており、通常状態下ではNrf2はKeap1によりユビキチン・プロテアソーム経路で分解が促進されるが、酸化ストレス状態ではKeap1のシステイン残基が酸化され、Nrf2がユビキチンによって分解されずに核内に移行し、ARE (antioxidant response element) を介して標的遺伝子の転写が促進される。Nrf2のKOマウスでは発癌性の増加²⁸⁻²⁹⁾や酸化ストレス感受性の増加³⁰⁻³¹⁾、免疫系の異常³²⁻³³⁾など、種々の酸化ストレスに対する防御能の低下などが認められ、生体内酸化ストレスの制御に重要な役割を担っていることが明らかとなっている。

NOは可溶性グアニル酸シクラーゼに作用し、環状cGMPを生成する。近年、このcGMPがNOによりニトロ化された8-ニトロcGMPが発見され、新たな活性酸素のシグナル伝達分子としての機能を持つと報告された³⁴⁾。8-ニトロcGMPはタンパク質のシステイン残基のチオールと反応してcGMPをタンパク質に付加させる（S-グアニル化反応）。Keap1も8-ニトロcGMPによるS-グアニル化を受けてその活性が制御されることから、8-ニトロcGMPは酸化ストレスにおける遺伝子発現を制御するシグナル伝達分子として注目されている。その他、転写制御因子のHIF-1 (Hypoxia-Inducible Factor-1) は、酸素のセンサーとして低酸素状態に反応してグルコース輸送

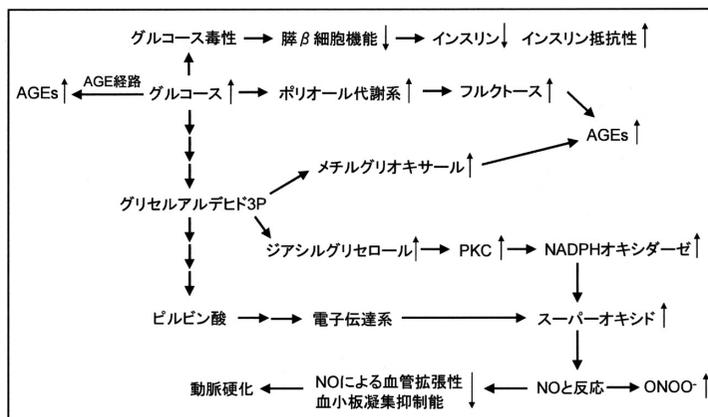


図2 糖尿病における酸化ストレス生成機構

体やVEGF、エリスロポエチンなどの遺伝子発現を制御している。

IV. 糖尿病と酸化ストレス

高血糖下では酸化ストレスが増加することが知られている（図2）。長時間の高血糖状態下ではタンパク質は還元糖、特にグルコースによって非酵素的に修飾される。このタンパク質の非酵素的糖化反応は発見者の名前からメイラード（Maillard）反応とも呼ばれ、その機序はまず、グルコースのアルデヒド基とタンパク質のN末端とが反応してシッフ塩基をつくり、アマドリ転移反応によりアマドリ化合物ができる。またグルコースの自動酸化によってもアマドリ化合物は生成される。さらにエノール化により3-デオキシグルコソンなどを生成し、最終的にAGEs（advanced glycation end products）となる。この過程で生成されるヒドロキシラジカルなどがタンパク質を傷害し³⁵⁾、また寿命の長いタンパク質では糖化によりタンパク質構造の変化や重合などが生じ、機能不全を引き起こす³⁶⁻³⁸⁾。糖尿病状態ではこの反応は亢進しており、糖尿病合併症に関与していると考えられる。

膵臓は長時間高血糖に暴露されるとグルコース毒性によりβ細胞の機能が低下し、インスリンの分泌低下やインスリン抵抗性の増加などが生じるようになる。この機序にはc-Jun N-terminal kinase（JNK）の関与が報告されている³⁹⁻⁴⁰⁾。ま

た、高血糖状態下では、血管壁の細胞の解糖系によりジアシルグリセロールの産生が亢進し、それに伴いプロテインキナーゼC（PKC）が活性化する⁴¹⁾。このPKCはNADPHオキシダーゼを活性化させ、スーパーオキシドをはじめとする活性酸素が増加することが報告されている⁴²⁾。

NOは血管拡張性や平滑筋細胞増殖抑制など、動脈硬化症を抑制する働きを持っているが、糖尿病ではこの血管拡張機能の減弱が見られる。これは、内皮細胞型NO合成酵素（eNOS）の活性が低下することに加え、高血糖下で産生されたスーパーオキシドがNOと反応し、NOの作用を低下させることによると考えられている⁴³⁾。このように活性酸素はNOによる血管の拡張機能や平滑筋細胞増殖抑制能などを低下させ、動脈硬化症の発症や進展に関与していることが明らかとなっている。

ポリオール代謝系の亢進も糖尿病での酸化ストレスに関与している。ポリオール代謝はグルコースがアルドースレダクターゼ、ソルビトールデヒドロゲナーゼによりフルクトースに代謝される経路で、中間代謝物にソルビトールがある。糖尿病患者ではアルドースレダクターゼの発現および活性が増加しており、ポリオール代謝経路の亢進が認められる⁴⁴⁾。ポリオール代謝経路の亢進により、ソルビトールの蓄積による浸透圧の上昇やフルクトースの蓄積によるAGEsの生成増加、PKCによるNADPHオキシダーゼの活性化、電子伝達系からの活性酸素の生成亢進

などが考えられる。このように糖尿病下で生じる多くの現象が酸化ストレスと密接に関連している。

V. 運動と酸化ストレス

1) 活性酸素の生成

運動時は全身の酸素消費量が安静時に比べ10～15倍に増加し、特に活動状態の骨格筋においては100倍にまで上昇する²⁾。これらのことから、運動時は活性酸素の生成量も同様に増加することが予想され、活動筋に酸化ストレス傷害が生じている可能性が考えられる。

激しい運動では骨格筋に損傷が生じ、炎症部位に好中球などの炎症性細胞の浸潤が生じ、NADPHオキシダーゼやミエロペルオキシダーゼによる活性酸素が産生される。また激しい運動では筋組織の血管抵抗の減少や体温上昇に伴う血流の増大による血液の貯留が生じ、代償的に消化器や腎臓などでは血液量の低下を生じる。したがって、運動後はこの血流の改善により虚血・再灌流状態が生じ、ヒポキサンチン・キサンチンオキシダーゼ系により活性酸素が産生されると考えられる。同時にエネルギーとして利用されたATPの中間代謝物であるヒポキサンチンやキサンチンにより、キサンチンオキシダーゼを介した活性酸素の産生がさらに増大することが考えられる⁴⁵⁾。

運動時は酸素消費量の増大などにより活性酸素が多量に生成されるため、活性酸素の影響を受けやすい脂質は酸化されることが考えられる。実際、一過性の最大運動を行うと血液中や骨格筋、心筋、肝臓などで酸化ストレスマーカーであるマロンジアルデヒド (MDA) やチオバルピツール酸反応物質 (TBARS)、脂質過酸化物質中の共役ジエンなどの増加が認められ、脂質の過酸化が生じていることが報告されている⁴⁶⁾。しかし、これらは最大酸素摂取量の70～80%の運動強度では増加しないこと⁴⁷⁾から、中程度の運動負荷では過酸化脂質は増加しないと考えられる。これは活性酸素消去酵素を含む抗酸化物質とのバランスが中程度運動ではうまく調和しており、逆に激しい運動においてはこの調和が破綻して酸化ストレス障害が生じてくるものと考えられる。

2) 運動時における活性酸素消去物質の変化

運動により、Cu,Zn-SODやMn-SOD、カタラーゼ活性の増加や、EC-SODのmRNAの発現の増加が骨格筋などで認められており、抗酸化酵素の活性が増加することが報告されている⁴⁸⁻⁴⁹⁾。一般的にSODなどの抗酸化酵素は生体内において十分機能しており、通常生活における運動程度では組織傷害を引き起こすことはないと考えられるが、さらに中程度の運動を長期間持続して行うことは、これら抗酸化酵素の発現および活性を増加させ、運動負荷に対する酸化ストレスから防御する機能も増加すると考えられる。また、中程度の運動の持続は血管機能を改善するとの報告がなされているが、これにも抗酸化酵素の活性化が含まれていると考えられる²⁾。

ビタミンCやビタミンEなどのビタミン類は抗酸化作用を持つ低分子物質であり、酸化ストレスによる組織傷害の防御において注目されている。これらビタミンは激しい運動により筋組織では減少し、それに伴い血清中で増加する⁵⁰⁾。これは急性の酸化ストレスを効率よく防御するため、ビタミンの再分配が生じているものと考えられる。

抗酸化作用を持つ低分子化合物であるGSHおよび総グルタチオン量は、急激な運動により増加することが報告されている。GSHは心筋や骨格筋で新規合成されることはほとんどないことから、この増加は活動している骨格筋が、GSHを血中から取り込んでいるためと考えられる⁵¹⁾。このように活動筋は外部からGSHを取り込み、酸化ストレスに対する防御として役立っていると考えられる。近年、運動時の酸化ストレスの防御としてこれら低分子抗酸化物質がサプリメントとして有用であるとの報告があるが、運動による活性酸素の制御は、消去系の持続的な活性化が重要である。したがって、運動における酸化ストレスの防御には日頃から栄養学的にバランスの取れた食事をとることが重要である。

3) 運動による免疫能の変化

適度な運動により生じる活性酸素は、貪食細胞の活性化やサイトカインなどの発現誘導に関与する情報伝達系に作用するなど、免疫能を活性化する。中程度の運動負荷により、LPS刺激時のマクロファージのiNOSによるNO産生量の

増加や貪食能の機能亢進、ホルボール（PMA）刺激による過酸化水素の産生増加などが認められ、初期免疫機能が改善することが報告されている⁵²⁻⁵⁴⁾。これら産生された活性酸素種は血漿TBARSやGSH/GSSG比、循環赤血球数に影響しなかったことから、中程度の運動により生じるマクロファージ由来の活性酸素は、酸化ストレスによる組織傷害を生じにくいと考えられる。

またこのような活性酸素による免疫機能の増強効果は、通常健康維持のみならず、病気の排除にも効果がある。持続的な運動習慣によりNOの発現が増強され、これにより若いマウスおよび老化したマウス両方において癌細胞を排除する割合が増加することが報告されている⁵⁵⁾。実際にヒト生体内で運動習慣により同様の機能改善があるかは不明であるが、運動による活性酸素の生成は、酸化ストレスによる組織傷害よりも生体にとってホメオスタシスの維持や健康増進・病気排除に有利に働くといえるだろう。

VI. おわりに

酸化ストレスは活性酸素の生成とその消去系とのバランスにより厳密に制御されている。活性酸素は病気の発症や進展に関与していることは事実であり、感染症からの防御やシグナル伝達物質としての役割など、生体にとって健康の維持・増進に必要な存在である。持続的な中程度運動は組織の酸化ストレス傷害を引き起こさず、抗酸化酵素の活性増加や抗炎症性サイトカインの誘導など、健康の維持・促進につながる。またビタミンCやビタミンEなどの抗酸化能をもつビタミン類を含むバランスの取れた食事は、活性酸素の過剰産生を抑制し、運動による抗酸化能をより効果的に向上させると考えられる。活性酸素は生体恒常性に密接に関与する重要なものであり、高齢化が進むにつれ、今後さらに健康と酸化ストレスとの関係が注目されていくと考えられる。

参考文献

- 1) 谷口直之 監修: 活性酸素研究のブレイクスルー, 細胞工学, Vol.15, No.10, 秀潤社, (1996)
- 2) Halliwell B, Gutteridge JMC: Free Radicals in Biology and Medicine, 4th ed., Oxford University Press, New York, (2007)
- 3) Boveris A, Chance B, Oshino N: Cellular production of hydrogen-peroxide. *Biochem. J.*, 128: 617-30, 1972
- 4) Chance B, Sies H, Boveris A: Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol. Rev.*, 59: 527-605, 1979
- 5) Li YB, Huang TT, Carlson EJ, Melov S, Ursell PC, Olson TL, Noble LJ, Yoshimura MP, Berger C, Chan PH, Wallace DC, Epstein CJ: Dilated cardiomyopathy and neonatal lethality in mutant mice lacking manganese superoxide-dismutase. *Nature Genet.*, 11: 376-381, 1995
- 6) Ho YS, Gargano M, Cao J, Bronson RT, Heimler I, Hutz RJ: Reduced fertility in female mice lacking copper-zinc superoxide dismutase. *J. Biol. Chem.*, 273: 7765-7769, 1998
- 7) Yoshihara D, Fujiwara N, Ookawara T, Kato S, Sakiyama H, Yokoe S, Eguchi H, Suzuki K: Protective role of glutathione S-transferase A4 induced in copper/zinc-superoxide dismutase knockout mice. *Free Radic. Biol. Med.*, 47: 559-567, 2009
- 8) Carlsson LM, Jonsson J, Edlund T, Marklund SL: Mice lacking extracellular-superoxide dismutase are more sensitive to hyperoxia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 92: 6264-6268, 1995
- 9) Fattman CL, Tan RJ, Tobolewski JM, Oury TD: Increased sensitivity to asbestos-induced lung injury in mice lacking extracellular superoxide dismutase. *Free Rad. Biol. Med.*, 40: 601-607, 2006
- 10) Rosen DR: Mutations in cu/zn superoxide-dismutase gene are associated with familial amyotrophic-lateral-sclerosis. *Nature*, 364: 362-362, 1993
- 11) Gurney ME, Pu HF, Chiu AY, Dalcanto MC, Polchow CY, Alexander DD, Caliendo J, Hentati A, Kwon YW, Deng HX, Chen WJ, Zhai P, Sufit RL, Siddique T: Motor-neuron degeneration in mice that express a human cu,zn superoxide-dismutase mutation. *Science*, 264: 1772-1775, 1994
- 12) Ripps ME, Huntley GW, Hof PR, Morrison JH, Gordon JW: Transgenic mice expressing an altered murine superoxide-dismutase gene provide an animal-model of amyotrophic-lateral-sclerosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 92: 689-693, 1995
- 13) Nagai M, Aoki M, Miyoshi I, Kato M, Pasinelli P, Kasai N, Brown RH, Itoyama Y: Rats expressing human cytosolic copper-zinc superoxide dismutase transgenes with amyotrophic lateral sclerosis: Associated mutations develop motor neuron disease. *J. Neurosci.*, 21: 9246-9254, 2001
- 14) Fujiwara N, Nakano M, Kato S, Yoshihara D,

- Ookawara T, Eguchi H, Taniguchi N, Suzuki K: Oxidative modification to cysteine sulfonic acid of Cys (111) in human copper-zinc superoxide dismutase. *J. Biol. Chem.*, 282: 35933-35944, 2007
- 15) Ookawara T, Kawamura N, Kitagawa Y, Taniguchi N: Site-specific and random fragmentation of Cu,Zn-superoxide dismutase by glycation reaction - Implication of reactive oxygen species. *J. Biol. Chem.*, 267: 18505-18510, 1992
- 16) Arai K, Iizuka S, Tada Y, Oikawa K, Taniguchi N: Increase in the glycosylated form of erythrocyte Cu,Zn-superoxide dismutase in diabetes and close association of the nonenzymatic glycosylation with the enzyme-activity. *Biochim. Biophys. Acta*, 924: 292-296, 1987
- 17) Taniguchi N: Glycation of Cu, Zn-superoxide dismutase through nonenzymatic glycosylation. Alan RL ed.; *The Maillard Reactions in Aging, Diabetes, and Nutrition*, 277-290, New York, (1989)
- 18) Roos D, deBoer M, Kuribayashi F, Meischl C, Weening RS, Segal AW, Ahlin A, Nemet K, Hossle JP, BernatowskaMatuszkiewicz E, MiddletonPrice H: Mutations in the X-linked and autosomal recessive forms of chronic granulomatous disease. *Blood*, 87: 1663-1681, 1996
- 19) Patel KD, Zimmerman GA, Prescott SM, McEver RP, McIntyre TM: Oxygen radicals induce human endothelial cells to express gmp-140 and bind neutrophils. *J. Cell Biol.*, 112: 749-760, 1991
- 20) Palluy O, Morliere L, Gris JC, Bonne C, Modat G: Hypoxia reoxygenation stimulates endothelium to promote neutrophil adhesion. *Free Radic. Biol. Med.*, 13: 21-30, 1992
- 21) Lo SK, Janakidevi K, Lai L, Malik AB: Hydrogen peroxide-induced increase in endothelial adhesiveness is dependent on icam-1 activation. *Am. J. Physiol.*, 264: L406-L412, 1993
- 22) Suzuki K, Eguchi H, Koh YH, Park YS, Taniguchi N: Acceleration of adhesion of cancer cells and neutrophils to endothelial cells in the absence of de novo protein synthesis: Possible implication for involvement of hydroxyl radicals. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 257: 214-217, 1999
- 23) Yoshikawa T, Yoshida N: Vitamin E and leukocyte-endothelial cell interactions. *Antioxid. Redox Signal*, 2: 821-825, 2000
- 24) Eguchi H, Ikeda Y, Ookawara T, Koyota S, Fujiwara N, Honke K, Wang PG, Taniguchi N, Suzuki K: Modification of oligosaccharides by reactive oxygen species decreases sialyl Lewis x-mediated cell adhesion. *Glycobiology*, 15: 1094-1101, 2005
- 25) Karin M, Ben-Neriah Y: Phosphorylation meets ubiquitination: The control of NF-kappa B activity. *Annu. Rev. Immunol.*, 18: 621-663, 2000
- 26) Motohashi H, Yamamoto M: Nrf2-Keap1 defines a physiologically important stress response mechanism. *Trends Mol. Med.*, 10: 549-557, 2004
- 27) Chen XL, Kunsch C: Induction of cytoprotective genes through Nrf2/antioxidant response element pathway: A new therapeutic approach for the treatment of inflammatory diseases. *Curr. Pharm. Des.*, 10: 879-891, 2004
- 28) Ramos-Gomez M, Kwak MK, Dolan PM, Itoh K, Yamamoto M, Talalay P, Kensler TW: Sensitivity to carcinogenesis is increased and chemoprotective efficacy of enzyme inducers is lost in nrf2 transcription factor-deficient mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 98: 3410-3415, 2001
- 29) Iida K, Itoh K, Kumagai Y, Oyasu R, Hattori K, Kawai K, Shimazui T, Akaza H, Yamamoto M: Nrf2 is essential for the chemopreventive efficacy of oltipraz against urinary bladder carcinogenesis. *Cancer Res.*, 64: 6424-6431, 2004
- 30) Cho HY, Jedlicka AE, Reddy SP, Kensler TW, Yamamoto M, Zhang LY, Kleeberger SR: Role of NRF2 in protection against hyperoxic lung injury in mice. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 26: 175-182, 2002
- 31) Reddy NM, Kleeberger SR, Kensler TW, Yamamoto M, Hassoun PM, Reddy SP: Disruption of Nrf2 impairs the resolution of hyperoxia-induced acute lung injury and inflammation in mice. *J. Immunol.*, 182: 7264-7271, 2009
- 32) Yoh K, Itoh K, Enomoto A, Hirayama A, Yamaguchi N, Kobayashi M, Morito N, Koyama A, Yamamoto M, Takahashi S: Nrf2-deficient female mice develop lupus-like autoimmune nephritis. *Kidney Int.*, 60: 1343-1353, 2001
- 33) Lee JM, Chan KM, Kan YW, Johnson JA: Targeted disruption of Nrf2 causes regenerative immune-mediated hemolytic anemia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 101: 9751-9756, 2004
- 34) Sawa T, Zaki MH, Okamoto T, Akuta T, Tokutomi Y, Kim-Mitsuyama S, Ihara H, Kobayashi A, Yamamoto M, Fujii S, Arimoto H, Akaike T: Protein S-guanylation by the biological signal 8-nitroguanosine 3',5'-cyclic monophosphate. *Nat. Chem. Biol.*, 3: 727-735, 2007
- 35) Hunt JV, Simpson JA, Dean RT: Hydroperoxide-mediated fragmentation of proteins. *Biochem. J.*, 250: 87-93, 1988
- 36) Monnier VM, Kohn RR, Cerami A: Accelerated age-

- related browning of human collagen in diabetes-mellitus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 81: 583-587, 1984
- 37) Brennan M: Changes in solubility, non-enzymatic glycation, and fluorescence of collagen in tail tendons from diabetic rats. *J. Biol. Chem.*, 264: 20947-20952, 1989
- 38) Stevens VJ, Rouzer CA, Monnier VM, Cerami A, Diabetic cataract formation potential role of glycosylation of lens crystallins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 75: 2918-2922, 1978
- 39) Kawamori D, Kajimoto Y, Kaneto H, Umayahara Y, Fujitani Y, Miyatsuka T, Watada H, Leibiger IB, Yamasaki Y, Hori M: Oxidative stress induces nucleocytoplasmic translocation of pancreatic transcription factor PDX-1 through activation of c-Jun NH2-terminal kinase. *Diabetes*, 52: 2896-2904, 2003
- 40) Hirosumi J, Tuncman G, Chang LF, Gorgun CZ, Uysal KT, Maeda K, Karin M, Hotamisligil GS: A central role for JNK in obesity and insulin resistance. *Nature*, 420: 333-336, 2002
- 41) Inoguchi T, Battan R, Handler E, Sportsman JR, Heath W, King GL: Preferential elevation of protein-kinase-c isoform-beta-II and diacylglycerol levels in the aorta and heart of diabetic rats - Differential reversibility to glycemic control by islet cell transplantation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 89: 11059-11063, 1992
- 42) Inoguchi T, Li P, Umeda F, Yu HY, Kakimoto M, Imamura M, Aoki T, Etoh T, Hashimoto T, Naruse M, Sano H, Utsumi H, Nawata H: High glucose level and free fatty acid stimulate reactive oxygen species production through protein kinase C-dependent activation of NAD(P)H oxidase in cultured vascular cells. *Diabetes*, 49: 1939-1945, 2000
- 43) Hsueh WA, Quinones MJ, Creager MA: Endothelium in insulin resistance and diabetes. *Diabetes Rev.*, 5: 343-352, 1997
- 44) Hasegawa G, Obayashi H, Kitamura A, Hashimoto M, Shigeta H, Nakamura N, Kondo M, Nishimura CY: Increased levels of aldose reductase in peripheral mononuclear cells from type 2 diabetic patients with microangiopathy. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, 45: 9-14, 1999
- 45) Sutton JR, Toews CJ, Ward GR, Fox IH: Purine metabolism during strenuous muscular exercise in man. *Metab. Clin. Exp.*, 29: 254-260, 1980
- 46) Dekkers JC, vanDoornen LJP, Kemper HCG: The role of antioxidant vitamins and enzymes in the prevention of exercise-induced muscle damage. *Sports Med.*, 21: 213-238, 1996
- 47) Lovlin R, Cottle W, Pyke I, Kavanagh M, Belcastro AN: Are indexes of free-radical damage related to exercise intensity. *Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.*, 56: 313-316, 1987
- 48) Hitomi Y, Watanabe S, Kizaki T, Sakurai T, Takemasa T, Haga S, Ookawara T, Suzuki K, Ohno H: Acute exercise increases expression of extracellular superoxide dismutase in skeletal muscle and the aorta. *Redox Rep.*, 13: 213-216, 2008
- 49) Hatao H, Oh-Ishi S, Itoh M, Leeuwenburgh C, Ohno H, Ookawara T, Kishi K, Yagyu H, Nakamura H, Matsuoka T: Effects of acute exercise on lung antioxidant enzymes in young and old rats. *Mech. Ageing Dev.*, 127: 384-390, 2006
- 50) Takunami Y, Iwane H, Kawai Y, Shimomitsu T: Vitamin E supplementation and endurance exercise - Are there benefits? *Sports Med.*, 29: 73-83, 2000
- 51) Ji LL: Oxidative stress during exercise - Implication of antioxidant nutrients. *Free Radic. Biol. Med.*, 18: 1079-1086, 1995
- 52) Kizaki T, Takemasa T, Sakurai T, Izawa T, Hanawa T, Kamiya S, Haga S, Imaizumi K, Ohno H: Adaptation of macrophages to exercise training improves innate immunity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 372: 152-156, 2008
- 53) Sugiura H, Nishida H, Mirbod SM: Immunomodulatory action of chronic exercise on macrophage and lymphocyte cytokine production in mice. *Acta Physiol. Scand.*, 174: 247-256, 2002
- 54) Silveira EMS, Rodrigues MF, Krause MS, Vianna DR, Almeida BS, Rossato JS, Oliveira LP, Curi R, de Bittencourt PIH: Acute exercise stimulates macrophage function: Possible role of NF-kappa B pathways. *Cell Biochem. Funct.*, 25: 63-73, 2007
- 55) Lu Q, Ceddia MA, Price EA, Ye SM, Woods JA: Chronic exercise increases macrophage-mediated tumor cytotoxicity in young and old mice. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 276: R482-R489, 1999