

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：32689

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K12674

研究課題名(和文)水素による酸化ストレスの軽減は持続的パフォーマンスを向上させるか

研究課題名(英文)Whether the molecular hydrogen improve endurance performance by decreasing oxidative stress?

研究代表者

村岡 功 (Muraoka, Isao)

早稲田大学・スポーツ科学学術院・教授

研究者番号：80112712

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、近年、新たな抗酸化物質として注目されている水素分子(水素)の健康・スポーツ科学分野への活用に向けた基礎的な知見を得ることであった。本研究の結果、運動時の酸化ストレスおよび持続的パフォーマンスに対する水素摂取の効果は認められなかった。しかし、水素が運動時の肝グリコーゲン含量の減少を有意に抑制することが示された。このことから、水素は抗酸化以外の生理的作用を介して運動時の肝グリコーゲン利用を抑制することが示唆された。今後は、水素が運動時の肝グリコーゲン利用を抑制したメカニズムについて更なる検討が必要である。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this research was to obtain basic knowledge for application of molecular hydrogen (H₂), which is attracting attention as a new antioxidant agent in recent years, in the health and sports science field. As a result of this study, there was no effect of H₂ intake on exercise-induced oxidative stress, and endurance performance. However, it was shown that H₂ significantly suppresses the decrease in liver glycogen content during endurance exercise. These evidences suggest that intake of H₂ suppresses the utilization of liver glycogen during exercise via physiological action other than antioxidation. Further research is needed on the mechanism that H₂ suppressed the utilization of liver glycogen.

研究分野：運動生理学

キーワード：水素 活性酸素種 持続性パフォーマンス ラット グリコーゲン含量

1. 研究開始当初の背景

活性酸素種は、不安定かつ反応性の高い酸素種の総称であり、食細胞による殺菌やウイルスおよび癌細胞を攻撃するというメリットを有する一方で、細胞膜の脂質や核、タンパク質などに傷害を与えることで様々な疾病を誘発するものと考えられている (Valko et al., 2007)。運動時には、活性酸素種の産生量が増加することが知られており (Davies et al., 1982)、過剰な活性酸素種の産生は、筋疲労や運動パフォーマンスの低下を引き起こす一因となることが示唆されている (Reid et al., 2001)。生体には活性酸素種を除去する抗酸化防御システムが備わっているものの、これだけでは不十分であることから、スポーツ選手では食事やサプリメントから抗酸化物質を多めに摂ることが勧められている。

最近になって、Nature Medicine に、水素分子 (以下水素) が活性酸素種を効率的に除去できることが動物実験において報告された (Ohsawa et al., 2007)。以来、水素の抗酸化作用が注目されるようになり、水素の有用性に関する論文も数多く発表されるまでになっている。しかしながら、その多くは疾病に対する効果を検証したもので、運動時の効果に関する論文はほとんど存在しない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、実験動物 (ラット) を用いて、習慣的な水素水の摂取が 1) 安静時の酸化ストレス指標に及ぼす影響、2) 運動時の酸化ストレス指標および持続的パフォーマンスに及ぼす影響、3) 伸張性運動後の酸化ストレスおよび筋損傷に及ぼす影響を明らかにすることで、健康・スポーツ科学分野における水素利用に向けた基礎的知見を得ることであった。

3. 研究の方法

(1) SD ラット 24 匹を、対照群 (CON 群)、低強度運動群 (LE 群)、高強度運動群 (HE 群) および漸増負荷運動群 (IE 群) の 4 群に振り分け、LE、HE および IE 群のラットには、トレッドミル運動を疲労困憊まで行わせた。運動を実施した 3 群のラットは、疲労困憊に至った時点で解剖を行い、採血および臓器 (腓腹筋、肝臓) の摘出を行った。一方、CON 群のラットは、他の 3 群の運動実施時間帯に合わせて同じ条件下で解剖した。解剖により得られたサンプルを用いて、酸化ストレス指標 (チオバルビツール酸反応性物質; 以下 TBARS、カルボニル化タンパク質; 以下 PC、総抗酸化能; 以下 TAC、スーパーオキシドジスムターゼ、カタラーゼおよびグルタチオンペルオキシダーゼ) およびグリコーゲン含量の測定を行った。

(2) SD ラット 32 匹を、対照水群 (CON 群)、対照水 + 運動群 (CON+Ex 群)、水素水群 (H₂

群) および水素水 + 運動群 (H₂+Ex 群) の 4 群に振り分けた。各群のラットには、ミネラルウォーターあるいは水素水のいずれかを 2 週間に亘り自由に摂取させた。2 週間後、CON+Ex および H₂+Ex 群のラットには、実験 (1) で最も酸化ストレスへの影響が大きかった漸増負荷による疲労困憊運動を行わせ、運動直後に採血および臓器 (腓腹筋、肝臓) の摘出を行った。測定項目は、酸化ストレス指標 (TBARS、PC および TAC)、血中エネルギー基質、筋および肝グリコーゲン含量であった。

(3) SD ラット 24 匹を対照水群 (CON 群)、対照水 + 運動群 (CON+Ex 群) および水素水 + 運動群 (H₂+Ex 群) の 3 群にランダムに振り分けた。CON および CON+Ex 群にはミネラルウォーターを、H₂+Ex 群には水素水をそれぞれ 2 週間に亘り自由摂取させた。2 週間後、CON + Ex および H₂ + Ex 群のラットには、分速 24 m (傾斜 - 14%) の走行運動を疲労困憊運動に至るまで行わせた。その後、予備実験にて筋損傷指標 (血清 CK 活性) の有意な増加が観察された運動後 24 時間時点で採血およびヒラメ筋の摘出を行った。

4. 研究成果

(1) LE および HE 群における血漿酸化ストレス指標が運動による変化を示さなかった一方で、IE 群における血漿 PC レベルおよび TAC は、CON 群と比べて有意に高い値を示した。しかしながら、疲労困憊運動を負荷したいずれの群においても骨格筋における酸化ストレス指標の変化は観察されなかった。これらの結果から、漸増負荷による疲労困憊運動は骨格筋の酸化ストレス指標を変化させずに血漿の PC レベルおよび TAC を上昇させることが示唆された。

(2) 2 週間の水素水摂取は、安静時の酸化ストレス指標には影響を及ぼさなかった。また、運動時の酸化ストレス指標、血中エネルギー基質、持続的パフォーマンスに対する水素摂取の効果は認められなかった。その一方で、運動終了時点での肝グリコーゲン含量は、CON+Ex 群と比べて H₂+Ex 群で有意に高い値を示した。これらの結果から、水素は抗酸化以外の生理作用を介して運動時の肝グリコーゲン利用を抑制することが示唆された (図 1)。

(3) 解剖により得られた血液および骨格筋 (ヒラメ筋) サンプルを用いて、筋損傷指標 (血清 CK 活性) および酸化ストレス指標 (F₂-イソプロスタンおよびグルタチオン) を分析する予定であったが、筋損傷を誘導するための運動プロトコルの設定に多くの時間を費やしたうえに、機械器具 (プレートリーダー) の故障による実験の遅延が生じた。そのため、現在これらの項目については分析を

進めている最中ある。

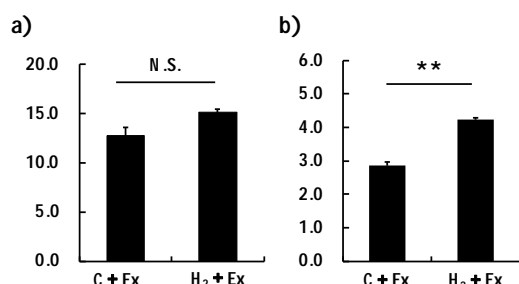


図 1. 水素水摂取が運動時の組織グリコーゲン含量に及ぼす影響: a) 筋グリコーゲン, b) 肝グリコーゲン含量, **, P < 0.01.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 2 件)

Kawamura T, Fujii R, Higashida K, Muraoka I. Hydrogen water intake may suppress liver glycogen utilization without affecting redox biomarkers during exercise in rats. *Gazzetta Medica Italiana*. In press. (査読有).

Kawamura T, Fujii R, Li X, Higashida K, Muraoka I. Effects of exhaustive exercises, with different intensities, on oxidative stress markers in rat plasma and skeletal muscle. *Science & Sports* 33, 169-175, 2018. (査読有)

[学会発表](計 4 件)

・国内学会

河村拓史, 藤井亮輔, 東田一彦, 村岡功. 水素水摂取はラットの運動時におけるレドックスバイオマーカーに影響を与えずに肝グリコーゲン利用を抑制する. 第 73 回日本体力医学会, 福井, 9 月 7 日~9 日, 2018. (ポスター, 査読あり, 発表予定)

河村拓史, 藤井亮輔, 李茜, 東田一彦, 村岡功. 負荷の異なる強制トレッドミル運動がラット血漿および骨格筋の酸化ストレスに及ぼす影響. 第 71 回日本体力医学会, 岩手, 9 月 23 日~25 日, 2016.(口頭発表, 査読なし)

・国際学会

Kawamura T, Fujii R, Higashida K, Muraoka I. Hydrogen water suppresses skeletal muscle and liver glycogenolysis during exercise while does not affect oxidative stress, blood energy substrate and endurance performance in rats. *European college of sports science 22nd*

annual congress, Germany, July 5~7th, 2017. (Oral, 査読あり)

Kawamura T, Fujii R, Higashida K, Muraoka I. Effects of hydrogen water on exercise-induced oxidative stress, energy metabolism and endurance performance in rats. The 3rd international symposium of SGU health and sports science model. Japan. March 5th, 2017. (Poster, 査読なし)

[図書](計 件)

[産業財産権]

出願状況(計 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

村岡 功 (Muraoka, Isao)
早稲田大学スポーツ科学学術院・教授
研究者番号: 80112712

(2)研究分担者

()

研究者番号:

(3)連携研究者

東田 一彦 (Higashida, Kazuhiko)
滋賀県立大学人間文化学部・准教授
研究者番号: 50634466

池村 司 (Ikemura, Tsukasa)
横浜商科大学商学部・専任講師
研究者番号: 00735433

(4)研究協力者

河村 拓史 (Kawamura, Takuji)

早稲田大学スポーツ科学学術院・助教

研究者番号：80823327

藤井 亮輔 (Fujii, Ryosuke)

早稲田大学スポーツ科学研究科・博士後期

課程 3 年