

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 25 日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25350811

研究課題名(和文) 運動によって生じる酸化ストレスにコエンザイムQ10は有効か

研究課題名(英文) Effects of coenzyme Q10 on oxidation state of serum albumin, acceleration plethysmography, salivary amylase activity during kendo summer training camp

研究代表者

今井 一 (Imai, Hajime)

岐阜大学・教育学部・教授

研究者番号：30193650

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,600,000円

研究成果の概要(和文)：大学男子学生の剣道強化合宿を対象にCoQ10摂取群と非摂取群に分け、CoQ10の抗酸化力について血清アルブミンの酸化還元状態から検討を行った。両群ともに還元型は合宿後有意に減少したが、両群間に有意な差はみられなかった。CoQ10が抗酸化物質として認められていることから、抗酸化物質の水溶性及び脂溶性抗酸化因子による抗酸化作用の違いが推測された。また、唾液アミラーゼ、加速度脈波の測定を行ったところ、合宿前の唾液アミラーゼ活性値、自律神経評価値の結果から精神的ストレスと自律神経バランスに対して良い影響を与えた可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：I investigated the effects of CoQ10 on the oxidation state of serum albumin, acceleration plethysmography (APG) signals, and salivary amylase activity of participants in a university kendo summer training camp. Serum albumin oxidation state was significantly higher after camp than before camp, but there was no significant difference between groups. APG analysis revealed a slight increasing trend in the ratio of low to high frequency wave form components (LF/HF) in both groups; however, LF/HF was significantly lower in the experimental group compared to the control group just before the start of camp. In the first two measurements, salivary amylase activity was somewhat lower in the experimental group than the control group.

In conclusion, although I found no distinct differences between groups in serum albumin oxidation state, we cannot rule out effects of CoQ10 on pulse wave form and salivary amylase activity and therefore look forward to further investigation.

研究分野：体育学

キーワード：ヒト血清アルブミン 酸化還元状態 コエンザイムQ10

## 1. 研究開始当初の背景

本学医学部分子生理学教室(研究代表者が平成3年5月~平成10年3月 研究生,平成10年4月~現在 非常勤講師として在籍)において,高速液体クロマトグラフィ(HPLC)を用いて,ヒト血清アルブミンの分子構造と生理機能との関連を研究中に,アルブミンが還元型アルブミンと酸化型アルブミンとに分離・観測され,さらに酸化型アルブミンが数種類以上存在することを見出した(Int. J. Peptide Protein Res. 24, 96 (1984); ibid 25, 398(1985))ので,臨床医学応用の一環として,これを直ちに種々の疾患におけるヒト血清アルブミンの酸化還元緩衝機能の分析に応用した(J. Chromatogr. 332, 19 (1985); Int. J. Peptide Protein Res. 31, 435(1988); Bio - Chim. Biophys. Acta 1247, 12(1995))。

即ち,腎機能が低下している慢性腎不全患者の血清を数百検体分析した結果,正常に比べて酸化型アルブミンの割合が有意に高く,またこの酸化型アルブミンは人工透析中に還元されて,還元型アルブミンに変換されることを見出した。このような患者が腎移植を受けた場合,血清アルブミンのダイナミックスは,より正常値に近くなった。

さらに,健康な老人の血清(東京都老人総合研究所より供与)を多数分析した結果,たとえ健常であっても高齢になるほど,還元型アルブミンの割合が減少し,老人血清の酸化還元緩衝系は全体として酸化型に傾いていることが判明した。この知見は現在問題になっている個体の老化現象の解明に有用な知見を与えるものと考えられる。

これら臨床医学の分野で得られた知見をもとに,運動部の強化合宿等において,トレーニングにより繰り返し加わる酸化ストレスが,個々の生体に及ぼす影響を還元型,酸化型アルブミンの割合の変化から検討している。

大学生の剣道部員を対象にした測定では,通常の練習前後では還元型アルブミンの割合に有意な変化がみられないが,強化合宿前後では合宿後有意にそれが減少すること,また,アルブミンの酸化・還元状態が新しい生体の酸化ストレスの指標(バイオマーカー)となりうることを報告している<sup>1)</sup>。

この知見をもとに二重盲検法を用いてミツバチ産品のプロポリスを剣道強化合宿中に摂取させたところ,還元型アルブミンの割合はプロポリス摂取群,プラセボ摂取群共に合宿後有意に減少したものの,合宿後の両群の比較においてプロポリス摂取群が有意に高値を示した。このことより,プロポリス摂取が酸化ストレスを緩和したことが示唆され,世界に先駆けて生体を対象としてプロポリスの抗酸化作用を報告している<sup>2)</sup>。

## 2. 研究の目的

現在,摂取可能な抗酸化サプリメントとして,数多くの物質があげられている。しかし,それらの物質の抗酸化能は,試験管内での反応としてはよく知られているが,実際の生体でどれくらい有効であるかという点については不明な点も多く,最近になってその有効性のエビデンスも集積されつつあるが,未だ充分とはいえない。

ビタミンEやカルシウム,ミネラル類は,生態の維持に欠くことのできない物質である。従って,食品やサプリメントで補給する必要があるが,通常のバランスのとれた食事が必要量を食品から補える。一方,コエンザイムQ10は体内で合成可能であるが,老化やストレス,喫煙,紫外線などによって減少してしまい,しかも,食品から摂取することが事実上難しいといわれ,サプリメントで補給することが薦められている。コエンザイムQ10は抗酸化能があることで注目されているが,果たして現在推奨されている量でどれほど生体において抗酸化作用があるのか不

明である。

そこで、我々は、まずコエンザイム Q10 の摂取量の検討を行い、プロボリスの抗酸化作用を評価した方法<sup>2)</sup>を用いてヒト血清アルブミンの酸化型、還元型の割合の変化からコエンザイム Q10 の生体における抗酸化能の検討を行うことを目的とした。

### 3. 研究の方法

剣道夏季強化合宿に参加した大学剣道部員の中から本測定に同意した男子を被験者とした。事前に測定内容について十分な説明を行い、同意を得られた者のみを被験者とした。なお、本研究は岐阜大学医学研究等倫理審査委員会の承認を得ている。

対象とした剣道夏季強化合宿は 2013、2014 年 7 月に 4 日間にわたり 1 日 2 回の練習を行い、午前 2 回・午後 5 回の計 7 回行った。午前の練習は約 2 時間行い、練習内容は基本技、応用技、打ち込み、追い込み、区分稽古、掛り稽古であった。午後の練習は約 3 時間行い、練習内容は試合稽古、打ち込み、追い込み、区分稽古、掛り稽古であった。

被験者を学年、年齢、身長、体重、段位、剣道経験年数等を考慮し、CoQ10 摂取群と非摂取群の 2 群に分け測定を実施した。2013 年の測定では二重盲検法で実施した。CoQ10 摂取群は、合宿 1 週間前から合宿終了日(7 月 14 日)までの 11 日間、K 社製還元型 CoQ10 を摂取した。摂取量は、2013 年の測定においては 300mg/日(分三)、2014 年の測定においては合宿 1 週間前から合宿開始前日までの 7 日間は 300mg/日(分三)とし、合宿開始日から合宿終了日までの 4 日間は 900mg/日(分三)とした。

CoQ10 の高用量摂取の安全性は中高齢者や疾患患者において既に確認されている。合宿中の 4 日間は 900mg/日と高用量であったが、先行研究と比べ期間が非常に短く、実際に副作用を訴える被験者もいなかった。

ヒト血清アルブミン(HSA)の酸化・還元状態の測定は、以下の内容で実施した。

合宿 1 週間前の安静時、合宿 1 日目の練習前(合宿前)、合宿最終日(合宿後)の練習後の 3 回採血を行った。採血量は約 3ml であった。採血後、血漿成分の加圧濾過までの処理を行い、分析まで -80℃にて凍結保存した。HSA の分析は改良法<sup>3)</sup>により、次のように構成された高速液体クロマトグラフィー(HPLC)システムにより行った。

2014 年の測定においては採血前に加速度脈波と唾液アミラーゼ活性値の測定を行った。加速度脈波の測定は、加速度脈波測定システム(ユメディカ社製 アルテット C)を用い安静座位、非利き手の示指にて 2 分間測定した。唾液アミラーゼ活性の測定は、唾液アミラーゼモニター(ニプロ社製 CM-2.1)を用い測定した。

統計には Stat View Ver. 5.0、IBM SPSS Ver. 23.0 を用い、合宿前後の比較には Wilcoxon 符号付順位検定を行い、CoQ10 摂取群と非摂取群の 2 群の比較には Mann-Whitney U 検定を行った。有意水準は 5%とした。なお、今回は合宿 1 週間前を含めた 3 群間の比較は行わず、合宿前と合宿後の比較のみを行った。

### 4. 研究成果

2014 年の測定において、合宿 1 週間前、合宿前、合宿後の還元型アルブミン(HMA)の割合(図 1)は両群間に有意な差はみられず、両群において合宿後は合宿前に比べ有意( $p < 0.05$ )に減少したことから、CoQ10 摂取によって合宿後における還元型アルブミン(HMA)の割合の減少を緩和する傾向はみられなかった。2013 年の測定では二重盲検法にて実施したが結果は今回と同様であった。2014 年の測定では非摂取群にはプラセボ剤を使用しなかった。被験者は CoQ10 が抗酸化作用を期待できることは知っていた

が、結果からプラセボ効果もみられなかった。抗酸化物質の総合的な抗酸化作用を知るためには、水溶性及び脂溶性抗酸化因子による抗酸化作用をそれぞれ測定して総合的に判断する必要がある。CoQ10 が抗酸化物質として脂質の酸化防御として働くことは認められており、ヒト血清アルブミン(HSA)の酸化還元状態は水溶性の抗酸化作用の指標であることから CoQ10 は水溶性では抗酸化作用を示さないことが推測された。

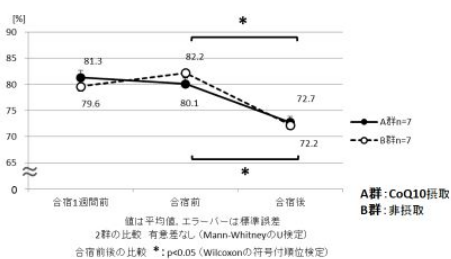


図1 還元型アルブミンの割合の変化

自律神経評価値 (LF/HF) (図 2)については、合宿 1 週間前は、CoQ10 摂取群は  $2.2 \pm 0.5$ 、非摂取群は  $2.5 \pm 0.5$  であった。合宿前においては、CoQ10 摂取群は  $3.1 \pm 0.7$ 、非摂取群は  $0.7 \pm 0.1$  であった。合宿後においては、CoQ10 摂取群は  $4.1 \pm 1.1$ 、非摂取群は  $4.3 \pm 1.5$  であった。合宿前後の比較においては両群ともに有意な差はみられなかった。また、2 群の比較においては、合宿前の値が非摂取群に対して CoQ10 摂取群が有意 ( $p<0.05$ ) に高値を示した。

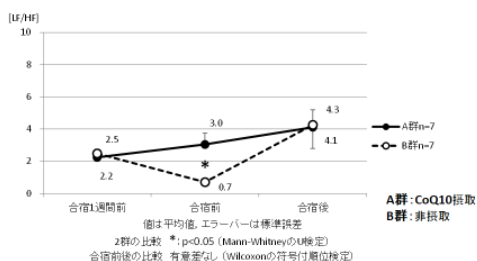


図2 自律神経機能評価値(LF/HF)の変化

唾液アミラーゼ活性値(図 3)については、

合宿 1 週間前は、CoQ10 摂取群は  $43.3 \pm 12.1$  kIU/L、非摂取群は  $60.3 \pm 6.7$  kIU/L であった。合宿前においては、CoQ10 摂取群は  $37.3 \pm 7.7$  kIU/L、非摂取群は  $76.1 \pm 19.7$  kIU/L であった。合宿後においては、CoQ10 摂取群は  $132.3 \pm 27.0$  kIU/L、非摂取群は  $136.7 \pm 54.3$  kIU/L であった。合宿前後の比較において、CoQ10 摂取群に有意 ( $p<0.05$ ) な上昇がみられた。また、2 群の比較においては有意な差はみられなかった。

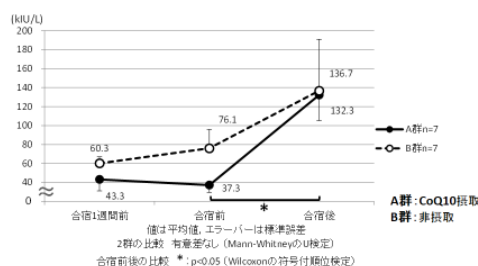


図3 唾液アミラーゼ活性値の変化

今回、合宿後において両群に唾液アミラーゼ活性値の上昇傾向がみられたことから、連日の練習によりストレスが増大し、合宿前よりも不快な状態であったことが推察される。また、CoQ10 の摂取を始めた合宿 1 週間前には自律神経機能評価値 (LF/HF) 及び唾液アミラーゼ活性値に両群間の差はみられなかったが、合宿前において、自律神経機能評価値 (LF/HF) では、非摂取群より CoQ10 摂取群の方が有意 ( $p<0.05$ ) に高値を示し、唾液アミラーゼ活性値では非摂取群に対して CoQ10 摂取群が低値を示した。これは CoQ10 摂取群が合宿前において非摂取群に比べて交感神経活動が亢進し、かつ唾液アミラーゼ活性値が快適な状態を示していることから、合宿に参加する直前としては安定的で好ましい状態であったと推測される。

総括として、2013 年、2014 年の 2 回の測定において、合宿 1 週間前、合宿前、合宿後の還元型アルブミン (HMA) の割合は両群 (CoQ10 摂取群と非摂取群) 間に有意な差はみ

られず,合宿後は合宿前に比べ有意( $p<0.05$ )に減少したことから,CoQ10 摂取によって合宿後における還元型アルブミン(HMA)の割合の減少を緩和する傾向はみられなかった。CoQ10 が抗酸化物質として認められていることから,要因として抗酸化物質の水溶性及び脂溶性抗酸化因子による抗酸化作用の違いが推測された。また,2014 年の測定において,合宿前の自律神経評価値(LF/HF),唾液アミラーゼ活性値の結果から 1 週間の CoQ10 摂取が良い影響を与えた可能性が示唆された。

#### (引用文献)

- 1) Imai,H.,Hayashi,T.,Negawa,T. et al. Strenuous exercise-induced change in redox state of human serum albumin during intensive *kendo* training. Jpn J. Physiol.52(2),135-140, Physiological Society of Japan,2002.
- 2) Imai H, Era S, Hayashi T. et al. Effect of propolis supplementation on the redox state of human serum albumin during high-intensity *kendo* training : Adv Exerc Sports Physiol, 11(3), 109-113, 2005.
- 3) 今井一, 林知也, 中村浩二 他 : 高速液体クロマトグラフィーによるヒト血清アルブミンの酸化・還元状態の解析, 教育医学, 43(4), 421-431, 1998.

#### 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 1 件)

今井一, 上田寛子, 今井七重, 久保あゆみ, 福富真智子, 福富 悌, ルー ジェニファー 剣道夏季強化合宿における CoQ10 摂取の影響 - ヒト血清アルブミンの酸化・還元状態, 加速度脈波, 唾液アミラーゼ活性の面から - 岐阜大学教育学部研究報告 自然科学, 査読無, 40 巻, 2016, 99-108

〔学会発表〕(計 1 件)

今井一, 上田寛子, 久保あゆみ, 今井七重 剣道夏季強化合宿における CoQ10 摂取の影響 - ヒト血清アルブミンの酸化・還元状態, 加速度脈波, 唾液アミラーゼ活性の面から - 第 58 回東海学校保健学会総会, 2015 年 9 月 5 日, 愛知学院大学

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計 0 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 0 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

今井一 (IMAI,hajime)  
岐阜大学教育学部・教授  
研究者番号: 3 0 1 9 3 6 5 0

##### (2)研究分担者

( )

研究者番号:

##### (3)連携研究者

( )

研究者番号: