【原 著】

老化促進モデルマウスにおける還元型コエンザイム Q10 と運動トレーニングが老化や運動能力, 酸化ストレス防御系におよぼす影響

Effect of the Reduced Coenzyme Q10 and Exercise Training on the Senescence and Exercise Capacity, Oxidative Stress Regulation System in SAMP1 Mice

丸岡 弘^{1,*}, 藤井健志²

Hiroshi MARUOKA^{1,*}, Kenji FUJII²

¹ 埼玉県立大学保健医療福祉学部

² (株) カネカ QOL 事業部学術・知財グループ

【要 旨】

目的: 老化促進モデルマウスにおける長期間の還元型コエンザイム Q10 (QH) 摂取と運動トレーニング (EX) が老化や運動能力, 酸化ストレス防御系におよぼす影響について検討した。

方法: 対象は老化促進モデルマウス 50 匹とし, 無作為に QH 摂取群, QH 摂取+EX 群, EX 群, コントロール群の 4 群に区分した。研究は 8 週齢から開始し, QH 摂取を 12 ヶ月間継続した。酸化ストレス防御系は研究開始時と QH 摂取 12 ヶ月後 (12M) の各時点, 走行時間と老化度評点, 体重を研究開始時, QH 摂取 6 ヶ月後 (6M), 12M の各時点で測定した。酸化ストレス防御系は酸化ストレス度 (d-ROM test) と抗酸化力 (BAP test) を測定した。

結果: QH 摂取と EX の併用において老化度評点は高齢期に増加抑制, 走行時間では減少抑制を示した。酸化ストレス防御系は酸化ストレス度の上昇による潜在的抗酸化能の減少を認めた。

結論: QH 摂取と EX の併用は老化遅延や運動能力の減少抑制, 潜在的抗酸化能の減少が示された。

【キーワード】

還元型コエンザイム Q10, 運動トレーニング, 酸化ストレス防御系, 老化促進モデルマウス

はじめに

生体に取り入れた酸素の数%は細胞内のミトコンドリア内の電子伝達系などから逸脱し, 水や水酸化物まで還元されない活性酸素 (スーパーオキシドラジカルなどを総称して酸化ストレス) となる。酸化ストレスは脂質, 糖, 蛋白質, DNAなどを攻撃し, 脂質や糖の酸化, タンパク質の変性, 酵素の不活性化, DNAの塩基修飾や主鎖の切断を引き起こす¹⁾と共に, 老化のメカニズムに深く関与している²⁾。これに対して, 生体は自律神経系や内分泌系, 免疫系, 酸化ストレス防御系などのさまざまな防御機能を有している。特に, 酸化ストレス防御系は, 「生体の酸化反応 (酸化ストレス度) と抗酸化反応 (抗酸化力) の平衡 (潜在的抗酸化力)」であり, 健康・栄養・疾病との関連性が報告されている³⁾。なお, 運動に伴う酸化ストレスの生成は, 活動組織への酸素流量が大幅に増大することから, 運動能力に比例して上昇する。ラッ

受理日: 2012年6月13日

* 〒343-8540 埼玉県越谷市三野宮 820 埼玉県立大学保健医療福祉学部 Tel & Fax: 048-973-4180

E-mail: maruoka-hiroshi@spu.ac.jp

トに対する一過性の運動や継続的なトレッドミル運動は、酸化ストレスや抗酸化力へおよぼす影響の検討がされているが⁴⁾、酸化ストレスに敏感なビタミン C や還元型コエンザイム Q10 (H₂CoQ10: QH) などのラジカル捕捉型抗酸化物の食品⁵⁾ を摂取させ、運動能力と酸化ストレス防御系の関連を検討した報告が少ない⁶⁾。一方、防御機能の中でラジカル捕捉型抗酸化物は、生成した活性酸素を速やかに消去、捕捉、安定化させる機能がある⁷⁾。コエンザイム Q (CoQ) はコレステロールと同様にメバロン酸経路で合成 (内因性 CoQ) され、全ての臓器や細胞に存在し、エネルギー産生賦活作用と抗酸化作用の 2 大作用を有する物質である⁸⁾。一般的な CoQ は CoQ10 であるが、この CoQ10 には酸化型 (ユビキノン) と還元型 (ユビキノール) が存在している。生体内では還元酵素により酸化型から還元型に変換されており、QH が主要な CoQ10 となっている。なお、生体内の QH の値や酸化型 CoQ10 から QH に変換される能力は加齢により低下し⁹⁾、QH 摂取の効果には、老化症状の発現遅延¹⁰⁾ などが報告されている。しかし、QH の摂取により老化への影響が報告されているが¹⁰⁾、運動トレーニング (EX) の併用による老化や運動能力への影響を検討した報告はみられない。

そこで、今回は老化促進モデルマウスを対象に長期間の QH 摂取と EX が老化や運動能力、および酸化ストレス防御系におよぼす影響について検討した。

材料および方法

1. 対象

研究には 4 週齢の老化促進モデルマウス雄 (SAMP1: SAM) (日本エスエルシー株式会社) 計 50 匹を用いた。全てのマウスは、動物飼育室にて 2 週間馴化飼育した後、研究に用いた (1 ケージ内は 1 匹にて飼育)。6 週齢の時点では、ラット用トレッドミル (大阪マイクロシステム社製 TM-R-N1: TM) に慣らせるための走行運動を 2 回実施した (①速度 10 m/min・傾斜 20 度・時間 30 分、②速度 20 m/min・傾斜 10 度・時間 30 分)。なお、走行運動は①から②の順番で、1 回/1 日の頻度で実施した。その後、7 週齢の時点で採血 (安静時)、研究開始時 (8 週齢) の時点で TM による走行時間などの測定を行い、SAM を無作為に 4 群 (A 群: QH 摂取群、B 群: QH 摂取と EX 併用群、C 群: EX 群、D 群: コントロール群、A 群~C 群は各 12 匹、D 群は 14 匹) に区分した (図 1)。研究開始後、脱落は QH 摂取 6 ヶ月後 (6M) の時点にて全群で 5 例、12 ヶ月後 (12M) の時点にて全群で 8 例となり、脱落数は研究終了までに全群で計 13 例 (26.0%) となった。脱落の主な理由は TM 走行時のトラブル (主に走行ベルトと走行面後方の電気刺激装置に挟まれたことにより受傷した例など) と自傷行動による走行不能例などであった。

全ての SAM は室温 20±1°C、相対湿度約 50%、12 時間 (7-19 時) の明暗周期の環境下で飼育し、固形飼料

図 1 研究デザイン

研究は老化促進モデルマウス (SAMP1) 計 50 匹を用い、馴化飼育を行った後、研究開始時 (8 週齢) の時点で無作為に 4 群に区分した。脱落数は還元型コエンザイム Q10 (QH) 摂取 12 ヶ月後 (12M) の時点までに全群で 13 例 (26.0%) 認めた。QH は給水ビンを使用し研究開始時より、12M まで摂取させた (300 mg/Kg)。運動トレーニングは動物用トレッドミル (TM) を使用し、速度 20 m/min・傾斜 10 度・30 分、週 2 回実施した (9 週齢より開始し、12M の前週で終了)。A 群: QH 摂取群、B 群: QH 摂取と運動トレーニング併用群、C 群: 運動トレーニング群、D 群: コントロール群、括弧内は対象数を示す。

(CE-2, 日本クレア) を自由摂取させ、行動には制限を設けなかった。なお、A 群と B 群は、研究開始時から 12M まで QH (ユビキノール, カネカ製 QH 安定化粉末) の懸濁水を入れたボトル式給水ビンを使用し QH を自由に摂取 (毎週、給水量や体重の増減を確認し、QH 含有量が 300 mg/Kg になるよう調合)、C 群と D 群では水道水の給水を自由にアクセスできるようにした。QH の摂取量に関しては先行研究¹⁰⁾ を踏まえたが、ヒトを対象にして最大 300 mg/日を 1 ヶ月摂取した安全性試験では問題がないことが報告されている¹¹⁾。

今回使用した SAM は、成長後に老化が促進されている点で有用なモデルである。また、SAM においてはヒトを含む多くの動物種の生理的老化過程で異常化するミトコンドリア変性が早期に出現し、50%生存日数が 297 日と報告されている^{12,13)}。そのため、研究開始時を幼若期、6M を成熟期、12M を高齢期とした。

2. プロトコル

本研究は研究開始時 (8 週齢) から 12M 迄とし、老化度評点と体重、運動能力としての走行時間を研究開始時、6M、12M の各時点、酸化ストレス防御系を研究開始時と 12M の各時点で測定した。なお、EX は B 群と C 群において TM (先行研究¹⁴⁾ を参考にして速度 20 m/min・傾斜 10 度・30 分、週 2 回に設定) を用いて実施したが (9 週齢より開始し、12M の前週で終了)、A 群と D 群では実施しなかった。分析に当たっては、脱落例を除外した 37 例とした (A 群 9 例、B 群 8 例、C 群と D 群各 10 例)。また、酸化ストレス防御系は酸化ストレス度 (Reactive oxygen metabolites test: d-ROM test) と抗酸化力 (Biological antioxidant potential: BAP test)、BAP/d-ROM 比 (BAP test 値/d-ROM test 値) により包括的に評価を行った。

3. 老化度評点と体重

老化度をより客観的に評価するために考案された老化度評点は、探索行動、捕獲しようとした時の逃避行動、毛艶、毛と皮膚の荒れ具合、脱毛の程度、皮膚のただれ、目の周辺のただれ、角膜の濁り、角膜の傷、網膜の濁り、背骨の屈曲度の変化の 11 項目によって点数化されるものである (各項目は老化の度合いにより点数化され、得られた評点を合計する)¹⁵⁾。老化度評点は抗老化作用の判定基準の一つとして汎用されており、点数が高いほど老化が進んでいることを意味する。なお、老化度の判定に際しては、先行研究¹⁵⁾ を踏まえて著者自身にて行った。また、体重は動物用天秤 (夏目製作所製 KN 型) を使用し、測定を行った。

4. 走行時間

走行時間は TM を用いて限界走行させ、運動終了の基準は TM 走行面後方の電気刺激の時間間隔が 5 秒以内となった時点 (疲労困憊などにより、TM の速度に対応できなくなった基準) とした。なお、運動強度は速度 20 m/min・傾斜 20 度に設定した (最大酸素摂取量の約 80% に相当¹⁶⁾)。

5. 酸化ストレス度などの測定

酸化ストレス防御系は活性酸素・フリーラジカル分析装置 (ディアクロン社製 FRAS4) を使用し、d-ROM test と BAP test を安静時 (明周期の 13 時~16 時) に測定し、BAP/d-ROM 比を算出した。なお、d-ROM test などの測定には尾静脈より採血 (約 100 μ l) を実施し、直ちに遠心分離 (6,000 rpm にて 5 分) を行い、血漿を採取して冷蔵保存を行った。

(1) d-ROM test

d-ROM test は生体におけるフリーラジカルのレベル、特に hydroperoxide 濃度を光学計測法 (呈色反応) により専用の試薬を用いて計測 (単位は U.CARR, 1 U.CARR = 過酸化水素 0.08 mg/dl) を行った。d-ROM test で得られた値は酸化ストレス度 (酸化反応) の大きさを示す。なお、ヒト (日本人の健常者) の酸化ストレス防御系の値は、d-ROM test: 284.6 ± 17.5 U.CARR, BAP test: 2137.1 ± 228.3 μ M, BAP/d-ROM 比: 7.541 ± 0.978 と報告されている³⁾、SAM に関する値は報告されていない。

(2) BAP test

BAP test は血漿中の抗酸化物質による還元作用により、専用の試薬を用いて計測を行った (単位は μ M)。すなわち、血漿は三価鉄イオンを含む試薬と混ぜ、血漿が二価鉄イオンに還元される量を光学計測法により計測した。血漿が還元した鉄イオンの量 = 抗酸化力となる。BAP test で得られた値は抗酸化力 (抗酸化反応) の大きさを示す。なお、BAP/d-ROM 比は BAP test 値と d-ROM test 値より算出され、潜在的抗酸化能の大きさを示す。つまり、潜在的抗酸化能は酸化ストレス度と抗酸化力の平衡を示すものである。

6. 統計処理

老化度評点の経時的な変化は Friedman 検定を行い、有意差があった場合、Bonferroni の不等式による修正の検定を行った。また、研究開始時と 6M、12M の各時点での群間比較は Kruskal Wallis 検定により検定を行い、有意差があった場合、Bonferroni の多重比較を行った。体重と走行時間の経時的な変化は、一元配置分散分析により検定を行った。また、研究開始時と 6M、12M の各時点での群間比較は一元配置の分散分析により検定を行い、有意

差があった場合、Bonferroni の多重比較を行った。酸化ストレス防御系において研究開始時と 12M の比較は、Wilcoxon 符号付順位検定により検定を行った。また、研究開始時と 12M の各時点での群間比較は Kruskal Wallis 検定を行い、有意差があった場合、Bonferroni の多重比較を行った。本研究において得られた数値は平均値±標準偏差 (SD) で表し、統計ソフトは SPSS (Ver19.0 for windows) を使用し、有意水準を 5% とした。研究に当たっては所属する大学動物研究委員会の承認を得て実施した (承認番号 32)。

結 果

1. 老化度評点と体重などの変化

老化度評点は 12M までの経時的な変化において、4 群共に有意な増加を認めた ($p<0.001$) (表 1)。しかし、6M において 4 群間を比較すると、A 群と B 群は C 群と D 群に対して有意な低値を認めた ($p<0.05\sim0.001$)。12M では

B 群が他の全ての群に対して有意に低値であった ($p<0.01\sim0.001$)。体重は 4 群共に有意な増加を認めたが ($p<0.001$)、6M と 12M において 4 群間を比較すると、有意な変化を認めなかった (表 2)。水分摂取量 (1 日当たりの平均値) は A 群: 研究開始時平均 8.3 g, 6M 平均 8.2 g, 12M 平均 7.1 g, B 群: 研究開始時平均 7.8 g, 6M 平均 7.2 g, 12M 平均 7.7 g となり、概ね平均 7~8 g であった。なお、C 群と D 群は水道水の給水を自由にアクセスできるようにしたため、水分摂取量の測定を行っていない。

2. 走行時間の変化

走行時間は 12M において半分以下の走行時間にまで減少を示し、4 群共に有意な減少を認めた ($p<0.001$) (表 3)。なお、研究開始時と比較すると、D 群は 6M の時点で有意な減少 ($p<0.001$)、他の群は 12M の時点で有意な減少を示した ($p<0.05\sim0.001$)。6M と 12M において 4 群間を比較すると、特に B 群は C 群と D 群と比較し有意な減少抑制を認めた ($p<0.01\sim0.001$)。しかし、A 群と B

表 1 老化度評定の変化

	研究開始時 (8 週齢)	6M ^{###}	12M ^{###}	n
A 群*** (点)	0.0±0.0	3.8±0.3 ^a	10.0±0.9 ^b	9
B 群*** (点)	0.0±0.0	3.3±0.8 ^{aa}	7.5±0.5 ^b	8
C 群*** (点)	0.0±0.0	5.1±0.8 ^{aa}	11.3±1.2 ^{bb}	10
D 群*** (点)	0.0±0.0	5.6±0.9 ^a	11.8±1.5 ^b	10

6M: 還元型コエンザイム Q10 (QH) 摂取 6 ヶ月後, 12M: QH 摂取 12 ヶ月後。

*=各群内 (A 群~D 群) において比較, ***: $p<0.001$

#=研究開始時, 6M, 12M の各時点で, 各群間 (A 群~D 群) において比較, ###: $p<0.001$

†=研究開始時, 6M, 12M の各時点で, 各群間 (A 群~D 群) において多重比較, †††: $p<0.001$, ††: $p<0.01$, †: $p<0.05$

a=研究開始時と 6M を比較し, 各群内 (A 群~D 群) において比較, aa: $p<0.01$, a: $p<0.05$

b=6M と 12M を比較し, 各群内 (A 群~D 群) において比較, bb: $p<0.01$, b: $p<0.05$

A 群: QH 摂取群, B 群: QH 摂取+運動トレーニング併用群, C 群: 運動トレーニング群, D 群: コントロール群, 数値はすべて平均値±標準偏差, n: 対象数

表 2 体重の変化

	研究開始時 (8 週齢)	6M	12M	F 値	n
A 群*** (g)	27.0±1.1	35.4±3.3 ^{aaa}	40.7±4.5 ^{bb}	52.2	9
B 群*** (g)	27.6±1.1	35.0±3.6 ^{aaa}	39.0±4.8 ^b	40.4	8
C 群*** (g)	25.7±2.7	32.7±1.9 ^{aaa}	34.1±2.4 ^b	123.1	10
D 群*** (g)	26.3±1.9	32.8±5.4 ^{aa}	35.8±6.1 ^b	22.0	10

6M: 還元型コエンザイム Q10 (QH) 摂取 6 ヶ月後, 12M: QH 摂取 12 ヶ月後。

*=各群内 (A 群~D 群) において分散分析, ***: $p<0.001$

#=研究開始時, 6M, 12M の各時点で, 各群間 (A 群~D 群) において分散分析, ###: $p<0.001$

†=研究開始時, 6M, 12M の各時点で, 各群間 (A 群~D 群) において多重比較, †††: $p<0.001$, ††: $p<0.01$, †: $p<0.05$

a=研究開始時と 6M を比較し, 各群内 (A 群~D 群) において多重比較, aaa: $p<0.001$, aa: $p<0.01$, a: $p<0.05$

b=6M と 12M を比較し, 各群内 (A 群~D 群) において多重比較, bbb: $p<0.001$, bb: $p<0.01$, b: $p<0.05$

A 群: QH 摂取群, B 群: QH 摂取+運動トレーニング併用群, C 群: 運動トレーニング群, D 群: コントロール群, 数値はすべて平均値±標準偏差, n: 対象数

表 3 走行時間の変化

	研究開始時 (8 週齢)	6M ^{###}	12M ^{###}	F 値	n
A 群 (min)	46.25±11.85	46.83±15.39	16.84±7.17 ^b	12.3***	9
B 群 (min)	46.66±7.23	58.61±17.42	21.43±7.46 ^{bb}	16.4***	8
C 群 (min)	49.10±14.43	31.89±10.82	11.08±2.77 ^{bbb}	25.8***	10
D 群 (min)	52.74±12.39	14.32±4.01 ^{aaa}	8.26±4.79	56.0***	10

6M：還元型コエンザイム Q10 (QH) 摂取 6 ヶ月後，12M：QH 摂取 12 ヶ月後。

*＝各群内（A 群～D 群）において分散分析，***：p<0.001

#＝研究開始時，6M，12M の各時点で，各群間（A 群～D 群）において分散分析，###：p<0.001

†＝研究開始時，6M，12M の各時点で，各群間（A 群～D 群）において多重比較，†††：p<0.001，††：p<0.01

a＝研究開始時と 6M を比較し，各群内（A 群～D 群）において多重比較，aaa：p<0.001

b＝6M と 12M を比較し，各群内（A 群～D 群）において多重比較，bbb：p<0.001，bb：p<0.01，b：p<0.05

A 群：QH 摂取群，B 群：QH 摂取＋運動トレーニング併用群，C 群：運動トレーニング群，D 群：コントロール群，数値はすべて平均値±標準偏差，n：対象数

表 4 酸化ストレス防御系（d-ROM, BAP, BAP/d-ROM 比）の変化

	d-ROM test (U.CARR)			BAP test (μM)			BAP/d-ROM 比		
	研究開始時 (8 週齢)	12M	n	研究開始時 (8 週齢)	12M [#]	n	研究開始時 (8 週齢)	12M [#]	n
A 群	120.2±18.8	125.0±9.0	9	3286.9±385.8	2176.5±150.7	9	27.914±4.669	17.484±1.517	9
B 群	117.3±15.8	152.6±40.0	8	3323.1±310.9	2121.2±128.4	8	28.957±5.413	14.562±2.589	8
C 群	128.0±26.3	127.2±14.3	10	3503.6±533.5	1923.6±194.7	10	28.189±5.283	15.161±0.766	10
D 群	125.5±23.9	131.2±16.8	10	3438.3±742.3	2197.0±75.9	10	27.667±4.464	16.977±1.934	10

6M：還元型コエンザイム Q10 (QH) 摂取 6 ヶ月後，12M：QH 摂取 12 ヶ月後。

*＝研究開始時と 12M の比較，**：p<0.01，*：p<0.05

#＝研究開始時と 12M の各時点で，各群間（A 群～D 群）において比較，###：p<0.01，#：p<0.05

†＝研究開始時と 12M の各時点で，各群間（A 群～D 群）において多重比較，††：p<0.01，†：p<0.05

A 群：QH 摂取群，B 群：QH 摂取と運動トレーニング併用群，C 群：運動トレーニング群，D 群：コントロール群，d-ROM test (Reactive oxygen metabolites test)：酸化ストレス度，BAP test (Biological antioxidant potential)：抗酸化力，BAP/d-ROM 比：BAP test 値と d-ROM test 値の比，数値はすべて平均値±標準偏差，n：対象数

群，C 群と D 群を比較すると，有意な差を認めなかった。
なお，A 群は 6M において，D 群と比較し有意な減少抑制を認めたが (p<0.001)，12M において有意な変化を認めなかった。

3. 酸化ストレス防御系の変化

研究開始時と 12M を比較すると，個体間のバラツキが大きいものの d-ROM test は B 群のみ有意な増加 (p<0.05)，BAP test と BAP/d-ROM 比では 4 群間共に有意な減少を認めた (p<0.05～0.01) (表 4)。BAP test の 12M において 4 群間を比較すると，C 群は A 群と D 群と比較し有意な減少 (p<0.05～0.01)，BAP/d-ROM 比の 12M では B 群が A 群と比較し有意な減少を認めた (p<0.05)。

考 察

本研究においては QH 摂取と EX が，老化や運動能力，および酸化ストレス防御系におよぼす影響を評価することを目的とした。特に，サプリメントと EX との併用による報告は少ないのが現状である^{17,18)}。なお，QH はエネルギー産生賦活作用や抗酸化作用として注目されている代表的なサプリメント素材であるが，その生理学的効果を実証されているにもかかわらず^{8,19-21)}，EX との併用による効果が未だ明らかになっていない。

1. QH 摂取と EX が老化度評点や体重におよぼす影響

現在，老化のメカニズムは多数報告されているが，DNA・タンパク質・生体膜脂質に対する損傷の蓄積，つまり酸化ストレスによる影響が重視されている^{2,13)}。また，老化遅延や寿命延長の可能性としては，唯一カロリー

制限による方法であることが報告されている²²⁾。このカロリー制限は、ヒトをはじめとする好気性生物の代謝活性の速度を落とすことで、酸化ストレスによる生体損傷を抑制することをメカニズムとしている。また、適度な EX は呼吸・循環機能を改善し、筋力を高め、肥満などの生活習慣病を予防し、心身の老化現象を遅らせるという多くの報告がある²⁾。さらに、活性酸素を消去する能力が大きいほど長寿であるならば、抗酸化物質を多く摂取すれば老化を遅延させることができる可能性もある。このような背景で、現在、大きな注目を集めているのが抗酸化サプリメントによる老化予防の可能性である²³⁾。なお、抗酸化サプリメントには酸化ストレスに敏感なビタミン C とビタミン E、および QH が存在している⁵⁾。今回、老化度評点は A 群と B 群においてより増加の抑制を示した。QH 摂取による老化度評点の増加抑制は、SAM を用いた Yan らの報告¹⁰⁾と同様の結果となった。なお、Yan らによると QH 摂取群 (0.2%QH を含有した飼料を摂取) はコントロール群と比較して、10 ヶ月齢から有意に老化度評点の増加抑制を示すと共に、12M の時点で QH 摂取群: 約 8~9 点、コントロール群: 約 10~11 点であった。また、今回、高齢期におい B 群は A 群と比較して有意に増加抑制が示されたことから、EX の併用による老化遅延への効果が明らかになった。つまり、今回の研究ではカロリー制限を行っていない状況下で QH を摂取させることにより、EX の併用による老化遅延への効果が示唆された。なお、体重においては各群間で差異を認めなかったことから、QH の摂取や EX による影響を認めなかったことが示された。

2. QH 摂取と EX が走行時間におよぼす影響

CoQ10 は抗疲労効果を示し、欧米ではアスリートのフィジカル面に対する強化に多く活用されてきた²⁰⁾。Mizuno ら²⁴⁾によると健康人による酸化型 CoQ10 の摂取は、エルゴメータ運動の身体面における疲労改善に効果があつたことを報告している。酸化型 CoQ10 を経口的に摂取した場合、小腸で吸収された直後に還元型に変換されることが明らかになっていることから、この報告に関しても本質的には QH の効果である。今回、B 群は高齢期まで C 群や D 群と比較して有意な走行時間の減少抑制を示した。このような走行時間に関わる生理学的効果は、酸化型 CoQ10 摂取による先行研究²⁴⁾と同様な傾向であった。また、Langsjoen ら²⁵⁾によると重症の慢性心不全患者においては、QH の長期服用 (平均 12 ヶ月) にて臨床所見や左室機能の改善効果が得られ、生理学的効果が持続することが報告された。つまり、ミトコンドリア賦活による心筋の代謝が増大 (心拍出量の増加) する

ばかりでなく、末梢血管抵抗の減少などの作用で活動筋への酸素需要が十分に補われ (末梢における酸素利用率の増大)、効果が持続したものと考えられた。そのため、QH 摂取に EX を併用することは、EX という適度な刺激によって生理学的効果を顕著化させ、その効果を持続させた可能性が考えられた。しかしながら、今回、A 群と B 群は 6M と 12M において有意な変化を認めなかったことから、QH の摂取のみにおいても生理学的効果を示したことが考えられた。ただし、A 群では高齢期まで走行時間の減少抑制を認めなかったことから、生理学的効果は EX の併用の方がより持続性を認めた。つまり、Yan らの報告¹⁰⁾に指摘されているように、QH 摂取による効果は老化の遅延であり、老化そのものを停止することではないことと一致していた。また、EX は遺伝子発現の変化を引き起こすことによって心臓や骨格筋の加齢による機能低下の軽減のみならず、脳神経機能の維持に役立つことが報告されている¹³⁾。そのため、今回、A 群は高齢期において老化によって生じた運動能力の減退に対して、QH 摂取による生理学的効果が生じにくかった可能性も考えられた。

今回、C 群と D 群では 6M と 12M において有意な変化を認めなかったが、D 群のみは成熟期において走行時間の有意な減少を示した。このことは、C 群では EX によって、遺伝子発現の変化など¹³⁾による機能低下を遅延させる生理学的効果を生じたものと考えられた。つまり、加齢に伴い生じた運動能力の減退の影響は、EX で軽減できる可能性が示された。

今回、走行時間の測定には TM を使用した。一般的に運動に対する応答を研究するモデルとしては、トレッドミル走や自発ホイール走、水泳の 3 つの運動様式がある²⁶⁾。特に、トレッドミル走は最大下の強度で疲労困憊するまでの走行した時間で全身持久力を評価することになるが、強制的な運動形式となるため、電気ショックなどによる運動以外の要因 (例えば、精神的ストレスなど) の影響を受ける可能性が考えられた。

3. QH 摂取と EX が酸化ストレス防御系におよぼす影響

一般的に老化に伴い生体エネルギーの生産量が低下すると抗酸化酵素 (抗酸化力) の働きが減少し、酸化ストレスが上昇する²⁰⁾。ラットの抗酸化酵素においては老化に伴い組織のタンパク質量が低下するにもかかわらず、その活性は高まることが報告されている²⁷⁾。また、EX による適度な刺激は、活性酸素の産生亢進によって抗酸化酵素を含む生体防御系の酵素やタンパク質の発現を高め、炎症関連酵素やタンパク質の発現を抑制する可能性が報告されている²⁸⁾。このような抗酸化酵素の活性化は、

酸化ストレスの産生増加に対する代償的な結果であることが指摘されている²⁹⁾。さらに、継続的に暴露された酸化ストレスに対しては、ビタミン C による消去作用³⁰⁾やコエンザイム Q10 レッドクササイクル^{20,27)}による防御機構が作用している。

今回、酸化ストレス度においては B 群以外で変化を認めず、抗酸化力と潜在的抗酸化能では 4 群共に高齢期に減少することが示された。また、B 群は酸化ストレス度の上昇による潜在的抗酸化能の減少を示した。つまり、加齢に伴い QH 摂取や EX にかかわらず、抗酸化力と潜在的抗酸化能の減少が示された。しかし、12M の抗酸化力において、B 群は他の群と比較して有意差を認めなかった。このことは、走行時間の減少抑制により酸化ストレスの増加を示したが、QH 摂取により抗酸化力がある程度、減少抑制をされた可能性 (QH による保護効果) が考えられた。EX による酸化ストレスへの影響は、継続的な ATP 産出を目的として体内への酸素取り込みにより増大する²⁵⁾。そのため、B 群では走行時間の減少抑制により継続的に暴露された酸化ストレスと加齢に伴う抗酸化力の減少²⁷⁾を認めた結果、潜在的抗酸化能の減少に結びついたものと考えられた。また、12M の抗酸化力において、C 群は A 群と D 群と比較して有意な減少を認めた。つまり、EX による抗酸化力の減少は、酸化ストレスの増加を抑制した可能性も考えられた。今回、B 群において走行時間の減少抑制は酸化ストレスの増加に影響したのに対して、加齢に伴い抗酸化力の減少、あるいは QH の保護効果による抗酸化力の減少抑制を認めたが、その結果、潜在的抗酸化能の減少を示したことが推察された。

4. 研究の限界

本研究においては、いくつかの限界がある。第 1 に老化度の判定に際しては、先行研究¹⁵⁾を踏まえて著者自身で行った。そのため、老化度の評点は盲検化された値でなく、また検者内の信頼性を示すことができなかった。第 2 に今回の結果から、A 群と B 群は抗酸化力などに影響を認めなかった。このことは、血漿中の鉄イオンの還元力を分析している BAP test では、ビタミン C や QH 摂取による影響をよく反映しない可能性も考えられた。そのため、今後は血漿 Q10 値や還元比率などの他のストレスマーカーによる検討が必要と考えられた。

結 論

老化促進モデルマウスを用いて、QH 摂取と EX が老化や運動能力、酸化ストレス防御系におよぼす影響につ

いて検討した。結果、QH 摂取と EX の併用は老化度評点が高齢期まで増加の抑制を認めたことから、老化遅延の効果が示された。また、走行時間の減少抑制を認めたことから運動能力への影響が示された。酸化ストレス防御系では高齢期に酸化ストレス度が増加し、抗酸化力と潜在的抗酸化能の低下を認めた。このことから、QH 摂取と EX の併用は老化遅延や運動能力への影響、潜在的抗酸化能の減少が示された。

助成源

埼玉県立大学奨励研究費、埼玉県立大学産学共同研究費 (株) カネカ

参 考 文 献

- 1) Halliwell B. Reactive oxygen species and the central nervous system. *J Neurochem* 1992; 59: 1609–1623.
- 2) 吉川敏一, 市川 寛. フリーラジカルと抗加齢医学. *日老医誌*. 2008; 45: 149–151.
- 3) 永田勝太郎, 長谷川拓也, 広門靖正ら. 生活習慣病と酸化ストレス防御系. *心身医学*. 2008; 48: 177–183.
- 4) Jiankang L, Yeo HC, Overvik-Douki E, et al. Chronically and acutely exercised rats: biomarkers of oxidative stress and endogenous antioxidants. *J Appl Physiol* 2000; 89: 21–28.
- 5) 古倉 聡, 吉川敏一. 健康食品と医薬品の分類 (食薬分類) と臨床試験. *臨床薬理*. 2006; 37: 111–114.
- 6) 丸岡 弘, 藤井健志. マウスにおける還元型コエンザイム Q10 と運動トレーニングが酸化ストレス防御系と運動能力に影響をおよぼす影響. *日本補完代替医療学会誌*. 2011; 8: 85–97.
- 7) 野口範子. 運動に関連する酸化ストレスと抗酸化作用. *日本運動生理*. 2003; 10: 1–8.
- 8) 阿部皓一. コエンザイム Q の体内動態・代謝と作用機構. *ビタミン*. 2004; 78: 283–286.
- 9) Wada H, Goto H. Redox Status of Coenzyme Q10 is Associated with Chronological Age. *JAGS* 2007; 55: 1141–1142.
- 10) Yan J, Fujii K, Tao J, et al. Reduced coenzyme Q10 supplementation decelerates senescence in SAMP1 mice. *Exp Gerontology* 2006; 41: 130–140.
- 11) Hosoe K, Kitano M, Kishida H, et al. Study on safety and bioavailability of ubiquinol (Kaneka QH) after single and 4-week multiple oral administration to healthy volunteers. *Reg Tox Pharma* 2006; 47: 19–28.
- 12) 竹田俊男. SAM 研究その後—とくに促進老化の基本メカニズムについて. *日本疾患モデル学会*. 1998; 14: 1–9.
- 13) 後藤佐太良. 高齢医学におけるトランスレーションリサーチ: 基礎老化研究の応用を考える. *日老医誌*. 2005; 42: 144–151.
- 14) Moraska A, Deak T, Spencer RL, et al. Treadmill running produces both positive and negative physiological adaptations in Sprague-dawley rats. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp*

- Physiol 2000; 279: R1321–R1329.
- 15) Hosokawa M. Grading score system: A method for evaluation of the degree of senescence in Senescence Accelerated Mouse (SAM). Mech Ageing Dev 1984; 26: 91–102.
 - 16) Brooks GA, White TP. Determination of metabolic and heart rate responses of rats to treadmill exercise. J Appl Physiol 1978; 45: 1009–1015.
 - 17) 岡本正志. 酸化ストレス負荷時の還元型コエンザイム Q の生体内動態. ビタミン. 2006; 80: 567.
 - 18) Teixeira AM, Trevizol F, Colpo G, et al. Influence of chronic exercise on reserpine-induced oxidative stress in rats: Behavioral and antioxidant evaluations. Pharmacol Biochem Behav 2008; 88: 465–472.
 - 19) Kishi T, Okamoto T, Takahashi T, et al. Cardiostimulatory action of coenzyme Q homologues an cultured myocardial cells and their biochemical mechanisms. Clin Investing 1993; 71: S71–S75.
 - 20) Bowry VW, Stanley KK, Stocker R. High density lipoprotein is the major carrier of lipid hydroperoxides in human blood plasma from fasting donors. Proc Natl Acad Sci 1992; 89: 10316–10320.
 - 21) 齋藤 康. 還元型コエンザイム Q10 のすべて. 東京. アーク出版. 2010: 14–75.
 - 22) Lamming DW, Sinclair DA. カロリー制限のメカニズムとその模倣化合物. 実験医学. 2004; 22: 806–815.
 - 23) 大澤俊彦. サプリメントによる抗老化療法の現状と課題. 日老医. 2005; 42: 587–595.
 - 24) Mizuno K, Tanaka M, Nozaki S, et al. Antifatigue effects of coenzyme Q10 during physical fatigue. Nutrition 2008; 24: 293–299.
 - 25) Langsjoen PH, Langsjoen AM. Supplemental ubiquinol in patients with advanced congestive heart failure. BioFactors 2008; 32: 119–128.
 - 26) 日本基礎老化学会. 老化・老年病研究のための動物実験ガイドブック. 東京. アドスリー. 2008: 58–64.
 - 27) Ji LL. Antioxidant enzyme response to exercise and aging. Med Sci Sports Exerc 1993; 25: 225–231.
 - 28) Goto S, Radak Z, Nyakas C, et al. Regular Exercise: An Effective Means to Reduce Oxidative Stress in Old Rats. Ann N Y Aca Sci 2004; 1019: 471–474.
 - 29) 木村典代, 樋口 満. 運動・加齢と活性酸素の問題. 臨床スポーツ医学. 2006; 23: 33–39.
 - 30) 石神昭人. 加齢指標タンパク質 SMP30/GNL ノックアウトマウスを用いた抗老化研究. Yakugaku Zasshi 2010; 130: 25–28.

ABSTRACT

Effect of the Reduced Coenzyme Q10 and Exercise Training on the Senescence and Exercise Capacity, Oxidative Stress Regulation System in SAMP1 Mice

Hiroshi MARUOKA¹, Kenji FUJII²

¹ School of Health and Social Services, Saitama Prefectural University

² Research & Intellectual Property Group (Tokyo), QOL Division, KANEKA CORPORATION

Objective: We studied the effect of long-term the reduced form of coenzyme Q10 (H₂CoQ10: QH) consumption and exercise training (EX) with SAMP1 mice on senescence, exercise capacity, and an oxidative stress regulation system.

Methods: The subjects of this study were 50 SAMP1 mice for accelerated senescence, sorted at random into four groups: one which consumed QH, one which consumed QH and performed EX, one which performed EX, and a control group. The experiment started when the mice were 8 weeks old and the consumption of QH continued for 12 months (12M). The measurement for the oxidative stress regulation system was performed at the start of this study and 12M later. Running time for exercise capacity, senescence grading scores, and body weight were each measured at the start of the study, 6 months (6M) and 12M later. For the oxidative stress regulation system, we used reactive oxygen and free radical analysis equipment, with which we measured plasma oxidative stresses (d-ROM test) and plasma anti-oxidant potential (BAP test), and calculated the ratio of d-ROM to BAP.

Result: A combination of QH consumption and EX showed, at a later stage, an inhibiting effect on the increase in senescence grading scores and on the decrease in running time. For the oxidative stress regulation system, the combination showed a decrease in latent anti-oxidant potential caused by the rise of plasma oxidative stresses.

Conclusion: Results of this study suggest that a combination of QH consumption and EX is effective in delaying aging, inhibiting the decline of exercise capacity, and decrease in latent anti-oxidant potential.

Key words: reduced coenzyme Q10, exercise training, oxidative stress regulation system, SAMP1 mice