

## 乗馬における酸化ストレスの指標としての血清過酸化脂質の解析

井戸田 悠 作\*・遠 藤 大 二\*\*・林 正 信\*\*

Analysis of lipid peroxide levels as a marker of oxidative stress in sera from riding horses

Yuusaku IDOTA, Daiji ENDOH and Masanobu HAYASHI  
(Accepted 16 July 2010)

### I. 序 文

ミトコンドリアは高等生物のエネルギー源である ATP を解糖系よりも 8.2 倍効率良く産生する細胞内小器官で、通常 4 電子がチトクローム系などの酸化還元鎖を介して酸素に付加される。この際に中間体としてスーパーオキシドラジカル ( $O_2^-$ ) や過酸化水素 ( $H_2O_2$ ) が産生される。これらの酸素中間体は不安定で他の物質と反応して酸化反応を引き起こすため活性酸素と呼ばれている。狭義の活性酸素としては他にヒドロキシラジカル ( $OH\cdot$ ) や一重項酸素、次亜塩素酸イオン ( $OCl_2^-$ ) が含まれる。広義の活性酸素としてはこれらの活性酸素が脂肪酸と反応してできるペルオキシドラジカル ( $LOO\cdot$ ) やアルコキシラジカル ( $LO\cdot$ )、 $NO_x$  などが含まれる。活性酸素はミトコンドリアにおける電子伝達系以外でもキサンチンオキシターゼ (XOD) 系、ニコチンアミドアデニン 2 リン酸 (NAD(P)H) オキシターゼ系、ミクロソームなどで生成される。さらに鉄など遷移金属がある場合にはフェントン反応を介して生成され、紫外線や放射線照射、種々の化学物質などの外的要因によっても産生される。このようにして産生された活性酸素は総称して活性酸素種 (reactive oxygen species, ROS) と呼ばれる。

顆粒球などにおける殺菌作用はその細胞膜に存在している NAD(P)H オキシターゼによって産生される  $O_2^-$  に起因している。また、ROS はアポトーシスの誘発時などにおける細胞内のセカンドメッセンジャーとして作用するなど、細胞内情報伝達系においても重要な役割を果たしている。一方、ROS は不安定で種々の生体物質との反応性が高いことから核酸や脂質、タンパク質と反応してその損傷原因と

なっている。このような生体物質の酸化は炎症や発がん、動脈硬化、白内障など種々の疾病や老化の原因であるとされている [7, 8, 21, 23]。この様に ROS は種々の疾病や老化と関連すると考えられているため、ROS による影響は酸化ストレスとも呼ばれる。生体内には酸化ストレスを防ぐために、ROS を消去するための種々の物質や酵素が存在している。細胞内のイオウを含む低分子であるグルタチオン (GSH) は ROS と反応して、酸化され GSSG となり、ROS を消去する役割を果たしている。この GSSG を元の還元型の GSH とするグルタチオン還元酵素や  $O_2^-$  を消去するスーパーオキシドジスムターゼ (SOD)、 $H_2O_2$  を消去するカタラーゼなどの酵素が存在する。このように生体内には活性酸素を産生する系とこれと拮抗する抗酸化系が存在し、通常は両者のバランスがとれていると考えられている。

Harman ら [9] は小さな動物は体重に比して体表面積が大きく、体温維持のためには多くの食物と酸素を必要とし、その結果 ROS の産生量が体の大きい動物よりも多く、そのため生体内の種々の物質の損傷が起こりやすく、寿命が短いことを提案している。実際に、ラットやマウスの肝臓では加齢に伴って酸化ストレスに対して感受性が高まることが示されている [22]。また、運動時には酸素の消費量が増加することから動物は高い酸化ストレスに曝されることになる。Steinhagen-Thiessen ら [24] はマウスに長期訓練を行うと心臓内 SOD 活性が増加することを報告しており、運動は酸化ストレスとして作用していることを示している。また、心臓への酸素供給を不足させる過度の運動を繰り返すと虚血—再灌流によって ROS が繰り返し産生され、心筋の壊死

\* 2009 年度酪農学園大学獣医学部獣医学科卒業生

\*\* 酪農学園大学獣医学部獣医学科獣医放射線生物学ユニット

Department of Basic Veterinary Radiology, School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University

を引き起こすことが示唆され、人や動物での過度な運動と酸素消費量、ROSによる組織障害の間に関連があることが報告されている [25]。

競走馬ではトレーニングやレースにおいて過度の運動が課せられていると考えられ、酸化/抗酸化系の平衡状態について運動生理学的な多くの検討がなされ、最近10年間に100以上の報告がなされている。運動はそれ自身が肺に酸化ストレスを発生することが示されており、運動の型（競争や耐久運動、トレッドミルでの運動など）によって程度は異なるが、循環系において酸化/抗酸化系の平衡状態が有意に変化することが示されている [15]。競走馬として使用されるサラブレッドの仔馬、競走馬、繁殖馬の間では酸化ストレスの程度に有意な差はないが、重種馬と比較して高い値を示すことや血清中SOD活性は競走馬で仔馬や繁殖馬よりも高いことが報告されている [16, 17]。また、レース後2日までレース前よりも酸化ストレス状態が高いことや輸送により酸化ストレスが増加する傾向があることも報告されている [13]。

サラブレッドは本来、競走馬として生産されるが、競走馬としての役目を終えた後は乗馬として使用されることが多い。また、サラブレッド以外にも半血種、アングロアラブ、ポニーといった様々な品種が乗馬として使役されている。乗馬は競走馬と比較して使役されている年齢層が広く、また、その年齢層も高齢である場合が多い。そして、負荷されるストレスも競走馬とは異なると考えられる。しかしながら、乗馬については年齢と酸化ストレス状態の関係

やサラブレッド以外の品種における酸化ストレス状態についてほとんど報告がなされていない。本研究では乗馬における健康管理における指標として酸化ストレス状態を利用できないか否かを検討する目的で、乗馬における年齢、品種、性別と酸化ストレス状態との関連について解析を行った。

## II. 材料および方法

### 1 血清

過酸化脂質測定のための血清は東京都と宮城県に存在する2箇所の乗馬クラブにご協力を頂いて採取した。血清の採取に使用した馬の品種、性別、頭数を表1に示した。また、サラブレッドについての年齢別頭数を図1に示した（平均年齢11歳）。サラブレッド以外の品種の年齢はアングロアラブ 11歳、2頭、16歳、17歳、25歳、各1頭（平均年齢16歳）、日本乗軽種 5歳、4頭、4歳、6歳、各1頭（平均年齢5歳）、半血種 7歳、2頭、6歳、12歳、各1頭（平均年齢8歳）、ポニー 3歳、8歳、13歳、

Table 1 Equine breed and sex used in the present study.

品 種	頭数	性 別	
		セン馬	牝馬
サラブレッド	81	67	14
アングロアラブ	5	5	0
日本乗軽種	6	2	4
半血種	4	2	2
ポニー	3	2	1

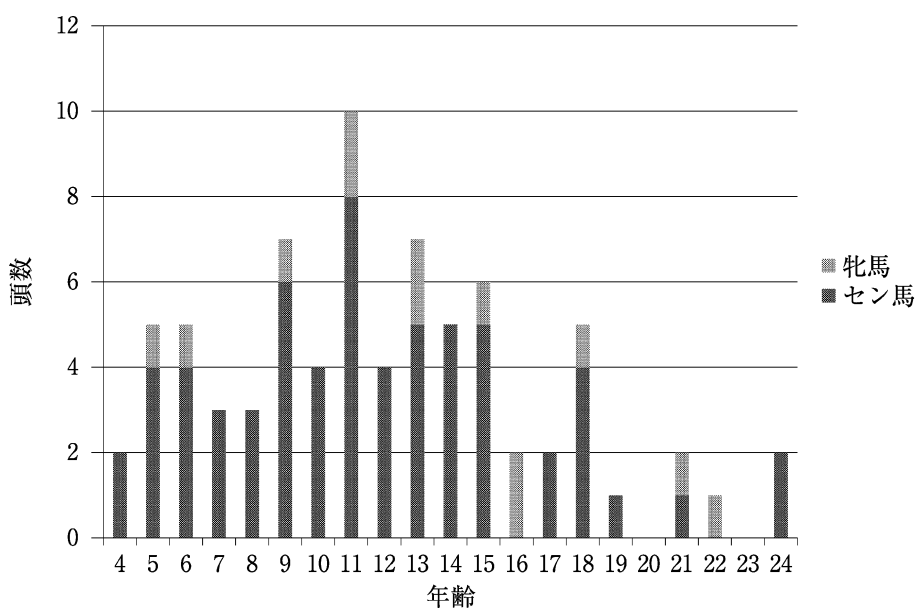


Fig. 1 Range of age and sex of Thoroughbred horses.

各1頭(平均年齢8歳)であった。なお、本研究で解析に用いた試料では直前の運動負荷の影響を除くため、数日間激しい運動を課していない乗馬から試料を採取した。

血液をヘパリン加チューブに採血し、10,000回転3分間の遠心で血球成分を沈殿し、血清を採取した。血清は分注し、測定まで-20℃で保存した。

## 2 血清中のMDA量の測定

酸化ストレス状態の測定には種々の方法が用いられているが[14]、本研究では血清中の過酸化脂質の主要なマーカーであるマロンジアルデヒド(malondialdehyde, 以下MDA)[16]についてTBARS法[23]を用いた測定を行った。

多価不飽和脂肪酸は活性酸素種/フリーラジカルによる酸化を受けやすい。例えば、ヒドロキシラジカル(OH $\cdot$ )と容易に反応して脂質ペルオキシラジカル(LOO $\cdot$ )を形成する。脂質ペルオキシラジカル(LOO $\cdot$ )は、さらに別の多価不飽和脂肪酸と反応して脂質ヒドロペルオキシド(LOOH)と脂質ペルオキシラジカル(LOO $\cdot$ )を形成する。また、脂質ペルオキシラジカル(LOO $\cdot$ )は分子内2重結合に反応して環状エンドペルオキシドを形成し、これがさらに分解されてMDAが形成される[6]。サンプル中のMDAをチオバルビツール酸(TBA)と反応させることでMDA-TBA<sub>2</sub>付加体が形成される(図2)、この付加体は532nmの波長付近に強い吸収を持つことから、分光学的にMDA量が定量できる。

MDAの定量はMDA測定キット(日本老化科学制御研究所)を用い、具体的な操作はキットのマニュアルに従った。

TBARS法では、尿、血清、組織ホモジネートといったサンプルで、バックグラウンドの吸収が高くなる場合がある。本研究においても血清サンプルでバックグラウンドの補正が必要であった。バックグラ

ウンドの補正は各サンプルについて500~580nmの吸光度を2nm間隔で測定し、近似曲線を算出し、この近似曲線の532nmにおける数値とサンプルから得られた吸光度の差からMDA濃度を算出した。

## 3 統計処理

統計処理はStudent's t-testを用い、5%以下を有意差とみなした。

## III. 成 績

### 1 サラブレッドにおける各年齢群における血清MDA値の比較

サラブレッドの年齢による過酸化脂質量の変化を検討するために各年齢群における血清MDA量を解析した。年齢群は4~6歳、7~9歳、10~12歳、13~15歳、16歳以上に区分した。図3に各年齢群のMDA量の平均値を示した。平均MDA値は4~6歳群と比較して7~9歳群で高く、10~12歳群でいったん減少し、その後年齢に伴って増加していく傾向が示された。7~9歳群と10~12歳群の間には有意差が認められた。サラブレッド以外の品種ではそれぞれの年齢群における頭数が少ないため比較は行わなかった。

### 2 サラブレッドにおける性別での血清MDA値の比較

図4にサラブレッドにおけるセン馬と牝馬のそれぞれの平均MDA値を示した。セン馬群と牝馬群の平均MDA値の間に有意差は認められなかった。

### 3 各品種における血清MDA値の比較

図5に各品種の血清における平均MDA値を示した。日本乗軽種、半血種、アングロアラブ、ポニーではサラブレッドと比較して平均MDA値が高い傾向が見られた。ポニーのMDA値はサラブレッドよりも有意に高い値が示された。

## IV. 考 察

酸化ストレスは生体における炎症や発ガンなど種々の疾病や老化とかかわっていることが広く知られている。本研究は乗馬における酸化ストレスを健康状態の指標として利用できないか否かを検討するため、過度のトレーニング等を課していない通常の条件で飼養されている乗馬について酸化ストレスが年齢、種、性などによって差異があるかの解析を行った。酸化ストレスの指標としては血清脂質過酸化量をMDA値で解析した。

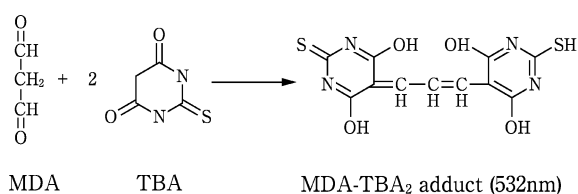


Fig. 2 TBA reaction with MDA

Malondialdehyde (MDA) - thiobarbituric acid (TBA) adducts are produced with reaction of MDA with 2 molecules of TBA. The spectrum of absorbance in the adduct indicates peak at 532nm.

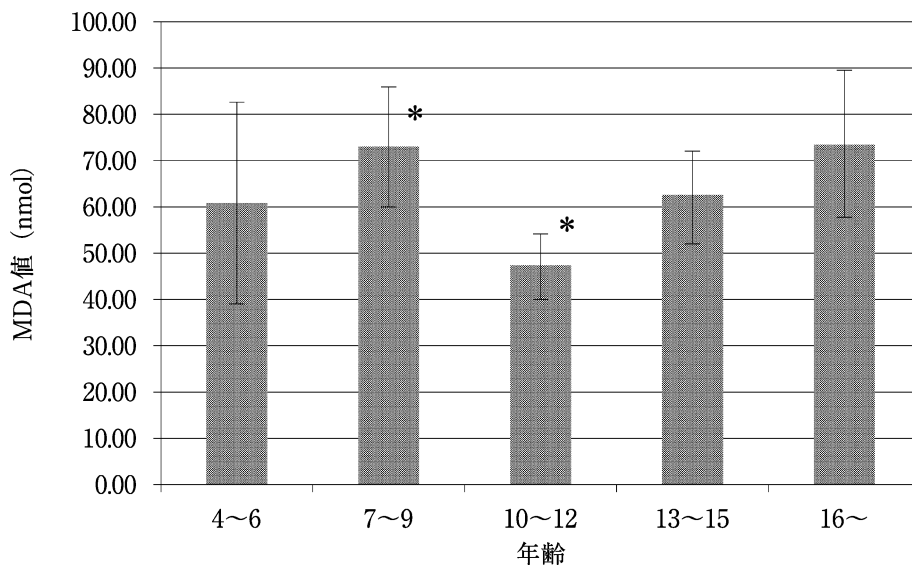


Fig. 3 Concentration of MDA in sera from each age groups of Thoroughbred horses.

Each bar represents the average of concentrations of MDA with standard deviations. \* represents significant differences at  $p < 0.05$  in the concentration of age groups between 7-9 and 10-12 years of age.

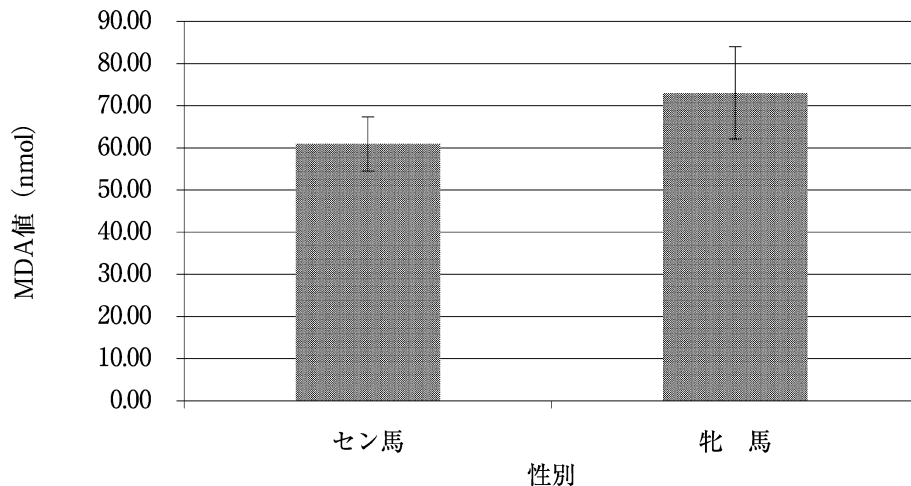


Fig. 4 Concentration of MDA in sera from males and females of Thoroughbred horses.

Each bar represents the average of concentrations of MDA with standard deviations.

今回の研究に用いた試料ではサラブレッド以外の品種の乗馬では頭数が少ないため、年齢と性の影響を検討するにはサラブレッドの試料のみを用いた。乗馬として使役されているサラブレッドの血清MDA値は7~9歳までは高い数値を示し、その後、10~12歳で一度減少した後再び年齢とともに増加することが示された(図3)。ラット脳の組織ホモジネートやヒトの血清では脂質過酸化量が増加とともに上昇することが報告されている[12, 19, 31]。今回の解析でもサラブレッドの血清MDA値は10~12歳以降で年齢に伴って上昇する傾向を示し、加齢に伴い脂質過酸化量が増加することが示唆され

た。一方、7~9歳齢では10~12歳齢でのMDA値よりも有意に高値を示した。この原因は不明であるが、年齢以外の要因が関係していると考えられる。乗馬として使役されているサラブレッドは、元来、競走馬として使役され、故障や競走能力の減退などの理由から引退し、乗馬として使役されることも多い。競走馬から乗馬への使役の移行の時期は10歳未満が一般的であるので、7~9歳までの年齢群において高い数値を示す要因としては乗馬への使役変更前の状態が影響している可能性が考えられた。脂質過酸化量は運動負荷の強度と比例して上昇することが知られている[5]。競走馬と乗馬の運動量の差異につ

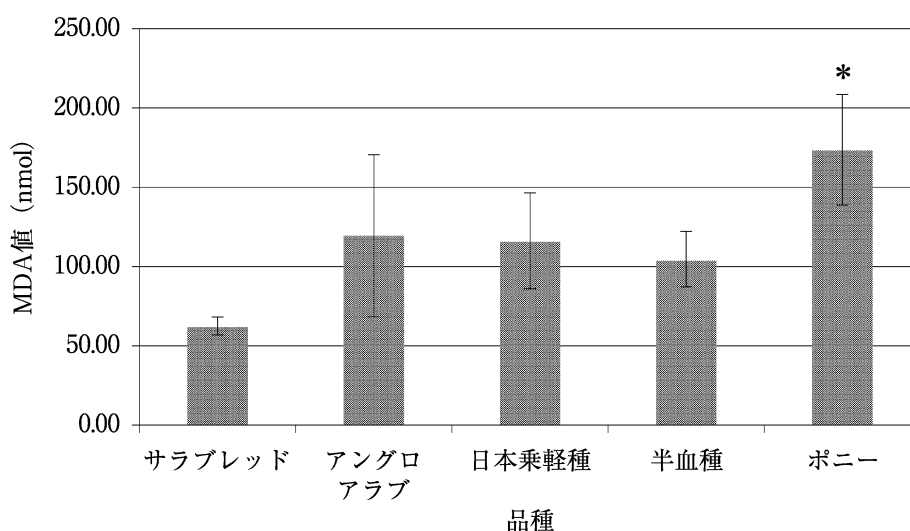


Fig. 5 Concentration of MDA in sera from different equine breed.

Each bar represents the average of concentrations of MDA with standard deviations. \* represents significant differences at  $p < 0.05$  in the concentration when compared with Thoroughbred horses and another breed horses.

いての具体的な報告はないが、一般的に競走馬のほうトレーニングなど強い運動負荷がかかっていることが予想される。また、競走馬は運動量以外に競走や輸送などが強いストレスとして働き[13]、このストレスがMDA値に影響する可能性も考えられた。これらの理由によって競走馬として使用されていた年齢に近い7~9歳群においてMDA値が高い値を示したことが考えられる。しかしながら、本研究で解析した試料では元競走馬とそうでない馬からの試料が混在しており、またその移行の時期も様々であった。また、競走馬と乗馬間でMDA値の直接的な比較はしていないので、これらの点についての検討が今後必要と考えられる。さらに、日常の運動量の差異もMDA値に影響する要因であることが考えられる。本研究で解析に用いた試料では直前の運動負荷の影響を除くため、試料採取の前には激しい運動を課していない。馬では10分程度の軽い運動では1時間後には血清中の脂質過酸化量は運動前の数値に戻ることが報告されているが[2, 3, 28]、レースのような激しい運動後には血清脂質過酸化量の増加は4日後でも残ることが報告されている[13]。酸化ストレス負荷は運動の強さ、運動の期間、環境条件(温度や湿度)などによっても変化することが示されている。乗馬において日常の運動負荷の程度は不明であるが、若い年代の馬の方が一般的には高齢馬と比較して運動量が多いことが予想され、通常の運動量の差異がMDA値に影響することも考えられる。

サラブレッドのセン馬と牝馬間で平均MDA値

に違いは見られなかった(図4)。この結果はサラブレッドにおいて血清脂質過酸化量に性差は見られないという以前の報告と一致した[17]。しかし、ヒト[1, 19, 32]では男性の方が女性よりも、ラット[16]でも雄が雌よりも脂質過酸化量が高いことが報告されている。また、抗酸化酵素であるグルタチオンペルオキシターゼやグルタチオン-S-トランスフェラーゼなどの活性についても性差が存在することが報告されている[27]。今回の結果では牝馬群のほうがセン馬群よりもMDA値がやや高い値を示したが、有意差はなかった。セン馬群、牝馬群の平均年齢はそれぞれ11.7歳と13.2歳であり、牝の年齢が高いため、数値に多少は影響していることも考えられる。

品種間の血清MDA値の比較ではポニー、アングロアラブ、半血種、日本乗軽種はサラブレッドよりも高い平均値を示し、ポニーとサラブレッド間では有意差が認められた(図5)。今回解析に用いた血清試料ではサラブレッドと比較して他の品種では頭数が少なく、年齢分布や平均年齢が相互に異なる(材料の項に記載)。しかしながら、サラブレッドでは全ての年齢群でMDA値の平均値が100nmol以下である(図3)ことから、他の4品種に比べて低い数値を有すると考えられる。重種馬と比較してサラブレッドの血清脂質過酸化量が有意に高いことが以前に報告されている[16, 17]。一般に体の小さい動物の方が高い酸化ストレスに曝されていると考えられているが、マウス、ラット、ハムスター、ウサギ、ミニブタ、サル6種の実験動物での比較ではミニ

ブタ<ウサギ<ラット<サル<ハムスター<マウスの順で血清脂質過酸化量が高く、単純に体重と脂質過酸化量は相関しないことが示されている [26]。一方、肝臓と肺での脂質過酸化量を比較した場合ではウサギ<モルモット<ラット<ハムスター<マウスの順に増加し、体の大きさと脂質過酸化量は逆相関するという報告もなされている [27]。アングロアラブ、日本乗軽種などはサラブレッドと同じく軽種馬に分類され、体格もサラブレッドとほぼ同じであるが、今回の結果からはサラブレッド以外の品種ではサラブレッドよりも高い血清脂質過酸化量を有する傾向のあることが示された。Kuwabara ら [16] はサラブレッドの SOD 活性は重種馬よりも高いことを報告している。SOD は抗酸化酵素であり、一般的に抗酸化能が高いほど、脂質過酸化量は低くなるといわれている。トレーニングは動物の抗酸化能を増加すると考えられており、de Moffarts ら [4] はトレーニングによる酸素消費量の増加に伴い、赤血球の SOD 活性が増加することを示している。サラブレッドはその使役の目的から激しい運動負荷に耐えなければならず、サラブレッド以外の品種よりも高い抗酸化能を有していることが考えられ、結果的に脂質過酸化量が低値を示したのかもしれない。しかしながら、今回の実験ではそれぞれの品種の SOD 活性を測定していないので、品種によってその活性に差が有るか否かについては明らかではない。生体内の酸化ストレスの程度は酸化と抗酸化に係る要因の平衡が重要であると考えられている。この平衡状態は運動、年齢、ストレス、種差、性差、飼料、薬物、疾病など様々な因子の相互作用によって変動する。本研究は今までほとんど検討されていなかった乗馬における酸化ストレス状態を血清過酸化脂質量を基に解析し、今後乗馬の健康に対する酸化ストレスの影響を検討する上で、重要な基礎的知見を提供したと考えられる。

## V. 謝 辞

本研究を実施する上で血清試料の採取にご協力いただいた 2 乗馬クラブの関係者ならびに大和高原動物診療所の先生方に深謝致します。

## VI. 引用文献

- 阿部裕, 末松俊彦, 鎌田武信, 佐藤伸紘, 松村高勝 1978. 肝疾患と過酸化脂質. 最新医学 33: 708-714.
- Brady, P.S., Ku, P.K. and Ullrey, D.E. 1978. Lack of effect of selenium supplementation on the response of equine erythrocyte glutathione system and plasma enzymes to exercise. *J. Anim. Sci.* 47: 492-496.
- Brady, P.S., Shelle, J.E. and Ullrey, D.E. 1977. Rapid response of the equine erythrocyte glutathione reduce to exercise. *Am. J. Vet. Res.* 38: 1045-1047.
- de Moffarts, B., Kirschvink, N., Art, T., Pincemail, J., Michaux, C., Cayeux, L., Defraigne, J.O. and Lekeux, P. 2004. Impact of training and exercise intensity on blood antioxidant markers in healthy Standardbred horses. *Equine Comp. Exercise Physiol.* 1: 1-11.
- Dillard, C.J., Litov, R.E., Savin, W.M., Dumelin, E.E. and Tappel, A.L. 1978. Effects of exercise, vitamin E, and ozone on pulmonary function and lipid peroxidation. *J. Appl. Physiol.* 45: 927-932.
- Esterbauer, H., Schaur, R.J. and Zollner, H. 1991. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malondialdehyde and related aldehydes. *Free Radic. Biol. Med.* 11: 81-128.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. 1999. *Free radicals in biology and medicine.* third ed. Oxford University Press, New York.
- Harman, D. 1956. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J. Gerontol.* 11: 298-300.
- Harman, D. 1986. *Free radicals, aging, and degenerative diseases.* ed. by Johnson, J.E. Alan. R.L. Inc., New York.
- Hargreaves, B.J., Kronfeld, D.S., Waldon, J. N., Lopes, M.A., Gay, L.S., Saker, K.E., Cooper, W.L., Sklan, D.J. and Harris, P.A. 2002. Antioxidant status and muscle cell leakage during endurance exercise. *Equine Vet. J.* 34 (Suppl.): 116-121.
- 秦暇哉 1980. 低酸素と動脈硬化. pp 167-183. 虚血と細胞障害 — 活性酸素, フリーラジカル. 医歯薬出版. 東京.
- 秦暇哉 1982. 過酸化脂質 — とくに動脈硬化疾患における臨床的意義について. 脂質生化学研究. 24: 271-274.
- 石田信繁, 帆保誠二, 高橋敏之, 南保泰雄, 佐藤文夫, 長谷川晃久, 向山明孝 1996. 競走馬

- の運動および輸送負荷時における酸化ストレス. 馬の科学, 36: 12-15.
14. 金田尚志, 植田信夫編 1983. 過酸化脂質実験法. 医歯薬出版. 東京.
  15. Kirshvink, N., Moffarts, de B. and Lekeux, P. 2008. The oxidant/antioxidant equilibrium in horses. *Vet. J.* 177: 178-191.
  16. Kuwabara, M., Inukai, N., Inanami, O., Miyake, Y., Tsunoda, N., Maki, Y. and Sato, F. 1996. Lipid peroxide levels and superoxide-scavenging abilities of sera obtained from hotbred (Thoroughbred) horses. *J. Vet. Med. Sci.* 58: 97-101.
  17. 桑原幹典, 犬養尚子, 稲波修, 三宅陽一, 角田修男, 牧与志幸, 佐藤文昭 1996. 軽種馬(サラブレッド)血清中の脂質過酸化量とスーパーオキシド除去活性. 磁気共鳴と医学, 7: 141-145.
  18. Mills, P.C., Smith, N.C., Casas, I., Harris, P., Harris, R.C. and Marlin, D.J. 1996. Effects of exercise and environmental stress on indices of oxidative stress and iron homeostasis during exercise in the horse. *Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Phys.* 74: 60-66.
  19. 内藤周幸, 山中健 1978. 動脈硬化性疾患と過酸化脂質. 日本老年医学雑誌, 15: 187-191.
  20. Nakakimura, H., Kakimoto, M., Wada, S. and Mizuno, K. 1980. Studies on lipid peroxidation in biological systems. 1. Effects of various factors on lipid peroxidation level in blood. *Chem. Pharm. Bull.* 28: 2101-2104.
  21. 大柳善彦 1989. 活性酸素と病気 pp. 41-42. 老化と過酸化脂質およびSOD. 化学同人. 京都.
  22. Reiss, U. and Gershon, D. 1976. Comparison of cytoplasmic superoxide dismutase in liver, heart and brain of aging rats and mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 73: 255-62.
  23. Salminen, A. and Vihko, V. 1998. Lipid peroxidation in exercise myopathy. *Exp. Mol. Pathol.*, 38: 380-388.
  24. Steinhagen-Thiessen, E., Reznick, A.Z. and Ringe, J.-D. 1984. Age dependent variations in cardiac and skeletal muscle during short and long term treadmill-running of mice. *Heart J. Eur.* 5 (Suppl. E): 27-30.
  25. 堤達也, 青木和江, 後藤芳夫, 喜田尚武 1983. 運動筋で低酸素状態が考えられる断続的運動時の血漿過酸化脂質及び的中性脂質の動態. 体力研究, 54: 24-37.
  26. 内山充, 松尾光芳, 嵯峨井勝 1985. 過酸化脂質と生体. pp. 148-149. 種差および系統差. 学会出版センター. 東京.
  27. 内山充, 松尾光芳, 嵯峨井勝 1985. 過酸化脂質と生体. pp. 182-187. 性差. 学会出版センター. 東京.
  28. Ullrey, D.E., Shelle, J.E. and Brady, P.S. 1977. Rapid response of the equine erythrocyte glutathione peroxidase system to exercise. *Fed. Proc.* 36: 1095.
  29. Williams, C.A., Kronfeld, D.S., Hess, T.M., Saker, K.E., Waldron, J.E., Crandell, K.M. and Harris, P.A. 2005. Comparison of oxidative stress and antioxidant status in endurance horses in three 80 km races. *Equine Comp. Exerc. Physiol.* 2: 153-157.
  30. 八木國夫, 大石誠子, 大川博 1981. 過酸化脂質と疾患. 医学書院. 東京.
  31. Yosikawa, M. and Hirai, S. 1967. Lipid peroxidation formation in the brain of aging rats. *J. Gerontol.* 22: 162-165.
  32. 吉見耕一, 赤松隆, 井上範江, 松村美枝子, 前田謙次 1978. 血清過酸化脂質測定法ならびに健常者の対照値についての検討. 日老医誌, 15: 593-599.

## 要 約

過度の運動や年齢, 酸素消費量などは酸化ラジカルによる損傷の生成に影響することが示されている。競走馬は常にトレーニングが負荷されていることから乗馬よりも酸素消費量が多いと考えられている。過度の酸化物質の生成や抗酸化物質の不足は酸化ストレスを引き起こし, 結果として組織障害を誘発する。最近10年間に馬, 特に競走馬における酸化/抗酸化平衡について100以上の研究が公表されている。しかしながら, 乗馬についてはほとんど報告がない。また, サラブレッド以外の品種における酸化ストレス状態についてもほとんど報告がみられない。本研究は乗馬における酸化ストレスに対する年齢, 品種, 性別の影響を解析し, 乗馬の酸化ストレスについて検討する目的で, 血清中の過酸化脂質量の解析を行った。

過酸化脂質の測定のための血清は東京都と宮城県の2箇所の乗馬クラブにご協力を頂いて採取した。解析に用いた乗馬の品種は日本乗軽種6頭, 半血種

4頭, アングロアラブ5頭, ポニー3頭及びサラブレッド81頭であった。サラブレッドは年齢で4~6, 7~9, 10~12, 13~15, 16歳以上に分け, また, 性別はセン馬と牝馬に分けた。他の品種は頭数が少ないので全ての年齢を一括して対象とし, 血清過酸化脂質量はTBARS法を用いてマロンジアルデヒド量として測定した。サラブレッドの血清脂質過酸化量は7~9歳まで高い値を示した後, 10~12歳で一旦有意に低値を示し, その後加齢に伴って上昇していく傾向を示した。血清脂質過酸化量に性差は認

められなかった。ポニーはサラブレッドよりも有意に高い血清脂質過酸化量を示し, 半血種, 日本乗軽種, アングロアラブもサラブレッドよりも高い値を示す傾向が見られた。

本研究は今までほとんど検討されていなかった乗馬における酸化ストレスについて血清過酸化脂質量を基に解析し, 乗馬の健康に対する酸化ストレスの影響を検討するために必要な年齢, 性, 品種と酸化ストレスとの関係についての基礎的データを提供した。

#### Abstract

Evidence indicating that age, severe physical exercise and oxygen consumption rate affect production of damage due to oxygen radicals has been provided by observation of tissue damage and measurement of products of lipid peroxidation in humans and animals. Racehorses are thought to consume much more oxygen than riding horses because of their constant physical exercise. Excessive oxidant generation or antioxidant insufficiency can lead to oxidative stress, resulting in tissue damage. During the past decade, more than 100 studies on the oxidant/antioxidant equilibrium in equine species, especially in racehorses, have been published. However, the status of oxidative stress in riding horses remains unknown. In the present study, lipid peroxide levels in sera from riding horses were measured as a marker of oxidative stress. Levels of lipid peroxide (malondialdehyde) in sera from riding horses (81 Thoroughbred, 5 Anglo-Arabian, 6 Japanese lightbred, 4 Halfbred and 3 Pony) were measured as thiobarbituric acid-reactive substances. The serum samples were kindly provided by two horse riding clubs in Tokyo and Miyagi. Lipid peroxide levels in sera from Thoroughbred horses were significantly higher at 7 to 9 years of age than those at 10 to 12 years of age. There were no significant differences in the levels of serum lipid peroxide between males and females. The levels of lipid peroxide in sera from ponies were significantly higher than those from Thoroughbred horses. The levels of lipid peroxide in sera from Anglo-Arabian, Japanese lightbred and Halfbred horses were also higher than those in sera from Thoroughbred horses.