

血中逸脱酵素活性値を指標とした 運動処方確立のための基礎的研究

東京学芸大学 竹 倉 宏 明

(共同研究者) 鳴門教育大学 田 中 弘 之

An Experimental Study of Enzymes Activities in Tissue and Serum Before and After Running

by

Hiroaki Takekura

*Exercise Physiology, Department
Health and Physical Education,
Tokyo Gakugei University*

Hiroyuki Tanaka

Naruto University of Education

ABSTRACT

In order to apply for the exercise prescriptions, enzymes (CK, LDH, MDH, CK-MB, α -HBDH, GOT, GPT) activities in venous and arterial blood and various tissues (Heart, Liver, Skeletal Muscle) were analysed in wistar strain male albino rats before and after treadmill running.

The results were summarized as follows;

CK, LDH and MDH activities were showed the two peaks on immediately and 24 hours after running in skeletal muscle and both bloods. These enzymes activities were higher in arterial blood than in venous blood during and immediately after running.

GOT, GPT and α -HBDH activities were highest in immediately or 1 hour after running in heart and both bloods.

CK-MB activities in heart and both bloods were highest in 6 hours after running.

These results were suggested that various enzymes activities in arterial blood were reflected of each tissue peculiarly and validited for application for exercise prescriptions.

要 旨

血中逸脱酵素活性値を指標とした運動処方確立するための基礎的資料を得ることを目的として、Wistar 系雄性ラットを対象とし、ほぼ 100% $\dot{V}O_2$ max に相当するランニングを行なわせた際の組織中、動静脈血清中における各種酵素活性値の消長を継時的に検討した。

その結果、動静脈血清中酵素活性値の消長は、運動に伴う組織の器質的障害に起因する逸脱現象と考えられる上昇を含み、二相性の変動を示す骨格筋由来の CK, LDH, MDH と、組織内の代謝亢進により一過性の上昇を示す CK-MB, α -HBDH, GOT, GPT の 2 種類に分けて考えることができた。両者の血中への逸脱の機序が異なるか否かは明らかではないが、血中逸脱酵素活性値は極めて特異的に運動に対する組織の負担度を反映していることから、運動処方に活用することが可能かつ有益であると思われる。

緒 言

従来、臓器・組織の器質的障害により、顕著な上昇を示すことから、臨床医学的診断の一指標とされてきた血中逸脱酵素活性値は、このような疾病状態のみならず、運動¹⁾、食事¹³⁾、ストレス²⁴⁾等の要因によっても上昇することが知られている。そして、運動に対する生体の負担度をこの血中逸脱酵素活性値の上昇の程度から判断し、運動処方へ応用しようとする試みが多数報告されている^{19, 21, 30)}。

井川ら¹¹⁾は血清 GPT 活性値は短時間最激運動により、また血清 CK 活性値は長時間運動によりそれぞれ顕著に変動すると報告している。

塩田ら²⁷⁾は血中逸脱酵素活性値の変動に対する運動の影響を検討した結果、鍛練者は未鍛練者に比して運動により静脈血中において、上昇した酵素活性値が安静値へと回復する時間が早いと報告

している。

しかし、これらの報告はいずれも静脈血中の逸脱酵素活性値の動態を指標としているが、本来、細胞内における種々の代謝反応を触媒する酵素が、運動の影響によって静脈血中に逸脱する機序については不明な点が多く^{2, 16)}、これらの逸脱酵素活性値の消長が運動に対する組織の負担度を忠実に反映しているか否かは明らかではない。

また運動処方に一般的に用いられている CK は骨格筋、心筋、脳に、LDH は骨格筋、肝臓、心筋というように、その由来組織が複数にわたっており、運動による静脈血中逸脱酵素活性値の上昇が、生体内のいかなる組織における負担度を反映しているかも明らかではない。

そこで本研究においては、ランニングを行なわせたラットにおける種々の組織ならびに動・静脈血中における酵素活性値の消長を継時的に追求し比較検討することにより、静脈血中逸脱酵素活性値を指標とする運動処方確立のための基礎的資料を得ることを目的とした。

方 法

実験動物には生後 20 週齢の Wistar 系雄性ラット 40 匹を用いた。安静群 5 匹を除く運動群は小動物用トレッドミル（トキワ科学社製）を用いて、毎分 35m の速度、傾斜 0 度で 1 時間の連続ランニングを行なわせた。そして各群 5 匹ずつ、運動直後、運動終了 1 時間後、6 時間後、24 時間後、48 時間後、72 時間後に開腹し、運動開始から 30 分経過時に開腹した 5 匹とを合わせて、合計 8 群について経時的变化を検討した。

採血は腹部大動脈ならびに腹部大静脈より行ない冷却遠心分離機により採取した血清から CK 活性値（以下 CK）、LDH 活性値（以下 LDH）、GOT 活性値（以下 GOT）、GPT 活性値（以下 GPT）、MDH 活性値（以下 MDH）、 α -HBDH 活性値（以下 α -HBDH）の定量分析を UV 法³¹⁾

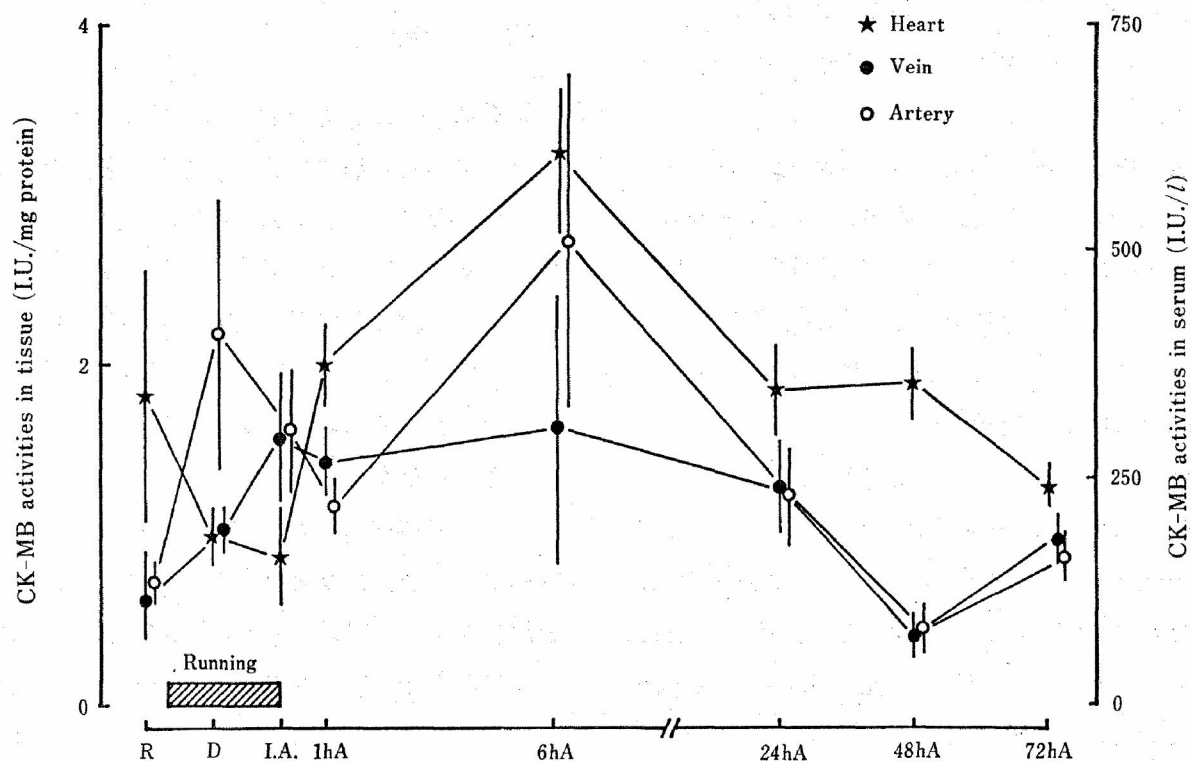


図2 Changes in Creatine Kinase MB (CK-MB) activities in Heart and each serum before and after running. Values are means $\pm$ standard deviations.

運動終了1時間後にその差が有意となった ($P < 0.01$)。動脈血中 CK-MB/CK は運動直後に安静時に比して有意に低下し ($P < 0.01$)、以後顕著な変動を示さなかった。静脈血中 CK-MB/CK は運動直後に比して運動終了24時間後に有意に高値を示し ($P < 0.05$)、以後顕著な変化を認めなかった。動静脈差については、静脈血中 CK-MB/CK が高値を示す傾向が認められたが、その差はいずれの時点においても有意ではなかった (図3)。

組織ならびに動静脈血中 LDH は EDL ならびに動脈血中において運動直後に安静時に比して有意に上昇した ($P < 0.01$)。また運動終了1時間後に比して6時間後に有意に低下した ($P < 0.05$) 後、運動終了24時間後に再び上昇する傾向が認められた。動静脈差については、運動中、運動直後に静脈血中 LDH が有意に高値を示した ($P < 0.01$, $P < 0.05$) 以外に有意な差は認められなかった (図4)。

心筋 α -HBDH は運動終了1時間後に安静時に比して有意に高値を示し ($P < 0.01$)、以後漸時低下した。静脈血中 α -HBDH は運動中、動脈血中 α -HBDH は運動終了1時間後にそれぞれ最高値を示した。動静脈差については、運動中に静脈血中 α -HBDH が有意に高値を示した ($P < 0.01$) 以外、有意な差は認められなかった (図5)。

心筋 α -HBDH/LDH は運動終了1時間後に最高値を示し、以後運動終了24時間後まで漸時低下した。動静脈血 α -HBDH/LDH は、運動終了6時間後に最高値を示した。動静脈差についてはいずれの時点においても有意な差は認められなかった (図6)。

組織ならびに動静脈血中 MDH は心臓を除き運動直後に最高値を示し、以後漸時低下した。

動静脈差については、いずれの時点においても静脈血中 MDH が高値を示す傾向が認められたが、有意な差ではなかった (図7)。

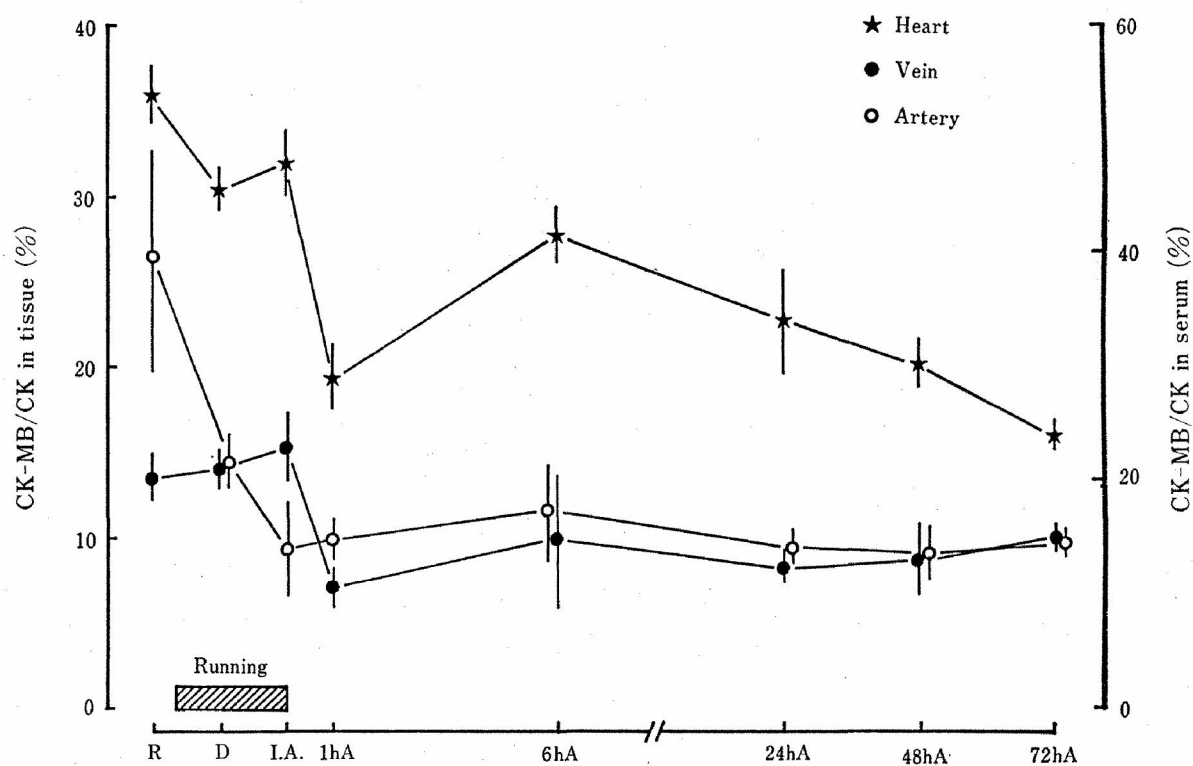


Fig 3 Changes in CK-MB activities/CK activities (CK-MB/CK) in Heart and each serum before and after running. Values are means $\pm$ standard deviations.

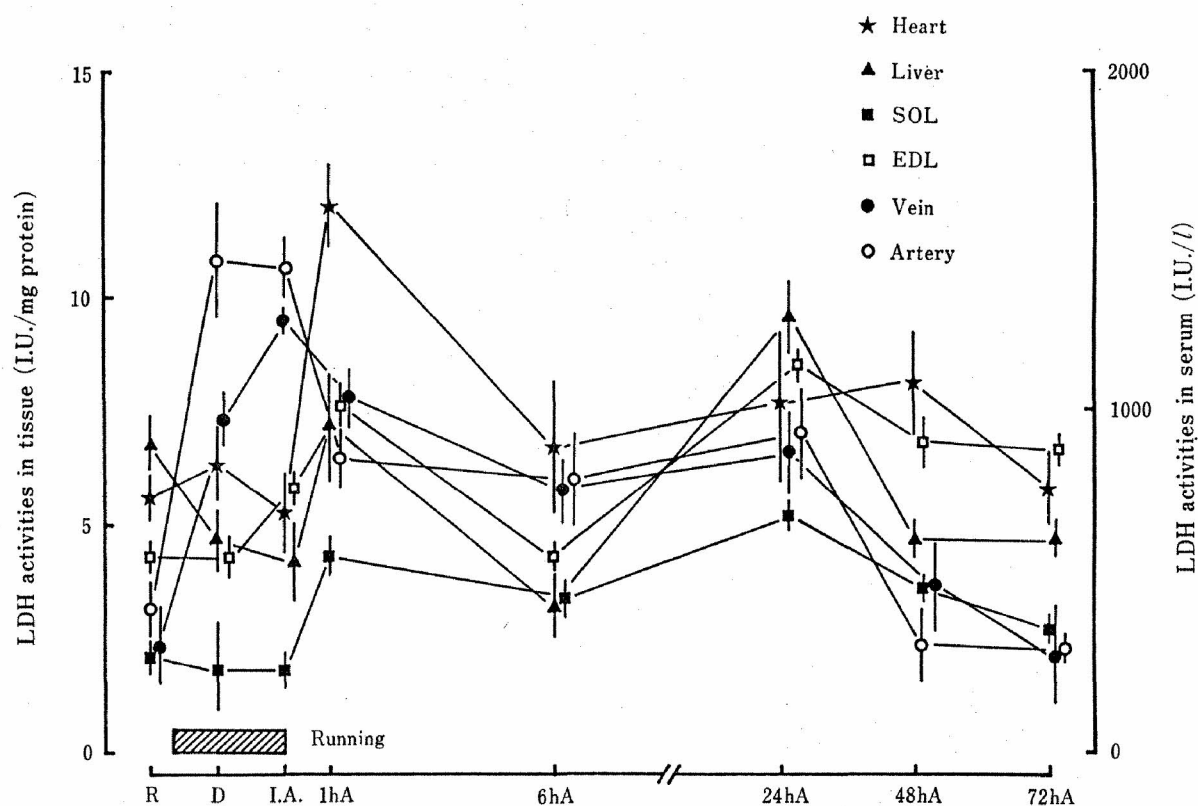


Fig 4 Changes in Lactate Dehydrogenase (LDH) activities in each tissue and serum before and after running. Values are means $\pm$ standard deviations.

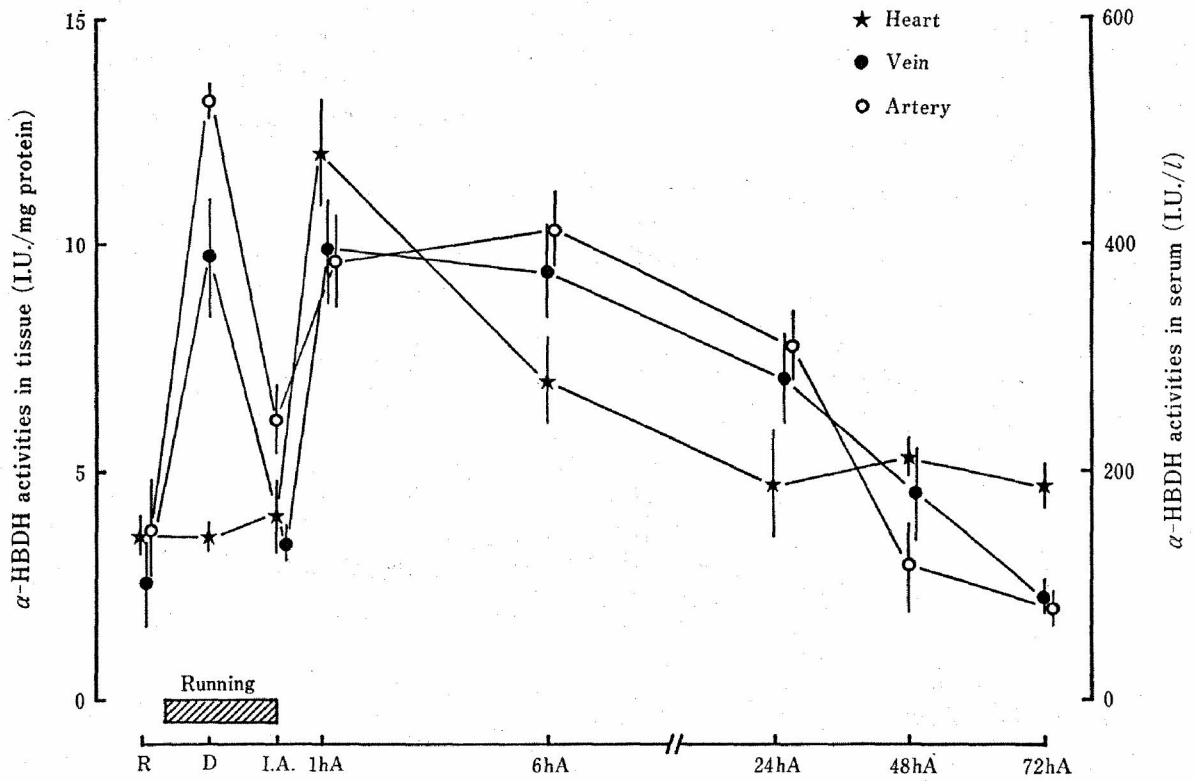


图 5 Changes in α -Hydroxybutyrate Dehydrogenase (α -HBDH) activities in Heart and each serum before and after running. Values are means $\pm$ standard deviations.

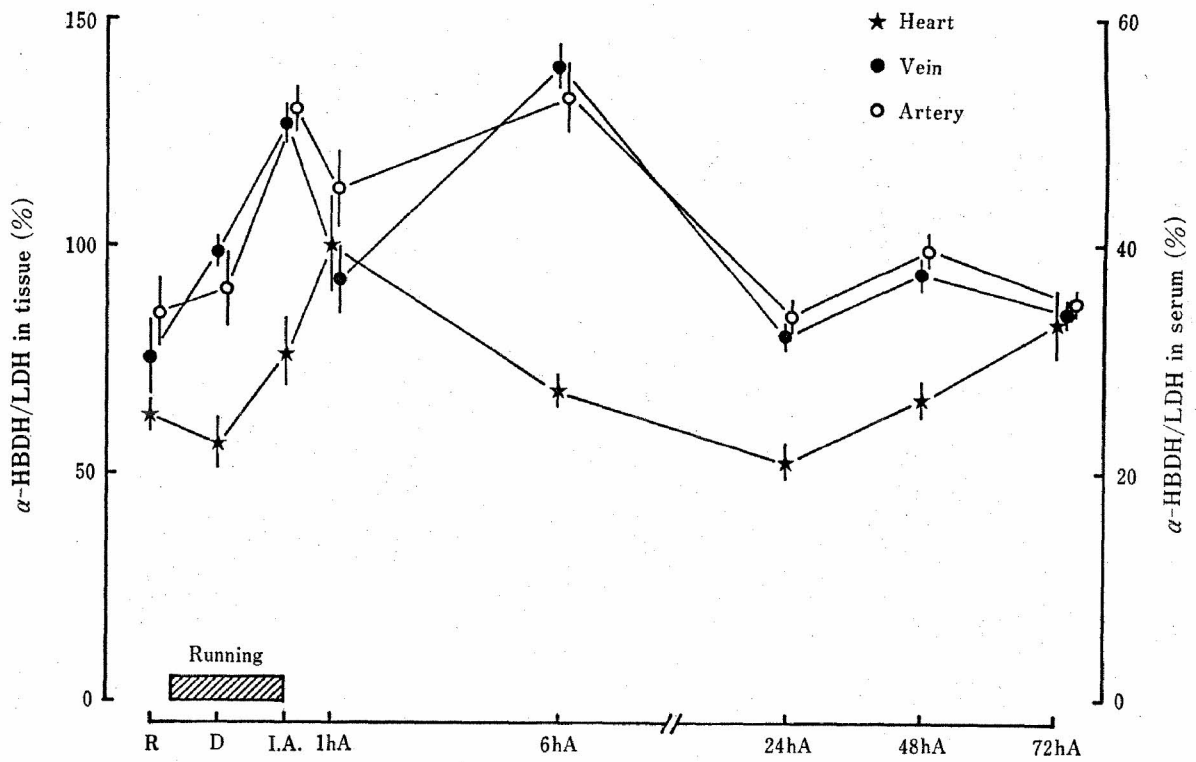


图 6 Changes in α -HBDH activities/LDH activities (α -HBDH/LDH) in Heart and each serum before and after running. Values are means $\pm$ standard deviations.

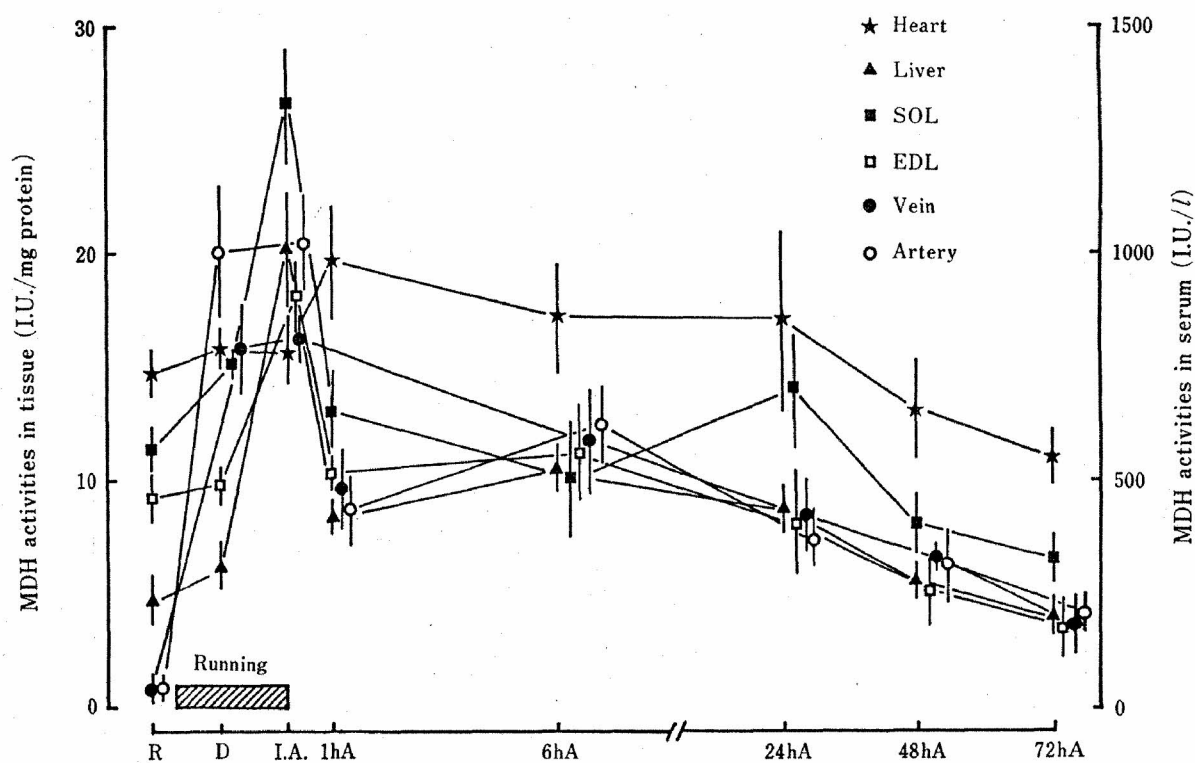


Fig 7 Changes in Malate Dehydrogenase (MDH) activities in each tissue and serum before and after running. Values are means $\pm$ standard deviations.

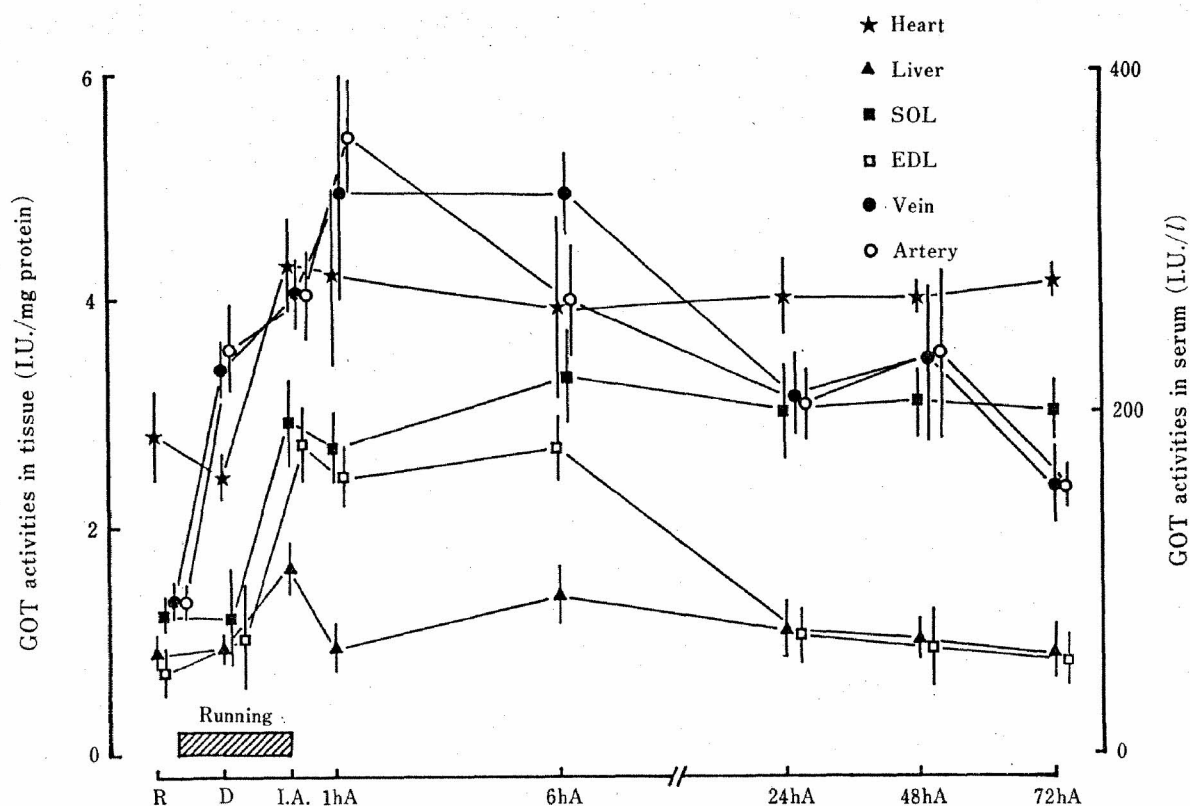


Fig 8 Changes in Glutamate Oxaloacetate Transaminase (GOT) activities in each tissue and serum before and after running. Values are means $\pm$ standard deviations.

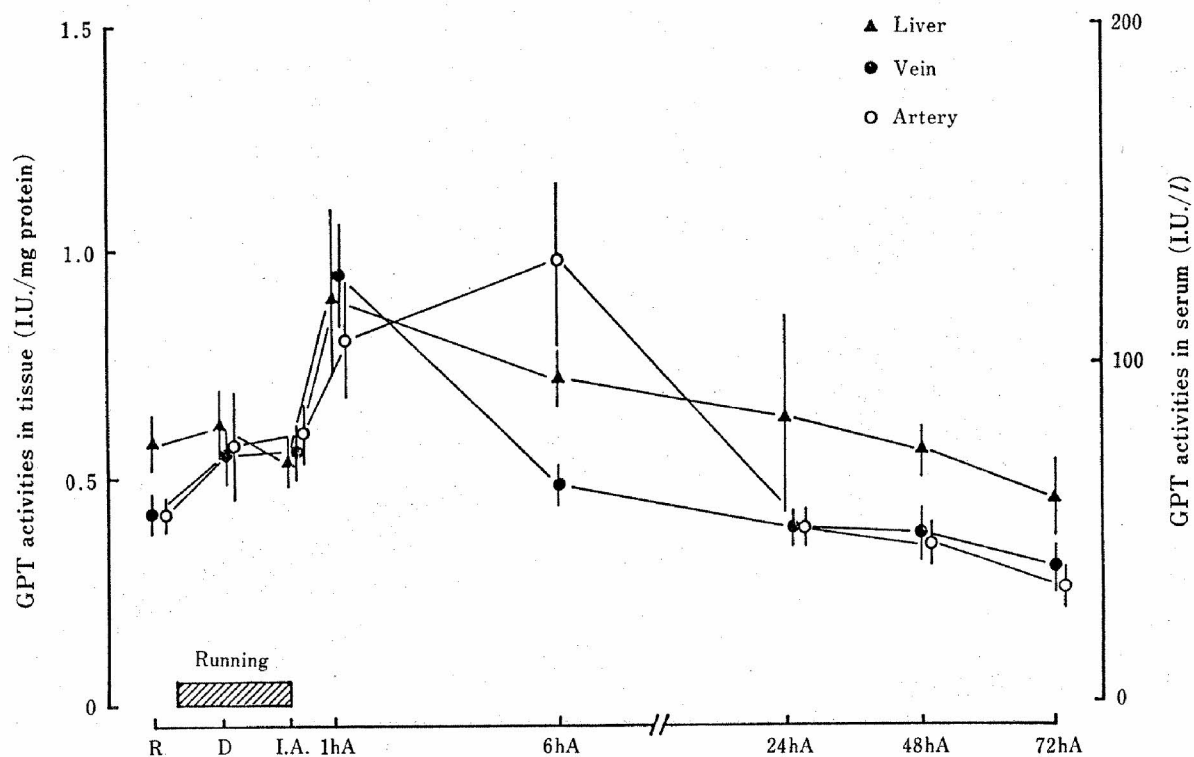


図9 Changes in Glutamate Pyruvate Transaminase (GPT) activities in Liver and each serum before and after running. Values are means $\pm$ standard deviations.

組織中 GOT は、心臓、SOL を除き運動に伴い上昇し、運動直後に最高値を示した。動静脈血中 GOT は運動に伴い上昇し、運動終了1時間後に最高値を示し、以後漸時低下した。動静脈差については、いずれの時点においても有意な差は認められなかった (図8)。

肝臓 GPT は運動終了1時間後に安静時に比して有意に高値を示した ($P < 0.05$)、以後漸時低下した。動静脈血中 GPT も運動に伴い上昇し、動脈血中 GPT は運動終了1時間後、静脈血中 GPT は運動終了6時間後にそれぞれ最高値を示した。動静脈差については運動終了6時間後に静脈血中 GPT が有意に高値を示した ($P < 0.01$) 以外、有意な差は認められなかった (図9)。

考 察

本実験においてラットに行なわせた毎分35mの速度、傾斜0度における1時間の連続ランニング

は Shepherd and Gollnick²⁰⁾ の報告によれば、ほぼ100% $\dot{V}O_2 \max$ に相当する。したがって本実験におけるランニングはほぼ最大努力を要する運動をラットに負荷したと考えられる。

本実験において運動中から認められた動静脈血中 CK と組織中 CK の相反した動態は明らかに組織より血中への逸脱現象を反映しているものと思われる。また CK は動・静脈血中ともに運動直後と運動終了24時間後の2点にピークを認めた。運動直後のピークは組織内における代謝亢進の結果、hypoxic な状態により細胞膜の透過性の亢進した結果としての逸脱現象と考えることができる。後藤ら⁶⁾ の報告する血中乳酸の上昇と血清逸脱酵素の上昇に正の相関が認められるという結果は、本研究結果を考察するのに貴重であると思われる。

ラット骨格筋の受傷後の回復過程を組織化学的に検討した木下ら¹⁴⁾ は、受傷24時間後の時点で

fibroblast が全受傷部を占めると報告している。本実験におけるランニングによって骨格筋細胞の組織的破壊が起こったと考えるならば、第2のピークは明らかに筋の損傷に伴うものであると思われる。LDH, MDH の動態でも CK 同様に運動終了24時間後に第2のピークが認められたが、鈴木²⁹⁾が報告するようにそのアイソザイムの消長から静脈血中 LDH の運動による上昇はその大部分が骨格筋に由来するとすれば、これらの酵素の血中への逸脱は同様の形態であると思われる。

井川ら¹²⁾は同機序の考察に運動後の筋痛を挙げているが、野坂ら²⁰⁾の報告によれば、血清 CK の上昇の程度と筋痛の間には相関が認められないことから、筋痛と骨格筋の損傷に伴う、酵素逸脱現象は分けて考察する必要があると思われる。

α -HBDH は LDH_{1,2} の消長と比例関係にあることが報告されており⁴⁾、CK-MB とともに運動に対する心筋のストレスの一指標と考えられている¹³⁾。

α -HBDH ならびに LDH は動静脈血中において運動中に安静時に比して有意に高値を示し、運動直後に α -HBDH のみが運動中に比して有意に低下した。これは、LDH の上昇が運動当初は LDH_{1,2} を中心とした心筋由来であり、運動継続に従い、LDH₅ を中心とした骨格筋由来へとその反映組織が移行していく可能性が考えられる。しかし、CK-MB には必ずしも α -HBDH と同様の上昇が認められず、本研究において両者の間に相関関係が認められないことは、同じ心筋由来の酵素であっても血中への逸脱の機序には相違があり、結果的に組織に対する負担の反映に差異がある可能性が示唆された。

CK, LDH, α -HBDH, CK-MB はいずれも運動中、運動直後に静脈血中が動脈血中に比して高値を示す傾向が認められた。この結果は、組織からの酵素逸脱の機序の一つのモデルとして考えられている組織からリンパ液、動脈血中、静脈血中

の順に酵素が逸脱するという Lindena et al.¹⁵⁾ のモデルだけでは説明できず、運動に伴う酵素逸脱現象のメカニズムの複雑性を示唆するものである。

GOT は肝臓を中心として骨格筋、心臓、腎臓等、生体内の多くの組織に存在しているのに対し、GPT はほぼ肝臓に局在している酵素である。

Remmers and Kaljot²⁸⁾は GOT は年齢、体力、骨格筋量とは無関係に運動強度に依存して上昇すると報告している。また CK, LDH, MDH 等の骨格筋由来の酵素は、鍛練者の上昇の程度が未鍛練者に比して小さいという報告⁸⁾をふまえて今回の結果を考察すると、動静脈血中の動態が心臓の動態と相反していること、運動終了24時間後のピークが認められないことなどから、GOT は骨格筋よりもむしろ心臓に対する負担を反映しているのではないと思われる。

運動に伴う GPT の上昇は、筋肉運動による肝血流量の減少に伴う anoxia³²⁾の可能性が指摘されているが、本研究における上昇もほぼ同様の機序によるものと思われる。

運動に伴う血中酵素活性値の上昇には細胞膜透過性の亢進⁹⁾、anoxia⁵⁾、カテコールアミンの増加¹⁰⁾、血漿 K⁺ の増加⁷⁾等が関与している可能性が指摘されている。しかし、血中酵素活性値の運動に伴う消長を長期間にわたって検討した研究^{25,30)}によれば、血中酵素活性値のすべてが必ずしも運動強度に比例して上昇するわけではないこと、分子量の小さな酵素が先に血中に増加するわけではないこと等が指摘されており、上記の要因のみでは必ずしも酵素逸脱の機序を説明できない。酵素自体の三次構造の特異的な変化の可能性も考慮する必要があると思われ、さらに詳細な検討が必要であると思われる。

本研究においては血中逸脱酵素の上昇のパターンを2種類に分けて考察することができた。すな

わち運動に伴う組織の損傷に起因する上昇を含み二相性の変動を示す酵素と組織の代謝亢進により一過性の上昇を示す酵素である。両者の血中への逸脱の機序が異なるか否かは明らかではないが、両者とも極めて特異的に運動に対する負担組織を反映していると思われる。

各個人に対して運動を処方する場合、糖尿病、高血圧等の疾病を有する病人と肥満等の必ずしも疾病とは言いきれない半健康人とを区別して運動強度、持続時間、頻度を考慮する必要があると思われる。

疾病を有する病人に処方する場合、運動に伴い上昇を示す血中逸脱酵素がいかなる組織を特異的に反映するかを忠実に把握することにより、運動による負担をかける必要のある組織、運動負担をかけてはならない組織を外的に判断することが可能となる。

その一方、いわゆる半健康人に処方する場合には、各種トレーニングにより血中逸脱酵素の上昇が抑制されることなどから、運動に対する身体各組織の適応の過程を血中逸脱酵素の上昇の程度から継時的に追求することが可能になると思われる。

結 語

血中逸脱酵素活性値を指標とした運動処方を確立する目的で、Wistar 系雄性ラットを対象として運動前後の組織中、動・静脈血清中における各種酵素活性値の消長を継時的に検討した結果、以下に示すような知見を得た。

1. CK, LDH, MDH は骨格筋において、運動直後、運動終了24時間後の2点においてピークを示す二相性の動態を示した。CK, LDH においては動・静脈血中においても同様の動態を認めた。動・静脈差については、運動中、運動直後に静脈血中が動脈血中に比して高値を示し、以後動脈血中が静脈血中に比して高値を示す傾向が認められ

た。

2. GOT, GPT, α -HBDH は各組織とも運動中もしくは運動終了直後、1時間後の時点において一過性のピークを認めた。動静脈血中においては、 α -HBDH は心臓と相反した動態を示し、GOT は組織と相反した動態を示した。CK-MB は心臓、動・静脈血中ともに運動6時間後において一過性の上昇を示した。

以上のような結果より、血中逸脱酵素活性値は極めて特異的に運動に対する負担組織を反映し、運動処方に活用することが可能かつ有益であると思われる。

参 考 文 献

- 1) 青木純一郎, 高岡郁夫; 持久性トレーニングによる血液の変化, 体育科学, **3** : 139—145 (1975)
- 2) Chark, C.L., Robison, A.K., Gnepp, D.R., Roberts, R. and Sobel, B.E.; Effects of lymphatic transport of enzyme on plasma Creatine Kinase time-activity curves after myocardial infraction in dogs, *Cir. Res.*, **43** : 162—169 (1978)
- 3) Eggstein, M. and Kreutz, F.H.; Vergleichende Untersuchungen zur Quantitativen Eiveis-lestimmungen im Liquor und Eiveissarmen Losungen, *Klin. Wochschr.*, **28** : 365—367 (1955)
- 4) Ellis, G., Sc, B. and Goldberg, D.M.; Serum α -Hydroxybutyrate dehydrogenase activity: An improved method, *Am. J. Cli. Path.*, **56** : 627—635 (1971)
- 5) Fowler, W.M., Gardner, G.W., Kazerunian, H.H. and Lauvstad, W.A.; The effect of exercise on serum enzymes, *Arch. Physical Med.*, **199** : 981—986 (1960)
- 6) 後藤芳雄, 青木和江, 喜多尚武, 提達也; 血中酵素レベルに及ぼす低酸素及び運動の影響, 第35回日本体力医学会大会予稿集, p. 68 (1980)
- 7) 後藤芳雄, 提達也; 運動負荷時の血清酵素並びに血清電解質の変動, 体力研究, **22** : 31—41 (1971)
- 8) Hansen, K.N., B-Krudsen, J., Brodthagen, U., Jodal, R. and Pauleu, P.E.; Muscle cell leak

- age due to long distance running, *Eur. J. Appl. Physiol.*, **48** : 177—188 (1982)
- 9) 平田文夫; スポーツ合宿訓練時の生体負担—主に Indocyanine Green Test を中心にして, 体力科学, **31** : 69—81 (1982)
 - 10) Highman, B. and Atland, P.D.; Serum enzyme rise after hypoxia and effect of autonomic blockade, *Am. J. Physiol.*, **199** : 981—986 (1960)
 - 11) 井川幸雄, 伊藤朗; 運動と血清酵素, 日本医師会雑誌, **71** : 695—705 (1974)
 - 12) 井川幸雄, 鈴木政登, 塩田正俊, 中島孝之; 運動後1週間にわたる血中生化学成分の動態からみた身体鍛練の影響, 体育科学, **9** : 237—248 (1981)
 - 13) 河合忠, 玄番昭夫, 屋形稔 編集; 異常値の出るメカニズム, 医学書院, p. 171, pp. 203—208 (1985)
 - 14) 木下真男, 川崎研一; 神経支配の筋線維再生に及ぼす影響, 臨床神経学雑誌, **18** : 16—21 (1978)
 - 15) Lindena, J., Kupper, W., Friedel, R. and Trautshold, I.; Lymphatic transport of cellular enzymes from muscle into the intravascular compartment, *Enzyme*, **24** : 120—131 (1979)
 - 16) Lindena, J., Kupper, W. and Trautshold, I.; Enzyme activities in thoracic duct lymph and plasma of anaesthetized, conscious resting and exercising dogs, *Eur. J. Appl. Physiol.*, **52** : 188—195 (1984)
 - 17) Lowry, O.H., Rowebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.; Protein measurement with the folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, **193** : 265—275 (1951)
 - 18) Neumeier, C.; Determination of creatine kinase isozyme MB activity in serum using immunological inhibition of creatine kinase M subunit activity, *Clin. Chem. Acta.*, **73** : 445—451 (1976)
 - 19) 野坂和則, 七類誠, 朽木勤, 文谷知明; 運動の影響の残存に関する生化学的検討, デサントスポーツ科学, **5** : 232—238 (1984)
 - 20) 野坂和則, 村松茂, 小川義雄, 木島晃, 田島東海男, 大高敏弘, 福留彰教, 新井重信, 木村昌彦; 筋痛と血清 CPK の関係について, 第40回日本体力医学会大会予稿集, p. 314 (1985)
 - 21) 小野三嗣, 倉田博; 中距離歩行を未鍛練成人に処方する場合の条件について, 体力科学, **22** : 161—172 (1973)
 - 22) Rej, R. and Horder, M.; GOT, GPT, *Meth. Enzymology*, **6** : 416—457 (1978)
 - 23) Remmers, A.R. and Kaljot, M.V.; Serum transaminase levels. Effect of strenuous and prolonged physical exercise on healthy young subjects, *J. Am. Med. Ass.*, **185** : 968—970 (1963)
 - 24) Rutter, W.J.; Enzyme variants and metabolic diversification, *Adv. Enzyme Regul.*, **1** : 39 (1963)
 - 25) Schwane, J.A., Johnsson, S.R., Vandenakkes, C.B. and Armstrong, R.B.; Delayed-onset muscular soreness and plasma CPK and LDH activities after downhill running, *Med. Sci. Sports*, **15** : 51—56 (1983)
 - 26) Shephred, R.E. and Gollnick, P.D.; Oxygen uptake of rats at different work intensities, *Pflugers Arch.*, **362** : 219—222 (1976)
 - 27) 塩田正俊, 井川幸雄, 小野三嗣, 石河利寛, 芝山秀太郎, 伊藤朗; 第7回持久走大会結果について—とくに持久走大会1週間の血液生化学成分の動態を中心に, 体力科学, **29** : 278 (1980)
 - 28) Suominen, H. and Hekkinen, E.; Enzyme activities in muscle and connective tissue of M. Vastus Lateralis in habitually training and sedentary 33 to 70-year old men, *Eur. J. Appl. Physiol.*, **34** : 249—254 (1975)
 - 29) 鈴木哲郎; 運動と乳酸脱水素酵素 イツ酵素, 体育の科学, **27** : 48—53 (1977)
 - 30) 渡辺雅之, 宮崎義憲, 長尾憲樹, 山本隆宣, 小野寺昇, 田中弘之, 原英喜, 渡辺勉, 外山寛, 西牧正行, 湊久美子, 小野三嗣; 長距離歩行の至適処方確立のための基礎的研究(その2), 体力科学, **33** : 217—228 (1984)
 - 31) 屋形稔, 杉田収; 酵素の診断学, 克誠堂出版, pp. 24—69, 127—143 (1984)
 - 32) 矢野徳郎, 小川新吉, 浅野勝己, 古田善伯, 藤牧利昭, 富原正二, 小原達朗, 伊藤朗, 井川幸雄; 中高年長距離走者のマラソン走行前後の血液成分, 体力科学, **31** : 155—162 (1982)