運動ストレスに関する研究

第1報 運動負荷における種々のヒト血漿 酵素活性の変動について

Studies on Physical Stress

Part 1 Effect of physical exercise on the activities of various
enzymes in human plasma

旭川医科大学衛生学教室

大野 秀樹・寺山 和幸・平田 史子・河原 林忠男

北海道大学医学部衛生学教室

渡部 秀雄・西野 守彦・高桑 栄松

北海道大学医学部付属癌研究施設生化学教室

谷 口 直 之

Hideki Ohno, Kazuyuki Terayama, Fumiko Hirata and Tadao Kawarabayashi

Department of Hygiene and Preventive Medicine, Asahikawa Medical College, Asahikawa

Hideo Watanabe, Morihiko Nishino and Eimatsu Takakuwa

Department of Hygiene and Preventive Medicine, Hokkaido University School of Medicine, Sapporo

Naoyuki Taniguchi

Biochemistry Laboratory, Cancer Institute, Hokkaido University School of Medicine, Sapporo

Eleven healthy untrained male students were studied, using a bicycle ergometer, 920 kpm/min for 30 min, to observe the effects of physical exercise upon the activities of various plasma enzymes. The enzymes examined were glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) isozyme (mitochondrial GOT, m-GOT and soluble GOT, s-GOT), glutamic pyruvic transaminase (GPT), malate dehydrogenase (MDH), lactate dehydrogenase (LDH) isozyme (heart-type, H and muscle type, M), α -hydroxybutyric acid dehydrogenase (α -HBDH), creatine phosphokinase (CPK) isozyme (MM-, MB- and BB-type), aldolase, α -glutamyl transpeptidase (γ -GT), isocitrate dehydrogenase (ICDH), ornithine carbamoyltransferase (OCT), and dopamine- β -hydroxylase (DBH). Blood samples were drawn at the beginning and end of the exercise periods and then 20 min, and 1, 6, 24 and 48 hours later.

The results obtained were as follows:

- 1) DBH activity increased after the end of exercise as well as during the 48-hour recovery period.
- 2) The activities of skeletal muscle enzymes—m-GOT, s-GOT, LDH-M, CPK-MM, MDH, and aldolase—increased after exercise ended. LDH-M activity tended to increase after the 48-hour recovery period.
- 3) Both cardiac muscle enzymes, α -HBDH and CPK-MB, increased in activity after exercise was terminated. LDH-H activity decreased after the 48-hour recovery period.
- 4) After exercise ended, the activities of hepatic enzymes, such as ICDH and GPT, tended to

increase. γ -GT increased and OCT activity decreased after the recovery period.

The results demonstrate that even enzymes from the same organ reacted differently to physical exercise. Moreover, the results suggest that the prolonged liver dysfunction can be associated with increased sympathetic nerve activity.

I. は じ め に

最近、ジョギングあるいはマラソンが非常なブームを呼んでいるように、レジャータイムの増加とともに運動への関心が急速に高まってきた。また、医学が治療医学から予防医学そして健康増進のための医学へと発展してきたところから、医学的見地に立っての運動とはいかなるものか、という問題への関心も高まっている。実際に、糖尿病や肥満症などの治療に運動療法が行われており、weight control に対する運動効果の研究が広く進められている¹⁾。しかしながら、健康増進を目的に行われているこれらの運動中あるいは後に、ときどき急性心筋梗塞などの重大な医学的問題が出現する場合があります²⁾、種々の血漿酵素活性を測定することがその診断、予後判定などに大きな貢献をしている。また、肥満症の場合にも運動療法により血清酵素の改善が認められている³⁾。一方、疾患を潜在的に有している者とは別に、健康な人間が運動負荷を受けた場合に血漿酵素活性がどのように変動するかを把握しておくことは、スポーツ医学上の問題のみならず、日常の健康管理の上からも意義のあることと考えられる。たとえば、臨床検査に際し、運動の影響が問題となるのは主として外来患者であり、来院までの行動の影響である。Ahlborg と Brohult⁴⁾ は運動負荷後、数種の血清酵素について2週間にわたって回復パターンを検索しているが、酵素によってはかなり長期間運動の影響が続くことを報告している。したがって、運動に関する問診を行い、運動の影響が消失した時点で採血する必要がある。

さて、運動負荷における酵素活性変動の生理的メカニズムに関しては、後藤と堤⁵⁾ が、(1)細胞の損傷による細胞からの放出、(2)細胞膜透過性の変化に伴う遊出、(3)細胞内における酵素産生の亢進または低下、(4)酵素の排泄分泌の障害、(5)流血中における酵素の活性化、ないし阻害物質による変化、と推測しているように種々の説があるが、いまだ明らかにされていない。しかし、酸素負債—hypoxia⁴⁻⁶⁾ やホルモン、特にカテコラミン^{5,7)} が関与している可能性が示唆されている。Haralambie⁸⁾ は運動負荷後の血清酵素上昇はほとんど骨格筋、心筋、肝臓由来であると考えているが、それらの臓器に存在している

酵素をはば広く、また、アイソザイムのレベルで検索している報告はごく少ない。

今回、骨格筋、心筋、肝臓に多く存在している血漿 glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) アイソザイム (mitochondrial GOT: m-GOT, soluble GOT: s-GOT), glutamic pyruvic transaminase (GPT), malate dehydrogenase (MDH) lactate dehydrogenase (LDH) アイソザイム (heart-type: H型, muscle-type: M型), α -hydroxybutyric acid dehydrogenase (α -HBDH), creatine phosphokinase (CPK) アイソザイム (MM 型, MB 型, BB 型), aldolase, γ -glutamyl transpeptidase (γ -GT), isocitrate dehydrogenase (ICDH) および ornithine carbamoyltransferase (OCT) の各酵素活性を測定し、運動負荷における変動を比較検討した。なお、運動負荷において有意な上昇を示すことが認められており⁹⁻¹¹⁾、著者ら^{12,13)} も肉体的運動負荷の一つの指標となることを報告している血漿 dopamine- β -hydroxylase (DBH) もあわせて測定して考察に加えた。

II. 実 験 方 法

1. 運動負荷テスト

被験者は特別なトレーニングを行っていない健康な男子学生11名で、年齢、身長、体重の mean $\pm$ S.E. はそれぞれ 20.5 $\pm$ 0.6 歳, 169.8 $\pm$ 1.2 cm および 59.9 $\pm$ 1.2 kg である。Ahlborg と Brohult⁴⁾ の条件と同様にすべての被験者に実験1週間前より実験期間中は飲酒および特別な運動を禁止させた。実験当日、被験者は約12時間の絶食状態で午前9時に来室し、一定温度 (20~21℃) に保たれた実験室に30分間安静に臥床させた後、自転車エルゴメーター (Monark, Sweden) による肉体的負荷試験を行った。運動負荷テストは 150 W (920 kpm/min), 30分間の条件で行われ、その後、60分間仰臥位にて安静状態を保った。運動負荷前・後、負荷終了後安静20分、60分後および6, 24, 48時間後に肘静脈よりヘパリン採血し、各酵素活性とヘマトクリットの測定に供した。6, 24, 48時間後の採血も負荷前と同様に30分間安静に臥床させた後行った。同時に、血圧、心拍数を測定した。なお、各検体は-80℃で凍結保存し、数日以内に日立分光光度計 624 型を用いて測定した。

2. 各酵素活性の測定

血漿 DBH 活性の測定は、短時間に多数の検体を処理する目的で、従来の Nagatsu と Udenfriend¹⁴⁾ のミクロカラム法を一部変更したバッチ法¹⁵⁾を用いた。

m-GOT の分画は Wada ら¹⁶⁾の免疫学的方法によった。GOT 活性は Karmen 法¹⁷⁾で測定した。s-GOT は全 GOT (total GOT, t-GOT) より m-GOT を差し引くことによって活性値を求めた。

GPT 活性は Wróblewski と La Due¹⁸⁾の方法を用いて測定した。

MDH 活性は Bergmeyer と Bernt¹⁹⁾の方法により測定した。

LDH・M 型は Bergmeyer と Bernt²⁰⁾の方法により、DEAE-Sephadex A-50 を用いてH型を吸着除去して分画した。LDH 活性は Wróblewski と La Due²¹⁾の方法で測定した。H型は全 LDH (total LDH, t-LDH) より M型を差し引くことによって活性値を求めた。

α -HBDH 活性の測定は Rosalki と Wilkinson²²⁾の方法によった。

CPK・MM 型 (筋肉型), MB 型 (心臓型), BB 型 (脳型) の3種のアイソザイムは Takahashi ら²³⁾のイオン交換カラム法によって分離した。CPK 活性は Anon.²⁴⁾の方法によって測定した。全 CPK (total CPK) を t-CPK と省略する。

Aldolase 活性の測定は Beisenherz ら²⁵⁾の方法によった。

γ -GT 活性の測定は Szasz²⁶⁾の方法によった。

ICDH 活性は Wolfson と Williams-Ashman²⁷⁾の方法により測定した。

OCT 活性は武田ら²⁸⁾の方法に従って測定した。

III. 実験成績

各検定は Student の t-test によって行い、それぞれの値は mean $\pm$ S.E で表現した。

心拍数、収縮期・拡張期血圧およびヘマトクリットの運動負荷前・後の値を Table 1 に示す。

心拍数は運動負荷直後有意の上昇を示し ($p<0.001$), 負荷後安静1時間においてもその有意の増加が存続した

Table 1 Heart rate, blood pressure and hematocrit prior to, at the end of exercise, and at various times during the recovery phase

Function	Number of cases	Prior to exercise	End of exercise	Recovery period				
				20 min	1 hr	6 hrs	24 hrs	48 hrs
Heart rate (beats/min)	11	68.6 $\pm$ 3.1	141.0 $\pm$ 4.1**	87.2 $\pm$ 4.2**	73.0 $\pm$ 3.3*	69.2 $\pm$ 1.9	65.8 $\pm$ 2.1	65.6 $\pm$ 1.8
Systolic blood pressure (mmHg)	11	106.6 $\pm$ 3.4	141.3 $\pm$ 4.6**	112.0 $\pm$ 2.5*	106.4 $\pm$ 2.3	104.7 $\pm$ 2.6	104.7 $\pm$ 2.9	107.5 $\pm$ 2.3
Diastolic blood pressure (mmHg)	11	62.0 $\pm$ 3.1	57.8 $\pm$ 3.9	64.7 $\pm$ 3.2	64.5 $\pm$ 2.6	60.9 $\pm$ 2.4	63.8 $\pm$ 2.5	60.7 $\pm$ 2.8
Hematocrit (%)	11	42.1 $\pm$ 0.6	46.1 $\pm$ 0.9**	42.9 $\pm$ 0.7	41.9 $\pm$ 0.6	42.1 $\pm$ 0.7	41.8 $\pm$ 0.7	42.4 $\pm$ 0.5

Values are expressed as mean $\pm$ S.E. *: $p<0.05$, **: $p<0.001$

Table 2 Transaminase activities (Karmen units/ml) prior to, at the end of exercise, and at various times during the recovery phase

Enzymes	Number of cases	Prior to exercise	End of exercise	Recovery period				
				20 min	1 hr	6 hrs	24 hrs	48 hrs
t-GOT	11	20.5 $\pm$ 1.7	30.0 $\pm$ 3.4**	22.7 $\pm$ 2.1	27.8 $\pm$ 2.5***	24.3 $\pm$ 2.4*	23.8 $\pm$ 3.1	25.7 $\pm$ 3.4
m-GOT	11	4.7 $\pm$ 0.4	7.1 $\pm$ 0.6***	5.8 $\pm$ 0.6*	6.1 $\pm$ 0.7	5.8 $\pm$ 0.7	5.5 $\pm$ 0.3	5.1 $\pm$ 0.6
s-GOT	11	15.8 $\pm$ 1.6	22.9 $\pm$ 3.3*	16.9 $\pm$ 2.2	21.7 $\pm$ 2.2*	18.4 $\pm$ 2.1	18.3 $\pm$ 2.9	20.6 $\pm$ 3.1
GPT	11	12.6 $\pm$ 1.5	16.3 $\pm$ 1.8	13.6 $\pm$ 1.9	13.7 $\pm$ 1.2	13.9 $\pm$ 1.6	11.3 $\pm$ 0.8	11.8 $\pm$ 1.2

Values are expressed as mean $\pm$ S.E. *: $p<0.05$, **: $p<0.02$, ***: $p<0.01$.

($p < 0.05$)。収縮期血圧も負荷後有意の上昇を示し ($p < 0.001$)、安静20分まで有意の上昇が続いた ($p < 0.05$)。拡張期血圧は、ほとんど変動を示さなかった。

ヘマトクリット値も負荷直後有意の上昇が認められたが ($p < 0.001$)、負荷後安静20分ですみやかに運動負荷前値に回復した。

トランスアミナーゼ活性:

GOT アイソザイム、GPT 活性値を Table 2 に示す。正常値は t-GOT が 30 Karmen units/ml 以下、m-GOT が 5 Karmen units/ml 以下 (25°C) である。GPT の正常値は 25 Karmen units/ml 以下 (25°C) である。

t-GOT は運動負荷直後有意に上昇し ($p < 0.02$)、安静20分後一度ほぼ負荷前値に回復したが、1、6時間後それぞれ再び有意に上昇した ($p < 0.01$, 0.05)。負荷直後 (54.3, 43.5), 1時間 (41.1), 24時間 (49.4) および48時間後 (49.4 Karmen units/ml) とそれぞれ高値を示す被験者が認められた。m-GOT は同様に負荷後有意に増加し ($p < 0.01$)、その増加は安静20分まで有意に存続した ($p < 0.05$)。負荷直後 (9.1, 9.8), 1時間 (9.7, 10.9), 6時間 (11.6) および48時間後 (9.1 Karmen units/ml) とそれぞれ高い値が観察された。s-GOT は負荷直後有意に上昇し ($p < 0.05$)、t-GOT と同じく安静20分ではほぼ負荷前値に回復したが、1時間後に再び有意に上昇を示した ($p < 0.05$)。負荷直後 (45.2, 35.2, 35.2), 1時間 (35.7), 24時間 (41.6) および48時間後 (41.2 Karmen units/ml) とそれぞれ高値が認められた。

GPT は負荷直後上昇傾向が認められたが ($p < 0.1$)、安静後すみやかに負荷前値に回復した。

LDH アイソザイムおよび α -HBDH:

LDH アイソザイム、 α -HBDH 活性値を Table 3 に示す。正常値は t-LDH が 120~240 I.U./l (25°C)、H型が t-LDH の30~60%である。 α -HBDH の正常値は55~140

I.U./l (25°C) である。

t-LDH は負荷直後有意に上昇し ($p < 0.02$)、6時間後までその上昇が有意に存続した ($p < 0.05$)。負荷直後 (460.0, 462.8), 20分 (333.4), 48時間後 (425.0 I.U./l) とそれぞれ高値を示す被験者が観察された。LDH-H型は負荷直後大きな変化は示さなかったが、48時間後に有意の低下が観察された ($p < 0.02$)。負荷直後 (198.0), 安静20分後 (288.8 I.U./l) と高い値が認められた。M型は負荷直後有意の上昇を示し ($p < 0.02$)、安静20分で回復傾向を示したが1時間、6時間後に再び有意に上昇した (それぞれ $p < 0.05$)。48時間後に 293.0 I.U./l と高い値を示す被験者が認められた。

α -HBDH は負荷直後有意に上昇し ($p < 0.01$)、安静20分で比較的すみやかに回復した。

CPK アイソザイム活性:

CPK アイソザイム活性値を Table 4 に示す。正常値は t-CPK が 83 I.U./l 以下、MM 型が 5.3~78.9 I.U./l, MB 型が 0~2.7 I.U./l および BB 型が 0~0.9 I.U./l (30°C) である。t-CPK は運動負荷後有意に増加し ($p < 0.001$)、安静後回復傾向を示したが、6時間後再び有意の増加が認められた ($p < 0.05$)。MM 型は同様に負荷後著しい上昇を示し ($p < 0.001$)、安静20分で回復傾向を示した。MB 型は負荷後有意に上昇し ($p < 0.01$)、安静20分ではほぼ負荷前値に回復した。BB 型は本実験では検出されなかった。負荷直後に t-CPK: 85.4, 24時間後に t-CPK: 85.7, MM 型: 84.3, 48時間後に t-CPK: 82.9, MM 型: 81.7 I.U./l と正常上限値前後の高い値の傾向を示す被験者が観察された。

DBH, MDH, aldolase, γ -GT, ICDH および OCT 活性:

DBH, MDH, aldolase, γ -GT, ICDH および OCT 活性値を Table 5 に示す。正常値はそれぞれ 3~100 I.U./l,

Table 3 LDH isozyme and α -HBDH activities (I.U./l) prior to, at the end of exercise, and at various times during the recovery phase

Enzymes	Number of cases	Prior to exercise	End of exercise	Recovery period				
				20 min	1 hr	6 hrs	24 hrs	48 hrs
t-LDH	11	147.7 $\pm$ 11.1	253.0 $\pm$ 35.7**	178.4 $\pm$ 16.8**	186.7 $\pm$ 16.1*	172.1 $\pm$ 18.0*	170.7 $\pm$ 11.1	175.0 $\pm$ 29.6
LDH-H	5	102.8 $\pm$ 17.5	132.6 $\pm$ 20.8	125.6 $\pm$ 41.1	79.1 $\pm$ 15.2	109.0 $\pm$ 19.9	76.0 $\pm$ 24.6	71.4 $\pm$ 16.8**
LDH-M	5	58.2 $\pm$ 11.8	110.8 $\pm$ 15.7**	78.7 $\pm$ 16.8	112.7 $\pm$ 17.7*	103.0 $\pm$ 17.3*	98.7 $\pm$ 12.0	132.9 $\pm$ 40.3
α -HBDH	11	49.8 $\pm$ 2.9	94.6 $\pm$ 11.2***	63.0 $\pm$ 10.9	55.2 $\pm$ 5.4	55.6 $\pm$ 4.8	54.0 $\pm$ 6.0	54.7 $\pm$ 5.7

Values are expressed as mean $\pm$ S.E. *: $p < 0.05$, **: $p < 0.02$, ***: $p < 0.01$.

Table 4 CPK isozyme activities (I.U./l) prior to, at the end of exercise, and at various times during the recovery phase

Enzymes	Number of cases	Prior to exercise	End of exercise	Recovery period				
				20 min	1 hr	6 hrs	24 hrs	48 hrs
t-CPK	11	39.8±2.9	60.3±4.3***	46.9±3.3	46.5±4.4	46.9±2.6*	49.2±5.0	42.8±4.4
CPK-MM	5	38.1±3.5	62.6±2.3***	46.0±3.5	46.9±6.0	47.1±3.3	53.7±7.8	43.6±9.8
CPK-MB	5	1.3±0.2	2.0±0.2**	1.5±0.1	1.6±0.3	1.4±0.2	1.9±0.2	1.5±0.2
CPK-BB	5	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.

N.D.: non detected; Values are expressed as mean±S.E. *: $p<0.05$, **: $p<0.01$, ***: $p<0.001$.

Table 5 DBH, MDH, aldolase, γ -GT, ICDH and OCT activities prior to, at the end of exercise, and at various times during the recovery phase

Enzymes	Number of cases	Prior to exercise	End of exercise	Recovery period				
				20 min	1 hr	6 hrs	24 hrs	48 hrs
DBH (I.U./ml)	11	12.9±1.8	17.0±1.9***	15.2±1.7**	14.4±1.8	12.6±1.6	14.3±2.0	16.2±1.5*
MDH (I.U./ml)	11	34.3±3.9	84.7±19.7**	39.4±4.3	35.7±4.4	34.2±3.2	30.1±2.5	31.3±3.4
Aldolase (Bruns units/ml)	11	5.2±0.2	8.8±1.3**	5.7±0.7	5.4±0.5	6.0±0.7	4.8±0.4	5.1±0.3
γ -GT (I.U./l)	11	7.5±0.7	8.3±0.5	7.8±0.5	7.9±0.6	9.9±1.0*	8.4±0.6	9.4±0.8*
ICDH (I.U./l)	11	1.4±0.1	3.5±0.5***	1.6±0.3	1.8±0.2	1.7±0.3	1.5±0.2	1.9±0.4
OCT (I.U./l)	11	3.7±0.3	3.9±0.6	2.7±0.3**	2.9±0.3*	2.8±0.5	2.6±0.3*	2.1±0.3***

Values are expressed as mean±S.E. *: $p<0.05$, **: $p<0.02$, ***: $p<0.01$.

48~96 I.U./l (25°C), 1.6~10.0 Bruns units/ml (25°C), 6~24 I.U./l (25°C), 7 I.U./l 以下 (25°C) および 9 I.U./l 以下 (37°C) である。

DBH は運動負荷後有意に上昇し ($p<0.01$)、安静20分までその有意の上昇が続いた ($p<0.02$)。そして、48時間後に再び有意の上昇を示した ($p<0.05$)。

MDH は負荷後明らかな増加を示し ($p<0.02$)、安静20分ですみやかに負荷前値に回復した。負荷直後に、139.3, 253.8 I.U./l と高値を示す被験者が認められた。

Aldolase は負荷後有意に上昇し ($p<0.02$)、安静20分では負荷前値に回復した。負荷直後 (12.2, 14.7, 13.3, 14.7), 安静20分 (11.3) および 6 時間後 (10.9 Bruns units/ml) とそれぞれ比較的高い値が観察された。

γ -GT は負荷直後大きな変化を示さなかったが、6時間および48時間後に有意の増加を示した (それぞれ $p<0.05$)。

ICDH は負荷後有意に上昇し ($p<0.01$)、安静20分ですみやかに負荷前値に回復した。

OCT は負荷後ほとんど変動を示さなかったが安静20分, 1時間, 24時間, 48時間後に有意の低下が認められた (それぞれ $p<0.02$, 0.05, 0.05, 0.01)。

IV. 考 察

本実験では被験者はすべてトレーニングを行っていない健康な男子学生とした。これは前報²⁹⁾で述べたように種々の因子に関するトレーニング効果の影響を除くためである。

運動負荷における血清酵素変動のメカニズムについては、はじめに述べたように種々の説がある。そのなかでも、後藤と堤⁵⁾は運動負荷後、血清電解質が上昇するが、特にKが著しい増加を示し、Bergström と Hultman³⁰⁾が needle biopsy により大腿四頭筋細胞内Kイオンの低

下を認めていることから、細胞膜透過性の増大、細胞の損傷による可能性が大きいと考えている。細胞膜透過性の亢進による説は他の多くの研究者によっても支持されている^{31,32)}。しかし、その機序は明らかでない。今回、骨格筋、心筋、肝臓などに多く存在し、また、細胞内局在を異にする種々の酵素を測定することにより、運動負荷における変動を比較検討し、そのメカニズムを考察した。

心拍数、収縮期・拡張期血圧およびヘマトクリット:

心拍数、収縮期血圧およびヘマトクリット値は運動負荷後いずれも有意に増加したが、回復パターンがそれぞれ異なり、ヘマトクリットはすみやかに回復し、収縮期血圧は安静20分まで、心拍数は1時間まで有意の上昇が存続した。拡張期血圧はほとんど変動を示さなかった。これらの値と自転車エルゴメーターの 920 kpm/min という負荷量より Wahren ら³³⁾および Ekblom ら³⁴⁾の報告と比較して、本実験の運動量は中等度に分類される。ヘマトクリットは負荷後平均 9.5% 増加し、いわゆる“hemoconcentration”が認められた。しかし、統計学的に有意に上昇した各酵素活性の変動の割合は、ヘマトクリットと比較してはるかに大きかった。

トランスアミナーゼ活性:

GOT をアイソザイムのレベルで運動負荷における変動を検索した研究はほとんどみられない⁷⁾。今回、m-GOT は安静20分まで有意の上昇が続いたが、著者ら⁷⁾は、安静30分ではほぼ負荷前値に回復することを報告している。これは、m-GOT は s-GOT に比較し血中消失速度が速く^{35,36)}、両者の turnover の違いによるものと推測される。しかし、本実験で、安静20分で t-GOT ならびに s-GOT が一時的にほぼ負荷前値まで回復したことの説明は困難である。t-GOT に関して、従来、運動負荷において種々の報告がなされていたが、最近、負荷条件によって多少の違いはあるものの上昇するという考えが一般的である⁶⁾。t-GOT と s-GOT はほぼ同様の変動を示したが、48時間後まで上昇傾向が続いたことは、すでに述べた s-GOT の異化速度が小さいことによると考えられた。King ら³⁷⁾は1時間のハンドボールゲームの後29時間経過してもなお、約20%もの t-GOT の増加を観察している。t, m, s-GOT のいずれにおいても48時間後に高値を示す被験者が認められたことは、臨床検査に際しても注意する必要がある。

GPT は負荷直後上昇傾向が認められたが、安静後すみやかに負荷前値に回復した。GPT の運動負荷における変動については、上昇する^{6,11)}、変動しない^{4,37,38)}、と

異なった報告がなされており、今回は、両者のほぼ中間の結果を示した。井川と伊藤⁶⁾は、GPT は主として肝細胞中に存在し、運動負荷後、腹部内臓血流量の減少が激しく、肝臓は anoxia にきたし逸脱すると考えている。GOT/GPT は負荷前値 1.8 ± 0.2 、負荷直後 2.0 ± 0.2 (mean $\pm$ S.E.) と軽度上昇しているので、運動負荷がその直後に肝臓に与える影響は井川と伊藤が考えているほど大きくないと推測された。

LDH アイソザイムおよび α -HBDH 活性:

t-LDH は、速歩で 23 km 歩行させた場合にはほとんど変化を示さず⁶⁾、逆に、2時間で 16 km 行進させた場合に有意な上昇を示す³¹⁾など矛盾した報告も存在するが、種々の運動負荷後増加することが一般的に認められている^{4,37-39)}。また、t-LDH 活性の上昇はすでに運動負荷後著しい lactate の増加が観察されたと報告しているように^{12,13)}、解糖系の代謝が亢進していることを示す。負荷後の回復パターンも比較的遅く、King ら³⁷⁾は19時間後まで約20%の上昇が、Ahlborg と Brohult⁴⁾は24時間後でも有意の上昇が続くことを報告している。LDH は臓器特異性の小さい酵素なのでアイソザイムレベルでの検索が重要である。心筋に多く存在する H 型は著明な変動を示さず、t-LDH の変動は主に骨格筋、肝臓に多く存在する⁴⁰⁾M 型によっていると考えられた。Schnohr³⁹⁾は 100 km レース後両アイソザイムとも著明に上昇したと報告しているが、井川と伊藤⁶⁾は H 型の上昇を認めていない。Rose ら³⁸⁾はトレーニングを行っている者で行っていない者の間には H 型アイソザイムの変動に大きな差がある、すなわち、トレーニングを行っている者は運動負荷後に心臓に異常に生じる割合が小さく、従って H 型の逸脱が少ない、と推測している。M 型の増加はほとんど骨格筋に由来していると考えられる。48時間後においても t-LDH、M 型アイソザイムに高い値を示すケースが認められた。

α -HBDH は負荷直後有意に上昇し、安静20分で比較的にすみやかに回復した。 α -HBDH は独立した酵素であるのか、あるいは LDH の一種であるのかまだ決定されていない。LDH とは臓器分布が異なり心臓、腎臓、赤血球に多く、特に心筋梗塞の診断に有用であると考えられている²²⁾。今回、LDH・H 型アイソザイムが負荷後有意に上昇しなかったのかかわらず、 α -HBDH が負荷前値の約 2 倍もの上昇を示したことや回復パターンが異なったことは、それぞれほとんど細胞質に存在していることから、両者の心筋細胞膜透過性あるいは代謝過程の違いが示唆された。

CPK アイソザイム活性：

Forssell ら⁴¹⁾ は自転車エルゴメーターによる実験で t-CPK 上昇を認めているが17名中1名の例外を除いて、その上昇は正常値を越えなかったことを観察している。しかし、安田と野村⁴²⁾ は2〜3時間の野球の練習で正常上限の50倍以上もの上昇を認め、しかもその異常値は2週間近くも続いたと報告している。King ら³⁷⁾ は53時間後においても約30%の上昇が存続するとし、採血の72時間前から運動を禁止しなければならない、と警告している。本実験の結果は、ほぼ Forssell ら⁴¹⁾ に一致したが、48時間後においても、t-CPK、MM 型アイソザイムが正常値上限を示す者が認められた。Thomson ら⁴³⁾ は CPK の細胞外への逸脱は ATP と関係し、常に細胞内 ATP の潤渇の後に生じること証明しているが、それは ATP が酵素蛋白の保持に関与しているためと推定している。Table 4 より t-CPK の変動はほとんど骨格筋に存在する MM 型に依存していることが認められた。心筋に局在する MB 型は α -HBDH と同様な変動を示し、同じ心筋に存在する LDH・H 型とは異なった変動が観察された。

DBH, MDH, Aldolase, γ -GT, ICDH および OCT 活性：

DBH は運動負荷後有意に上昇し、安静20分までその有意の上昇が続いた。そして、48時間後に再び有意の上昇が認められた。DBH はノルエピネフリンをドーパミンの側鎖の β -炭素を水酸化して生成する1原子酸素添加酵素である⁴⁴⁾。運動負荷後の上昇は交感神経終末よりの分泌の増加とされ^{10,11)}、 β -受容体の亢進によると考えられている。Planz ら¹¹⁾ は1時間後に DBH が回復すると報告しており、30分以内に増加した半分以上が除去されると推定しているが、そのメカニズムはまだよく知られていない。今回の結果はこの Planz ら¹¹⁾ の報告と一致した。しかし、心拍数や収縮期血圧には変動がみられなかったにもかかわらず48時間後に有意の増加が観察された。他の自律神経テストなどを行っていないので、この結果からただちに交感神経機能が亢進したと断定することは困難であるが、中等度の運動負荷が48時間後まで自律神経に影響を与える可能性が示唆された。

MDH は負荷後有意に上昇し、負荷後安静20分ですみやかな回復を示した。Halonen と Kottinen³¹⁾ は同様に2時間の行進の後有意に上昇するけれども、負荷後2時間経過してもその上昇が続いた、と報告している。そして、負荷直後、本実験と一致して異常高値を示す被験者を観察している。Fowler ら⁴⁵⁾ もトレッドミルを用いた

実験で運動負荷量に比例して MDH が上昇することを認めているが、軽度な負荷による上昇は細胞膜透過性の亢進だけにより、高度な負荷では細胞壊死によるものが伴う、と推測している。MDH は GOT と同様に細胞質 MDH とミトコンドリア MDH の両アイソザイムが存し、GOT アイソザイムと共役してエネルギー代謝における役割を果している⁴⁶⁾。今回、MDH と GOT の間には回復パターンの違いが観察された。MDH の負荷後の上昇は、臓器の酵素含有量から、骨格筋のみならず心筋からの逸脱も考えられた。

Aldolase は負荷後有意の上昇が認められ、安静20分ですみやかに回復した。Fowler ら⁴⁵⁾ は aldolase の骨格筋からの逸脱に影響を与える因子として、Kイオンの増加、グルコースの低下、インスリン、アルブミン、低酸素状態を考えている。このうち、運動負荷後、インスリンは低下し⁴⁷⁾、グルコースはほとんど変動を示さない¹²⁾ことから除外できるであろう。Aldolase の上昇は、臓器の酵素含有量⁴⁸⁾より骨格筋の他、心筋由来も考えられた。Aldolase の半減期は4時間と turnover が速いが⁴⁹⁾、今回、さらに速い回復パターンを示した。

γ -GT は負荷直後大きな変化を示さなかったが、6時間および48時間後に有意の増加が認められた。Haralambie⁸⁾ も同様に種々の運動負荷直後、 γ -GT がほとんど上昇しないことを観察している。 γ -GT は腎、肺、膵、肝臓などに存在しているが、腎疾患では血中の上昇はみられず、主に肝疾患で臨床的に注目されている⁵⁰⁾。運動負荷においても腎臓から血中へ逸脱することはないと考えられている⁸⁾。 γ -GT はトレーニング効果が認められない点が他の酵素と異なっている⁸⁾。48時間後においても有意の上昇が認められたが、これは肝臓由来の可能性が強い。同じ肝臓に存在する OCT が運動負荷後7日経過しても有意の上昇を認めたことを、Ahlborg と Brohult⁴⁾ は腹部内臓血流量減少による肝臓の anoxia と副腎を介してのコルチコステロイドとノルエピネフリンの増加による、と推定している。今回、日常臨床検査でしばしば測定されている酵素のうちで48時間後に有意の上昇が認められたのは γ -GT のみで、 γ -GT が運動負荷の影響を知る有力な指標となりうることが示唆された。

ICDH は負荷直後有意に上昇し、安静20分ですみやかに負荷前値に回復した。ICDH はクエン酸サイクルにおける重要な酵素であるが、臨床的にはいろいろな肝疾患において上昇することが知られている⁵¹⁾。負荷直後の上昇は肝臓由来と考えられたが、同様に肝臓に存在する GPT とは類似した、しかし γ -GT とは異なった変動を

示した。同じ臓器由来の酵素でも運動ストレスに対して異なった反応を示すことが示唆された。

OCT は負荷直後ほとんど変動しなかったが、その後低下傾向を示し、特に48時間後では負荷前値の40%以上の低下が認められた。これは、すでに述べた Ahlborg と Brohult⁴⁸⁾ の報告とまったく逆の結果である。OCT はほとんど肝臓のミトコンドリア分画に局在し⁵²⁾、尿素サイクルに関連していて、肝臓になんらかの障害がおきると上昇することが知られている。血中半減期は約15時間と推定されている⁵³⁾。これから、m-GOT の上昇は肝臓ミトコンドリア由来ではないことが推測された。OCT の低下は、 γ -GT が48時間後に増加していることから細胞膜透過性の低下によるとは考えがたく、何らかの原因によって肝臓における生合成が低下したと推定された。OCT の低下は γ -GT の上昇と同様に運動負荷の長期影響を知る指標となることが示唆された。

V. 結 論

運動負荷において、主に骨格筋、心筋および肝臓に存在する種々の血漿酵素活性を測定した。被験者は特別なトレーニングを行っていない健康な男子学生11名で、自転車エルゴメーターにより 150 W, 30分間の負荷試験を行い、負荷前・後、負荷終了後安静20分、60分後および6, 24, 48時間後にヘパリン採血し、それぞれの測定に供した。その結果、次の成績を得た。

1. DBH は負荷後有意に上昇し、一度負荷前値に回復したが、48時間後に再び有意の上昇が認められ、交感神経機能の亢進が長時間続くことが示唆された。

2. 主に骨格筋に存在する t-GOT, m-GOT, s-GOT, t-LDH, LDH-M 型, t-CPK, CPK-MM 型, MDH および aldolase が負荷直後有意な増加を示した。48時間後において、有意な増加を示す酵素は認められなかったが、LDH-M 型が増加の傾向を示した。

3. 主に心筋に存在する α -HBDH, CPK-MB 型が負荷直後有意な上昇を示した。48時間後に有意な上昇を示す酵素は観察されなかったが、LDH-H 型が有意の低下を示した。

4. 主に肝臓に存在する ICDHが負荷直後有意に増加し、GPT には増加の傾向が認められた。48時間後において、 γ -GT が有意の上昇を示し、一方、OCT には有意の低下が認められた。

以上の成績から、同じ臓器に存在している酵素でも運動ストレスに対して異なった反応を示すことが認められた。48時間後に DBH, γ -GT が有意な上昇を示し、LDH-

H 型、OCT に有意の低下が観察されたことから、中等度の運動負荷においては特に肝機能に対する影響が長期間続き、それには交感神経機能の亢進が関与していることが推測された。

稿を終えるにあたり、ご協力をいただいた旭川医科大学衛生学教室の沢山陽子氏に感謝の意を表する。

文 献

- 1) Oscai, L. B.: In "Exercise and Sport Science Reviews. Vol. 1" (Editor: J. H. Wilmore), pp. 103-123, Academic Press, New York and London (1973).
- 2) Koplan, J. P.: Cardiovascular deaths while running, J.A.M.A., **242**, 2578-2579 (1979).
- 3) 伊藤 朗, 河北尚夫, 岩田 惇, 岩本圭史: 全身持久性トレーニングのための運動処方に関する生化学的研究, 体育科学, **1**, 41-57 (1973).
- 4) Ahlborg, B. and Brohult, J.: Immediate and delayed metabolic reactions in well-trained subjects after prolonged physical exercise, Acta med. scand., **182**, 41-54 (1967).
- 5) 後藤芳雄, 堤 達也: 運動負荷時の血清酵素活性並びに血清電解質の変動, 体力研究, No. 21, 31-41 (1971).
- 6) 井川幸雄, 伊藤 朗: 運動と血清酵素, 日医会誌, **71**, 695-705 (1974).
- 7) 大野秀樹, 渡部秀雄, 岸原千秋, 谷口直之, 高桑栄松: 運動負荷によるヒト血漿 DBH と GOT アイソザイム活性値の変動について, 自律神経, **15**, 67-73 (1978).
- 8) Haralambie, G.: Serum γ -glutamyl transpeptidase and physical exercise, Clin. Chim. Acta, **72**, 363-369 (1976).
- 9) Planz, G. and Palm, D.: Acute enhancement of dopamine- β -hydroxylase activity in human plasma after maximum work load, Europ. J. clin. Pharmacol., **5**, 255-258 (1973).
- 10) Wooten, G. F. and Cardon, P. V.: Plasma dopamine- β -hydroxylase activity: Elevation in man during cold pressor test and exercise, Arch. Neurol., **28**, 103-106 (1973).
- 11) Planz, G., Wiethold, G., Appel, E., Böhmer, D., Palm, D. and Grobecker, H.: Correlation between

- increased dopamine- β -hydroxylase activity and catecholamine concentration in plasma: Determination of acute changes in sympathetic activity in man, *Europ. J. clin. Pharmacol.*, **8**, 181-188 (1975).
- 12) Ohno, H., Watanabe, H., Kishihara, C., Nishino, M. and Taniguchi, N.: In "International Series on Sport Sciences and International Series on Biomechanics" (Editor: J. Poortmans), pp. 100-107, University Park Press, Baltimore (in press).
- 13) 大野秀樹, 渡部秀雄, 谷口直之, 寺山和幸, 平田史子, 河原林忠男: 運動負荷におけるヒト血漿 dopamine- β -hydroxylase, cyclic AMP, cyclic GMP と血中解糖系中間体の変動について, 自律神経 (印刷中).
- 14) Nagatsu, T. and Udenfriend, S.: Photometric assay of dopamine- β -hydroxylase activity in human blood, *Clin. Chem.*, **18**, 980-983 (1972).
- 15) 渡部秀雄, 大野秀樹, 谷口直之, 高桑栄松: パッチ法による血漿ドーパミン- β -水酸化酵素活性測定法, 医学のあゆみ, **100**, 392-394 (1977).
- 16) Wada, H., Teranishi, H., Kagamiyama, H., Ohyanagi, H., Shirakawa, M., Mitsuno, T., Fuse, K. and Sawada, Y.: A simple immunological method for differential determination of serum GOT-isozymes and its clinical application, Abstracts of 10th Int. Congr. of Biochemistry, Hamburg, p. 589 (1976).
- 17) Karmen, A.: A note on the spectrophotometric assay of glutamic oxaloacetic transaminase in human blood, *J. clin. Invest.*, **34**, 131-133 (1955).
- 18) Wróblewski, F. and La Due, J. S.: Serum glutamic pyruvic transaminase in cardiac and hepatic disease, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, **91**, 569-571 (1956).
- 19) Bergmeyer, H. U. and Bernt, E.: In "Methods of Enzymatic Analysis, Vol. 1" (Editor: H. U. Bergmeyer), 2nd English ed. (transl. from 3rd German ed.), pp. 613-617, Verlag Chemie Weinheim and Academic Press, New York and London (1974).
- 20) Bergmeyer, H. U. and Bernt, E.: In "Methods of Enzymatic Analysis, Vol. 1" (Editor: H. U. Bergmeyer), 2nd English ed. (transl. from 3rd German ed.), pp. 590-593, Verlag Chemie Weinheim and Academic Press, New York and London (1974).
- 21) Wróblewski, F. and La Due, J. S.: Lactic dehydrogenase activity in blood, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, **90**, 210-213 (1955).
- 22) Rosalki, S. B. and Wilkinson, J. H.: Reduction of α -ketobutyrate by human serum, *Nature*, **188**, 1110-1111 (1960).
- 23) Takahashi, K., Uchikubo, S., Oimomi, H. and Shinko, T.: Creatine phosphokinase isoenzymes of human heart muscle and skeletal muscle, *Clin. Chim. Acta*, **38**, 285-290 (1972).
- 24) Anon. Recommendations of the German Society for clinical chemistry: Standardization of methods for the determination of enzyme activities in biological fluids, *Z. Klin. Chem. Klin. Biochem.*, **8**, 658-660 (1970).
- 25) Beisenherz, G., Bltze, H. J., Buecher, T., Czok, R., Garbarde, K. H., Meyer-Arendt, E. and Pfeleideren, G.: Diphosphofructose-aldolase, phosphoglyceralddehyd-dehydrogenase, milchsäure-dehydrogenase, glycerophosphatdehydrogenase und pyruvat-kinase aus kaninchen-muskulatur in einem arbeitgang, *Z. Naturforsch.*, **8(b)**, 555-577 (1953).
- 26) Szasz, G.: A kinetic photometric method for serum γ -glutamyl transpeptidase, *Clin. Chem.*, **15**, 124-136 (1969).
- 27) Wolfson, S. K., Jr. and Williams-Ashman, H. G.: Isocitric and 6-phosphogluconic dehydrogenases in human blood serum, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, **96**, 231-234 (1957).
- 28) 武田博士, 鎌野孝和, 上山泰男, 本庄一夫: オルニチンカルバミールトランスフェレーズ (s-OCT) — その数値をどう読むか —, *日本臨床*, **31**, 576-583 (1973).
- 29) 大野秀樹, 渡部秀雄, 岸原千秋, 越智仁司, 高桑栄松, 谷口直之: 運動負荷におけるヒト赤血球炭酸脱水酵素アイソザイムと 2,3-DPG の変動について, *日衛誌*, **34**, 612-619 (1979).
- 30) Bergström, J. and Hultman, E.: The effect of exercise on muscle glycogen and electrolytes in normals, *Scand. J. clin. Invest.*, **18**, 16-20 (1966).
- 31) Halonen, P. I. and Kontinen, A.: Effect of physical exercise on some enzymes in the serum, *Nature*, **193**, 942-944 (1962).
- 32) Bolter, C. P. and Critz, J. B.: Changes in plasma

- enzyme activity elicited by running exercise in the dog, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, **145**, 1359-1362 (1974).
- 33) Wahren, J., Felig, P., Hendler, R. and Ahlborg, G.: Glucose metabolism during leg exercise in man, *J. clin. Invest.*, **50**, 2715-2725 (1971).
- 34) Ekblom, B., Åstrand, P., Saltin, B., Stenberg, J. and Wallström, B.: Effect of training on circulatory response to exercise, *J. Appl. Physiol.*, **24**, 518-528 (1968).
- 35) Wakin, K. G. and Fleisher, G. A.: The fate of enzymes in body fluids—an experimental study. II. Disappearance rates of glutamic-oxaloacetic transaminase I under various conditions, *J. Lab. clin. Med.*, **61**, 86-97 (1962).
- 36) Fleisher, G. A. and Wakin, K. G.: The fate of enzymes in body fluids—an experimental study. III. Disappearance rates of glutamic-oxaloacetic transaminase II under various conditions, *J. Lab. clin. Med.*, **61**, 98-106 (1962).
- 37) King, S. W., Statland, B. E. and Savory, J.: The effect of a short burst of exercise on activity values of enzymes in sera of healthy young men, *Clin. Chim. Acta*, **72**, 211-218 (1976).
- 38) Rose, L. I., Bousser, J. E. and Cooper, K. H.: Serum enzymes after marathon running, *J. Appl. Physiol.*, **29**, 355-357 (1970).
- 39) Schnohr, P.: Enzyme concentrations in serum after prolonged physical exercise, *Dan. Med. Bull.*, **21**, 68-71 (1974).
- 40) Kaplan, N. O. and White, S.: Immunological characteristics of dehydrogenases, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **103**, 835-848 (1963).
- 41) Forssell, G., Nordlander, R., Nyquist, O., Orinius, E. and Styrelius, I.: Creatine phosphokinase after submaximal physical exercise in untrained individuals, *Acta med. scand.*, **197**, 503-505 (1975).
- 42) 安田 雄, 野村信丞: 運動後に出現した血清 CPK の異常高値, *神経内科*, **10**, 406 (1979).
- 43) Thomson, W. H. S., Sweetin, J. C. and Hamilton, I. J. D.: ATP and muscle enzyme efflux after physical exertion, *Clin. Chim. Acta*, **59**, 241-245 (1975).
- 44) Axelrod, J.: Dopamine- β -hydroxylase: Regulation of its synthesis and release from nerve terminals, *Pharmacol. Rev.*, **24**, 233-243 (1972).
- 45) Fowler, W. M., Jr., Chowdhury, S. R., Pearson, C. M., Gardner, G. and Bratton, R.: Changes in serum enzyme levels after exercise in trained and untrained subjects, *J. Appl. Physiol.*, **17**, 943-946 (1962).
- 46) van Dam, K. and Meyer, A. J.: Oxidation and energy conservation by mitochondria, *Ann. Rev. Biochem.*, **40**, 115-160 (1971).
- 47) 谷口直之, 大野秀樹: 筋肉運動と糖代謝—エネルギーの利用とその調節を中心として—, *蛋白質核酸酵素*, **24**, 418-424 (1979).
- 48) Penhoet, E., Rajkumar, T. and Rutter, W. J.: Multiple forms of fructose diphosphate aldolase in mammalian tissues, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **56**, 1275-1282 (1966).
- 49) Schapira, F., Dreyfus, J. C. and Schapira, G.: The length of stay in the plasma of aldolase in the rabbit: study aided by aldolase labelled with radioactive iodine, *Rev. Franc. Etud. Clin. Biol.*, **7**, 829-832 (1962).
- 50) 児島淳之介, 金谷正子, 加藤道夫, 東条文龍, 稲井真弥, 大森清彦: 血清 γ -グルタミルトランスアミナーゼ (γ -GTP), *総合臨床*, **27**, 2408-2412 (1978).
- 51) Okumura, M. and Spellberg, M. A.: Serum isocitric dehydrogenase activity in the differential diagnosis of liver disease, *Gastroenterology*, **39**, 305-311 (1960).
- 52) Caravaca, J. and Grisolia, S.: Synthesis of citrulline with animal and bacterial enzyme, *J. Biol. Chem.*, **235**, 684-693 (1960).
- 53) Gillquist, J., Kaijser, L. and Liljedahl, S. O.: Post-operative changes of ornithine carbamoyl transferase activity in serum (s-OCT) related to oxygen saturation in hepatic vein blood during operations in man, *Acta Chir. Scand.*, **136**, 9-16 (1970).

(受付 1981年4月13日)