<原著論文>

高地トレーニングにおける赤血球膜機能に及ぼす魚油濃縮物 投与の効果

小林 悟^{a)}・高岡郁夫^{b)}・沢木啓祐^{b)}・寺野 隆^{c)}・

平井愛山^{d)}・藤代成一^{e)}・斎藤 康^{f)}・中島秀司^{g)}

^{a)}東京医科歯科大学医学部附属病院・^{b)}順天堂大学・

^{c)}千葉市立病院・^{d)}千葉県立東金病院・^{e)}国保成東病院・

^{f)}千葉大学大学院医学研究院・^{g)}日本水産株式会社

Effects of fish oil ingestion on RBC membrane function
of a long-distance runner in high-altitude training.

Satoru Kobayashi^{a)}, Ikuo Takaoka^{b)}, Keisuke Sawaki^{b)},

Takashi Terano^{c)}, Aizan Hirai^{d)}, Seiichi Fujishiro^{e)},

Yasushi Saito^{f)}, Shuuji Nakajima^{g)}

^{a)}Tokyo Medical and Dental University Hospital, 1-5-45, Yushima, Bunkyo-ku, Tokyo, 113-0034; ^{b)}Juntendo University, 1-1, HiragaGakuendai, Inba-mura, Inba-gun, Chiba, 270-1606; ^{c)}Chiba Municipal Hospital, 827, Yahagi-cho, Chuo-ku, Chiba, 260-0851; ^{d)}Chiba Prefectural Togane Hospital, 1229, Daikata, Togane, Chiba, 283-8588; ^{e)}Narutou General Hospital, 167, Narutou, Narutou-machi, Sanbu-gun, Chiba, 289-1326; ^{f)}Graduate School of Medicine Chiba University, 1-8-1 Inohana, Chuo-ku, Chiba, 260-8670; ^{g)}Nippon Suisan Kaisha, Ltd., 2-6-2, Otemachi, Chiyoda-ku, Tokyo, 100-8686, Japan

Summary

Recently a lot of athletes carry out high-altitude training for the improvement of their endurance.

In high altitudes, oxygen partial pressure gets low and a living body goes hypoxic state, which induces erythropoiesis resulting the increase of RBC count. The increase of RBC count maintains the amount of oxygen supply even after the person comes back to the level land, which is supposed to bring benefits to an athlete performing. But there is an adverse event. The increase of RBC count causes high blood viscosity with high hematocrit, and will burden the heart through cardiovascular and peripheral rheology.

This time we had a randomized study with fish oil concentration (EPA:1.6g/day) vs. placebo(olive oil) for thirteen weeks. The subjects were twelve male long-distance runners in a training session, which included a training at about 3000m above sea level,. A term of training project carried out the level land at 10-weeks and high altitude training at 3-weeks.

Consequently, the amount of EPA in RBC membrane after the training increased twice as much as that of before the training. In placebo group a tendency of increasing RBC count was observed and it wasn't in EPA group. This result indicates that RBC deformability and peripheral rheology have been improved in EPA group.

As the increase of RBC count heavily burdens the heart of athletes in an intensive training in high altitudes, constant long-term ingestion of EPA would contribute to them improving cardiovascular function and endurance, which is beneficial to their athletic achievement. (Received, 2002. 6. 14; Accepted, 2002. 8. 6)

1. はじめに

今日、スポーツトレーニングの分野では、競技者の運動機能を向上させる目的で高地トレーニングが広く取り入れられている。我々は、これまでに報告された魚油成分に関する一連の研究¹⁻⁷⁾を元に、魚油成分中の EPA (eicosapentaenoic acid) の赤血球膜機能を改善する作用により、高地での激しいトレーニングが今までより容易になり、結果的に運動機能を向上させる可能性があるという仮説を立てた。

そこで今回、メキシコでの高地トレーニングを含むトレーニングセッションに参加したマラソンランナーを対象に、EPA を含む魚油濃縮物投与試験を実施し、赤血球機能を中心に比較検討した。

2. 方法

- (1) 健常男性（国内駅伝選手 12 名、平均年齢 20.0 歳）ボランティアを、魚油濃縮物カプセル（EPA : 1.6g）投与群およびプラセボ・カプセル（オリーブ油）投与群の 2 群に無作為に割り付けた。
- (2) 投与期間は平地トレーニング 10 週間およびメキシコ高地（標高 3000m）トレーニング 3 週間の計 13 週間で、平地トレーニング開始とともに試験投与を開始した。
- (3) 被験者には本研究の目的および魚油濃縮物の説明を行い、理解と同意を得て実施した。
- (4) 測定項目は、血液粘度、赤血球-filtrability、血液化学、赤血球膜脂肪酸構成等で、血液粘度は、E 型粘度計（東機産業）を用い、37°C、 $\gamma = 37.5\text{sec}^{-1}$ 、 375sec^{-1} で測定した。

赤血球-filtrability は、Reid らの方法を用い、30cm の水圧下で 5 μm のミリポアフィルターを全血 0.5ml が通過する時間を測定し行った。血液化学は定測に従って行い、赤血球膜脂肪酸構成は G C L を用い 7 分画の測定で行なった^{3,4,6)}。

- (5) 統計処理は t 検定を用い、有意水準は危険率 5%未満とした。

3. 結果

A. 赤血球膜脂肪酸構成

赤血球膜脂肪酸構成の測定結果を Table. 1 に示した。赤血球膜中の EPA 含量は、魚油濃縮物投与群が開始時 ($1.43 \pm 0.27\text{mol}\%$)、高地トレーニング前 ($2.22 \pm 0.38\text{mol}\%$)、高地トレーニング後 ($2.36 \pm 0.27\text{mol}\%$)、と変動した。対照プラセボ群は開始時 ($1.46 \pm 0.22\text{mol}\%$)、高地トレーニング前 ($1.48 \pm 0.36\text{mol}\%$)、高地トレーニング後 ($1.25 \pm 0.61\text{mol}\%$) と統計学的に有意な変動は認められなかった。EPA/AA は魚油濃縮物投与群が開始時 (0.13 ± 0.03)、高地トレーニング前 (0.31 ± 0.07)、高地トレーニング後 (0.29 ± 0.16) と増加が認められた。プラセボ群は開始時 (0.14 ± 0.03)、高地トレーニング前 (0.17 ± 0.06)、高地トレーニング後 (0.14 ± 0.06) と有意な変動は認められなかった。2 群間の比較では、赤血球膜中の EPA 含量と EPA/AA については魚油濃縮物投与群の方が、高地トレーニング前 ($p < 0.001$)、高地トレーニング後 ($p < 0.01$) とそれぞれ有意に高かった。

Table 1 Effect of ingestion of fish oil concentrate on the total fatty acid composition(%) in RBC membrane before & after high-altitude training

mean $\pm$ S.D.(t-test)					
	Group	20:4	20:5	22:6	EPA/AA
Start	A	11.20 ± 0.79	1.43 ± 0.27	7.03 ± 0.34	0.13 ± 0.03
	B	10.50 ± 0.78	1.46 ± 0.22	7.10 ± 0.45	0.14 ± 0.03
Before high-altitude Training	A	7.63 ± 2.40	$2.22 \pm 0.38^{***}$	6.49 ± 1.01	$0.31 \pm 0.07^{***}$
	B	9.30 ± 1.98	1.48 ± 0.36	6.14 ± 1.24	0.17 ± 0.06
After high-altitude Training	A	9.26 ± 2.81	$2.36 \pm 0.27^{**}$	6.08 ± 1.42	$0.29 \pm 0.16^{**}$
	B	8.88 ± 1.78	1.25 ± 0.61	5.90 ± 1.15	0.14 ± 0.06

A : Fish oil group B : Placebo group

** $p < 0.01$ 、*** $p < 0.001$

B. 血液化学

高地トレーニング前後の血液化学値の測定結果を Table. 2 に示した。魚油濃縮物投与群において、MCV の有意 ($p < 0.05$) な低下と血清 Fe の有意 ($p < 0.05$) な増加が認められた。プラセボ群においては RBC 数と血清 Fe 及び MCV が有意

($p < 0.05$, $p < 0.05$, $p < 0.001$) な増加、MCH の有意 ($p < 0.01$) な低下が認められた。

Table 2 Changes of general biochemical values before & after high-altitude training

	A. Fish oil group		B. Placebo group	
	Before high-altitude training	After high-altitude training	Before High-altitude training	After high-altitude training
RBC $\times 10000$ (μ L)	491.67 $\pm$ 8.36	498.00 $\pm$ 20.21	488.00 $\pm$ 20.21	502.00 $\pm$ 23.36*
Hb (g/dL)	15.00 $\pm$ 0.30	15.02 $\pm$ 0.44	15.25 $\pm$ 0.44	15.33 $\pm$ 0.51
MCV (fl)	91.17 $\pm$ 2.33	89.90 $\pm$ 1.85*	94.67 $\pm$ 3.54	96.62 $\pm$ 3.57***
MCH (pg)	30.52 $\pm$ 0.63	30.17 $\pm$ 0.78	31.28 $\pm$ 0.81	30.57 $\pm$ 1.06**
MCHC (%)	33.47 $\pm$ 0.56	33.57 $\pm$ 0.42	33.05 $\pm$ 0.54	33.02 $\pm$ 0.25
S-Fe (μ g)	116.67 $\pm$ 3030	153.83 $\pm$ 36.10*	103.17 $\pm$ 22.18	129.00 $\pm$ 14.32*

RBC : Red Blood Cell

MCV : Erythrocyte mean corpuscular volume

MCH : Erythrocyte mean corpuscular hemoglobin

MCHC : Erythrocyte mean corpuscular hemoglobin concentration

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

C. 血液粘度

血液粘度 ($\gamma = 37.5 \text{sec}^{-1}$, 375sec^{-1}) とヘマトクリット値および Casson 降伏値の測定結果を Table. 3 に示した。いずれの測定結果にも有意差は認められな

Table 3 Haemorheological changes before & after high-altitude training

	Group	mean $\pm$ S.D.			
		$\gamma = 37.5 \text{sec}^{-1}$	$\gamma = 375 \text{sec}^{-1}$	Ht(%)	Casson yield value(dyn/cm ²)
Start	A	5.67 $\pm$ 0.530	3.80 $\pm$ 0.309	46.6 $\pm$ 2.30	0.162 $\pm$ 0.0528
	B	5.73 $\pm$ 0.254	3.84 $\pm$ 0.194	47.1 $\pm$ 1.08	0.156 $\pm$ 0.0366
Before high-altitude training	A	6.08 $\pm$ 0.321	3.82 $\pm$ 0.172	47.5 $\pm$ 1.23	0.238 $\pm$ 0.0545
	B	5.87 $\pm$ 0.540	3.90 $\pm$ 0.226	47.7 $\pm$ 1.17	0.181 $\pm$ 0.00512
After high-altitude Training	A	5.63 $\pm$ 0.478	3.79 $\pm$ 0.250	47.0 $\pm$ 1.27	0.162 $\pm$ 0.0637
	B	6.15 $\pm$ 0.484	4.05 $\pm$ 0.191	49.2 $\pm$ 2.32	0.230 $\pm$ 0.1464

A : Fish oil group B : Placebo group

かったが、高地トレーニング前後の比較において、対照群のヘマトクリット値が上昇傾向にあった。

D. 赤血球 filtrability

高地トレーニング前後における赤血球 filtrability の測定結果を Fig. 1 に示した。高地トレーニング前後の比較では、魚油濃縮物投与群において前値の V_{RBC} が $0.657 \pm 0.096 \text{ ml/30sec}$ から $0.770 \pm 0.078 \text{ ml/sec}$ と有意 ($p < 0.05$) な上昇が認められた。対照群には有意な差は認められなかった。

Figure 1 Comparison of RBC deformability between fish oil group & placebo group, before and after high-altitudes training.

4. 考察

Dyerberg らによるエスキモー人を対象とした疫学調査^{1,2)}を皮切りに、魚油成分に関する研究は、これまでに血栓性疾患および心疾患を中心に実施されてきている。我々は、1981年に実施した漁村住民と農村住民を対象とした疫学調査³⁾、魚油濃縮物を用いた動物および健康人への投与試験、高度精製 EPA あるいは DHA エチルエステルを用いた基礎実験^{4,5,7)}、臨床試験⁶⁾等々を行ってきた。これらの一連の実験結果から、EPA は生体内で赤血球膜リン脂質に容易に取り込まれ、取り込まれた EPA が赤血球膜を柔軟かつ粘弾性に富んだ膜に変えることが示唆された。

一方、スポーツトレーニングの分野で高地トレーニングが積極的に取り入れられているのは、次の理由によるものである。高地では生体内の酸素分圧が低くなり低酸素状態に陥るが、この低酸素が引き金となってエリスロポエチンの産生が誘発され、結果として赤血球が増産される。増産された赤血球は、生体が平地に戻っても酸素供給量を維持するため、高地トレーニング後の競技者の持久能が向上する⁸⁾。しかしながら、赤血球数の増加はヘマトクリット値の上昇を伴って血液粘度を上昇させるため、特に、高地トレーニングのような激しいトレーニングでは、心臓への負荷のみならず末梢の血流に悪影響を及ぼすことが懸念される。

今回、我々は、高地トレーニングにおいて、EPA 摂取による赤血球機能への影響を計る目的で、魚油濃縮物投与試験を実施した。対象は国内駅伝のトップランナーで、身体的自己管理が良好な健常男性である。今回の魚油濃縮物の投与量（EPA：1.6g/日）は、我々の既報の疫学調査で明らかになった漁村住民と農村住民の摂取量の差に相当する。

高地トレーニング中の魚油濃縮物投与群の赤血球脂肪酸構成は、EPA 含量がトレーニング開始時の約 1.5 倍、EPA/AA 比は約 2 倍強であった。対照群では、EPA および EPA/AA 比に変動は認められなかった。魚油濃縮物の適切な摂取量については、今後も引き続き検討する余地がある。

一般に、一定期間高地に滞在すると赤血球数が増加することが知られている^{12, 13)} が、今回の試験の結果、対照群では赤血球数が増加したが、魚油投与群での増加傾向は認められなかった。また、魚油投与群では赤血球変形能の増加が認められたが、対照群では認められなかった。赤血球変形能は、末梢への酸素供給に重要な因子である。したがって、トレーニング中に赤血球変形能が増加した魚油投与群は、対照群ほど赤血球の産生を必要としなくても末梢への酸素供給が容易になったと考えられる。

赤血球数が増加すると、ヘマトクリット値が上がり血液粘度が高くなる。高血圧、心疾患、動脈硬化性疾患⁹⁻¹¹⁾ 患者を対象に、血液粘度の上昇が臨床的に確認されており、血液粘度上昇がこれらの疾患の進展に関与していることが判明している。

バーゲン・ボアズイユの法則によれば、ある一定の細管においては、 $Q = \pi \Delta p R^4 / 8L \eta$ （ Q ：液体の液量、 Δp ：圧力差、 R ：半径、 L ：長さ、 η ：粘度）の式が成り立つ。つまり、粘度の上昇により液量は減少するので、液量を維持させ

るには圧力を上げる必要がある。心疾患系の患者において血液粘度の上昇は心臓への負荷を増大させるが、高地でのトレーニングにおいても血液粘度の上昇は心臓への負荷を増大させると考えられる。

MCV, MCH, S-F eの変動については、いずれも基準値内の変動であり、生体への影響は考えにくい。S-F eは食事による影響、MCVとMCHについては赤血球の増産によるためかもしれない。

今回の結果では、赤血球変形能改善作用のあるEPAを成分とする魚油濃縮物を高地トレーニングにおいて摂取することが、選手の末梢での血流を良好に保つことに役だった。このことから酸素分圧が低い環境でも末梢への酸素供給が維持されるために、魚油を投与された生体は赤血球の産生を必要とせず、非投与群に比べヘマトクリットが上昇にしないものと考えられた。結果としてハードなトレーニングが要求される場合に心臓への負荷の軽減、全身機能への影響の緩和が期待された。即ち、魚油濃縮物の摂取は安全かつ効果的なトレーニングを維持する上で有用な方法と考えられた。現在、魚油摂取の全身機能（主として持久力）に対する効果について検討しており、今後報告して行きたい。

5. まとめ

男子駅伝選手 12 名を無作為に 2 群に分け、1 群には魚油濃縮物（EPA : 1.6g/日）を投与し、対照群にはプラセボとしてオリーブ油カプセルを投与した。高地トレーニング前後の測定による比較では、魚油投与群において赤血球膜中の EPA 含量が約 1.5 倍に増加し、赤血球変形能の有意な上昇が認められた。対照群では赤血球数が増加傾向であった。

通常、高地では赤血球数が増加するにもかかわらず、魚油投与群で赤血球数が増加しなかった理由として、EPA 摂取により赤血球変形能が上昇し末梢への血流がよくなったことが考えられる。高地トレーニングにおける赤血球数の増加は心臓への負荷をさらに増大させるので、トレーニング開始前からの EPA 摂取によって激しいトレーニングをより安全で効果的なものにできれば、結果として、競技者の心肺機能の向上、持久能の向上に貢献し得ると考えられる。

参考文献

- 1) Dyerberg J, Bang HO Hjerne N. Fatty acid composition of the plasma lipids in Greenland Eskimos. Am. J. Clin. Nutr. 28: 958-966, 1975.

- 2) Dyerberg J, Bang HO. Hemostatic function and platelet polyunsaturated fatty acids in Eskimos. *Lancet* ii: 433-435, 1979.
- 3) Kobayashi S, Hirai A, Terano T, Hamazaki T, Tamura Y, Kumagai A. Reduction in blood viscosity by eicosapentaenoic acid. *et Lancet* ii: 197, 1981.
- 4) Terano T, Hirai A, Hamazaki T, Kobayashi S, Fujita S, Tamura Y, Kumagai A. Effect of oral administration of highly purified eicosapentaenoic acid on platelet function, blood viscosity and red blood cell deformability in healthy human subjects. *Atherosclerosis* 46: 321-331, 1983.
- 5) Hamazaki T, Kobayashi S, Urakaze M, Yano S, Fujita T. Viscosities of some triglycerides and ethylester of fatty acids frequently found in cell membranes—a possible effect of viscosity of fatty acids in phospholipids on hemorheology. *Biorheology* 22: 221-226, 1985.
- 6) Kobayashi S, Hamazaki T, Hirai A, Terano T, Tamura Y, Kanakubo Y, Yoshida S, Fujita T, Kumagai A. Epidemiological and clinical studies of the effect of eicosapentaenoic acid (EPA, $C_{20:5}\omega-3$) on blood viscosity. *Clin. Hemorheol* 5: 493-505, 1985.
- 7) Kobayashi S, Hamazaki T, Sawazaki S, Nakamura H. Reduction in the ADP Release from Shear-stressed Red Blood Cell by Fish Oil Administration. *Thrombosis Research* 65: 353-364, 1992.
- 8) Levine BD, Gundersen JS. A practical approach to altitude training. Where to live and train for optimal performance enhancement. *Int. J. Sports Med.* 13 Suppl. 1: S209-12, 1992.
- 9) Dormandy JA, Hoare E, Collet J, Arrowsmith DE, Dormandy TL. Clinical Haemodynamic, Rheological and Biochemical Finding in 126 Patients with Intermittent Claudication. *Br. Med. J.* 4: 576-581, 1973.
- 10) Letcher RL S, Chein Pickering TG, Sealey JE, Laragh JH. Direct Relationship Between Blood Pressure and Blood Viscosity in Normal and Hypertensive Subjects. *Am. J. Med.* 70: 1195-1202, 1981.

- 11) Dodds AJ, Boyd MJ, Allen J, Bennett ED, Flute PT, Dormandy JA Changes in red cell deformability and other haemorrheological variables after myocardial infarction. Br. Heart. F. 44: 508-511, 1980.
- 12) Grover RF, Reeves JT, Grover EB, Leathers JE. Muscular exercise in young man native to 3100m altitude. J. Appl. Physiol. 22: 555-564, 1967.
- 13) Squires RW, Buskirk ER, Aerobic capacity during acute exposure to simulated altitude, 914 to 2286 meters. Med. Sci. Sports Exerc. 14: 36-40, 1982.