一過性の Weight Training による血清 Creatine Kinase 活性の二相性変動とその特性

徳田 修司* 飯 干 明* 尾辻 省 悟**

BIPHASIC CHANGES AND CHARACTERISTICS IN SERUM CREATINE KINASE ACTIVITY DUE TO TRANSIENT WEIGHT TRAINING

SHUJI TOKUDA, AKIRA IIBOSHI and SHOGO OTSUJI

Abstract

Serum creatine kinase (CK) activity and myoglobin (Mb) level showed biphasic changes due to transient weight training. The first peak appeared within one day and the second peak appeared within several days after training.

We investigated the characteristics of each peak by measuring the total CK and CK isoenzymes (CK-MM, -MB, -BB) activities.

The results were as follows:

1) The first peak of Mb level appeared sooner than that of total CK activity. In two untrained subject, the second peak of total CK activity and Mb level were higher than the first peak.

2) The CK activity within four hours after training was that of CK-MM. CK-MB and -BB activities did not appear immediately after training, but they appeared within one day after training. CK-MB activity showed the highest value on the fifth day, and CK-BB activity was highest on the seventh day. Appearance of CK-BB activity was more apparent in the untrained than in the trained subjects.

3) The mean ratio of CK-MB activity to total CK activity was 5.3 % on the fifth day, and that of CK-BB activity was 2.9 % on the seventh day. These ratios were the highest among ratios in the post-training period.

It is suggested that the first peak represents a transient enzyme leakage into the blood stream, as the result of damaged muscles, especially in untrained subjects, while the second peak which appeared within several days after training represents, at least to some extent, the participation of ontogenetic muscle regeneration.

(J. Physical Fitness Japan 1985, 34 : 218~224)

key words : Creatine kinase, Biphasic change, Transient weight training

I. は じ め に

クレアチンキナーゼ (creatine kinase E. C. : 2.7.3.2 以下 CK)は、激しい筋運動により血中に逸脱するが、運動後2時間から2日目までに第1

のピークがみられ、その後回復過程の数日間のうちに第2のピークが出現し、血中で二相性の変動を示す。また血中ミオグロビン(以下 Mb)も CKと同じように激しい一過性の筋運動によって明らかな二相性の変動を示し、これらの結果について

* 鹿児島大学教養部保健体育教室
〒890 鹿児島市郡元一丁目21番30号

** 鹿児島大学医学部附属病院検査部
〒890 鹿児島市宇宿町1208-1

*Division of Health and Physical Education, Faculty of Liberal Arts,
Kagoshima University, 1-21-30 Korimoto, Kagoshima 890, Japan*
*Department of Clinical Laboratory, Kagoshima University Hospital,
Faculty of Medicine, Kagoshima University, 1208-1 Usuki-Cho,
Kagoshima 890, Japan*

はすでに報告¹⁶⁾した。

CK は骨格筋、心筋中に多く存在し、M(muscle)と B(brain)の2つの subunit からなる二量体である。電気泳動により3つの分画すなわち MM, MB および BB に分けられる⁶⁾⁷⁾。CK-MM は筋疾患や激しい筋運動により、CK-MB は急性心筋梗塞などの心筋疾患時に血中に増加することが知られている。

一方、個体発生学的研究により CK-MB, CK-BB は胎児の筋で確認され、また壊死した筋の再生がおこる時期や萎縮した筋が再生する時期にみられるという報告¹¹⁾²¹⁾²⁴⁾もある。

非鍛練者では、筋中の CK や Mb は運動後数日経過してからも血中へ逸脱し、第1のピークより第2のピークの方が CK 活性および Mb 値が高くなる。また第2のピークと筋痛のもっとも激しい時期ともほぼ一致している¹⁶⁾。このような運動後の回復期にみられる二相性の変動現象は、CK アイソザイムの臓器特異性や個体発生という観点から非常に興味深い現象である。

本研究では、一過性の激しい筋運動によっておこる血中 CK および Mb の二相性変動を再検討するとともに、さらに CK アイソザイムの変動を手がかりとして二相性のピークの特性について検討した。

II. 方 法

A. 被験者

被験者として健康な男子5名 (Table 1) を対象とした。被験者のうち3名 (KO, TM, YO) は、日頃全く運動する機会のない非鍛練者であり、残りの2名 (AI, ST) は、週に2～3日位軽度の運動をする中等度の鍛練者である。

B. 運動の負荷

被験者は十分な準備運動を行ない、その後 half-squat, bench-press, hands-curl および sit-up の4種類の運動の最大負荷量を求めるための試技を行った。その30分後に求めた最大負荷の70～80%の負荷でそれぞれ10回ずつ3セットの運動を行なわせた。

C. 材料と測定方法

採血は運動前、運動後2時間、4時間、1日後、2日後、3日後、5日後、7日後および11日後の計9回、それぞれ前腕正中静脈より行なった。運動1日後からの採血時間は午前10時とした。

採血した静脈血は遠心 (2,500 rpm×10分) し血清を分離した。血清中の CK アイソザイムは可及的すみやかにカラム法⁴⁾により分画し、それぞれの分画の活性は酵素法により測定した。測定には UV 用 CK アイソザイム「フジサワ」(米国, ウォーシントン社製) のキットおよび島津 UV-200S ダブルビーム分光光度計を用いて行なった。各分画ごとに測定したそれぞれの活性の総和を総 CK 活性とし、総 CK 活性に対する各分画の割合をもとめた。一部の血清は-60℃に保存しておき、血清 Mb を測定した。Mb は Radioimmunoassay Kit (栄研) を用い Auto-well gamma system ARC-451 (Aloka 社製) で測定した。

III. 結 果

A. 総 CK 活性

運動後の2時間から総 CK 活性は高くなり、2日後になって全例が一時的に下がったが、3日後には再び全例で高くなった (Fig. 1)。5日目に非鍛練者の TM, YO の2例で最高のピークがみられ、それぞれ安静時の48.6倍、9.7倍であった。TM,

Table 1. Subjects studied.

Males	Age (yr)	Height (cm)	Weight (kg)	Training experience
KO	20	169.0	70.0	untrained
TM	20	163.0	57.5	"
YO	20	180.0	73.0	"
AI	29	173.0	62.0	moderately trained
ST	33	174.0	75.0	"

Fig. 1. Changes in total serum CK activity due to transient weight training.

Fig. 2. Changes in serum CK-MM activity due to transient weight training.

YO は 7 日後も依然として高い値を示した。11 日後には TM をのぞいた 4 例が正常値まで低下した。

B. CK-MM 活性

CK-MM では Fig. 2 に示すように、運動の 2 時間後から 2 日後に第 1 のピーク、2 日目から 11 日目に第 2 のピークがみられ、総 CK 活性と同じパターンを示した。特に非鍛練者の TM と YO には第 2 のピークの著明な増加がみられた。CK-MM 活性の総 CK 活性に対する割合は運動後 4 時間まで 100% で、運動後 1, 2, 3, 5, 7 および 11 日目の平均は 95.0% であった。5 日目は最も低く 93.1% であった。

C. CK-MB 活性

Fig. 3 に CK-MB 活性の変動を示す。活性は運動後 2 時間と 4 時間ではみられなかったが、1, 2, 3 および 5 日目には全例に CK-MB 活性がみられ、それぞれの活性値の平均は本測定法による正常範囲 (0-2.7 U/l, N=81) より高い値であった。非鍛練者の TM と YO では、CK-MM 活性の最も高い値を示した 5 日目に CK-MB 活性も最も高い値を示した。

Fig. 3. Changes in serum CK-MB activity due to transient weight training.

CK-MB 活性の総 CK 活性に対する割合は 1, 2 および 3 日目でそれぞれ 4.0%, 3.5%, 3.2%, 5 日目に 5.3%, 7 日目に 2.2%, 11 日目に 3.6%

Fig. 4. Changes in serum CK-BB activity due to transient weight training.

(いずれも5例の平均)であり、5日目が最も高い値であった。

D. CK-BB 活性

Fig. 4 に CK-BB 活性の変動を示す。CK-BB 活性は CK-MB 活性と同様運動後2時間と4時間にはみられなかった。運動後1日経過してから活性がみられ、その活性値の平均は本測定法による正常範囲(0-0.55U/l, N=80)を上回っていた。

CK-BB 活性の総 CK 活性に対する割合は、1, 2 および 3 日目でそれぞれ 0.96%, 0.66%, 0.96% 5 日目に 1.58%, 7 日目に 2.93%, 11 日目に 1.39% (いずれも5例の平均)であり、5, 7 日目にわずかに高くなっていた。

E. 血清 Mb 濃度

Fig. 5 に血清 Mb 濃度の変動を示す。運動後 2, 4 時間で全例が安静値より高い値を示し、1 日後には全例でいったん安静レベルまで低下した。しかし、5 例のうち 3 例が 2 日目には再び高くなり、非鍛練者の TM が 3 日目、YO が 5 日目にそれぞれ最大のピークを示した。この非鍛練者の 2 例は 11 日目になっても完全に安静レベルまで下らなかった。Mb は第 1 のピークでは CK よりも血中への逸脱がはやく、また安静レベルへの低下もはやかった。第 2 のピークがみられた 3 例は CK よりはっきりとした二相性の変動を示した。

IV. 考 察

過激な運動、とくにエキセントリックな運動において血中に Mb や筋酵素が多量に逸脱する¹³⁾²²⁾ことはよく知られているところであり、非鍛練者の場合、この現象がより強くあらわれる¹³⁾¹⁶⁾。これら Mb, CK や乳酸脱水素酵素などの血中または尿中への増加は筋の損傷を示唆している¹¹⁾⁹⁾。本実験でもとくに非鍛練者の TM と YO に Mb と CK の著明な血中への逸脱がみられたことから、筋の損傷がおこったものと考えられる。

Guy & Snow¹²⁾は馬での実験で、15週間のトレーニング終了後から10週にわたり筋中の酵素の変動を追究し二相性に変動したと報告し、Armstrong et al.³⁾もラットを用いた実験で、運動直後と運動後36~48時間の両方で血漿酵素の有意な増加がみられたと報告している。これらの報告や著者らの前報¹⁶⁾での結果は本研究での CK, Mb の血中への逸脱が明らかに二相性に変動すると思われる知見と一致する。一方、Kuipers et al.¹⁸⁾は

Fig. 5. Changes in serum Mb levels due to transient weight training.

ラットを用いた組織学的実験で運動直後に後肢筋の変性を観察し, 時間の経過とともにその変性は大きくなり, 24~48時間でもっとも著明な変性がみられたと報告している. また Fridén et al.¹⁰⁾によると, 人のエキセントリックな運動後2日目から数日で筋線維の収縮機構に部分的な歪みがみられるという. すなわち組織学的にも筋は過激な運動によって急性の損傷をうけ, 損傷は時間の経過とともに変化していることが示唆される. したがって本研究での CK, Mb の二相性の変動も筋組織の損傷による細胞の変性によって起こったものと考えられる.

実験的に筋に変性をおこし, その後の筋の再生について検討した研究は多い⁵⁾¹⁷⁾¹⁸⁾²⁷⁾. これらの結果をまとめると, 筋の再生や増殖は2~10日後に始まるものと推測される. 筋再生の始まる時期について差がみられるのは, 筋の変性のおこさせたの違いによるものと考えられる. またこれらの中には, 筋の再生時にみられる satellite cell²⁰⁾の出現を示唆しているものもある.

ヒトの胎児においては妊娠4~5ヶ月で CK-BB から CK-MB, CK-MM への変換が起こり¹¹⁾, 成人の骨格筋では MM がほとんどであり, 新鮮な試料でわずかに MB がみられ BB は全くみられない. Wiesmann et al.²⁷⁾は, 筋や血管の増殖は筋内酵素活性の増大によって示され, CK-MB, CK-BB の活性は再生筋の myoblast と myotubular elements に関係があると述べ再生筋での CK-MB と CK-BB の出現を報告している. また, Eppenberger et al.⁹⁾も CK の合成は myoblast と myocell の段階ではじまり, myoblast の段階では CK-BB のみ存在し, myocell の段階になると CK-MB が生ずると述べている. しかもこの段階では myofibril が存在しないのにリズミカルな収縮がおこっているという. 嶋田²³⁾は, CK のレベルは筋細胞の融合に比例することがわかっているため, CK/mg DNA を計算することにより融合を正確にしかも定量的に調べることができるとしている⁸⁾. これらのことから, 筋が損傷を受けると2~10日のうちには筋の再生, 増殖がはじまり, 同時に個体発生学的支配のもとに CK が産生され

ると考えられる.

筋中酵素の変動は, 血中への逸脱によって間接的に知ることができる. 筋中の酵素の血中への逸脱については多くの考え方があるが, 筋中から血中への連続的移行つまり膜の透過性の増大に原因を求める場合¹⁴⁾¹⁹⁾²⁹⁾が多い. しかし膜の透過性の変化についても, 膜のイオン分布が変わるという考え, 酸素の欠乏によるとするもの¹⁵⁾, ATP などのエネルギー源の潤渇によるとするもの¹⁹⁾²⁸⁾など定説がない. 膜の透過性の変化は膜の構造的損傷を伴っており, 初期の可逆的な変化は非可逆的な変化へと進行し, 急性の細胞傷害は細胞死へ移行してゆく¹⁹⁾²⁵⁾. Schwane et al.²²⁾や Kuipers et al.¹⁸⁾が述べているように運動後に末梢では白血球増多, 筋では細胞浸潤がみられ, 筋では炎症がおこっていると考えられる. Vihko et al.²⁶⁾は過激な運動後5日目にライソゾーム系酵素とくに acid hydrolase が有意に高くなっており, 損傷部位では autophagia による組織の除去がおこると述べている.

運動後の血中 CK-MB の増加を心筋障害と関連があるとするもの¹³⁾, あるいは骨格筋由来であるとするもの²⁾などがある. 筋の再生時に CK-MB が出現する発生学的段階があり¹¹⁾, 本研究でもウェイト・トレーニング後1日目から11日目まで CK-MB 活性がみられ, そのレベルが著しく正常範囲を超えた例があったこと, トレーニング後1日目から CK-BB 活性がみられ, そのレベルも正常範囲より高くとくに5日目から7日目にはより高くなる傾向がみられたことなどから, 本実験における運動後の CK-MB 活性の増大は骨格筋由来のものと考えられる. これらのことから, 本実験でみられた第1のピークはその分画が主に CK-MM であったことから, 急性の筋細胞損傷による筋中 CK の血中への逸脱によるものと考えられる. 一方, 第2のピークでは正常範囲より高い CK-MB と CK-BB の両分画の活性がみられ (とくに非鍛練者において極めて高い CK-MB 活性がみられた), このピークは数日おくらせて出現したことなどから, 運動後損傷した筋に再生作用がおこっていることが示唆される. その結果, 筋で CK

が増加しており, Olerud et al.¹⁹⁾が述べているように損傷した細胞の修復過程で膜の透過性が増大し血中へ多量に逸脱してきたものと考えられる。

V. ま と め

激しい筋運動後の血清 CK 活性の変動とその特性を明らかにするため, 5 例の成人男子被験者に 70~80% max の負荷による一過性の weight training を行なわせ, 運動前から運動後 11 日目までの血清総 CK 活性, CK アイソザイム活性および Mb 濃度の変動について検討を加え以下の結果をえた。

A. 総 CK 活性は二相性の変動を示し, 運動の 2 時間後から 2 日後に第 1 のピーク, 2~7 日後に第 2 のピークがみられた。とくに非鍛練者での変動が著明であり, 2 例は運動後 11 日目もまだ高い値を示した。

B. CK-MM 活性は総 CK 活性と同様の変動を示した。CK-MB 活性は運動後 2~4 時間までみられず, 1 日後から 11 日後までみられた。非鍛練者の 2 例はこの現象が著明であり, 5 日後にもっとも高い値を示した。CK-BB 活性は運動後 2~4 時間にはみられず, 1 日後から活性がみられた。

C. 総 CK 活性に対する CK-MB, CK-BB 活性の占める割合はそれぞれ平均値で 5 日目と 7 日目が大きくなった。

D. 血清 Mb 濃度は, 二相性の変動を示し, 運動の 2 時間後から 1 日後に第 1 のピーク, 1 日後から 7 日目の間に第 2 のピークがみられた。非鍛練者の 2 例は, 第 2 のピークが第 1 のピークより高い値を示した。

E. 血清総 CK 活性および Mb 濃度の二相性変動は, 非鍛練者においてより著明であった。

以上のことから, 激しい一過性の weight training により血清 CK 活性と Mb 濃度は運動後確実に (とくに非鍛練者において) 二相性に変動することがわかった。さらに, 運動直後からみられる第 1 のピークは筋の損傷により一過性に血中へ逸脱したものであり, 運動後数日してからみられる第 2 のピークには筋の再生が一部関与して

いるものと考えられた。

(受付 昭和 59 年 12 月 10 日)

文 献

- 1) Abraham, W. M.(1977) : Factors in delayed muscle soreness. *Med. Sci. Sports*, **9**, 11-20.
- 2) Archer, J. D.(1982) : Elevated CK-MB levels in marathon runners. *J. A. M. A.*, **247**, 2368-2369.
- 3) Armstrong, R. B., Garshnek, V. and Schwane, J. A.(1980) : Muscle inflammation ; Response to eccentric exercise. *Med. Sports Exercise*, **12**, 94-95.
- 4) Bondar, R. J. L., Shevchik, D. G., Hsu, M.-Y. and Kohler, M. M.(1980) : Improved separation of creatine kinase isoenzymes by use of DEAE-sepharose CL-6B. *Clin. Chem.*, **26**, 618-624.
- 5) Clark, W. E. L. G.(1946) : An experimental study of the regeneration of mammalian striped muscle. *J. Anat.*, **80**, 24-36.
- 6) Dawson, D. M., Eppenberger, H. H. and Kaplan, N. O.(1965) : Creatine kinase ; Evidence for a dimeric structure. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **21**, 346-353.
- 7) Dawson, D. M. and Fine, I. H.(1967) : Creatine kinase in human tissues. *Arch. Neurol.*, **16**, 175-180.
- 8) Dienstman, S. R. and Holtzer, H.(1975) : Myogenesis ; A cell lineage interpretation.(ed. by Reinert, J. and Holzer, H.), P. 1, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York. [嶋田 裕 (1977) : 筋細胞の形態分化. *代謝*, **14**, 253-261. より引用]
- 9) Eppenberger, H. M., Eppenberger, M., Richters, R. and Aebi, H.(1964) : The ontogeny of creatine kinase isozymes. *Develop. Biol.*, **5**, 363-381.
- 10) Fridén, J., Sjöström, M. and Ekblom, B.(1981) : A morphological study of delayed muscle soreness. *Experientia*, **37**, 506-507.
- 11) Goto, I., Nagamine, M. and Katsuki, S.(1969) : Creatine phosphokinase isozymes in muscles. Human fetus and patients. *Arch. Neurol.*, **20**, 422-429.

- 12) Guy, P. S. and Snow, D. H.(1977) : The effect of training and detraining on muscle composition in the horse. *J. Physiol.*, **269**, 33-51.
- 13) Hansen, K. N., Bjerre-Knudsen, J., Brodthagen, U., Jordal, R. and Paulev, P.-E.(1982) : Muscle cell leakage due to long distance training. *Eur. J. Appl. Physiol.*, **48**, 177-188.
- 14) Haralambie, G.(1973) : Neuromuscular irritability and serum creatine phosphate kinase in athletes in training. *Int. Z. angew. Physiol.*, **31**, 277-288.
- 15) Highman, B. and Altland, P. D.(1960) : Serum enzyme rise after hypoxia and effect of autonomic blockade. *Am. J. Physiol.*, **199**, 981-986.
- 16) Iiboshi, A., Tokuda, S. Nishimura, T. and Otsuji, S.(1982) : Biphasic changes of blood myoglobin level in weight training. *J. Sports Med.*, **22**, 284-294.
- 17) Kasper, U., Wiesmann, U. and Mumenthaler, M. (1969) : Necrosis and regeneration of the tibialis anterior muscle in rabbit. I. Histological changes following the ligation of the tibialis anterior artery. *Arch. Neurol.*, **21**, 363-372.
- 18) Kuipers, H., Drukker, J., Frederik, P. M., Geurten, P. and Kranenburg, G. V.(1983) : Muscle degeneration after exercise in rats. *Int. J. Sports Med.*, **4**, 45-51.
- 19) Olerud, J. E., Homer, L. D. and Carroll, H. W. (1976) : Incidence of acute exertional rhabdomyolysis. Serum myoglobin and enzyme levels as indicators of muscle injury. *Arch. Intern. Med.*, **136**, 692-697.
- 20) Salleo, A., Anastasi, G., Spada, G. L., Falzea, G. and Denaro, M. G.(1980) : New muscle fiber production during compensatory hypertrophy. *Med. Sci. Sports Exercise*, **12**, 268-273.
- 21) Schapira, F., Dreyfus, J. C. and Schapira, G. (1970) : Ontogenic evaluation and pathological modifications of molecular forms of some isoenzymes. *FEBS Symposium*, **18**, 305-320.
- 22) Schwane, J. A., Johnson, S. R., Vandenakker, C. B. and Armstrong, R. B.(1983) : Delayed-onset muscular soreness and plasma CPK and LDH activities after downhill running. *Med. Sci. Sports Exercise*, **15**, 51-56.
- 23) 嶋田 裕(1977) : 筋細胞の形態分化. 代謝, **14**, 253-261.
- 24) Takahashi, K., Shutta, K., Matsuo, B., Takai, T., Takao, H. and Imura, H.(1977) : Serum creatine kinase isoenzymes in Duchenne muscular dystrophy. *Clin. Chim. Acta*, **75**, 435-442.
- 25) Trump, B. F., Berezesky, I. K., Collan, Y., Kahng, M. W. and Mergner, W. J.(1976) : Recent studies in pathophysiology of ischemic cell injury. *Beitr. Pathol.* **158**, 363-388.
- 26) Vihko, V., Salminen, A. and Rantamaki, J. (1979) : Exhaustive exercise, endurance training and acid hydrolase activity in skeletal muscle. *J. Appl. Physiol. : Respirat. Environ. Exercise Physiol.*, **47**, 43-50.
- 27) Wiesmann, U., Kasper, U. and Mumenthaler, M. (1969) : Necrosis and regeneration of the tibialis anterior muscle in rabbit. II. Biochemical changes : Lactate dehydrogenase, creatine kinase and their isoenzymes in serum and muscle. *Arch. Neurol.*, **21**, 373-380.
- 28) Wrogemann, K. and Pena, S. D. J.(1976) : Mitochondrial calcium overload : A general mechanism for cell-necrosis in muscle diseases. *Lancet*, **27**, 672-673.
- 29) Zierler, K. L.(1956) : Movement of aldolase from exercised rat diaphragm. *Am. J. Physiol.*, **185**, 1-11.