運動強度の差が ammonia および oxypurines 動態に及ぼす影響

小笠原 正 志* 秦 野 伸 二* 春日井 淳 夫*
伊 藤 朗* 井 川 幸 雄**

EFFECT OF THE DIFFERENCE OF EXERCISE INTENSITY ON THE CHANGES IN AMMONIA AND OXYPURINES

MASASHI OGASAWARA, SHINJI HADANO, ATSUO KASUGAI,
AKIRA ITO and SACHIO IKAWA

Abstract

We investigated the effect of the difference of exercise intensity on the changes in ammonia and oxypurines (hypoxanthine + xanthine). The subjects were 7 male university students who belonged to the Judo club. By using a bicycle ergometer with the same total work load (kpm), they performed following exercise: light exercise ($27.1 \pm 0.8\%$ HRmax), moderate exercise ($72.6 \pm 2.5\%$ HRmax) and exhaustive exercise. After light exercise, blood ammonia, serum oxypurines and urinary oxypurines excretion did not increase. Urinary uric acid excretion increased significantly, but serum uric acid decreased slightly. After moderate exercise, the significant increase was observed with blood ammonia ($+35.3 \pm 5.9 \mu\text{mol/l}$). Urinary oxypurines excretion also increased significantly, while serum oxypurines did not change. Also, serum uric acid rose slightly. After exhaustive exercise, the significant increase was observed with blood ammonia, serum oxypurines and serum uric acid. Each peak level and appearance time were $+67.2 \pm 15.1 \mu\text{mol/l}$ after 3 min, $+31.4 \pm 7.6 \mu\text{mol/l}$ after 30 min, $155.7 \pm 39.9 \mu\text{mol/l}$ after 1 hr of exercise, respectively. These results suggest that AMP deamination occur during moderate intensity, while remarkable production of oxypurines which lead the increase of serum uric acid occur in higher exercise intensity.

(Jpn. J. Phys. Fitness Sports Med. 1988, 37 : 85~92)

key words : oxypurines, uric acid, ammonia, exercise intensity.

I. 緒 言

運動時の尿酸生成は、adenine nucleotide が分解し、プリン代謝が高進するために起こることが報告されている^{14, 16, 28)}。血中あるいは尿中において、プリン代謝の高進を推定できる物質として、ammonia (以後 NH_3 と略)、inosine, hypoxanthine, xanthine, および尿酸が挙げられる。本研究では、骨格筋中において adenosine monophosphate (以後 AMP と略)の脱アミノ化($\text{AMP} \rightarrow \text{IMP} + \text{NH}_3$)によって生成される NH_3 ^{3, 5, 15, 20)}, nucleoside で

ある inosine から ribose が遊離した oxypurines (hypoxanthine + xanthine), さらにプリン最終代謝産物である尿酸について検討した。

運動時におけるこれら代謝物質の動態については、数多くの研究があるが^{1~3, 8, 14, 16, 19, 20, 28, 29, 32)}、運動強度の違いについて検討したもの、あるいは運動後の動態を長時間にわたり観察したものはみられない。

そこで、本研究では、軽・中・重の3種強度の運動負荷を実施し、運動終了5時間後までの NH_3 および oxypurines の動態について検討した。

*筑波大学体育科学系運動生化学研究室
〒305 茨城県つくば市天王台1-1-1

**東京慈恵会医科大学臨床検査医学教室
〒105 東京都港区西新橋3-25-8

Laboratory for exercise biochemistry, Institute of Health and Sports Science, The University of Tsukuba.

The department of laboratory medicine, The Jikeikai University School of Medicine.

II. 実験方法

A. 被検者

被検者は, 本研究の主旨に賛同した20~23歳の大学柔道部員男性7名である.

B. 運動負荷法

運動負荷は, モナーク社製自転車エルゴメーターを用い毎分60回転に固定した. 最初に, exhaustive exercise (以後 exhaustive ex. と略) を負荷漸増法 (3.0 kp より毎分 0.25 kp ずつ漸増) により実施し, 最高心拍数および総運動量を測定した. 約1週間後に, 各被検者の exhaustive ex. 時における総運動量と同一量で70% HRmax を目標とし, 固定負荷法による moderate exercise (以後 moderate ex. と略), さらに約1週間後に, 同一運動量で30% HRmax を目標とし, 固定負荷法による light exercise (以後 light ex. と略) を実施した.

C. 採血・採尿法

各実験は, すべて実験室で行い, 当日は被検者を起床後できる限り静かに来室させ, ただちに完全排尿させた. 運動前の採血・採尿は, 1時間以上の座位安静保持後行った. 運動負荷終了後は座位安静を保持させ, 採血は3分, 30分, 1, 2, 3, 5時間後に肘正中皮静脈から約10 ml 採取し, 採尿は3分, 30分, 1, 2, 3, 4, 5時間後に行った.

D. 食事について

実験前日の食事は規定しなかったが, アルコール摂取は血清尿酸値を上昇させるため⁹⁾に禁じた. 実験当日は, 実験終了まで飲食を禁じた.

E. 測定項目・測定方法

測定項目および測定方法(カッコ内)は, 血清・尿中 oxypurines 値 (xanthine oxidase-peroxidase 法⁷⁾), 血清・尿中尿酸値 (uricase-peroxidase 法²⁴⁾), 血中乳酸値 (UV 法⁶⁾), 血中 NH₃ 値 (奥田・藤井法¹⁸⁾), 心拍数 (胸部誘導法) である.

F. 検体処理

血液 2 ml を 10% EDTA 混液を含む試験管に加え, 10% タングステン酸 1 ml を添加し, さらに 1 N 硫酸 1 ml を滴下してよく混和し, 25℃で10分

間インキュベートした後, 3,000 rpm で10分間遠心分離し, その上清を NH₃ の測定に供した. また, 血液 0.5 ml を氷冷した 0.6 N 過塩素酸 1 ml に加えよく混和し, 3,000 rpm で10分間遠心分離し, その上清を血中乳酸の測定に供した. oxypurines および尿酸測定のための血清は, 採血後10分以内に 3,000 rpm で10分間遠心分離して得た. 尿は, 測定項目に応じて希釈し, 測定に供した.

G. 統計処理

各項目の値は, すべて平均±標準誤差で示した. 運動前値に対する運動負荷後値の差の検定は, paired-*t* test により行った. 各実験間の差の検定は, student's-*t* test により行った.

III. 実験結果

Exhaustive ex. における最高心拍数は 188 ± 5 拍/分, 運動時間は 8.33 ± 0.38 分, 総運動量は $11,437 \pm 686$ kpm となった. これと同一運動量の moderate ex. の物理的強度は 3.4 ± 0.1 kp, 平均% HRmax は $72.6 \pm 2.5\%$, 運動時間は 10.46 ± 0.82 分となった. 同様に, light ex. の物理的強度は 1.0 ± 0.1 kp, 平均% HRmax は $27.1 \pm 0.8\%$, 運動時間は 30.50 ± 1.32 分となった.

これら exhaustive ex., moderate ex., light ex. における血清 oxypurines 値, 血清尿酸値, 血中 NH₃ 値, 血中乳酸値の変化を運動前値を基準とした増減値で示した (図1). 血清 oxypurines 値は, exhaustive ex. では, 運動終了30分後に最高値 $+31.4 \pm 7.6 \mu\text{mol/l}$ ($p < 0.01$) を示し, 5時間後には運動前値に回復した. しかし, moderate ex. および light ex. では, いずれも有意な変化がみられなかった. 血清尿酸値は, exhaustive ex. では, 1時間後に最高値 $+155.7 \pm 39.9 \mu\text{mol/l}$ ($p < 0.02$) を示し, 5時間後においてもなお高値を示した. Moderate ex. では, 3分後に上昇し, その後もほとんど低下しなかった. しかし, light ex. では, 運動後わずかに低下した. 血中 NH₃ 値 ($n=4$) は, exhaustive ex. では, 3分後に最高値 $+67.2 \pm 15.1 \mu\text{mol/l}$ ($P > 0.05$) を示し, その後は有意な変化を示さなかった. Moderate ex. では, 同

Fig. 1. The time course of serum oxypurines concentration ($n=7$), serum uric acid concentration ($n=7$), blood ammonia concentration ($n=4$), blood lactate ($n=7$) at 3 exercise intensities. Values are means $\pm$ S. E. * $P<0.05$, ** $P<0.02$, *** $P<0.01$, **** $P<0.001$ statistically significant compared to pre value. E: exhaustive exercise, M: moderate exercise, L: light exercise.

様に 3 分後に最高値 $+35.3 \pm 5.9 \mu\text{mol/l}$ ($P<0.02$) を示し、30分後には運動前値に回復した。しかし、light ex. では、有意な変化が見られなかった。血中乳酸値は、exhaustive ex. では、3 分後に最高

値を示し、1 時間後にはほぼ運動前値に回復した。Moderate ex. では、同様に 3 分後に最高値を示し、1 時間後に運動前値に回復した。light ex. では、運動後わずかな低下がみられた。

3種の運動時における尿中 oxypurines 排泄量および尿中尿酸排泄量の変化を運動前値を基準とした増減量で示した(図2)。尿中 oxypurines 排泄量は, exhaustive ex. では, 運動直後から有意に増加し, 30分~1時間尿で最高値 $+4.26 \pm 0.92 \mu\text{mol/min}$ ($P < 0.01$)を示し, その後徐々に減少したが, 4~5時間尿においてもなお有意であった。Moderate ex. では, 30分~1時間尿で最高値 $+0.84 \pm 0.23 \mu\text{mol/min}$ ($P < 0.02$)を示し, その後減少したが2~3時間尿まで有意であった。しか

し, light ex. では有意な変化が見られなかった。尿中尿酸排泄量は, exhaustive ex. では, 3分~30分尿で最低値を示した後に増加し, 2~3時間尿で最高値を示し, 4~5時間尿においてもなお有意な高値を示した。Moderate ex. では, 3分~30分尿で有意な減少がみられ, 1~2時間尿で一過性の増加を示したが, 3時間後に運動前値に回復した。しかし, light ex. では, 運動後増加する傾向が見られた。

尿酸および oxypurines の累積尿中排泄量の変

Fig. 2. The time course urinary oxypurines excretion ($n=7$) and urinary uric acid excretion ($n=7$) at 3 exercise intensities. Values are means $\pm$ S. E. * $P < 0.05$, ** $P < 0.02$, *** $P < 0.01$, **** $P < 0.001$ statistically significant compared to pre value. E : exhaustive exercise, M : moderate exercise, L : light exercise.

Fig. 3. Changes in cummulation of urinary oxypurines excretion and urinary uric acid excretion after exercise at 3 exercise intensities ($n=7$). Values are means $\pm$ S. E. * $P<0.05$, ** $P<0.02$, *** $P<0.01$ statistically significant compared with light exercise. E: exhaustive exercise, M: moderate exercise, L: light exercise.

化を図3に示した。累積尿中 oxypurines 排泄量は、運動強度の順に高値を示し、運動終了5時間後においては、exhaustive ex. で $477.1 \pm 99.9 \mu\text{mol}$, moderate ex. で $122.9 \pm 27.2 \mu\text{mol}$, light ex. で $74.3 \pm 14.6 \mu\text{mol}$ であった。一方、累積尿中尿酸排泄量は、必ずしも運動強度の順に高値を示さず、5時間後においては、exhaustive ex. で $1,580.1 \pm 196.3 \mu\text{mol}$, moderate ex. で $1,045.7 \pm 164.3 \mu\text{mol}$, light ex. で $1,091.6 \pm 106.8 \mu\text{mol}$ であった。

IV. 考 察

Light ex. では、血中 NH_3 値、血清 oxypurines 値および尿中 oxypurines 排泄量は、運動前値に比し運動後ほとんど変化しなかった。このことは、AMP の脱アミノ化がほとんど起こらないため、その後の inosine monophosphate (以後 IMP と

略) $\rightarrow$ inosine $\rightarrow$ oxypurines の反応系がほとんど高進しないことを示唆している(図4)。しかし、運動終了5時間後までの累積尿中尿酸排泄量は、exhaustive ex. の68.3%にもおよび、moderate ex. よりも多い傾向を示した。軽運動では、腎機能が高進することが知られており¹²⁾, light ex. では、尿酸生成はほとんど起こらないにもかかわらず、尿中排泄量が増加したために血清尿酸値が低下したと考えられる。この結果は、伊藤たちの報告¹¹⁾を支持するものである。

Moderate ex. および exhaustive ex. では、血中 NH_3 値は有意に上昇し、AMP の脱アミノ化が起こることが示唆された。血中乳酸値は、anaerobic threshold を越えると急激に上昇するが¹³⁾, この2種の強度の運動でも血中乳酸値の上昇がみられ、主なエネルギー供給源は解糖系であると考えられる。解糖系の高進は、energy charge を低

Fig. 4. Purine metabolism in man. ① AMP deaminase, ② 5'-nucleotidase, ③ purine nucleoside phosphorylase, ④ xanthine oxidase, ⑤ hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase, ⑥ adenosine deaminase.

下させ²³⁾, また乳酸の蓄積によって筋細胞内 pH を低下させる^{10, 22)}. これらの要因は, 筋中 AMP deaminase を活性化させることが知られており^{25, 26, 31)}, AMP の脱アミノ化の高進により adenylylate kinase の反応は ATP 再生の方向に活性化 (2 ADP → ATP + AMP) ののではないかと推察される.

Exhaustive ex. および moderate ex. では, ともに AMP の脱アミノ化が起こることが示唆されたが, moderate ex. では累積尿中 oxypurines 排泄量は exhaustive ex. の 25.8% であり, oxypurines 生成量が少なかった. Goodman and Lowenstein⁵⁾ は, 筋中 IMP 濃度の上昇に伴って, IMP から AMP に再合成される経路の中間物質である adenylosuccinate (sAMP) 生成は高進するが, IMP 濃度が 2.8 $\mu\text{mol/g}$ dry weight を越えると sAMP の生成量が減少することを報告している. このことから, moderate ex. では, AMP の脱アミノ化によって生じた IMP は, そのほとんどが, sAMP を経て AMP に再合成され, ino-

sine に分解された量がわずかであったために, oxypurines 生成量が少なかったと考えられる. しかし, exhaustive ex. では, IMP → sAMP → AMP 再合成も作用するが, IMP 生成量が多いため²³⁾ に, IMP の多くが inosine → oxypurines と代謝されたと推察される (図 4).

血清尿酸値は, exhaustive ex. 1 ~ 2 時間後にピークが現れるという点で特徴的である¹¹⁾. Exhaustive ex. では, 血中 NH_3 値の動態より, AMP の脱アミノ化はすでに運動中に高進し^{1, 19, 29)}, NH_3 の血中への放出が運動直後にピークになると推察される. しかし, 血清 oxypurines 値のピーク時間は運動終了 30 分後, さらに, 血清尿酸値のピーク時間は 1 時間後と遅れ, 両者には時間的ずれが認められた. Purine nucleoside phosphorylase 活性は, 筋細胞では低く血管壁や赤血球で高いため, inosine は筋細胞膜を透過し血管壁を通過するとき, あるいは血管壁を透過し赤血球にとりこまれたときに hypoxanthine に代謝されたと考えられている²¹⁾. この考えにしたがうと, 運動時の血清 oxypurines 値ピーク出現時間の遅れは, 過剰生成された inosine の細胞膜透過が遅延しているためと推察される. また, 血清尿酸値のピーク出現時間は, xanthine oxidase 活性が筋ではほとんどなく³⁰⁾, oxypurines が肝に運ばれてから尿酸に代謝されるため, oxypurines のピーク時間よりもさらに遅延するものと考えられる.

運動後上昇した血清尿酸値の回復が遅延するのは, 従来尿酸の尿中排泄低下によると考えられていた^{4, 17, 27)}. しかし, 尿酸排泄量は, ほぼ運動終了 1 時間後には回復しそれ以後は著しく高進した. このことは, 排泄低下が血清尿酸回復遅延の一つの要因ではあるが, 二義的なものであることを示唆している. 本研究において, 尿中 oxypurines 排泄量は, 運動終了 4 ~ 5 時間尿においても有意な高値を示し, なお oxypurines 生成が高進していると考えられる. したがって, 運動後の oxypurines の特長的な生成が, 血清尿酸値の回復を遅延させるのではないかと推察された. これについてはさらに詳細な検討が必要である.

V. ま と め

運動強度の違いが NH_3 および oxypurines(hypoxanthine・xanthine)の動態に及ぼす影響について検討した。被検者は、7名の大学柔道部員である。運動負荷は、自転車エルゴメーターを用い、exhaustive ex., それと同一運動量の moderate ex. ($72.6 \pm 2.5\%$ HRmax) および light ex. ($27.1 \pm 0.8\%$ HRmax) を実施した。結果は、以下の通りである。

1) Light exercise では、血中 NH_3 値および血清 oxypurines 値は上昇しなかった。しかし、尿中尿酸排泄量が有意に増加し、その結果血清尿酸値のわずかな低下を招いた。

2) Moderate ex. では、血中 NH_3 値の有意な上昇 ($+35.3 \pm 5.9 \mu\text{mol/l}$) がみられた。尿中 oxypurines 排泄量は、有意に増加したが、血清 oxypurines 値の上昇は見られなかった。血清尿酸値は、わずかではあるが有意に上昇した。

3) Exhaustive ex. では、血中 NH_3 値、血清 oxypurines 値、血清尿酸値の著しい上昇がみられた。ピーク値は、それぞれ $+67.2 \pm 15.1 \mu\text{mol/l}$, $31.4 \pm 7.6 \mu\text{mol/l}$, $+155.7 \pm 39.9 \mu\text{mol/l}$ であった。また、ピーク時間は、それぞれ運動3分後、30分後、1時間後であった。

(受付 昭和62年3月9日)

参 考 文 献

- Banister, E. W., Allen, M. E., Mekjavic, I. B., Singh, A. K., Legge, B. and Mutch, B. J. C. (1983): The time course of ammonia and lactate accumulation in blood during bicycle exercise. *Eur. J. Appl. Physiol.*, **51**, 195-202.
- Buono, M. J., Clancy, T. R. and Cook, J. R. (1984): Blood lactate and ammonium ion accumulation during graded exercise in humans. *J. Appl. Physiol.*, **57**, 135-139.
- Eriksson, L. S., Broberg, S., Björkman, O. and Wahren, J. (1985): Ammonia metabolism during exercise in man. *Clin. Physiol.*, **5**, 325-336.
- Ferris, T. F. and Gordon, P. (1968): Effect of angiotensins and norepinephrine upon urate clearance in man. *Am. J. Med.*, **44**, 359-365.
- Goodman, M. N. and Lowenstein, J. M. (1977): The purine nucleotide cycle. Studies of ammonia production by skeletal muscle in situ and in perfused preparations. *J. Biol. Chem.*, **252**, 5054-5060.
- Gutman, I. and Wahlefeld, A. W. (1974): L-(+)-Lactate In., Bergmeyer, H. U., *Methods of enzymatic analysis*, 2nd English ed., Vol. III, Verlag Chemie Weinheim. New York, 1464-1468.
- 秦野伸二, 三上俊夫, 伊藤 朗, 藤島鉄郎(1986): 酵素的比色法による Oxypurine (Hypoxanthine, Xanthine) 測定法の開発. *臨床病理*, **34**, 1070-1074.
- Harkness, R. A., Simmonds, R. J. and Coade, S. B. (1983): Purine transport and metabolism in man: the effect of exercise on concentrations of purine bases, nucleosides and nucleotides in plasma, urine, leucocytes and erythrocytes. *Clin. Sci.*, **64**, 333-340.
- Hartmann, H. and Forster, H. (1977): Studies on the influence of ethanol and lactic acid on uric acid metabolism. *Adv. Exp. Med. Biol.*, **76**, 509-518.
- Hermansen, L. and Osnes, J. -B. (1972): Blood and muscle pH after maximal exercise in man. *J. Appl. Physiol.*, **32**, 304-308.
- 伊藤 朗, 三上俊夫, 丹 信介, 後藤浩史, 井川幸雄(1984): 各種運動時の血清尿酸値の動態. *尿酸*, **8**, 38-45.
- Kachadorian, W. A. and Johnson, R. E. (1970): Renal responses to various rates of exercise. *J. Appl. Physiol.*, **28**, 748-752.
- Knuttgen, H. G. and Saltin, B. (1972): Muscle metabolites and oxygen uptake in short-term submaximal exercise in man. *J. Appl. Physiol.*, **32**, 690-694.
- Kono, N., Mineo, I., Shimizu, T., Hara, N., Yamada, Y., Nonaka, K. and Tarui, S. (1986): Increased plasma uric acid after exercise in muscle phosphofructokinase deficiency. *Neurology*, **36**, 106-108.
- Meyer, R. A. and Terjung, R. L. (1980): AMP deamination and IMP reamination in working

- skeletal muscle. *Am. J. Physiol.*, **239**, C 32-C 38.
- 16) Mineo, I., Kono, N., Shimizu, T., Hara, N., Yamada, Y., Sumi, S., Nonaka, K. and Tarui, S. (1985) : Excess purine degradation in exercising muscles of patients with glycogen storage disease Types V and VII. *J. Clin. Invest.*, **76**, 556-560.
  - 17) Nichols, J., Miller, A. T. and Hiatt, E. P. (1951) : Influence of muscular exercise on uric acid excretion in man. *J. Appl. Physiol.*, **3**, 501-507.
  - 18) 奥田拓道, 藤井節郎(1966) : 血中アンモニア直接比色定量法. *最新医学*, **21**, 622-627.
  - 19) Patterson, V. H., Kaiser, K. K. and Brooke, M. H. (1982) : Forearm exercise increases plasma hypoxanthine. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr.*, **45**, 552-553.
  - 20) Patterson, V. H., Kaiser, K. K. and Brooke, M. H. (1983) : Exercising muscle does not produce hypoxanthine in adenylate deaminase deficiency. *Neurology*, **33**, 784-786.
  - 21) Rubio, R. and Berne, R. M. (1980) : Localization of purine and pyrimidine nucleoside phosphorylase in heart, kidney, and liver. *Am. J. Physiol.*, **239**, H 721-H 730.
  - 22) Sahlin, K., Alvestrand, A., Brandt, R. and Hultman, E. (1978) : Intracellular pH and bicarbonate concentration in human muscle during recovery from exercise. *J. Appl. Physiol.*, **45**, 474-480.
  - 23) Sahlin, K., Palmskog, G. and Hultman, E. (1978) : Adenine nucleotide and IMP contents of the quadriceps muscle in man after exercise. *Pflügers. Arch.*, **374**, 193-198.
  - 24) 坂岸良克, 保崎清人, 小西圭介, 奥山武雄(1978) : 臨床検査講座14, 臨床化学・放射性同位元素臨床検査技術, 第2版, 医歯薬出版, 東京, 209-240.
  - 25) Setlow, B. and Lowenstein, J. M. (1967) : Adenylate deaminase II. Purification and some regulatory properties of the enzyme from calf brain. *J. Biol. Chem.*, **242**, 607-615.
  - 26) Solano, C. and Coffee, C. J. (1979) : Comparison of AMP deaminase from skeletal muscle of acidotic and normal rats. *Biochim. Biophys. Acta.*, **582**, 369-379.
  - 27) Steel, T. H. (1969) : Evidence for altered renal urate reabsorption during changes in volume of the extracellular fluid. *J. Lab. Clin. Med.*, **74**, 288-299.
  - 28) Sutton, J. R., Toews, C. J., Ward, G. R. and Fox, I. H. (1980) : Purine metabolism during strenuous muscular exercise in man. *Metabolism*, **29**, 254-259.
  - 29) 堤 達也, 青木和江, 後藤芳雄, 喜多尚武(1986) : 漸増負荷運動時の血中アンモニアの経時的変動と血中基質との関連. *体力研究*, **63**, 29-39.
  - 30) Watts, R. W. E., Watts, J. E. M. and Seegmiller, J. E. (1965) : Xanthine oxidase activity in human tissues and its inhibition by allopurinol(4-hydroxypyrazolo[3, 4-d]pyrimidine). *J. Lab. Clin. Med.*, **65**, 688-697.
  - 31) Wheeler, T. J. and Lowenstein, J. M. (1979) : Adenylate deaminase from rat muscle. Regulation by purine nucleotides and orthophosphate in the presence of 150 mM KCl. *J. Biol. Chem.*, **254**, 8994-8999.
  - 32) Wilkerson, J. E., Batterton, D. L. and Horvath, S. M. (1977) : Exercise-induced changes in blood ammonia levels in humans. *Eur. J. Appl. Physiol.*, **37**, 255-263.