

低酸素下の最大運動において、運動前の低酸素暴露時間の違いが 血漿アンモニア濃度に及ぼす影響

加藤貴英* 塚中敦子** 山根 基*** 松井信夫**** 小坂光男*****

Effect of a difference in hypoxic exposure duration on plasma ammonia concentrations during maximal exercise in hypoxia

Takahide KATO, Atsuko TSUKANAKA, Motoi YAMANE,
Nobuo MATSUI and Mitsuo KOSAKA

Abstract

The purpose of this study was to investigate the effect of a difference in hypoxic exposure duration before exercise on maximum plasma ammonia concentrations at maximal exercise in hypoxia. On three occasions, seven healthy male subjects performed an incremental exhaustive exercise on a cycle ergometer; 1) Inhaling 12% O₂ from 60min before exercise to 10 min after exercise (HP60); 2) inspiring 12% O₂ from 10 min before exercise to 10 min after exercise (HP10); and 3) Inhaling air (MAX). Arterialized blood was drawn from a superficial arm vein. Arterial O₂ saturation (SaO₂), blood gas, plasma lactate, and plasma ammonia were determined. SaO₂ before exercise was lower in HP60 than that in HP10 ($P < 0.001$). Blood pH before exercise was lower in HP60 than that in MAX ($P < 0.05$). Maximum plasma lactate concentrations were the same levels in all three tests. Maximum plasma ammonia concentration in HP60 was lower than that in MAX ($P < 0.01$), while that in HP10 did not differ from that in MAX. From these results we suggest that a longer duration of hypoxic exposure before exercise may have resulted in a lower SaO₂ and a stronger respiratory alkalosis, maximum ammonia concentration which has lead a lower at maximal exercise in hypoxia.

〈目的〉

高強度運動時には解糖系の代謝産物として乳酸が、そしてアデニレート・キナーゼ系の代謝産物としてはアンモニアが産生される。高所（低圧低酸素）や低酸素ガス吸入（常圧低酸素）のような低酸素環境下で疲労困憊に到る漸増負荷運動を行った際、運動パフォーマンスは低下するが最大運動時の血中の乳酸濃度は大気下と

比べて差がないことが報告されている^{1),5)}。また、いくつかの先行研究で、低酸素ガス吸入下の最大運動時の血中アンモニア濃度は大気下と比べて差がないことを報告している^{1),5)}。しかし、我々の先行研究では最大運動後の血漿乳酸濃度は低酸素環境下と大気下で差は無かったが、血漿アンモニア濃度は低酸素環境下の方が大気下よりも低い値を示した⁴⁾。この我々と他の先行研究の結果の相違に対しては、実験環境

*助手, **研究生, ***大学院生, ****非常勤講師, *****教授

設定の違いが影響しているのではないかと考えられる。なぜなら、我々の先行研究では運動開始60分前から低酸素ガスを吸入しているのに対し、他の先行研究では運動開始10~15分前から低酸素ガスを吸入しているからである。

そこで、本研究では運動前の低酸素ガス吸入時間の違いが最大運動時の血漿アンモニア濃度に及ぼす影響について明らかにする事を目的とした。

〈方法〉

被験者は健康な成人男性7名で、年齢、身長、体重は、それぞれ25±2歳、172.1cm±2.8cm、66.1±6.6kgであった。実験に先立ち、被験者には文章と口頭により本実験の目的、内容、方法、危険性の説明を行い、被験者の同意を得た上で実験を行った。尚、本研究は中京大学大学院体育学研究科「ヒトを対象とする研究に関する倫理委員会」の承諾を得て行った。

実験は温度25℃、湿度40%に設定された人工気候室内で行われた。各被験者は疲労困憊に到る漸増負荷運動を異なった条件下で3回行った。1) 運動開始60分前から運動終了10分後まで酸素濃度12%の混合ガスを吸入(HP60)；2) 運動開始60分前から運動開始10分前まで大気を吸入し、運動開始10分前から運動終了10分後まで酸素濃度12%の混合ガスを吸入(HP10)；3) 運動開始60分前から運動終了10分後まで大気を吸入(MAX)。各実験はランダムに、そして1週間の間隔をおいて同じ時間帯に行った。被験者には実験前日に激しい運動、喫煙、アルコールやカフェインが含まれている飲料を飲まないこと、そして夜12時以降の飲食を行わないように指示した。

運動は自転車エルゴメーター(日本光電社製)を用いて、0Wから開始し、その後1分毎に20Wずつ負荷を漸増させ、疲労困憊まで行った。ペダリングは1分間あたり60回転を維持して行った。実験中、呼気ガス、心拍数、酸素飽和度を30秒毎に測定した。呼気ガスは、自動呼

気ガス分析器(RM300、MG360、ミナト医科学社製)を、心拍は心電計(DS-502、フクダ電子社製)を、酸素飽和度は酸素飽和度計(PULSOX-3i、ミノルタ社製)を用いて測定した。

各実験において、Forster, H.V. 等の方法²⁾に準じ、40~43℃の温水に前腕を浸し静脈血の動脈血化を行い、前腕の表在静脈にカニューレ(22G×1 1/4")を留置し、生理食塩水とヘパリンで処理した三方活栓を介して採血を行った。採血を運動開始60分前、10分前、運動開始直前、運動終了直後、1分後、3分後、5分後、7分後、10分後に行い、血液ガス、血漿乳酸濃度、血漿アンモニア濃度を分析した。血液ガスはヘパリン処理した1mlのシリンジに採血をし、全血でpH/血液ガス分析装置(Model 277、チバコーニング社製)により分析を行った。血漿乳酸濃度の分析は血液1mlをEDTA-2Na入りの採血管に採り、冷却遠心(4℃、3000回転、15分)により血漿を分離し、乳酸分析器(2300STATPLUS、YSI社製)により分析を行った。血漿アンモニア濃度の分析は1mlの血液をアンモニア分析キット(アンモニア-テストワコー、和光純薬工業社製)で処理し、処理した検体を分光光度計(UV-2400PC、島津製作所社製)で分析した。

HP60実験、HP10実験、MAX実験の3実験間で呼気ガス、心拍数、酸素飽和度、血液ガス、血漿乳酸濃度、血漿アンモニア濃度に差があるかどうかを対応のある1元配置分散分析を用いて調べた。有意水準は危険率5%未満を採用した。

〈結果〉

最大血漿アンモニア濃度を図1に示す。最大運動による血漿アンモニア濃度の上昇(最大血漿アンモニア濃度)はHP60実験がMAX実験よりも有意に小さかった($P<0.01$)。HP10実験とMAX実験には差は無かった。

最大血漿乳酸濃度を図2に示す。最大運動による血漿乳酸濃度の上昇(最大血漿乳酸濃度)は3実験間に差は無かった。

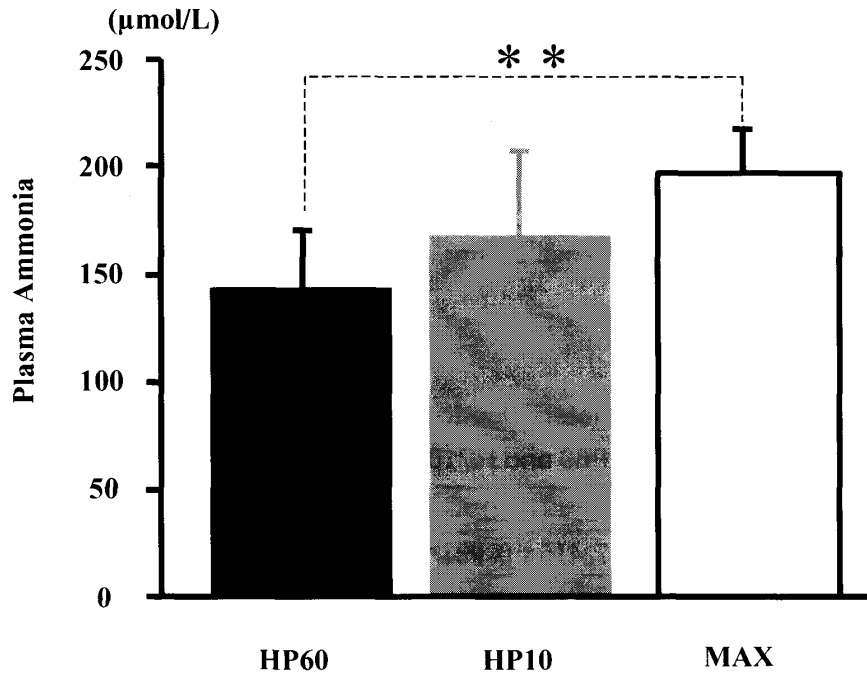


Fig. 1 Maximum Plasma Ammonia Concentrations due to Maximal Exercise. ** Significant difference between HP60 and MAX ($P < 0.01$)

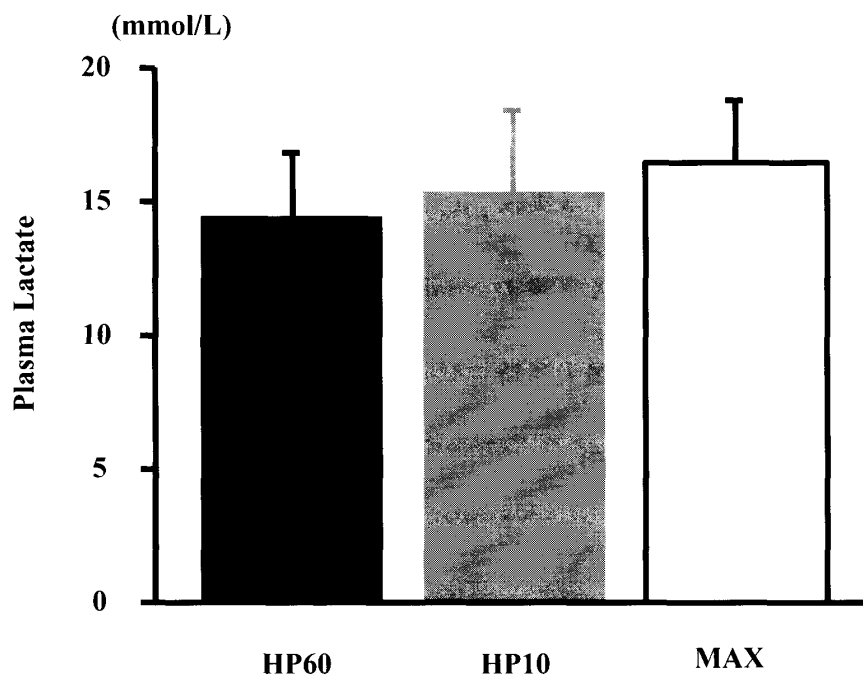


Fig. 2 Maximum Plasma Lactate Concentrations due to Maximal Exercise.

酸素飽和度の変化を表1に示す。運動前の酸素飽和度は、低酸素ガスを吸入したHP60実験とHP10実験がMAX実験よりも有意に低かった ($P < 0.001$)。さらには運動前の低酸素吸入時間が長かったHP60実験の方がHP10実験より

も低かった ($P < 0.001$)。疲労困憊時の酸素飽和度はHP60実験とHP10実験がMAX実験よりも有意に低かった ($P < 0.001$)。

血液ガスの変化を表2に示す。運動前の血液pHは、HP60実験がMAX実験よりも有意に高

Table 1 Changes in SaO₂ due to incremental exhaustive exercise under normoxia (MAX) and under hypoxia (HP60 and HP10).

		HP60	HP10	MAX
SaO ₂ (%)	Pre-exercise	76.7±5.3***§§§	84.1±2.7***	97.6±0.8
	Exhaustion	67.9±6.7***	71.3±8.3***	96.0±1.0

Values are means ±SD for 7 subjects in each group.

*** Different from MAX, $P < 0.001$.

§§§ Different from HP10, $P < 0.001$.

Table 2 Changes in blood gas parameters due to incremental exhaustive exercise under normoxia (MAX) and under hypoxia (HP60 and HP10).

		HP60	HP10	MAX
Blood pH	Pre-exercise	7.415±0.023*	7.407±0.023	7.388±0.023
	Minimum value	7.227±0.048*	7.209±0.057	7.162±0.061
Blood HCO ₃ ⁻ (mM)	Pre-exercise	22.6±1.6	22.3±0.6	22.2±2.26
	Minimum value	11.6±1.5*§	9.9±1.5	9.8±1.3

Values are means ±SD for 7 subjects in each group.

* Different from MAX, $P < 0.05$.

§ Different from HP10, $P < 0.05$.

かった ($P < 0.05$)。運動後の血液 pH の最低値は HP60 実験が MAX 実験よりも有意に高かった ($P < 0.05$)。血液 HCO₃⁻ は、運動前で 3 実験間に差は無かったが、運動後の血液 HCO₃⁻ の最低値は、HP60 実験が HP10 実験と MAX 実験よりも有意に高かった ($P < 0.05$)。

最低 Base Excess 値を図 3 に示す。最大運動による Base Excess の低下は HP60 実験が MAX 実験よりも有意に小さかった ($P < 0.05$)。

〈考察〉

本研究では、運動前の低酸素暴露時間の違いが、最大運動時の血漿アンモニア濃度に及ぼす影響を調べるために、1) 低酸素ガスを運動開始60分前から吸入 (HP60)；2) 低酸素ガスを運動開始10分前から吸入 (HP10)；3) 大気吸入 (MAX) の異なる3条件下で最大運動を行い比較した。その結果、最大血漿アンモニア濃度は、運動前の低酸素暴露時間が長かった HP60 実験が MAX 実験よりも低い値を示したが、

HP10 実験と MAX 実験には差は無かった。また、最大血漿乳酸濃度は3実験間で差は無かった。

我々の先行研究では、疲労困憊に到る漸増負荷運動を低酸素ガス吸入下と大気下で行った結果、運動後の血漿アンモニア濃度は低酸素ガス吸入下の方が大気下よりも低い値を示した⁴⁾。一方、他の先行研究では低酸素ガス吸入下と大気下で漸増負荷運動を行った結果、最大負荷時の血液アンモニア濃度に両群間で差が無いことを報告している^{1), 5)}。これらの結果の相違は、実験環境状態の相違が関与しているものと考えられる。我々の先行研究では、運動開始60分前から低酸素ガスを吸入しているのに対し、先行研究では運動開始10~15分前から低酸素ガスを吸入して実験を行っている。そこで、本研究では低酸素ガス吸入時間を運動開始60分前と10分前に設定した。

本研究において、最大運動後の最大血漿アンモニア濃度は、HP60 実験が MAX 実験よりも低い値を示したが、HP10 実験と MAX 実験には差

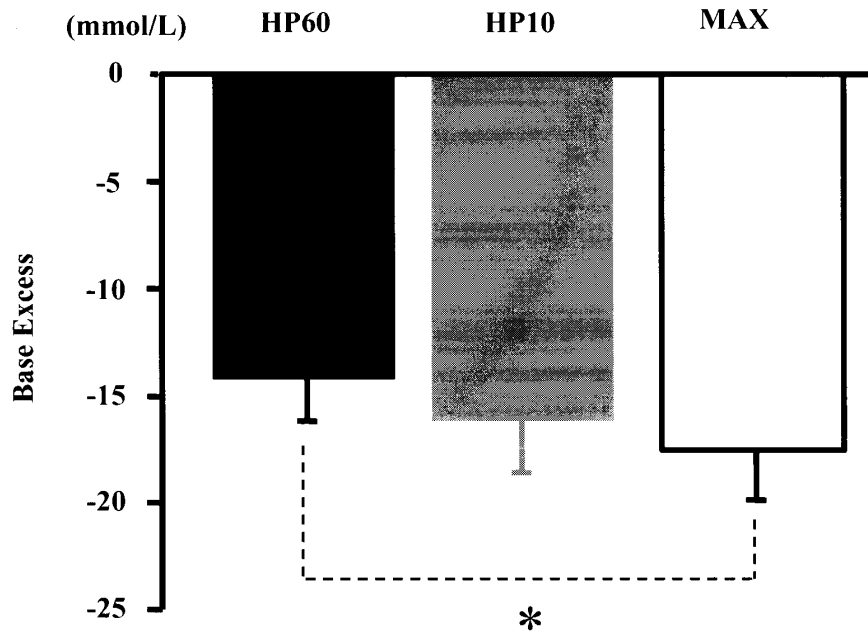


Fig. 3 Minimum Base Excess Values due to Maximal Exercise. * Significant difference between HP60 and MAX ($P < 0.05$)

は無かった。この結果については、低酸素ガス吸入による酸素飽和度の低下と血液 pH の上昇（呼吸性アルカローシス）の影響が関与するものと考えられる。低酸素環境に暴露されると、酸素飽和度の低下と血液 pH の上昇（呼吸性アルカローシス）が生じ、その酸素飽和度の低下と血液 pH の上昇は、低酸素のレベルが厳しくなればなるほど大きくなる。本研究では、低酸素ガスの濃度が同じであっても、運動前の低酸素ガス吸入時間が長い HP60 実験の方が、HP10 実験よりも酸素飽和度の低下と pH の上昇（呼吸性アルカローシス）が大きかった。先行研究では、低酸素ガス吸入下において、酸素濃度が低くなればなるほど酸素飽和度は低下し、それに準じて最大酸素摂取量は低下すると報告している³⁾。本研究において最大酸素摂取量は、HP60 実験 ($29.0 \pm 6.4 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) と HP10 実験 ($34.3 \pm 7.8 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) で有意な差は見られなかった。しかし、HP60 実験と HP10 実験を MAX 実験 ($43.9 \pm 4.0 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) と比較すると、HP60 実験と HP10 実験ともに MAX 実験よりも有意に低い値を示したが、その有意水準は、HP60 実験は $P < 0.001$ で HP10 実験は $P < 0.05$ で、HP60 実験の方が最大

酸素摂取量の低下がより大きかった。アンモニアの産生は運動強度が高ければ高い程促進される。従って、同じ低酸素濃度でも長い時間吸入することで酸素飽和度がより低下し、運動パフォーマンスをさらに低下させるために血漿アンモニア濃度の上昇が制限されたと考えられる。

乳酸産生による pH の低下（代謝性アシドーシス）はアデニレート・キナーゼ系の鍵酵素である AMP デアミナーゼを活性化し、アンモニアは解糖系の律速酵素であるフォスフォ・フルクトキナーゼ (PFK) を活性化する。従って、乳酸の産生とアンモニアの産生には密接な関係があり、両代謝産物の産生において pH の低下（代謝性アシドーシス）は重要な因子となる。本研究において、最大運動後の最大血漿乳酸濃度は 3 実験間で差は無かった。しかし、運動後の最低血中 pH は、HP60 実験が MAX 実験よりも有意に高く、また代謝性アシドーシスの指標となる Base Excess 値も HP60 実験が MAX 実験よりも有意に高かった。この原因としては、低酸素ガス吸入による呼吸性アルカローシス (pH の上昇) によるものと考えられる。長い時間低酸素ガスを吸入する事で、呼吸性アルカローシ

スが增強され、乳酸産生によるpHの低下（代謝性アシドーシス）を抑制したものと考えられる。そして、このpH低下の抑制がアンモニア産生に影響し、最大運動後の最大血漿アンモニア濃度が、HP60実験でMAX実験よりも低かったという結果をもたらしたのかもしれない。

本研究と、我々の先行研究⁴⁾では血漿アンモニア濃度の最大値を比較するために、漸増負荷運動は1分間毎に負荷を上げ疲労困憊まで行うという運動プロトコルを設定した。しかし、他の先行研究^{1), 5)}の運動プロトコルは、血中アンモニア濃度の上昇過程を調べるために、各負荷で定常状態を取るために負荷上げを4分間毎に行っていることから、運動プロトコルの違いも関与することが推測される。従って、運動プロトコルの違いも考慮して、今後さらなる検証をする余地がある。

〈まとめ〉

本研究では、運動前の低酸素暴露時間の違いが、最大運動時の血漿アンモニア濃度に及ぼす影響を調べるために、1) 運動開始60分前から酸素濃度12%の混合ガスを吸入 (HP60) ; 2) 運動開始10分前から酸素濃度12%の混合ガス吸入 ; 3) 大気吸入 (MAX) の3条件で最大運動を行った。その結果、最大運動後の最高血漿アンモニア濃度は、HP60実験がMAX実験よりも低い値を示したが、HP10実験とMAX実験には差は無かった。同じ低酸素濃度でも、運動前の低酸素ガス吸入時間が長いHP60実験の方がHP10実験よりも酸素飽和度の低下と血中pHの上昇（呼吸性アルカローシス）は大きかったことから、酸素飽和度の低下による最大運動パフォーマンスの低下と呼吸性アルカローシスによる代謝性アシドーシス（乳酸産生によるpHの低下）の軽減が、血漿アンモニア濃度の上昇を制限したものと考えられる。

〈謝辞〉

本実験の実施にあたり協力を得た中京大学大

学院体育学研究科、運動生理学研究室の皆様、そして被験者としてご協力して頂いた皆様に厚く御礼申し上げます。

〈参考文献〉

- 1) Casas H, Murtra B, Casas M, Ibáñez J, Ventura JL, Ricart A, Rodriguez F, Viscor G, Palacios L, Pagés T, Rama R. Increased blood ammonia in hypoxia during exercise in humans. *J Physiol Biochem* 57: 303–312, 2001.
- 2) Ferretti G, Moia C, Thomet J-M, and Kayser B. The decrease of maximal oxygen consumption during hypoxia in man: a mirror image of the oxygen equilibrium curve. *J Physiol* 498: 231–237, 1997.
- 3) Forster HV, Dempsey JA, Thomson J, Vidruk E, DOPico GA. Estimation of arterial PO₂, PCO₂, pH, and lactate from arterialized venous blood. *J Appl Physiol* 32: 134–137, 1972.
- 4) Kato T, Matsumura Y, Tsukanaka A, Harada T, Mitsuo K, Matsui N. Effect of low oxygen inhalation on changes in blood pH, lactate, and ammonia due to exercise. *Eur J Appl Physiol* 91: 296–302, 2004.
- 5) Taylor AD, Bronks R. Effect of acute normobaric hypoxia on quadriceps integrated electromyogram and blood metabolites during incremental exercise to exhaustion. *Eur J Appl Physiol* 73: 121–129, 1996.