

# RAMP負荷運動中の血中アンモニアの動態

江口 淳一

## 【目的】

運動時における活動筋からのアンモニアの生成は細胞内のプリンヌクレオチド回路においてAMP (アデノシン一リン酸) がアデニル酸脱アミノ酵素の作用でIMP (イノシン一リン酸) に脱アミノ化される際に生じるとされ、運動とアンモニアの関係について研究が進められている<sup>1)2)3)</sup>。

我々は、これまでRAMP負荷運動によって得られる様々な指標について報告してきた<sup>4)5)</sup>。そこで本研究においては、RAMP負荷運動中及び回復期における血中アンモニアの動態を血中乳酸値などの指標を元に検討し、体力評価の一指標として応用が可能であるかを検討することとした。

## 【方法】

### (対象)

被検者は、健康な男子大学生 6 名 (平均年齢22.

3±1.03歳) とした。実験に先立ち、心電図検査、呼吸機能検査、さらに、血中アンモニア濃度に影響を及ぼすと考えられる肝機能検査において異常のないことが確認された。また、被検者には、あらかじめ本実験の主旨についてよく説明し、同意を得た上で承諾書を提出させた。

### (運動負荷試験)

RAMP負荷運動は心電図監視下で電磁制動型サイクルエルゴメーターを用いて行ない、4分間の座位安静、0 W、2分間のウォーミングアップの後、20W/分、60rpmの割合で自覚的的最大負荷まで施行することとした。また、回復期はエルゴメーター上での15分間の座位安静とした。

運動中及び回復期の呼気ガスモニターは、ミナト医科学社製RM-300にてBreath-by-breath方式で行ない、測定値は10秒間の平均値として算出した。

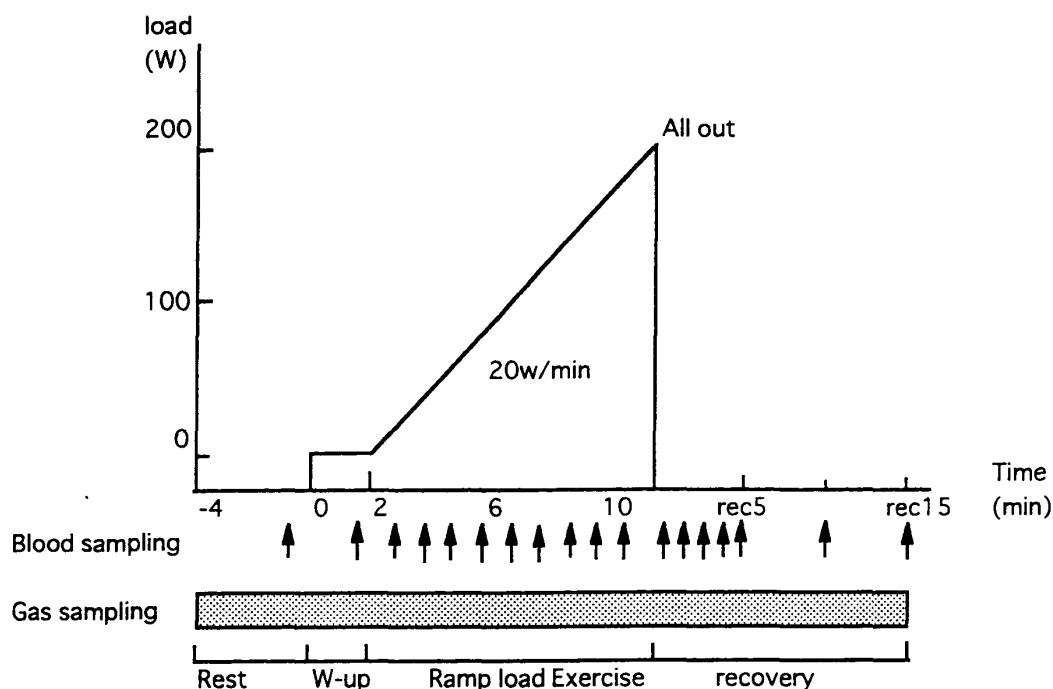


Fig. 1 実験プロトコール

採血は、肘中静脈に留置したカテーテルより行ない、安静時、ウォーミングアップ開始後1分30秒後、RAMP負荷運動中は1分毎、更に回復期においては、回復期5分までは1分毎、それ以降は5分毎に回復15分まで採血することとした (Fig. 1)。

### (サンプル分析)

得られた血液サンプルより血中アンモニア濃度の測定は富士ドライケム100タイプNにて測定し、血中乳酸はYSI社製モデル27にて測定した。

全ての医学的処置および医学的所見については内科の医師があたり、血液サンプルの分析には、臨床検査技師があたった。

### 【結果】

Table. 1は、被検者の身体的特徴と肝機能検査の結果を各被検者毎に示したものである。全ての

値共に正常範囲内であり、本実験に参加した被検者の肝機能は、ほぼ正常で実験への影響はないものと考えられた。

Table. 2は、RAMP負荷運動によって得られた被検者のAT(Anaerobic Threshold)、および $\dot{V}O_2$  max時の各指標を平均値で示したものである。最大運動時の心拍数は平均で180beats/minを越えており最大運動に達しているものと考えられる。 $\dot{V}O_2$  maxは、平均で $2367 \pm 136.5$  ml/min、換気反応より総合的に判断したATは $46.2 \pm 3.87\%$   $\dot{V}O_2$  maxであった。

Fig. 2は、安静時、及び負荷強度 (W) に対する乳酸の変化を平均値で示したものである。安静時の血中乳酸は $0.92 \pm 0.34$  mmol/lであった。また、運動強度が増加しても80Wまでは安静レベルを保ち、その後、安静値に比べ有意に増加し始めた。ここでmax時の値がその前の値より減少しているのは、n数の違いによるものである。

Table. 1 被検者の身体的特徴と肝機能検査の結果

Subj.	Age	Height	Weight	Total Protein	A/G Ratio	Z.T.T	Total Bilirubin	Total Cholesterol	Alp	GOT	GPT	$\gamma$ -GPT
	(year)	(cm)	(kg)	(g/dl)		(K.U)	( $\mu$ g/dl)	(mg/dl)	(K.A.U)	(U)	(U)	(mU/ml)
H.M	21.0	184.0	86.0	7.40	1.70	6.20	0.50	165.00	10.00	10.00	9.00	25.90
Y.K	22.0	169.0	74.0	8.00	1.30	5.70	0.60	175.00	9.30	16.00	12.00	20.10
T.S	22.0	175.0	80.0	7.80	1.70	5.00	0.60	168.00	6.80	13.00	9.00	19.10
M.H	23.0	174.0	74.0	7.00	2.20	3.60	0.50	168.00	11.00	14.00	13.00	22.60
H.Y	22.0	168.0	55.0	7.20	1.80	4.00	0.50	158.00	4.40	14.00	8.00	19.40
R.S	24.0	178.5	71.0	8.00	1.50	5.20	0.60	179.00	5.20	13.00	8.00	16.20
mean	22.3	174.75	73.33	7.57	1.70	4.95	0.55	168.83	7.78	13.33	9.83	20.51
S.D	1.033	5.98	10.46	0.43	0.30	0.99	0.06	7.41	2.71	1.97	2.14	3.33

Table. 2 AT時、及び最大運動時の各指標

		AT	MAX
Ex. Time		5'03" $\pm$ 1'05"	12'27" $\pm$ 0'21"
Work Load	(Watt)	77.5 $\pm$ 10.84	206.6 $\pm$ 8.16
VO2	(ml/min)	1089 $\pm$ 61.2	2367 $\pm$ 136.5
VO2/wt	(ml/kg/min)	15.04 $\pm$ 0.802	33.11 $\pm$ 5.875
%VO2max	(%)	46.2 $\pm$ 3.87	100
VE	(l/min)	32.01 $\pm$ 3.739	100.63 $\pm$ 11.915
HR	(beats/min)	117.0 $\pm$ 11.28	185.7 $\pm$ 6.25

Fig. 3は、負荷強度 (W) に対するアンモニアの変化を平均値で示したものである。安静時の血中アンモニア濃度は、 $31.8 \pm 8.4 \mu\text{mol/l}$ 、最大運動時のアンモニア濃度は、 $58.0 \pm 15.6 \mu\text{mol/l}$ であり、血中乳酸と同様に、ある程度までは安静レベルを保ち、80Wより徐々に増加した。さらに、140Wより安静時と比較して有意に増加した。

り安静時と比較して有意に増加した。

Fig. 4は、ある被検者の乳酸とアンモニアの変化を横軸を $\dot{V}O_2$ 絶対値として比較したものである。上図のごとく血中乳酸は1200~1300ml/min時点より徐々に増加し始め、この時点がLactate Thresholdと考えられる。同様に、アンモニアにお

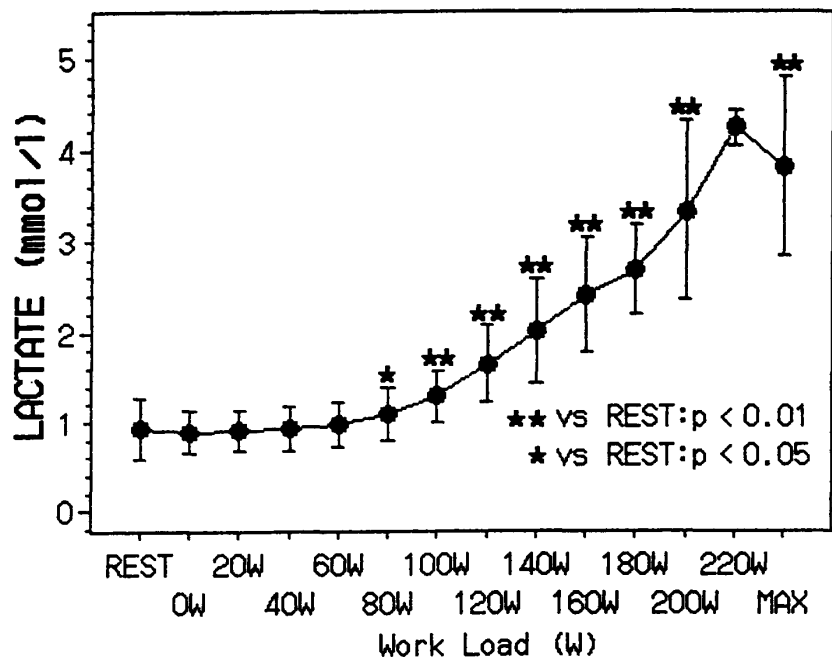


Fig. 2 RAMP負荷運動中の血中乳酸の変化

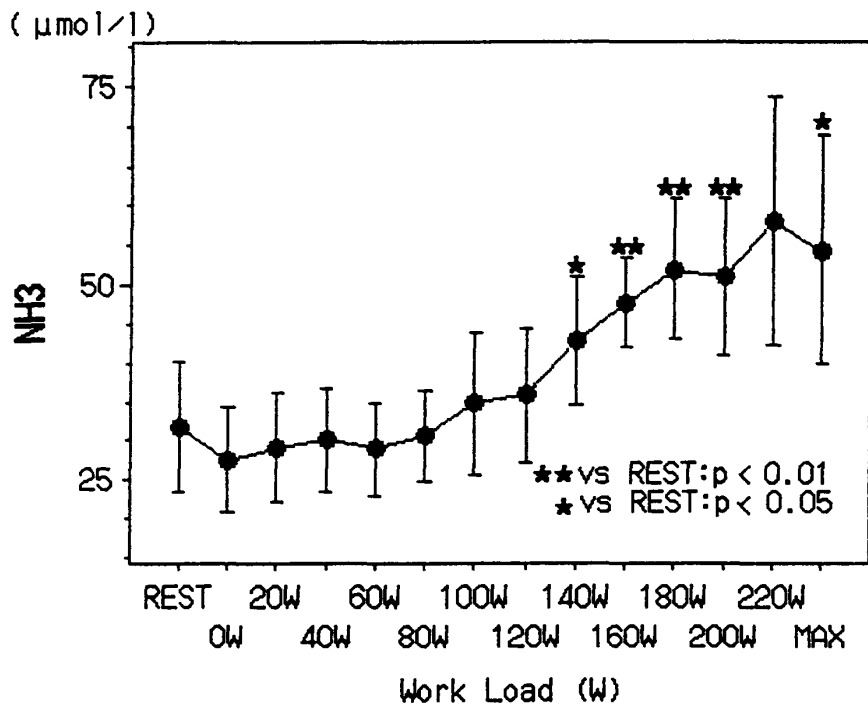


Fig. 3 RAMP負荷運動中の血中アンモニア (NH<sub>3</sub>) 変化

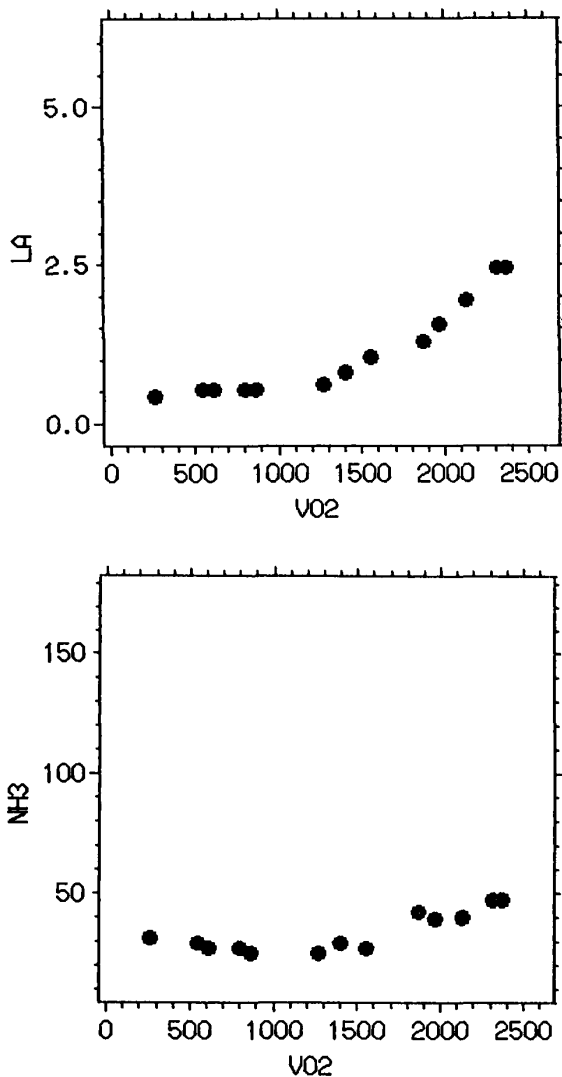


Fig. 4 ある被検者の酸素摂取量に対するアンモニア(上)、乳酸(下)の変化

いても(下図)1200~1300ml/minより徐々に増加し始めた。この傾向は各被検者においても認められ、乳酸の変曲点とアンモニアの変曲点はほぼ一致すると考えられる。

そこで、乳酸とアンモニアの運動開始から最大運動までの値の相関を見てみると、6名の被検者ともに $r=0.9$ 以上の相関が得られ、Fig. 5に示すように、全体の相関も $r=0.737$ と0.1%水準で有意な正の相関が認められた。

しかし、RAMP負荷運動中のアンモニア濃度の変化は、従来報告されてきたステップ入力の漸増負荷運動時の変化<sup>1)2)3)</sup>に比べ、余り著しい変化とは言えず、むしろ運動直後より急激な変化を示した(Fig. 6)。

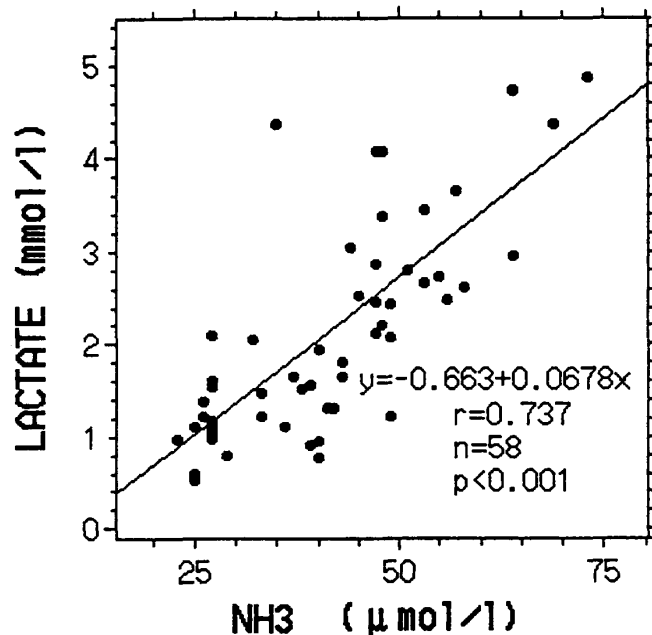


Fig. 5 RAMP負荷運動中のアンモニアと乳酸の相関

回復期のアンモニア濃度は、オールアウト直後( $58.0 \pm 15.5 \mu\text{mol/l}$ )より急な増加を示し、回復期4分においてピーク( $131.4 \pm 27.7 \mu\text{mol/l}$ )とオールアウト時の2倍以上の値を示した後、漸減傾向を示した。

アンモニアのRAMP運動に対する増加反応は緩やかで(Fig. 6)、運動終了後の増加は乳酸に比べ(Fig. 7)、顕著なものであった。

### 【考察】

RAMP負荷運動により血中乳酸は、ある時点より急な増加を示し、この時点とほぼ同じ時点より血中アンモニア濃度も増加し始めた。この結果は、従来報告<sup>1)2)3)</sup>を指示する結果であった。

運動強度の増加に従い、解糖系のエネルギー供給が進むと血中乳酸は急激に上昇する<sup>6)7)</sup>。この時点をAT<sup>8)</sup>と呼び臨床応用が進んできた<sup>9)</sup>。

しかし、この解糖系によるエネルギー供給の亢進は、energy chargeを低下させ<sup>10)</sup>、乳酸の蓄積によって筋細胞内のpHを低下させる<sup>11)12)</sup>。これらの要因は、筋中のAMP deaminaseを活性化させることが知られており<sup>13)14)15)</sup>、AMPの脱アミノ化の亢進は、adenylate kinaseの反応をATP再生の方向に活性化するのではないかと推察される(2

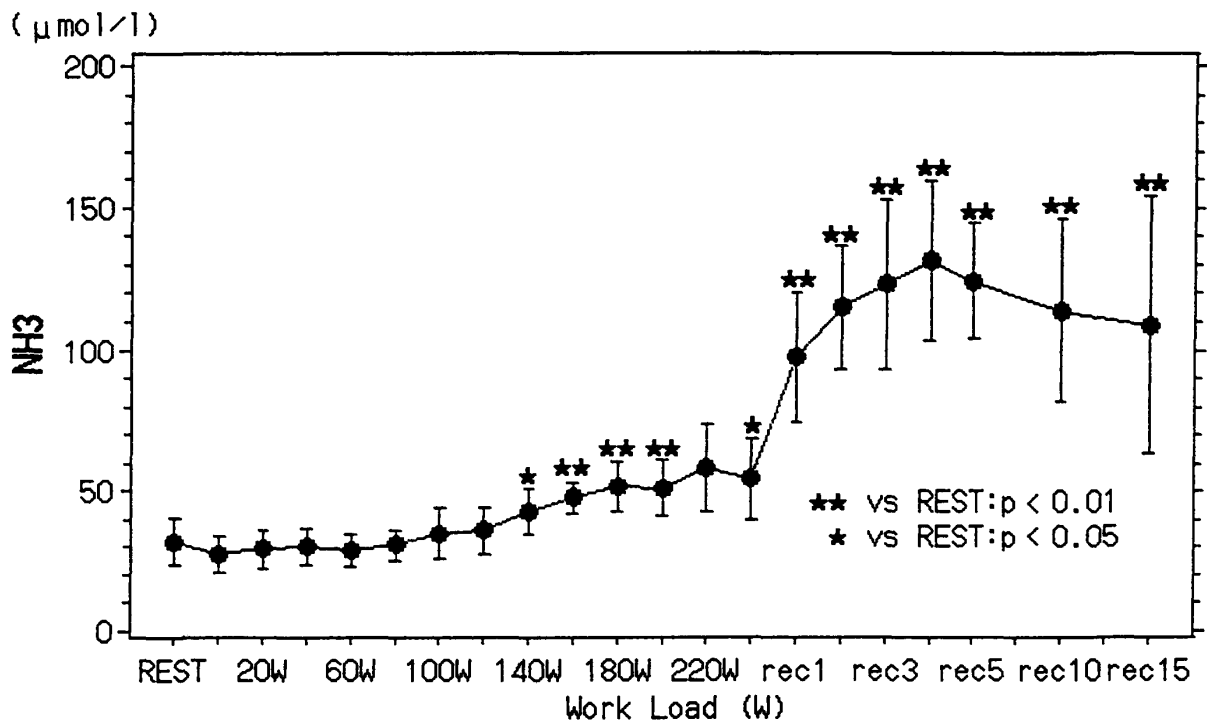


Fig. 6 RAMP負荷運動中の及び回復期のアンモニアの変化

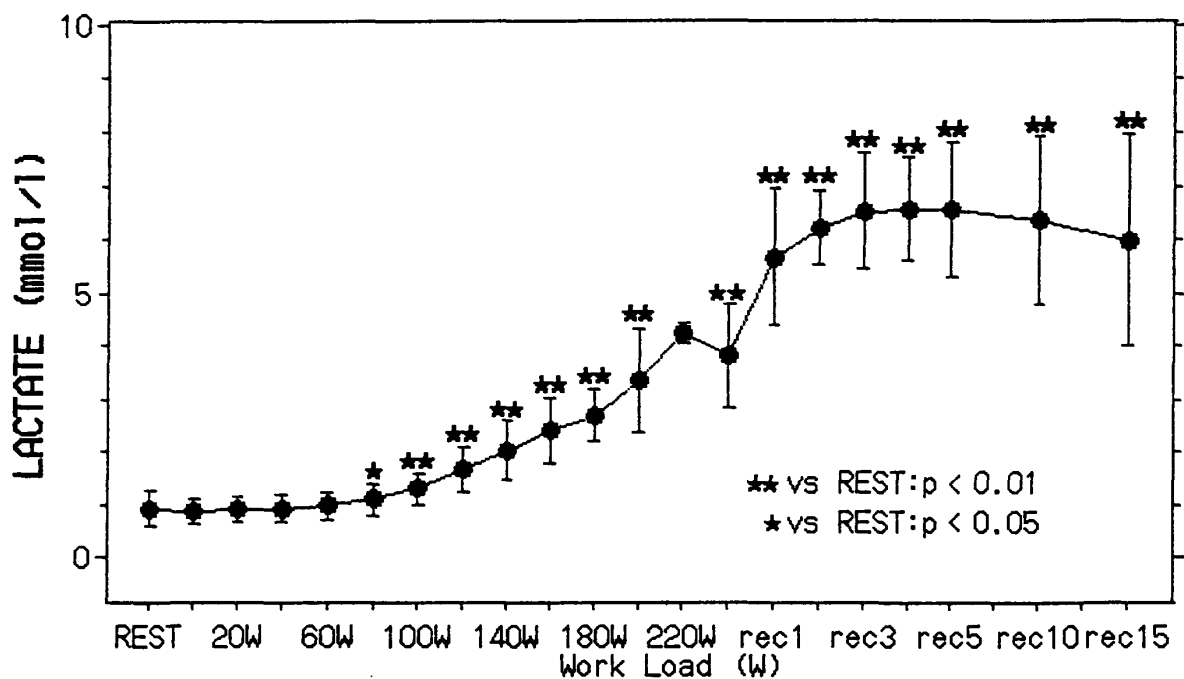


Fig. 7 RAMP負荷運動中及び回復期の乳酸の変化

ADP→ATP+AMP)。さらに、運動後の筋中ATPの減少量とIMPの増加量は科学量論的に一致することも知られている。これらのことから、乳酸の変曲点を境にATPの再合成速度が利用速度に追いつけず、adenylate kinaseが亢進し。AMPがIMPとアンモニアに分解され、血中アンモニア濃

度も上昇し始めたものと考えられる。

血中乳酸と血中アンモニアの間には $r=0.737$ と良好な相関関係が認められた。

Wassermanの報告<sup>6)</sup>以来、血中乳酸の応用に関しては、様々な議論があるものの<sup>16)17)18)</sup>、臨床応用、運動処方、トレーニング等の場面で応用が進

められてきた<sup>19)</sup>。上記の結果は、血中アンモニアにおいても血中乳酸測定同様の効果を期待できる結果と言えよう。

我々が用いたアンモニア濃度測定器、富士ドライケム100タイプNは、小型軽量、迅速かつ安定した測定が可能であり、電源さえ確保できればどんなフィールドでも測定が可能である。

一方、アンモニア生成は、筋線維組成の差異により異なることが報告されている<sup>20)</sup>。Katz and Sahlin<sup>21)</sup>やDudley<sup>22)</sup>は人のバイオプシー法によって速筋線維の割合の多い者ほど運動後のアンモニア産生が高かったことを報告し、Hageloch W.<sup>23)</sup>らは、持久的な運動よりも最大運動を行なったときの方がアンモニアの増加が大きかったことを報告した。

これらの報告より、RAMP負荷運動中に乳酸測定とアンモニア測定を併用することにより、トレーニング場面における様々な応用と効果を期待できるものと考えられる。今後更にフィールドテストを重ね検討したい。

一方、RAMP負荷運動中のアンモニア濃度の変化は、従来報告されてきたステップ入力の漸増負荷運動時の変化<sup>1)2)3)</sup>に比べ穏やかな変化であった。また、回復期のアンモニア濃度の変化は、運動中の変化に比較し、著しい変化を示した（ピーク値がオールアウト直後の2倍以上）。

RAMP負荷運動の場合、運動強度は連続して上昇するため定常状態は得られない。よって、乳酸測定などの場合には動脈から採血しないと乳酸産生と取り込みの影響を受けるため、ATなどの指標を過大評価する可能性があることなどの報告がある<sup>24)</sup>。

アンモニアの場合にも乳酸同様のことが言えるかどうかは現段階では判定できず、今後、アンモニアの動静脈格差を検討する必要がある。

また、アンモニアの代謝課程には、不明な点も多く、さらに詳細な検討が必要であると考えられる。今後の課題としたい。

## 【総括】

健常男子6名にRAMP負荷運動を施行し血中アンモニアの動態と乳酸とを比較検討した。

1. 血中アンモニア濃度は、血中乳酸同様AT付近より増加し、相対的運動強度の増加と共に増加することが示唆された。
2. RAMP負荷運動中のアンモニア濃度、乳酸濃度の間には $r=0.737$ と0.1%水準で有意な正の相関関係が得られた。
3. 運動終了後アンモニア濃度は著しく増加し回復期4分目でピーク値を示した後、漸減傾向を示した。

以上の結果より、RAMP負荷運動中に血中乳酸とアンモニア濃度を測定することにより、体力評価の指標としての有用性が期待できると考えられた。

稿を終えるにあたり、本研究の遂行にあたり、カテテルの挿入留置、採血、メディカルチェック、運動中の被検者監視、サンプルの分析等、全面的にご協力いただくと共に、研究に関するご指導、ご助言をいただいた、鶴見大学歯学部内科 須田吉廣教授、風間臨床検査技師にたいし、深く感謝の意を表します。

尚、本論文の要旨の一部は第48回日本体力医学会において報告した。

## 【文献】

1. 小笠原正志 他：漸増運動負荷試験中のアンモニア及びカテコールアミン動態と乳酸閾値との関連。体力科学, 39 (6), 730, 1990.
2. 牧田 茂 他：運動選手の多段階漸増負荷における血中乳酸およびアンモニア濃度の関連について。体力科学, 40 (6), 883, 1991.
3. 牧田 茂 他：漕艇選手の多段階漸増負荷における血中乳酸およびアンモニア濃度曲線の比較。体力科学, 41 (6), 686, 1992.
4. 江口淳一 他：運動時及び回復期の心房性

- Na利尿ペプチド(h-ANP)の動態及び循環器諸量との関係. 体力科学, 38 (6), 290, 1989.
5. 江口淳一: 中高年スポーツ愛好者の有酸素作業能力—男子大学生との比較—. 駒沢大学保健体育部紀要, 9, 31-47, 1983.
  6. Gutman, I. and Wahlefeld, A. W. : L-(+)-Lactate In., Bergmeyer, H. U., Methods of enzymatic analysis, 2nd English ed., Vol. III, Verlag Chemic Weinheim. New York, 1464-1468, 1974.
  7. Wasserman, K. and McIlroy, M. B.: Detecting the threshold of anaerobic metabolism in cardiac patients during exercise. Am. J. Cardiol. ,14, 844-852, 1964.
  8. Wasserman, K. et al.: Anaerobic threshold and respiratory gas exchange during exercise. J. Appl. physiol., 35, 236-243, 1973.
  9. Wasserman, K. et al.: Principles of Exercise Testing and Interpretation. Lea & Febiger, Philadelphia, 1987.
  10. Sahlin, K. et al.: Adenine nucleotide and IMP contents of the quadriceps muscle in man after exercise. Pflugers. Arch., 374, 193-198, 1978.
  11. Hermansen, H., and Osnes, J.,- B. : Blood and muscle pH after maximal exercise in man. J. Appl. Physiol., 32, 304-308, 1972.
  12. Sahlin, K. et al.: Intracellular pH and bicarbonate concentration in human muscle during recovery from exercise. J. Appl. Physiol., 45, 474-480, 1978.
  13. Setlow, B. and Lowenstein, J. M. : Adenylate deaminase II. Purification and some regulatory properties of the enzyme from calf brain. J. Biol. Chem., 242., 607-610, 1967.
  14. Solano, C., and Coffee, C. J.: Comparison of AMP deaminase from skeletal muscle of acidotic and normal rats. Biochim. Biophys. Acta., 582, 369-379, 1979.
  15. Wheeler, T. J. and Lowenstein, J. M.: Adenylate deaminase from rat muscle. Regulation by purine nucleotides and orthophosphate in the presence of 150mM KCL. J. Biol. Chem., 254, 8994-8999. 1979.
  16. Brooks, J. A. et al.: Anaerobic threshold : review of the concept and directions for future research. Med. Sci. Sports Exerc., 17, 22-31, 1985.
  17. Davis, J. A. et al.: Anaerobic threshold alterations caused by endurance training in middle-aged men. J. Appl. Physiol., 46, 1039-1046, 1979
  18. Yoshida, T.: Current topics and concepts of lactate and gas exchange thresholds. J. Human Ergol., 16, 103-121, 1987.
  19. 吉田敬義 : 運動の指標としてのAT, LT, OBLAの持つ意味. 体力科学, 42, 406-414, 1993.
  20. Banister, E.W. et al.: Ammonia as an Indicator of Exercise Stress Implications of Recent Findings to Sports Medicine. 2, 34, 1985.
  21. Katz, A. et al.: Muscle ammonia metabolism during isometric contraction in humans. Am. J. Physiol., 250, c834-c840, 1986.
  22. Dudley, G. A. et al.: muscle fiber composition and blood ammonia levels after intense exercise in humans. J. Appl. Physiol., 54, 582-586, 1983.
  23. Hageloch W. et al.: Verhalten von Ammoniak und Hypoxanthin bei Maximal- und Ausdauerbelastung sowie in der Regeneration. Dtsch. Z Sportmed., 39(6), 216-221, 1988.
  24. Yoshida, T. et al.: Arterial versus Venous Blood Lactate Increase in the Forearm during Incremental Bicycle Exercise. Eur. J. Appl. Physiol., 50, 87-93, 1982.