

漸増運動による筋内 pH の低下と過剰 CO₂ 排出量との関係

稲木 光晴* 久野 譜也** 阿武 泉***
板井 悠二*** 勝田 茂****

RELATIONSHIP BETWEEN DECREMENT OF MUSCULAR pH AND CO₂ EXCESS DURING INCREMENTAL EXERCISE

MITSU HARU INAKI, SHIN-YA KUNO, IZUMI ANNO,
YUJI ITAI and SHIGERU KATSUTA

Abstract

A study was conducted to investigate using ³¹P NMR the relationship between the total excess volume of CO₂ output (CO₂ excess) due to bicarbonate buffering of lactic acid produced in exercise and the decrease of intracellular pH during incremental exercise. Five sprinters and 5 joggers performed incremental exercise to exhaustion on an bicycle ergometer. The values of CO₂ excess and CO₂ excess per body weight (CO₂ excess/W) were not different between the sprinters (2388±659 ml, 36.7±8.5 ml·kg⁻¹) and the joggers (2275±278 ml, 40.0±6.3 ml·kg⁻¹). Below the ventilatory threshold (VT), from VT to the respiratory compensation point (RCP), and above RCP, the $\dot{V}O_2$ - $\dot{V}CO_2$ slopes were not different between the sprinters and the joggers, respectively (0.95±0.05 vs 0.95±0.06, 1.21±0.11 vs 1.30±0.14, 1.69±0.24 vs 1.76±0.18). However, the joggers showed significantly higher CO₂ excess/W per blood lactate accumulation (Δ La) in exercise (CO₂ excess/W/ Δ La, 5.34±0.32 ml·kg⁻¹·mmol⁻¹·l⁻¹) than the sprinters (4.50±0.14 ml·kg⁻¹·mmol⁻¹·l⁻¹). The decrement of intracellular pH during incremental exercise showed a tendency to be smaller in joggers (0.63±0.18 pH unit) than in sprinters (0.83±0.10 pH unit), although there was no significant difference between the two groups. The values of CO₂ excess/W/ Δ La were correlated with the decrease of intracellular pH (r=-0.792, p<0.01). It is suggested that CO₂ excess/W/ Δ La reflects the efficiency of the bicarbonate buffering system, and could be an important factor influencing the decrease of intracellular pH due to lactate production.

(Jpn. J. Phys. Fitness Sports Med. 1993, 42 : 53~58)

key words : ³¹P NMR, intracellular pH, CO₂ excess, bicarbonate buffering system

I. 緒 言

漸増運動時において、低い運動強度の時、排出される CO₂ は有気的代謝によって生成された CO₂ を反映し、その時の $\dot{V}O_2$ - $\dot{V}CO_2$ slope は、活

動筋における呼吸商 (RQ) に相当すると考えられている²⁾。運動強度が高く、解糖系によるエネルギー供給速度が増大すると、活動筋において生成された乳酸から解離した水素イオン (H⁺) が重炭酸イオン (HCO₃⁻) によって緩衝され (H⁺+HCO₃⁻

*筑波大学大学院・博士課程体育科学研究科
〒305 茨城県つくば市天王台1-1-1

**東京大学教養学部保健体育科
〒153 東京都目黒区駒場3-8-1

***筑波大学臨床医学系・放射線科
〒305 茨城県つくば市天王台1-1-1

****筑波大学体育科学系
〒305 茨城県つくば市天王台1-1-1

Doctral Program in Health and Sport Sciences, University of Tsukuba 1-1-1, Tennoudai, Tsukuba-shi, Ibaraki 305
Department of Sports Sciences, College of Arts and Sciences, University of Tokyo 3-8-1, Komaba, Meguro-ku, Tokyo 153
Department of Radiology, Institute of Clinical Medicine, University of Tsukuba 1-1-1, Tennoudai, Tsukuba-shi, Ibaraki 305

Institute of Health and Sport Sciences, University of Tsukuba 1-1-1, Tennoudai, Tsukuba-shi, Ibaraki 305

→H₂O+CO₂), さらには呼吸性の補償作用に伴い動脈血 CO₂ 分圧(PaCO₂)が減少することにより, CO₂ 排出量は急激に増加する. 最近, この漸増運動時に認められる過剰 CO₂ 排出量 (CO₂ excess) についての検討がいくつか報告されている^{2,6,7,15}. CO₂ excess は, 血中乳酸濃度の変動 (Δ La) に左右されることが知られており^{2,6,7,15}, Δ La に対する体重当たりの CO₂ excess の比率 (CO₂ excess/W/ Δ La) は, HCO₃⁻ 系の緩衝効率を反映する指標として考えられている^{6,7,15}. これまで, CO₂ excess/W/ Δ La は, 持久性鍛練者で高値を示し, 高強度の持久性パフォーマンスと密接な関係にあることが報告されている⁷. さらに, CO₂ excess/W/ Δ La は, 持久性トレーニングによって増加し, その増加量は12分間走の増加量との間に有意な相関関係を示すことが報告されている⁶. これらのことは, CO₂ excess/W/ Δ La の増加が, HCO₃⁻ 系の緩衝作用の効率化によって, 高強度運動時の筋疲労の主な要因の一つである細胞内 pH の低下^{5,9,12})を抑制し, 結果として高強度運動時のパフォーマンスを改善する可能性を示唆している. しかしながら, これまでの研究では, CO₂ excess/W/ Δ La と細胞内 pH の低下との関係についてはほとんど明らかにされていない.

そこで本研究では, 漸増運動の前後における細胞内 pH を ³¹P NMR 法を用いて非侵襲的に測定し, 細胞内 pH の低下と CO₂ excess/W/ Δ La との関係を検討することを目的とした.

II. 実験方法

A. 被検者

被検者は, 健康な男子大学生10名で, うち5名は陸上競技部に所属する短距離選手 (スプリンター群), 他の5名は週3~4日, 平均して63±25 km の距離を走っている学生ジョガー (ジョガー群) であり, 1.5~4年の経験年数を有していた. すべての被検者には, 実験の主旨, 内容および危険性について説明をし, 参加の同意を得た. 被検者の身体特性は表1に示した.

B. 実験プロトコール

すべての被検者は, 実験室到着後およそ30分間

Table 1. Physical characteristics and maximal oxygen uptake in sprinter and jogger group.

group	Age (years)	Height (cm)	Weight (kg)	$\dot{V}O_{2max}$ (ml·kg ⁻¹ ·min ⁻¹)
Sprinter	19.8±0.4	173.8±6.4	65.6±4.9	49.9±3.6
Jogger	21.8±1.6	169.4±2.6	57.2±3.2	57.1±5.4

Values are means±SD.

の安静を保った後, 安静時の細胞内 pH を測定するために, ³¹P NMR 法により ³¹P NMR スペクトルを大腿直筋より採集した (Signa, GE 社製, 1.5 T). なお, ³¹P NMR 法の測定は, すでに我々が報告していると同様な方法を用いた^{11,13}. 測定条件は, 繰り返し時間2秒, 積算回数4回であり, 約30秒で一つのシグナルを得た. 安静時の ³¹P NMR スペクトルの測定後, 被検者は安静時の血中乳酸濃度の測定のため, 毛細管によって指先より採血がなされた.

自転車エルゴメーター (Monark 社製) による漸増運動テストは, ペダル回転数 60 rpm で, 最初4分間は無負荷, その後毎分 0.5 kp ずつ負荷を漸増し, 疲労困憊に至らしめた. 運動終了後, 被検者は直ちに MR 装置にセットされ, ³¹P NMR により回復期のスペクトルを連続的に採集した. なお, 運動終了後の ³¹P NMR の測定は, 運動終了後1分20秒より開始した. また, 運動後3分目に採血を実施した.

C. 測定項目

漸増運動中, 呼気ガスは1分毎 (無負荷時には3~4分目) にダグラスバッグにより採気し, 質量分析器 (Perkin-Elmer 社製 MGA-1100) を用いて, 酸素濃度および炭酸ガス濃度の分析を行なった. 換気量 ($\dot{V}E$) の測定には乾式ガスメーターを用い, 酸素摂取量 ($\dot{V}O_2$) および炭酸ガス排出量 ($\dot{V}CO_2$) を算出した. また, 得られた呼気ガス変量の変化から, 各被検者毎に換気性閾値 (VT: Ventilatory Threshold) および呼吸性の補償作用の生じる点 (RCP: Respiratory Compensation Point) を決定した. VT の決定は, $\dot{V}E$ および $\dot{V}CO_2$ が急激に増加する点, $\dot{V}E/\dot{V}CO_2$ が増加することなく $\dot{V}E/\dot{V}O_2$ が上昇する点から総合的に判断した.

Table 2. CO₂ excess, CO₂ excess/W, ΔLa and CO₂ excess/W/ΔLa in sprinter and jogger group.

Group	CO ₂ excess (ml)	CO ₂ excess/W (ml·kg ⁻¹)	ΔLa (mmol·l ⁻¹)	CO ₂ excess/W/ΔLa (ml·kg ⁻¹ ·mmol ⁻¹ ·l ⁻¹)
Sprinter	2388±659	36.2±8.5	8.0±1.7	4.50±0.14
Jogger	2275±279	40.3±6.3	7.5±0.8	5.34±0.32**

Values are means±SD. ΔLa is the difference between blood lactate concentration at rest and that at 3 min after exhaustion.

** P<0.01, significantly different from sprinter group.

また、RCP は $\dot{V}E/\dot{V}CO_2$ が増加する点として決定した。CO₂ excess は、Yano¹⁵⁾ の方法に従い算出した。

血中乳酸濃度は、採血後直ちに自動乳酸分析器 (YSI Model 23 L, YSI 社製) によって測定された。

細胞内 pH は、得られた ³¹P NMR のスペクトルよりクレアチンリン酸 (PCr) と無機リン酸 (Pi) のピークを同定した後、PCr に対する Pi のケミカルシフト値 (σ) を求め、以下の式に代入することによって算出した。

$$pH = 6.75 + \log(\sigma - 3.27) / (5.69 - \sigma)^{14)}$$

D. 統計解析

群間における差の検定には、独立の t-test を行ない、有意水準は p<0.05 とした。

III. 実験結果

A. 漸増運動時における過剰 CO₂ 排出量

本研究で得られた CO₂ excess の絶対値および体重で除した相対値 (CO₂ excess/W) は、スプリンター群においてそれぞれ 2388±659 ml と 36.7±8.5 ml·kg⁻¹、ジョガー群でそれぞれ 2275±279 ml と 40.3±6.3 ml·kg⁻¹ を示し、絶対値および相対値ともに両群間に有意差は認められなかった (表 2)。また、運動強度からみた漸増運動時における VT 以下、VT から RCP まで、RCP 以上の三つの相での $\dot{V}O_2-\dot{V}CO_2$ slope にも両群間で有意差を認めなかった (スプリンター群; 0.95±0.05, 1.21±0.11, 1.69±0.24 vs ジョガー群; 0.95±0.06, 1.30±0.14, 1.76±0.18; 表 3)。しかしながら、血中乳酸濃度の増加量 (ΔLa; 運動後 3 分目-安静時) に対する CO₂ excess/W の比率 (CO₂ excess/W/ΔLa) は、スプリンター群で 4.50±0.14 ml·kg⁻¹·mmol⁻¹·l⁻¹、

Table 3. $\dot{V}O_2-\dot{V}CO_2$ slope during incremental exercise in sprinter and jogger group.

Group	Below VT	From VT to RCP	Above RCP
Sprinter	0.95±0.05	1.21±0.11	1.69±0.24
Jogger	0.95±0.06	1.30±0.14	1.76±0.18

Values are means±SD.

Table 4. Changes of intracellular pH after incremental exercise.

Group	Before	After	ΔpH
Sprinter	7.03±0.02	6.20±0.11	0.83±0.10
Jogger	7.02±0.01	6.39±0.19	0.63±0.18

Values are means±SD. ΔpH is the decrease of intracellular pH from rest to after exhaustion, which is the difference between at rest and at about 1.3 min after exhaustion.

ジョガー群で 5.34±0.32 ml·kg⁻¹·mmol⁻¹·l⁻¹ を示し、ジョガー群がスプリンター群より有意に高値を示した (表 2)。

B. 細胞内 pH の変化と過剰 CO₂ 排出量との関係

安静時の細胞内 pH は、スプリンター群で 7.03±0.02、ジョガー群で 7.02±0.01 を示し、両群間に差は認められなかった (表 4)。運動終了後の細胞内 pH は、スプリンター群で 6.11 から 6.36、ジョガー群で 6.20 から 6.57 の範囲にあり、各群の平均はそれぞれ、6.20±0.11, 6.39±0.19 を示した (表 4)。運動による細胞内 pH の低下 (ΔpH) は、CO₂ excess/W/ΔLa との間に有意な負の相関関係を示した (図 1)。しかしながら、ΔpH は、ジョ

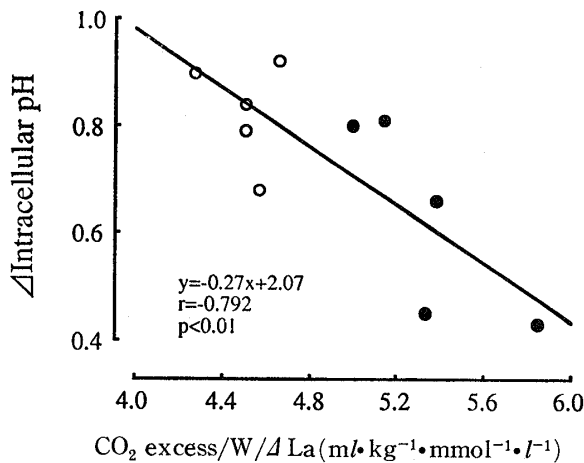


Fig. 1. Relationship between CO₂ excess/W/ΔLa and decrease of intracellular pH by ³¹P NMR following incremental exercise. Symbols are assigned for sprinter (○) and jogger group (●).

ジャー群(0.63±0.18 unit)がスプリンター群(0.83±0.10 unit)より小さい傾向を示したものの(表4), 両群間で有意差は認められなかった。

IV. 考 察

本研究の漸増運動時において, 運動強度からみた三つの相すなわち, VT 以下, VT から RCP まで, RCP 以上での $\dot{V}O_2$ - $\dot{V}CO_2$ slope にも両群間で有意差は観察されなかった。このことは, HCO₃⁻ 系の緩衝作用の結果生じる CO₂ と呼吸性の補償作用に伴う PaCO₂ の低下に由来した CO₂ の二つの成分の排出動態が同様であることを示唆している。これと一致して, CO₂ excess および CO₂ excess/W のいずれにおいても, スプリンター群とジョガー群で同様な値を示した。PaCO₂ の低下に起因した CO₂ の CO₂ excess に占める割合は小さく, ほとんどが HCO₃⁻ 系の緩衝作用の結果生じた CO₂ によって占められていることが示されているため²⁾, CO₂ excess の大小は, 乳酸から解離した H⁺ が HCO₃⁻ によってどの程度緩衝されたかを反映するものと考えられている^{6,7,15)}。したがって, 両群間において CO₂ excess に違いが観察されなかったことは, 活動筋からの HCO₃⁻ 系緩衝作用の結果生じた CO₂ の排出量が両群でほぼ同様であったことを示唆すると思われる。

CO₂ excess の大小は, 血中乳酸濃度の増加量

(ΔLa)に左右されることが知られており^{2,6,7,15)}, ΔLa に対する CO₂ excess/W の比率(CO₂ excess/W/ΔLa)は, HCO₃⁻ 系の緩衝効率を反映すると考えられている^{6,7,15)}。本研究で得られた CO₂ excess/W/ΔLa は, ジョガー群(5.34±0.32 ml·kg⁻¹·mmol⁻¹·l⁻¹)がスプリンター群(4.50±0.14 ml·kg⁻¹·mmol⁻¹·l⁻¹)より有意に高値を示しており, 先行研究の結果^{7,15)}と一致していた。この理由として, 活動筋から血中への CO₂ の拡散速度が速いことが考えられ, それは筋の毛細血管密度の高低に左右されるであろう。これまでの研究により, 筋の毛細血管密度は, 持久性トレーニングによって増大し, 持久性鍛練者は非鍛練者に比べて高いことが示されている^{1,4,8)}。したがって, 本研究のジョガー群はスプリンター群に比べ明らかに持久性トレーニング量が多いので, より高い毛細血管密度を有している可能性が考えられる。

活動筋からの CO₂ の除去は, 運動による細胞内 pH の低下を抑制する上で非常に重要であると考えられる。例えば, 血流が閉塞される等尺性収縮においては, 動的収縮と比較して, ある一定量の筋中乳酸の蓄積に対する筋内 pH の低下がより大きいことが報告されており, これは HCO₃⁻ 系の緩衝作用によって生じた CO₂ が筋から除去されないためであると考えられている¹⁰⁾。活動筋からのより速い CO₂ の除去は CO₂ の蓄積を抑制し, HCO₃⁻+H⁺↔H₂O+CO₂ の右方向への反応を促進すると考えられる。したがって, CO₂ excess/W/ΔLa の大小が, CO₂ の活動筋からの除去速度に起因したものであるならば, 運動による細胞内 pH の低下は, CO₂ excess/W/ΔLa の値が高いほど抑制される可能性が考えられる。そこで, 我々はこの仮説を検討するために, 非侵襲的にヒトの筋細胞内 pH を求めることのできる ³¹P NMR 法を用いた。

本研究では, 実験プロトコール上, 運動終了直後の細胞内 pH は測定できず, ³¹P NMR による測定は運動終了後1分20秒であった。したがって, 本研究で得られた運動後の細胞内 pH は, 運動直後の pH より回復している可能性が考えられる。しかしながら, Taylor たち¹⁴⁾は, 運動後約2分ま

での pH は運動直後と同様か、あるいはさらに低下することを示した。したがって、本研究で得られた細胞内 pH は、方法論上、運動終了後1分20秒より測定した値ではあるが、運動直後の値とほぼ同様であるとみなしてよいものと思われる。

運動による細胞内 pH の低下は、CO₂ excess/W/ΔLa との間に有意な負の相関関係が認められた($r = -0.792$, $p < 0.01$)。それゆえ、CO₂ excess/W/ΔLa が高いほど、乳酸蓄積に伴う細胞内 pH の低下を抑制することのできる可能性を示唆しており、本研究の結果は、我々の仮説を支持するものと考えられる。

V. 要 約

本研究の目的は、漸増運動時における過剰 CO₂ 排出量と細胞内 pH との関係を明らかにすることであった。被検者は健康な男子学生10名で、うち5名が陸上競技部に所属する短距離選手(スプリンター群)、残りの5名が週に3~4日定期的にジョギングを行なっている大学生(ジョガー群)であった。被検者には自転車エルゴメーターによる漸増運動テストを行なわせ、呼気ガス変量および³¹P NMR による細胞内 pH を測定した。

結果の要約は次のとおりである。

1) 漸増運動時における VT 以下、VT から RCP まで、RCP 以上での $\dot{V}O_2$ - $\dot{V}CO_2$ slope は、スプリンター群でそれぞれ 0.95 ± 0.05 , 1.21 ± 0.11 , 1.69 ± 0.24 , ジョガー群で 0.95 ± 0.06 , 1.30 ± 0.14 , 1.76 ± 0.18 を示し、両群間で有意差は認められなかった。

2) CO₂ excess の絶対値および相対値は、スプリンター群でそれぞれ 2388 ± 659 ml, 36.2 ± 8.5 ml·kg⁻¹, ジョガー群でそれぞれ 2275 ± 279 ml, 40.3 ± 6.3 ml·kg⁻¹ を示し、両群間で統計的な有意差は認められなかった。

3) CO₂ excess/W/ΔLa は、スプリンター群で 4.50 ± 0.14 ml·kg⁻¹·mmol⁻¹·l⁻¹, ジョガー群で 5.34 ± 0.32 ml·kg⁻¹·mmol⁻¹·l⁻¹ であり、ジョガー群がスプリンター群より有意に高値を示した。

4) 漸増運動による細胞内 pH の低下は、スプリンター群で 0.83 ± 0.10 pH unit, ジョガー群で

0.63 ± 0.18 pH unit を示し、ジョガー群がスプリンター群より小である傾向を示したものの、統計的には有意差は認められなかった。

5) 漸増運動による細胞内 pH の低下と CO₂ excess/W/ΔLa との間には、 $r = -0.792$ の有意な負の相関関係が認められた($p < 0.01$)。

以上の結果から、より高い CO₂ excess/W/ΔLa は、HCO₃⁻ 系の緩衝効率が高いことを意味し、運動による細胞内 pH の低下を抑制する可能性が示唆された。

(受付 平成4年7月30日)

参 考 文 献

- 1) Andersen, P.(1975) : Capillary density in skeletal muscle of man. *Acta Physiol. Scand.*, **95**, 203-205.
- 2) Beaver, W. L. and Wasserman, K. (1991) : Muscle RQ and lactate accumulation from analysis of $\dot{V}CO_2$ - $\dot{V}O_2$ relationship during exercise. *Clin. J. Sports Med.*, **1**, 27-34.
- 3) Beaver, W. L., Wasserman, K. and Whipp, B. J. (1986). Bicarbonate buffering of lactic acid generated during exercise. *J. Appl. Physiol.*, **60**, 472-478.
- 4) Brodal, P., Ingjer, F. and Hermansen, L. (1977) : Capillary supply of skeletal muscle fibers in untrained and endurance-trained men. *Am. J. Physiol.*, **232**, H705-H712.
- 5) Costill, D. L., Verstappen, F., Kuipers, H., Janssen, E. and Fink, W.(1984) : Acid-base balance during repeated bouts of exercise : Influence of HCO₃⁻. *Int. J. Sports Med.*, **5**, 228-231.
- 6) Hirakoba, K., Maruyama, A., Inaki, M. and Misaka, K. (1992) : Effect of endurance training on excessive CO₂ expiration due to lactate production in exercise. *Eur. J. Appl. Physiol.*, **64**, 73-77.
- 7) 平木場浩二, 丸山敦夫, 美坂幸治(1990) : 運動時の乳酸生成による CO₂ 過剰排出と持久性パフォーマンスの関係. *体力科学*, **39**, 69-77.
- 8) Hoppeler, H., Howald, H., Conley, K., Lindstedt, S. L., Claassen, H., Vock, P. and Weibel, E. R. (1985) : Endurance training in humans : aerobic capacity and structure of skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.*, **59**, 320-327.

- 9) Hultman, E., Canale, S. D. and Sjöholm, H. (1985) : Effect of induced metabolic acidosis on intracellular pH, buffer capacity and contraction force of human skeletal muscle. *Clin. Sci.*, **69**, 505-510.
- 10) Hultman, E. and Sahlin, K. (1980) : Acid-base balance during exercise. In Hutton, R. S. and Miller, D. I. (eds) *Exercise and Sport Sciences Reviews*, **8**, 41-128.
- 11) 稲木光晴, 久野譜也, 阿武 泉, 板井悠二, 勝田茂 (1991) : 運動時の細胞内 pH とクレアチンリン酸濃度の変化に及ぼす NaHCO_3 摂取の影響— ^{31}P NMR による検討—. *体力科学*, **40**, 493-500.
- 12) Jones, N. L., Sutton, J. R., Taylor, R. and Toews, C. J. (1977) : Effect of pH on cardiorespiratory and metabolic responses to exercise. *J. Appl. Physiol.*, **43**, 959-964.
- 13) Kuno, S., Akisada, M., Anno, I., Niitsu, M., Itai, Y. and Katsuta, S. (1991) : Heterogeneity of muscle energetics in human muscle fiber type using ^{31}P nuclear magnetic resonance. *Clin. J. Sports Med.*, **1**, 247-250.
- 14) Taylor, D. J., Bore, P. J., Styles, P., Gadian, D. G. and Radda, G. K. (1983) : Bioenergetics of intact human muscle : A ^{31}P nuclear magnetic resonance study. *Mol. Biol. Med.*, **1**, 77-94.
- 15) Yano, T. (1987) : The differences in CO_2 kinetics during incremental exercise among sprinters, middle, and long distance runners. *Jpn. J. Physiol.*, **37**, 369-378.