

運動性貧血に関する研究

物理的衝撃，温度，乳酸が赤血球膜浸透圧脆弱性に及ぼす影響

伊藤 朗*・栗林 徹**・丹 信介***・福家 理映子****
堀 太平*****・石瀬 まゆみ*****・金高 仁美*****
井川 幸雄*****

Studies on the Sports Anemia

Effect of Osmotic Fragility of Red Blood Cell Membrane on Physical Impact, Temperature and Lactic Acid.

Akira ITO, Tohru KURIBAYASHI, Nobusuke TAN, Rieko FUKUYA
Tahei HORI, Mayumi ISHISE, Hitomi KINDAKA and Satio IKAWA

This study was made on the purpose of clarifying the cause of sports anemia. We chose the following three factors from among all possible causes:

1. Physical Impact
2. Temperature
3. Lactic Acid

We investigated *in vitro* and *in vivo* how they affect red blood cell membrane. Osmotic fragility was measured by Coil Planet Centrifugatio (CPC). Hemolysis Start Point (HSP), Hemolysis Maximum Point (HMP) and Hemolysis End Point (HEP) were used as the parameter of CPC rate.

The result is summarized as follows:

1. Physical Impact

CPC rate decreased proportionately till 100 seconds in wave mixing (3,000 rpm). The decreasing rate was:

HSP > HMP > HEP

and Hematocrit rate decreased in proportion to mixing time.

We, then made an experiment on the following three kinds of exercise at mean heart rate of 170/min.

- (1) bicycle ergometer
- (2) treadmill

* 筑波大学 体育学科系
** 岩手大学 教育学部
*** 山口大学 教養部
**** 香川県香川町立川東小学校
***** 宮崎県日向市立日向中学校
***** 富山県立富山高校
***** 兵庫県北条中学校
***** 東京慈恵会医科大学 臨床検査医学

(3) Jump up to a 76cm-stand and go down to a concrete floor

In the above exercise, the increasing rate of CPC was:

HSP>HMP>HEP

(especially, CPC rate of HSP increased remarkably.)

The increasing rate of HSP was the least in (1) and showed little difference between (2) and (3). The increasing rate of lactic acid in blood after the above exercise was:

(1)>(2)>(3)

2. Temperature

CPC rate decreased a little till 180 minutes after a water bath at 0°C. HSP decreased significantly 15 minutes later after a water bath at 45°C ($P<0.05$). But HSP indicated 150mOsm, and HMP would not be measured in the following conditions:

* 8 minutes later after a water bath at 50°C

* 2 minutes later after a water bath at 55°C

HEP decreased in the above two conditions, and increased a little 15 minutes later after a water bath at 55°C.

3. Lactic Acid

CPC rate increased extremely one minute later after adding lactic acid *in vitro*. CPC rate, then, decreased 30 minutes later and kept the condition till 240 minutes, while lactic acid rate kept increasing till 240 minutes. But CPC rate, on the whole, indicated high points in proportion to a increase of adding lactic acid.

CPC rate increased remarkably in the exercise with a much increasing rate of lactic acid. It proved that there is a significant correlation ($r=0.82-0.83$) in a increasing rate (before or after exercise) between CPC and lactic acid.

We concluded the followings from the above experiments:

- 1) The time and intensity of physical impact have much effect on increasing the fragility of red blood cell membrane, then hemolysis of aged erythrocytes starts. And according to the decrease in aged erythrocytes, hemolysis is suppressed.
- 2) The radiative heat over 50°C hemolyzes most of the aged erythrocytes and a part of younger ones.
- 3) Fragility of red blood cell membrane is the increase by lactic acidosis but recovers with the decrease of acidosis.

緒 言

1958年,吉村は⁴⁾,運動選手の蛋白欠乏が原因で生ずる貧血を,運動性貧血と命名した。しかし,その後この考えは拡大解釈され,運動時の多くの原因も含めた「いわゆる運動性貧血」を,単に運動性貧血と呼ぶように慣習化されつつある¹⁷⁾。

いわゆる運動性貧血の原因は多岐にわたるが,大別すると①赤血球の産生不足,②物理的溶血,③化学的物質による溶血等となり,これらに関する研究が多くなされている^{3,4,6,7,11,19)}。一方,運動性貧血に関する調査研究も多く現況や愁訴,及び予防対策に関する研究も認められる^{5,8,12,13,15,16,17,18}

^{19,27,28,29,37)}。

本研究は,広義の運動性貧血の原因と考えられるものの中から,1)物理的衝撃,2)温度,3)乳酸の3因子を選択し,これらの因子が赤血球膜浸透圧脆弱性に及ぼす影響について,*in vitro*と*in vivo*で検討した。

浸透圧脆弱性の測定法は1966年,木村,伊藤,布垣らによって動的赤血球膜物性検査装置(Coil Planet Centrifuge,以下CPCと略)として開発され,Sanford法やParpart法に比し操作が簡単で短時間で多検体処理できること,膜異常を忠実に把握できるなどの利点が明確化した³⁹⁾。そこで本研

究では、CPC法を用いて検討することにした。

物理的衝撃と溶血に関する研究には、素手の空手打ちで溶血しスポンジラバー巻きで溶血しない³⁶⁾、硬い路面を走ると溶血し柔らかい路面だと溶血しない⁹⁾等がある。Brounは^{3,4)}、運動による血液循環の促進により、赤血球の毛細管壁への摩擦が増加し、溶血が起りやすくなることを推論している。また、長時間の歩行後にみられる行軍性血尿のように、足底の血管が靴との摩擦をくりかえすうちに、赤血球膜が傷つき溶血をきたすという報告もみられる²²⁾。

赤血球膜の浸透圧抵抗性に関する研究では、山田は⁴⁰⁾運動負荷により、赤血球の低張性食塩水に対する抵抗性が減少し、赤血球膜の脆弱性が亢進していることを明らかにし、この原因は赤血球膜の摩擦によるものと推論している。

*in vitro*での研究は、小林ら²³⁾がwave mixing及び遠心分離により²³⁾、渡邊ら³⁹⁾も遠心分離により検討し、いずれも膜抵抗性の亢進を認めているが、両者とも原因にはふれていない。

温度と溶血に関する研究は、*in vivo*についてはみあたらず、*in vitro*で渡邊ら³⁹⁾が5°C~50°C、中川は²⁵⁾25°C~45°Cについて検討し、いずれも膜抵抗性の亢進を認め、その機序について、加温によりLecithin-Cholesterol Acyltransferase (以下LCATと略)の活性が低下し、膜内へのCholesterolの取り込みが増加し、膜抵抗性が強化されると推論している。

乳酸が赤血球膜浸透圧抵抗性に及ぼす影響に関する研究には、血中の乳酸値の増加に伴うCPC値の増加を認め、この増加にはpHの低下が関与していると推定し、このpHについて白木は³²⁾*in vivo*で検討し膜抵抗性の低下を認め、中川は²⁵⁾*in vitro*で検討し血漿のない状態でpHを低下させるとCPC値の低下が著しく、血漿のある場合は抑制されるとし、血漿中の溶血阻止活性を推論している。

以上の如く、運動性貧血の原因と考えられる物理的衝撃、温度、乳酸に関する先行研究がみられるが、いまだ不明点が多い。本研究は、上記の先行研究をふまえて、CPC値の動態について詳細な検討を試みることにした。

研究方法

I. *in vitro*でのCPC値の検討

実験1、物理的衝撃に関する検討

運動時の物理的衝撃が、CPC値に及ぼす影響を検討する前に、その基礎的実験として*in vitro*での検討を試みた。

被検血液は、女子運動部員(21歳、1名)の安静時静脈血である。ヘパリン処理後、6本の試験管に分注して試料とした。物理的衝撃は、試験管ミキサーを用い、3,000rpmでそれぞれ0秒、20秒、40秒、60秒、80秒、100秒間の6種のみキシング時間について検討した。

測定項目は、CPC、ヘマトクリット(以下Htと略)で、いずれも五重測定とし最高値と最低値をカットし残り3つを平均して測定値とした(本研究における以下すべての測定も同様である)。測定方法は、表-1に示した(CPCについては後記)。実験はすべて20~25°Cの室温下実施した。

表-1、各種測定法²⁰⁾

ヘマトクリット値:	毛細管遠心法
赤血球数:	東亜マイクロセルカウンター法
ヘモグロビン値:	東亜ヘモグロビンカウンター法
血清総蛋白値:	屈折法
血中乳酸値:	酵素法
血清鉄値:	国際標準法
不飽和鉄結合能:	炭酸マグネシウム法

実験2、温度に関する検討

高・低温度環境下でのスポーツを想定し、その基礎的資料を得る目的で、以下の*in vitro*の実験を試みた。

被検血液は、女子運動部員(20~21歳)の安静時静脈血とし、5名分をヘパリン処理して4本の試験管にそれぞれ分注して試料とした。これらの試験管を恒温槽を用い、温度0°C、45°C、50°C、55°Cの4種設定し、各々冷・温浴させた。測定は4種について、それぞれ0分、15分、30分、60分、120分、180分間経過後に、CPC値、乳酸値(測定法、表-1)において、実験1と同様に測定した。

実験3、乳酸添加に関する検討

血中乳酸値が増加するとCPC値に影響を及ぼすという報告がある¹⁰⁾。これを*in vitro*で追試する目的で、以下の実験を試みた。

被検血液は、女子運動部員(21歳、1名)の安静時静脈血とし、ヘパリン処理した後5本の試験管に分注して試料とした。乳酸溶液は血液と等張で、濃度は35mg/dl(以下Dと略)、65mg/dl(以下Cと略)、103mg/dl(以下Bと略)、120mg/dl(以下

Aと略)となるよう調整した。4本の被検試料に上記溶液を(1本には生理食塩水)それぞれ0.2ml添加し、37°Cの恒温槽中に保存した。CPC値、乳酸値の測定は、添加前、添加1分後、30分、60分、120分、180分、240分経過後に各試験管から必要量の血液を採量して実施した。

II. *in vitro*でのCPC値の検討

実験1、衝撃の異なる3種の運動についての検討

衝撃の異なる3種の運動が、CPC値に及ぼす影響について検討した。3種の運動とは1)自転車エルゴメーター・ペダリング、2)トレッドミル走、3)76cmの台上に登り、コンクリート床に跳び降りる運動(以下up down運動と略)である。

これらの運動は、運動強度を均一にするため運動中の平均心拍数が170拍/分となるよう調整し、又運動時間は各々20分間に統一した。

被検者は、女子運動部員1名で、3種の運動負荷は日をかえて、それぞれ3日以上の間隔をおいて実施した。履きものは、底の薄い運動靴とし、素足で履かせた。

採血は、各実験とも運動前(30分間座位安静保持後)、運動終了3分、30分、60分後とし、それぞれCPC値、乳酸値を測定した。

実験2、Exhaustive test、12分間走、5,000m走についての検討

運動時には身体に、物理的衝撃が加わり、体温の上昇をきたし、血中乳酸値が増加するなど種々の変化を生ずる。これらが総合された*in vivo*での状態を検討するため、1)自転車エルゴメーターによるexhaustive test、2)12分間走、3)5,000m走について検討した。

1) Exhaustive test

被検者は大学女子バスケットボール部員5名である。早朝空腹時に実験室にて、30分間以上の座位安静を保持させた後に採血し、これをtest前の血液とした。負荷は、モナーク社製自転車エルゴメーターを用い、負荷漸増法により7分程度でexhaustionとなるようにした。Test後の採血は、3分、30分、60分後に実施した。採血後一部をヘパリン処理してCPC値、赤血球数、Ht値、ヘモグロビン値の測定に、残りは血清総蛋白値、血清鉄値、不飽和鉄結合能の測定に供した(測定法、表-1)。実験室温は10~15度、湿度は60~70%で

あった。

2) 12分間走

被検者は大学女子運動部員10名である。採血は走前(30分座位安静)、走後3分、60分、120分とした。測定項目は、CPC値、乳酸値、とした。12分間走行時の気温は12°C、湿度65%であった。

3) 5,000m走

被検者は35~57歳の男女11名である。各被検者はスタート2時間前に朝食をとらせた。採血は、走前の安静時と走後3~5分の2回実施しCPC値の測定に供した。

III. CPC値の測定法

前記の如く、CPC値以外の測定法は表-1にまとめて示した。ここでは、CPC値の測定法についてのみ述べる。

CPC値の測定法は、動的赤血球膜物性検査装置(ダイアトロン社製)による遠心法である。コイルは、150/30mOsmを使用し、標準的手法²¹⁾に従つ

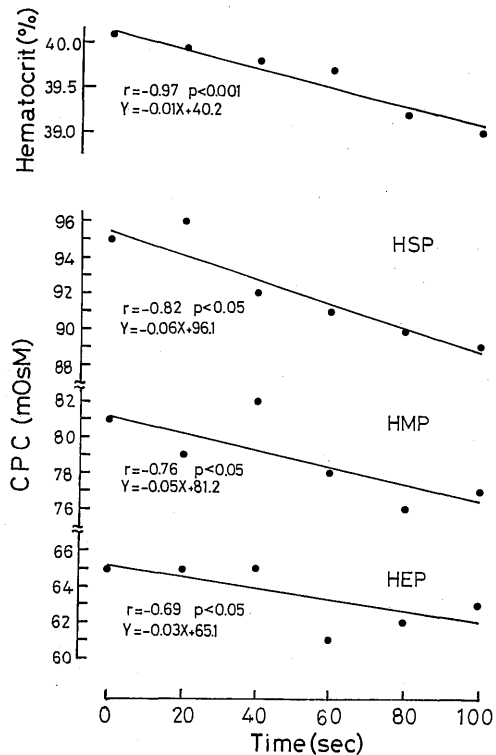


Fig. 1 Time course of hematocrit and CPC during mixing with vibrator at 3000 rpm

た。CPC値のパラメーターとしては、赤血球溶血開始点（以下HSPと略）、溶血最高点（以下HMPと略）、溶血終了点（以下HEPと略）を用いた。

結 果

I. *in vitro*でのCPC値の検討結果

実験1, 物理的衝撃に関する検討結果

図-1に、試験管ミキサーによる血液ミキシングの時間別のCPC値, Ht値の結果を示した。図示の如く、CPC値はHSP, HMP, HEPともにミキシング時間が長くなるに従い低張側へと偏位する傾向を示した。またHt値は、CPC値と同様にミキシング時間が延長されるに従い低下傾向を示した。

実験2, 温度に関する検討結果

恒温槽の4種の温度条件について、時間経過に伴う乳酸値, CPC値の変化を図示した。図-2は、0°C, 45°Cの冷・温浴時の乳酸値及びCPC値の結果である。図-3は50°C, 55°Cの温浴時の乳酸値及びCPC値の結果である。乳酸値は、0°Cの冷浴では時間が経過しても変化がみられなかったのに比し、45°Cの温浴では、時間経過に伴い直線的に増加した。50°Cでは15分後わずかに増加したが55°Cではほとんど増加しなかった。

CPC値は、0°Cの冷浴ではHSP, HMP, HEPと

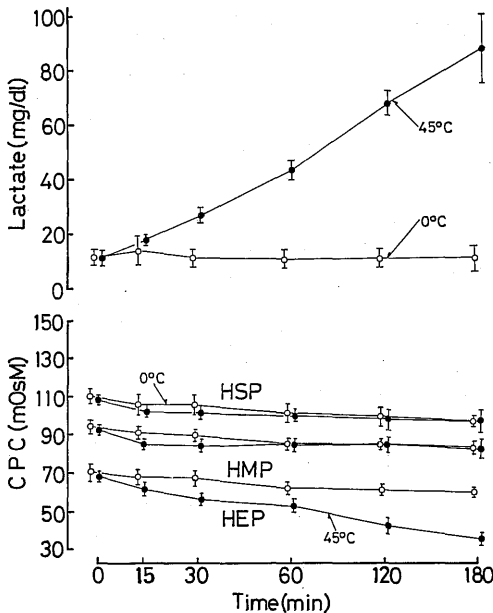


Fig. 2 Time course of blood lactate concentration and CPC during incubation in water bath at 0°C and 45°C (N=5)

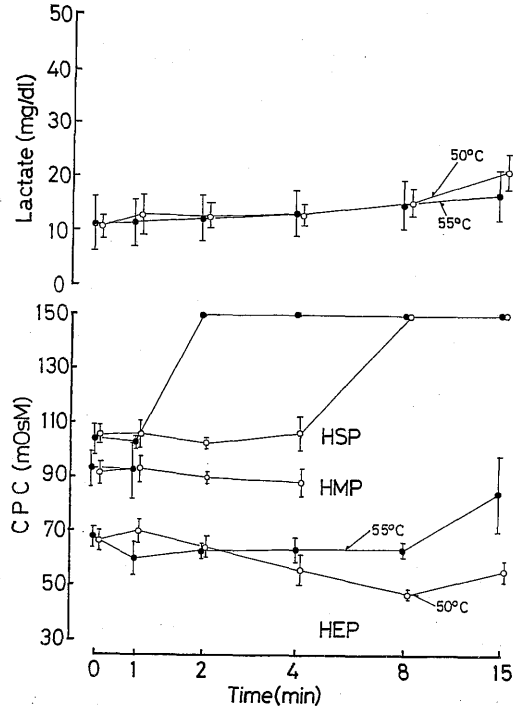


Fig. 3 Time course of blood lactate concentration and CPC during incubation in water bath at 50°C and 55°C. Note that HMP since 2 min (at 55°C) and 4 min (at 50°C) couldn't be determined for hemolysis (N=5)

も経時的に僅かな低張側への偏位がみられたに過ぎなかった。しかし、45°Cの温浴では、HSP, HMPが、0°C冷浴の経時的変化と大差なかったものの、HEPは15分目以降有意 ($P < 0.05$) な低張側への偏位が認められた。

これらに比し、50°C, 55°Cの温浴でのCPC値の変化は極めて大きかった。つまり50°Cでは8分目、55°Cでは2分目の測定で150mOsMのコイルの初めからすでに溶血帯となり、またHMPの判定は不可能であった。HEPは、50°Cで2分目より漸次低張側へと偏位していったのに比し、55°Cでは1分目で低下した後、漸次上昇し、15分後では0分よりも高値となった。

実験3, 乳酸添加に関する検討結果

図-4に、乳酸添加実験時の乳酸値及びCPC値の経時的変化を示した。

本実験の実験開始前の乳酸値は11.5mg/dlであった。これに生理食塩水を添加した対照(Control)は1分後に12.1mg/dl, その後徐々に増

加し240分後に78mg/dl Δ 544.6%の上昇となった。これに対し乳酸添加試料では240分後までにそれぞれ上昇差がみえ、A (乳酸添加で120mg/dlとなるよう調整), B (103mg/dlとなるよう調整), の場合は上昇率が緩慢で、A が120mg/dl \rightarrow 158mg/dl Δ 31.7%の上昇, B が103mg/dl \rightarrow 133mg/dl Δ 29.1%の上昇であった。またC (65mg/dl調整)では30分後まで比例的に上昇, D (35mg/dl調整)

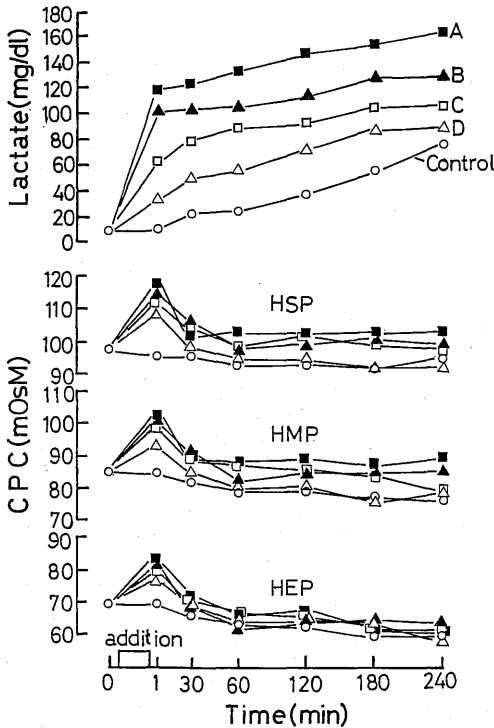


Fig. 4 Changes in blood lactate concentration and CPC after lactic acid addition on incubation at 37°C. Note that blood lactate concentration immediately after addition are 120 mg/dl (A), 105 mg/dl (B), 60 mg/dl (C) and 35 mg/dl (D)

では180分後まで比例的に上昇,その後緩慢となったが,240分後にはC が65mg/dl \rightarrow 111mg/dl Δ 70.8%, D が35mg/dl \rightarrow 91mg/dl Δ 160.0%の著しい増加となった。

CPC値は,乳酸添加前値, HSP 98mOsM, HMP 85mOsM, HEP 70mOsMであった。添加1分後では,対照のHSPが96mOsMとほとんど不変であったのに比し, A 118mOsM, B が115mOsM, C が112mOsM, D が110mOsMと上昇した。HMP, HEPもHSPとほぼ同様の変化を示した。しかし,30分後には,HSP, HMP, HEPともmOsMの低下を示し,その後は対照とDのみ低下傾向を示し,A, B, Cはほとんど変化を示さなかった。

II. *in vivo*でのCPC値の検討結果

実験1, 衝撃の異なる3種の運動についての検討結果

図-5にCPC値, 乳酸値の結果を運動前値に対する運動後値の差(Δ)で示した。

乳酸値は,終了3分後の Δ 値で,1)自転車エルゴメーター・ペダリングで+50mg/dl, 2)トレッドミル走で+36.7mg/dl, 3) Up down運動で+31.7mg/dlとなり,1)>2)>3)の順となった。終了30分後値は,いずれもほぼ走前値に戻っていた。

CPC値は,終了3分後の Δ 値で,HSPは1)ペダリングで+5.0mOsM, 2)トレッドミルで+9.2mOsM, 3) Up downで+8.2mOsMの高値を示した。またHMPはペダリングで+2.5mOsM,トレッドミルで+1.0mOsM, Up downで+2.5mOsMの高値を示した。HEPは1)が+2.2mOsM, 2)が+1.2mOsM, 3)が+1.8mOsMの高値を示した。その後は運動前値に近づく傾向を示したが,HSPはHMP, HEPに比し戻り方が悪く,終了60分後で高値傾向を示した。

Table 2 Comparison of Red blood cell, Hemoglobin, Hematocrit, Serum iron, UIBC and Total protein after Exhaustion test.

Time, min	Rest	Rec. 3	Rec. 30	Rec. 60
RBC (10 ⁴ /mm ³)	412.0 \pm 34.5	457.1 \pm 28.0*	418.1 \pm 35.4	408.3 \pm 27.8
Hb (g/dl)	12.4 \pm 1.1	13.5 \pm 1.0*	12.3 \pm 0.9	12.4 \pm 0.8
Ht (%)	39.4 \pm 1.5	42.6 \pm 1.6*	38.7 \pm 1.3	38.8 \pm 1.3
Fe (μ g/dl)	124.0 \pm 45.1	133.6 \pm 46.7	126.7 \pm 42.8	125.9 \pm 44.4
UIBC (μ g/dl)	226.5 \pm 33.1	246.3 \pm 40.3*	219.3 \pm 39.8	203.3 \pm 41.5
T.P. (mg/dl)	6.8 \pm 0.6	7.6 \pm 0.6*	7.0 \pm 0.6	6.9 \pm 0.6

* P < 0.01

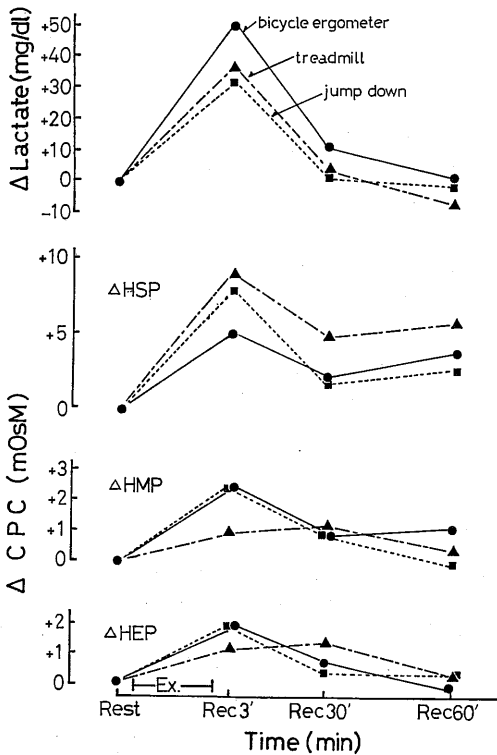


Fig. 5 Changes in blood lactate concentration and CPC after three kinds of exercise

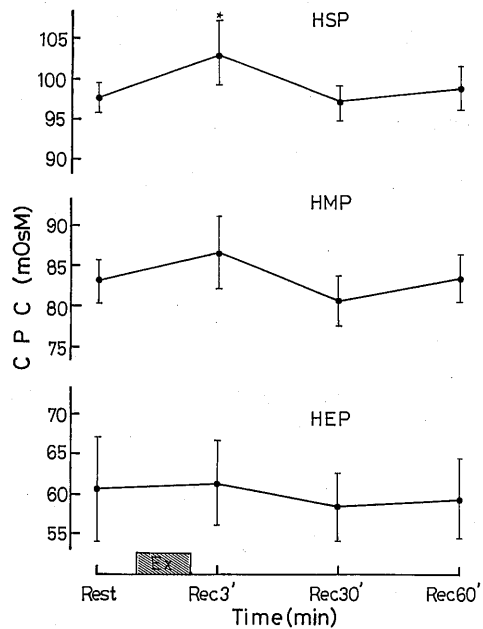
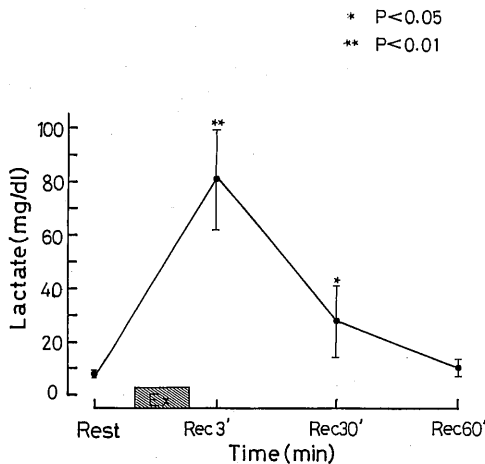


Fig. 6 Changes in blood lactate concentration and CPC after exhaustive exercise by peddling (N=5)

実験 2, Exhaustive test, 12分間走, 5,000m走
についての検討結果

1) Exhaustive testの結果

表-2 に, 本テスト時の赤血球数, Ht値, ヘモグロビン値, 血清総蛋白値, 不飽和鉄結合能, 血清鉄値を示した。図-6 に, 同乳酸値, CPC値を示した。

赤血球数, Ht値, ヘモグロビン値, 血清総蛋白値, 不飽和鉄結合能はtest終了直後値が有意な ($P < 0.05$) 上昇を示したが, その後は低下しtest前値と有意差がなくなっている。

乳酸値は, test直後の平均が73.0mg/dlと上昇 ($P < 0.01$), 30分後値は19.8mg/dlでありtest前値よりも有意に ($P < 0.05$) 高値であった。

CPC値は, test直後HSPが平均+5.6mOsmの有意な ($P < 0.05$) 高値を示し, HMP, HEPについても同様の傾向を示したが有意性は認められなかった。その後は, いずれの値も低下しtest前値に戻っている。

2) 12分間走の結果

本実験の12分間走の走行距離は, 平均2,789mであった。図-7 に, 乳酸値, Ht値, CPC値の結果を示した。

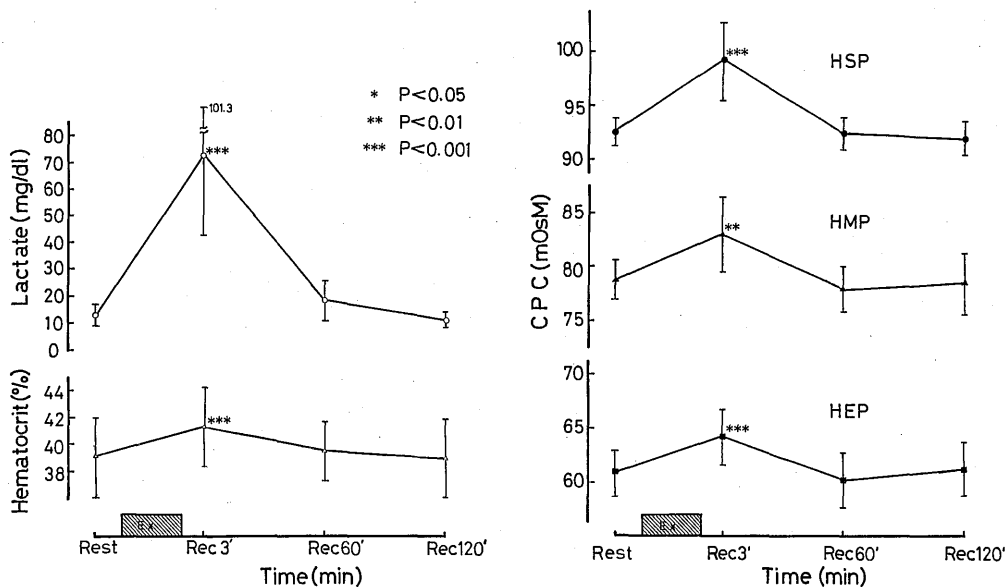


Fig. 7 Changes in blood lactate concentration, hematocrit and CPC after 12 minutes running (N=10)

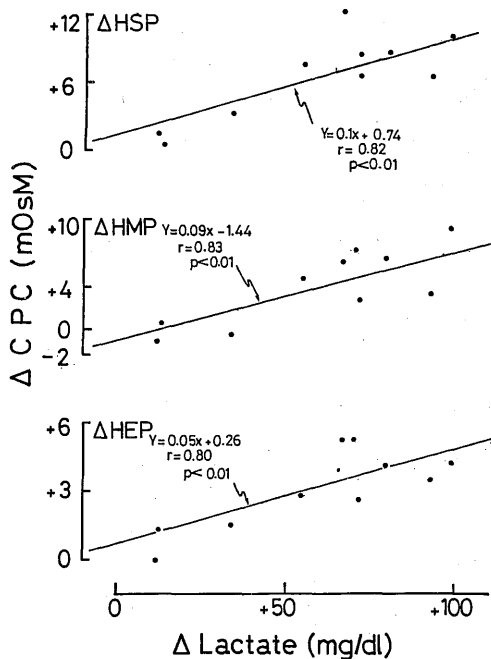


Fig. 8 Correlation between Δ CPC (mOsM) and Δ lactate (mg/dl) at recovery 3 minutes (N=10)

乳酸値は、走前値の平均が12.7mg/dl、終了3分後値71.9mg/dlと有意な (P<0.01) 上昇である。

CPC値は、走前平均値がHSP 92.7mOsM, HMP 78.7mOsM, HEP 61.2mOsMであったが、終了3分後平均値はそれぞれ+6.6mOsM, (P<0.001), +4.4mOsM (P<0.01), +3.0mOsM (P<0.01)の有意な高値を示した。しかし、終了1時間後ではそれぞれ92.5mOsM, 78.0mOsM, 60.2mOsMとなり走前値とほとんど差がなくなった。

図-8に、CPC値と乳酸値の相関関係を、それぞれ走前値に対する終了3分後値の増減値で示した。HSP, HMP, HEPと乳酸値と相関係数は、それぞれ $r=0.82$ (P<0.01), $r=0.83$ (P<0.01), $r=0.80$ (P<0.01)を示した。

3) 5,000m走の結果

図-9に、CPC値の結果を示した。走前値に比し、走後値は高値となり、その差はHSP+4.9mOsM (P<0.01), HMP+4.9mOsM (P<0.05), HEP+3.2mOsM (P<0.05)であった。

考 察

運動時の物理的衝撃、環境温度、乳酸産生が、赤血球膜の浸透圧脆弱性に及ぼす影響について、

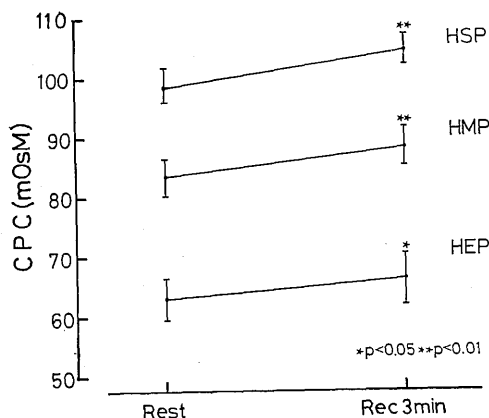


Fig. 9 Changes in CPC after 5000 m running (N=11)

*in vitro*及び*in vivo*の面から検討した。

CPC値のパラメーターは、HSP, HMP, HEPを用いているが、この測定法での赤血球の溶血現象について、柴田は³⁴⁾高倍率走査電顕にて観察している。溶血はdiscoidからの水の侵入につれ、次第に丸味を帯び球形化し、膨満化を経て破裂するのではなく、実際には複雑な過程を経て、多様な形態変化をたどりながら、最後はダンゴの集合体のようなシワの寄った形(疣状赤血球, warty erythrocyte)になって溶血を起こす³⁴⁾。その理由は、低浸透圧にさらされると、球内の分子の小さい内容物から順に膜を通過して外へいき、その後でヘモグロビンが漏出すると考えている³⁴⁾。そして溶血の始まる順は、老化した赤血球から、成熟したものへ、そして幼若球へと移っていくものと考えている。

赤血球膜は、脂質の二重構造中に蛋白分子がうめ込まれた形を呈しているが、この脂質はcholesterolとphospholipidsよりなり、これらが膜物性に及ぼす役割は、cholesterolが膜を硬くし、phospholipidsが膜の弾力性を増すものと考えられている^{1,2)}。

Lecithin-cholesterol Acyltransferase (LCAT, W.M. Sperry)の活性が低下するとfree cholesterolのester化が進まず、膜中のfree cholesterolが増加し、膜の硬度が増し狭部にトラップされ(棘状赤血球, spur cell)寿命が短くなると考えられている³⁴⁾。幼若赤血球は、成熟赤血

球に比し両脂質の含量が多く、CPC検査でも30 mOsm側に偏った山を認めるといふ^{24,34)}。これらはLCAT活性とHEP^{1,2,31)}、赤血球膜のcholesterolとHEPの間に有意な相関が認められるところからも推定することができる。

本研究は、これらのことをふまえて考察することにした。

I. 物理的衝撃がCPC値に及ぼす影響

山田は⁴⁰⁾、運動負荷により赤血球の低張性食塩水に対する抵抗性が減少することを報告し、その原因を赤血球の摩擦による膜抵抗の減弱としている。

小林らは²³⁾、wave mixing装置を用いて60分まで攪拌する実験を行い、攪拌時間に伴いHSP, HMPの低下を認め、HEPはほぼ安定であるとしている。また遠心時間(公転軸1,600rpm, 自転軸16rpm)20分まで検討し、10分までは低下し、その後は若干上昇する傾向を認めている。渡邊らは³⁹⁾、遠心時間30分まで検討し、HSP, HMP, HEPともに10分まで著しく低下するが、その後はほとんど変化を認めていない。またいずれも、物理的な衝撃による赤血球膜の抵抗性の亢進の原因について、ふれられていない。

本研究では、試験管ミキサー(3,000rpm)を用い、攪拌時間100秒まで検討した。その結果は、小林ら²³⁾、渡邊ら³⁹⁾と同様にHSP, HMPの著明な低下、HEPのわずかな低下を認めている。なかでもHSPの低下が最も著明であった。このように赤血球膜抵抗の増大する機序は定かではないが、同様にHt値が低下しているところから、攪拌により膜抵抗の弱い老化赤血球が衝撃に伴い弱いものからfragmentationをきたし、その残存赤血球のCPC値を測定していることになるためと考える。その裏付けとなるのは、HSPが著明に低下するのに、HEPではわずかの低下しか認めていないことである。

本研究では、*in vivo*の検討として、物理的な衝撃が少ないと考えられる1)自転車エルゴメーターによるpadding, 多いと思われる3)76cm台上よりコンクリート床へのup down運動、両者の間に位置すると思われる2) treadmill走の3種について、いずれも心拍数を170/分に規定して各20分間負荷している。3種の運動による上昇はHSPが最も著しくHMP, HEPの順となった。HSPに

ついては、treadmill走とup down運動に大差がなく、自転車のみ上昇が少ない。乳酸がCPC値に及ぼす影響については後述するが、自転車での乳酸値が最も高く(+50mg/dl)、自転車でのHSPの上昇は乳酸値の影響が考えられる。これに比しtreadmillでの乳酸値は+36.7mg/dl、up downでは+31.7mg/dlであり、乳酸の影響は少なく、物理的衝撃の影響が比較的大きかったものと考えたいが、*in vivo*となると体温、血管抵抗その他の関与因子が考えられ複雑であるので断定はできない。

以上*in vitro*の衝撃では膜抵抗性が増す報告が多いが、*in vivo*では低下する結果となった。この結果はexhaustive test, 12分間走, 5,000m走などの検討でも同様であった。また行軍性血尿²²⁾, 空手訓練³⁰⁾での血色素尿など多くの溶血を推測させる報告があるが、本研究と同様*in vivo*でのHt値の低下はない。これらのことは*in vivo*では*in vitro*よりも衝撃が少ないか、あるいは濃縮や脾臓血の動員による血漿の溶血抑制作用が関与していることが考えられる²⁵⁾。

従って*in vivo*の場合は、物理的衝撃が赤血球のfragmentationにまで至らず、膜の脆弱化にとどまったと考えるのが妥当である。

II. 温度がCPC値に及ぼす影響

この問題について*in vivo*で検討した研究はないが*in vitro*ではみられる。渡邊ら³⁹⁾は血液を37°C下に放置して検討しているが、10分後まではCPC値が有意に低下し、その後の低下は緩慢なことを認めている。また、5°C, 15°C, 25°C, 37°C, 50°Cの5種の温度槽に各10分入れて検討し温度の高い条件の順にCPC値が低下することを認めている。中川は²⁵⁾, 25°C, 30°C, 35°C, 40°C, 45°Cについて検討し、温度条件が上がるに従って次第に溶血位置が低張側に移動するが、これは膜構成脂質の粘度にparallelな動きをしており、ミクロビスコシティに及ぼす温度の影響と一致するとしている。

本研究では、渡邊³⁹⁾, 中川²⁵⁾らの検討領域をさけて低温の0°C, 高温の45°C, 50°C(重複), 55°Cまで拡大し、検討時間も長くした。その理由は、そのような環境下での活動が存在するからである。最高気温は1922年9月13日ジェフェラ平原の58°C, わが国では1933年7月25日山形市の40.8°C, 最低気温は、1960年8月24日ヴォストークの-88.3°C, わが国では1902年旭川の-41.0°Cである。このよ

うな気温の測定は、地上1.5mの風通しのよい百葉箱の中の日蔭でなされたものである。しかし日射の吸収は地表面では1.8倍、熱の損失は2倍といわれている。従って東京の8月の平均気温でも地表では43.5°C, 1月には1.8°Cとなる。本研究の設定条件は、夏冬の東京の日中、夜に遭遇する環境である。従って東京以南の夏、以北の冬では常に遭遇していることになる。風呂の入浴温度は、平均42~43°C, 東京の下町では46°Cもあるという。サウナは120°Cにも達するが通常5~15分、なかには20分間も入浴するものもいる。体温は恒常性を保つが、保てない場合もあり検討の必要性がある。

赤血球は、48°Cで数分加熱するとfragmentationを起こし溶血するといわれている²⁰⁾。また、II~III度の火傷を全身の15~65%に受けた者は、24時間以内に血管内溶血による急性溶血性貧血を生じ血色素尿も出るという³⁵⁾。一方、日焼けは皮膚の紅潮、水疱、光線アレルギーもみられるので³⁸⁾, 赤血球膜への影響も十分考えられる。

加温による赤血球膜抵抗の増大は、中川²⁵⁾の考察もさることながら、37°Cを越えるに従い老化赤血球のfragmentationが生じ、残った赤血球のCPC値を検査しているためと考えられる。中川²⁵⁾が3.2%溶血後の赤血球で10mOsM程度の抵抗値の強化をみていることから、本推論は妥当であろう。

また、HEPはLCAT活性や赤血球膜のcholesterolと相関が高いことを前述したが、LCATは加熱により活性が抑制されるため、膜の弾力性が亢進したことも考えられる¹⁾。

血液は、凍結融解時に溶血を生じる²⁰⁾。本研究では、凍結の生じない最低温度として0°Cでの冷浴を検討したが、CPC値はほとんど変化を示さず、むしろ低下傾向を示した。水浴ではないが、5°Cで8時間まで検討した結果においても、CPC値はほとんど変化せず、むしろ低下傾向を示しているが²³⁾, 本研究の結果も同様であった。

温度環境をかえた*in vivo*での検討がなされていないので、本研究での*in vitro*の結果をふまえた*in vivo*での検討が、今後の課題と考えている。

III. 血中乳酸値の増加がCPC値に及ぼす影響

弘は¹⁰⁾, *in vitro*の実験において、血液を32°Cで4時間放置し、乳酸値の増加に伴いCPC値が上昇することを報告している。

本研究では、45°Cで3時間温浴したが、乳酸値は上昇するもののCPC値は逆に低下している。また37°Cの条件下で、生理食塩水を対照に乳酸添加実験を(添加後35, 65, 103, 120mg/dlとなるよう調整)4時間後まで検討しても、添加1分後でのCPC値は上昇するものの、その後30分から低下し、240分後まで変化しなかった、しかし対照よりは高値を示した。

また、exhaustive testのような*in vivo*の実験では、CPC値は上昇している。また12分間走の結果の如く、乳酸値とCPC値の変化量(前後差 Δ)の間には正の高い相関が認められている。

Anaerobic thresholdを越える運動は、乳酸の増加により代謝性のacidosisが生じる。Hermansenら⁹⁾によると、2分で疲労困憊になるような運動では、毛細血管のpHは7.18に低下し、また40~60秒で疲労困憊する運動を5セット(休憩5分)行うと6.04まで低下したことを報告している。そして血中乳酸とpHの間には、高い負の相関関係のあることが知られている³⁰⁾。

白木は³²⁾、*in vivo*及び*in vitro*で、高CO₂ガスを吸入することにより呼吸性のacidosis生ぜしめ、その際の赤血球の浸透圧抵抗性が低下することを報告している。

これらは、代謝性、呼吸性いずれも、pHの低下が脆弱性の亢進に関与していることを示唆している。

*in vitro*の試験管内の血液は、解糖で乳酸を生成しpHを低下させるが、一方では管内外へCO₂を放出しpHを上昇する。更にbuffer actionによりpHの低下を抑えるため、乳酸が徐々に増加しても、結果的にはpHの変化はほとんどみられない。これらの作用は、乳酸を添加しても消失せず、添加当初一過性に酸性化するが、pHの回復は速い。

しかし、*in vivo*の嫌氣的運動では、一過性に乳酸値、CPC値が上昇、pHが低下し、その後徐々に回復する。

乳酸添加実験では、乳酸添加量に応じてCPC値が上昇するが、30分後には下降して添加量による差が少なくなり、その後乳酸値が増加してもCPC値の上昇は認められない。このことは、*in vivo*でみられた乳酸値とCPC値の相関は一過性で、その後は相関が成立しないことになる。つまり膜抵抗性の低下には乳酸そのものよりも、乳酸によるpHの低下が関与していることを示唆している。

中川²⁹⁾はpHがCPC値に及ぼす影響について検討し、plasmaを取り除いてからpHを低下させると血球膜抵抗が非常に減弱するとしているが、これはplasma中のbuffer actionが作用できないためと考えられ、膜がacidosisに弱いものと考えられる。

ま と め

運動性貧血の原因を解明する目的で以下の研究を実施した。

運動性貧血の原因と考えられるものの中から1)物理的衝撃、2)温度、3)乳酸の3因子を選択し、これらが赤血球膜浸透圧脆弱性に及ぼす影響について、*in vitro*と*in vivo*で検討した。浸透圧脆弱性値は、動的赤血球膜物性検査装置を用いて測定(この装置によって得られた値はCPC値と呼ばれている)した。CPC値のパラメーターは、溶血開始点(HSP)、最大溶血点(HMP)、溶血終了点(HEP)が用いられているので、これに従った。

その結果は以下の通り要約される。

1) 物理的衝撃について

CPC値は、*in vitro*のwave mixing(3,000rpm)100秒までmixing timeに比例して低下した。低下率はHSP>HMP>HEPの順であった。また赤血球容積(Ht)値はmixing timeに比例して低下した。

自転車エルゴメーター(b)、tread mill(t)、76cm台へupしコンクリート床へdownする(u)、3種の衝撃の異なる運動(いずれも平均的心拍数170拍/分)後のCPC値は、HSP>HMP>HEPの順に上昇した。なかでもHSPは、(t)と(u)の運動で上昇が著しく(両者は大差ない)、(b)の運動での上昇が最少であった(なお3種の運動後の血中乳酸値は(b)>(t)>(u)の順に上昇した)。

2) 温度について

CPC値は、*in vitro*の0°C冷浴では180分後までわずかな低下であった。45°Cの温浴ではHSP、HMPが0°Cと大差なくHEPが有意($p < 0.05$)低下した。50°Cの温浴では8分後、55°Cの温浴では2分後にHSPが150mOsm、HMPは測定不能、HEPは低下したが15分後には上昇した。

3) 乳酸について

CPC値は、*in vitro*の乳酸添加実験で1分後に添

加量に応じて著しい上昇を示し、その後の乳酸値は更に増加を続けたが、CPC値は30分後には低下しその後は変化しなかった。

*in vivo*の乳酸値の上昇の著しい運動ではCPC値と乳酸値の間に $r = 0.82 \sim 0.83$ の高い相関を認めた。

以上の結果から次のようなことが考えられた。

- 1) 物理的衝撃の強度と時間が、赤血球膜の脆弱化に関与し、老化のすすんだ赤血球から溶血が始まり、老化球が少なくなるに従い溶血が起こりにくくなる。
- 2) 50°Cを越える伝導熱(温浴)は、老化赤血球をほとんど溶血し、成熟赤血球も一部溶血する。
- 3) 乳酸性acidosisは、赤血球膜を脆弱化するが、acidosisの解消に伴い回復する。

文 献

- 1) 安藤喬：CPC肝胆並疾患への適用。CPC臨床病理(血液)研究会記録：6-14, 1982.
- 2) 安藤喬・吉田洋・小木曾和夫：動的赤血球膜物性検査(CPC法)。基礎と血液学, 第2版, 13-16, 1979.
- 3) Broun, G.O.: Blood destruction during exercise I, Blood changes occurring in the course of a single day of exercise. J. Exper. Med. 36: 481-500, 1922.
- 4) Broun, G.O.: Blood destruction during exercise II, Demonstration of blood destruction in animals exercise after prolonged confinement. J. Exper. Med. 37: 113-130, 1923.
- 5) Buick, F.J., Gledhill, N., Froese, A.B., Spreat, L. and Meyers, E.C.: Effect of induced erythrocythemia on aerobic work capacity. J. Appl. Physiol. 48: 636-642, 1980.
- 6) Davidson, R.J.L.: Exersional haemoglobinuria: a report on three cases with studies on the haemolytic mechanism. J. Clin. Pathol. 17: 536-540, 1964.
- 7) Edgerton, V.R., Byrant, S.L., Gillespe, C. A. and Gardner, G.W.: Iron deficiency anemia and physical performance and adirity of rats. J. Nutr. 102: 381-400, 1972.
- 8) Gardner, G.W., Edgerton, V.R., Barnard, R. J. and Bernauer, M.: Cardiorespiratory, hematological and physical performance responses of anemic subjects to iron treatment. Am. J. Clin. Nutr. 28: 982-988, 1975.
- 9) Hermansen, L. and Osnes, J-B.: Blood and muscle pH after maximal exercise in man. J. Appl. Physiol. 32 (3) :304-306, 1972.
- 10) 弘卓三：代謝性acidosisによる赤血球浸透圧脆弱性の研究。体力科学 31: 279-290, 1982.
- 11) 平松茂辰：筋運動時のヘミン鉄代謝と運動性貧血。日本血液学会雑誌 23: 852-861, 1960.
- 12) 井川幸雄・鈴木政登・山口幸雄・高橋基泰・杉崎哲朗・伊藤朗：中老年家庭婦人の走行能力と血液・尿性状および健康・体力意識。体育科学 5: 242-252, 1977.
- 13) 井川幸雄・山口幸雄・鈴木政登・伊藤朗：ヘモグロビン低値女子高校生の体力と健康・体力意識。体育科学 6: 219-228, 1978.
- 14) 今堀和友・山川民夫監修：生化学辞典：東京化学同人(東京)：1371, 1984.
- 15) 井上寿子・中村正：女子学生の水泳宿期の栄養摂取状況と血液値, 栄養と食糧 29, 7: 383-390, 1976.
- 16) 猪飼道夫：高地トレーニング, 医学のあゆみ, 64: 551-556, 1968.
- 17) 伊藤朗：いわゆる運動性貧血について：体育の科学, 第35巻, 第4号, 別冊, 1985.
- 18) 伊藤朗：大徳町住民の貧血と全身持久性能力に関する約3ヶ年間の縦断的追跡研究, 国民体力研究, 第5報: 18-29, 1980.
- 19) 伊藤朗：運動鍛練者に多い貧血。Mod. Med. 83: 96-104, 1983.
- 20) 金井泉：臨床検査法提要。金原出版, 東京: 24, 1968.
- 21) 川越裕也：CPC (Coil planet Centrifuge) 法, 基礎と血液学: 第2版: 9-12, 1979.
- 22) 川口尚志・川田健一：行軍血色素尿症, medicina, 11, 3: 388, 1974.
- 23) 小林茂昭・兜森修・金洋子・伊藤雅之・二日市良彰・本射滋己・林長蔵・宮井潔：CPC測定に関する基礎検討, CPC臨床病理(血液)研究会記録(昭和57年): 35-40, 1982.
- 24) 毛利博・寺田秀夫：各種血液疾患における赤血球膜抵抗の検討。臨床血液 21: 506-512, 1980.
- 25) 中川茂男：CPCの原理と医学研究への応用。CPC基礎と臨床, CPC研究会: 3-9, 1978.
- 26) 中尾真：赤血球膜と溶血。代謝 4: 154-160, 1967.
- 27) 長嶺晋吉・井川幸雄・磯貝行秀・伊藤朗・香川芳子・黒田善雄・鈴木一正・吉野芳夫：スポーツ選手における貧血の発生と予防に関する研究。第2報, 貧血の発生要因の検討, 昭和51年度日本体育協会スポーツ科学研究報告, No. III: 1-40, 1976.

- 28) 長嶺晋吉・井川幸雄・磯貝行秀・香川芳子・黒田善雄・鈴木一正：スポーツ選手における貧血の発生と予防に関する研究。第1報，貧血の発生の状態について。昭和50年度日本体育協会スポーツ科学研究报告，No. VI：1-25，1975.
- 29) 南部敏江・中村磐男・西田典子・鏡光長：運動部に所属する女子高校生の貧血調査・発生要因とその栄養学的考察，聖マリアンナ医大誌 9：129-137，1981.
- 30) Osnes, J-B and Hermansen, L.: Acid-base balance after maxmal exercise of short duration. *J. Appl. Physiol.* 32 (1): 59-63, 1972.
- 31) Sagawa, S. and Shiraki, K. :Role of Lipids in stabilizing red cell in rat. *J. Nutr. Vitaminol.* 24: 57-65, 1978.
- 32) 白木啓三・佐川寿栄子・三木健寿：血液pHが赤血球脆弱性及び脂質に及ぼす影響。日米医学協力計画，低栄養専門部会報告書：1977.
- 33) 白木啓三：運動性貧血発生に対する脾臓の役割，*日本生理誌*30：96-108，1968.
- 34) 柴田進：CPCによる赤血球膜に関する研究。CPC基礎と臨床，CPC研究会：10-19，1978.
- 35) 柴田進：動的血液学 図解—赤血球。金芳堂 京都：388，1979.
- 36) Streeton, J.A.: Traumatic hemoglobinuria caused by Karate exercise. *Lancet* 11: 191, 1967.
- 37) 鈴木慎次郎・太田富貴雄・大島寿美子：肥満治療のための運動と栄養の処方に関する研究。体育科学 4：31，1976.
- 38) 竹内勝：dermatitis due to sunlight (日光光線による皮膚炎)。皮膚科学入門 丸善：240，1968.
- 39) 渡邊博文・田原口経貞・磯部淳一・斎藤史朗：コイルプラネット型遠心機による動的赤血球膜物性検査に関する研究—測定法標準化のための基礎的検討—。CPC臨床病理(血液)研究会記録(昭和57年)：30-34，1982.
- 40) 山田敏男：運動鍛練時の赤血球の性状に関する研究。第2報，運動鍛練時の赤血球の抵抗性に就いて。体力科学 7：242-251，1958.
- 41) 吉村寿人：運動鍛練時の貧血に関する研究。体力科学 8：167-168，1958.
(本研究に御協力戴きました被検者，運動生化学研究室の諸氏に深謝致します。)