

原 著

高強度運動が肝機能検査成績に及ぼす影響

矢野里佐¹⁾ 矢野博己²⁾ 木下幸文³⁾

岡山大学 医学部 公衆衛生学¹⁾

川崎医療福祉大学 医療技術学部 健康体育学科²⁾

川崎医療福祉大学 研究生³⁾

(平成 7 年10月18日受理)

Effect of Submaximal Exercise on Hepatic Function

Lisa YANO, Hiromi YANO and Sachifumi KINOSHITA

Department of Public Health

Okayama University Medical School,¹⁾

2-5-1 Shikata-chou, Okayama 700, JAPAN

Department of Health and Sports Sciences

Kawasaki University of Medical Welfare,²⁾³⁾

288 Matsushima, Kurashiki, Okayama 701-01, JAPAN

(Accepted Oct. 18. 1995)

Key word : portal venous flow, liver, exercise, guanase, hyaluronate

Abstract

We attempted to clarify the effect of submaximal exercise on liver functions, using the following experimental design: Sprague-Dawley rats were divided into two groups; a control group and a submaximal-exercise group. Portal venous flows were determined by making a long-term implantation of an electromagnetic flowprobe during exercise. Serum levels of guanase (S-GA), hyaluronate (S-HY), GOT (S-GOT), GPT (S-GPT), CPK (S-CPK), and LDH (S-LDH) were measured immediately after exercise.

The results were obtained as follows;

- 1) The portal venous flow significantly decreased in 5 min, and the blood flow remained decreased continued during the rest of exercise period.
- 2) S-GOT, S-GPT, S-CPK activities increased ($p < 0.05$) after submaximal exercise, but S-LDH did not increase. There was a significant increase in S-GA level ($p < 0.05$). We compared the difference in S-HY level between portal and hepatic venous bloods (p-v HY diff.). The p-v HY diff. was significantly lower in submaximal exercise group than in the

control group ($p < 0.05$).

Our findings suggest that the decrease of portal venous flow leads to the increase in release of enzymes from hepatocyte and the decrease in uptake of HY by hepatic sinusoidal endothelia during the submaximal exercise. Thus, submaximal exercise affects the functions of both of hepatic sinusoidal endothelia and hepatocytes.

要 旨

本研究では、高強度運動が肝機能に及ぼす影響を検討することを目的とし、Sprague-Dawley 系雄性ラット 5 匹を用いて高強度運動時の肝門脈血流変化を捉え、さらに血清 GOT, GPT, CPK, LDH 活性値などの肝機能検査に加えて、肝障害を特異的に反映するとされる血清グアナナーゼ活性と、血清ヒアルロン酸の分析を行った。

(1) 高強度運動は、運動開始後 5 分以降に、門脈血流量を有意に減少させた。

(2) 肝機能検査では、血清 GOT, GPT, CPK 活性はともに高強度運動によって有意に上昇した ($p < 0.05$) が、血清 LDH 活性は変化を認めなかった。高強度運動は血清グアナナーゼ活性を有意に上昇させた ($p < 0.05$)。血清 HY 濃度は、肝門脈血清 HY 濃度から肝静脈血清 HY 濃度を差し引いた HY uptake で比較すると高強度運動群で有意に低値 ($p < 0.05$) を示した。

これらの結果から、高強度運動は、肝門脈血流量を減少させ、肝実質細胞、及び類洞細胞の機能に影響を及ぼすことが示唆された。

目 的

我々は、運動時及び回復時の肝の血流量の変化について超音波ドップラー法^{1,2)}や、小動物の肝門脈に直接、電磁血流計プローブを埋め込む方法によって検討してきた³⁾。その結果、運動強度の増大が門脈血流量を減少させ^{1,3)}、また、高強度運動では運動後の血流の回復が遅延することを既に報告した³⁾。これらの結果は、1964年に ICG 法を用いて行われた Rowell ら⁴⁾の結果とほぼ一致するものであったが、高強度運動時の著しい門脈血流の減少についての報告、及び検討は未だなされていない。今回、我々は高強度運動中の肝門脈の血流動態を明らかにした上で、高強度運動による肝実質細胞及び、肝類洞内皮細胞への影響の有無について検討した。その際、既に行われている肝機能検査に加えて、肝実質細胞の障害をより特異的に反映するとされている血清逸脱酵素グアナナーゼ(以下 GA)^{5,6)}と、肝類洞内皮細胞の障害を示すとされているヒアルロン酸(以下 HY)⁷⁾の分析を行い血流動態との比較検討を行った。

実験材料及び実験方法

1. 電磁血流計による門脈血流の測定

体重320-430 g の Sprague-Dawley 系雄性ラット 5 匹を用いた。ラットをペントバルビター麻酔下でクリーンベンチ内で可及的無菌的に開腹し、胃十二指腸分岐部の上流の門脈本幹に電磁血流計のセンサー(スカラー社 Electromagnetic blood flow and velocity meter MDL 1401, センサー径1.6-1.7mm)を装着した⁸⁾。血流計とのコネクターはケーブルを腹部より皮下を通して頭部に装着し、半恒久的電磁血流計埋入ラットを作成した。電磁血流計の流量はレクチコーダによって同時記録した。実験は手術により低下した門脈血流量が術後回復し、一定に達したのを確認し(術後4日以上経過)、実験動物の食餌摂食量、排泄、体重ともに安定した時点で行った。実験動物は試技の3時間前から絶食とした。実験は、安静時の測定を午前9時30分より行い、運動はトレッドミルを用いて走運動を行った。トレッドミルはオープンサーキットシステムで行い同時に門脈血流量及び運動中の酸素摂取量を経時的に測定した。運動強度

は、80% $\dot{V}O_2\max$ を示した³⁾25m/min (15% 傾斜) を用い、所定速度に到達してから20分間測定した。

2. 血清酵素活性及び血清 HY 濃度の測定

体重320-430 g の Sprague-Dawley 系雄性ラット対照群、高強度運動群それぞれ5匹を用いた。ペントバルビタール麻酔下で開腹し、HY 濃度の測定のために、肝門脈本幹中央部と肝下大静脈より同時に採血を行った。採血は運動後5分以内に速やかに行った。血清は、全検体が揃い分析を行うまで -80°C 下で凍結保存した。また、血清 GOT, GPT, LDH, CPK, GA 活性の測定は肝下大静脈より採血した検体を用いた。

血清 HY の測定は HY 結合蛋白を固相と酵素標識の両方に用いた sandwich enzyme binding assay による測定キット (中外製薬) を用いて行った。すなわち、ポリスチレンビーズに固相化した HY 結合蛋白と検体中の HY を反応させた後ビオチン化 HY 結合蛋白を加え、さらにアビジン化した peroxidase を反応させて生じた結合体に O-フェニレンジアミンを加えて発色後、492nmにおける吸光度を測定し、標準曲線から HY 濃度を算出した。

3. 血清 GA 活性の測定

血清 GA 活性の測定は、グアナーゼ酵素反応により生成するアンモニアをインドフェノール反応により発色させ比色定量する藤井法 (マルホ社製) を用いた。

4. 統計学的処理

成績の統計学的表示は平均値 \pm 標準誤差で示した。高強度運動群と対照群の平均値の比較は分散分析により、Fisher 検定で行った。

結 果

1) 電磁血流計センサー装着後、体重は術後2日目より徐々に増加傾向を示し、電磁血流計の埋め込み直後は門脈血流は $23 \pm 5 \text{ ml/min}$ であったが術後3日目には $28 \pm 7 \text{ ml/min}$ と増加し、プラトーとなった。

高強度運動群における運動時の門脈血流量は対照群と比較して運動開始直後より下降し5分以降、有意に減少した (図1)。

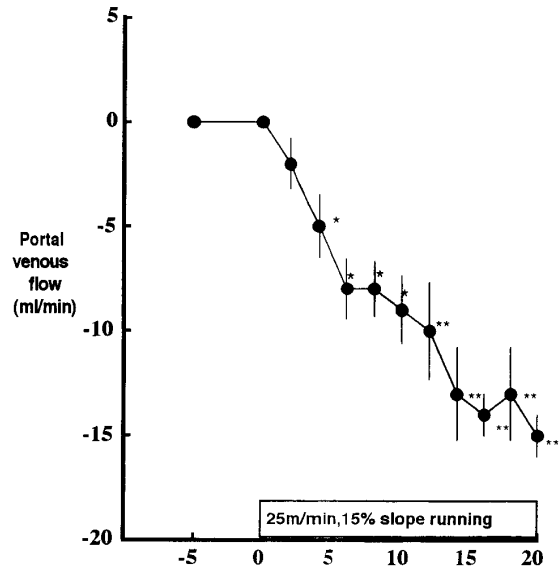


図1 高強度運動前値に対する門脈血流変化量
* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$; 運動前の値との有意差

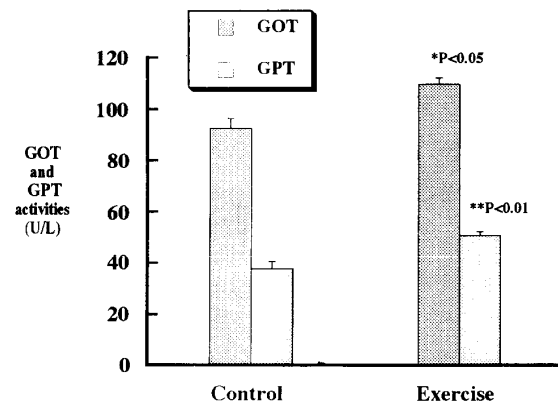


図2 血清 GOT, 血清 GPT に及ぼす高強度運動の影響

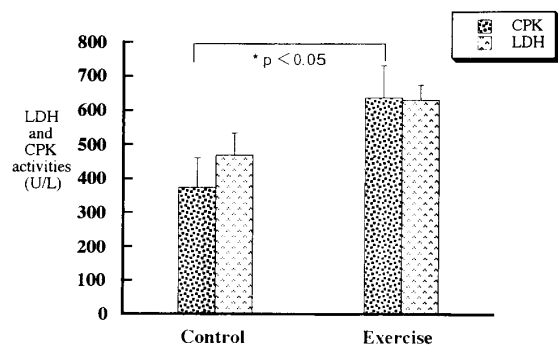


図3 血清 LDH, 血清 CPK に及ぼす高強度運動の影響

2) 図2 及び図3 にそれぞれ血清 GOT と GPT, 血清 CPK と LDH の活性値を示した。

血清 GOT, CPK 活性値はともに高強度運動群が対照群に比して有意に上昇した ($p < 0.05$). 血清 LDH 活性は変化を認めなかった.

血清 HY 濃度の変化を図 4 に示した. 高強度運動群と対照群との間に肝門脈血清 HY 濃度に有意な増加は認められなかった (対照群; 12.96 ± 3.41 , 高強度運動群; $11.53 \pm 3.33 \text{ ng/ml}$). 肝下大静脈血清 HY 濃度では対照群に比較して高強度運動群で有意な差は認められないものの高強度運動群で高い傾向を示した (対照群; 4.23 ± 0.95 , 高強度運動群; $9.71 \pm 2.88 \text{ ng/ml}$). しかしながら, 肝門脈血清 HY 濃度から肝静脈血清 HY 濃度を差し引いた値で比較すると対照群; 8.72 ± 3.32 , 高強度運動群; $2.13 \pm 0.92 \text{ ng/ml}$ と高強度運動群で有意に低値 ($p < 0.05$) を示した.

血清 GA 活性の変化は図 5 に示した. 高強度運動によって血清 GA 活性は, $p < 0.05$ の水準で有意な上昇を認めた (対照群; 38.56 ± 1.45 , 高強度運動群; $46.91 \pm 3.65 \text{ ng/ml}$).

考 察

我々は運動強度の増大に伴う肝門脈血流量の減少について, 超音波ドップラー法を用いて¹⁾,

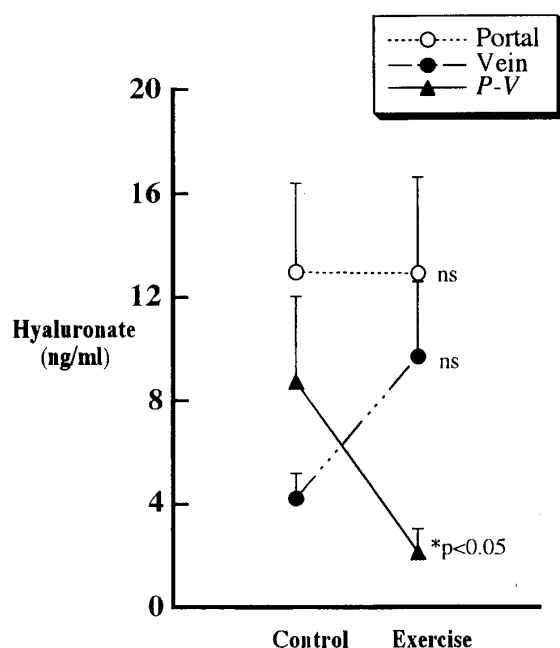


図 4 血清ヒアルロン酸濃度に及ぼす高強度運動の影響

さらに小動物に電磁血流計を埋め込んで行った実験³⁾によって報告してきた. これらは間接的な手法である ICG 法による Rowell ら⁴⁾の総肝血流量の測定結果とほぼ同様のものであった. 我々は, 特に高強度運動時に肝門脈血流量の著しい減少を認めた³⁾. 低強度の運動においては肝機能検査に特に問題もなく慢性の肝疾患患者にも負荷しうるという積極論が近年報告されている^{9,10)}. しかしながらこういった運動積極論が展開されつつある中で, 運動強度や時間が明確なものではなく, 多くが臨床例での経験が根拠となっている. また, 何が運動の limiting factor となるのかを明かにした研究は少ない.

我々は今回, 高強度運動により著しい門脈血流量の減少を確認し, 肝機能検査を行なった. 運動後の肝機能検査における血清 GOT, GPT 活性の上昇が報告されている¹¹⁾が, これらは運動による非外傷性筋肉障害による血清逸脱酵素の上昇であり, 肝障害のものとは鑑別されるべきである¹²⁾といった示唆もあり, 運動が肝組織や肝機能にどの程度の障害を及ぼすのか否かは現時点では不明である. 本研究では, 安静時に比較して高強度運動後に血清 GOT, GPT 活性の有意な上昇を認め, また血清 CPK 活性についても有意な上昇を認めた. 前述したように血清 GOT, GPT 活性の有意な上昇は一過性の運動後にしばしば認められる^{11,12)}がこれらの血中逸脱

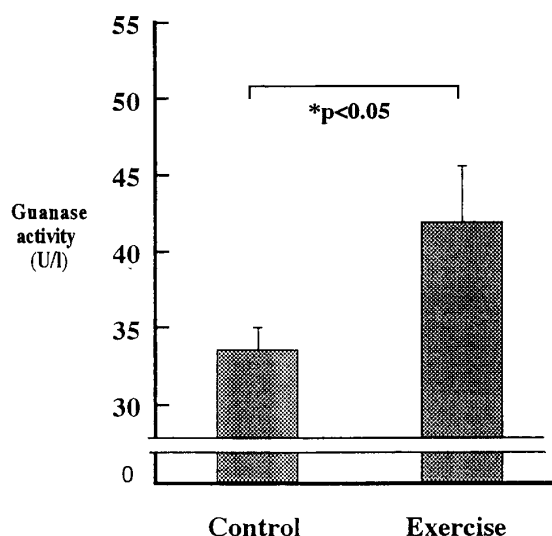


図 5 血清グアナナーゼ活性に及ぼす高強度運動の影響

酵素は病的障害以外にも運動負荷によって筋肉組織から逸脱し血中に遊出する可能性が高いと思われる。我々の実験では、血清 CPK 活性の有意な上昇も同時に認めていることから血清中の GOT, GPT が筋肉組織より遊出している可能性は否めない。そこで我々は、筋には存在せず肝に特異性の高い血清 GA 活性の測定を試みた。GA は脳、肝、腎に特異的であるが脳では脳関門の存在により遊出せず¹³⁾、腎では大部分が尿管管から排泄されてしまう。さらに肝に存在する GA は大部分が細胞質に存在することから肝障害の早期における異常を反映すると考えられる。今回測定した血清 GA 活性は、高強度運動によって明らかに上昇しており、これは肝実質細胞に何らかの障害が生じていることを示唆している。

さらに我々は肝類洞内皮細胞への高強度運動の影響を検討するために血清 HY 濃度を測定した。血清 HY は、硬変肝等で見られるような肝類洞毛細血管化に伴った伊東細胞の増加からその産生が亢進し、重ねて毛細血管化した類洞では小孔の消失や減少、基底膜形成によって HY の摂取 (uptake)、及び分解が遅れることが知られている⁷⁾。高強度運動直後に肝門脈及び肝下大

静脈から同時に採血を行なった結果から(図 4)、門脈域における HY 濃度は運動後においても変化は見られないが、門脈域の血清 HY 濃度と肝下大静脈で得られた血清 HY 濃度の差は運動直後に減少していることから肝での HY uptake 能が低下していると思われる。今回用いた運動強度では肝動脈血流は殆ど抑制されていると考えられること¹⁴⁾、また、臓器に対する血流量も門脈に比較して少ないが、肝動脈より流入する HY を考慮したとしても HY uptake 能力が低下していると考えられる。HY の uptake 能の低下のメカニズムについて本研究からは明らかではないが、一過性であっても血流低下の結果、類洞小孔が収縮し得る可能性もあると考えられる。

以上要約すると、一過性の高強度運動は肝門脈血流量を減少させるだけでなく、血中逸脱酵素である血清 GA の上昇及び血清 HY uptake 能の低下から肝実質細胞内及び類洞細胞に障害を及ぼしている可能性が示唆された。

謝 辞

ご指導を頂きました岡山大学医学部公衆衛生学教室 武田和久教授に深謝いたします。

文 献

- 1) 矢野博己, 矢野里佐, 宮地元彦 (1994) 仰臥位による肝門脈血流量の動態. デサントスポーツ科学, **15**, 200—205.
- 2) 矢野里佐, 矢野博己, 武田和久 (1994) 運動強度に違いによる座位及び臥位での肝門脈血流動態の変化, 肝臓, **35**(1), 264—264.
- 3) 矢野里佐, 矢野博己, 武田和久 (1995) 電磁血流計の半恒久的埋込により測定し得た肝門脈血流量に及ぼす運動強度の影響. 肝臓, **36**(3), 173—174.
- 4) Rowell LB, Blackmon JR and Bruce RA (1964) Indocyanine green clearance and estimated hepatic blood flow during mild to maximal exercise in upright man. *Journal of Clinical Investigation*, **43**(8), 1677—1690.
- 5) Coodly EL (1968) Serum guanase in diagnosis of liver diseases. *American Journal of Gastroenterology*, **50**, 55—62.
- 6) 伊東 進 (1993) グアナーゼ. 内科, **71**, 1012.
- 7) 上野隆登, 犬養貞孝, 島村拓司, 釈迦堂敏, 坂田隆一郎, 坂本雅晴, 佐田通夫, 吉田 博, 谷川久一 (1991) 肝疾患における血清ヒアルロン酸濃度測定の意義. 肝臓, **32**(8), 767—774.
- 8) Daemen MJAP, Thijssen HHW, van Essen H, et al (1989) Liver blood flow measurement in the rat : The electromagnetic versus the microsphere and the clearance methods. *Journal of Pharmacological*

Method, **21**, 287—297.

- 9) 麻生 幸, 辻 秀男 (1984) 肝硬変症に及ぼす運動の影響. 日温気物医誌, **47**(2), 93—98.
- 10) 大野秀樹, 寺山和幸, 平田史子, 河原林忠男, 渡部秀雄, 西野守彦, 高桑栄松, 谷口直之, (1981) 運動ストレスに関する研究: 第一報 運動負荷における種々のヒト血漿酵素活性の変動について. 日本衛生学雑誌, **36**(5), 801—815.
- 11) 井川幸雄 (1980) 運動負荷が血液検査と肝臓の組織学的変化に及ぼす影響. 臨床病理, **28**(1), 39—44.
- 12) 賀来正俊 (1994) マラソン・長距離選手における非外傷性筋肉障害と肝臓障害の鑑別判断. 臨床スポーツ医学, **11**(6), 695—701.
- 13) Delamirande G, Allard C and Cantero A (1958) Purinemetabolizing enzymes in normal rat liver and Novikoff hepatoma. *Cancer Reserch*, **18**, 952—958.
- 14) Musch TI, Friedman DB, Pitetti KH (1987) Regional distribution of blood flow of during graded dynamic exercise. *Journal of Applied physiology*, **63**(6), 2269—2277.