

運動負荷時における血中乳酸濃度の唾液によるモニタリング

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2017-10-03 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 喜多尾, 浩代, 奥田, 清 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/500

運動負荷時における血中乳酸濃度の 唾液によるモニタリング

喜多尾浩代, 奥田 清*

Monitoring for blood lactate concentration with saliva during physical exercise.

Hiroyo KITAO, Kiyoshi OKUDA*

緒 言

漸増運動負荷試験を実施した際、運動中のある時点で、筋細胞中および血液中の乳酸濃度が急上昇し、それとほぼ同時に血中重炭酸塩の濃度低下が生じることを Wasserman ら¹⁾が報告し、漸増運動負荷時に換気にかかわる変数が、酸素摂取量に対して比例的關係から逸脱して増加する運動強度を anaerobic threshold (AT)、血中乳酸濃度が急激に増加する時点を lactate threshold (LT) と定義した²⁾。それ以後ATやLTは、健康を目的とした運動を処方する際に、至適運動強度の基準として利用することの有用性が示されてきている³⁾⁴⁾⁵⁾。殊に血中乳酸濃度の測定は様々な改良が企てられ、従来の塩酸定量法や酵素法等の作業手順が複雑で時間のかかる測定方法から、作業手順が簡単で、微量の全血を用いて自動分析が可能な方法に移行し、分析機械の開発もなされてきた。そのため運動負荷中の血中乳酸濃度の測定は、被検者の有酸素的運動能力の評価や、相対的運動強度の推定などに広く用いられている。

ところが血中乳酸濃度の測定には採血を伴うため、被検者に対する負担が大きいことや、負荷する運動の種類によっては運動を一時停止する必要があるので、様々な問題が指摘されており、簡易方法による血中乳酸濃度動態モニタリ

ングの開発が期待されている。

そこで本研究では、1) 電極センサーシステムによる唾液中乳酸濃度測定の妥当性を検討する目的で、乳酸測定用電極センサーシステムならびに酵素法によって測定した、唾液と血液サンプル中の乳酸濃度測定値を比較し、2) 運動負荷時に非侵襲性に採取可能な唾液を用いて、血中乳酸濃度をモニタリングすることの可能性および、実際の運動実施場面における唾液中乳酸濃度測定の有用性を明らかにする目的で、乳酸測定用電極センサーシステムを用いて、運動負荷中および回復過程における唾液中の乳酸濃度を測定し、その濃度動態を観察した。

1. 方法

1. 運動負荷およびサンプル採取

健康な成人男性 (平均年齢20歳) 6名を被検者とし、各被検者に自転車エルゴメーターを用いて、漸増運動負荷法により運動を負荷した。負荷方法としては、運動開始後2分間を0watt, 60rpmのwarm-upとし、その後各被検者の最大運動負荷強度に至るまで、15wattずつ漸増する方法を採用した。

この運動負荷を開始する前の安静時、運動負荷中の任意の時点、all out直後、および回復過程 (30分経過時点まで) において、各被検者よ

り血液サンプルと唾液サンプルを採取した。血液は上腕正肘静脈より連続的に採取し、唾液はカップに吐き出す方法によって採取した。

2. 電極センサーシステムによる唾液中乳酸濃度測定の妥当性に関する検討

安静時に採取した血液および唾液サンプルのそれぞれ5 μ lを用いて、電極センサーシステム（LACTATE CARD）（京都第一科学株式会社，京都）により乳酸を測定し、同じサンプル（血液サンプルと唾液サンプルのそれぞれ）0.5 mlを用いて酵素法（テタミナーLA）（協和メディクス株式会社，東京）により測定した乳酸濃度と比較した。

なお唾液サンプルを酵素法によって測定する際には、ムチンによる唾液の粘性を下げて測定を容易にするため、hyaluronidase（Sigma Chemical Co., USA）5m molを唾液サンプルに添加した。

3. 唾液による血中乳酸濃度のモニタリングに関する検討

安静時，上記の運動負荷中，回復過程において採取した血液および唾液サンプル中の乳酸濃度は，電極センサーシステム（京都第一科学株式会社，京都）を用いて測定し，各サンプルにおける濃度の経時的变化について比較検討した。

4. 電極センサーシステム

サンプル5 μ lを，LACTATE CARD（京都第一科学株式会社，京都）に挿入したTEST STRIP（京都第一科学株式会社，京都）に吸引させ，サンプル中の乳酸量に依存して発生量に変化する電子量を，CARD中のLACTATE SENSOR（酵素電極）によって測定した。

このシステムによる測定方法は，サンプル中の乳酸が，TEST STRIP上に吸着乾燥させたLOD（lactate oxydase）によって酸化され，その酸化反応の際に生じる電子量を，電位変化量

として電極センサーで測定するという原理に基づいている⁶⁾。この電極センサーシステムは，京都第一科学株式会社と大阪市立大学医学部臨床検査医学教室とが新しく共同開発したもので，必要検体量が微量であることに加え，試薬の調整が不要であるため，全血を用いた場合にも被検者に対する負担が小さく，かつ迅速に（約50秒で）測定することが可能なシステムである。また，サンプルの注入箇所であり，乳酸の酸化反応を生じさせる部分でもあるTEST STRIPのサイズ（縦×横×厚さ）および重量は6×23×0.8mm，0.1g，電極センサー等を内蔵しているLACTATE CARDのサイズ（縦×横×厚さ）および重量は54×85×11mm，4.5gと小型かつ軽量化され，携帯可能な大きさのため，フィールドにおいて乳酸濃度を任意に測定可能な点が特徴となっている（Photo 1.）

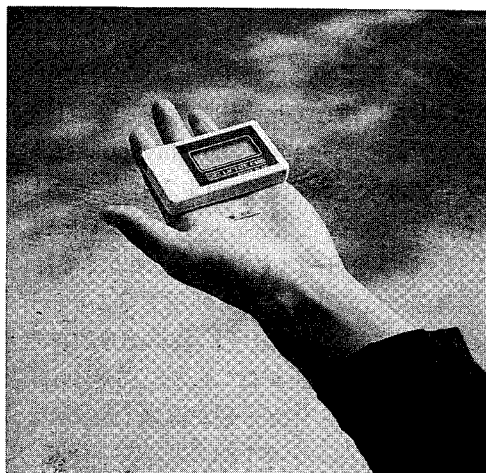


Photo 1. LACTATE CARD and TEST STRIP

5. 酵素法

サンプル0.5mlを，冷却した0.6N過塩素酸溶液1.0ml中に混和して除タンパクした。その後3000rpm，10分間の遠沈によって上澄を分離し，この上澄にlactate dehydrogenase（LDH）3m mol，NAD 27m mol，およびグリシン-ヒドラジン緩衝液（pH 9.0）を加え，25°Cで1時間インキュベートした。その後同様の処理をした

乳酸標準液を対照に、NADHの生成量を365 nmの波長における吸光度の増加量によって測定し、乳酸標準液濃度との比較により、サンプル中の乳酸濃度を定量した。

II. 結果および考察

新しく開発した電極センサーシステムによる乳酸濃度分析の妥当性について検討する目的で、電極センサーシステムと酵素法による乳酸濃度測定値を比較したところ、血液において $r=0.990$ の高い相関が認められた (Fig. 1)。

同様に唾液において、電極センサーシステムと酵素法による乳酸濃度測定値を比較した結果、唾液中乳酸濃度が20mg/dl以下の場合、 $r=0.979$ の高い相関が認められ (Fig. 2)、唾液中乳酸濃度測定においても血液と同様に、電極セ

ンサーシステム利用の妥当性が示された。

また、安静時における乳酸濃度の血唾相関について検討を加えたところ、血液中の乳酸濃度と唾液中乳酸濃度との間に高い相関が認められた ($r=0.873$) (Fig. 3)。この結果から、安静時における、唾液による血中乳酸濃度のモニタリングの可能性が示唆された。

そこで、運動負荷中ならびに運動負荷終了後の回復過程における、血液中および唾液中乳酸濃度の変動を比較検討した。その結果、漸増運動負荷中の血液中乳酸濃度の変動は、これまでの報告と一致していた。つまり、運動負荷強度の上昇に伴って血中乳酸濃度が徐々に増加し、ある運動強度から乳酸濃度の急激な増加が認められ、運動負荷終了後10分以内に最高値を示した (Fig. 4)。一方唾液中の乳酸濃度は、運動負荷中においては有意な変化を示さず、運動負荷

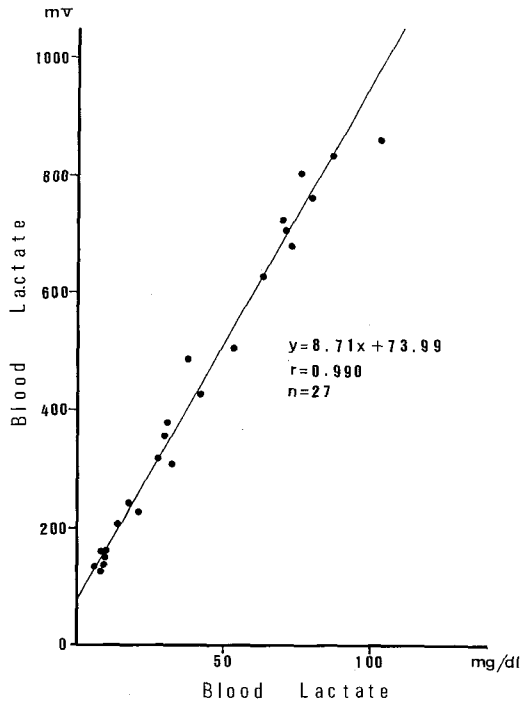


Fig. 1. Correlation of the measurements between enzyme method and electrode sensor system on the blood lactate concentration.

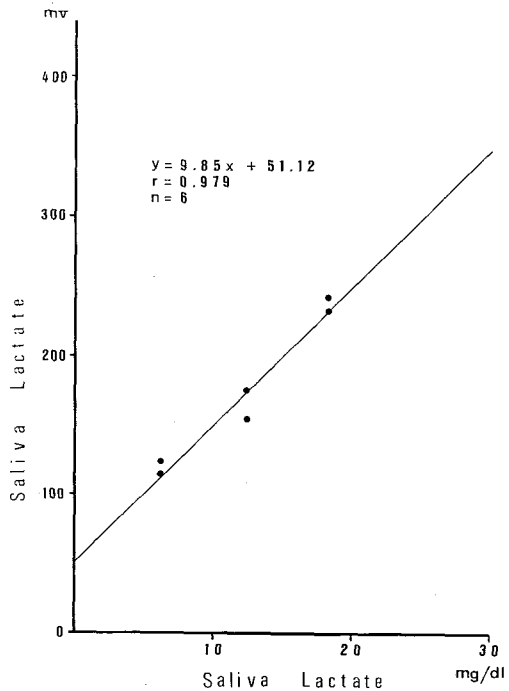


Fig. 2. Correlation of the measurements between enzyme method and electrode sensor system on the salivary lactate concentration.

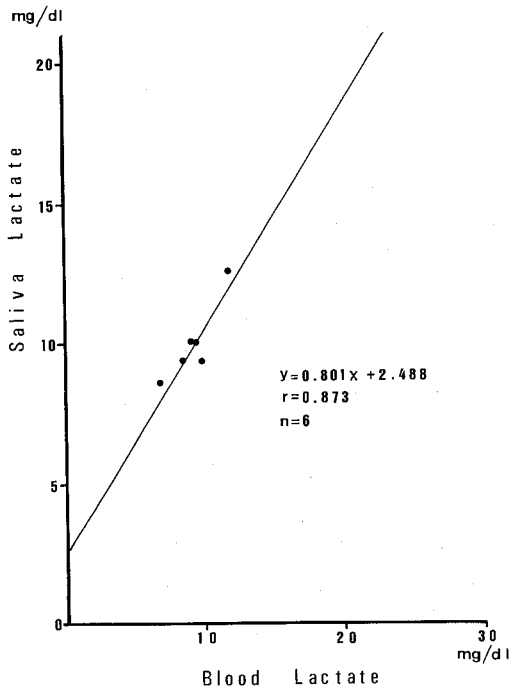


Fig. 3. Relationship between blood and salivary lactate concentration at the resting state.

終了後に初めて乳酸濃度の上昇を認め、回復過程平均19.0分目(CV=1.00)に最高値を示した。

血中乳酸濃度の最高値発現時点と、唾液中乳酸濃度の最高値発現時点とを比較したところ、平均12.8分(CV=1.16)のタイムラグがあり、各乳酸濃度の最高値における血唾相関は、 $r = 0.730$ の高い相関を示していた (Fig. 5)。

以上の結果から、運動負荷時に唾液中乳酸濃度に変化が生じることが明らかになり、運動負荷終了後約20分経過時点における唾液中の乳酸濃度を測定することによって、負荷した運動の相対的強度を推定できる可能性が示唆された。

これまでも唾液は様々な生体反応を反映すること、ならびにその採取が安易なことなどから、血中ホルモン濃度や投与した薬物の血清内濃度の推定に、唾液中のホルモン濃度および薬物濃度の測定が利用されている。そのため、ホルモンや薬物の血清中濃度と唾液中濃度とを比

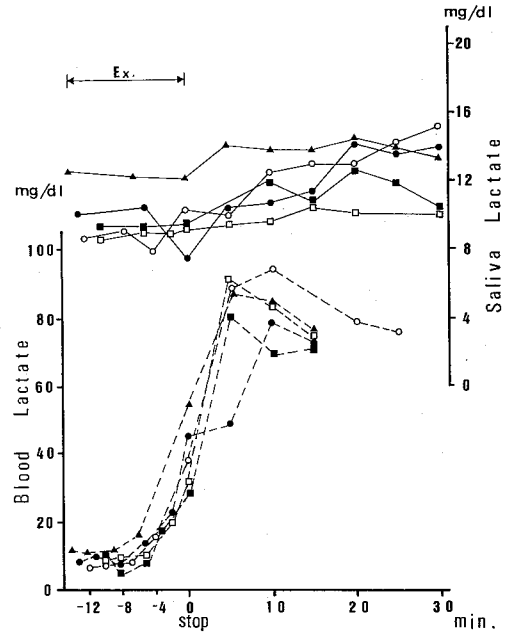


Fig. 4. Time course of change of lactate concentration in blood and saliva in the phase of exercise and recovery.

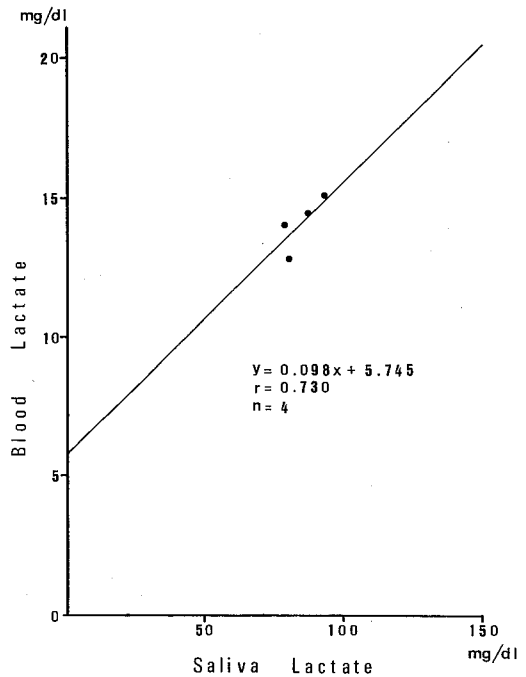


Fig. 5. Relationship between blood and salivary lactate concentration at the maximum concentration point.

較検討する研究が多くなされており⁷⁻¹²⁾、それらの研究、殊に薬物に関する研究において、血清中濃度と唾液中濃度の比率 (S/P 比) は、唾液の pH や唾液流量、薬物のタンパク結合能力、および薬物の分子サイズやイオン強度などの影響を受けることが明らかにされている¹³⁾。また、上記の S/P 比に影響を与える因子が同じ条件にあれば、各薬物の S/P 比は投与後の時間経過によって変化せず、一定であることも報告されている¹³⁾。

本研究において乳酸の S/P 比は、運動負荷による血中乳酸濃度の上昇と共に低下を示していた。このような S/P 比の低下が生じた原因の一つとして、唾液中乳酸濃度上昇に伴う pH の低下が考えられる。そのため、唾液 pH の変化による測定値の変動の有無を明らかにする必要がある。

また本研究では、血中乳酸濃度の上昇と唾液中乳酸濃度の上昇時点でタイムラグが認められた。このタイムラグが生体内反応として妥当なものであるか確認する目的で、動物に乳酸を静注し、その後の血中乳酸濃度および唾液中乳酸濃度の変動を測定することにより、乳酸代謝ルートを明らかにする必要性が示された。

以上のことから、今後さらにセンサーの改良を重ね、唾液中乳酸濃度を正確に測定することを可能にして、運動能力の判定ならびに運動強度の監視面における唾液中乳酸濃度測定の有効性について、検討を加える予定である。

III. 結語

運動負荷時に非侵襲性に血中乳酸濃度を推定可能にすることを目的に、唾液を検体とした乳酸測定電極センサーシステムによる、乳酸濃度測定の有効性を検討した。その結果、安静時における血液と唾液中の乳酸濃度に $r=0.873$ の高い相関が認められ、唾液による血中乳酸濃度モニタリングの可能性が示唆された。

また、運動負荷時における血液および唾液

中乳酸濃度の最高値について比較検討した結果、血液と唾液中の乳酸濃度に $r=0.730$ の高い相関が認められ、その最高値の発現には平均 12.8 分 ($CV=1.16$) のタイムラグがあり、唾液中乳酸濃度は回復過程平均 19.0 分目 ($CV=1.00$) に最高値を示すことが明らかになった。

これらの結果から、運動負荷終了後約 20 分経過時点における唾液中の乳酸濃度を測定することにより、負荷した運動の相対的強度を推定可能であることが示唆された。

そこで今後は、唾液中乳酸濃度上昇に伴う pH の低下によって引き起こされる可能性がある測定誤差の発生を防止するように、電極センサーシステムの改良を重ねた上で、運動強度監視等に対する本法の有効性について検討を加える予定である。

IV. 参考文献

1. Wasserman, K., and McIlroy, M. B. : Detecting the threshold of anaerobic metabolism in cardiac during exercise. *Am. J. Cardiol.*, **14**, 844-852, 1964
2. Wasserman, K., et al. : Anaerobic threshold and respiratory gas exchange during exercise. *J. Appl. Physiol.*, **35**, 236-243, 1973
3. Wasserman, K. : The anaerobic threshold measurement to evaluate exercise performance. *Am. Rev. Respir. Dis.*, **129**, Suppl S36-S40, 1984
4. Margaria, R., et al. : The possible mechanism of contracting and paying the oxygen debt the role of lactic acid in muscular contraction. *J. Appl. Physiol.*, **106**, 689-715, 1933
5. Karlsson J. : Muscle exercise, energy metabolism and blood lactate. *Adv. Cardiol.*, **35**, 35-46, 1986
6. Shimojo, N., Naka, K., Nakajima, C., Yoshikawa, C., Okuda, K., and Okada, O. : Test-strip method for measuring lactate in whole blood. *Clin. Chem.*, **35**, 1992-1994, 1989
7. Mandel, I. D. : Sialochemistry in disease and clinical situations affecting salivary glands. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.*, **12**, 321-366, 1980
8. El-Guebaly, N., Davidson, W. J., Sures, H. A.,

- and Griffin, W. : The monitoring of salivary drug levels : psychiatric application. *Can. J. Psychiatry*, **26**, 43-48, 1981
9. Knott, C. : Excretion of drugs into saliva. In *Human Saliva*. *Clin. Chem. Microbiol.*, **2**, 177-201, 1989
 10. Haeckel, R. : The application of saliva in laboratory medicine. *J. Clin. Chem. Biochem.*, **27**, 221-252, 1989
 11. Mandel, I. D. : The diagnostic uses of saliva. *J. Oral Pathol. Med.*, **19**, 119-125, 1990
 12. Schramm, W., Smith, R. H., Craig, P. A., and Kidwell, D. A. : Drug of abuse in saliva. *Anal. Toxicol.*, **27**, 221-252, 1992
 13. Malamud, D., and Tabak, L. : Saliva as a Diagnostic Fluid. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **694**, 36-47, 1993