

## $^{31}\text{P}$ -MRS を用いたバレーボール選手の 骨格筋エネルギー代謝の評価に関する研究

花岡 秀人<sup>1</sup>, 佐藤 克彦<sup>1</sup>, 林 光俊<sup>2</sup>, 是永 建雄<sup>3</sup>,  
向井 隆文<sup>3</sup>, 蜂屋 順一<sup>1</sup>

<sup>1</sup>杏林大学医学部放射線医学教室 <sup>2</sup>同 整形外科科学教室

<sup>3</sup>東京通信病院放射線科

### はじめに

これまで骨格筋エネルギー代謝に関するさまざまな研究が行われて来たが、多くは筋生検にて得られた摘出標本を用いての検討であり、運動中に骨格筋エネルギー代謝を連続して評価することは困難であった。しかし1980年代前半より、Phosphorus-31 magnetic resonance spectroscopy： $^{31}\text{P}$ -MRSがこの分野に応用されるに至り、従来の手法による問題点は大幅に改善された<sup>1)</sup>。 $^{31}\text{P}$ -MRSは非侵襲的で安全性に富み、運動中でもリアルタイムにエネルギー代謝測定が可能である。運動中のクレアチンリン酸(phosphocreatine：PCr)と無機リン(inorganic phosphate：Pi)の含量比：PCr/Piを求めることで骨格筋の有酸素能が解り、PCrとPiの化学シフトより筋細胞内pHの追跡が可能である<sup>2)</sup>。このため $^{31}\text{P}$ -MRSのスポーツ医学領域への応用が急速に進み、各種競技選手を対象にした研究も数多く見られる様になった<sup>3)~8)</sup>。しかしこれらの中で、バレーボール選手の運動負荷に伴う骨格筋エネルギー代謝の変動を追跡検討した報告は少なく、この手法による今後の研究に期待が

持たれている。そこで今回は、 $^{31}\text{P}$ -MRSを用いて、バレーボール選手の運動負荷前後における下腿三頭筋スペクトルを比較することにより、バレーボール選手の骨格筋エネルギー代謝の評価における $^{31}\text{P}$ -MRSの有用性について検討したので報告する。

### 対象と方法

#### 1) 対象

某大学バレーボール部に所属し、練習時間25時間/週、経験年数10年以上の条件をそれぞれ満たす、全身状態良好な現役女子選手8人(平均年齢21.3歳)を選手群として測定した。また未経験の健常女子6人(平均年齢23.5歳)を対象群として併せて測定した。

#### 2) 運動負荷装置

測定肢の下腿三頭筋中央部に円形の表面コイル(直径：8.0cm)を装着後、ゴム製エキスパンダー(BODY SHAPER TREFiT<sub>R</sub>, ミズノ社製)の一端を足掌のMP関節部にマンシユットを用いて固定した。次いで被検者をマグネット内へ挿入しマニュアルモードによるシミングを行った後、足関節挙屈時の荷重が10kgとなる様

キーワード  $^{31}\text{P}$ -MRS, skeletal muscle, energy metabolism, volleyball player, sports sciences

にエキスパンダーの長さを他端に取り付けた紐を引いて調節した (Fig.1)。尚ここで、荷重10kg時のエキスパンダーの長さは、予備実験にて10kgの分銅を実際に取り付けて得られた値(130cm)を参考にして調節した。

### 3) 運動負荷とMRS測定

安静時のスペクトルを測定後、各2分間の足関節の掌背屈運動 (exercise) と安静 (interval) を合計3回繰り返した。また最終の負荷終了後は recovery period として安静を7分間に延長し、この間連続してMRS測定を行った。尚、足関節の運動は、正確を期すためメトロノームをペースメーカーとして用い2回/秒のテンポにて行った。測定装置は、MAGNETOM H15-S P 4000, 1.5T (Siemens社製) を使用し、繰り返し時間2000ms, 観測周波数2000Hz, データポイント数1024, 積算回数12回にて測定した。

### 4) データー処理

得られたスペクトルにおける各ピークの帰属は、文献<sup>9),10)</sup>を参照すると共に各標準物質のスペクトルと比較することで確認し、各ピーク面積をもってそれぞれの物質の組織中含量に比例するパラメーターとした。そして各スペクトルの

ピーク面積よりPCr/Piを、またPiとPCrの化学シフトより細胞内pHをそれぞれ算出し、選手群と対象群につき比較検討した。尚ここで、細胞内pHの算出は下記の式<sup>11)</sup>を用いて行った。

$$pH = 6.75 + \log_{10} (\delta - 3.27) / (5.69 - \delta)$$

$\delta = Pi - PCr : Pi$  とPCrの化学シフトの差

またデーターの統計学的処理は student's *t* test にて行い、 $P < 0.05$  をもって有意とした。

## 結 果

### 1) 運動負荷前後の<sup>31</sup>P-MRスペクトル

安静時と運動時の代表的なスペクトルをそれぞれ Fig. 2 に示した。検出されたピークのうち主なものは、無機リン (Pi), クレアチンリン酸 (PCr), アデノシン三リン酸  $\alpha$  位 ( $\alpha$ -ATP),  $\beta$  位 ( $\beta$ -ATP),  $\gamma$  位 ( $\gamma$ -ATP) の5ピーク

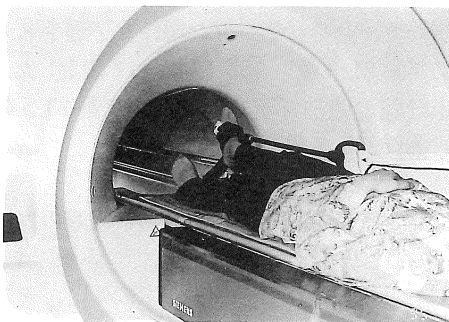


Fig. 1. View of the exercise device used for this study.

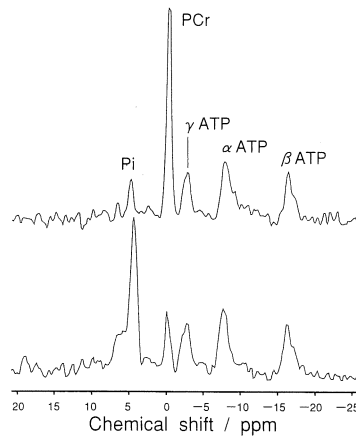


Fig. 2. <sup>31</sup>P-MR spectra of the triceps surae muscle at rest (A) and 1 minute after the start of exercise (B) in one subject of the volleyball player group. The chemical shift scale is relative to PCr. The following abbreviations are used : inorganic phosphate (Pi), phosphocreatine (PCr), adenosine triphosphate (ATP).

Table 1. PCr/Pi Ratio (Mean±S.D.) Calculated <sup>31</sup>P-MR Spectra of Volleyball Player and Control Groups

	n	rest	EX (1)		INT (1)		EX (2)		INT (2)	
VPG	8	5.50±0.25	3.57±0.08	2.94±0.34	3.67±0.32	5.54±0.33	3.81±0.25	3.23±0.20	4.23±0.34	5.81±0.40
CtG	6	5.34±0.28	1.85±0.30	0.95±0.29	1.75±0.26	5.96±1.05	1.74±0.16	0.90±0.13	1.85±0.22	6.30±1.20

EX (3)			R C V							
3.94±0.26	3.14±0.17	4.18±0.33	6.12±0.41	6.40±0.51	6.62±0.69	6.70±0.73	6.81±0.64	6.80±0.65		
2.00±0.22	0.87±0.11	1.87±0.19	5.96±0.49	6.21±0.45	6.43±0.46	6.81±0.60	6.96±0.63	6.97±0.66		

Abbreviations are used : phosphocreatine (PCr), inorganic phosphate (Pi), volleyball player group (VPG), control group (CtG), exercise (EX), interval (INT), recovery (RCV).

である。安静時と運動時のスペクトルを比較すると、2分間の exercise で PCr の著しい減少と Pi の増加をそれぞれ示し、さらに Pi ピークの PCr 方向への移動が認められた。しかし ATP の3つのピークに明らかな変化は認められなかった。

2) 運動負荷前後における PCr/Pi の比較

Table 1 には、選手群と対照群の運動負荷前後における PCr/Pi を示してある。また Fig. 3 には、PCr/Pi の経時変化と有意差検定の結果をそ

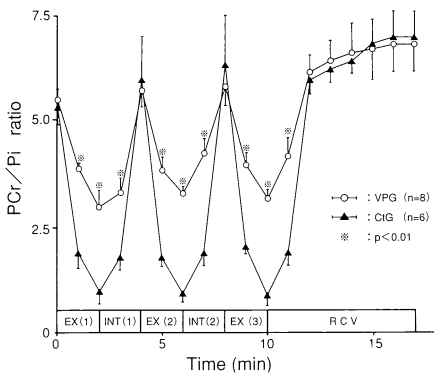


Fig.3. Time course of the changes in the level of PCr/Pi ratio at rest, during exercise, interval and recovery periods, and the statistical comparison (Student's t test) between the VPG and the CtG. ○ : VPG (n=8). ▲ : CtG (n=6). Values are mean±S.D. ※ : P<0.01. Abbreviations used are the same as in Table 1. and Fig.2.

れぞれ示してある。Fig. 3 から解る様に、選手群と対照群のいずれにおいても exercise で低下し interval で上昇する傾向が認められた。また選手群と対照群を比較すると、選手群では exercise に伴う PCr/Pi の低下が対照群に比較し軽度であり、各 exercise 開始直後と recovery period の一部を除く総てにおいて P<0.01 で有意差を認めた。

3) 運動負荷前後における細胞内 pH の比較

Table 2 には、選手群と対照群の運動負荷前後における細胞内 pH を示してある。また Fig. 4 には、細胞内 pH の経時変化と有意差検定の結果をそれぞれ示してある。PCr/Pi と同様に選手群と対照群のいずれにおいても exercise で低下し interval で上昇する傾向を示した。また選手群と対照群を比較すると、選手群では exercise に伴う細胞内 pH の低下が対照群に比較し軽度であり、interval の大部分において P<0.01 で有意差を認めた。さらに選手群では各 interval において十分な回復を示したのに対し、対照群では exercise を重ねる毎に回復が不十分になった。

4) 運動負荷前後における PCr/Pi と細胞内 pH の相関性に関する比較

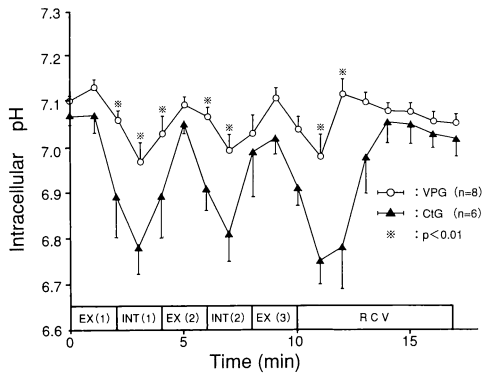
Fig. 3 と Fig. 4 より PCr/Pi と細胞内 pH の経時的な相関性を比較すると、exercise 後に見られる各極小点が経時的に一致せず、選手群と

**Table 2.** Intracellular pH (Mean±S.D.) Calculated <sup>31</sup>P-MR Spectra of Volleyball Player and Control Groups

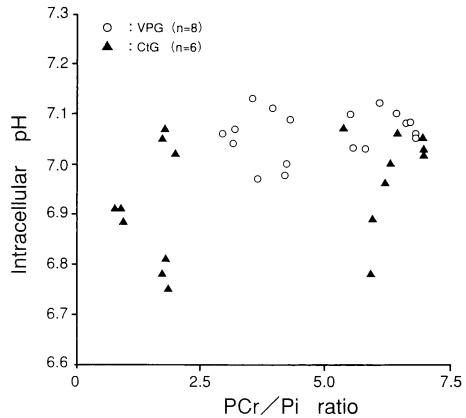
	n	rest	EX (1)		INT (1)		EX (2)		INT (2)	
VPG	8	7.10±0.01	7.13±0.02	7.06±0.02	6.97±0.04	7.03±0.04	7.09±0.02	7.07±0.02	6.99±0.04	7.03±0.05
CtG	6	7.07±0.02	7.07±0.04	6.89±0.09	6.78±0.06	6.89±0.09	7.05±0.02	6.91±0.05	6.81±0.06	6.99±0.10

EX (3)			R C V							
7.11±0.02	7.04±0.03	6.98±0.05	7.12±0.03	7.10±0.02	7.08±0.02	7.08±0.02	7.06±0.02	7.05±0.02	7.05±0.02	
7.02±0.04	6.91±0.04	6.75±0.05	6.78±0.09	6.96±0.09	7.06±0.05	7.05±0.04	7.03±0.03	7.02±0.04		

Abbreviations used are the same as in Table 1.



**Fig.4.** Time course of the changes in the level of intracellular pH at rest, during exercise, interval and recovery periods, and the statistical comparison (Student's *t* test) between the VPG and the CtG. ○ : VPG (n=8). ▲ : CtG (n=6). Values are mean±S.D. ※ : P<0.01. Abbreviations used are the same as in Table 1 and Fig.2.



**Fig.5.** Relation between the PCr/Pi ratio and the intracellular pH with individual mean scores of the VPG and the CtG during all periods. ○ : VPG (n=8). ▲ : CtG (n=6). Abbreviations used are the same as in Table 1 and Fig.2.

対照群のいずれにおいても細胞内 pH の極小点が PCr/Pi に比較し遅れて出現する傾向を示した。また細胞内 pH と PCr/Pi をそれぞれ縦軸と横軸にとり選手群と対照群を比較すると、選手群では比較的まとまりのある分布傾向を示した。一方、対照群ではデータのばらつきが大きく、特徴ある分布傾向は見られなかった (Fig. 5)。

考 察

<sup>31</sup>P-MRS によるバレーボール選手の骨格筋エネルギー代謝の評価に関しては、現在までのところ、骨格筋細胞中の高エネルギーリン酸化合物を定量化した Garrod. L.らの報告<sup>12)</sup>が見られるのみで、本研究の様に、運動負荷前後における骨格筋エネルギー代謝の変動を定性的に評価した報告は見あたらない。そこで今回は、バレーボール選手の骨格筋エネルギー代謝に対する定性的評価法としての <sup>31</sup>P-MRS の有用性と限界について考察した。

本研究の特徴は、非侵襲的に得られた<sup>31</sup>P-MR

スペクトルより PCr/Pi と細胞内 pH をそれぞれ算出し比較検討した点にある。さらにバレーボールが反復する瞬発力を要する競技であることを考慮し、短時間に exercise と interval を繰り返すことで、より実践に近いデータの採取を試みたことである。PCr/Pi と細胞内 pH をパラメーターとする点に関しては、スポーツ医科学領域<sup>3)~8),12)</sup>や神経筋疾患<sup>13)</sup>を対象にした研究などにおいて有用性が示されている。PCr/Pi は、骨格筋細胞内のミトコンドリアにおける有酸素能を示し、この比の低下は間接的にエネルギー代謝系の亢進を示す。また細胞内 pH は、解糖系エネルギー供給機構及びその代謝産物である乳酸の蓄積度を反映し、両者を指標に用いることで、総合的に骨格筋のエネルギー代謝状況を推測することが可能である<sup>1)~8),12)</sup>。そこで本研究では、PCr/Pi と細胞内 pH を指標に用いて比較分析した。

運動負荷前後における PCr/Pi 及び細胞内 pH の比較では、exercise に伴う低下に両群間で有意差を認めた。また interval における細胞内 pH の回復にも差異が見られ、対照群では exercise を重ねる毎に回復が不十分になった。これらの結果をエネルギー代謝の見地から見ると、バレーボール選手の骨格筋エネルギー代謝系には、日頃のトレーニングにてもたらされた相対的負荷の軽減すなわちエネルギー供給量の亢進や、酸性化緩衝能の向上すなわち筋細胞内アシドーシスの進行防止などの質的変化が生じており、結果的に exercise に伴う PCr/Pi 及び細胞内 pH の低下が抑制されたと考える。また interval における細胞内 pH の回復に見られた差異について著者らは、バレーボール選手では exercise に伴う pH の低下が抑制されたことに加え、これまでの研究<sup>14)</sup>で pH の低下と細胞内における乳酸の蓄積との間には相関関係が認められていることより、バレーボール選手では exercise 後の乳酸の蓄積量が未経験者に比較し少なく、interval 中に低下した細胞内 pH を十分回復させることができた。一方、未経験者では蓄積した乳酸を inter-

val のみでは完全に血中へ排泄することができず、exercise を重ねる毎に回復が不十分になったものと推測した。

PCr/Pi と細胞内 pH の経時的な相関性に関する比較では、細胞内 pH の極小点が PCr/Pi に比較し遅れて出現する傾向を示した。この結果について著者らは、なんらかの因子が乳酸の蓄積過程に作用し、結果的に細胞内 pH の低下が遅れたものと推測した。しかしこの傾向はバレーボール選手に特異的とは言いがたく、また競技は異なるものの、両者は経時的に一致したとの報告<sup>3),5)</sup>も見られることからさらに検討を要する。

PCr/Pi と細胞内 pH を併用した比較では、選手群において比較的まとまりのある分布傾向を示した。この結果をエネルギー代謝における ATP 供給機構の観点から見ると、バレーボール選手では PCr/Pi に比較し細胞内 pH の変動が少ないことより、ATP 供給系の大部分は酸化系によりまかなわれているとみなすことができる。一方、未経験者では細胞内 pH および PCr/Pi の変動が大きいことより、解糖系による ATP 供給の割合がバレーボール選手に比較し高くなっている可能性が考えられる<sup>5)</sup>。

本研究は以上の様に、<sup>31</sup>P-MRS を用いてバレーボール選手の運動負荷前後における下腿三頭筋スペクトルを測定し、さらにそのスペクトルより得られた PCr/Pi 及び細胞内 pH を指標に用いて検討した。その結果、運動負荷に伴う骨格筋エネルギー代謝の変動を定性的に評価できる可能性が出て来た。これは、<sup>31</sup>P-MRS がバレーボール選手の骨格筋エネルギー代謝の評価において、有用な補助検査法の一つになり得ることを示唆するものである。

尚、本論文の要旨の一部は第 54 回日本医学放射線学会総会（平成 7 年 4 月 14~16 日、名古屋市）において発表した。

文 献

- 1) Ackerman JJH : Mapping of metabolities in whole animals by  $^{31}\text{P}$  MRS using surface coils. *Nature*, 283 : 167-170, 1980.
- 2) Paul A. Bottomley : Human *in vivo* NMR spectroscopy in diagnostic medicine : Clinical tool or research probe? *Radiology*, 170 : 1-15, 1989.
- 3) 井形高明, 西良浩一, 加藤善之ら : スポーツ医科学領域における $^{31}\text{P}$ -MRS の応用. *臨床スポーツ医学*, 11 : 1-6, 1994.
- 4) 久野譜也, 秋間 広, 秋貞雅祥ら : サッカー・ワールドカップ予選前後における日本代表選手の筋エネルギー代謝, 筋断面積および脚筋力の変化— $^{31}\text{P}$ -MRS による検討—. *J. J. SPORTS SCI*, 9 : 310-314, 1990.
- 5) 久野譜也 : 筋で使われる化学的エネルギーを測定する—NMR による非侵襲的分析—. *J. J. SPORTS SCI*, 11 : 161-166, 1992.
- 6) Cheatham ME, Boobis LH, Brooks S, et al. : Human muscle metabolism during sprint running. *J Appl Physiol*, 61 : 54-60, 1986.
- 7) MuCully KK, Kent JA, Chance B : Application of  $^{31}\text{P}$  magnetic resonance spectroscopy to the study of athletic performance. *Sports Med*, 5 : 312-321, 1988.
- 8) Laurent D, Authier B, Lebas JF, et al. : Effect of prior exercise in Pi/PC ratio and pH during a standardized exercise. A study on human muscle using ( $^{31}\text{P}$ ) NMR. *Acta Physiol Scand*, 144 : 31-38, 1992.
- 9) J. P. Charles : The aldrich library of NMR spectra : Edition I, II. Aldrich chem. Co, Milwaukee, 1983.
- 10) 成瀬昭二 : 磁気共鳴スペクトル. *代謝*, 27, 増刊号 癌 '90 : 243-255, 1990.
- 11) Taylor DJ, Bore PJ, Styles P, et al. : Bioenergetics of intact human muscle. A  $^{31}\text{P}$  nuclear magnetic resonance study. *Mol Biol Med*, 1 : 77-94, 1983.
- 12) Gariod. L, Binzoni. T, Ferretti. G, et al. : Standardisation of  $^{31}\text{P}$ phosphorus-nuclear magnetic resonance spectroscopy determinations of high energy phosphates in humans. *Eur J Appl Physiol*, 68 : 107-110, 1994.
- 13) D. Morvan, P. Jehenson, D. Duboc, et al. : Discriminant factor analysis of  $^{31}\text{P}$  NMR spectroscopic data in myopathies. *Magnetic Resonance in Medicine*, 13 : 216-227, 1990.
- 14) Taylor DJ : Bioenergetics of intact human muscle. —A  $^{31}\text{P}$  nuclear magnetic resonance study. *Mol Biol Med*, 1 : 77-94, 1983.

## **<sup>31</sup>P-MR Spectroscopic Evaluation of Energy Metabolism in the Skeletal Muscle of Volleyball Player**

Hideto HANAOKA<sup>1</sup>, Katsuhiko SATO<sup>1</sup>, Mitsutoshi HAYASHI<sup>2</sup>,  
Takafumi MUKAI<sup>3</sup>, Tateo KORENAGA<sup>3</sup>, Junichi HACHIYA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Department of Radiology, <sup>2</sup>Department of Orthopedics,  
Kyorin University School of Medicine,  
6-20-2 Shinkawa, Mitaka, Tokyo 181*

<sup>3</sup>*Department of Radiology, Tokyo Teishin Hospital*

Phosphorus-31 magnetic resonance spectroscopy (<sup>31</sup>P-MRS) was employed to examine the energy metabolism in the skeletal muscle of volleyball player. The content ratio of phosphocreatine to inorganic phosphate (PCr/Pi ratio) and the intracellular pH were calculated from the MR spectra of the triceps surae muscle and used as parameters to evaluate the difference between volleyball player and control groups at rest, during exercise, interval and recovery periods. There were statistically significant differences ( $P < 0.01$ ) in the fall of PCr/Pi ratio and intracellular pH during each exercise period between volleyball player and control groups. The volleyball player group was also superior to the control group in the degree of restoration of the intracellular pH during each interval period. By comparing the relation between the PCr/Pi ratio and the intracellular pH of volleyball player and control groups during all periods, characteristic distribution was found only in the volleyball player group. These results suggested that <sup>31</sup>P-MRS might provide additional data to other modalities in the evaluation of energy metabolism in the skeletal muscle of volleyball player.