

³¹P NMR による低圧馴化ラット下肢筋の エネルギー代謝に関する研究

鮮于 攝^{1,2}, 崔 外永³, 李 基哲², 浅野勝己⁴,
三森文行¹

¹国立環境研究所環境健康部 ²筑波大学大学院体育科学研究科
³同 大学院体育研究科 ⁴同 体育科学系

はじめに

人間の生活空間の高々度地域や大深度地下への拡大, また地球環境の変化に関連して, 極限環境での人間の生理的適応能について関心が持たれている. 運動競技における低圧低酸素環境でのトレーニングも低酸素環境への適応と考えられるが, その生理的機序の解明は十分になされてはいない. 本研究は, 低圧環境に馴化させたラット下肢筋を対象として, 低圧馴化が骨格筋のエネルギー代謝機能にどのような影響を与えるかを ³¹P NMR 分光法を用いて明らかにすることを目的とする.

これまでのアンデスの高地民族や低圧低酸素条件でのトレーニングの研究から, エネルギー代謝に関連して, 低圧低酸素環境が血中ヘモグロビンの増加や心肺機能の改善等, 酸素供給に係わる機能を増大させることが知られている. しかし, 骨格筋における酸素利用能が増大するか否かについては相反する結果が報告されており, 議論が分かれるところである. すなわち, 組織での酸素利用能を表す酸化系酵素活性は上昇するとの報告^{1)~3)}と, 変化しないあるいは低下する^{4)~6)}との報告が相半ばする. 常圧で

の最大酸素摂取量および有酸素的運動能力も増大するとの報告と^{7)~9)}, 変化しないという報告^{5),10),11)}がある. これは, 比較的短期間での適応を調査した結果が多いことや, 最大酸素摂取量については, 全身パラメーターであり, 筋局所での変化を特異にとらえることができないことなどが相反する結果の一つの原因となっていると考えられる.

筋局所のエネルギー代謝機能を評価するためには, ³¹P NMR を用いた高エネルギーリン酸化合物の動態解析が有効である. 我々はこれまで ³¹P NMR を用いて, 持久的トレーニングによる筋の酸化的リン酸化能の改善が, 筋のクレアチンリン酸 (PCr) の運動中の定常値や, 運動終了後の回復速度からとらえられることを明らかにした^{12),13)}. また, 低圧低酸素暴露状態における運動時の筋の酸化的リン酸化機能の制限や解糖系の発動が筋 PCr や pH によって記述できることを示した. すなわち, 吸気酸素濃度 50% (fractional concentration of inspired oxygen (F_IO₂) 0.5) での, 電気刺激 (17 V, 2 ms, 1 Hz) による最大下運動で, 筋ミトコンドリアの酸化的リン酸化反応は酸素供給による制限を受けていないが, F_IO₂ 0.21 以下では制限されていること, F_IO₂ 0.11 と 0.08 の間で酸

キーワード ³¹P NMR, rat muscle, oxidative phosphorylation, acclimatization, hypobaric exposure

化的リン酸化反応だけでは、必要とされるアデノシン三リン酸 (ATP) を供給できなくなり、解糖系の発動が起こることを明らかにした¹⁴⁾。

本研究では上記の研究結果を踏まえて、6 か月間の長期にわたって 462 mmHg (4,000 m 高度相当) の低圧環境に馴化させたラットを用い、酸素供給能がミトコンドリアでの酸化的代謝の制限因子として作用していない FiO_2 0.50 と、制限因子となっている 0.11、さらに解糖系の発動が起こっている FiO_2 0.08 の条件で電気刺激による運動負荷を与えた。このときの筋局所での PCr、無機リン (Pi) および筋 pH の経時的な変化から低圧馴化ラット下肢筋の酸化的リン酸化能の変化の有無、低圧低酸素環境での耐性獲得の有無を検討した。

方 法

1) 実験動物および飼育

15 週 齢 の Wistar Imamichi 雄 性 ラ ッ ト (441.6±23.7 g) 36 匹を実験群 (1 グループ 5 匹, 計 15 匹) と対照群 (1 グループ 7 匹, 計 21 匹) に分け個別飼育し、餌と水は自由摂取させた。明暗周期は明期 12 時間 (09:00~21:00)、暗期 12 時間 (21:00~09:00) の繰り返しとし、飼育室温度は 23±1°C とした。

2) 低圧低酸素暴露

低圧低酸素暴露は、動物用の低圧シミュレーターを用い、462 mmHg (4,000 m 高度相当) の低圧環境に 10 時間/日 (21:00~07:00)、6 日/週、6 か月間暴露した。低圧低酸素暴露の開始前、3 および 6 か月後に 3 種類の FiO_2 条件 (0.50, 0.11 および 0.08) で動物に電気刺激による運動を負荷し、下肢筋の³¹P NMR 測定を実施した。吸気酸素濃度は設定すべき FiO_2 の 2 倍の酸素濃度に窒素ガスでバランスした混合ガスと、 N_2O ガスを 1 対 1 に混合することによって設定した (流量 1 l/分)。これ

に 1.5% のハロセンガス (武田薬品) を混入して動物の麻酔を実施した。設定した酸素濃度ガスの吸入は³¹P NMR 測定 15 分前に開始し、安静時 30 分、筋収縮時 12 分および回復時 20 分と合わせて約 80 分間行った。

3) 筋収縮負荷

ラット下肢筋の運動は腓腹筋の上端及びアキレス腱部位に電極を挿入し、これを通じて直流電気パルスが付加することにより実施した。直流電気パルスはアイソレーター (SS-202J, 日本光電) に接続した電気刺激装置 (SEN-3301, 日本光電) を用い、電圧 17 V、パルス幅 2 ms, 1 Hz の頻度で 12 分間付加した。電気刺激時の収縮張力はラットの足首に張力計 (日本光電, TB-611T) を接続し、ポリグラフ (日本光電, CP-622G) を用いて連続的に測定した¹²⁾。

4) ³¹P NMR 測定

動物は、下肢後面の腓腹筋部位を直径 2 cm の表面コイル検出器上に固定した後、水平ボア磁石内に導入した。³¹P NMR スペクトルは Bruker Biospec 24/30 分光計 (2.35 T) を用い、40.6 MHz で測定した。NMR スペクトルは 2400 Hz のスペクトル幅、4096 点のデータポイント、パルス繰り返し時間 3 秒で 32 回積算を行った。この測定を安静時 4 回、運動時 6 回繰り返した。回復時には時間分解能をあげるために 8 回積算で 16 回の測定を繰り返し、その後 32 回積算を実施した。短いパルス繰り返しによる部分飽和効果を補正するために実験開始前、安静時に、パルス繰り返し時間 3 秒と 20 秒の測定を行い、各ピークの飽和係数を算出した。PCr/(PCr+Pi) 比は Pi および PCr の面積強度から計算した。細胞内 pH は PCr に対する Pi の化学シフト値 (σ) を用いて、Taylor らの式¹⁵⁾

$$\text{pH} = 6.75 + \log [(\sigma - 3.27) / (5.69 - \sigma)]$$

によって算出した。

5) 血液性状および酵素活性

最終暴露終了の12時間後に腹部下大静脈から採血を行い、赤血球 (RBC) 数、白血球数、エリスロポエチン¹⁶⁾ および 2,3-bisphosphoglycerate (2,3-DPG) 濃度¹⁷⁾ を測定した。ヘモグロビン (Hb) 濃度は B-Hemoglobin Photometer を、ヘマトクリット (Ht) は毛細管法を用いて測定した。動物は採血の後、脱血により屠殺し、採取した腓腹筋試料を凍結クランプ後 -80°C で保存した。チトクローム酸化酵素 (EC 1.9.3.1) 活性を Smith の方法¹⁸⁾、クエン酸合成酵素 (EC 4.1.3.7) 活性を Sere の方法¹⁹⁾ により測定した。

6) 統計処理

暴露前、暴露3および6か月後の FiO₂ 変化による安静時、筋収縮時および回復時の PCr/(PCr+Pi) 比、筋 pH、血液性状および筋の酵素活性のグループ間の差を非パラメトリック Mann-Whitney U 検定を用いて検定し、p<0.05 を有意差とした。

結 果

Table 1 に暴露6か月後の血液性状の変化を示す。Hb, Ht はそれぞれ 24.3 g/dl, 66.6%, また 2,3-DPG も 5.69 μmol/ml と対照群に比べ有意に上昇し、低圧低酸素環境への馴化が起こっていることが明らかである^{20)~22)}。

Fig. 1 に暴露開始前の実験群ラットの FiO₂ 0.50, 0.11, 0.08 の各吸気酸素条件での運動中の下肢筋で得られた ³¹P NMR スペクトルをあげる。FiO₂ の低下に伴って、PCr の低下、Pi の増加が大きくなっている。本研究のすべての測定条件で ATP には変化が見られなかった。急性低酸素暴露でのより詳細な検討から、FiO₂ 0.50 での PCr レベルは酸化的リン酸化反応が酸素供給による制限を受けない条件での筋の酸化的代謝能を、FiO₂ 0.11, 0.08 での PCr の減少はそれぞれの酸素濃度での酸化的代謝能

Table 1. Hematologic Parameters in the Control and Experimental Rats after 6 Months of Hypobaric Exposure to 462 mmHg (simulated altitude of 4,000 m). Values are means ± SD.

item	control group (n=7)	experimental group (n=5)
hemoglobin (g/dl)	13.6 ± 0.8	23.4 ± 0.4***
hematocrit (%)	44.2 ± 2.0	66.6 ± 2.4***
erythrocyte (× 10 ⁴ mm ³)	902 ± 23	1046 ± 87**
leukocyte (mm ³)	3243 ± 550	7317 ± 1270**
MCV (μm ³)	54.0 ± 0.8	53.3 ± 2.1
MCH (pg)	16.2 ± 0.3	18.1 ± 1.2**
MCHC (%)	30.0 ± 0.9	33.9 ± 1.5**
erythropoietin (mU/ml)	27.7 ± 8.4	24.0 ± 5.0
2,3-DPG (μmol/ml)	3.21 ± 0.3	5.69 ± 0.4***

MCV: mean corpuscular volume, MCH: mean corpuscular hemoglobin, MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration, 2,3-DPG: 2,3-bisphosphoglycerate, **: p<0.01, ***: p<0.001

の制限を表すと考えることができる¹⁴⁾。

運動中の PCr/(PCr+Pi) 比の定常値を運動3分目から10分目の4点の平均値として求め、この値を暴露群、対照群で比較した結果を Fig. 2 に示す。全測定点において有意差は認められなかったが、暴露3か月後の FiO₂ 0.08, 暴露6か月後の FiO₂ 0.11, 0.08 条件で実験群の PCr/(PCr+Pi) 比が高い傾向がみられた。Fig. 3 に暴露6か月後の各 FiO₂ での安静、運動および回復時の PCr/(PCr+Pi) 比の動態を示す。FiO₂ 0.50 の運動後半で対照群が有意に高いが、逆に FiO₂ 0.08 の運動後半と回復時には実験群が有意に (p<0.05~p<0.001) 高くなっている。暴露前、暴露3か月後での比較ではこのような差は全く認められなかった。

運動時の筋 pH の定常値は、暴露3か月後の FiO₂ 0.50 と暴露6か月後の 0.08 条件で、実験群が有意に (p<0.05) 高い (Fig. 4)。Fig. 5 に暴露6か月後の筋 pH の安静、運動および回復時の動態を示す。PCr/(PCr+Pi) 比で見

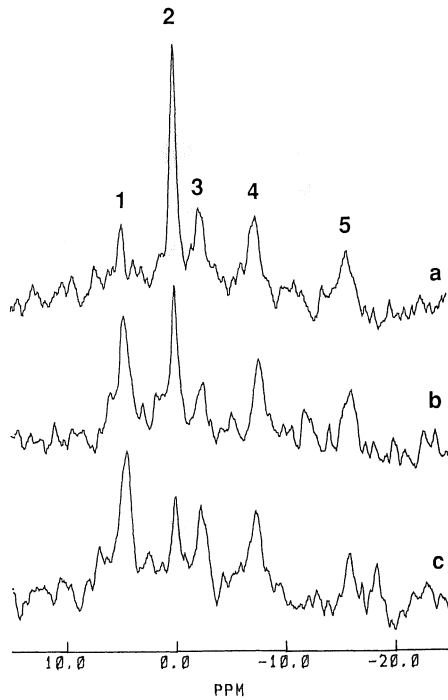


Fig. 1. ³¹P NMR spectra (40.6 MHz) obtained from rat hindlimb muscles during exercise at FiO₂ of (a) 0.5, (b) 0.11, and (c) 0.08. The NMR spectra were measured by accumulating 32 transients with a pulse length of 25 μs, and a recycling time of 3 s. Spectral assignments are : 1, inorganic phosphate (Pi) ; 2, phosphocreatine (PCr) ; 3, 4, 5, γ-, α- and β-phosphate groups of adenosine 5'-triphosphate. Chemical shift values are in ppm from the resonance of PCr.

られたのと同様に、FiO₂ 0.08 の運動後半と回復時に実験群が有意に (p<0.05~p<0.001) 高い。

6 か月間の暴露終了後、筋の酸化的代謝機能の指標として、クエン酸合成酵素、チトクローム酸化酵素活性を腓腹筋外側部位において測定した。前者は実験群、対照群でそれぞれ 0.123±0.014, 0.126±0.011 U/mg protein, 後者はそれぞれ 0.088±0.012, 0.087±0.008 U/mg protein と、いずれも両群間で有意な差は認められなかった。

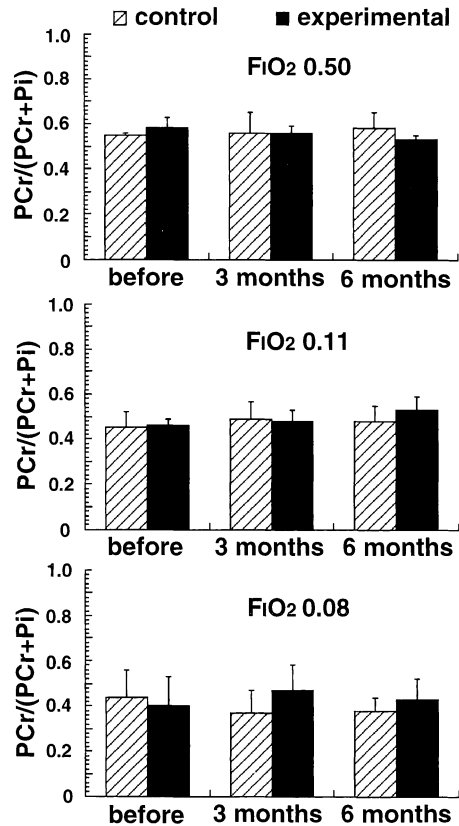


Fig. 2. The steady state values of PCr/(PCr+Pi) during exercise at FiO₂ of 0.5, 0.11 and 0.08 before, 3 and 6 months of hypobaric exposure to 462 mmHg (simulated altitude of 4,000 m). The steady state value is an average of four PCr/(PCr+Pi) ratios from the second to the fifth point of exercise at each FiO₂. Error bar shows standard deviation.

考 察

低圧暴露 6 か月後、実験群の体重は 468.5±21.8 g と、対照群の 594.6±39.3 g と比べ低下している (p<0.001) が、下肢筋 (ヒラメ筋, 腓腹筋, 足底筋群) 重量は実験群が 2.065±0.136 g, 対照群が 2.098±0.194 g と差はなかった。このことは同一の運動負荷を与えた実験群、対照群での³¹P NMR 測定結果の直接比較を保証するものである。

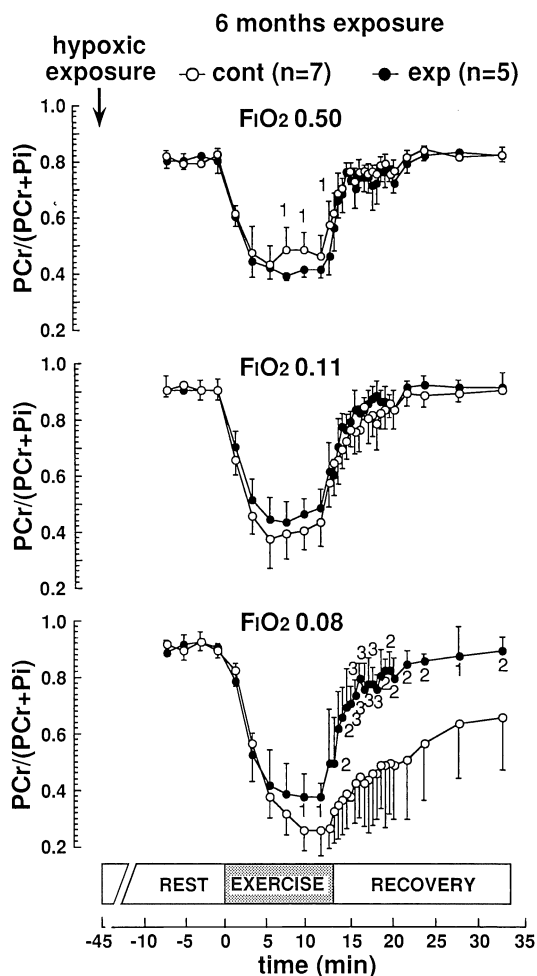


Fig. 3. The time course of changes in the PCr/(PCr+Pi) ratio at rest, during exercise and recovery at FiO_2 of 0.5, 0.11 and 0.08 after 6 months of hypobaric exposure to 462 mmHg (simulated altitude of 4,000 m). Mean values and standard deviations from seven (control group) and five (experimental group) animals are shown. Inspiration with each O_2 content gas was started 45 min before the onset of exercise. The rat hindlimb muscles (gastrocnemius-plantaris-soleus muscle group) were stimulated by a train of 2 ms-duration DC electric pulses at 1 Hz through electrodes attached to either end of the hindlimb muscles. Arabic numerals indicate significant differences between the two groups; 1: $p < 0.05$, 2: $p < 0.01$, 3: $p < 0.001$.

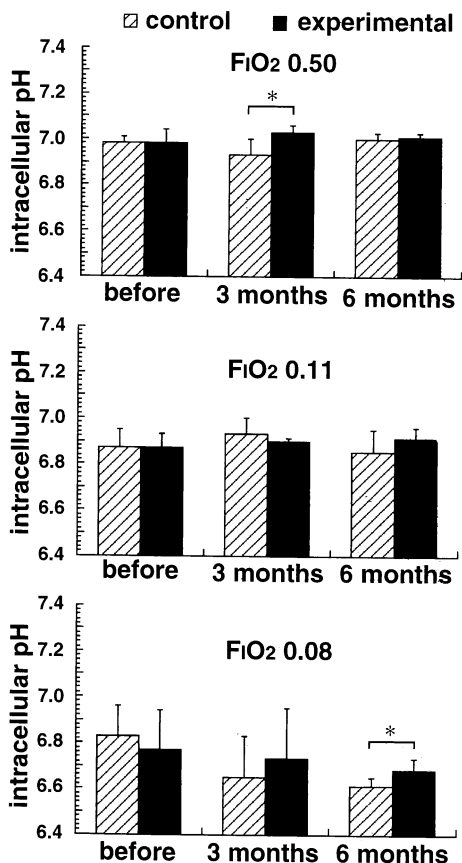


Fig. 4. The steady state values of intracellular pH during exercise at FiO_2 of 0.5, 0.11 and 0.08 before, 3 and 6 months of hypobaric exposure to 462 mmHg (simulated altitude of 4,000 m). The steady state value is an average of four intracellular pHs from the second to the fifth point of exercise at each FiO_2 . Error bar shows standard deviation. Asterisks indicate significant differences ($p < 0.05$) between the two groups.

これまでの研究から、同一の運動負荷を与え、かつ筋 ATP に変化がない場合、筋の運動中の PCr/(PCr+Pi) 比の定常値は、筋の酸化的リン酸化能に対応していると考えられる^{12),13),23)}。酸素供給がミトコンドリアでの酸化的代謝反応の制限因子として作用していない FiO_2 0.50 条件¹⁴⁾で、運動中の PCr/(PCr+Pi) 比の定常値が暴露 3 および 6 か月後でも対照

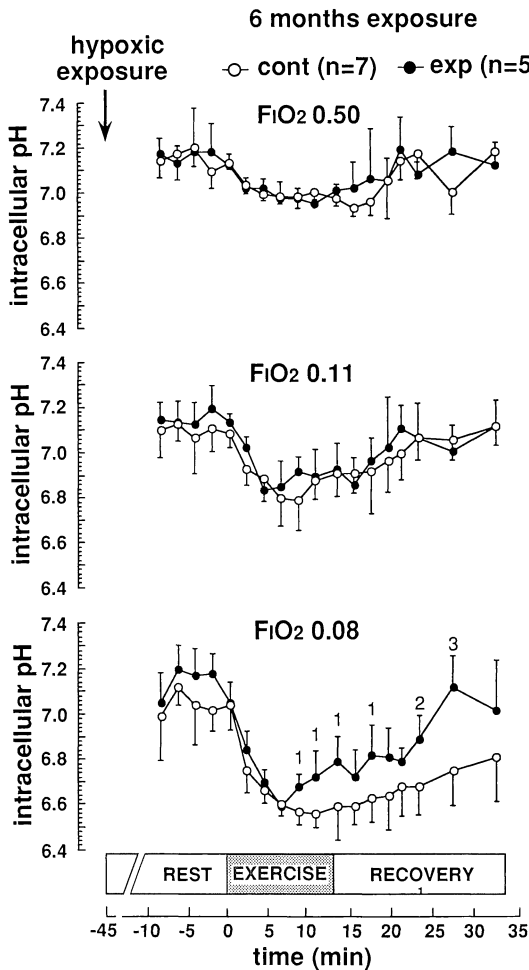


Fig. 5. The time course of changes in the intracellular pH at rest, during exercise and recovery at FiO_2 of 0.5, 0.11 and 0.08 after 6 months of hypobaric exposure to 462 mmHg (simulated altitude of 4,000 m). Mean values and standard deviations from seven (control group) and five (experimental group) animals are shown. pH values during recovery were calculated after averaging 4 spectra each of which had been obtained by 8 accumulations. Inspiration with each O_2 content gas was started 45 min before the onset of exercise. The stimulation protocol of the hindlimb muscles are the same as in Fig. 3. Arabic numerals indicate significant differences between the two groups; 1 : $p < 0.05$, 2 : $p < 0.01$, 3 : $p < 0.001$

群と変わらないという結果は、酸化的リン酸化能が低圧暴露によって改善されていないことを示している。この結果は、長期間の受動的な低圧低酸素暴露だけでは筋の酸化的リン酸化代謝能を改善させるに至らないことを意味し、腓腹筋外側部のクエン酸合成酵素とチトクローム酸化酵素活性が暴露6か月後でも対照群と変わらないという測定結果と一致する。これまでの低圧低酸素トレーニングが骨格筋の酸化的代謝能に及ぼす影響に関する研究では、人間^{3),5),6),24)}、動物^{1),2)}とも一致した結果は得られていない。李らは、ラットを5,500 m 高度相当で4週間にわたり、1) 間欠的な暴露群(受動的適応)、2) 間欠的な暴露にトレーニングを組み合わせた群(積極的適応)に分けて下肢筋の酸化系酵素活性に及ぼす低圧低酸素暴露およびトレーニングの複合効果を検討した²⁵⁾。この結果、積極的な適応は酸化系酵素活性の増大に効果があるが受動的適応は効果がないと報告している。本研究の結果は彼らの結果と一致し、さらに受動的適応の期間を4週間から6か月まで延長しても酸化的リン酸化能は改善されることが明らかになった。

一方、酸化的リン酸化反応が酸素供給能により制限を受けている条件である FiO_2 0.11, 0.08 でも運動中の $PCr/(PCr+Pi)$ 比の定常値に改善はみられない。しかし、 $PCr/(PCr+Pi)$ 比の運動中の各時点の値を両群間で比較すると、 FiO_2 0.08 条件で暴露群の運動後半で有意に高く、またその回復も有意に速かった (Fig. 3)。この結果は、実験群においてミトコンドリアでの酸化的代謝能の酸素不足による制限が緩和されていることを示唆する。血液性状から見ても実験群では、RBC, Hb, 2, 3-DPG などが上昇し、低酸素条件での筋への酸素供給は改善されていると考えられる。

上記の $PCr/(PCr+Pi)$ 比の結果と対応して、 FiO_2 0.08 実験群の暴露6か月後の運動中の筋 pH の定常値 ($p < 0.05$) および回復時 ($p < 0.05 \sim 0.001$) の値は対照群に比べて有意

に高かった。この結果も $\text{PCr}/(\text{PCr}+\text{Pi})$ 比での変化と同様に実験群での低酸素耐性の向上を示唆する。なお、 FiO_2 0.50 実験群の暴露3か月後の運動中筋 pH の定常値も対照群に比べて有意に高いが、暴露6か月後には有意差は認められず、 FiO_2 0.50 では pH の変化が一定の傾向を示すものとは判断できない。筋収縮時の pH の酸性化は乳酸生成に伴うものと考えられる^{26),27)}。暴露6か月後の実験群の FiO_2 0.08 での運動、回復時の $\text{PCr}/(\text{PCr}+\text{Pi})$ 比が高く保たれていることが、前述のごとく、低酸素条件での筋の酸化的リン酸化能の酸素供給による制限の緩和によるものであるとすると、この条件下での ATP 供給の解糖系への依存の割合は減少していると考えられ、その結果、乳酸生成も低下していると考えられる。ここでみられる実験群での運動中の pH 低下が小さく、回復が速いことは、上記の推論を支持するものである。

低圧低酸素トレーニング後の平地人や、アンデス高地民族では最大下および最大運動時に、低酸素条件にもかかわらず乳酸生成が平地人と比べ低いことが乳酸パラドックスとして知られている²⁸⁾。この現象の一部は筋組織での毛細血管およびミトコンドリア密度、酸化系酵素活性の改善などの変化によるものと解釈されるが、このような組織生化学的変化を伴わない場合も多く、その機序はまだ解明されていない。しかし、我々が示したように FiO_2 0.21 でも酸化的リン酸化反応が酸素供給による制限を受けているとすると¹⁴⁾、低圧馴化によってその制限が緩和されれば、酸化系酵素活性の増大を伴わない場合でも $\text{PCr}/(\text{PCr}+\text{Pi})$ 比の改善や乳酸生成の減少は起こり得る。従って、低圧馴化による酸素制限の緩和は乳酸パラドックスの、少なくとも一部を説明する解釈となり得る。この場合には、適応後の筋の低酸素条件での酸素消費量は改善されているはずである。これまでの研究で適応後の全身の最大酸素摂取量は改善されないとの報告もあることを既に記したが、

筋局所において酸素消費量の比較がなされる必要がある。

暴露6か月後の FiO_2 0.08 条件でみられた $\text{PCr}/(\text{PCr}+\text{Pi})$ 比や運動中の筋 pH が対照群と比較して高い傾向があるという事実 (PCr については有意ではない) を両群の経時の変化として比較すると、この差は、実験群での改善というよりは、対照群での低下が主な原因となっていると思われる (Fig. 2, 4)。このことは低圧低酸素暴露による低圧低酸素耐性の改善が、対照群でみられる低下の防止という形で発現されていることを示唆する。

以上の結果から、4,000 m 高度相当での6か月間の間欠的な低圧低酸素暴露は、筋の酸化的代謝能を改善しないことがわかった。しかし、血液の酸素運搬能は改善される。暴露6か月後の FiO_2 0.08 条件では、運動中の $\text{PCr}/(\text{PCr}+\text{Pi})$ 比の低下や、筋 pH の酸性化が小さい傾向を示し、酸化的リン酸化能の酸素供給による制限の緩和が示唆された。これは高地馴化に伴う乳酸パラドックスの機構のひとつの説明になり得る。

文 献

- 1) Elander A, Idstrom J-P, Schersten T, Bylund-Fellenius A-C: Metabolic adaptation to reduced muscle blood flow. I. Enzyme and metabolite alterations. *Am J Physiol*, 249: E63-E69, 1985.
- 2) Terblanche SE, Groenewald JV, Derrlinde A, et al.: A comparative study of the training at altitude and sea level on endurance and certain biochemical variables. *Comp Biochem Physiol*, 78: 21-26, 1984.
- 3) Terrados N, Jansson E, Sylven C, Kaijser L: Is hypoxia a stimulus for synthesis of oxidative enzymes and myoglobin? *J Appl Physiol*, 68: 2369-2372, 1990.
- 4) Hayes DJ, Challiss RA, Radda G K: An investigation of arterial insufficiency in rat hindlimb. An enzymic, mitochondrial and histological study. *Biochem J*, 236: 469-473, 1986.

- 5) Mizuno M, Juel C, Bro-Rasmussen, et al. : Limb skeletal muscle adaptation in athletes after training at altitude. *J Appl Physiol*, 68 : 496-502, 1990.
- 6) Saltin B, Nygaard E, Rasmussen B : Skeletal muscle adaptation in man following prolonged exposure to high altitude. *Acta Physiol Scand*, 109 : 31A, 1980.
- 7) 浅野勝己, 鮮于 攝, 松坂 晃, 他 : 中長距離走者の高所順応トレーニングの作業能に及ぼす影響に関する研究. 筑波大学体育科学系紀要, 9 : 195-202, 1986.
- 8) Donovan C, Brooks GA : Endurance training affects lactate clearance, not lactate production. *Am J Physiol*, 244 : E83-E92, 1983.
- 9) Faulkner JA, Daniels JT, Balke B : Effects of training at moderate altitude on physical performance capacity. *J Appl Physiol*, 23 : 85-89, 1967.
- 10) Adams WC, Bernauer EM, Dill DB, Bomar, Jr JB : Effects of equivalent sea level and altitude training on $\dot{V}O_{2max}$ and running performance. *J Appl Physiol*, 39 : 262-266, 1975.
- 11) Buskirk ER, Kollias J, Akers RF, Prokop EK, Reategui EP : Maximal performance at altitude and on return from altitude in conditioned runners. *J Appl Physiol*, 23 : 259-266, 1967.
- 12) Kuno S, Akisada M, Mitsumori F : Phosphorus-31 nuclear magnetic resonance study on the effects of endurance training in the rat skeletal muscle. *Eur J Appl Physiol*, 65 : 197-201, 1992.
- 13) 三森文行 : NMRによる筋代謝機能の解析. 運動生化学, 5 : 34-40, 1993.
- 14) Sunoo S, Asano K, Mitsumori F : ³¹P nuclear magnetic resonance study on changes in phosphocreatine and the intracellular pH in rat skeletal muscle during exercise at various inspired oxygen contents. *Eur J Appl Physiol*, 74 : 305-310 1996.
- 15) Taylor DJ, Bore PJ, Styles P, Gadian DG, Radda GK : Bioenergetics of intact human muscle—A ³¹P nuclear magnetic resonance study. *Mol Biol Med*, 1 : 77-94, 1983.
- 16) Matsubara K, Yoshimura T, Kamachi S, et al. : Radioimmunoassay for erythropoietin using anti-recombinant erythropoietin antibody with high affinity. *Clinica Chimica Acta*, 185 : 177-184, 1989.
- 17) Ericson A, Verdier CH de : A modified method for the determination of 2,3-diphosphoglycerate in erythrocytes. *Scand J Clin Lab Invest*, 29 : 84-90, 1972.
- 18) Smith L : Spectrophotometric assay of cytochrome c oxidase. *Method Biochem Anal*, 2 : 427-434, 1955.
- 19) Sere PA : Citrate synthase. *Method in Enzymol*, 13 : 3-5, 1969.
- 20) Michael JR, Kennedy TP, Buescher P, et al. : Nitrendipine attenuates the pulmonary vascular remodeling and right ventricular hypertrophy caused by intermittent hypoxia in rats. *Am Rev Respir Disease*, 133 : 375-379, 1986.
- 21) Nattie EE, Doble EA : Threshold of intermittent hypoxia-induced right ventricular hypertrophy in the rat. *Respir Physiol*, 56 : 253-259, 1984.
- 22) Osada H : The effects of hypobaric hypoxia (50.6 kPa) on blood components in guinea-pigs. *Acta Physiol Scand*, 142 : 261-266, 1991.
- 23) Chance B, Leigh, Jr JS, Clark BJ, et al. : Control of oxidative metabolism and oxygen delivery in human skeletal muscle : A steady-state analysis of the work/energy cost transfer function. *Proc Natl Acad Sci*, 82 : 8384-8388, 1985.
- 24) Boutellier U, Giezendanner D, Cerretelli P, DiPrampo PE : After effects of chronic hypoxia on $\dot{V}O_{2max}$ kinetics and O₂ deficit and debt. *Eur J Appl Physiol*, 53 : 87-91, 1984.
- 25) 李 基哲, 浅野勝己, 下村吉治, 鈴木正成 : 高度の低圧低酸素環境下持久性トレーニングのラット骨格筋の酸化能に及ぼす影響. 日本運動生理学雑誌, 2 : 99-106, 1995.
- 26) Katz A, Sahlin K : Regulation of lactic acid production during exercise. *J Appl Physiol*, 65 : 509-518, 1988.
- 27) Willson DF, Erecinska M, Drown C, Silver IA : The oxygen dependence of cellular energy metabolism. *Arch Biochem Biophys*, 195 : 485-493, 1979.
- 28) Matheson GO, Allen PS, Ellinger DC, et al. : Skeletal muscle metabolism and work capacity : a ³¹P-NMR study of Andean natives and lowlanders. *J Appl Physiol*, 70 : 1963-1976, 1991.

³¹P NMR Study on Energy Metabolism in Hindlimb Muscle of the Rats Acclimatized to Hypobaric Condition

Sub SUNOO^{1,2}, Weayoung CHOI³, Kichul LEE²,
Katsumi ASANO⁴, Fumiuyuki MITSUMORI¹

¹*National Institute for Environmental Studies, Onogawa 16-2, Tsukuba, Ibaraki 305*

²*Doctoral Program of Health and Sport sciences, ³Master program of Physical Education, and*

⁴*Institute of Health and Sports Sciences, University of Tsukuba*

The purpose of this study is to evaluate the effect of acclimatization to the hypobaric condition on energy metabolism in skeletal muscle of rat hindlimb using ³¹P NMR spectroscopy. Rats were exposed to the hypobaric condition of 462 mmHg 10 hours a day, 6 days a week for 6 months. Before, 3 months, and 6 months of the exposure the hindlimb muscle of the rats were examined by ³¹P NMR during exercise under 3 levels of oxygen availability (fractional concentration of inspired oxygen (F_IO₂) of 0.5, 0.11, and 0.08). The same amount of submaximal exercise was loaded on each rat by electric stimulation of 2 ms, 17 V DC pulses at 1 Hz. Phosphocreatine (PCr), inorganic phosphate (Pi), and the intracellular pH during exercise were used as indices of oxidative phosphorylation capacity in the muscle. At F_IO₂ of 0.5 where the oxygen supply is not limiting the oxidative metabolism in the muscle there is no difference in the ratio of PCr/(PCr + Pi) or in the intracellular pH between the acclimatized and control rats at any time stage. This means that the 6 months of acclimatization to the hypobaric condition of 462 mmHg does not affect the oxidative capacity of the hindlimb muscle. On the other hand at F_IO₂ of 0.08 the PCr/(PCr + Pi) ratio and the intracellular pH during the later stage of exercise and during recovery were significantly higher in the acclimatized rats than in the control rats after 6 months of exposure. Since the oxygen supply is obviously limiting the oxidative metabolism in the muscle at F_IO₂ of 0.08, the above result suggests that the extent of limitation of oxidative capacity by a reduced oxygen supply under hypoxic condition is relieved in the acclimatized rats. This finding may be an explanation for the mechanism of the lactate paradox found in highland residents or trained people at high altitude.