

R-02-2024

MFRI Research Report

# 山梨県富士山科学研究所研究報告書

第54号

基盤研究

「抗酸化物質の摂取が富士登山者の  
急性高山病症状軽減に及ぼす影響」

令和5年度

山梨県富士山科学研究所



R-02-2024

MFRI Research Report

# 山梨県富士山科学研究所研究報告書

第54号

基盤研究

「抗酸化物質の摂取が富士登山者の  
急性高山病症状軽減に及ぼす影響」

令和5年度

山梨県富士山科学研究所



## はじめに

近年、登山や観光をはじめとした様々な楽しみ方で多くの人々が富士山を訪れています。中でも、登山シーズンの7月から9月にはおよそ20万人もの登山者が山頂を目指し、大変な賑わいをみせています。しかし、富士山の山頂は標高3,776mで高所での長時間の登山となることから、急性高山病の発症リスクがあります。実際、登山中に富士山救護所を訪れた登山者の約60%は急性高山病を発症していました。安全に、かつ快適に富士登山を楽しむためには、これらの発生をあらかじめ防ぎ、軽減するための対策が必要です。

当研究所では、これまで富士登山者の急性高山病についての実験的研究を行い、富士山におけるフィールド実験では、脱水症状を防ぐのに効果的とされる糖質・電解質水溶液の摂取が、富士登山時の身体的負担度を軽減することを明らかにしてきました。しかし、富士山のような高所では長時間運動（登山）による脱水のリスクだけでなく、他にも様々な、そして生体にとって決して望ましくない生理応答もあります。

本研究では、富士山のような高所では酸化ストレス指標が増加し、抗酸化能が低下すること、さらにはこれらの指標の変化は、急性高山病と関係する可能性があるという既往研究を基に、抗酸化物質の摂取が、低酸素環境下での運動時の生理的負担度や富士登山者の急性高山病症状にどのような影響を及ぼすのかについて実験的検証を行いました。その結果、抗酸化物質の摂取は低酸素環境下での運動パフォーマンスの改善をもたらすこと、および実際の富士登山で急性高山病を発症した人は、酸化ストレス指標の増加が大きい傾向にあったことがわかりました。高所登山の安全性向上の方法としての利用には、まだまだ数多くのステップを経る必要がありますが、高所登山時の安全な行動に向けての有効な対策が実現できる可能性が示されたこととなります。

本報告が、富士登山者やその関係者に参照され、急性高山病予防の対策の一助になることを期待しています。

山梨県富士山科学研究所

所長 藤井敏嗣



# 目 次

はじめに

概要編

## I 研究の概要

I-1 研究テーマおよび研究期間	1
I-2 研究体制	1
I-3 研究背景と目的	1
I-4 研究成果の概要	2
I-4-1 タルトチェリー摂取が低酸素環境下での運動パフォーマンスに及ぼす影響	2
I-4-2 5-アミノレブリン酸摂取が富士登山時の酸化ストレス指標と急性高山病症状に及ぼす影響	3
I-5 引用文献	4
I-6 研究成果の発表	5
I-6-1 誌上発表	5
I-6-2 口頭発表	5
I-7 謝辞	5

本編

## II 研究成果報告

II-1 タルトチェリー摂取が低酸素環境下での運動パフォーマンスに及ぼす影響	6
II-1-1 研究背景と目的	6
II-1-2 方法	6
II-1-3 結果および考察	7
II-1-4 引用文献	10
II-2 5-アミノレブリン酸の摂取が富士登山時の酸化ストレス指標と急性高山病症状に及ぼす影響	12
II-2-1 研究背景と目的	12
II-2-2 方法	13
II-2-3 結果	17
II-2-4 考察	20
II-2-5 結論	22
II-2-6 引用文献	22





# 概 要 編



# I 研究の概要

## I-1 研究テーマおよび研究期間

### 研究テーマ：

抗酸化物質の摂取が富士登山者の急性高山病症状軽減に及ぼす影響

### 研究期間

令和2年度～令和4年度（3年間）

## I-2 研究体制

研究代表者：堀内 雅弘（研究部環境共生科、現：鹿屋体育大学体育学部スポーツ生命科学系教授）

研究分担者：長谷川 達也（研究部環境共生科）

増木 静江（信州大学）

能勢 博（信州大学）

小山 勝弘（山梨学院大学）

福岡 義之（同志社大学）

Samuel J Oliver（Bangor University, UK）

研究協力者：宇野 忠（研究部環境共生科）

近藤 大樹（信州大学大学院）

## I-3 研究背景と目的

年間20万人以上の人々が山頂を目指す「富士登山」は、2013年の世界文化遺産登録もあり富士山の代表的な観光利用のひとつとなっている。登山者の富士山への訪問体験の質をあげる上でも、安全な登山が求められている。標高3776mの高所へ登る富士登山には、様々なリスクが考えられるが、代表的なものに急性高山病症状が挙げられる。急性高山病は頭痛を主訴とした諸症状であり、表1に示すように4つの項目につき各得点をつけ、頭痛が1点以上、かつ合計3点以上を急性高山病と診断する[1]。

急性高山病は、より高所（例えば4000～5000m以上）で重症化すると、肺水腫や脳浮腫などの生命に関わるリスクにもつながりかねない。

表1 レイクルーズの急性高山病質問紙

主訴	得点	状態
頭痛	0	まったく無い
	1	軽度
	2	中程度
	3	激しい頭痛
胃腸症状	0	食欲良好
	1	食欲がない、吐き気がある
	2	かなり吐き気がある、嘔吐
	3	絶えられないほどの吐き気と嘔吐
疲労 脱力	0	まったく無い
	1	少し感じる
	2	かなり感じる
	3	耐えられないほど感じる
めまい ふらつき	0	まったく無い
	1	少し感じる
	2	かなり感じる
	3	耐えられないほど感じる

急性高山病の原因は多様であり、一致した見解は得られていない。当研究所でこれまで行ってきた疫学研究では、富士登山経験の少なさや、山小屋での良好な睡眠状態を確保できないこと、あるいはより高い標高に宿泊することがリスクファクターとして挙げられている[2,3]。一方、生理学研究では、低酸素血症[4]や脱水症状[5]が、急性高山病症状の発症や悪化と関連することが報告されている。実際、我々は脱水症状に効果的とされる糖質・電解質含有飲料を登山中に摂取した群では、真水のみを摂取した群と比較して、登山中のエネルギー消費量は両群で差がないものの、糖質・電解質含有飲料摂取群では、登山中の心拍数が低い、すなわち身体的負担度が軽減され、良好な運動パフォーマンスを示したことを報告している[6]。

近年、活性酸素種の増加（酸化ストレス指標の増加）[7]も、急性高山病症状の発症や増加と関係していることが推測されている。しかしながら、この研究では実験対象者をヘリコプターでごく短時間のうちに高所に搬送しており、実際の登山現場とは乖離している。

そこで本研究では低酸素環境（室内）と富士登山中（フィールド）において抗酸化物質を摂取した実験をそれぞれ行い、抗酸化物質の摂取が低酸素環境下での生理応答、運動パフォーマンス、および実際の富士登山時の急性高山病症状に及ぼす影響を検討することを目的とした。

## I-4 研究成果の概要

### I-4-1 タルトチェリー摂取が低酸素環境下での運動パフォーマンスに及ぼす影響

15名の成人男女（男性11名、女性4名）を被験者として、自転車エルゴメーターを用いて、二重盲検法により2つの実験を行った。被験者は(i)偽薬（小麦粉入りのカプセル）、または(ii)抗酸化物質であるタルトチェリー（タルトチェリータブレットをすりつぶし、その粉末を入れたカプセル）のいずれかをランダムに割り当て5日間服用させた。低酸素ガス発生装置を用いて、両条件とも吸入酸素濃度を13%（標高約3800m相当）に設定した。タルトチェリーの原産国は北米であり、酸味の強いサクランボの一種である。抗酸化物質として知られるポリフェノールの一種であるアントシアニンを豊富に含んでいる。さらにアントシアニンが持つ抗酸化能には血管拡張作用や毛細血管保護作用もあり、虚血状態（酸素不足）の疾患などにも有効であることが報告されている[8]。本実験では、1日に1200mgのタルトチェリー（アントシアニン200mg含有）をカプセルで朝食、および夕食時に分けて摂取した（各600mgずつのタルトチェリー）。プラセボ条件では、同数の偽薬（小麦粉のみが入ったカプセル）を摂取した。実験当日の朝（5日目）は、600mgのタルトチェリー、または偽薬を摂取した。

運動実験は、15分間の安静後、運動負荷を徐々に増加させる自転車漕ぎ運動を1分間に60回転のペダル回転数が維持できなくなる（＝疲労困憊）まで行った。

測定項目として、呼気ガス諸変量（酸素摂取量、二酸化炭素排出量、および換気量）、心拍数、経皮動脈血酸素飽和度（SpO<sub>2</sub>）、および活動筋である大腿部の外側広筋の筋内酸素飽和度を近赤外線分光法により10秒毎に測定した。実験開始前、疲労困憊後1時間目、および5時間目に尿サンプルを採取し、尿量、および時間を正確に記録した。さらに、酸化ストレス指標として、DNA酸化損傷の指標である尿中8-OHdGの体重1kg当たり、1時間当たりの生成速度（ng/kg/h）を分析会社に委託して算出した。

全被験者15名のうち、2名は実験中の著しい頭痛と吐き気により実験を完遂することができなかったため、13名を分析対象とした。両条件による運動パフォーマンス（疲労困憊に至るまでの時間）は、タ

ルトチェリー摂取条件の値(940±84 秒)が、プラセボ条件の値(912±63 秒)に比べ有意に延長した( $P=0.01$ )。呼気ガス諸変量、および心拍数は両条件において有意な差は認められなかった。一方、 $SpO_2$ については、有意なサプリメントの主効果が認められ、タルトチェリー摂取条件の値が、プラセボ条件の値より高値を示した。活動筋である外側広筋の筋内酸素飽和度については、有意なサプリメントと時間の主効果が認められ、交互作用は有意傾向であり、タルトチェリー摂取条件の値が、プラセボ条件の値より高値を示した。

尿中 8-OHdG の生成速度についてみると、有意な時間の主効果と交互作用が認められた(それぞれ  $P<0.05$ )。すなわち、両条件とも尿中 8-OHdG の生成速度は、運動後 1 時間で有意に増加した(それぞれ  $P<0.05$ )。さらに、実験開始前からの変化率は、タルトチェリー条件の増加率が、プラセボ条件のそれより抑制される傾向にあった( $P=0.07$ )。

以上の結果から、抗酸化作用を持つアントシアニンを豊富に含むタルトチェリーを 5 日間摂取することにより、富士山と同等の標高を模した実験室における運動パフォーマンス(疲労困憊に至るまでの時間)は改善することが明らかになった。このメカニズムとして、タルトチェリーが持つ血管拡張作用が生体内の酸素飽和度が高い値を示したこと、および酸化ストレス指標の増加を抑制したことと関係している可能性がある。

#### I-4-2 5-アミノレブリン酸摂取が富士登山時の酸化ストレス指標と急性高山病症状に及ぼす影響

本実験は、2021年、および2022年の共に7月21日に行い、それぞれの実験参加者(それぞれ22名、13名)の結果をまとめて解析した。実験当日の天候は晴れ、5合目と山頂の気温は、それぞれ  $\sim 12^{\circ}\text{C}$ 、 $\sim 8^{\circ}\text{C}$  であった。被験者は健康な成人男女35名であり、彼らを性別、年齢、および事前に測定した最大有酸素性作業能力(=最大酸素摂取量)に基づき、プラセボ群と5-アミノレブリン酸(ALA)群の2群に分けた。サプリメントは、抗酸化物質として市販のALAを用いて、登山開始7日前から、1日当たり2カプセル(1カプセル当たり50mgの5-アミノレブリン酸リン酸塩含有)を朝夕に分けて摂取し、登山開始日の朝に1カプセルを摂取した。プラセボはALAと色・形状が同等の空のプラセボサプリメントカプセルを用いて、ALAと同等のカプセル数を摂取した。これらの摂取は二重盲検法にて行った。

プラセボ群と ALA 群の間に、急性高山病発症者の人数の偏りは認められなかった。DNA 酸化損傷の指標である尿中 8-OHdG 生成速度は、プラセボ群において山頂到達後に有意に増加したが、ALA 群においては登山前後で有意な差は認められなかった。5 合目から山頂到達までの尿中 8-OHdG の生成速度の変化率を、プラセボ群と ALA 群の区分を行わず、急性高山病なし群と発症群に区分して検討した結果、急性高山病発症群の尿中 8-OHdG 生成速度の増加率は、高山病なし群のそれより大きい傾向にあった。解糖系(無酸素性)エネルギー供給指標の一つである血中乳酸濃度は、プラセボ群において、5 合目  $2.8\pm 2.5$  mmol/L (値は平均値±標準偏差) から山頂到達時で  $5.1\pm 3.8$  mmol/L と有意に上昇した( $P=0.01$ ) のに対し、ALA 群では  $3.0\pm 1.6$  から  $4.2\pm 2.9$  mmol/L と有意に上昇しなかった( $P>0.05$ )。

血液や尿などの体液が酸性に傾くこと(アシドーシス状態)は、筋疲労の原因にもなりえる。したがって、本実験において算出した尿中滴定酸・塩基の排泄量の比率が上昇することは、体液が酸性に傾いていることを示唆している。本実験ではプラセボ群において、尿中滴定酸・塩基の排泄量の比率は 5 合目登山開始直前  $1.6\pm 1.3$ 、山頂で  $1.6\pm 0.8$  と有意に変化しなかった( $P>0.05$ ) のに対し、ALA 群では 1.6

±0.8 から 1.3±0.4 と有意に低下した ( $P=0.009$ )。すなわち ALA 群では、登山中の滴定酸排泄量の増加と滴定塩基排泄量の減少が抑制されたことを意味する。

以上の結果から、ALA 摂取により富士登山時での酸化ストレス指標の増加が抑制される可能性が示唆された。しかしながら、この ALA の効果は、急性高山病発症リスクとは関係していなかった。同時に酸化ストレスの増加そのものが、急性高山病の発症リスクと関係しているという可能性は示唆された。また、登山開始 1 週間前からの ALA 摂取は富士登山時の有酸素的運動能を改善し、乳酸産生を抑制することが示唆された。

## I-5 引用文献

- [1] Roach RC, Hackett PH, Oelz O, Bärtsch P, Luks AM, MacInnis MJ, Baillie JK; Lake Louise AMS Score Consensus Committee. (2018) The 2018 Lake Louise Acute Mountain Sickness Score. *High Alt Med Biol*, 19(1): 4-6.
- [2] Horiuchi M, Endo J, Akatsuka S, Uno T, Jones TE. (2016) Prevalence of acute mountain sickness on Mount Fuji: A pilot study. *J Travel Med*, 23(4): taw024. doi: 10.1093/jtm/taw024.
- [3] Horiuchi M, Uno T, Endo J, Handa Y, Hasegawa T. (2018) Impact of sleeping altitude on symptoms of acute mountain sickness on Mt. Fuji. *High Alt Med Biol*, 19(2): 193-200.
- [4] Nespoulet H, Wuyam B, Tamisier R, Saunier C, Monneret D, Remy J, Chabre O, Pepin JL, and Levy P. (2012) Altitude illness is related to low hypoxic chemoresponse and low oxygenation during sleep. *Eur Resp J*, 40: 673–680.
- [5] Castellani JW, Muza SR, Chevront SN, Sils IV, Fulco CS, Kenefick RW, Beidleman BA, Sawka MN. (2010) Effect of hypohydration and altitude exposure on aerobic exercise performance and acute mountain sickness. *J Appl Physiol*, 109(6): 1792-800.
- [6] Horiuchi M, Endo J, Kondo K, Uno T, Morikawa M, Nose H. (2017) Impact of carbohydrate-electrolyte beverage ingestion on heart rate response while climbing mountain Fuji at ~3000 m. *Biomed Res Int*, 2017:3919826. doi: 10.1155/2017/3919826.
- [7] Strapazon G, Malacrida S, Vezzoli A, Cappello TD, Falla M, Lochner P, Moretti S, Procter E, Brugger H, Mrakic-Sposta S. (2016) Oxidative stress response to acute hypobaric hypoxia and its association with indirect measurement of increased intracranial pressure: a field study. *Sci Rep*, 6:32426. doi: 10.1038/srep32426.
- [8] Furuuchi R, Shimizu I, Yoshida Y, Hayashi Y, Ikegami R, Suda M, Katsuumi G, Wakasugi T, Nakao M, Minamino T. (2018) Boysenberry polyphenol inhibits endothelial dysfunction and improves vascular health. *PLoS One*, 13(8):e0202051. doi: 10.1371/journal.pone.0202051.

## I-6 研究成果の発表

### I-6-1 誌上発表

- 1) Horiuchi M., Fukuoka Y., Koyama K., Oliver SJ. (2023) Five days of tart cherry supplementation improves exercise performance in normobaric hypoxia. *Nutrients*, 15(2):388. doi: 10.3390/nu15020388.

### I-6-2 口頭発表

- 1) 近藤大樹, 堀内雅弘, 森川真悠子, 能勢博, 増木静江 (2022) 5-アミノレブリン酸 (ALA) の摂取が富士登山時の尿中  $\text{HCO}_3^-$  に及ぼす影響. 第77回日本体力医学会 (オンライン)

## I-7 謝辞

本研究の遂行に当たり、両実験に自主的に参加して下さった皆様に深謝致します。また、研究部環境共生科の渡邊未智助手、瀧口千恵子助手には、実験の手伝いをしていただいた。記して感謝いたします。





# 本 編

## II 研究成果報告

### II-1 タルトチェリー摂取が低酸素環境下での運動パフォーマンスに及ぼす影響

#### II-1-1 研究背景と目的

富士山のような高所（低酸素）環境では、代表的な DNA 損傷マーカーである尿中 8-OHdG を始めとした酸化ストレス指標の増加が報告されている[1-3]。酸化ストレス指標の増加は、運動パフォーマンスの低下や高所でみられることのある肺高血圧症や急性高山病と関係していることが報告されている[4,5]。

この点で抗酸化能を有するタルトチェリーは常酸素環境ではあるが、運動パフォーマンスを改善させる可能性があることが報告されている[6]。以上の背景から、本実験では短期間のタルトチェリーの摂取が、低酸素環境下での運動パフォーマンスを改善させるという仮説を検証することを目的とする。

#### II-1-2 方法

**被験者**：15名の成人男女（男性11名、女性4名）が被験者として参加した。被験者の除外基準は、心臓血管疾患の既往歴がなく、現在薬を服用しておらず、週120分以上の運動を行っていない被験者とした[7]。本実験は、山梨県富士山科学研究所のヒトを対象とした研究倫理委員会の承認を受けて行われた。

**実験手順**：図1-1に実験デザインを示した。実験は、富士山科学研究所内の人工気象室（室温24℃、相対湿度50%）にて、自転車エルゴメーターを用いて、二重盲検法により2つの実験を行った。被験者は (i) 偽薬（小麦粉入りのカプセル）、または (ii) タルトチェリー（タルトチェリータブレットをすりつぶし、その粉末を入れたカプセル）のいずれかをランダムに割り当て5日間服用させた。低酸素ガス発生装置を用いて、両条件とも吸入酸素濃度を13%（標高約3800m相当）に設定した。両実験の間は、約10日間のウォッシュアウト期間（プラセボとタルトチェリーの相互作用による影響を取り除くために必要な期間）を設けた[6]。15分間の安静後、図1-1に示すように多段階漸増運動負荷による自転車漕ぎ運動1分間に60回転のペダル回転数で疲労困憊まで行った。疲労困憊の要件は、先行研究に基づき、1) 負荷漸増にも関わらず酸素摂取量の増加が認められない、2) 年齢から推定される最高心拍数の90%以上に到達する、3) ボルグスケールによる主観的作業強度が19以上（疲労困憊時は20）を示す、以上の3条件のうち、少なくとも1条件を満たし、かつ験者の懸命な激励にも関わらずペダル回転数が50回転を下回った時点疲労困憊とした[8]。

**サプリメント**：タルトチェリーは1日に1200mg（アントシアニン200mg含有）をカプセルで朝食、および夕食時に摂取した。プラセボ条件では、同数のカプセル（小麦粉のみ）を摂取した。5日目、すなわち実験当日の朝は、600mgのタルトチェリー、またはプラセボを摂取した。一般的な小麦粉には4-6 Trolox 当量/gの抗酸化物質が含まれているが、先行研究[9]ではプラセボとして小麦粉を服用しても、抗酸化マーカーには何の変化ももたらさなかったことから、本実験でも小麦粉をプラセボとして使用した。

**測定項目**：呼気ガス諸変量（酸素摂取量、二酸化炭素排出量、および換気量）は自動呼気ガス分析機により10秒毎に測定した。心拍数は心拍計により、経皮動脈血酸素飽和度（SpO<sub>2</sub>）はパルスオキシメータにより、同様に10秒毎に測定した。自転車漕ぎ運動時の主たる活動筋である大腿部の外側広筋の筋内酸素飽和度（StO<sub>2</sub>）を近赤外線分光法により10秒毎に測定した。実験開始前、疲労困憊後1時間目、

および5時間目に尿サンプルを採取し、尿量、および時間を正確に記録した。その後、酸化ストレス指標である尿中8-OHdGの測定を分析会社に委託し、体重1kg当たり、1時間当たりの尿中生成速度(ng/kg/h)を算出した。

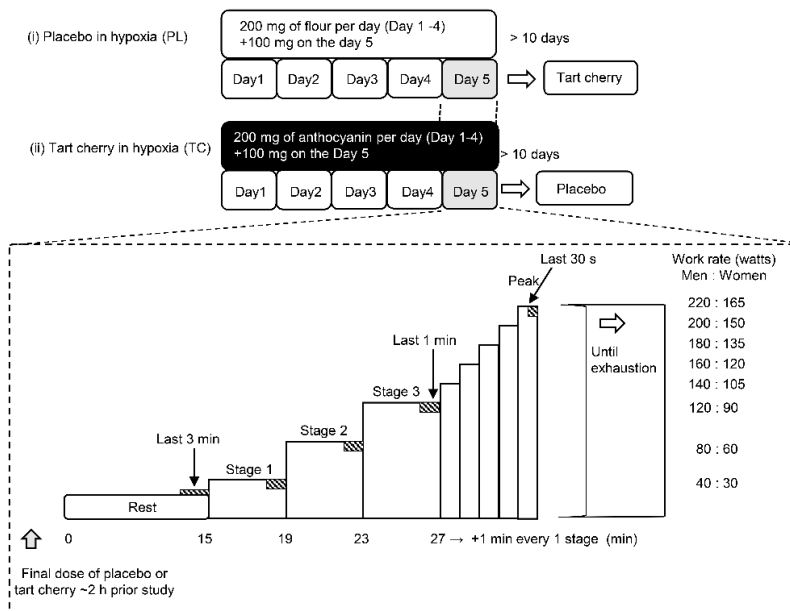


図1-1 実験デザイン：PLはプラセボ、TCはタルトチェリー条件を示す。各ステージ（Stage1～Stage3）とも4分間の自転車漕ぎ運動を行い、最後の1分間のデータを分析対象とした。その後、1分毎に男性20ワット、女性15ワットずつ負荷を漸増し、疲労困憊まで運動を行った。最終段階の分析対象時間は30秒であった。

**統計方法：**全ての結果は平均値±標準偏差で示した。運動パフォーマンスの指標である疲労困憊に至る時間は、対応のあるt検定により、その他の指標は繰り返しのある二元配置（サプリメント×時間）の分散分析により統計処理を行い、有意水準は5%未満とした。

### II-1-3 結果および考察

全被験者15名のうち、2名は実験中の激しい頭痛と吐き気により実験を完遂することができなかったため、13名を分析対象とした。2名のリタイアした時点での実験条件はプラセボ条件（1名）とタルトチェリー条件（1名）であった。完遂した13名（男性10名、女性3名）の平均年齢は、21±1才であり、平均体格指数（Body Mass Index）は22.1±2.7 kg/m<sup>2</sup>であった。

両条件による運動パフォーマンス（疲労困憊に至るまでの時間）の結果を図1-2に示した。その結果、タルトチェリー摂取条件により運動パフォーマンス（940±84秒）は、プラセボ条件（912±63秒）に比べ、有意に延長した。

常酸素環境下ではあるが、先行研究においても、タルトチェリー摂取により運動パフォーマンスが、有意に延長することが報告されている[1]。先行研究での効果量（d=0.78）と本実験の効果量（d=0.80）はほぼ同様な値であったことから、タルトチェリーによる運動パフォーマンスの改善は低酸素環境においても認められることが実証されたといえる。

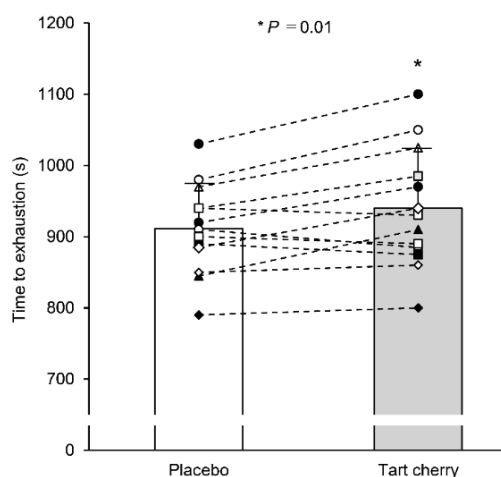


図1-2 両条件における運動パフォーマンス（疲労困憊に至るまでの運動時間）の比較棒グラフは平均値±標準偏差を示し、点線付きの各プロットは個人値を示す。

表 1-1 に各ステージ (Stage1~Stage3)、および Peak 時の SpO<sub>2</sub>を示した。その結果、サプリメント、および時間の主効果が有意であった。その他の呼気ガス諸変量、および心拍数については、有意な時間の主効果のみ認められ (全て  $P<0.05$ )、サプリメントの主効果と交互作用は全て有意でなかった (全て  $P>0.05$ )。

表 1-1 各ステージ (Stage1~Stage3)、および疲労困憊時 (Peak) の両条件における動脈血酸素飽和度 (SpO<sub>2</sub>) の比較

	プラセボ	タルトチェリー	二元配置分散分析結果			
			サプリメント	時間	交互作用	
SpO <sub>2</sub> (%)						
Rest	86.6 ± 1.8	87.1 ± 1.9	F	18.53	40.10	1.75
Stage 1	82.5 ± 3.1	83.3 ± 3.3	P	0.001	< 0.001	0.15
Stage 2	80.8 ± 3.0	81.6 ± 3.9	η <sup>2</sup>	0.009	0.482	0.002
Stage 3	78.2 ± 3.8	79.9 ± 4.6				
Peak	75.8 ± 5.0	76.8 ± 5.7				

値は平均値±標準偏差 η<sup>2</sup>は効果量を示す

近赤外線分光法により得られた筋内酸素飽和度 (StO<sub>2</sub>) の結果について、典型的な 1 名の被験者 (A)、および各ステージの平均値 (B) を図 1-3 に示した。その結果、有意なサプリメント ( $P=0.04$ ) と時間 ( $P<0.001$ ) の主効果が認められ、交互作用は有意傾向 ( $P=0.09$ ) であった。すなわち、運動中の StO<sub>2</sub> はタルトチェリー群の値がプラセボ群の値より高値を示した。タルトチェリー摂取による身体全体 (SpO<sub>2</sub>)、および局所 (StO<sub>2</sub>) での高い酸素飽和度は、タルトチェリーが持つ血管拡張能に起因している可能性がある。先行研究では、タルトチェリー摂取により血管拡張物質である一酸化窒素 (NO) の分泌を介した血管拡張能が促進されることが報告されている[10]。同様に抗酸化物質そのものが、NO 依存[11,12]の血管内皮機能の拡張能を改善することも報告されている[11]。このようなメカニズムを介して、タルトチェリー摂取条件では血管拡張能が増加し、全身、および局所の酸素飽和度が高値を示し、その結果、低酸素環境における運動パフォーマンスの改善につながった可能性が示唆された。

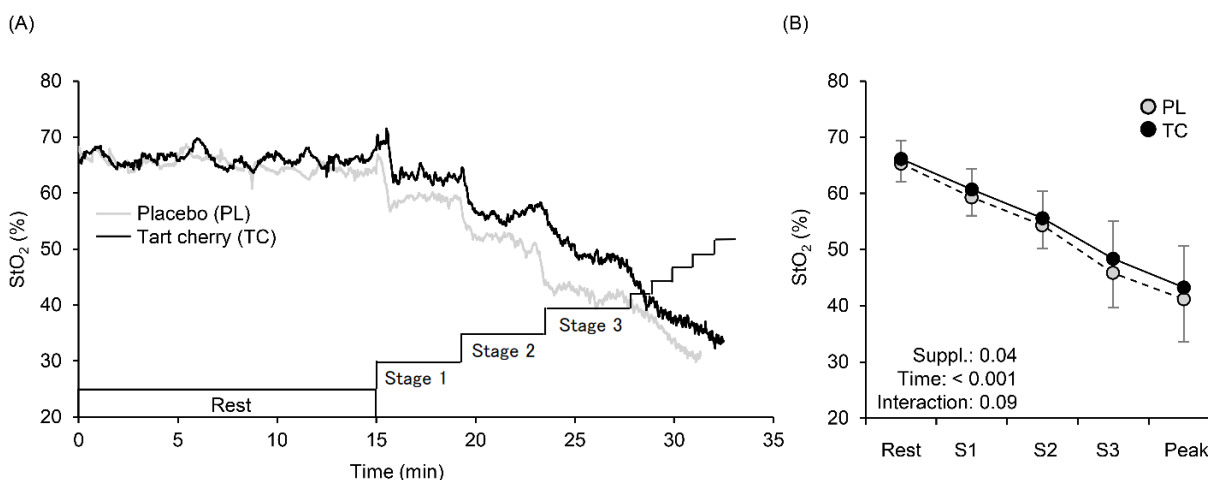


図 1-3 安静 (Rest)、各ステージ (Stage 1~Stage 3)、および疲労困憊時 (Peak) における活動筋である外側広筋の酸素飽和度 (StO<sub>2</sub>) について、典型的な被験者 1 名 (A)、および平均値±標準偏差 (B) をそれぞれ示す PL はプラセボ、TC はタルトチェリー条件を示す

図 1-4 に尿中 8-OHdG の生成速度を両条件、および時間別に示した (A)。さらに、実験開始前からの変化率も示した (B)。その結果、有意な時間の主効果 ( $P < 0.001$ ) と交互作用 ( $P = 0.01$ ) が認められた。すなわち、両条件とも尿中 8-OHdG の生成速度は有意に増加した (図 4A の\*マーク)。さらに、実験開始前からの変化率を計算した結果、運動終了後 1 時間時点でのタルトチェリー条件 (TC) の増加率は、プラセボ条件 (PL) のそれより抑制される傾向にあった ( $P = 0.07$ )。本実験結果で見られたタルトチェリー摂取による尿中 8-OHdG 生成速度の増加率抑制 (160%対 65%) については、次のような解釈が考えられる。先行研究では、本実験とは異なる酸化ストレス指標ではあるが、タルトチェリーの摂取により脂質の酸化ストレスマーカーの増加抑制や、全抗酸化能の改善が報告されており[13,14]、本実験結果もこれらの研究と矛盾がないといえる。この想定されるメカニズムとしては、やはり血管拡張物質である NO の影響が考えられる。最近の研究では、抗酸化能を持つポリフェノールを豊富に含んだ黒大豆の摂取により、動脈硬化指標の改善や、 $\text{NO}_2$  や  $\text{NO}_3$  の増加、尿中 8-OHdG の減少が報告されている [15,16]。

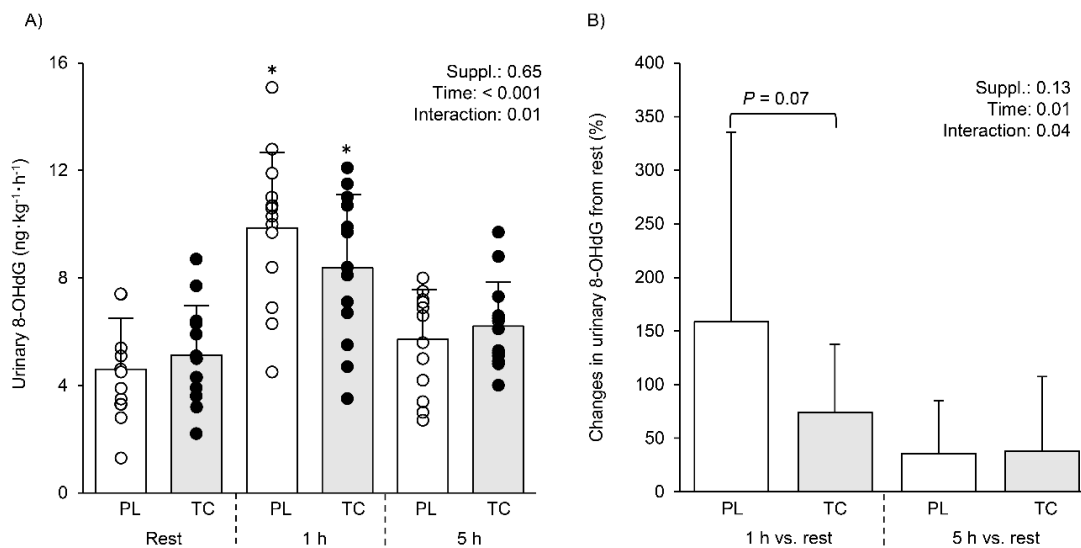


図 1-4 両条件における尿中 8-OHdG の生成速度と変化率の比較  
値は平均値±標準偏差を、\*は各条件内における安静 (Rest) との有意差を示す

以上の結果から、短期間のタルトチェリーの服用は、低酸素環境下での運動パフォーマンスの向上 (疲労困憊に至る時間の延長) をもたらすことが明らかになった。低酸素環境下での運動パフォーマンス低下は、活動筋への酸素供給の不足や[6]、酸化ストレス指標の増加が関係している[4,5]ことが推測されている。本実験においても、抗酸化物質を豊富に含んだタルトチェリーの摂取により、血管拡張作用が起き、活動筋の酸素飽和度を高いレベルで維持できたことや、酸化ストレス指標の一つである DNA 損傷マーカーの生成速度が抑制され、その結果、運動パフォーマンス向上につながった可能性がある。

なお本項目の詳細については、

Horiuchi M, Fukuoka Y, Koyama K, Oliver SJ. (2023)

“Five-days Tart Cherry Supplementaion Improved Exercise Performance in Normobaric Hypoxia”

*Nutrients*, doi: 10.3390/nu15020388

で原著論文として発表したのて詳細はそちらを参照されたい。

#### II-1-4 引用文献

- [1] Lundby C, Pilegaard H, van Hall G, Sander M, Calbet J, Loft S, Moller, P. (2003) Oxidative DNA damage and repair in skeletal muscle of humans exposed to high-altitude hypoxia. *Toxicology*, 192: 229–236.
- [2] Moller P, Loft S, Lundby C, Olsen, NV. (2001) Acute hypoxia and hypoxic exercise induce DNA strand breaks and oxidative DNA damage in humans. *FASEB J*, 15: 1181–1186.
- [3] Schmidt MC, Askew EW, Roberts, DE, Prior RL, Ensign WY, Hesslink RE. (2002) Oxidative stress in humans training in a cold, moderate altitude environment and their response to a phytochemical antioxidant supplement. *Wilderness Environ. Med*, 13: 94–105.
- [4] Bailey DM, Taudorf S, Berg RM, Lundby C, McEneny J, Young IS, Evans KA, James PE, Shore A, Hullin DA, McCord JM, Pedersen BK, Möller K. (2009) Increased cerebral output of free radicals during hypoxia: implications for acute mountain sickness? *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 297(5): R1283-92.
- [5] Bailey DM, Dehnert C, Luks AM, Menold E, Castell C, Schendler G, Faoro V, Gutowski M, Evans KA, Taudorf S, James PE, McEneny J, Young IS, Swenson ER, Mairbäurl H, Bärtsch P, Berger MM. (2010) High-altitude pulmonary hypertension is associated with a free radical-mediated reduction in pulmonary nitric oxide bioavailability. *J Physiol*, 588: 4837-47.
- [6] Morgan PT, Barton MJ, Bowtell JL. (2019) Montmorency cherry supplementation improves 15-km cycling time-trial performance. *Eur J Appl Physiol*, 119: 675–684.
- [7] Horiuchi M, Stoner L. (2022) Macrovascular and microvascular responses to prolonged sitting with and without bodyweight exercise interruptions: A randomized cross-over trial. *Vasc Med*, 27: 127–135.
- [8] Dobashi S, Horiuchi M, Endo J, Kiuchi M, Koyama K. (2016) Cognitive function and cerebral oxygenation during prolonged exercise under hypoxia in healthy young males. *High Alt Med Biol*, 17: 214–221.
- [9] Levers K, Dalton R, Galvan E, Goodenough C, O'Connor A, Simbo S, Barringer N, Mertens-Talcott SU, Rasmussen C, Greenwood M, Riechman S, Crouse S, Kreider RB. (2015). Effects of powdered Montmorency tart cherry supplementation on an acute bout of intense lower body strength exercise in resistance trained males *J Int Soc Sports Nutr*; 12:41. doi: 10.1186/s12970-015-0102-y.
- [10] Keane KM, George TW, Constantinou CL, Brown MA, Clifford T, Howatson G. (2016) Effects of montmorency tart cherry (*prunus cerasus* L.) consumption on vascular function in men with early hypertension. *Am J Clin Nutr*, 103:1531–1539.
- [11] Trinity JD, Wray DW, Witman MA, Layec G, Barrett-O'Keefe Z, Ives SJ, Conklin JD, Reese V, Zhao J, Richardson RS. (2016) Ascorbic acid improves brachial artery vasodilation during progressive handgrip exercise in the elderly through a nitric oxide-mediated mechanism. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*,

310:H765–H774.

- [12] Wray DW, Nishiyama SK, Harris RA, Zhao J, McDaniel J, Fjeldstad AS, Witman MA, Ives SJ, Barrett-O'Keefe Z, Richardson RS. (2012) Acute reversal of endothelial dysfunction in the elderly after antioxidant consumption. *Hypertension*, 59:818–824.
- [13] Howatson G, McHugh MP, Hill JA, Brouner J, Jewell AP, van Someren KA, Shave RE, Howatson SA. (2010) Influence of tart cherry juice on indices of recovery following marathon running. *Scand J Med Sci Sport*, 20:843–852.
- [14] Bell PG, Walshe IH, Davison GW, Stevenson E, Howatson G. (2014) Montmorency cherries reduce the oxidative stress and inflammatory responses to repeated days high-intensity stochastic cycling. *Nutrients*, 6:829–843.
- [15] Yamashita Y, Wang L, Nakamura A, Nanba F, Saito S, Toda T, Nakagawa J, Ashida H. (2020) Black soybean improves the vascular function through an increase in nitric oxide and a decrease in oxidative stress in healthy women. *Arch Biochem Biophys*, 688:108408. doi: 10.1016/j.abb.2020.108408.
- [16] Yamashita Y, Nakamura A, Nanba F, Saito S, Toda T, Nakagawa J, Ashida H. (2020) Black soybean improves vascular function and blood pressure: a randomized, placebo controlled, crossover trial in humans. *Nutrients*. 2020;12:2755. doi: 10.3390/nu12092755.

## II-2 5-アミノレブリン酸の摂取が富士登山時の酸化ストレス指標と急性高山病症状に及ぼす影響

### II-2-1 研究背景と目的

富士山のような高所では、急性高山病症状を始めとした生体にとって必ずしも望ましくない反応が見られる。例えば、酸化ストレス指標の増加、および抗酸化指標の低下は高所における望ましくない生体応答の一つであるが、これまであまり注目されてこなかった[1]。低酸素環境での酸化ストレスの増加は、肺高血圧や高山病発症リスクの増加とも関係する[2,3]。したがって、抗酸化能の改善は、急性高山病を防ぐ一つの戦略となる可能性がある。

そもそもわが国では、近年登山人口は増加傾向にあるが、その遭難事故も増加している。2022年に警視庁が発表した最近10年間の山岳遭難の概況によると、全国の年間の山岳遭難件数は~2,500件、遭難者数は~3,000人、負傷者は~1,100人、死者・行方不明数は~300人である[4]。これらの原因は、滑落・転倒・病気・疲労など個人の体力に一部起因すると考えられる事例が全体の~50%を占める。すなわち、彼らの体力が目標とした山を登山するのにもともと無理があり、それに山岳環境特有の低酸素条件や急激な天候の変化など外的要因が加わって発生したと考えられる。このような現状を鑑みた場合、もし登山者が登山前の一定期間摂取することで、彼らの体力維持・改善に効果のある栄養補助食品が開発されれば、これらの山岳遭難事故の防止に役立つかもしれない。

アミノ酸の一種である5-アミノレブリン酸(5-aminolevulinic acid, ALA)は、ヘモグロビンを構成している物質の一つであるヘムのもととなる物質であり、抗酸化作用を持つことが報告されている[5]。またALAは、ミトコンドリアの電子伝達系の複合体IVの成分で、好氣的代謝を維持するうえで重要な化学成分である[6]。実際、中高年女性を対象にした研究では、7日間のALA摂取により運動時の好氣的代謝能が改善される可能性も報告されている[7]。富士登山等の現場への実装を考慮すると、ALA摂取により、富士登山時の酸化ストレスマーカーの増加が抑制され、急性高山病症状の軽減をもたらし、好氣的運動能を改善するのであれば、ALAは富士登山時に推奨される摂取物質となりえる。

以上の背景を踏まえ、本実験は以下の3つの仮説をフィールド実験において検証する。

偽薬(プラセボ)摂取群と比較して、ALA摂取群は・・・

- 1) 富士登山時の尿中酸化ストレス指標の増加を抑制する。
- 2) 急性高山病発症リスクを軽減する。
- 3) 好氣的代謝を改善し、嫌氣的代謝の促進を抑制する。

**\* 好氣的代謝と嫌氣的代謝の違い:** 運動時に必要なエネルギーであるATPは、糖質を分解して作る過程で、その反応に酸素を必要としない嫌氣的解糖系と酸素を必要とする好氣的解糖系のどちらか、または双方によって生成される。好氣的代謝は酸素を使って、嫌氣的代謝の分解産物に残っているエネルギーをゆっくりと時間をかけて取り出す代謝であり、効率が良く、多くのエネルギーが取り出される。一方、嫌氣的代謝は、酸素を消費しないエネルギー代謝のことであり、細胞への酸素供給が需要より少ない場合に起こるため、この代謝が促進されることは、運動耐用能の低下を意味する。



## II-2-2 方法

**対象者:**健康な成人男女 35 名であり、対象者を性別、年齢、および事前に測定した最大酸素摂取量に基づき、プラセボ群と ALA 群の 2 群に分けた。両群の身体特性を表 2-1 に示す。いずれの項目においても群間に有意差は認められなかった。

表 2-1 両群の身体特性、および最大酸素摂取量 ( $\dot{V}O_{2max}$ )

	プラセボ群 (18名; 男 13名、女 5名)		5-アミノレブリン酸 (ALA) 群 (17名; 男 13名、女 4名)	
年齢、才	35	± 14	36	± 16
身長、cm	168	± 8	170	± 8
体重、kg	59.8	± 8.9	62.3	± 9.1
$\dot{V}O_{2max}$ 、mL/kg/min	42.1	± 7.6	41.8	± 7.4

値は平均値±標準偏差

**富士登山実験:**登山実施日 7 日前から登山開始日の早朝までそれぞれの群に、プラセボまたは ALA を摂取させた。登山前日の夜は山梨県側の 5 合目登山口の宿泊施設に宿泊し、夕食は験者が設定したメニューを摂取させた。その後、翌日の登山時に携帯する携帯型カロリー計、携帯型心拍計、経皮動脈血酸素飽和度測定器、目盛付き遮光性採尿用ポリボトル(500mL を 1 本、および 50mL を 2 本)、血糖値測定キット、血中乳酸濃度測定キットを配布し、それぞれの使用方法について説明した。さらに、翌日の朝食、昼食、間食 (合計 1720kcal)、飲水用ペットボトル (500mL×4 本) を配布し、その摂取方法についても説明した。その後 20:00 に各自排尿後、就寝した。被験者は、登山当日 3:00 起床後、排便・排尿を行ったが、その際、尿については採尿用ポリボトルに採取し、全尿量を測定した後、その 50mL を採尿用ポリボトルに採取し、験者が用意した共用の保冷貯蔵箱に提出した。そして、血糖値・血中乳酸濃度測定を行った後、体重測定を行ったが、その際、登山用荷物+登山靴の「あり」、「なし」の二通りで測定した。荷物は、防寒具なども入れ約 5 kg であった。採尿、採血、体重測定時間と、尿量、血糖値・血中乳酸濃度、体重は、それぞれ験者の用意した所定の用紙に記録した。

朝食を摂取した後、宿泊施設の玄関口に集合し、4:30 に登山口から各自の自由なペースで登山を開始したが、6 合目(2390 m)、7 合目(2700 m)、8 合目 (3270 m)、本 8 合目(3370 m)、9 合目 (3600 m)、および 10 合目(頂上)(3710 m)の各地点に到達したタイミングで心拍数(HR)、経皮動脈血酸素飽和度(SpO<sub>2</sub>)を測定し、7 合目、および本 8 合目で血糖値を測定した。本 8 合目の測定後に事前に配布した行動食をすべて摂取するように指示した。飲水のタイミングは、各自の自由に任せたが、頂上到達までに事前配布した 1L をすべて摂取するように指示した。山頂に到達後、10 分間の安静時間において血糖値・血中乳酸濃度を測定した。その後排尿を行い、登山前同様に全尿量を測定し、50mL を採尿用ポリボトルに採取した。引き続き、体重測定を行った。さらに、採尿、血糖値・血中乳酸濃度測定、体重測定のそれぞれの時刻と、尿量、血糖値・血中乳酸濃度、体重 (二通り) のそれぞれの値を各自記録した。

急性高山病スコアはレイクルイーズの質問紙 (表 2-2) に基づき、4 つの下位尺度 (頭痛、胃腸症状、疲労・脱力、およびめまい・ふらつき) について、それぞれ、まったく無い (0 点)、軽度 (1 点)、中等度 (2 点)、および重度 (3 点) の 4 件法にて各被験者の得点を算出した (0~12 点)。先行研究に基づき、頭痛があり、合計得点が 3 点以上の者を急性高山病発症者と判定した[8]。この時点で実験終了とし、そ

の後、各自昼食を摂取してから、その日のうちに登山口の5合目に向けて下山した。

実験終了後、携帯型カロリー計、携帯型心拍計、末梢動脈血酸素飽和度測定装置を回収し、後日、解析を行った。各自に提出してもらった採尿用ポリボトル（50mL）は、冷凍庫（-80℃）に保管し、後日、尿中滴定塩基・酸量を滴定法により測定した。また、それ以外の尿成分分析については（株）SRLに外注し、電解質濃度は電極法で、浸透圧は凝固点降下法で測定した。

**食事および携帯食**：表 2-3 に、2021 年、2022 年それぞれについて、登山前日の夕食メニュー、登山当日の朝食および間食のメニューと、それぞれの栄養成分を示す。

表 2-2 レイクルイーズの急性高山病質問紙

主訴	得点	状態
頭痛	0	まったく無い
	1	軽度
	2	中程度
	3	激しい頭痛
胃腸症状	0	食欲良好
	1	食欲がない、吐き気がある
	2	かなり吐き気がある、嘔吐
	3	絶えられないほどの吐き気と嘔吐
疲労 脱力	0	まったく無い
	1	少し感じる
	2	かなり感じる
	3	耐えられないほど感じる
めまい ふらつき	0	まったく無い
	1	少し感じる
	2	かなり感じる
	3	耐えられないほど感じる

表 2-3 各年における登山前日の夕食メニュー、登山当日の朝食および間食のメニュー

2021 年	夕食	朝食	間食
【栄養成分】	山菜うどん（1杯） ソフトクリーム（1個）	つぶあんぱん（1個） ツナマヨおにぎり（1個）	カロリーメイト（1箱）
エネルギー、kcal	470.0	382.0	400.0
糖質、g	46.9	54.3	39.7
タンパク質、g	7.5	9.7	8.7
脂質、g	7.9	10.3	22.4
食塩、g	4.9	1.5	0.9
2022 年	夕食	朝食	間食
【栄養成分】	すきやき 天ぷら・ご飯（1杯）	梅おにぎり（1個） ランチパック・ピーナッツ（1個）	カロリーメイト（1箱）
エネルギー、kcal	810.0	353.0	400.0
糖質、g	98.9	60.2	41.4
タンパク質、g	32.3	15.0	8.2
脂質、g	26.2	8.7	22.2
食塩、g	4.1	2.9	0.8

**サプリメント:**表 2-4 にプラセボサプリメント、および ALA 成分を示す。サプリメントは見た目や味、匂い等で判別できないようにするため、白色のゼラチンカプセルに封入した。このサプリメントをそれぞれ被験者に、登山 7 日前から当日の朝まで、朝食後と夕食後に 1 錠ずつ（計 1 日 2 錠）摂取させた。

表 2-4 プラセボサプリメントおよび 5-アミノレブリン酸 (ALA) の成分

	プラセボサプリメント (1 錠 約 320mg あたり)	ALA サプリメント (1 錠 約 320mg あたり)
5-アミノレブリン酸リン酸塩、mg	0.00	50.00
クエン酸第一鉄ナトリウム、mg	0.00	57.36
スターチ、mg	240.00	240.00

### 測定項目

**最大酸素摂取量 ( $\dot{V}O_{2max}$ ):** 自転車エルゴメーターを用いて負荷漸増法により測定・評価した。被験者は、食事終了後、3 時間以上たってから、裸体体重測定後、気温 25°C、相対湿度 50%の信州大学の人工気候室内に入室した。服装は、男性については上体は裸、女性については下着と T シャツを着用し、下体は下着とショートパンツまたはジャージ、靴を着用した。座位型の自転車エルゴメーターに着席し、胸部 3 点に心電図電極を張り付けた後、呼気ガス分析用のマスクを装着し、安静時の測定を 5 分間行った後、自転車漕ぎ運動を開始した。自転車漕ぎ運動のペダル回転数は毎分 60 回転とした。

負荷漸増法は、最初の 3 分間は 0kp（負荷なし）、以後、3 分毎に、1kp（60 watts）、2kp（120watts）と負荷を増加し、3kp（180watts）以降は、2 分毎に 0.5kp（30 watts）ずつ負荷を漸増させ、疲労困憊まで運動を行った。疲労困憊の判断基準は、1) 負荷を上げててもペダルの回転数が、60 回転を維持できない、2) 心拍数が年齢から予想される最大心拍数（220-年齢）に達している、3) 呼吸商（二酸化炭素排出量 ÷ 酸素摂取量）が 1.1 以上である、の 3 条件を満たした時とした。

**末梢血糖値:** 血糖値測定キットを用いて測定した。具体的には、アルコール綿で消毒した指先端の皮膚を注射針で自己穿刺し、30 $\mu$ L 程度の血液を絞り出し、それをデバイスに装備した内径 0.5mm 程度のプラスチックチューブに付着させる。その結果、毛細管現象によって血液が吸い上げられ、測定器の画面に血糖値が表示される。

**末梢血中乳酸濃度 (Blood lactate concentration; Lac-):** 血乳酸濃度測定キットを用いて測定した。測定方法は、血糖値測定に準じる。

**登山中のエネルギー消費量 (Energy expenditure; EE):** 登山中のエネルギー消費量は、携帯型カロリー計を用いて連続測定し、1 分毎の値を記録した。同器は、3 軸の加速度計と高度計を内蔵し、前者によって運動エネルギーを、後者によって位置エネルギーの変化を測定する。登山時のエネルギー消費量（酸素消費量）を同器で測定した値と携帯型呼気ガス分析器で測定した値はよく一致することが報告されている[9]。

**登山中の心拍数 (Heart rate; HR):** 携帯型の心拍数測定装置を用いて測定した。被験者は、胸部に送信機が内蔵されているベルトを装着し、腕部に腕時計型の受信機内蔵の機器を装着した。測定は連続的にを行い、1 分毎の値を記録した。

**登山中の経皮動脈血酸素飽和度 (Peripheral arterial oxygen saturation; SpO<sub>2</sub>)** : パルスオキシメータを指先に装着して測定した。登山中の測定は連続的に行い 1 分毎の値を記録した。分析に用いたデータは、各合目の安静時の値を用いた。

**尿中酸化ストレスマーカー** : 尿サンプルの一部について、分析会社に委託し、尿中酸化ストレスの指標であり DNA 損傷マーカーである尿中 8-OHdG の生成速度を測定した。

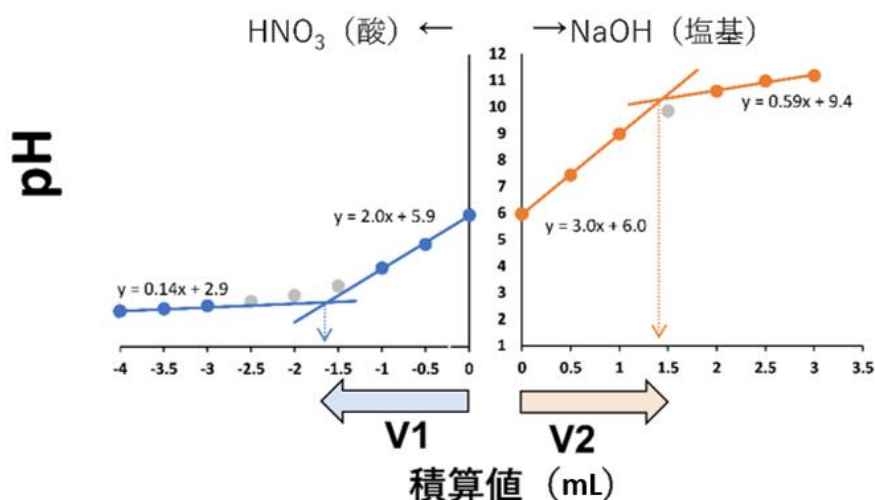
**尿滴定** : 冷凍で保管された採尿用ポリボトル (50 mL) の尿を、測定前日に冷蔵庫 (5°C) に移し、そこで解凍した。測定当日、気温 25°C の室内にて、解凍された尿を容器内でよく転倒混和し、そのうち 4mL をピペットで採取し、滴定用ビーカー (50 mL) に移し、36 mL の蒸留水を加え 10 倍希釈した。そのビーカーにスターラーロッドを入れ、攪拌機 (スターラー) の上に乗せて攪拌しながら、ガラス電極を溶液内に挿入固定した。次に、液体クロマトグラフィー (HPLC1100) 用の無拍動ポンプを使って、別途用意した 0.01N NaOH 溶液をビーカー内に 1 mL/min の速度で注入し、その際の pH の変化を 30 秒間隔で測定・記録した。同様のプロトコールで、被験者の同じ試料から希釈液を作成し、それに 0.01N HNO<sub>3</sub> 溶液を注入し、その際の pH の変化を測定・記録した。

### データ解析

**登山中の相対運動強度 (%EE)** : 各被験者の登山中のエネルギー消費量 (EE) を実験室で求めた最大酸素摂取量で割って、それに 100 を乗じて求めた。この際、携帯型カロリー計の値には安静時代謝が含まれていないため、最大酸素摂取量からも安静時酸素摂取量を差し引いた。各被験者において 20% $\dot{V}O_{2max}$  以下の EE を休息時、20% $\dot{V}O_{2max}$  以上の EE を登山中 (行動中) とした。

**尿中の滴定塩基・酸濃度と排泄量** : 図 2-1 に尿滴定時の pH 変化の典型例を示す。X 軸のプラス、マイナス方向に、それぞれ NaOH、HNO<sub>3</sub> の積算注入量を示す。図からわかるように塩基・酸注入前の pH の値はほぼ 6 である。その後、NaOH (HNO<sub>3</sub>) を注入すると注入量にしたがって、化学反応が右 (左) に進み、急激に pH が上昇 (低下) するが、図 2-1 の典型例では注入量が 1.4mL (1.7mL) 以上になると、その変化率が低下し定常値に至る。この pH の急激な変化を引き起こす酸・塩基注入量を尿中のそれぞれ滴定塩基・酸の量とした[10]。

具体的な尿中滴定塩基・酸量の決定方法は、HNO<sub>3</sub> または NaOH によるそれぞれ滴定終了時の 3 点で求めた回帰線と、注入開始時の 3 点の回帰線の 2 交点をもとめ、2 交点間の HNO<sub>3</sub> または NaOH それぞれの注入積算量合計で求めた。具体的な計算は、交点までの HNO<sub>3</sub> 注入量を V1 (mL)、NaOH 注入量を V2 (mL)、とすれば、それぞれ濃度が 0.01 mol/L (10mmol/L=10 $\mu$ mol/mL) なので、尿試料中の滴定塩基と酸の排泄量 ( $\mu$ mol) は、それぞれ V1 (mL) または V2 (mL)  $\times$  10  $\mu$ mol/mL  $\times$  10 (希釈倍率) となる。尿中滴定塩基または酸濃度 ([TB: titratable base]u、または[TA: titratable acid]u,  $\mu$ mol /mL =mmol/L) は、尿試料が 4mL なのでその値を 4 で割った。また、採集時間の尿排泄速度を Fu (mL/min/kg) 体重とすると、期間内の滴定塩基または酸の排泄速度 ([TB]u または[TA]u,  $\mu$ mol/min/kg 体重) は、それぞれ [TB]u、または[TA]u  $\times$  Fu となる。



**V1 (mL) × HNO<sub>3</sub>濃度 × 尿希釈倍率 / 尿試料**

**= 尿中滴定塩基濃度 [TB]u, μmol/mL**

**[TB]u × 尿流量**

**= 滴定塩基排出速度 [TB]u, μmol/min/kg**

**V2 (mL) より**

**= 尿中滴定酸濃度 [TA]u**

**= 滴定酸排出速度 [TA]u**

も同様の手順

図 2-1 尿滴定時の pH 変化の典型例と解析例

**統計方法**：急性高山病発症割合は、カイ二乗検定により行い、両群の身体特性の比較には、対応のない t 検定を用いた。両群で被験者が異なることから、本研究では、各群における HR、SpO<sub>2</sub>、EE、%EE、HR/EE の 5-6 合目、または 6-7 合目からの変化の検定には、繰り返しのある一元配置分散分析法を用いて行った。さらに、それぞれの測定値において群間差を検定する場合には、繰り返しのない二元配置（群×時間）の分散分析を用いた。同様に、5 合目と山頂における尿中 8-OHdG 生成速度、血中乳酸濃度、および尿中滴定酸と塩基の排泄速度の比（[TA]u / [TB]u）の差の検定については、繰り返しのある一元配置分散分析を各群について行い、それぞれの測定値において群間差の検定を行う場合には、繰り返しのない二元配置の分散分析を用いた。各群において 5-6 合目、または 6-7 合目と各高度の測定値の比較、および各高度における群間差を比較する際には、post-hoc 解析としてフィッシャーの最小有意差法を用いた。危険率 5%未満（P<0.05）を有意水準とした。

### II-2-3 結果

表 2-1 に示すように両群の身体特性、および有酸素性作業能力に有意差は認められなかった（全て P>0.05）。表 2-5 に示すように、プラセボ群と ALA 群の間に、急性高山病発症者の人数の偏りは認められなかった（χ<sup>2</sup>=0.05、自由度=1、P=0.72）。

表 2-5 両群における急性高山病発症の人数の偏り

	高山病なし	高山病あり
プラセボ群	11	7
ALA 群	12	5

図 2-2 に両群における尿中 8-OHdG の生成速度を登山前後別に示した。その結果、プラセボ群における山頂到達時の尿中 8-OHdG 生成速度は、5 合目のそれと比較して有意に増加した ( $P<0.05$ )。一方、ALA 群においては登山前後で有意な差は認められなかった ( $P>0.05$ )。図 2-3 に登山前後における尿中 8-OHdG の生成速度の変化率を、プラセボ群と ALA 群の区分を行わず、急性高山病発症群と発症なし群に区分して示した。その結果、高山病発症群の尿中 8-OHdG の生成速度の増加率は、高山病発症なし群のそれより大きい傾向にあった ( $P=0.09$ )。

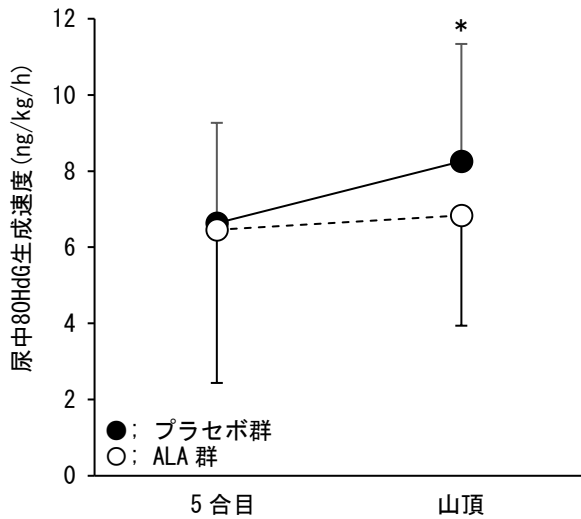


図 2-2 両群における尿中 8-OHdG 生成速度の比較  
\*はプラセボ群における 5 合目と山頂での有意差

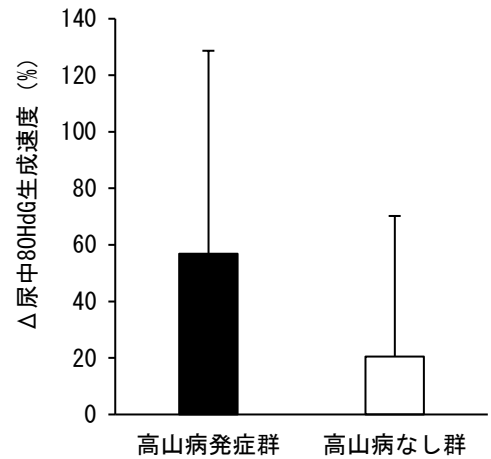


図 2-3 高山病発症・なし群における尿中 8-OHdG 生成速度の登山前後の変化率  
値は平均値±標準偏差

図 2-4 に、カロリー計で測定した登山中の 1 分毎のエネルギー消費量、および HR の典型例を示す。

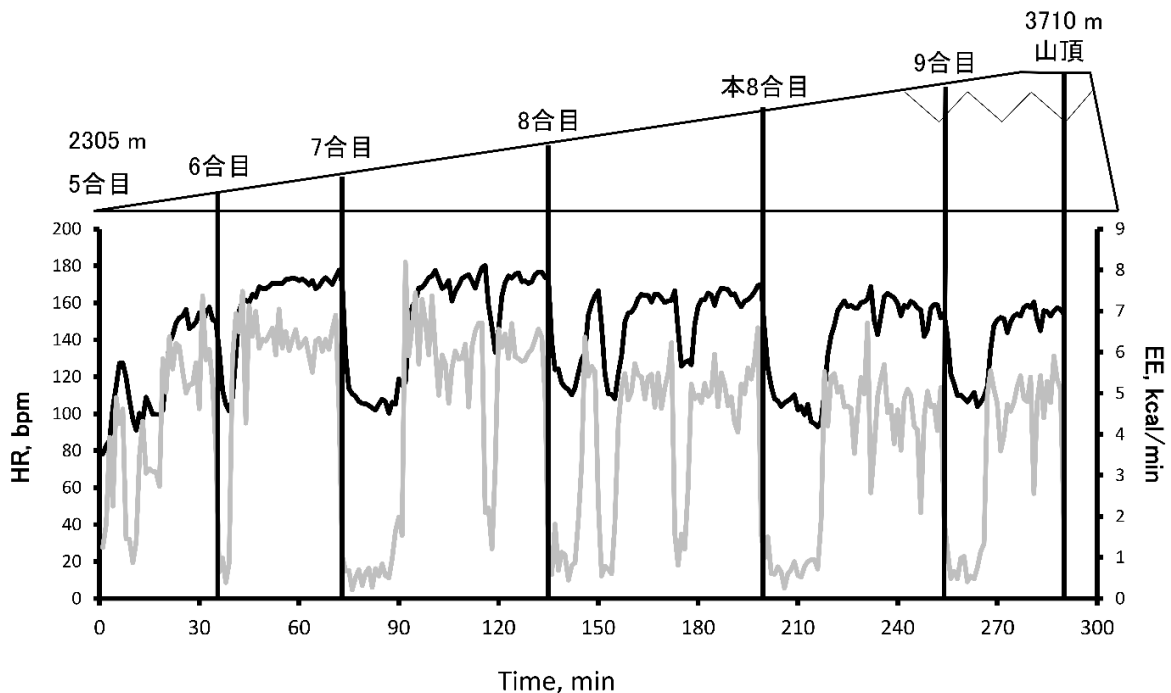


図 2-4 登山中の 1 分毎のエネルギー消費量 (EE ; グレー線)、および HR (黒線) の 1 名の典型例

図 2-5A に、登山行動時の EE、HR について、5-6 合目、6-7 合目、7-8 合目、8-本 8 合目、本 8-9 合目、および 9-10 合目（頂上）の連続測定した平均値を、図 2-5B にその値を用いて算出した相対運動強度、HR/EE を示した。SpO<sub>2</sub> については、各合目の安静時の値を示した（図 2-5A 上図）。なお、ALA 群の HR モニターの不調により、2 名の被験者の全データを測定できなかったため、登山中連続測定できた 15 名のデータを解析に用いた（図 2-5A 中図）。したがって HR/EE の ALA 群のデータも 15 名である（図 2-5B 上図）。

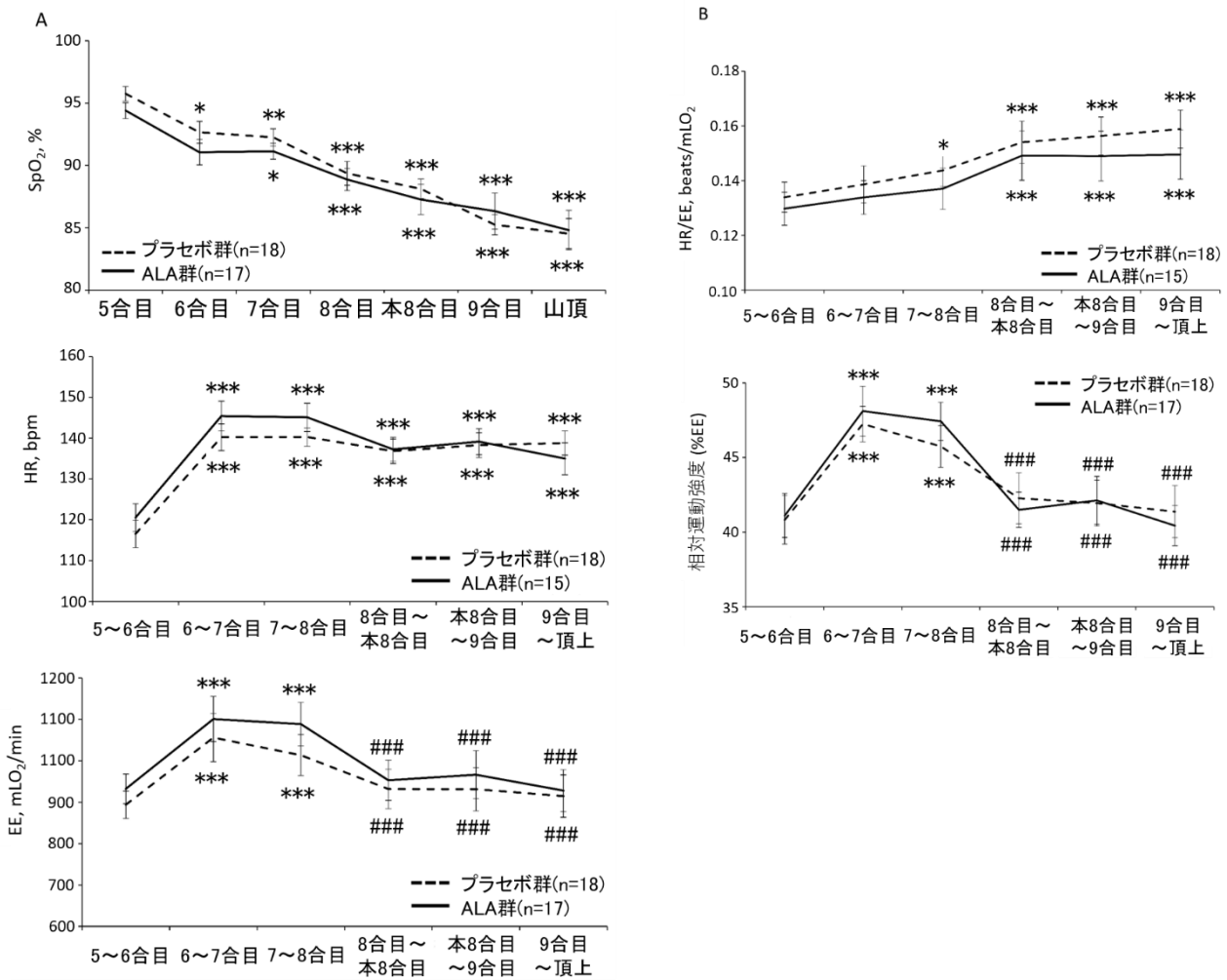


図 2-5A 両群における登山中の末梢動脈血酸素飽和度 (SpO<sub>2</sub>)、心拍数 (HR)、およびエネルギー消費量 (EE) の平均値±標準誤差

図 2-5B 両群における登山中の心拍数/エネルギー消費量 (HR/EE)、および相対運動強度の平均値±標準誤差  
なお、ALA 群の HR は 2 名が測定できなかったため、HR、および HR/EE については 15 名のみ示す

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ ; 5 合目との有意差を示す ###  $P < 0.001$  6-7 合目との有意差を示す

図 2-5AB に示すように、両群における登山中の EE、%EE は、5-6 合目と比較して 6-7 合目、および 7-8 合目にかけて有意に上昇したが (すべて  $P < 0.05$ )、それ以降、徐々に低下し、8-本 8 合目以降で 6-7 合目より有意に低下した (すべて  $P < 0.05$ )。一方、HR は、両群で、5-6 合目と比較して 6-7 合目にかけて有意に上昇し (両群とも  $P < 0.05$ )、その後も、山頂までそのレベルを維持した (対 5-6 合目、すべて  $P < 0.05$ )。両群における HR/EE は、7-8 合目までわずかに上昇し、プラセボ群においてのみ、5-6 合目と 7-8 合目との間に有意な差が認められた。その後は、わずかに上昇 (プラセボ群)、または

ほぼ一定の値を示した（ALA 群）が、8—本 8 合目以上の高度では、5—6 合目と比較して両群とも有意な差が認められた（すべて  $P<0.05$ ）。両群における  $SpO_2$  は、高度上昇に伴いほぼ直線的に低下し、5 合目時点での値は約 95%であったが、8 合目時点でのそれは約 90%、山頂でのそれは約 85%まで有意に低下した（すべて  $P<0.05$ ）。血糖値は、両群で、5 合目（朝食摂取前）から 7 合目で有意に上昇したが（両群、 $P<0.05$ ）、本 8 合目で低下し（対 7 合目、両群  $P<0.05$ ）、以降そのレベルを維持した。一方、両群間には、全ての時点で有意な差は認められなかった（すべて  $P>0.05$ ）。

表 2-6 に両群における 5 合目、および山頂到達後での血中乳酸濃度（[Lac-]）、および尿中滴定酸と塩基の排泄速度の比（[TA]u/[TB]u）を示した。プラセボ群の[Lac-]は、5 合目と比較して山頂到達後に有意に増加したが（ $P=0.01$ ）、ALA 群では有意な増加を認めなかった（ $P>0.05$ ）。また、尿の濃縮度や塩基と酸の総量の影響を除外するために算出した[TA]u/[TB]u はプラセボ群では、登山前後で変化しなかったのに対して（ $P>0.05$ ）、ALA 群では 5 合目から山頂到達時にかけて有意に低下した（ $P<0.05$ ）。

表 2-6 両群における血中乳酸濃度（[Lac-]）、および尿中滴定酸と塩基の排泄速度の比（[TA]u/[TB]u）

	プラセボ群		5-アミノレブリン酸群（ALA）	
	5 合目	山頂到達後	5 合目	山頂到達後
[Lac-]、mmol/L	2.8 ± 2.5	5.1 ± 3.8*	3.0 ± 1.6	4.2 ± 2.9
[TA]u/[TB]u	1.6 ± 1.3	1.6 ± 0.8	1.6 ± 0.8	1.3 ± 0.4**

値は平均値±標準偏差 \* [Lac-]における  $P<0.05$  対 5 合目、\*\* [TA]u/[TB]u における  $P<0.01$  対 5 合目

## II-2-4 考察

### 急性高山病症状

本実験において、ALA 摂取が急性高山病症状を軽減するという仮説は棄却された（表 2-5）。この結果を説明する要因としてサンプル数の少なさと、登山前日の睡眠状態が影響していたかもしれない。本実験では、前日宿泊のホテル標高は、約 2300 m と医学的にも高所（>1500 m）の域と言える。2018 年に改定されたレイクルイーズの急性高山病症状質問紙では、従来の質問紙から「睡眠状態」が削除されているが、これ以前の研究では、睡眠状態の悪化は、急性高山病症状と関連することが報告されている[11,12]。今後、より多いサンプル数でのデータ取得や、睡眠状態の測定・調査が必要といえる。

### 酸化ストレス指標

ALA 摂取により、酸化ストレス指標の一つである尿中 8-OHdG の生成速度増加は抑制された。血中に取り込まれた ALA の一部は、ヘムオキシゲナーゼ-1 によりヘムを經由してビリルビンを生み出すことにより、強力な抗酸化作用があることが報告されている[5]。また、両群一括してみた場合、高山病なし群の尿中 8-OHdG 生成速度の増加は高山病群あり群と比較して抑制される傾向にあった。この結果は、酸化ストレス指標は異なるものの、既往研究結果と同様な結果であり[2,3]、酸化ストレス指標の増加は、依然急性高山病発症リスクと関係している可能性は残されている。



### 登山中のEE とHR

両群におけるHR、EE、および%EEが5-6合目と比較して、6合目以上の高度では有意に上昇していた。この理由の一つは、地形的な違いと考えられる。すなわち、5-6合目の登山道は、それ以降に比べ、なだらかで、その分、高度を獲得するために低い運動強度で長い距離を歩いている。一方、6合目以降は、登山道の勾配がそれまでよりも急で、高い運動強度で短い距離を歩いている。このため、6合目以降、HR、EE、および%EEが急激に増加していたと推測できる。

一方、8合目以降では、EE、%EEが低下し、SpO<sub>2</sub>が90%以下に低下した。プラセボ群においては、8合目以降、HR/EEも緩やかに上昇し続けた。パルスオキシメータで測定されたSpO<sub>2</sub>は、動脈血の酸素飽和度を反映していると考えられる。教科書的に動脈血ヘモグロビン(Hb)の酸素解離曲線から、5合目、8合目、および10合目(山頂)の動脈血酸素分圧を算出すると、それぞれ80mmHg、60mmHg、および50mmHgとなる。また、肺胞内(動脈内)の酸素分圧と肺胞換気量の関係をみると80mmHg以上で10L/minで一定、60mmHgで12L/min、および50mmHgで15L/minと算出された[13]。すなわち、動脈血酸素分圧が80mmHgから60mmHg(8合目標高に相当)までは、動脈血酸素分圧が10mmHg低下すると換気量は1L増加するが、60mmHg以下では、動脈血酸素分圧が10mmHg低下すると換気量が3L増加する。この換気量の急増は、ヘモグロビン酸素解離曲線の傾きが急峻に低下(動脈血酸素分圧のわずかな低下に対して、Hb酸素飽和度が急低下する)することに対して、過換気により酸素飽和度を保とうとする生理応答である。このような高所での過換気はHRの増加をもたらすことが報告されている[14]。また、最大酸素摂取量は高度上昇とともに指数関数的に低下するため、高所では平地と同じ絶対強度で運動することが困難になる[15]。本研究で見られた8合目以上のEE、%EEの低下は、この高度、すなわち動脈血酸素飽和度が60mmHg以下の場合に、初めて顕在化していたと言える。逆説的に言えば、8合目より低い高度では、最大酸素摂取量が低下していても、平地と同様の運動強度で登山できる可能性を示唆している。さらに、過換気由来のHRの増加は、HR/EEの上昇をもたらしたと考えられた。

### 登山中の[Lac-]と[TA]u/[TB]u

運動時に利用される酸素は動脈血と筋細胞内のミトコンドリアの分圧差によって受動的に行われる。ここで、Hbの酸素解離曲線から判断すると、動脈血酸素分圧が60mmHg以上である8合目より低い標高では、Hb酸素飽和度は高いレベルに維持されている。一方、動脈血酸素分圧が60mmHg以下になると、わずかな動脈血酸素分圧の低下に対して、Hb酸素飽和度が急激に低下する[16]。このため、8合目以上では動脈血から筋細胞内のミトコンドリアへの酸素の供給が非常に不安定な状態となる。すなわち、8合目以上で動脈血酸素分圧が60mmHg以下になると、運動強度に応じた十分な酸素を供給できなくなる可能性がある。その結果、嫌氣的代謝によるATP産生が動員され乳酸が産生される。本実験では、両群のLac-は5合目と比較して、山頂到達時に増加していた。しかし、その増加率はプラセボ群のほうが大きく、プラセボ群では有意に増加したのに対して、ALA群の増加は有意ではなかった。すなわち、ALA摂取により富士登山のLac-増加が抑制されたといえる。5-アミノレブリン酸(ALA)は、生体内のミトコンドリア電子伝達系の複合体IV(チトクロームCオキシダーゼ)を構成するヘムの前駆体であり、ATP産生に重要な役割を担っている。マウスの実験においては、ALAを摂取することで鉄と結合しヘムタンパク質(鉄原子をヘム基の形で含む鉄タンパク質であり、酸素の運搬などを行う生物に必要不

可欠である)になり、電子伝達系が活性化(複合体 IV 酵素が活性化)し、ATP の産生が促進されていることが報告されている[17]。電子伝達系での ATP 産生の促進は、有酸素的に行われることから、この動物実験の結果[17]は、ALA 摂取による好氣的代謝能力の改善を示している。実際、ヒトを対象にした実験においても、7 日間の ALA 摂取により、最大下一定負荷運動時における二酸化炭素排出量、および毎分換気量が約 10%程度抑制され、乳酸産生量も最大運動強度で約 16%程度抑制されたことが報告されている[7,18,19]。好氣的代謝の改善は、解糖系エネルギー供給機構において、ピルビン酸から乳酸への分解を抑制することにつながる。生成された乳酸は、重炭酸緩衝系 ( $\text{H}^+$ [=乳酸から解離した水素イオン]+ $\text{HCO}_3^-$ [=重炭酸イオン] $\rightarrow\text{H}_2\text{O}+\text{CO}_2$ )により緩衝される。この時、 $\text{CO}_2$ を体外へ排出するために換気量も増大することになる。さらに、最大下一定負荷運動時の酸素摂取量の立ち上がりの速さを示す時定数も ALA 摂取により、有意に速くなった[7]。時定数は有酸素性作業能力(最大酸素摂取量)が高い人(好氣的代謝に優れている)ほど速いことも報告されている[20]。したがって、先行研究において確認された ALA 摂取による二酸化炭素排出量、換気量、乳酸産生量の低下[7,18,19]、および酸素摂取量の時定数の短縮[7]は、ALA 摂取により好氣的代謝能力が改善したことを示唆している。

以上のことから、本実験においても ALA 摂取により好氣的代謝能が改善され、その結果、Lac-の増加が抑制されたと考えられた。さらに、ALA 群においてのみ[TA]u/[TB]u が、5 合目と比較して山頂で有意に低下した。ALA 摂取による Lac-の増加抑制は、乳酸から解離した非常に強い酸である水素イオンの尿中への排出減少につながることから、プラセボ群と比較して、ALA 群の山頂での低い Lac-は、[TA]u の低下をもたらし、このことが、[TA]u/[TB]u の有意な低下につながったと考えられた。

## II-2-5 結論

高所登山前 1 週間の ALA 摂取は、富士登山時の酸化ストレス指標の増加を抑制できる可能性が示唆された。しかしながら、この ALA 摂取の効果は、急性高山病発症リスクとは関係していなかった。さらに、ALA 摂取は富士登山時の好氣的運動能を改善し、乳酸産生を抑制する。つまり登山中の体力維持・改善につながることを示した。このことは、将来的には登山中の遭難事故の低減が期待できる可能性があり、意義があるといえる。

## II-2-6 引用文献

- [1] Strapazzon S, Malacrida S, Vezzoli A, Dal Cappello T, Falla M, P Lochner, Moretti S, Procter E, Brugger H, Mrakic-Sposta S. (2016) Oxidative stress response to acute hypobaric hypoxia and its association with indirect measurement of increased intracranial pressure: a field study. *Sci Rep*, 31;6:32426. doi: 10.1038/srep32426.
- [2] Bailey DM, Taudorf S, Berg RM, Lundby C, McEneny J, Young IS, Evans KA, James PE, Shore A, Hullin DA, McCord JM, Pedersen BK, Möller K. (2009) Increased cerebral output of free radicals during hypoxia: implications for acute mountain sickness? *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 297(5): R1283-92.
- [3] Bailey DM, Dehnert C, Luks AM, Menold E, Castell C, Schendler G, Faoro V, Gutowski M, Evans KA, Taudorf S, James PE, McEneny J, Young IS, Swenson ER, Mairbäurl H, Bärtsch P, Berger MM. (2010) High-altitude pulmonary hypertension is associated with a free radical-mediated reduction in pulmonary nitric oxide bioavailability. *J Physiol*, 588: 4837-47.

- [4] 警察庁生活安全局生活安全企画課. (2022) 令和3年における山岳遭難の概況.
- [5] Hou J, Cai S, Kitajima Y, Fujino M, Ito H, Takahashi K, Abe F, Tanaka T, Ding Q, Li XK. (2013) 5-Aminolevulinic acid combined with ferrous iron induces carbon monoxide generation in mouse kidneys and protects from renal ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Renal Physiol*, 305(8): F1149-57.
- [6] Berlin NI, Neuberger A, Scott JJ. (1956) The metabolism of delta -aminolaevulic acid. 1. Normal pathways, studied with the aid of <sup>15</sup>N. *Biochem J*, 64: 80-90.
- [7] Masuki S, Morita A, Kamijo Y, Ikegawa S, Kataoka Y, Ogawa Y, Sumiyoshi E, Takahashi K, Tanaka T, Nakajima M, Nose H. (2016) Impact of 5-aminolevulinic acid with iron supplementation on exercise efficiency and home-based walking training achievement in older women. *J Appl Physiol*, 120: 87-96.
- [8] Roach RC, Hackett PH, Oelz O, Bärtsch P, Luks AM, MacInnis MJ, Baillie K, Lake Louise AMS Score Consensus Committee. (2018) The 2018 Lake Louise Acute Mountain Sickness Score. *High Alt Med Biol*, 19:4-6.
- [9] Yamazaki T, Gen-No H, Kamijo Y, Okazaki K, Masuki S, and Nose H. (2009) A new device to estimate VO<sub>2</sub> during incline walking by accelerometry and barometry. *Med Sci Sports Exerc*, 41: 2213-2219.
- [10] Horiuchi M, Hasegawa T, and Nose H. (2021) Effect of carbohydrate-electrolyte solution including bicarbonate ion ad libitum ingestion on urine bicarbonate retention during mountain trekking: a randomized, controlled pilot study. *Int J Environ Res Public Health*, 18.
- [11] Horiuchi M, Endo J, Akatsuka S, Uno T, Jones TE. (2016) Prevalence of acute mountain sickness on Mount Fuji: A pilot study. *J Travel Med*, 23(4): taw024. doi: 10.1093/jtm/taw024.
- [12] Horiuchi M, Uno T, Endo J, Handa Y, Hasegawa T. (2018) Impact of Sleeping Altitude on Symptoms of Acute Mountain Sickness on Mt. Fuji. *High Alt Med Biol*, 19(2): 193-200.
- [13] William FG. Regulation of Respiration. In: Review of Medical Physiology. Tokyo: Maruzen Asia, 1977, pp. 501-508.
- [14] Haddon A, Kanhai J, Nako O, Smith TG, Hodkinson PD, Pollock RD (2023) Cardiorespiratory responses to voluntary hyperventilation during normobaric hypoxia. *Aerosp Med Hum Perform*, 94(2):59-65.
- [15] Fulco CS, Rock PB, Cymerman A. (1998) Maximal and submaximal exercise performance at altitude. *Aviat Space Environ Med*, 69(8):793-801.
- [16] Saltin B, Boushel R, Secher N, Mitchell J. In: Exercise and Circulation in Health and Disease. N.Y.: Human Kinetics, 1999, pp.177-194.
- [17] Ogura S, Maruyama K, Hagiya Y, Sugiyama Y, Tsuchiya K, Takahashi K, Abe F, Tabata K, Okura I, Nakajima M, Tanaka T. (2011) The effect of 5-aminolevulinic acid on cytochrome c oxidase activity in mouse liver. *BMC Res Notes*, 4: 66.
- [18] Ichihara Y, Masuki S, Uchida K, Takahashi K, Nakajima M, Nose H. (2021) Effects of 5-aminolevulinic acid with iron supplementation on respiratory responses to graded cycling and interval walking training achievement in older women over 75 yrs. *Exp Gerontol*, 150: 111356.
- [19] Suzuki H, Masuki S, Morikawa A, Ogawa Y, Kamijo YI, Takahashi K, Nakajima M, Nose H. (2018) Effects of 5-aminolevulinic acid supplementation on home-based walking training achievement in middle-aged

depressive women: randomized, double-blind, crossover pilot study. *Sci Rep*, 8: 7151.

- [20] Barstow TJ, Jones AM, Nguyen PH, Casaburi R. (1996) Influence of muscle fiber type and pedal frequency on oxygen uptake kinetics of heavy exercise. *J Appl Physiol*, 81(4):1642-50.



R-02-2024

令和5年度  
山梨県富士山科学研究所研究報告書  
第54号

MFRI Research Report

---

---

2024年発行

編集・発行  
山梨県富士山科学研究所

〒403-0005 山梨県富士吉田市上吉田剣丸尾 5597-1

電話：0555-72-6211

FAX：0555-72-6204

<http://www.mfri.pref.yamanashi.jp/>

---

---



