

¹H-NMR スペクトロスコピーによるラット骨格筋の評価 —クレアチン，タウリン，アンセリンの意義—

吉岡芳親， 中屋重行， 中村一芳， 平野順子，
久保川学

岩手医科大学医学部第二生理

目 的

¹H-NMR スペクトロスコピー(¹H-MRS)は、各種代謝系に属している代謝物質を同時に観測可能であることから、対象物のより多面的な評価が可能であると考えられる^{1)~3)}。骨格筋の¹H-MRSでは、クレアチン，タウリン，アンセリン，カルノシン等の骨格筋に特異的に多量に存在する代謝物質が、同時に観測可能である⁴⁾。これらの代謝物質は、骨格筋の収縮・弛緩特性と密接にかかわっていると思われるが、クレアチンが、高エネルギーリン酸化合物を介して、直接的にエネルギー代謝と関係していることを除けば、他の物質の生理学的意義の詳細は明らかではない^{5)~8)}。そこで、¹H-MRSにより、成長期におけるラットの各種骨格筋において代謝物質含量を定量し、骨格筋の解糖能力・酸化能力・分化成熟度の面から比較し、骨格筋内代謝物質の意義および¹H-MRSによる骨格筋の評価方法について検討した。

対象および方法

3週齢で購入したWistar系雄性ラットを、6(n=8)，9(n=12)，12(n=12)若しくは18(n=8)週齢まで、特別な運動負荷や薬物の投与は行わないで飼育し、麻酔・断頭後、速筋の長指伸筋(EDL)と咬筋(MM)，および遅筋

のヒラメ筋(SOL)を摘出した。摘出切片から、水溶性代謝物を抽出し、その¹H-MRSにより、代謝物質含量を求めた^{1)~3)}。使用装置は、Bruker社WP-80SY-WG(1.9T)であり、繰り返し時間14s，single pulse(90°)，積算回数256回で測定した。定量のため、既知量のDSSを添加し、スペクトルを取得した²⁾。面積計算のための波形分離には、GRAMS/32(Galactic Ind. Corp.)を用いた。

結果・考察

¹H-NMR スペクトルには、乳酸，アラニン，グルタミン，クレアチン，タウリン，アンセリン，カルノシンが主なピークとして観測された。クレアチン含量は、MMにおいて週齢とともに漸増傾向にあったが、EDLとSOLでは、6週齢と18週齢の差はなかった。各骨格筋線維への分化が終了したと考えられる18週齢では、速筋で高値であった。また、週齢や骨格筋の部位によらず、乳酸含量と正の高い相関を示した(P<0.00001，r=0.79)。タウリン含量は、各骨格筋で週齢とともに増加し、18週では6週の約1.5倍であった。また、酸化酵素活性の高いSOLで高値であり、乳酸含量とは、低いながら負の相関を示した(P<0.05，r=-0.22)。アンセリン含量も、各骨格筋で週齢とともに増加し、約3倍となった。また、

キーワード magnetic resonance spectroscopy, skeletal muscle, creatine, taurine, anserine

乳酸含量と正の相関を示した ($P < 0.001$, $r = 0.40$)。タウリン、アンセリンは、各筋線維への分化が終了した後も顕著に増加すると思われた。カルノシン含量は、MMで低値であり、週齢による変化はないと思われた。アンセリンでは、化学シフトに変動が見られた⁴⁾。この変動は、抽出物中の乳酸含量と相関しており、アンセリンには、乳酸によるpHの低下を緩衝する能力があることを示していると考えられた。以上から、クレアチン含量およびタウリン含量は、それぞれ、骨格筋の解糖能力と酸化能力を反映すると考えられ⁸⁾、タウリンとアンセリン含量は、筋線維の成熟度を反映すると考えられた⁷⁾。また、アンセリンは、生理的範囲でのpH緩衝能力を有すると思われた。¹H-MRSでは、一般的な組織化学的筋線維の分類では得られ難い情報も提供してくれる可能性があると考えられた。

ま と め

骨格筋の¹H-MRSで観測可能な、クレアチン、タウリン、アンセリンは、骨格筋の解糖能力・酸化能力・成熟度・pH緩衝能力を反映すると考えられた。また、これら代謝物質含量に注目した¹H-MRSにより、骨格筋の多面的な評価が可能であることを示していると思われた。

謝 辞

本研究の一部は、日本私立学校振興・共済事業団の高度化推進特別経費と文部省私立大学ハイテク・リサーチ・センター整備事業補助金の

補助を受けて行われた。

文 献

- 1) Hanaoka H, Yoshioka Y, Ito I, Niitu K, Yasuda N: *In vitro* characterization of lung cancers by the use of ¹H nuclear magnetic resonance spectroscopy of tissue extracts and discriminant factor analysis. *Magn Reson Med* 1993; 29: 436-440
- 2) Hayakawa Y, Yoshioka Y, Yasuda N: Effects of ligation and reperfusion of hepatic afferent vessels on the composition of liver cell membranes in the rat: ¹H- and ³¹P-magnetic resonance spectroscopic analysis. *NMR Biomed* 1997; 10: 257-262
- 3) 吉田雄樹, 吉岡芳親: 脳腫瘍組織診断における Proton Magnetic Resonance Spectroscopy の有用性に関する研究. *脳神経外科* 1991; 19: 421-427
- 4) Yoshizaki K, Seo Y, Nishikawa H: High-resolution proton magnetic resonance spectra of muscle. *Biochim Biophys Acta* 1981; 678: 283-291
- 5) Satoh H, Sperelakis N: Review of some actions of taurine on ion channels of cardiac muscle cells and others. *Gen Pharmac* 1998; 30: 451-463
- 6) Batrukova MA, Rubtsov AM: Histidine-containing dipeptides as endogenous regulators of the activity of sarcoplasmic reticulum Ca-release channels. *Biochim Biophys Acta* 1997; 1324: 142-150
- 7) Tanaka M: Effect of a training session of endurance running on anserine and carnosine contents in fast and slow muscles of young rats. *Jpn J Physiol* 1995; 45: 659-666
- 8) Miura A, Kino F, Kajitani S, Sato H, Sato H, Fukuba Y: The effect of oral creatine supplementation on the curvature constant parameter of the power-duration curve for cycle ergometry in humans. *Jpn J Physiol* 1999; 49: 169-174

**¹H-NMR Spectroscopic Analysis of Metabolites in Skeletal Muscles of Rats :
Physiological Significance of Creatine, Taurine, and Anserine**

Yoshichika YOSHIOKA, Sigeyuki NAKAYA, Kazuyoshi NAKAMURA,
Junko HIRANO, Manabu KUBOKAWA

*Department of Physiology II, School of Medicine, Iwate Medical University
19-1 Uchimaru, Morioka 020-8505*

Using ¹H-NMR spectroscopy, the contents of lactate (LAC), creatine (CRN), taurine (TAU), anserine (ANS), and carnosine (CAR) in masseter muscles (MM), long extensor muscles of digits (EDL), and soleus muscles (SOL) of variously aged rats were measured. Male Wistar rats, aged 3 weeks, were purchased and fed ad libitum without any drug treatment or exercise. The muscles of the rats at ages 6, 9, 12, and 18 weeks were dissected after decapitation, and used for the analysis of metabolites. CRN was found to be raised, dependent on age, in MM but not EDL or SOL. The content was higher in MM and EDL (fast twitch) than in SOL (slow twitch). There was significant positive correlation between CRN and LAC ($P < 0.00001$, $r = 0.79$). TAU and ANS showed age related increases in all three muscle groups. CAR was lower in MM than in EDL and SOL, and showed no age dependence in all muscles. These results suggest that CRN reflects the capacity of an anaerobic glycolysis of the muscles and that both TAU and ANS can be used as an index of the muscle development.