

〔研究ノート〕

加齢に伴うマウス骨格筋中 L-carnosine 含有量の変化

黒崎瑠美子・佐治信子・小林加世子・木村修一

The Age-Related Change of L-Carnosine Concentration on Skeletal Muscle in Mice

Rumiko KUROSAKI, Nobuko SAJI, Kayoko KOBAYASHI
and Shuichi KIMURA

Carnosine is a β -alanyl-L-histidine dipeptide and is found in skeletal muscle and nervous tissue at concentrations ranging from 1 to 25 mM. The muscle food that has been postulated to be a bioactive food component contains this dipeptide. Some anti-aging effects of carnosine have also been demonstrated at the whole animal level. There is evidence that carnosine concentrations may decline with age in rodents and humans and the carnosine concentration in the muscles of short-lived species appears to be much lower than that in long-lived species. While carnosine has been detected in mouse muscle, very little is known about the changes of carnosine concentration with age in detail and after intake of carnosine. Therefore, we investigated the age-related change of carnosine concentration in mouse muscle and the effects of carnosine intake. In this study, carnosine concentration in muscle was increased after birth and carnosine concentration in 60-week-old mice was slightly decreased. While the effects after intake of carnosine was not observed. Further studies should be performed to investigate the changes of carnosine concentration in more aged-mice and the effects after intake of carnosine.

Key words: L-carnosine (カルノシン), anserine (アンセリン), skeletal muscle (骨格筋), aging (加齢)

1. 緒言

哺乳動物の骨格筋中には、数種類の L-ヒスチジン含有ペプチドが存在する。例えば、カルノシン (β -alanyl-L-histidine) やホモカルノシン (γ -aminobutyl-L-histidine), アンセリン (β -alanyl-l-methyl-L-histidine) などである¹⁾。これらのヒスチジン含有ペプチドは動物の骨格筋中に広く分布し²⁾、食肉では牛肉や豚肉にカルノシンが多く、鶏肉にカルノシンとアンセリンが多く存在する。カルノシンは、骨格筋で約 10 mM、脳組織で約 1 mM の高濃度で存在し^{3, 4)}、抗酸化作用や抗グリケーション作用⁵⁻⁷⁾、降圧作用^{8, 9)}

等が報告されており、アンセリンはカルノシンの代謝産物として知られている。ヒスチジン含有ペプチドは、加齢と共にその含有量が減少し¹⁰⁾、様々な生理機能が報告されているが、具体的な減少率や生理機能発現のメカニズムについての報告は少ない。

そこで本研究では、加齢に伴う筋肉中のヒスチジン含有ペプチド濃度の変化を把握することを目的とし、2, 8, 18, 40, 50, 60 週令のマウスを用い、筋肉中のカルノシン、アンセリン含量を測定した。さらに、カルノシンをマウスへ 1 ヶ月間経口投与した影響も検討した。

2. 実験方法

実験動物及び飼育条件

2, 8, 18, 40, 50, 60 週令の雄性 ICR マウスを用いた。動物は空調された飼育室の個別ケージで飼育し、MF 固形飼料（オリエンタル酵母工業）と水を自由摂取とした。頸椎脱臼後、左右のヒフク筋を採取し、測定まで -80°C で保存した。40 週令マウスへ、カルノシン (100 mg/kg) を1ヶ月間経口投与した群（以下 40 w-Car 群）においても、同様に各筋肉を採取し、凍結保存した。各群は5-8匹とした。

筋肉中カルノシン、アンセリン濃度の測定

筋肉中カルノシン、アンセリン濃度測定は、サンプル調製後にアミノ酸分析機を用いて行った。採取したヒフク筋を KCl 溶液でホモジナイズし、遠心分離後上清を採取し、過塩素酸溶液を添加後、再び

遠心分離し上清を採取した。その後、サンプルの pH 調整と濃度調整を行い、 $0.45\ \mu\text{m}$ フィルターでろ過し、アミノ酸分析機により測定した。統計学的解析には、LSD 検定及び Mann-Whitney U-test を行った。

3. 実験結果及び考察

各週令マウスのヒフク筋中カルノシン含有量とアンセリン含有量を、Table. 1 及び Fig. 1, 2 に示した。2 週令のアンセリン含有量は、非常に少ないため、測定できた1匹分の値を示した。筋肉中のカルノシン含有量は、8 週令に比較して加齢と共に増加し、60 週令で減少傾向を示した。アンセリン含有量も同様の増加を示した。カルノシンは加齢に伴いその含有量が増加し、その後低下することが報告されており^{10,11}、実験動物では老齢動物における減少率が若齢動物に比較し、約 35-40% であるとして

Table 1. Concentration of carnosine and anserine in the skeletal muscle in mice.

	carnosine (nmol/g)	n
2 w	454.36	5
8 w	1516.41	6
18 w	2187.14	6
40 w (Control)	2527.46	6
40 w (Carnosine)	2779.97	8
50 w	3136.68	7
60 w	2903.15	7

Data are given as means \pm S. E.

	anserine (nmol/g)	n
2 w	462.47	1
8 w	1793.02	6
18 w	3499.07	6
40 w (Control)	4749.93	6
40 w (Carnosine)	4885.80	8
50 w	6020.57	7
60 w	4335.25	7

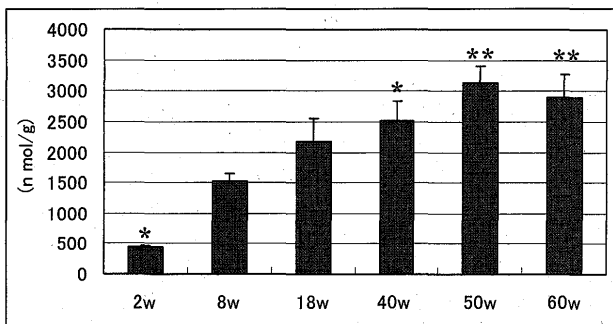


Fig. 1 Concentration of carnosine in the skeletal muscle in mice.

Data are given as means \pm S. E. Statistical significance was performed with LSD test (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ compared with 8 wks group). n=5-8.

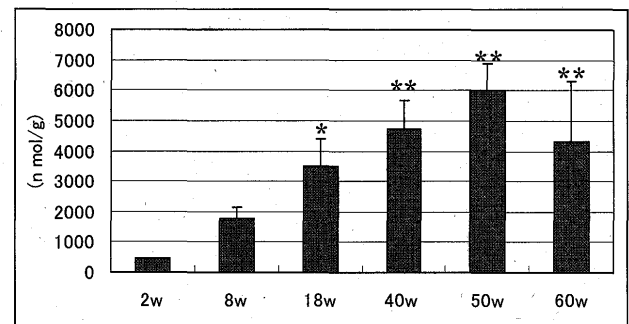


Fig. 2 Concentration of anserine in the skeletal muscle in mice.

Data are given as means \pm S. E. Statistical significance was performed with LSD test (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ compared with 8 wks group). n=5-8.

いる。また、筋肉中のカルノシン含有量は寿命の長い動物より短い動物で少ないことも報告されている¹²⁾。本研究結果では、2週令から50週令まで増加を示し、この時点をピークとして60週令では減少の傾向がみられたが、加齢による大きな減少はみられなかった。また、40週令の動物へ、カルノシン 100 mg/kg 投与を行った結果 (Fig. 3, 4) では、その影響は観察されなかった。カルノシンやアンセリンは投与後に分解を受けずに吸収され、投与後30分で血中濃度が上昇することが報告されており^{13, 14)}、

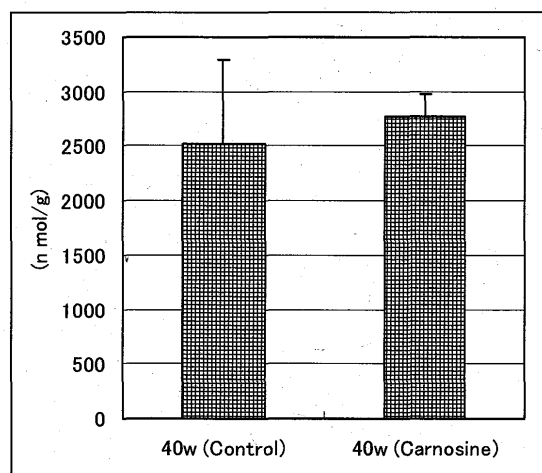


Fig. 3 Concentration of carnosine in the skeletal muscle in mice.

Data are given as means \pm S. E. Statistical significance was performed with F-test followed by Mann-Whitney U-test for non-parametric analysis. n=6-8.

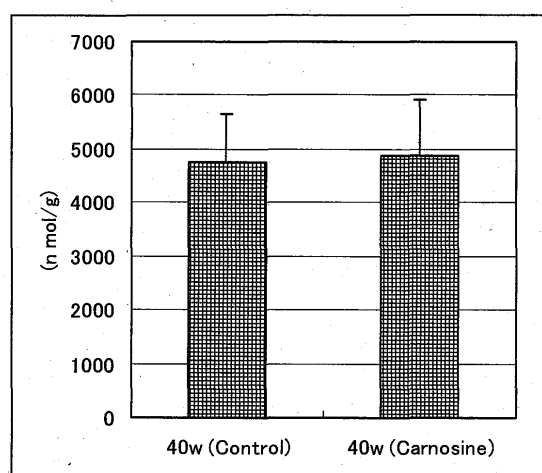


Fig. 4 Concentration of anserine in the skeletal muscle in mice.

Data are given as means \pm S. E. Statistical significance was performed with F-test followed by Mann-Whitney U-test for non-parametric analysis. n=6-8.

その後筋肉へ蓄積されると考えられている。現在、さらに週令の高い動物での実験や他組織における含有量、カルノシン投与量を検討している。

4. 要約

哺乳類の骨格筋や脳に多く含まれ、食肉中の機能的成分として注目されているヒスチジン含有ペプチド (カルノシン, アンセリン) の加齢に伴う筋肉含有量の変化を把握する目的で、2, 8, 18, 40, 50, 60週令のマウスを用いて検討を行った。また、カルノシンを経口投与した影響も検討した。本研究により、マウス骨格筋中カルノシン量は、8週令のマウスと比較し50週令まで増加を示し、60週令では減少する傾向が観察された。また、40週令マウスの骨格筋におけるカルノシン経口投与の影響は観察されなかった。今後さらに週令の高い動物での検討やカルノシン投与量の検討が必要である。

5. 謝辞

本研究は日本ハム中央研究所との共同研究として行われた。

6. 文献

- 1) Boldyrev AA. Problems and perspectives in studying the biological role of L-carnosine. *Biochemistry (Moscow)* 65, 751-6 (2000).
- 2) Boldyrev AA and Severin SE. The histidine-containing dipeptides, carnosine and anserine: distribution, properties and biological significance. *Adv Enzym Regul* 30, 175-94 (1990).
- 3) Boldyrev AA, Formazyuk VE and Sergienko VI. Biological significance of histidine-containing dipeptides with special reference to carnosine: chemistry, distribution, metabolism and medical applications. *Sov Sci Rev D Physicochem Biol* 13, 1-60 (1994).
- 4) Quinn PR, Boldyrev AA and Formazyuk VE. Carnosine: its properties, functions, and potential therapeutic applications. *Mol Aspects Med* 13, 379-444 (1992).
- 5) Kohen R, Yamamoto Y, Cundy KC and Ames BN.

Antioxidant activity of carnosine, homocarnosine and anserine present in muscle and brain. *Proc Natl Acad Sci USA* **95**, 2175-9 (1988).

6) Hipkiss AR and Chana H. Carnosine, a protective anti-ageing peptide? *Int J Biochem Cell Biol* **30**, 863-8 (1998).

7) Hipkiss AR, Michaelis J and Syrris P. Non-enzymic glycosylation of the dipeptide L-carnosine, a potential anti-protein-cross-linking agent. *FEBS Letts* **371**, 81-5 (1995).

8) Huizenga NA, Koper JW, De Lange P, Pols HA, Stolk RP, Gröbbee DE, De Jong FH and Lamberts SW. Interperson variability but intraperson stability of baseline plasma cortisol concentrations, and its relation to feedback sensitivity of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis to a low dose of dexamethasone in elderly individuals. *J Clin Endocrinol Metab* **83**, 47-54 (1998).

9) Tanida M, Niijima A, Fukuda Y, Sawai H, Tsuruoka N, Shen J, Yamada S, Kiso Y and Nagai Y. Dose-dependent effects of L-carnosine on the renal sympathetic nerve and blood pressure in urethane-anesthetized rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **288**, 447-55 (2005).

10) Stuerenburg HJ. The roles of carnosine in aging skeletal muscle and in neuromuscular diseases. *Biochemistry (Moscow)* **65**, 862-5 (2000).

11) Johnson P and Hammer JL. Histidine dipeptide levels in ageing and hypertensive rat skeletal and cardiac muscles. *Comp Biochem Physiol B* **103**, 981-4 (1992).

12) Munch G, Thome J, Foley P, Schinzel R and Riederer P. Advanced glycation endproducts in ageing and Alzheimer's disease. *Brain Res Brain Res Rev* **23**, 134-43 (1997).

13) Hama T, Tamaki N, Miyamoto F, Kita M and Tsunemori F. Intestinal absorption of β -alanine, anserine and carnosine in rats. *J Nutr Sci Vitaminol* **22**, 147-57 (1976).

14) Park YJ, Volpe SL and Decker EA. Quantitation of carnosine in humans plasma after dietary consumption of beef. *J Agric Food Chem* **53**, 4736-9 (2005).

(くろさき るみこ 食物科学科)
(さじ のぶこ 生活機構研究科生活科学研究専攻1年)
(こばやし かよこ 生活科学科管理栄養士専攻5年)
(きむら しゅういち 生活機構研究科)