

In vivo ^{31}P -NMR による強縮負荷した老化促進型 マウス骨格筋エネルギー代謝の解析

明治鍼灸大学大学院 鍼灸基礎医学

林 知也

要旨 : 若齢時の老化促進型マウス (SAM) 後肢下腿筋群に強縮負荷を加え, ^{31}P -NMR と張力計により, リン含有エネルギー代謝物質, 細胞内 pH (pH_i), 及び筋張力を同時測定し, 同様に測定した ddY 系マウスと比較し, SAM の後肢下腿筋群の特性を検討した。SAM では ddY 系マウスに比し,

(1) 筋張力比の初期低下が緩徐であった。(2) $\text{PCr}/(\text{PCr}+\text{Pi})$ 比の初期低下が大きく, 筋負荷中に緩徐な回復を示した。(3) pH_i の初期低下が小さく, 負荷早期に回復傾向を示し, 定常値に達した。これら事実より若齢時の SAM 後肢下腿筋群では, ddY 系マウスに比し, 嫌気性回路での ATP 産生率が低く, 好気性回路による ATP 産生率が高いこと, あるいは血流量が多いことが示唆された。

In vivo ^{31}P -Nuclear Magnetic Resonance Study in Skeletal Muscle of Senescence Accelerated Mouse (SAM) on Energy Metabolism Loaded Tetanus

HAYASHI Tomoya

Department of Physiology, Meiji College of Oriental Medicine

Summary: The energy metabolites, intracellular pH (pH_i) and twitch tension of crural muscles in Senescence Accelerated Mouse (SAM) loaded tetanus induced by electric stimulation were measured simultaneously by an in vivo ^{31}P -Nuclear Magnetic Resonance (NMR) technique and a strain gauge method. The data of SAM were compared with ones of normal mouse (ddY strain) under the same conditions to make clear the characteristics of the SAM's skeletal muscle on the young generation. The decrease of SAM's muscle tension ratio in early stage of tetanic load was smaller than one of normal mouse. The early decrease of $\text{PCr}/(\text{PCr}+\text{Pi})$ ratio in SAM was larger than one of normal mouse, and restored gradually throughout the tetanic load. The early decline of pH_i in SAM during tetanic load was smaller than in normal mouse, and the pH_i in SAM showed a tending to restoration following the early decline. These findings suggest that SAM's skeletal muscle might have the characteristics of lower ATP production ratio under the anaerobic conditions and higher ATP production ratio under the aerobic conditions, or larger blood flow volume than in normal mouse.

Key Words : 老化促進型マウス Senescence Accelerated Mouse (SAM),
 ^{31}P -核磁気共鳴 ^{31}P -Nuclear Magnetic Resonance (^{31}P -NMR),
筋エネルギー代謝 muscle energy metabolism, 筋張力 muscle tension,
強縮負荷 tetanic load.

[緒 言]

1970年代に T. Takeda et al¹⁾ が老化のモデル系として、SAM (Senescence Accelerated Mouse 老化促進型マウス) を開発した。SAM は生後4ヶ月齢までは正常に成長するが約6ヶ月齢から急速に老化が促進し、寿命が正常発育マウスの2~3年に比べ、約1年と短い。SAM には老化促進型と老化抵抗型の2系統があり、さらに老化の特徴により分類されている。SAM の老化判定には一般的に、H. Hosokawa et al²⁾ が考案した外観および行動性の変化をもとに評価する Grading Score System が用いられている。SAM については中枢神経系、骨格系、視覚系、免疫系などの分野で多くの研究がされている。しかし、SAM の骨格筋の収縮と、筋のエネルギー代謝状態または疲労との関係については十分に明らかではない。

一般に、筋に収縮負荷を加えると筋の張力が減少し、筋のエネルギー代謝とpHが変化することが知られており、起因として神経筋接合部の伝達疲労、興奮収縮連関の効率の低下、細胞膜の興奮性の低下、エネルギー供給系の抑制等があげられる。エネルギー代謝の観点から収縮負荷による筋疲労の原因について吉崎ら³⁾ は ^{31}P -Nuclear Magnetic Resonance (NMR) と ^1H -NMR を用いた研究により、筋細胞内のミオシン頭部の ATPase のみが product inhibition として第一リン酸によって特異的に抑制され、筋細胞内の ATP 使用量が減少することによって筋張力の低下がおけると述べている。一方、E. Le. Remeur et al^{4,5)} はラット後肢下腿筋群に長時間(45分)の強縮を与える実験から、強縮負荷による筋疲労には高エネルギー代謝物質の量の低下と筋細胞内の酸性化が直接関連しているのではなく、電気的事象と興奮収縮連関が大きく関与していると述べている。また、筋疲労中の筋張力、エネルギー代謝、pH の変化の性質は筋線維の種類によって異なることが明らかにされている。

筋の収縮とエネルギー代謝の関係を解析する非侵襲的方法の一つとして、NMR (Nuclear Mag-

netic Resonance 核磁気共鳴法) があげられる。ことに ^{31}P -NMR スペクトロスコーピーを用いることによって、生体の複数のリン含有エネルギー代謝関連物質を同時に、かつ経時的に測定できる。

本研究では、発育期は正常過程をとるとされている若齢時 SAM-P/2 を用いて、坐骨神経電気刺激により45分間強縮負荷を後肢下腿筋群に加え、コントロール・強縮負荷中・回復期に同筋群について ^{31}P -NMR によりリン含有エネルギー代謝物質と細胞内pH(pH_i) を、張力計により筋張力を in vivo で同時測定する。同一条件下で測定する正常発育系である ddY 系マウスと比較・検討することにより、これら3つの因子の相互の関わりを解析し、強縮負荷による筋疲労における若齢時 SAM 骨格筋の特性を明らかにする。

[方 法]

実験動物として正常発育系であるマウス (ddY 系, 雄性, 8週齢) と、老化促進型マウス (SAM-P/2, 雄性, 8週齢) を用いた。これらマウスは室温25°C, light-dark cycle 12:12 時間で飼育し、餌 (日本クレア製, CE-2) と水は任意に摂取させた。

チアミナルナトリウム (60mg/kg) 腹腔内投与によって麻酔し、音刺激に対する筋反射の喪失を確認した後、マウスを腹臥位で図1に示したように自家製のコルクボードを台にした NMR プローブ上に固定した。右後肢大腿背側を切開し、坐骨神経を露出し、2本の自家製カーボン電極を神経に密着させて置いた。さらに腓腹筋・足底筋・ヒラメ筋の後肢下腿筋群を露出させ、大腿骨と踵骨にドリルで穴をあけ、2本の真鍮ピンをそれぞれの穴にさして、コルクボードに固定した。鞍型のサーフェスコイルを露出筋群中央にかぶせた。筋張力測定のためこの筋群の遠位の腱に絹糸の一端を結びつけた。直腸温を測定のためサーモメータ (オムロン製, HEH-TM4) の熱電対センサー (銅・コンスタンタン, 0.41mm径) を直腸に挿入した。保温のためにバスサーキュレーター (エムエス製, RTE-210) から温水を送るようにした。

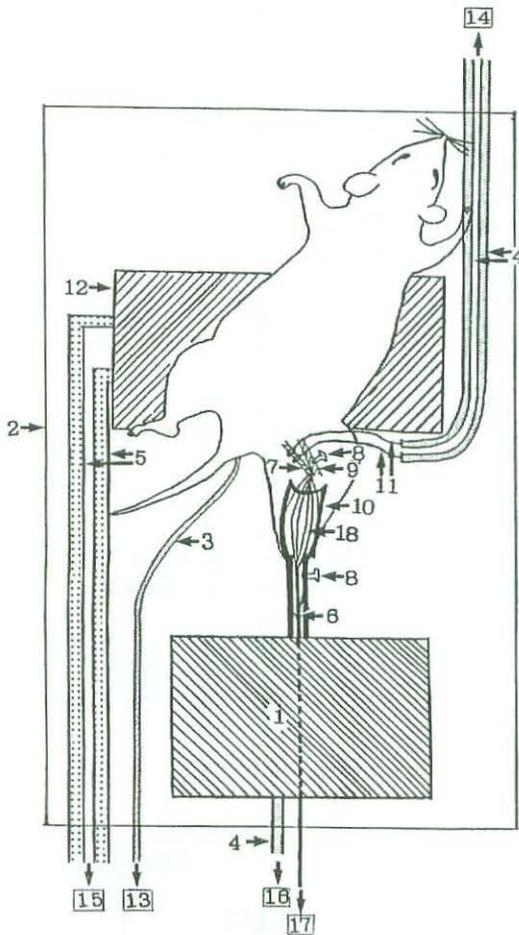


図1 自家製 in vivo NMR 測定用プローブ

2カ所を真鍮ピンで固定されたマウス右後肢下腿筋群に坐骨神経刺激により強縮負荷を加え、鞍型サーフェスコイルで ^{31}P -NMRスペクトルを測定した。

- 1 : 同調・整合回路, 2 : NMR 測定用プローブ, 3 : 熱電対センサー, 4 : 銀シールド同軸ケーブル, 5 : 保温用ポリエチレンチューブ, 6 : 絹糸, 7 : 坐骨神経, 8 : 真鍮ピン, 9 : 大腿骨, 10 : 鞍型サーフェスコイル, 11 : カーボン電極, 12 : 保温用マット, 13 : サーモメーター, 14 : 電気刺激装置, 15 : バスサーキュレーター, 16 : NMR 入出力ポート, 17 : ひずみセンサー, 18 : 腓腹筋・足底筋・ヒラメ筋群

ポリエチレンチューブの自家製保温用マット上にマウスを置き、実験中マウス直腸温を $37 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$

に維持した。

筋張力測定のため NMR 装置の横置型超伝導磁石前方に図2に示したように固定台を置き、ひずみゲージを厚さ 0.5 mm のリン青銅に接着剤で4枚固定してアクリル板ではさんだ自家製の張力センサーに、前述の筋群からの絹糸の他端を結び付けた。この糸の長さを糸が張った状態に調整した。張力はストレンアンプ（日本電気三栄製、ポリグラフ366・変換器用増幅ユニット1829）で増幅し、サーマルレコーダー（日本電気三栄製、T2108）で記録した。筋張力の測定は図3に示すように強縮負荷を与えた45分間は連続的に行い、回復期は5分目と30分目に測定した。筋張力は、強縮負荷開始時の最大収縮の値に対する比率（%）で表わした。坐骨神経への電気刺激は図2に示したように電気刺激装置（DIAMEDICAL 製、DPS-160B）とアイソレーター（DIAMEDICAL 製、DPS-135）からの銀シールドケーブルに前述のカーボン電極を結線して行った。電気刺激条件は、パルス幅 0.2 msec、周波数 100 Hz、1トレイン 100 msec、刺激電圧は最大強縮値とし、電気刺激を1分間に120のトレイン（120TPM）で45分間負荷した。

使用した NMR 装置（GE社製、CSI-II）は、横置型超伝導磁石（4.7 T）を設え、ラジオ波パルス照射・受信用に鞍型サーフェスコイルが用いられた。 ^{31}P -NMR スペクトルの測定条件は観測周波数 81.1345 MHz、パルス繰り返し時間 2 sec、RFパルス 60° 、観測幅 $\pm 4000 \text{ Hz}$ 、データポイント 4096、加算回数 76回で、1回の測定に3分を要した。 ^{31}P -NMR 測定は図3に示したようにコントロールを1回、45分間の強縮負荷中に15回、回復期の前半15分間に5回行った。 ^{31}P -NMR スペクトルの各共鳴線の信号強度はピーク面積で表し、面積は積分解析ソフト（ニコレー製、1280コンピュータ）で求めた。筋エネルギー代謝関連物質の変動の指標として、phosphocreatine (PCr), inorganic phosphate (Pi) を用い、 $\text{PCr}/(\text{PCr} + \text{Pi})$ 比で表した。

pH_i は PCr と Pi の化学シフト値の差 (σ) から

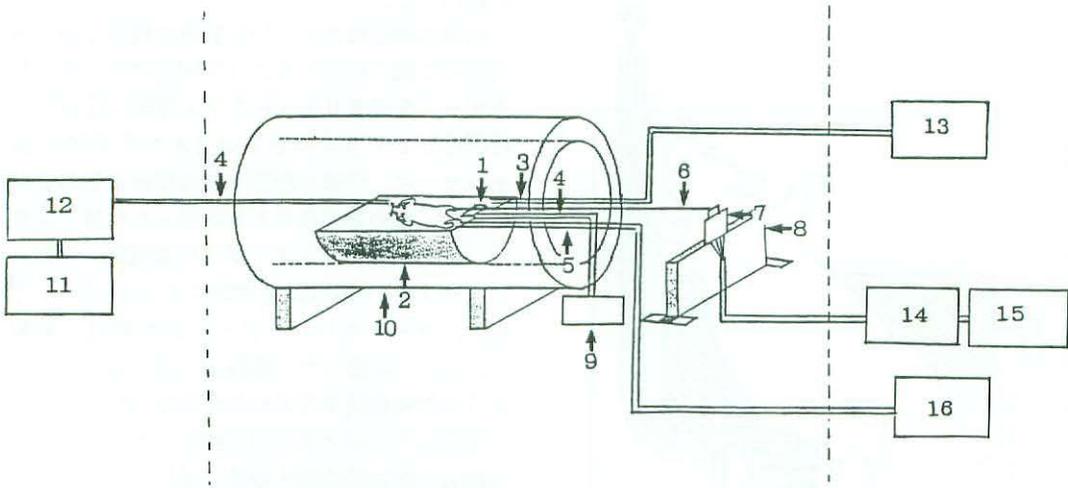


図2 ³¹P-NMR スペクトルと筋張力の同時測定システム

図1のプロープを横置型超伝導磁石内に置き、鞍型サーフェスコイルの同調・整合を行った後で、³¹P-NMR スペクトルを測定した。同時に絹糸に結合した自家製張力計で筋張力をモニターした。実験中サーモセンサーで直腸温をモニターし、保温マットで体温を37±0.5℃に維持した。

1：同調・整合回路， 2：NMR 測定用プロープ， 3：熱電対センサー， 4：銀シールドケーブル， 5：保温用ポリエチレンチューブ， 6：絹糸， 7：ひずみセンサー， 8：固定台， 9：NMR 入出力ポート， 10：4.7T超伝導磁石， 11：電気刺激装置， 12：アイソレーター， 13：サーモメーター， 14：ひずみアンプ， 15：サーマルレコーダー， 16：バスサーキュレーター

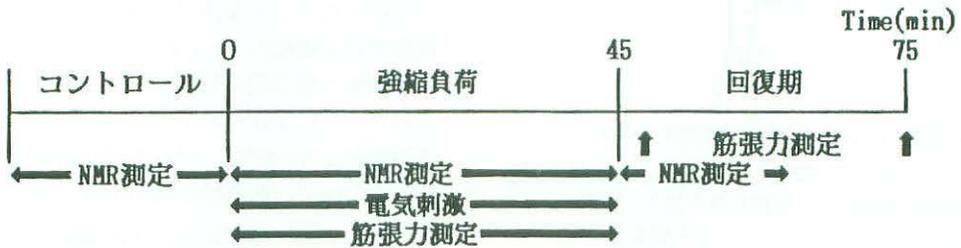


図3 実験手順

コントロール時に ³¹P-NMRスペクトルを1回測定した。強縮負荷中は、負荷開始から負荷終了時まで ³¹P-NMRスペクトルと筋張力を同時測定した。負荷終了後は ³¹P-NMR スペクトルを回復期前半15分の間測定し、筋張力は回復期5分目と30分目に測定した。

次式①によって求めた。

$$pH_i = 6.75 + \log \frac{(\sigma - 3.27)}{(5.69 - \sigma)} \dots\dots\dots \text{①}$$

統計解析

³¹P-NMR スペクトル測定から得られた SAM-P/2 と ddY 系マウスの筋張力比, PCr/(PCr+

Pi) 比及びpH_i値の群間・群内比較は Tukey 法を用い、 $P < 0.05$ のもの有意差があるとした。

【結 果】

筋張力

SAM-P/2 (n=8) では、筋張力比は図4に示すように強縮負荷開始直後の100%から負荷開始後30秒では67.94±7.93%、負荷開始後1分では51±14.46%と有意に急速な減少を示した($P < 0.01$)。しかし、負荷開始後2分では44.34±15.55%、負荷開始後3分では43.92±15.29%と、ゆっくり減少した。

ddY系マウス(n=7)では、筋張力比は図4に示すように、強縮負荷開始後30秒に58.11±8.97%、負荷開始後1分では46.95±7.91%と、有意に減少し($P < 0.01$)、SAM-P/2におけるよりも速く減少する傾向がみられた。初期の急速な筋張力の減少に続いて、その後の値はSAM-P/2と同様にゆっくりと減少し、負荷開始後2分では38.49±7.50%、負荷開始後3分では34.63±6.77%であった。これら2分値と3分値はSAM-P/2に比べ、低い値であった。強縮負荷開始後3分以降では図5に示すようにSAM-P/2とddY系マウスは両者ともに筋張

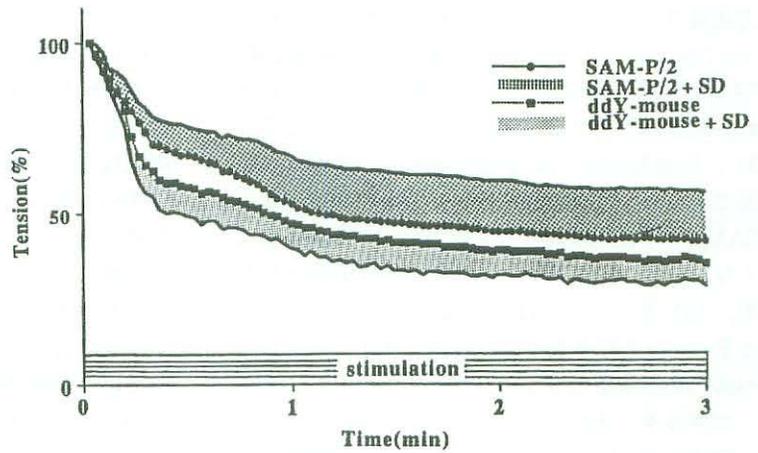


図4 マウス後肢下腿筋群の強縮負荷における初期筋張力比率

坐骨神経より電気刺激パルス幅0.2 msec, 周波数100 Hz, 1トレイン100 msec, 1分間120トレイン, 刺激電圧は最大強縮値で負荷したマウス後肢下腿筋群への強縮負荷開始から負荷開始後3分までの筋張力比の2秒ごとの平均値±標準偏差をSAM-P/2(n=8, ●), ddY系マウス(n=7, ■)について示す。

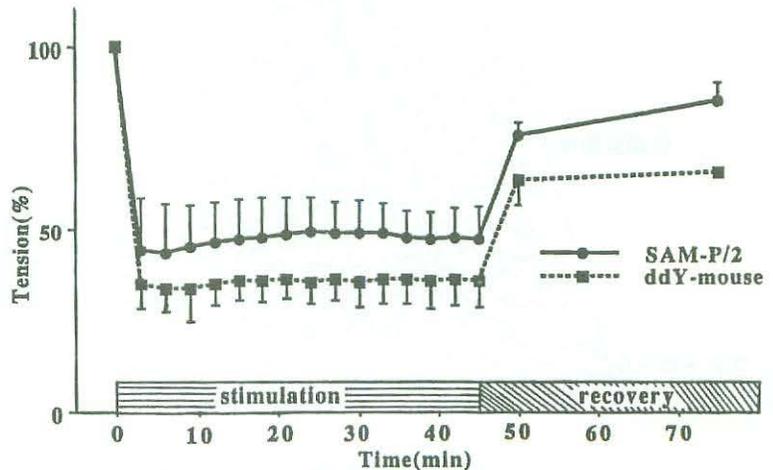


図5 マウス後肢下腿筋群の強縮負荷期と回復期の筋張力比率

図4と同一条件下で強縮負荷し、強縮負荷開始から負荷終了時までには3分ごとに、回復期は5分目と30分目で測定した筋張力比の平均値±標準偏差をSAM-P/2(n=8, ●), ddY系マウス(n=7, ■)について示す。

力比はプラトーになり、負荷終了時それぞれ $46.96 \pm 9.70\%$ 、 $35.24\% \pm 7.16\%$ であった。回復期では、SAM-P/2 と ddY 系マウスの筋張力比はそれぞれ、回復期 5 分では $79.62 \pm 3.41\%$ 、 $64.30 \pm 7.21\%$ 、回復期 30 分では $85.82 \pm 4.93\%$ 、 $66.64 \pm 0.33\%$ であった。コントロールレベルとの比較では、SAM-P/2 は回復期 5 分で $P > 0.05$ で有意差がなくなり、コントロールレベルへの回復を示したが、ddY 系マウスでは、回復期 5 分、30 分ともに $P < 0.01$ で有意差が認められ、コントロールレベルへの回復を示さなかった。

エネルギー代謝

図 6 に SAM-P/2 と ddY 系マウスの経時的 in

vivo ^{31}P -NMR スペクトルの代表例を示す。SAM-P/2 では PCr ピークが強縮負荷開始後 3 分で最低レベルに低下したがその後負荷中に、緩徐な回復を示し、回復期 3 分でコントロールとほぼ同様のレベルを示した。Pi ピークは刺激開始後 3 分で最高レベルを示し、その後負荷中に緩徐な低下を示し、回復期 3 分目にコントロールとほぼ同様なレベルを示した。また、ATP は著明な変化を示さなかった。ddY 系マウスでは PCr ピークが強縮負荷開始後 3 分で最低レベルに低下した。その後、負荷開始後 9 分までは緩徐な回復を示したが負荷開始後 12 分以降は負荷終了時までには明らかな変化はみられず、回復期 6 分でコントロールと

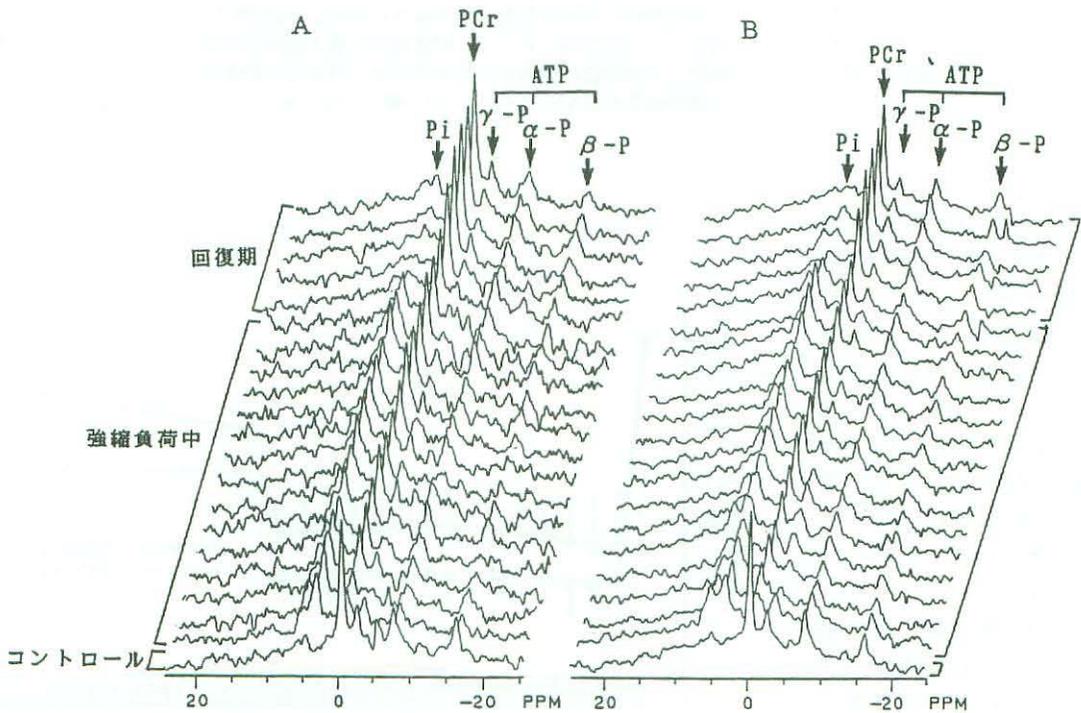


図 6 強縮負荷でのマウス後肢下腿筋群の経時的 in vivo ^{31}P -NMR スペクトル

マウス後肢下腿筋群を測定対象とし、測定条件は周波数 81.1345 Hz、パルス繰り返し時間 2 sec、RF パルス幅 60° 、データポイント 4096、加算回数 76 回であった。PCr ピークを化学シフトの基準とした。図 6-A は SAM-P/2 のコントロール、強縮負荷中 (45 分間)、回復期 (15 分間) での経時的 in vivo ^{31}P -NMR スペクトルを示す。共鳴線は左から、Pi、PCr、ATP の γ -P、 α -P、 β -P である。図 6-B は SAM と同一条件下での正常発育系の ddY 系マウスの経時的 in vivo ^{31}P -NMR スペクトルである。

ほぼ同じレベルを示した。Piピークは刺激開始3分で最高レベルを示し、その後は負荷終了後まで明らかな変化はみられず、回復期3分で低下を示し、回復期6分でコントロールとほぼ同じレベルを示した。また、ATPは著明な変化を示さなかった。

PCr/(PCr+Pi) 比について、SAM-P/2 では図7に示すようにコントロールの0.94±0.03から、強縮負荷開始後3分では0.36±0.13と有意に低下し (P<0.01)、最低レベルに達したが、その後強縮負荷開始後15分から、最低レベルの値に対して有意差がみられ、負荷中の回復を示し、負荷終了時の値は0.64±0.06であった。さらに回復期3分では、PCr/(PCr+Pi) 比は0.92±0.03となり、コントロール値との比較で有意差がなくなり、コントロールレベルへの回復を示した。ddY系マウスでは、PCr/(PCr+Pi) 比は図7に示すようにコントロールの0.95±0.03から、強縮負荷開始後3分では0.46±0.07と有意に低下し (P<

0.01)、さらに負荷開始後6分では0.43±0.07と最低レベルに達した。負荷中のPCr/(PCr+Pi) 比は、最低レベルとの間に有意差を示さず、ほぼプラトーであったが、負荷開始後12分までは緩徐な回復傾向を示した。負荷終了時には、0.56±0.07であった。回復期3分には、0.86±0.06となり、コントロール値との比較で有意差がなくなり、コントロールレベルへの回復を示した。

pH_i

SAM-P/2 では、pH_i が図8に示すようにコントロールの7.27±0.07から、強縮負荷開始後3分で6.80±0.17と有意に低下し (P<0.01)、負荷開始後6分で6.80±0.20であった。その後最低レベルとの比較で負荷開始後15分で有意差 (P<0.01) がみられ、緩徐な回復を示した。コントロール値との比較では、負荷開始後15分以降、有意差がなくなり、コントロールレベルの回復を示し、負荷終了時には、7.18±0.06、回復期3分では7.18

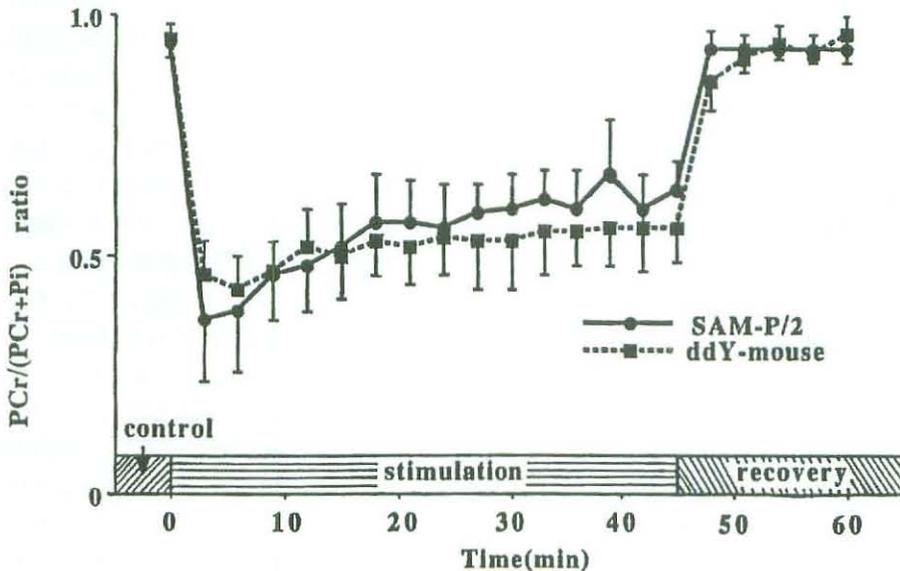


図7 マウス後肢下腿筋群の強縮負荷によるPCr/(PCr+Pi) 比の経時的変化

図6と同じ測定対象と測定条件で得られた *in vivo* ³¹P-NMR スペクトルより PCr と Pi の共鳴線の面積を得、各々信号強度として用いた。PCr/(PCr+Pi) 比のコントロール、強縮負荷中 (45分間)、回復期 (15分間) での平均値±標準偏差をSAM-P/2 (n=8, ●) と ddY系マウス (n=7, ■) について示す。

±0.13であった。ddY系マウスでは、図8に示すようにコントロールの7.25±0.06から、強縮負荷開始3分で6.61±0.11と有意に低下し (P<0.01)、負荷開始後6分で6.60±0.16であった。その後最低レベルとの比較では負荷開始後12分まで有意差 (P<0.01) がみられ、緩徐な回復を示した。コントロール値との比較では、負荷開始後27分

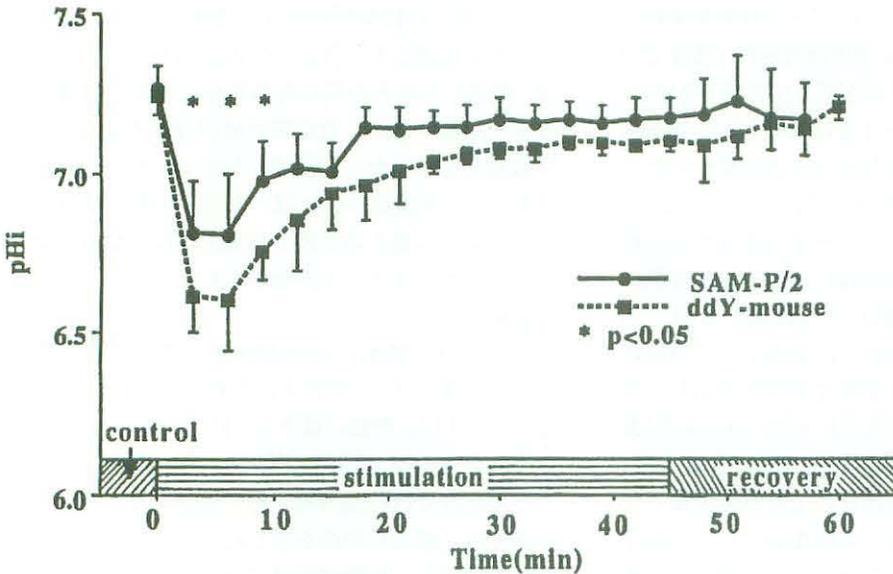


図8：マウス後肢下腿筋群の強縮負荷による細胞内pHの経時的変化

細胞内pHは図6と同じ測定対象と測定条件で得られた。in vivo ^{31}P -NMRスペクトルの P_i の化学シフトから計算された。コントロール、強縮負荷中(45分間)、回復期(15分間)での平均値±標準偏差をSAM-P/2 ($n=8$, ●), ddY系マウス ($n=7$, ■)について示す。検定結果はSAM-P/2とddY系マウスの群間比較を示す。

以降、有意差がなくなり、コントロールレベルへの回復を示し、負荷終了時には 7.11 ± 0.04 、回復期3分では 7.07 ± 0.12 、回復期6分では 7.12 ± 0.07 であった。

[考 察]

筋強縮負荷法はE. Le. Rumeur et al^{4,5)}が報告している実験方法を用いた。筋張力の実験結果には腓腹筋・足底筋・ヒラメ筋の3つの筋張力が寄与しており、また同時に測定筋に侵襲を加えずin vivoで測定したNMRスペクトルにもこれら筋群が寄与している。高田ら⁶⁾もラットを用いた ^{31}P -NMRスペクトルと筋張力測定の実験で、後肢下腿筋群としての腓腹筋・足底筋・ヒラメ筋の筋張力を測定している。NMR測定はマウス後肢下腿のように小さい測定対象でのNMRスペクトルのS/N比を良くし、かつ測定時間を短くす

るため測定容積を大きくできるRF照射・受信用サーフェスコイルを鞍型のものを使用した。このコイルで得た、 ^{31}P -NMRスペクトルのPCrのS/N比は8~10であった。

筋張力は、SAM-P/2とddY系マウスのいずれにおいても強縮負荷開始時より負荷開始後3分頃まで急速に減少した。

筋収縮負荷による筋張力の減少に関して、吉崎ら³⁾はカエル筋で筋張力の減少は筋収縮によって増加した P_i が pH_i の酸性化により、第一リン酸の型となり、筋収縮によるATPの消費を抑制し、その結果筋張力の減少をきたすと報告している。本研究において、強縮負荷開始から負荷開始後6分までは図8にみられるように pH_i の減少もみられることから、吉崎らの考えが適用される。しかし、負荷開始後9分から負荷終了時までは、 pH_i の回復にもかかわらず、筋張力は図5にみられるように明らかな回復を示さずプラトーを示している。第一リン酸による筋張力の低下だけでは本研究における筋張力の低下は説明できない。吉崎らはまた、筋張力減少のもう一つの原因として Ca^{2+} イオンの遊離量減少をあげており、E. Le. Rumeur et al^{4,5)}も、本実験とほぼ同様の強縮負荷をラット骨格筋に与えた実験で筋張力の低下の

原因にイオン不均衡と興奮収縮連関の効率低下をあげている。これらから、本実験での筋張力の低下は、連続した強縮負荷により興奮収縮連関の効率が低下し、筋小胞体から遊離される Ca^{2+} イオンの量が減少することも一因と考えられる。さらに E. Le. Rumeur et al^{4,5)} は後肢下腿筋群について、神経刺激と筋直接刺激の両方を行い、前者の方が筋張力の低下が大きいということを示すデータを報告しており、それと比較検討すると、われわれの坐骨神経を用いた実験では神経筋接合部の伝達疲労も筋張力減少の原因としてあげられる。C. Juel⁷⁾ はマウスの骨格筋へ刺激頻度40 Hz、刺激電圧は最大強縮値の電気刺激を筋に直接与え、ヒラメ筋と長指伸筋での筋電図を比較し、筋疲労に伴う筋電図信号の低下は筋細胞膜伝導速度の遅延に関係しており、その具体的な変化として、細胞外 K^{+} イオン濃度の増加、 pH_i の低下などをあげ、速筋より遅筋の方がそれら変化を受けにくいと述べている。この事実より、SAM-P/2がddY系マウスに比べて筋張力の減少が小さいのは、SAM-P/2がddY系マウスに比して遅筋線維が多い可能性を示唆している。

ATP貯蔵物質であるPCrと、その代謝産物であるPiによる $PCr/(PCr+Pi)$ 比を指標とした場合、ATPの消費量が少ない時、エネルギーはPCrに貯蔵されるためPCrが多く、Piが少ないのでこの比の値は1に近い値を示し、ATPが活発に消費され、貯蔵されていたATPが使われ始めると、PCrからエネルギーが補給され、Piが増加し、PCrが減少するのでこの比の値が減少する。SAM-P/2では、刺激開始後初期の3分と6分では $PCr/(PCr+Pi)$ 比がddY系マウスのそれに比べ、より大きく低下するが、負荷終了時まで緩徐な回復傾向を示す。一方ddY系マウスでは強縮負荷開始後3分の $PCr/(PCr+Pi)$ 比の低下から、負荷開始後12分までは緩徐な回復傾向を示したが、負荷開始後12分からはプラトーな傾向がみられた。この、ddY系マウスに関する $PCr/(PCr+Pi)$ 比の変化については、強縮負荷による初期の低下は筋収縮によりATPが消費され、

産生ADPとPiのうち、ADPはクレアチンキナーゼ反応($PCr+ADP+H^+ \rightleftharpoons Cr+ATP$)により急速にATPが再生され、図6にみられるようにATPのピークに著明な減少はみられない。続いて、Piの濃度がある値以上になると解糖系が促進され、ATPが産生されるが、解糖系によるATP産生($ADP+Pi \rightleftharpoons ATP$)は緩徐であるため図6にみられるように、Piのピークに明らかな増大がみられる。その後、筋張力の減少に伴うATP消費量の減少と、血流による O_2 供給の増大に伴い、好氣的回路によるATP産生が増加し、PCrの増加とPiの減少がみられ、 $PCr/(PCr+Pi)$ 比が回復傾向を示すと考えられる。負荷開始12分以降は筋張力比と $PCr/(PCr+Pi)$ 比がそれぞれプラトーになっていることから、消費されるATP量と産生されるATP量が平衡状態にあることを示唆している。

SAM-P/2では、筋張力の変化でみられる初期での急速な低下がddY系マウスのそれより小さいにもかかわらず $PCr/(PCr+Pi)$ 比が初期にddY系マウスより低いのは、SAM-P/2での pH_i 値が全経過を通してddY系マウスのそれより高かったことを併せ考えると、SAM-P/2の解糖系ATP産生能力が低いことを示唆している。その後ATP産生量が増加し、消費量より産生量が多くなり、エネルギーがPCrとして貯蔵されるため $PCr/(PCr+Pi)$ 比が回復を示すと考えられる。筋張力比率が全経過中ddY系マウスより高く維持されるSAM-P/2ではATP消費量がddY系マウスより多いと考えられるが、それにもかかわらず、 $PCr/(PCr+Pi)$ 比がddY系マウスよりも多くなるのは、SAM-P/2でのATP産生のATP消費に対する比率が高いことを示唆している。

E. Hultman et al⁸⁾ は45分間の筋収縮中、筋張力が低下し、一方PCrとATPが増加するのは、好気性回路によるATP産生が増加することによると述べている。また、遅筋線維が多い筋では、好気性回路によるATP産生能力が高いことが知られている。これらより、SAM-P/2では好気性回路によるATP産生量が多いと考えられる。

pH_iにおけるSAM-P/2とddY系マウスの比較では、SAM-P/2の方が強縮負荷初期に達する最低pH_iが高く、回復レベルも全経過を通して高かった。群間検定でもコントロールでは両群間に有意差がみられなかったが、強縮負荷中で負荷開始後3分、6分、9分で有意差 ($P < 0.05$) が認められた。これは、SAM-P/2の方がddY系マウスに比して、筋細胞内の酸性化が低かったことを示している。pH_iの低下は解糖系の代謝産物である乳酸の増加によるとされており、このことよりSAM-P/2におけるpH_iの最初の低下がddY系マウスより少ないのは、解糖系のATP産生能力が低い、または血流量が多いため乳酸の流出が多いことが考えられる。負荷開始後15分頃より、pH_iがSAM-P/2ではddY系マウスより速く高い値に回復した。これはSAM-P/2の方が筋細胞中の好気性回路の活性がddY系マウスより高いために、解糖系による乳酸産生量が少なかったためと考える。上記の理由により、SAM-P/2ではddY系マウスと比較して、好気性回路の活性が高いこと、血流量が多いことが示唆される。

以上、筋張力、エネルギー代謝、pH_iの3つの結果から、若齢時SAM-P/2の後肢下腿筋群の特徴として、遅筋繊維が多く含まれること、好気性回路の活性が高いこと、あるいは血流量が多いことが示唆される。

[謝 辞]

稿を終えるにあたり、終始御指導頂きました明治鍼灸大学第一生理学教室西川弘恭教授に深謝いたします。また、多大なる御助言を頂いた同大学脳神経外科学教室梅田雅宏講師、基礎鍼灸学尾崎昭弘教授、廖登稔助教授、老化促進型マウス(SAM-P/2)を提供して頂いた京都大学胸部疾患研究所老化生物学教室竹田俊男教授に深謝いたします。

[参考文献]

- 1) Takeda T, Hosokawa M, Takeshita S, et al : A new murine model of accelerated senescence, *Mech. Ageing Dev.*, **17** : 183-194, 1981.
- 2) Hosokawa M, Kasai R, Higuchi K, et al : Grading score system: a method for evaluation of the degree of senescence in Senescence Accelerated Mouse (SAM), *Mech. Ageing Dev.*, **26** : 91-102, 1984.
- 3) 吉崎和男, 高梨芳彰 : 筋の細胞内液と疲労 NMR による研究を中心に, *疲労と休養の科学*, **4**(1) : 25-33, 1989.
- 4) Le Rumeur E, Le Moyec L, Chagneau F, et al : Phosphocreatine and pH recovery without restoration of mechanical function during prolonged activity of rat gastrocnemius muscle: an in vivo ^{31}P NMR study, *Arch. Int. Physiol. Bio.*, **97** : 381-388, 1989.
- 5) Le Rumeur E, Le Moyec L, Toulouse P, et al : Muscle fatigue unrelated to phosphocreatine and pH: an in vivo ^{31}P -NMR spectroscopy study, *Muscle & Nerve*, **13** : 438-444, 1990.
- 6) 高田信二郎, 井形高明, 福田昇司ら : 高周波電気刺激 (100Hz) と低周波電気刺激が誘発するラット骨格筋の張力とエネルギー代謝の相違について ^{31}P -MRS の応用 : 理学診療, **2** : 2-6, 1991.
- 7) Juel C : Muscle action potential propagation velocity changes during activity, *Muscle & Nerve*, **11** : 714-719, 1988.
- 8) Hultman E, Spriet L L : Skeletal muscle metabolism, contraction force and glycogen utilization during prolonged electrical stimulation in humans, *J. Physiol.*, **374** : 493-501, 1986.
- 9) Close R : Dynamic properties of fast and slow skeletal muscle of the rat during development, *J. Physiol.*, **173** : 74-95, 1964.
- 10) Dawson M J, Gadian D G, Wilkie D R : Muscular fatigue investigated by phosphorus nuclear magnetic resonance, *Nature*, **274** : 861-866, 1978.