

イミダゾールジペプチド摂取が骨格筋カルノシン濃度および短時間高強度運動パフォーマンスに与える影響：¹H-MRS を用いた単一被検者の経時的観察事例

Time-Course Effects of Imidazole Dipeptide Supplementation on Muscle Carnosine Concentration and High-Intensity Exercise Performance: A Single-Subject Case Study Using ¹H-MRS.

鈴木康弘 高橋英幸

Abstracts

Imidazole dipeptides, such as carnosine, play crucial roles in muscle buffering capacity and antioxidant defense. While previous studies have shown that oral supplementation can increase muscle carnosine concentration and improve high-intensity exercise performance, the time course of these changes remains unclear. This study aimed to investigate the weekly changes in muscle carnosine concentration following imidazole dipeptide supplementation and its relationship with high-intensity exercise performance, using non-invasive proton magnetic resonance spectroscopy (¹H-MRS). One healthy male subject (age: 42 years) consumed 1.5 g/day of imidazole dipeptide supplement for 32 consecutive days. Muscle carnosine concentration in the vastus lateralis was measured weekly using ¹H-MRS. High-intensity exercise performance was assessed using 10-s and 30-s maximal pedaling tests, conducted at the same intervals as the ¹H-MRS measurements. Muscle carnosine concentration increased by 9.5%, 26.2%, 16.6%, 38.1%, and 28.6% after 1, 2, 3, 4, and 5 weeks of supplementation, respectively. Peak power output in the 30-second cycling test showed a significant positive correlation with muscle carnosine concentration ($r=0.92$, $P<0.01$). Mean power output also tended to increase with carnosine concentration, although the correlation was not statistically significant ($r=0.74$, ns). Both mean and peak power

reached their highest values at week 2, showing a slight discrepancy with the time course of carnosine concentration increase. This study demonstrates the feasibility of using $^1\text{H-MRS}$ to track weekly changes in muscle carnosine concentration following imidazole dipeptide supplementation. These results suggest a positive relationship between increased muscle carnosine concentration and improved high-intensity exercise performance.

I 緒言

カルノシン (β -Alanyl-L-Histidine) は、骨格筋に高濃度で存在するイミダゾールジペプチドであり、筋内 pH 緩衝作用や抗酸化作用などの生理機能を有することが知られている^{2,3,5,7,10,13}。近年、カルノシンの前駆体である β -アラニンやイミダゾールジペプチド (アンセリン・カルノシン) などのサプリメントの経口摂取により、骨格筋カルノシン濃度が増加し、高強度運動パフォーマンスが向上することが報告されている⁹。

Hill et al.⁶ は、 β -アラニンの 4 週間および 10 週間の摂取により、骨格筋カルノシン濃度がそれぞれ 58.8%, 80.1% 増加することを報告しており、Baguet et al.¹ は、5-6 週間の β -アラニン摂取後、骨格筋カルノシン濃度が筋肉によって 23-39% 増加し、摂取停止後は週に約 2-4% の割合で減少することを示している。さらに我々の研究グループは、鶏胸肉由来のイミダゾールジペプチドの経口摂取により、30 日で骨格筋カルノシン濃度が 15-44% 有意に増加することを明らかにしている¹⁴。これらの研究により、 β -アラニンやイミダゾールジペプチドの長期摂取による骨格筋カルノシン濃度の増加パターンと、摂取停止後の減少パターンが明らかになってきた。しかしながら、これらの研究では摂取前後における骨格筋カルノシン濃度測定が中心であり、骨格筋カルノシン濃度の詳細な経時変化については十分に明らかにされていない。特に、サプリメント摂取開始後の初期段階における週ごとの変化を追跡した研究は見当たらない。

近年、プロトン磁気共鳴分光法 ($^1\text{H-MRS}$) を用いた非侵襲的なカルノシン濃度測定法が開発され、その有効性が示されている^{1,4,8}。 $^1\text{H-MRS}$ を用いることで、バイオプシーと比較してより頻繁な測定が可能となり、カルノシン濃度の時系列変化を詳細に追跡することができると考えられる。これらの研究では $^1\text{H-MRS}$ を用いて β -アラニン摂取による骨格筋カルノシン濃度の変化を測定してその有用性を示しているが、鶏胸肉由来のイミダゾールジペプチド摂取による骨格筋カルノシン濃度の週毎の変化を測定した研究は見当たらない。

一方、Suzuki et al.¹¹ は、骨格筋カルノシン濃度と 30 秒間の全力ペダリング運動のパワーとの間に有意な正の相関関係があることを報告しており、さらに Suzuki et al.¹² は週に 2 回、8 週間のスプリントトレーニングにより骨格筋カルノシン濃度は有意に増加し、その増

加率と30秒間全力ペダリング運動のパワーの変化率との間に有意な正の相関関係があることを報告している。したがって、イミダゾールジペプチドの連続摂取による骨格筋カルノシン濃度の経時的増加に伴い、30秒間全力ペダリングのパワーも並行して増加する可能性があるが、このことを明らかにした研究は見当たらない。

そこで本研究では $^1\text{H-MRS}$ を用いてイミダゾールジペプチド含有飲料の連続摂取による骨格筋カルノシン濃度の変化を1週間ごとに測定するとともに、自転車エルゴメーターを用いた運動パフォーマンステストも経時的に実施することにより、骨格筋カルノシン濃度と運動パフォーマンスとの関連について詳細に検討することを目的とした。

II 方法

1. 被検者

被検者は日常的に水泳トレーニングを実施している喫煙習慣のない活動的な男性1名（年齢：42歳，身長：171.3 cm，体重：64.4 kg）であった。実験期間中は他のサプリメントの摂取はしないように指示し，食事は通常と変わらない1日3食（朝昼夜）摂取する生活をするように指示した。なお，実験期間中は週3～4回，1回約2時間の水泳および陸上でのトレーニングを実施していた。被検者には，実験に先立ち，実験の趣旨，内容および危険性について十分な説明をすることにより参加の同意を得た。

2. 実験プロトコル

イミダゾールジペプチドの摂取を開始する前に骨格筋カルノシン濃度および運動パフォーマンスの初期値（Pre）を測定した。イミダゾールジペプチドの摂取はPre測定の翌日朝から開始させ，1日3回，毎食時に摂取させた。摂取期間は32日間であり，Pre測定の1，2，3，4，5週間後に骨格筋カルノシン濃度および運動パフォーマンスを測定した。

イミダゾールジペプチドの摂取には，市販されている「イミダの力500」を用いた。「イミダの力500」は1本（50 ml）あたり28 kcal，イミダゾールジペプチドを0.5 g配合のドリンクである。被検者にはこのドリンクを1日3本，各食事の直前に摂取するように指示した。

骨格筋カルノシン濃度の測定は，昼食摂取前の12～13時の間とし，運動パフォーマンステストは，骨格筋カルノシン濃度の測定と同日の夕方16～18時に実施した。

3. 測定項目

1) 骨格筋カルノシン濃度

骨格筋カルノシン濃度は，プロトン磁気共鳴分光法（ $^1\text{H-MRS}$ ）を用いて右脚外側広筋から測定した。 $^1\text{H-MRS}$ を用いた骨格筋カルノシン濃度の評価は，先行研究^{1,4)}では，ヒラメ

イミダゾールジペプチド摂取が骨格筋カルノシン濃度および短時間高強度運動パフォーマンスに…筋, 前脛骨筋, 腓腓腹筋から信号を得ることで評価しているが, 本研究では, 自転車エルゴメーターを用いたパワー発揮時に主動筋として用いられる外側広筋から測定した。

¹H-MRS 測定は, 3 テスラの MRI (Magnetom Verio, Siemens, Erlangen, Germany) と表面コイル (4-channel Special-Purpose Coil, 7×11 cm) を用いて実施した。被検者は仰臥位で右下腿を固定具に装着し, コイルを右脚外側広筋の中心部に固定した。MR 信号は, 繰り返し時間 (TR)=4,000 ms, エコー時間 (TE)=33 ms, ボクセルサイズ=12 mm×12 mm×20 mm, 積算回数=64, 総取得時間=4.27 分で実施した。絶対定量のための外部基準として, 20 mmol/l カルノシン, 1% 塩化ナトリウム, 0.2% ガドリニウム DTPA を含む水溶液を充填した直径 10.4 cm の円柱容器を使用した¹²⁾。水信号の半値幅が 20–30 Hz の範囲内になるようシミングを行った。

カルノシン濃度は, 以下の式を用いて算出した¹²⁾。

$$C_m = \frac{C_r \cdot S_m \cdot F_{mT1} \cdot F_{mT2}}{S_r \cdot F_{rT1} \cdot F_{rT2} \cdot pT}$$

ここで, C_m は骨格筋カルノシン濃度, C_r は外部基準ファントムの濃度 (20 mmol/l), S_m と S_r は筋とファントムのカルノシンピーク面積, F_{mT1} と F_{mT2} は筋カルノシンの縦緩和時間 (T1) および横緩和時間 (T2) の補正係数, F_{rT1} と F_{rT2} はファントムカルノシンの T1 および T2 の補正係数, pT は温度補正係数である。ここで, 長い TR により筋カルノシンの縦磁化は十分に回復していると考えられるので, F_{mT1} は無視できると仮定できる。また, 外側広筋カルノシンの T2 は先行研究¹²⁾ で報告されている腓腹筋と同等 (92.11 ms) と仮定し, ファントムカルノシンの T1 および T2 は, 同じ成分のファントムを用いて算出した先行研究の値を採用した (それぞれ 560 ms, 66.22 ms)。

2) 運動パフォーマンステスト

運動パフォーマンステストは, 電磁ブレーキ式自転車エルゴメーター (PowerMax VIII, コナミ社製) を用いて, 10 秒間全力ペダリングテストおよび 30 秒間全力ペダリングテストを実施した。

被検者はこれらのテストを何度も実施した経験があり測定に慣れていた。また, 自転車エルゴメーターは実験期間を通じて同じものを使用し, Pre 測定時にハンドルおよびサドルの位置を記録することで毎回の測定を同じ条件で実施した。

なお, 4 週目のテストは, 被検者が出場するマスターズ競技会の直前であったため, 測定を中止した。

10 秒間全力ペダリングテストおよび 30 秒間全力ペダリングテストは, 5 分間の規定のウォーミングアップ終了後, 約 10 分の休息をはさんで 1kp の負荷での 10 秒間全力ペダリングテストを実施し, 最高回転数を記録した。

10秒間全力ペダリングテスト終了後、約3分の休息をはさんで30秒間全力ペダリングテストを体重×0.075kpの負荷で実施し、最高パワー、平均パワー、最高回転数を算出した。いずれのテストもペース配分することなく、運動開始時から全力で漕ぐことを指示し、運動中は検者による口頭での励ましを行った。

II 結果

イミダゾールジペプチドは、1回0.5gを1日3回、合計1.5gを連続32日間にわたってすべて摂取していた。体重はPreが64.4kg、1週間後64.7kg、2週間後64.3kg、3週間後64.3kg、4週間後64.7kg、5週間後65.0kgであり、大きな変化はみられなかった。

図1に骨格筋カルノシン濃度の変化を示した。骨格筋カルノシン濃度は、イミダゾールジペプチド摂取前は4.2mmol/lであったが、摂取後は1週間後に4.6mmol/l(9.5%)、2週間後に5.3mmol/l(26.2%)と増加した。3週間後には4.9mmol/l(16.6%)と低下したが、4週間後に最高値となる5.8mmol/l(38.1%)に増加した。なお、5週間後では5.4mmol/l(28.6%)と4週間後と比較して低下した。

図2に1kpの負荷を用いた10秒間全力ペダリングテストにおける最高回転数の変化を示した。最高回転数は2週間後で最高値を示した後に低下し、摂取前と変わらない値になった。

図3に30秒間全力ペダリングテストにおける平均パワーの変化および最高パワーの変化を示した。平均パワー、最高パワーともに2週間後で最高値を示した後に、低下する傾向にあった。平均パワーおよび最高パワーの最高値の増加率はそれぞれ12.6%、6.7%であった。

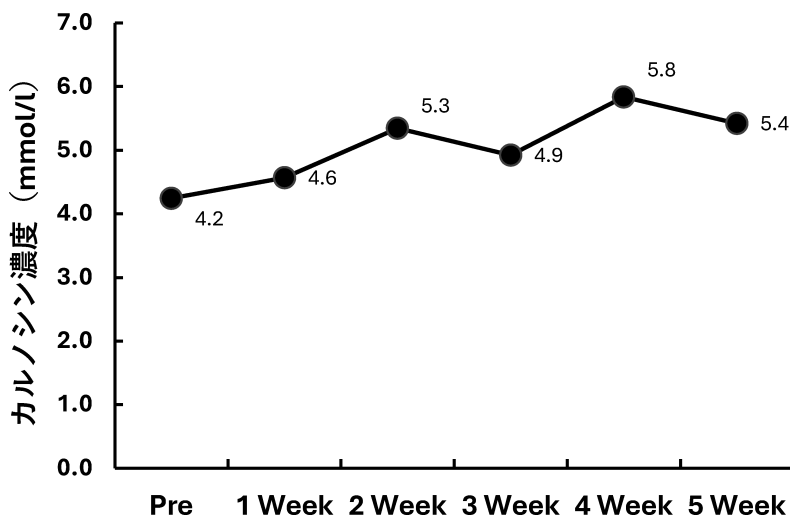


図1 イミダゾールジペプチド摂取による骨格筋カルノシン濃度の経時変化

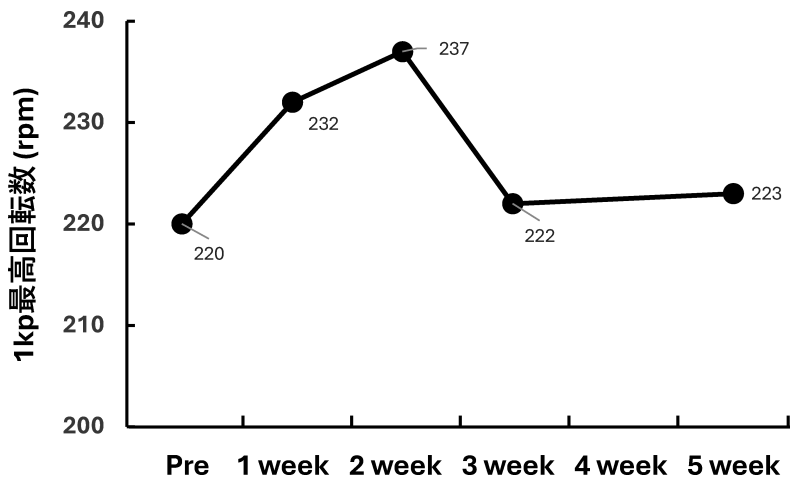


図2 イミダゾールジペプチド摂取による10秒間全力ペダリングテストにおける1kp最高回転数の変化

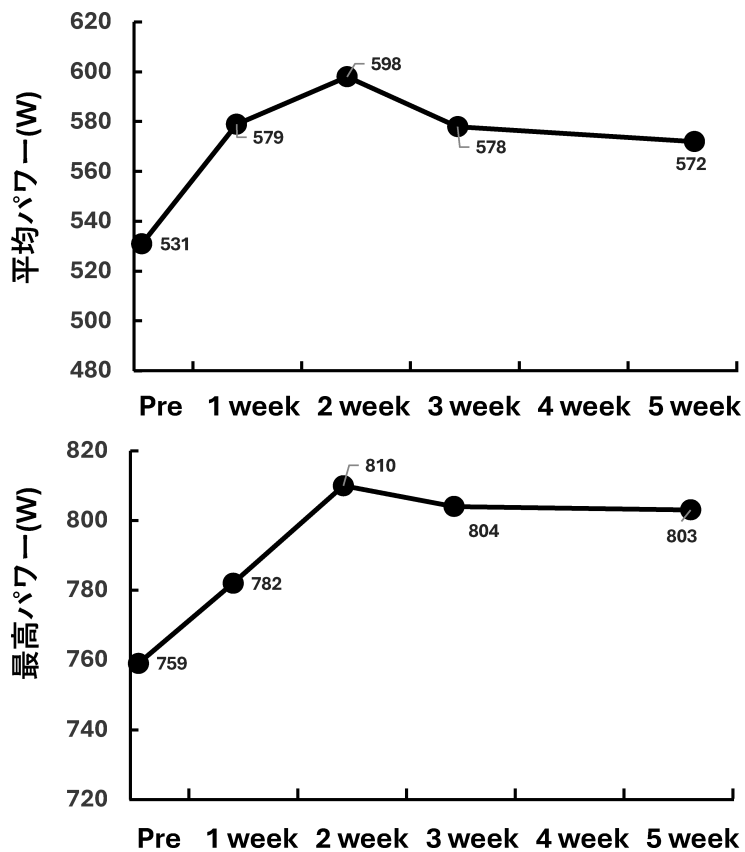


図3 イミダゾールジペプチド摂取による30秒間全力ペダリングテストにおける平均パワーおよび最高パワーの変化

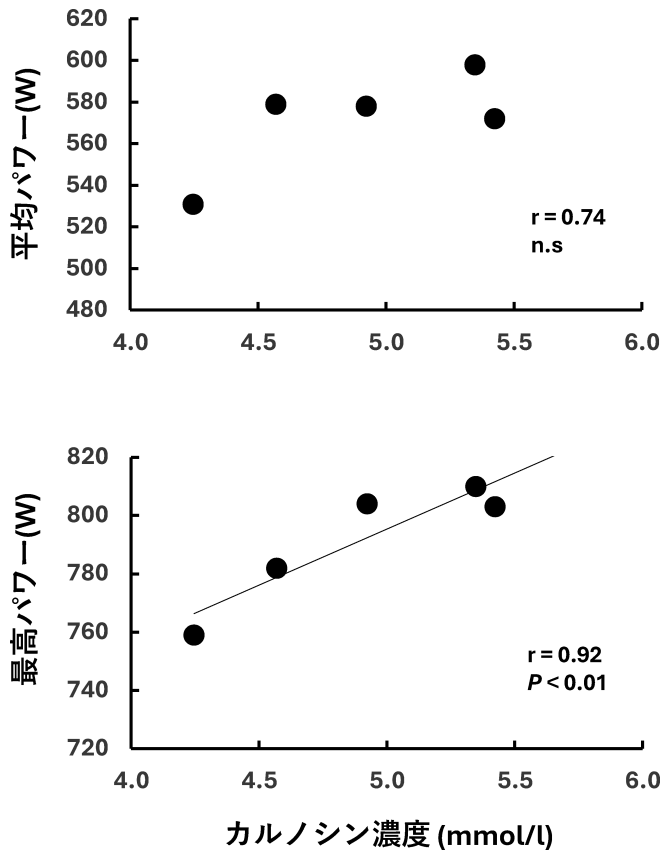


図4 イミダゾールジペプチド摂取によるカルノシン濃度の変化と30秒間全力ペダリングテストにおける平均パワーおよび最高パワーの変化との関係

図4に骨格筋カルノシン濃度の変化と30秒間全力ペダリングテストにおける平均パワーおよび最高パワーの変化との関係を示した。骨格筋カルノシン濃度の増加に伴って、平均パワーおよび最高パワーともに増加する傾向が認められ、平均パワーとの間に有意な相関関係は認められなかった ($r=0.74$, ns) が、最高パワーとの間には有意な正の相関関係 ($r=0.92$, $P<0.01$) が認められた。

IV 考察

1. 骨格筋カルノシン濃度の経時的変化

本研究では、 $^1\text{H-MRS}$ を用いることにより骨格筋カルノシン濃度を非侵襲的かつ経時的に測定することができた。この方法により、従来のバイオプシー法では困難であった詳細な時系列変化の追跡が可能となり、イミダゾールジペプチドの摂取により、骨格筋カルノシン濃

イミダゾールジペプチド摂取が骨格筋カルノシン濃度および短時間高強度運動パフォーマンスに…度が経時的に増加することが確認された。特に、摂取開始後1週間で9.5%、2週間で26.2%、4週間で最大38.1%の増加が観察された。この結果は、Hill et al.⁶⁾ や Baguet et al.¹⁾ の先行研究で報告された β -アラニン摂取による増加パターンと類似している。

しかし、本研究ではイミダゾールジペプチド摂取3週間後に一時的な濃度低下が観察された。この現象は、これまでの研究では報告されていないことから、可能性として、被験者の生活リズムや運動強度の変化、あるいは測定誤差などが考えられる。今後、被験者数を増やし、この現象の再現性や原因を詳細に検討する必要がある。

2. 骨格筋カルノシン濃度と運動パフォーマンスとの関連

30秒間全力ペダリングテストにおける最高パワーの変化と骨格筋カルノシン濃度の変化との間に有意な正の相関関係が認められた ($r=0.92$, $P<0.01$)。また、平均パワーについても、統計的有意ではなかったものの、カルノシン濃度との間に正の相関関係がある傾向が見られた ($r=0.74$, ns)。Suzuki et al.¹¹⁾ はバイオプシーサンプルを用いて評価した骨格筋カルノシン濃度と30秒間全力ペダリングテストにおける平均パワーとの間に有意な正の相関関係 ($r=0.79$, $P<0.01$) が認められたが、最高パワーとの間には有意な正の相関関係は認められなかった ($r=0.60$, ns) ことを報告している。また、Suzuki et al.¹²⁾ は、スプリントトレーニングによる30秒間全力ペダリングテストにおける平均パワーの向上には骨格筋カルノシン濃度の増加が関与していることを示唆している。このことから、骨格筋カルノシン濃度は30秒間全力ペダリングテストにおける最高パワーよりも平均パワーの方がその関係が強いと考えられるが、本研究ではサンプルサイズが小さいため、誤差が大きく平均パワーとの間に統計的有意な関係が認められなかった可能性が考えられる。

興味深いことに、骨格筋カルノシン濃度が4週間後に最高値を示したのに対し、運動パフォーマンス(平均パワー、最高パワー)は2週間後に最高値を示した。この不一致について本研究では明示することができないが、被験者の継続的な水泳および陸上トレーニングが、骨格筋カルノシン濃度とは独立して運動パフォーマンスに影響を与えた可能性がある。例えば、筋グリコーゲン量や中枢性疲労など、骨格筋カルノシン濃度以外の要因が運動パフォーマンスに影響を与えた可能性があり、また、骨格筋カルノシン濃度の増加とそれを効果的に活用する生理学的適応のタイミングが異なる可能性があるが、このことについては今後検討する必要がある。

3. 本研究の限界

本研究には以下の限界が存在する。まず被験者が1名であったため、結果の一般化には注意が必要である。また、4週間後の運動パフォーマンステストが実施できなかったため、データの連続性が損なわれており、運動パフォーマンスの正確な経時変化が不明瞭であった。

さらに、本研究はプラセボ対照群が設定されていないため、観察された効果がイミダゾールジペプチド摂取の直接的な結果であるかどうかの判断が困難である。

V まとめ

本研究では、普段からトレーニングを行っている男性1名を対象に、イミダゾールジペプチド含有飲料の連続摂取による骨格筋カルノシン濃度の変化を¹H-MRSを用いて1週間ごとに測定するとともに、同日に自転車エルゴメーターを用いた運動パフォーマンステストも実施した。その結果、骨格筋カルノシン濃度はイミダゾールジペプチド摂取前と比較して1週間後に9.5%、2週間後に26.2%、3週間後に16.6%、4週間後に38.1%、5週間後に28.6%増加することが確認できた。また、各測定日におけるカルノシン濃度と30秒間全力ベダリングにおける最高パワーとの間に有意な正の相関関係が認められた。

これらの知見は、¹H-MRSを用いた非侵襲的測定法の実行可能性が示され、骨格筋カルノシン濃度と運動パフォーマンスの関連性が改めて示唆されたことから、今後のより大規模な研究のための重要な基礎情報となると考えられる。

謝辞

本研究は、2023年度の東京経済大学個人研究助成費（研究番号23-17）を受けた研究成果である。

参考文献

- 1) Baguet A., Reyngoudt H., Pottier A., Everaert I., Callens S., Achten E., Derave W.: Carnosine loading and washout in human skeletal muscles, *Journal of applied physiology* (Bethesda, Md.: 1985), 106: 837-842, 2009.
- 2) Boldyrev A. A., Aldini G., Derave W.: Physiology and pathophysiology of carnosine, *Physiol Rev*, 93: 1803-1845, 2013.
- 3) Derave W., Everaert I., Beeckman S., Baguet A.: Muscle carnosine metabolism and beta-alanine supplementation in relation to exercise and training, *Sports medicine* (Auckland, N.Z.), 40: 247-263, 2010.
- 4) Derave W., Ozdemir M. S., Harris R. C., Pottier A., Reyngoudt H., Koppo K., Wise J. A., Achten E.: beta-Alanine supplementation augments muscle carnosine content and attenuates fatigue during repeated isokinetic contraction bouts in trained sprinters, *Journal of applied physiology* (Bethesda, Md.: 1985), 103: 1736-1743, 2007.
- 5) Dunnett M., Harris R. C., Soliman M. Z., Suwar A. A.: Carnosine, anserine and taurine contents in individual fibres from the middle gluteal muscle of the camel, *Res Vet Sci*, 62: 213-216, 1997.

- 6) Hill C. A., Harris R. C., Kim H. J., Harris B. D., Sale C., Boobis L. H., Kim C. K., Wise J. A.: Influence of beta-alanine supplementation on skeletal muscle carnosine concentrations and high intensity cycling capacity, *Amino Acids*, 32: 225-233, 2007.
- 7) Holliday R., McFarland G. A.: A role for carnosine in cellular maintenance, *Biochemistry (Mosc)*, 65: 843-848, 2000.
- 8) Ozdemir M. S., Reyngoudt H., De Deene Y., Sazak H. S., Fieremans E., Delputte S., D'Asseler Y., Derave W., Lemahieu I., Achten E.: Absolute quantification of carnosine in human calf muscle by proton magnetic resonance spectroscopy, *Phys Med Biol*, 52: 6781-6794, 2007.
- 9) Saunders B., Elliott-Sale K., Artioli G. G., Swinton P. A., Dolan E., Roschel H., Sale C., Gualano B.: beta-alanine supplementation to improve exercise capacity and performance: a systematic review and meta-analysis, *Br J Sports Med*, 51: 658-669, 2017.
- 10) Stuerenburg H. J.: The roles of carnosine in aging of skeletal muscle and in neuromuscular diseases, *Biochemistry (Mosc)*, 65: 862-865, 2000.
- 11) Suzuki Y., Ito O., Mukai N., Takahashi H., Takamatsu K.: High Level of Skeletal Muscle Carnosine Contributes to the Latter Half of Exercise Performance during 30-s Maximal Cycle Ergometer Sprinting, *The Japanese Journal of Physiology*, 52: 199-205, 2002.
- 12) Suzuki Y., Ito O., Takahashi H., Takamatsu K.: The Effect of Sprint Training on Skeletal Muscle Carnosine in Humans, *International Journal of Sport and Health Science*, 2: 105-110, 2004.
- 13) Wang A. M., Ma C., Xie Z. H., Shen F.: Use of carnosine as a natural anti-senescence drug for human beings, *Biochemistry (Mosc)*, 65: 869-871, 2000.
- 14) 佐藤 三佳子, 鈴木 康弘, 森松 文毅, 高松 薫: トリ胸肉抽出物 (CBEXTM) の長期摂取が骨格筋中カルノシン濃度と短時間高強度運動パフォーマンスに及ぼす影響, *体力科学*, 52: 255-263, 2003.