

## 動脈硬化症とアルギニン，シトルリン

林 登志雄

アルギニンとシトルリンは古くから尿素回路に関連していることが知られていた。20数年前、FurchgottやIgnarroらにより血管内皮依存性弛緩物質として一酸化窒素（NO）が同定され、その多彩な機能の一つとして抗動脈硬化作用が明らかにされるとともに、アルギニンがNO合成酵素の基質としてまず注目され、動物やヒトにおいてアルギニン投与が血管拡張作用を示すことや抗動脈硬化作用を持つ可能性が多く報告された。細胞内アルギニン濃度とNO合成酵素の $K_m$ 値との比からアルギニンパラドックスとしても着目された。その後、進行動脈硬化症や細胞老化の検討が進み、近年は反応物質であるシトルリンの作用にも注目が集まり、アルギニンとの併用療法も含めさまざまな検討が行われている。臨床応用等も始まっている。

### 1. アルギニンについて

L-アルギニン（L-Arg）は尿素回路を構成するアミノ酸として知られていたが、1980年代に一酸化窒素（NO）合成酵素（NOS）の基質であることが明らかになり、注目されるようになった。通常の細胞内L-Arg濃度はNOSの3種類のアイソザイム（eNOS, iNOS, nNOS）すべての基質濃度としては十分で、外因性にL-Argを投与しても活性はほとんど増加しないとされる<sup>1)</sup>。すなわち、血漿および細胞内L-Arg濃度は約100  $\mu\text{M}$ なのに対し、3種類のNOSの $K_m$ 値は0.6~2.2  $\mu\text{M}$ で、細胞内濃度から理論的にはすでに十分な基質濃度に達していることになる<sup>2)</sup>。しかし実際には、外部からのL-Arg追加によりNO産生量は増加し、NOによる生体反応が惹起される（アルギニンパラドックスとしてNO研究者の中ではよく知られた現象だが機序は十分には解明されていなかった）。この説明として、中木らは以下の考え方を紹介している<sup>1)</sup>。1) L-Argにより分泌するインスリンの作用によるという考え方。細胞外L-Argが長期間低濃度だと、細胞内のL-Arg産生のみでは $K_m$ 値よりも高濃度であっても長期のNO産生を維持できない。2) 細胞内L-Arg自身よりも、細胞外のL-Argが輸

送体に運ばれてきたときにeNOS（血管内皮型NOS）の基質となるという考えがある。内因性拮抗物質（ジメチルアルギニン、アグマチン等）が増加すると、より高濃度のL-Argを必要とする。3) 神経細胞内でも細胞外のL-Arg添加により多くの場合NO産生の増加を来し、シトルリン濃度とL-Arg濃度の比がnNOS（神経型NOS）によるNO産生量を決めるとの考え方もある<sup>1)</sup>。

アミノ酸は医学領域では手術後の回復指標であり、高齢者では急性疾患、慢性疾患いずれに罹患しても変動し、栄養指標として確立されているアルブミン濃度との関連で注目されている。後者は生命予後指標としても理解されている<sup>3)</sup>。一方、近年、糖尿病、脂質異常症、動脈硬化症といった生活習慣病との関連でもアミノ酸が注目されてきた。末梢神経障害、脂質代謝制御等、国内からすばらしい研究成果が報告されてきている<sup>4,5)</sup>。我々はL-Argが、NOSの基質であることに着目し検討を行ってきた。NOは血管機能、特に内皮機能の中核物質としてさまざまな作用を示し、主として抗動脈硬化作用を示すことに加え、近年はHDL-コレステロール等の脂質との関連も報告されている<sup>6)</sup>。

### 2. L-アルギニンと血管

ヒトにおける最初の例は中木らの報告で、健常人または本態性および二次性高血圧患者にL-Argを静脈内注射すると（30g/30分）、末梢血管抵抗の低下および血圧低下が生じた。高血圧患者では血圧が正常範囲にまで低下し、血漿サイクリックGMP（cGMP）濃度および硝酸イオン、亜硝

名古屋大学医学部老年内科（〒466-8550 名古屋市昭和区鶴舞町65）

**The role of L-Arginine and L-Citrulline on atherosclerosis**  
Toshio Hayashi (Department of Geriatrics, Nagoya University Graduate School of Medicine, 65 Tsurumai-cho, Showa-ku, Nagoya City 466-8550, Japan)

酸イオンの尿中排泄増加を伴っていた<sup>7,8)</sup>。尿中硝酸イオン、亜硝酸イオンのクレアチニン補正值およびcGMP濃度は、生体内のNO産生を反映していることが確認された<sup>9)</sup>。L-Argの作用はNO産生と関連したのである。プラセボを用いた二重盲験法にて、0.5 g/kgのL-Argを30分間静脈内に注入すると、血圧が低下し、呼気中NOおよび血漿シトルリン濃度が増加し、血圧低下と呼気中NO量との間には有意な相関関係があった<sup>10)</sup>。L-Arg注入にて脳血流量が26%増加し、この作用はeNOSノックアウトマウスではみられなかった。さらにシンバスタチンによりeNOS発現量を増加させたマウスではL-Argによる血流増加がさらに増強された<sup>11)</sup>。このことは、L-ArgがNOSを介して作用していることを示す。ラットでもL-Arg静脈内投与にて一過性の降圧を認め、NOS阻害薬メチルアルギニンにて抑制された。ラット総頸動脈内にカテーテルを用いてL-Arg(30 mg/kg)を注入すると、軟膜の小動脈が拡張し、血流量が増加し、これらはNOS阻害薬L-NAMEにより抑制された。D-Argに作用はなかった<sup>12)</sup>。L-Argは塩基性アミノ酸で、ほかの塩基性アミノ酸リシン、オルニチンからなるペプチドは血管平滑筋のグアニル酸シクラーゼを活性化してcGMPを増加させ、血管を弛緩させたとされる<sup>13)</sup>。高脂血症に伴う血管障害に対して、D-Argではなく、L-Argの慢性負荷によってアセチルコリンの作用が回復したり、内膜肥厚が抑制されたという報告があるが後述のように異論もある<sup>14,15)</sup>。冠動脈疾患の患者では(内皮依存性)血管拡張が低下しており、正常健常者とは異なりL-Argの冠動脈内注射により血管が拡張した<sup>16)</sup>。酸化LDLは血管内皮細胞へのL-Arg取り込みを低下させるが、L-Argを細胞外に補うことによりNO産生能を回復させることが

できた<sup>17)</sup>。L-アルギニンと酸素を基質としてシトルリンとともに産生されるNOは、血管内皮機能を調節し、生活習慣病、動脈硬化、老化の予防因子である。動脈硬化症に限らず、その前段階やさまざまな状態で血管内皮機能が低下していることも知られている。

食品成分でもあるL-Argだが、1998年に循環器系における情報伝達物質としてのNOに関する発見(故Furchgott教授、Ignarro教授、Murad教授)がノーベル賞に輝き、さらに世界的に注目されるようになった<sup>18)</sup>。全論文数の1%がNO関係であるとされた年もある。しかし、L-Arg補充は初期動脈硬化症の進展予防には有効ながら、進行病変では有用でないこと、さらにヒトに経口投与した際には(一時米国ではL-Arg含有ガム等も発売された)初期の動物実験等の報告と異なり予想どおりの抗動脈硬化作用が得られないことが2000年ごろから報告され始めた<sup>19~21)</sup>。家兎に高脂肪食負荷を続け、動脈硬化症が発症する段階となると、摘出血管ではL-Argを加えてももはやアセチルコリン等の刺激による血管反応性は改善せず、動脈硬化症の進展も抑制できなかった。前述のようにNO合成酵素の $K_m$ と血中L-Arg濃度の差がアルギニンパラドックスの一面として観測された<sup>20)</sup>。しかし、この状況下でシトルリンを追加すると、血管反応性も改善し、動脈硬化症の進展も抑制された<sup>22)</sup>(図1)。この原点となったのがNO合成酵素の反応物質であるL-シトルリン(L-Cit)からL-アルギニン(L-Arg)を生成する経路、シトルリン-アルギニン経路(図2)である。この経路は、プロスタグランジンの発見でノーベル医学生理学賞を受賞した故John Vane教授らが報告し、血管内皮にも存在することを示した<sup>21)</sup>。筆者らはこれらに基づき、L-CitおよびL-Arg+L-Citの抗動脈硬化作用をin

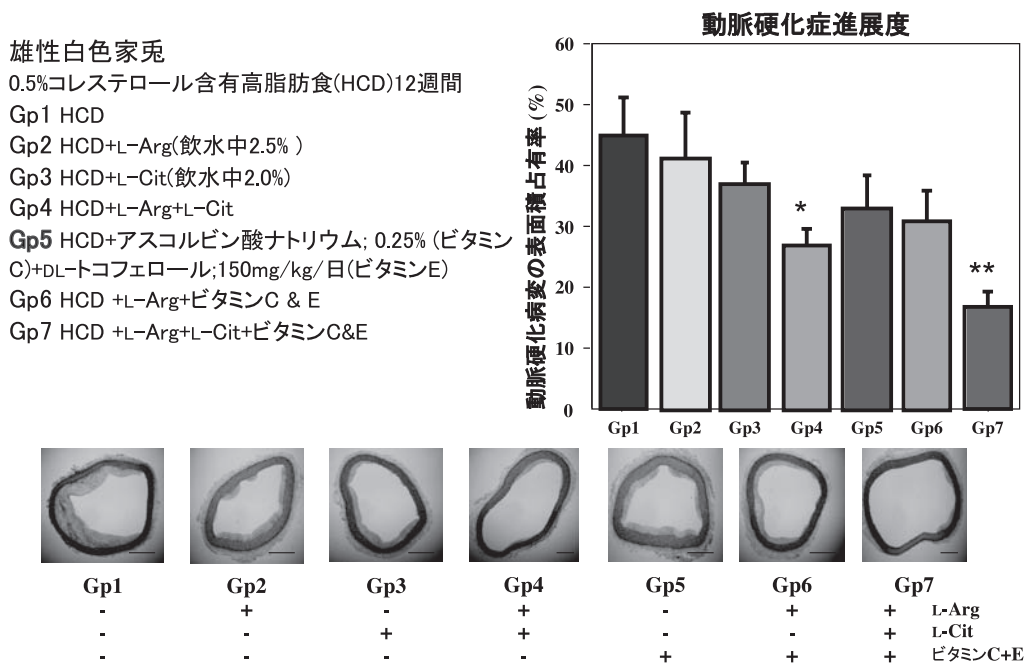
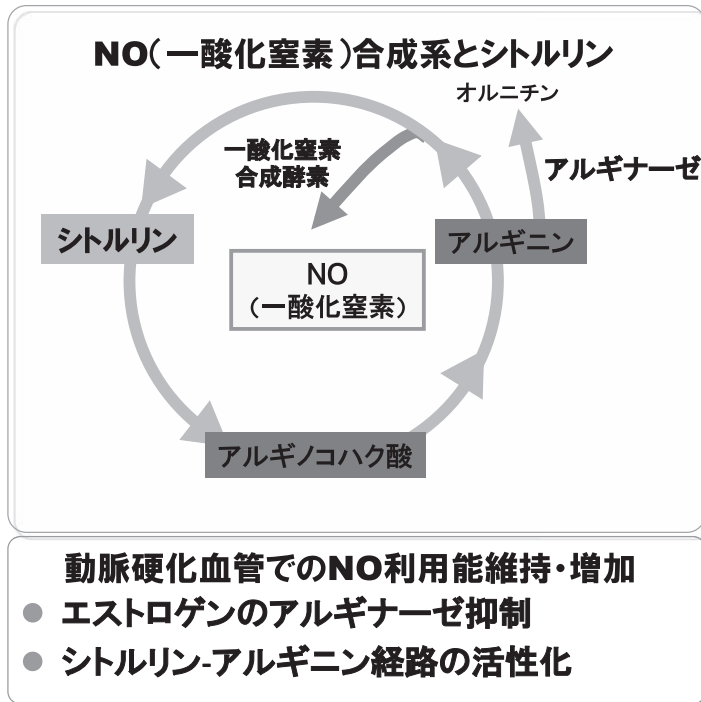


図1 家兎高脂肪食負荷動脈硬化症におけるアミノ酸(L-アルギニン、L-シトルリン)の効果  
高脂肪食負荷家兎にL-アルギニンにL-シトルリンを追加して経口投与すると、血管反応性も改善し、動脈硬化症の進展も抑制された。文献22より改変。

# NOサイクル



参考)エストロゲンはアルギナーゼII抑制によりNO活性を高める

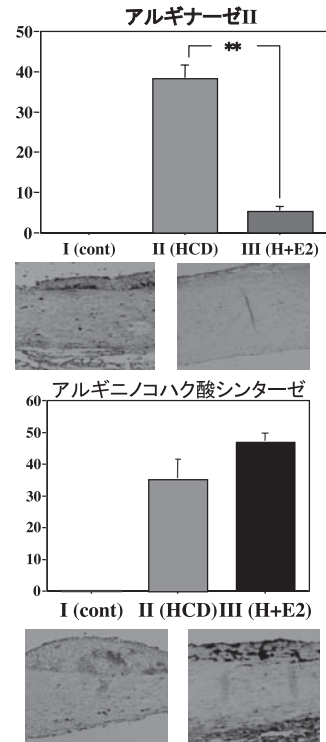


図2 NO回路におけるシトルリンの役割  
右側の図表は文献33より改変。

vivo で初めて証明したのである<sup>22)</sup>。さらにはシトルリン-アルギニン経路を介する内在性 L-Cit およびアルギナーゼ等がNOの生物学的有効性 (bioavailability) に重要な役割を果たすことをエストロゲンの作用との対比も含めて報告した<sup>23)</sup>。以下にL-Citの項を設け概説する。

### 3. L-シトルリンとは

L-シトルリン (L-Cit) は尿素回路を構成する化合物の一つで、1930年に日本の研究者によって、スイカの果汁から発見された。動物、特に哺乳類で広く存在する (表1に食品に含まれるシトルリン含有量を示す)。化学式はC<sub>6</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>、2-アミノ-5-(カルバモイルアミノ)ペンタン酸であり、分子量は175.2である。「シトルリン (citrulline)」という名前は、スイカの学名である *Citrullus vulgaris* に由来する。

20世紀中ごろには、人間の体内でシトルリンが重要な役割を果たしていることが明らかになり、さらに1998年、前述のように、ノーベル賞に一酸化窒素 (NO) が取り上げられ、NO合成酵素による産物としてあらためて脚光をあげ、L-Argより数年遅れでこの分野での研究が活発に行われるに至った。

L-Citは生体内でタンパク質を構成しない。すなわち、DNAによってコードされコドンで指定されるアミノ酸ではなく、通常はタンパク質に含まれない遊離アミノ酸の一

つとして体内を巡る。遊離状態でしか存在しないアミノ酸は、L-Citのほか、オルニチンやGABAなどが知られ、細胞内や血液中など、体中に存在する。食品ではスイカを筆頭にウリ科の植物に多く含まれ、肉や魚では補えない、個性的なアミノ酸である。

L-Citは、ミトコンドリアでオルニチントランスカルバモイラーゼによって触媒されるオルニチンとカルバモイルリン酸の反応によりリン酸とともに生成される。また、細胞質でアスパラギン酸、ATPと反応し、オルニチンとAMP、ピロリン酸となる。この反応はアルギノコハク

表1 食品に含まれるシトルリン含有量

食品名	シトルリン量 (100gあたり)	シトルリン800mg相当の目安
スイカ	180 mg	1/7 個
メロン	50 mg	1.3 個
冬瓜	18 mg	3.8 個
キュウリ	9.6 mg	56.5 本
ニガウリ	16 mg	24.2 本
ヘチマ	57 mg	7.7 本
クコの実	34 mg	2.3 kg
ニンニク	3.9 mg	290 個

※シトルリン800mgは文献等で推奨される1日の摂取量目安。ウリ科の植物に比較的多く含まれる。

酸シンターゼによって触媒され、この酵素が欠けると血中にL-Citが蓄積し尿中にも排出されシトルリン血症（シトルリン尿症）を発症する（図2参照）。またL-CitはNOSに触媒される反応の副産物としてL-Argと酸素からNOとともに合成される。まず酸化されたL-ArgはN-ヒドロキシ-L-アルギニンとなり、NO放出と同時にさらに酸化されL-Citとなる（図2参照）。

L-Citはタンパク質に組み入れられないが、いくつかのタンパク質はL-Citを含む。これらのシトルリン残基は、シトルリン化または脱イミノ化によりL-ArgをL-Citに変換するペプチジルアルギニンデアミナーゼ（PAD）と呼ばれる酵素によって作られる。通常シトルリン残基を含むタンパク質にはミエリン塩基性タンパク質（MBP）、フィラグリン、いくつかのヒストンタンパク質などがあり、フィブリンやビメンチンなどほかのタンパク質も細胞死や組織の炎症中にシトルリン化されることがある。

#### 4. L-シトルリンの臨床的役割

L-Citは臨床的に注目され始めている。関節リウマチ患者はしばしば（少なくとも80%）L-Citを含むタンパク質に対する免疫反応を起こす<sup>23)</sup>。この免疫反応の原因は不明だが、L-Citを含むタンパク質やペプチドと反応する抗体の検出は最近、関節リウマチの診断の重要な手がかりとなっている。

L-CitはL-Argを含む大半のアミノ酸と異なり、肝臓の初回通過を免れる（経口投与にて消化管から吸収され門脈に入ると、全身を循環する前に肝臓を通過する。このとき、肝臓に多く発現している種々の代謝酵素によって、代謝されることを初回通過効果という）。最近の研究によるとL-Citを強化配合した食事を栄養失調の高齢ラットに投与したところ、筋肉のタンパク質合成を顕著に刺激した。それに伴い筋肉中のタンパク質量も有意に増大した<sup>24)</sup>。

L-Citは体内でアミノ酸“L-Arg”に変換することにより多くの有益な効果がある。たとえばアスリートにとっては、栄養素供給の最適化、直接的な筋肉タンパク質合成活性化、アナボリックホルモンのサポートなどである。欧州で頻用されるL-Citとリンゴ酸の化合物に関する研究では、L-Citが運動によって生じる乳酸やアンモニアなどの廃棄副産物の除去をスピードアップするとともにエネルギー生成を促進したという。

L-Citはユニークなサプリメントで、L-Argを直接摂取するよりも効果的にアルギニンの血漿レベルを上昇させる。経口アルギニンは大部分が肝臓でアルギナーゼ等により代謝されてしまうの比べ、L-Citは代謝されないためと考えられている。L-ArgからのNO合成の副産物としてのL-Citも、L-Argを摂取するよりも効果的に血漿L-Arg濃度を上昇させる。そして体内のL-Citは腎臓やその他の組織に取り込まれてL-Argに変換する。そのため内因性アルギニンの濃度上昇にはL-Argを使用するよりもL-Citを使う方

がより得策と思われる。このことは、3~6gのL-Citの摂取で鎌状赤血球貧血症患者の血漿L-Arg濃度が60%増大し、健康体成人では2倍に増大したことを明らかにした研究によって裏づけられる。これは同様の用量のL-Argを使用した場合の結果を30%上回っている<sup>25)</sup>。

L-CitはL-ArgやL-オルニチンとともに運動効率を高めることを示した研究や、プラセボよりもL-Cit投与群の方が運動後の血漿インスリン濃度が低かったという研究もある<sup>26)</sup>。L-Citが運動によるNOを介するインスリン反応を低下させたためかもしれないが、さらなる検討が必要と思われる。L-Citはインスリン分泌を刺激して間接的に作用する。L-Cit投与ラットは高齢の健康体ラットよりもインスリン血症は少ないままであったが、対照群に比べインスリンのレベルが有意に上昇したことは注目に値する。これは、インスリン分泌の強力な促進剤として知られるアルギニン濃度が高まった結果とも考えられる。しかし生理的濃度のL-Citがラットから分離した豚島からのインスリン分泌を増大することが最近明らかにされており、効果は本質的にL-Citに関連するようでもある。

#### 5. 代謝経路から見たL-シトルリン

代謝経路から見たL-Citの代表的機能を俯瞰する。

1) 尿素回路における働き。尿素回路は、体内で不要になったアミノ酸を処理する際に出るアンモニアを無毒化する機構で、肝細胞内にある。アンモニアは体にとって有害なため、無害な尿素に変わる。L-Citは、L-Argやオルニチンなどととともに、この尿素回路を円滑に機能させる。L-Citが不足すると、アンモニアが体内に蓄積しさまざまな障害が出る。たとえば「リシン尿性タンパク不耐症」では、先天的にある種のアミノ酸を吸収できないため、体内でL-Citが欠乏する<sup>27)</sup>。そのため、血中のアンモニア濃度が上昇するが、シトルリン摂取で症状は著しく改善される。この病児の母親いわく、昔から好んでスイカをたくさん食べていたという。人間にはシトルリンの欠乏を感知し、それを補おうとする能力があるのかもしれない。

2) NO回路における働き。NO回路は血管研究から明らかにされた。血管内皮細胞では、NO合成酵素によりアルギニンと酸素からNOとシトルリンが合成される。NOが放出されると血管が拡張し、十分量の血液が体内を循環できる。この機序を解明した米国のIgnarro氏ら3博士には、1998年にノーベル生理学・医学賞が贈られた。このほか、NOには神経系、免疫系への作用もある。L-CitはNO回路に関わり、生体にとって欠かせないNO産生を促す。NOを直接作り出すのはL-Argと酸素だが、L-ArgはL-Citから変換されるため、L-CitもNO合成に欠かせないと考えられている。両者は分子構造が非常に似ており、尿素回路やNO回路においては、互いに交換し合いながら、協同して働く。しかし、その吸収と代謝は大きく異なり、肝臓と腎臓の関与は上述したが、L-CitはL-Argと比べて

きわめて毒性が少なく、大量に飲んでも安心で、L-Arg とは別の経路で細胞内に取り込まれ、速やかにL-Arg に変換される。L-Citには優れた抗酸化作用があることや、肥満の人ではL-Citが欠乏していることなども指摘されている<sup>28)</sup>。

6. L-シトルリンと動脈硬化

L-Citと動脈硬化の関係をみてみよう。L-CitにはNO産生を促す作用があるが、動脈硬化に対してはどうか。動脈硬化を起こす高コレステロール含有飼料を与えた家兎で、L-Citに加え、L-Argと抗酸化剤ビタミンC、Eを用い動脈硬化予防効果を調べた<sup>22)</sup>。結果は、血管断面(図1)からもわかるように、コントロール群(Gp1)に比べて、他のすべての群で動脈硬化の進行抑制が認められた。特に成績がよかったのは、「L-アルギニン+L-シトルリン摂取群」(Gp4)、「L-アルギニン+L-シトルリン+抗酸化剤摂取群」(Gp7)などで、NO産生に関わるL-CitやL-Argと、抗酸化剤であるビタミンCやEは、異なるメカニズムで動脈硬化を抑え、それぞれの作用は相加的に重なり合うことが示唆された(図3)。最後に、糖尿病を引き起こすインスリンは、細胞の老化と密接な関係がある。L-CitやL-Argには細胞老化抑制効果も指摘され、今後の検討課題として興味深い。

7. L-シトルリンと細胞老化

老化は最も影響の大きい動脈硬化危険因子の一つである。NOの生物学的有効性は細胞老化により制限されるが、NOの老化そのものに対する効果は不明な点も多い。「ヒトは血管とともに老いる」といわれるように、成人以降の血管には普遍的に大動脈硬化症および冠動脈内膜肥厚が認められ、虚血性心血管病の発症母体となっている。進行動脈硬化病変は粥腫に血管新生も多く認め破裂しやすく、また内皮機能低下による血栓もできやすい。高齢者に普遍的な進行動脈硬化病変の病態生理、治療を念頭に検討を進めた。家兎に6~9週のコレステロール含有食を負荷し作製した動脈硬化症を退縮させる目的で、各々普通食に戻し9~36週追跡したが退縮は認めなかった<sup>29)</sup>。ただし6週間の脂質負荷で病変が脂肪線状の段階では、普通食により内皮依存性血管反応の改善を認め、さらにスタチン製剤を同時投与すると退縮傾向も認めた。9週負荷での進行動脈硬化病変の退縮は認めなかった。病変の壊死層周囲にiNOS(誘導型NOS)および、NOと活性酸素の反応物peroxynitriteを認めた。治療手段としてのNOの可能性を検討するべく、NO産生酵素(eNOS, iNOS)のアデノウイルスベクターを作製した。バルーン擦過+コレステロール食負荷で作製した家兎腹部大動脈進行動脈硬化病変にeNOS, iNOSおよび双方をカテーテルで導入し1週後に評

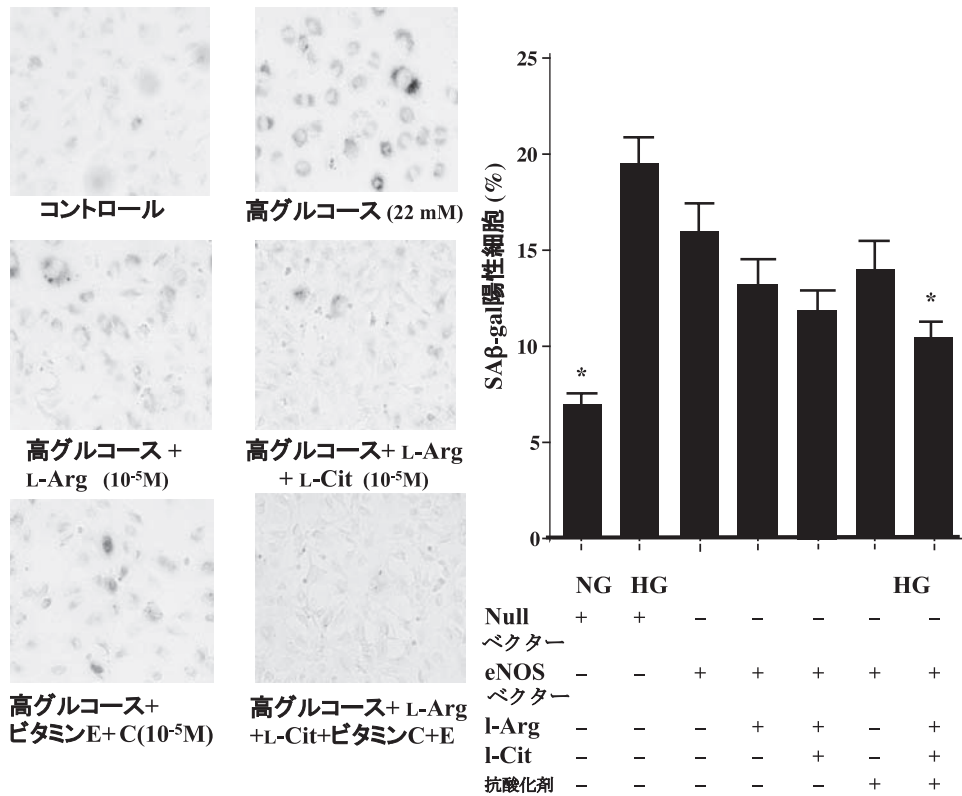


図3 L-アルギニン、シトルリンおよび抗酸化剤は高グルコース誘導血管内皮細胞老化を抑制する  
文献31から改変。

価した。eNOS 導入群にのみ軽度の退縮効果（断面積比で約 20% 改善）を認め、血管壁遊離コレステロールの減少によると判定した<sup>30)</sup>。さらに、L-Arg および L-Cit 同時投与により遺伝子導入効果が改善し、進行動脈硬化病変では L-Arg 単独では NOS 活性化作用が減弱するが、L-Cit 同時投与によりシトルリン-アルギニン経路、NOS も活性化され抗動脈硬化作用を認めた。

テロメアは真核生物の染色体末端の反復した DNA 配列で、細胞分裂ごとに短縮する。テロメアの長さが短くなると老化 (replicative senescence) を引き起こす。テロメラーゼは RNA-タンパク質複合体で、新しいテロメア反復配列を合成し、テロメア長を修復する。テロメラーゼ発現の変化は正常細胞の細胞老化とがん細胞の不死化に深く関わり、血管内皮細胞のテロメラーゼ活性は、腫瘍細胞に比べ一桁以上低いが、近年測定感度を高めることが可能になり研究が進んだ。剖検させていただいた高齢者の大動脈では内腔側の複雑病変を除く動脈硬化進展部位に老化指標物質 senescence associated  $\beta$ -galactosidase (SA- $\beta$ -gal, ライソゾム含有物) を認めた<sup>31)</sup>。冠動脈においても動脈硬化の強い血管分岐部を中心にやはり内膜面に SA- $\beta$ -gal が陽性であった。耐性の生じにくい NO ドナーとして DETA/NO を用いると濃度、時間依存性に SA- $\beta$ -gal 活性が低下しテロメラーゼ活性は上昇した。eNOS 導入時も同様の成績を得た。内因性の NOS が無い細胞として HEK293 細胞を用い、eNOS を導入すると NO 産生が増えテロメラーゼ活性も上昇した。ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) でも同様であった。

## 8. グルコース、糖尿病と細胞老化、NO

高グルコース下の培養にて eNOS タンパク質量、NO 産生が抑制されたが、L-Arg、L-Cit あるいは抗酸化剤 (ビタミン C と E) 添加により回復した<sup>31)</sup>。SA- $\beta$ -gal 陽性細胞は高グルコース処理で有意に増加した。L-Arg、L-Cit さらには抗酸化剤を入れると、各々この陽性細胞数を減少させ、効果を相加的に認めた (図 3)。NO の抗細胞老化作用の臨床応用を目指し、エストロゲンやバイオマーカー等も含め、検討している<sup>32~39)</sup>。

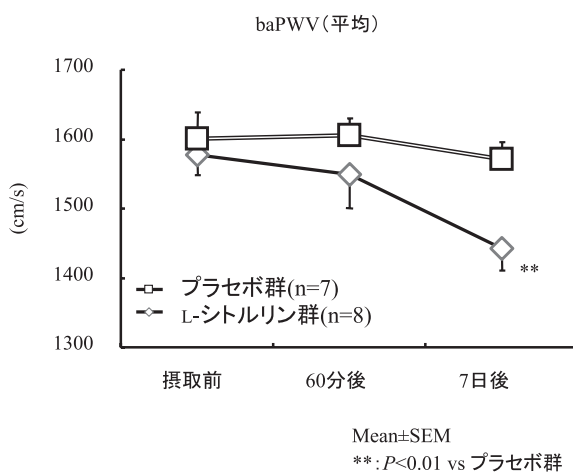
## 9. 最近の研究成績

1) L-Arg、L-Cit を普通食負荷家兎に経静脈的に、動脈硬化形成遺伝子改変マウス (apo E ノックアウトマウス ApoE-KO, LDL 受容体ノックアウトマウス LDL-R-KO) に経口長期投与し、非投与群との動脈硬化形成度、血管内皮機能、血管活性酸素産生能等を検討した。

i) 家兎経静脈投与後血中アルギニン濃度は L-Arg + L-Cit 群に投与後 1 時間で血中アルギニン濃度、NOx (NO 代謝物) および cGMP 濃度の上昇を認めた。さらに単独アミノ酸群ではシトルリン群の方が持続的に血中アルギニン濃度、血漿 NOx および cGMP 濃度の上昇を認めた。レーザードップラー血流も確認した。

ii) マウス経口持続投与後血漿 NOx および cGMP 濃度：ApoE-KO 群では NOx 濃度はアルギニン群に高く動脈硬化形成は低下する傾向にあった。LDL-R-KO 群では NOx 濃度はシトルリン群、A+C 群で高く、動脈硬化

## 結果: baPWV 経時変化



7日間摂取により、L-シトルリン群ではプラセボ群に比べて有意に baPWV が低下した ( $P<0.01$ )

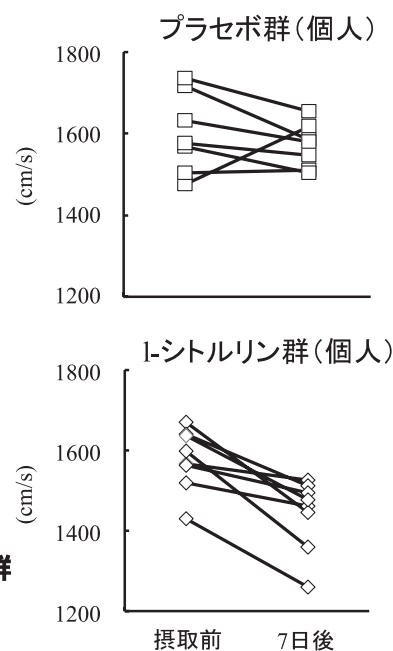


図 4 L-シトルリン短期経口摂取により有意に血管弾力性が改善  
文献 40 から改変。

形成は A+C 群で低下傾向にあった。

iii) 生活習慣病モデルでの成績：糖尿病モデルが高血圧モデルより顕著に出た。

2) 中高年男性で脈波 (PWV) 値がやや高め (1,400 以上) の例にシトルリンを投与し, PWV 値および各種指標の変動を検討した。二重盲検無作為化プラセボ対照並行群間比較試験として 15 名の上腕/手首脈波 (baPWV: 動脈 stiffness の指標) が 1,400 cm/秒以上の健常男性 (年齢: 58.3 ± 4.4 歳) に 5.6 g/日の L-Cit 群 (n=8) またはプラセボ (n=7) を 7 日間投与し, baPWV およびさまざまな臨床指標を L-Cit 群またはプラセボ服用前後に測定した。結果は, プラセボ群に比し, L-Cit 群は baPWV が有意に低下した (図 4)。2 群間に血圧の差はなく, 血圧と baPWV の間にも相関を認めなかった。血漿 NO 代謝物 (NO<sub>x</sub>, NO<sub>2</sub> と NO<sub>3</sub>) は有意に L-Cit 群で低下した (p<0.05)。血漿シトルリン群, アルギニンおよびアルギニン/非対照型ジメチルアルギニン (ADMA) の比, NO 合成酵素の内因性阻害剤 (アルギニン/ADMA 比) はいずれも L-Cit 群で有意に低下していた。さらに, 血漿アルギニン値と baPWV 低下には相関を認めた (r = -0.553, p<0.05)。当所見は短期間の L-Cit 投与がヒトの血圧とは独立して動脈の stiffness を機能的に改善させられる効果を示したものである<sup>40)</sup>。

3) 現在, 上記を踏まえ, L-Cit および L-Arg 投与が動脈硬化の進展, 血管老化, ならびに NO 産生機構等に与える影響について機序と臨床応用の可能性をさらに検討している。血管内皮細胞を用い, 動脈硬化症の主要発症要因である生活習慣病, 糖尿病, 脂質異常症, 高血圧症の各刺激が血管老化にどう作用するかを各種老化マーカーを用い検討し, さらに, その機序を検討している。アルギニンパラドックスの解明も含め各々の細胞間トランスポーターの siRNA を用い, 検討している。最後に, 糖尿病自然発症動脈硬化形成ラットを用い, *in vivo* で糖尿病における L-Cit の作用を検討している。近い将来その報告ができると思われる。

## 10. おわりに

HUVEC にて, L-Cit は老化抑制作用および血管内皮機能改善作用を持つ可能性が示唆された。老化抑制は①テロメラーゼ活性を回復させる生理的 replicative senescence の抑制の可能性, ② NO 産生や, NO に拮抗する活性酸素種 ROS 抑制作用が働いている可能性, ③結果として機序としてのアルギニンパラドックスが解明される可能性を念頭に, 各種 siRNA を用いて検討している。以上の結果を踏まえ, 高血糖動脈硬化モデルラットでの, 血糖への影響, 内皮機能, 細胞老化の検討も開始している。

生活習慣病刺激により細胞老化が動脈硬化刺激 (血管内皮機能低下) とともに, さまざまな形で惹起され, その老

化に対し L-Arg 以上に L-Cit が予防効果を示す可能性がある。機序として従来の血液循環動態, 肝, 腎通過効果による作用に加え, 細胞内のアミノ酸トランスポーターの寄与もあるかもしれない。細胞内外アミノ酸濃度等, 一部解釈の難しい面もあり, 今後も着実に機序の検討を進めるとともに, 今回明らかになった糖尿病モデルを軸に, 進行糖尿病, 高齢者 (耐糖能異常を自然発症), メタボリック症候群 (インスリン抵抗性症候群) 等を念頭に層別化した各種病態モデルで知見を増していくことが有用だと思われる。

## 文 献

- 1) 中木敏夫, 菱川慶一 (2002) 日本薬理学会誌, 119, 7-14
- 2) Garvey, E.P., Furfine, E.S., & Sherman, P.A. (1996) *Methods Enzymol.*, 268, 339-349.
- 3) Hayashi, T., Osawa, M., Funami, J., Miyazaki, A., & Iguchi, A. (2007) *J. Am. Geriatr. Soc.*, 55, 1398-1403.
- 4) Kalloniatis, M. (1995) *J. Am. Optom. Assoc.*, 66, 750-757.
- 5) Pernow, J. & Jung, C. (2013) *Cardiovasc. Res.*, 98, 334-343.
- 6) Luiking, Y.C., Ten Have, G.A., Wolfe, R.R., & Deutz, N.E. (2012) *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 303, E1177-E1189.
- 7) Nakaki, T., Hishikawa, K., Suzuki, H., Saruta, T., & Kato, R. (1990) *Lancet*, 336, 696.
- 8) Hishikawa, K., Nakaki, T., Suzuki, H., Saruta, T., & Kato, R. (1991) *Lancet*, 337, 683-684.
- 9) Boger, R.H., Bode-Boger, S.M., Gerecke, U., Gutzki, F.M., Tsikas, D., & Frolich, J.C. (1996) *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 23, 11-15.
- 10) Mehta, S., Stewart, D.J., & Levy, R.D. (1996) *Chest*, 109, 1550-1555.
- 11) Yamada, M., Huang, Z., Dalkara, T., Endres, M., Laufs, U., Waerber, C., Huang, P.L., Liao, J.K., & Moskowitz, M.A. (2000) *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 20, 709-717.
- 12) Morikawa, E., Rosenblatt, S., & Moskowitz, M.A. (1992) *Br. J. Pharmacol.*, 107, 905-907.
- 13) Ignarro, L.J., Gold, M.E., Buga, G.M., Byrns, R.E., Wood, K.S., Chaudhuri, G., & Frank, G. (1989) *Circ. Res.*, 64, 315-329.
- 14) Gierd, X.J., Hirsch, A.T., Cooke, J.P., Dzau, V.J., & Creager, M.A. (1990) *Circ. Res.*, 67, 1301-1308.
- 15) Nakaki, T. & Kato, R. (1994) *Jpn. J. Pharmacol.*, 66, 167-171.
- 16) Tousoulis, D., Davies, G.J., Tentolouris, C., Crake, T., Katsimaglis, G., Stefanadis, C., & Toutouzas, P. (1998) *Am. J. Cardiol.*, 82, 1110-1113.
- 17) Vergnani, L., Hatric, S., Ricci, F., Passaro, A., Manzoli, N., Zuliani, G., Brovkovich, V., Fellin, R., & Malinski, T. (2000) *Circulation*, 101, 1261-1266.
- 18) Ignarro, L.J., Buga, G.M., Wood, K.S., Byrns, R.E., & Chaudhuri, G. (1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 84, 9265-9269.
- 19) Hayashi, T., Matsui-Hirai, H., Fukatsu, A., Sumi, D., Kano-Hayashi, H., Rani, P. J.A., & Iguchi, A. (2006) *Atherosclerosis*, 187, 316-324.
- 20) Chowienzyk, P. & Ritter, J. (1997) *Lancet*, 350, 901-902.
- 21) Hecker, M., Sessa, W.C., Harris, H.J., Anggård, E.E., & Vane, J.R. (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87, 8612-8616.
- 22) Hayashi, T., Juliet, P.A., Matsui-Hirai, H., Miyazaki, A., Fukatsu, A., Funami, J., Iguchi, A., & Ignarro, L.J. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 102, 13681-13686.
- 23) O'Dell, J.R. (2004) *N. Engl. J. Med.*, 350, 2591-2602.
- 24) Moinard, C. & Cynober, L. (2007) *J. Nutr.*, 137, 1621S-1625S.

- 25) Kaore, S.N., Amame, H.S., & Kaore, N.M. (2013) *Fundam. Clin. Pharmacol.*, **27**, 35–50.
- 26) McKnight, J.R., Satterfield, M.C., Li, X., Gao, H., Wang, J., Li, D., & Wu, G. (2011) *Front Biosci.*, **3**, 442–452.
- 27) Sebastio, G., Sperandio, M.P., Andria, G. (2011) *Am. J. Med. Genet. C. Semin. Med. Genet.*, **157C**, 54–62.
- 28) Meldrum, D.R., Gambone, J.C., Morris, M.A., Meldrum, D.A., Esposito, K., & Ignarro, L.J. (2011) *Am. J. Cardiol.*, **108**, 599–606.
- 29) Hayashi, T., Yamada, K., Esaki, T., Kano, H., Asai, Y., Thakur, N. K., Jayachandran, M., Sumi, D., & Iguchi, A. (1999) *Atherosclerosis*, **147**, 349–367.
- 30) Hayashi, T., Sumi, D., Juliet, P.A., Matsui-Hirai, H., Asai-Tanaka, Y., Kano, H., Fukatsu, A., Tsunekawa, T., Miyazaki, A., Iguchi, A., & Ignarro, L.J. (2004) *Cardiovasc. Res.*, **61**, 339–351.
- 31) Hayashi, T., Matsui-Hirai, H., Miyazaki-Akita, A., Fukatsu, A., Funami, J., Ding, Q.F., Kamalanathan, S., Hattori, Y., Ignarro, L.J., & Iguchi, A. (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 17018–17023.
- 32) Hayashi, T., Esaki, T., Sumi, D., Mukherjee, T., Iguchi, A., & Chaudhuri, G. (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 10485–10490.
- 33) Fukatsu, A., Hayashi, T., Miyazaki-Akita, A., Matsui-Hirai, H., Furutate, Y., Ishitsuka, A., Hattori, Y., & Iguchi, A. (2007) *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, **293**, H290–H297.
- 34) Miyazaki-Akita, A., Hayashi, T., Ding, Q.F., Shiraishi, H., Nomura, T., Hattori, Y., & Iguchi, A. (2007) *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **320**, 591–598.
- 35) Hayashi, T., Juliet, P.A., Miyazaki, A., Ignarro, L.J., & Iguchi, A. (2007) *Biochim. Biophys. Acta*, **1772**, 364–372.
- 36) Kishimoto, N., Hayashi, T., Sakuma, I., Kano-Hayashi, H., Tsunekawa, T., Osawa, M., Ina, K., & Iguchi, A. (2010) *Int. J. Cardiol.*, **145**, 21–26.
- 37) Matsui-Hirai, H., Hayashi, T., Yamamoto, S., Ina, K., Maeda, M., Kotani, H., Iguchi, A., Ignarro, L.J., & Hattori, Y. (2011) *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **337**, 591–599.
- 38) Hayashi, T., Kotani, H., Yamaguchi, T., Taguchi, K., Iida, M., Ina, K., Maeda, M., Kuzuya, M., Hattori, Y., & Ignarro, L.J. (2014) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **111**, 1168–1173.
- 39) Hayashi, T., Yamaguchi, T., Sakakibara, Y., Taguchi, K., Maeda, M., Kuzuya, M., & Hattori, Y. (2014) *PLOS ONE*, **10**, 9(2), e88391.
- 40) Ochiai, M., Hayashi, T., Morita, M., Ina, K., Maeda, M., Watanabe, F., & Morishita, K. (2012) *Int. J. Cardiol.*, **155**, 257–261.

#### 著者寸描

##### ●林 登志雄 (はやし としお)

名古屋大学医学部老年内科講師。医学博士。

■略歴 1958年富山県に生る。84年信州大学医学部卒業。90年名古屋大学大学院医学系研究科修了。92年米国カリフォルニア大学ロサンゼルス校医学部薬理学 Post doctoral fellow (Ignarro教授-1999年ノーベル医学生理学賞)。93年名古屋大学医学部老年科医員。97年同助手。2001年より現職。

■研究テーマと抱負 研究領域：糖尿病学、脂質異常症、動脈硬化、骨代謝学、老年医学。テーマ：原発性高脂血症、動脈硬化症と加齢、性とNO、高齢者におけるホルモン補充療法、後期高齢者を含む2型糖尿病4014名9年間のコホート研究。専門医：糖尿病学会、老年医学会、循環器学会、内科学会-総合内科、動脈硬化学会。受賞：日本老年医学会 Novartis Pharma賞(平成6年、19年)、第2回日本心脈管作動物質学会賞(平成9年)。

■趣味 旅行、剣道(三段)。