

原 著

アルギニンの経口投与による ヒト血管内皮機能の改善効果に関する研究

田川 辰也* 天本 理恵** 石本 祐子***
甲斐さや香**** 柏 由佳**** 北山 佳奈****

〈要 旨〉

アルギニンは一酸化窒素 (NO) を産生させるNO合成酵素 (NOS) の基質である。ヒトにアルギニンを動脈注射すると血管内皮機能が改善されることが知られている。本研究では、アルギニンの長期経口投与がヒトの前腕血管拡張機能に及ぼす影響について検討した。対象は20代若年健康女性9名、静脈閉鎖プレチスモグラフィ法を用いて安静時及び5分間の疎血後に生じる反応性充血時の前腕血流量を測定した。また採血にて、血中脂質等を測定した。次に2.5gのアルギニンを含むアイソカル®・アルジネード®を1本/日、4週間投与した後に、再び前腕血流量測定と採血検査を実施した。結果、アルギニン投与後に反応性充血時のピーク後の前腕血流量が増加した。採血検査では血中遊離脂肪酸値が有意に減少した。以上の結果より、NOSの基質であるアルギニンの服用は、血管内皮からのNOの産生を増加し、また遊離脂肪酸低下による脂肪毒性を減少することにより、血管内皮機能を改善する可能性があると考えられる。

キーワード：一酸化窒素、血管内皮機能、アルギニン、動脈硬化、遊離脂肪酸

はじめに

現在、日本人の死因の約6割を占めているのは三大生活習慣病と呼ばれている悪性新生物、心疾患、脳血管疾患である。虚血性心疾患、脳血管疾患は動脈硬化が主な原因であり、これらの疾患を予防するためには動脈硬化を防ぐことが重要である。しかしながら、日本人の食生活は欧米化が進み、動脈硬化が進行している。

我々は、動脈硬化の進行を抑える可能性のある栄養素として、アルギニンに着目した。血管内皮において、一酸化窒素 (NO) はアルギニンを基質としてNO合成酵素 (NOS) により産生され、血管平滑筋を弛緩し、血管を拡張させる^{1, 2)}。我々は、ヒトにアルギニンを動脈注射すると血管内皮機能が改善することを証明したが³⁻⁵⁾、アルギニンの経口投与による効果は明らかではない。アルギニンの経口投与によりNO産生を主体とする血管内皮機能が改善するのであれば、アルギニンの摂取は動脈硬化を防ぎ、将来起こりうる虚血性心臓病をはじめ、脳血管疾患などの生活習慣病の発生

を予防することが期待できる。

本研究では、褥瘡予防の滋養飲料でアルギニン2.5gを含有しているアイソカル®・アルジネード® (株)ネスレニュートリション；表1)を用い、アルギニンの長期経口投与が反応性充血時の前腕血流量に及ぼす影響を調べることにより、アルギニンがNO産生を主体とした血管内皮機能を改善するかどうかを検討した。

表1. アイソカル®・アルジネード® 1パック (125ml) 中の標準成分

エネルギー	100kcal	Cu	1.0mg
たんぱく質	5.0g	Se	50 μg
脂 質	0g	VitA	150 μg
炭 水 化 物	20g	VitD	2.4 μg
Na	55mg	VitE	5.0mg
アルギニン	2500mg	VitB ₁	0.7mg
Ca	20mg	VitB ₂	0.8mg
P	630mg	ナイアシン	10mg
Fe	7.0mg	VitB ₆	1.0mg
Zn	10mg	VitC	500mg

Vit; Vitamin

* 西南女学院大学保健福祉学部栄養学科 教授
** 西南女学院大学保健福祉学部栄養学科 講師

*** 西南女学院大学保健福祉学部栄養学科 助手
**** 西南女学院大学保健福祉学部栄養学科 学生

方法

対象

若年健康女性9名（平均年齢20.6±0.7歳）

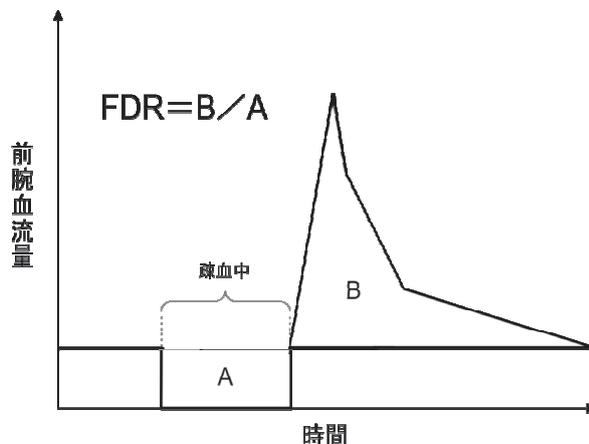
前腕血流量測定

静脈閉鎖プレチスモグラフ法を用いて安静時及び5分間の疎血後に生じる反応性充血時の前腕血流量を測定した。左手首に小児用カフを巻き、200mmHgで加圧して手首から先の血流を遮断し、測定中加圧を維持した。左上腕のカフを15秒ごとに40mmHgで加圧、減圧を3分間繰り返して静脈還流を遮断し、前腕径の変化をストレンゲージで測定することにより、前腕の体積の増加分を解析した。前腕の体積の増加分を時間で割ったものが前腕血流量として求められる。これを安静時の血流量とした。次に、上腕のカフを5分間200mmHgで加圧後にカフを解放すると生じる反応性充血時の前腕血流量を安静時と同様に測定した。

プロトコール

アイソカル®・アルジネード® 1パック（125 ml）の標準成分を表1に示す。アイソカル®・アルジネード® は2.5gのアルギニンを含有する（表1）。アイソカル®・アルジネード® 投与前に安静時、反応性充血時の前腕血流量を測定した。アイソカル®・アルジネード® を1本/日、4週間投与した後に、再び安静時、反応性充血時の前腕血流量を測定した。また、Flow Dept Repayment (FDR) を図1の計算式により算出した。

図1. flow dept repayment (FDR) の測定の原理



Aは（安静時の血流量）×（疎血している時間）、すなわち、安静時の血流分の面積を表し、Bは反応性充血時の増加分の面積を表す。FDRはA分のBで表し、FDRが大きいほど血管拡張機能がよいことが示される。

アイソカル®・アルジネード® の投与終了後、4週間のウォッシュアウトの期間を経た後、再び安静時、反応性充血時の前腕血流量を測定し、前腕血流量が、アイソカル®・アルジネード® の投与前のレベルに回復しているかどうか検討した。

アルギニン以外のアイソカル®・アルジネード® の成分を含む飲料がないため、本研究では対照飲料を用いた検討は行っていない。

その他の検査項目

1本/日のアイソカル®・アルジネード® を4週間投与する前後で、体重、血圧、脈拍の測定と採血を行った。採血では、総コレステロール値、中性脂肪値、HDL-コレステロール値、遊離脂肪酸値、高感度C反応性蛋白（CRP）値、NO_x濃度を測定した。

LDL-コレステロール値は以下の計算式で求めた。

Friedewaldの計算式

LDL-コレステロール = 総コレステロール値 - HDL-コレステロール値 - 中性脂肪値/5

統計学的処理

データは平均値±標準誤差で表し、群間の差の検定は、SPSS ver.16を用いて、対応のあるt検定およびANOVAにて行った。P値が5%未満を有意と判定した。

倫理的配慮

この臨床研究は西南女学院大学倫理審査委員会の承認を得て行った。対象者全員に対して、検査前に研究について文書にて十分に説明し、書面にて同意を得た。

結果

・アイソカル®・アルジネード® 投与前後における体重・血圧・脈拍の変化

体重・血圧・脈拍はアイソカル®・アルジネード® 投与前後で有意な変化はなかった（表2、図2）。

・アイソカル®・アルジネード® 投与前後における血中脂質・高感度CRP・NO_xの変化

総コレステロール値、中性脂肪値、HDL-コレステロール値、高感度CRP値、血中NO_x濃度はアイソカル®・アルジネード® 投与前後で有意な差はなかった（表2、図3、図5、図6）。一方、アイソカル®・ア

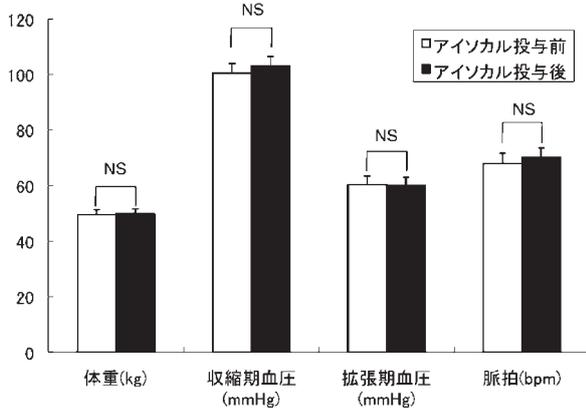
ルジネード® 投与後で遊離脂肪酸値は有意に減少した (表2、図4)。

表2. アイソカル®・アルジネード® 投与前後の体重、血圧、脈拍、血中脂質、高感度CRP、血中NOx、安静時前腕血流量、FDRの変化 (n=9)

	アイソカル® ・アルジネード® 投与前	アイソカル® ・アルジネード® 投与後	P value
体重 (kg)	49.3±1.6	49.9±1.5	NS
収縮期血圧 (mmHg)	101±4	104±4	NS
拡張期血圧 (mmHg)	61±3	60±3	NS
脈拍 (beats/min)	68±4	70±3	NS
TC (mg/dL)	164±9	171±9	NS
TG (mg/dL)	54±5	56±5	NS
HDL-C (mg/dL)	62±3	66±2	NS
FFA (mEq/L)	0.49±0.05	0.12±0.03	P<0.01
高感度CRP (ng/mL)	113±24	137±49	NS
血中NOx濃度 (μmol/L)	44.2±7.2	35.0±6.8	NS
安静時前腕血流量 (ml/min/100mL)	2.8±1.2	2.5±1.0	NS
FDR	1.28±0.16	1.92±0.26	P<0.01

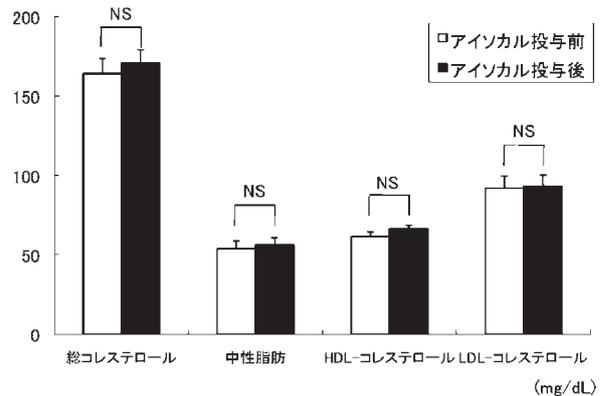
NS : not significant

図2. アイソカル®・アルジネード® 投与前後の体重・血圧・脈拍の変化



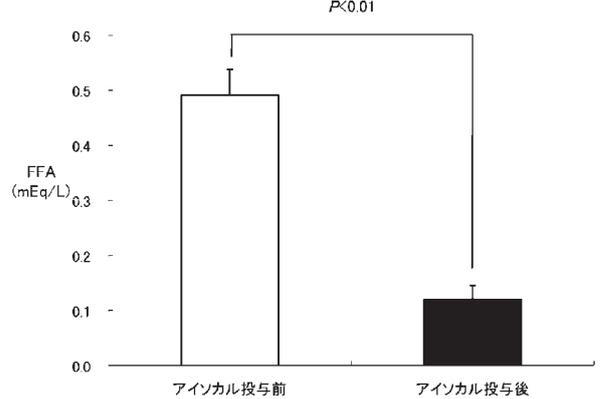
アイソカル®・アルジネード® 投与前後で、体重、血圧、脈拍に有意な差はなかった。
NS; not significant

図3. アイソカル®・アルジネード® 投与前後における血中脂質の変化



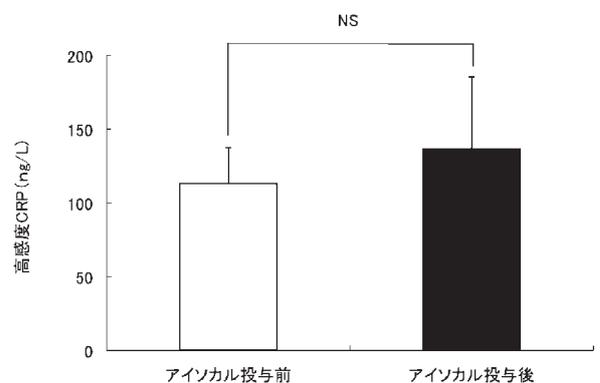
アイソカル®・アルジネード® 投与前後で、血中の総コレステロール値、中性脂肪値、HDL-コレステロール値、LDL-コレステロール値に有意な差はなかった。
NS; not significant

図4. アイソカル®・アルジネード® 投与前後における遊離脂肪酸値の変化



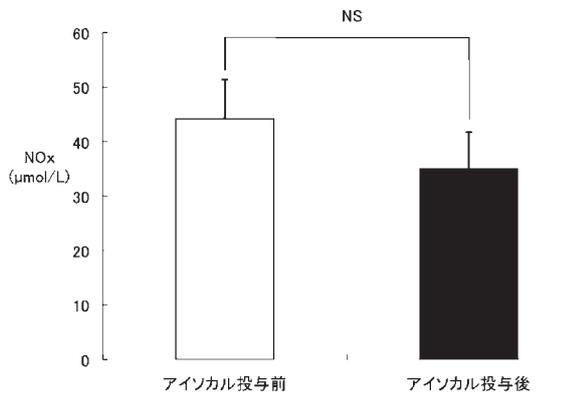
遊離脂肪酸 (FFA) 値は、アイソカル®・アルジネード® 投与後に有意に低下した。

図5. アイソカル®・アルジネード® 投与前後の高感度CRP値の変化



高感度CRPは、アイソカル®・アルジネード® 投与前後で有意な差はなかった。
NS : not significant

図6. アイソカル®・アルジネード® 投与前後の血中NOx値の変化



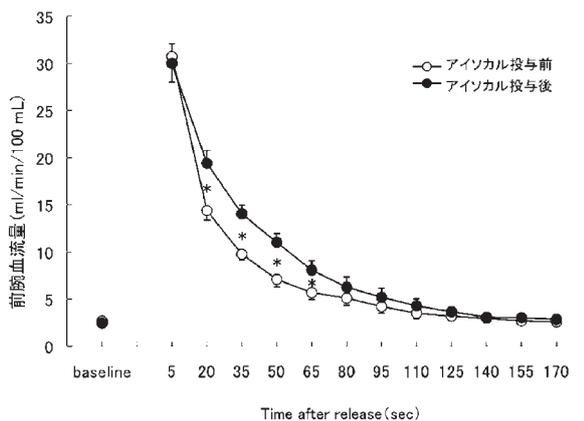
血中NOx値は、アイソカル®・アルジネード® 投与前後で有意な差はなかった。
NS: not significant

・アイソカル®・アルジネード® 投与前後における安静時および反応性充血時の前腕血流量の変化

アイソカル®・アルジネード® 投与前後で、安静時および反応性充血時のピーク時の前腕血流量に変化はなかった(表2、図7)。しかしながら、反応性充血時のピーク後の前腕血流量は、アイソカル®・アルジネード® 投与後で有意に増加し、FDRも有意に増加した(P<0.01; 表2、図8)。

アイソカル®・アルジネード® 投与終了4週間後では、FDRはアイソカル®・アルジネード® 投与前のレベルに戻っていた。

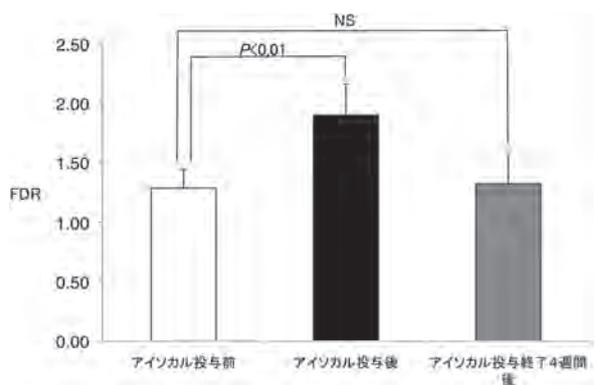
図7. アイソカル®・アルジネード® 投与前後の反応性充血時の前腕血流量の変化



アイソカル®・アルジネード® 投与前後で安静時の前腕血流量と反応性充血時のピークの前腕血流量に変化はなかったが、ピーク後の前腕血流量はアイソカル®・アルジネード® 投与後で有意に高く、アイソカル®・アルジネード® 投与前と比べて投与後では傾きが緩やかになっていた。

*; P<0.01

図8. アイソカル®・アルジネード® 投与前後のFDRの変化



FDRは、アイソカル®・アルジネード® 投与後で有意に増加した。
アイソカル®・アルジネード® 投与終了4週間後には、FDRはアイソカル®・アルジネード® 投与前のレベルに回復した。
NS; not significant

考 察

本研究の結果では、アルギニンを2.5g含有するアイソカル®・アルジネード® の4週間投与により、反応性充血時の前腕血流量が有意に増加した。この機序として、(1)NOを産生させるNOSの基質であるアルギニン投与により血管内皮からのNOの産生が増加したこと、(2)血中遊離脂肪酸の低下により、脂肪毒性が減少したことより血管拡張機能が改善したことが考えられる。

アルギニンはNOを産生させるNOSの基質である^{1, 2)}。我々は、アルギニンを動脈注射すると血管内皮機能を改善することを報告した³⁻⁵⁾。本研究ではアルギニンを経口摂取した結果、FDRが有意に増加し、血管内皮機能が改善することが示された。以上のことから、アルギニンは、経口投与によっても血管内皮機能を改善し、NOの産生を増加させる可能性が示唆される。

本研究において、アルギニンの投与後に血中NOx濃度の有意な増加は見られなかった。本研究で用いた血液データが安静時静脈血であったことから、血中NOx濃度の結果はアルギニンの投与前後で安静時の前腕血流量の変化が無かったことを支持する。反応性充血時のNO産生がアルギニンの投与後に増加するかどうかを証明するには、反応性充血時に動脈血中および静脈血中のNOxの測定を実施する必要があると思われるが、今回の研究ではそこまでは実施していない。

本研究では、アルギニンの投与後に、血中遊離脂肪

酸値が有意に低下した。血中脂質が増加した高脂血症・脂質異常症患者では血管内皮機能が低下すること⁶⁾、また、血中脂質中の遊離脂肪酸はNO産生の抑制作用があることは報告されている⁷⁾。したがって、アイソカル®・アルジネード®の長期投与でみられた遊離脂肪酸の低下が、NOの産生増加に関与していたことが考えられる。その場合、脂質の持つ脂肪毒性作用を減少させ、血管内皮機能を改善し、血管内皮からのNOの産生を増加させたという機序が考えられる。

アイソカル®・アルジネード®にはアルギニン以外に、ビタミンCおよびビタミンEが含有されている。ビタミンCおよびビタミンEは抗酸化作用があることが知られている⁸⁾。血中の活性酸素が人間の身体を酸化させ動脈硬化などを引き起こし生活習慣病や老化を招く原因となるが、その活性酸素を抑える抗酸化作用をもつビタミンCやビタミンEが血管内皮機能改善に関与したことも否定できない。本研究では、ビタミンC、ビタミンEの関与については検討していない。

本研究では、対照飲料を用いた検討を行っていない。対照飲料を使用し、二重盲験法を用い、規模のより大きい臨床試験を行うことが、今後の課題としてあげられる。また、本研究では抗酸化ビタミンであるビタミンCおよびビタミンEが血管内皮機能を改善させた可能性を否定できない。我々の研究室では、アルギニンを含有するが、ビタミンCおよびビタミンEを含有しないアイソカル®・ジェリー Argとアイソカル®・アルジネード®との比較対照研究が現在進行中である。この研究の結果により、アイソカル®・アルジネード®による血管内皮機能改善作用におけるビタミンCおよびビタミンEの関与の有無が明らかになるものと考えている。

複数の機序が考えられるが、アイソカル®・アルジネード®の経口摂取により、若年健康女性の血管内皮機能を改善する可能性が示唆された。その場合、アルギニンの摂取が将来起こりうる虚血性心臓病、脳血管疾患などの動脈硬化性疾患の発生を予防することが期待できる。

結 論

アルギニンを含有するアイソカル®・アルジネード®の長期経口投与によって、反応性充血時の前腕血流量が改善したことから、アルギニンの経口投与は血管

内皮機能が改善する可能性が示唆された。アルギニンの経口摂取は血管内皮機能を改善することにより、将来起こりうる虚血性心臓病や脳血管疾患などの動脈硬化性疾患の発生を予防することが期待できる。

謝 辞

本研究は、2007年度および2008年度の西南女学院大学共同研究費と文部科学省科学研究費補助金の助成を得て行われている。

参考文献

- 1) Moncada S and Higgs EA: The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 329: 2002-2012, 1993
- 2) Wennmalm A, Benthin G, Edlund A, et al.: Metabolism and excretion of nitric oxide in humans. An experimental and clinical study. *Cir Res* 73: 1121-1127, 1993
- 3) Imaizumi T, Hirooka Y, Harada S, Masaki H, Momohara M, Tagawa T and Takashita A: Effects of L-arginine on forearm vessels and responses to acetylcholine. *Hypertension* 20: 511-517, 1992
- 4) Hirooka Y, Imaizumi T, Tagawa T, Shiramoto M, Endo T and Takashita A: Effects of L-arginine on impaired acetylcholine-induced and ischemic vasodilation of the forearm in patients with heart failure. *Circulation* 90: 658-668, 1994
- 5) Tagawa T, Imaizumi T, Endo T, Shiramoto M, Harasawa Y, Takashita A: Role of nitric oxide in reactive hyperemia in human forearm vessels. *Circulation* 90: 2285-2289, 1992
- 6) Casino PR, Kilcoyne CM, Quyyumi AA, Hoeg JM, Panza JA: The role of nitric oxide in endothelium-dependent vasodilation of hypercholesterolemic patients. *Circulation* 88: 2541-2547, 1993
- 7) Wang XL, Zhang L, Youker K, Zhang MX, Wang J, LeMaire SA, Coselli JS and Shen YH: Free fatty acids Inhibit Insulin signaling-stimulated endothelial nitric oxide synthase activation through upregulating PTEN or

inhibiting Akt kinase. *Diabetes* 55: 2301-2310, 2006
8) Pleiner J, Schaller G, Mittermayer F, Bayerle-
Eder M, Roden M, Wolzt M. FFA-Induced

endothelial dysfunction can be corrected by
vitamin C. *J Clin Endocrinol Metab* 87: 2913-2917,
2002

Long-term treatment with L-arginine improves human forearm vasodilation during reactive hyperemia.

Tatsuya Tagawa*, Rie Amamoto**, Yuko Ishimoto***
Sayaka Kai****, Yuka Kashiwa****, Kana Kitayama****

<Abstract>

Background: Endothelium plays an important role in control of vascular tone. Nitric oxide (NO) is produced in the process of conversion of L-arginine to L-citrulline by NO synthase in endothelial cell. We have reported that intra-arterial injection of L-arginine improves endothelial function in human. The aim of the present study was to examine whether long-term treatment of L-arginine also improves endothelial function in human forearms.

Methods: Forearm blood flow (FBF) was measured by strain gauge plethysmography in nine healthy women, before and four weeks after oral treatment with L-arginine (2.5 g/day). FBF was measured at rest and during reactive hyperemia (RH). To produce RH, blood flow to the forearm was prevented by inflation of a cuff on the upper arm to suprasystolic pressure for interval of 5 minutes. After the release of the arterial occlusion, FBF was measured every 15 seconds for 3 minutes.

Results: The long-term treatment with L-arginine did not alter FBF at rest or peak FBF during RH. However, L-arginine treatment significantly improved total reactive hyperemic flow (flow debt repayment) ($P < 0.01$).

Conclusions: These results indicate that long-term treatment with L-arginine improves endothelium-dependent forearm vasodilations in healthy human. Our results also suggest that L-arginine treatment may increase NO production in endothelium during reactive hyperemia in human forearm vessel.

Keywords: nitric oxide, endothelial function, L-arginine, atherosclerosis, free fatty acid

* Professor in the Department of Nutritional Sciences, Faculty of Health and Welfare, Seinan Jo gakuin University
** Assistant Professor in the Department of Nutritional Sciences, Faculty of Health and Welfare, Seinan Jo gakuin University
*** Instructor in the Department of Nutritional Sciences, Faculty of Health and Welfare, Seinan Jo gakuin University
**** Student in the Department of Nutritional Sciences, Faculty of Health and Welfare, Seinan Jo gakuin University