

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 森田 匡彦

臨床的に動脈硬化巣の進展の前段階として、血管壁の最も内腔層に位置する血管内皮が障害されることが明らかになっている。血管内皮機能障害を基盤とした血管伸展性の低下は、動脈硬化性疾患に繋がることから、これを予防する食品の研究は社会的にも意義があると思われる。本研究で申請者は、アミノ酸の1種である L-Citrulline に着目し、血管内皮における重要な制御物質である一酸化窒素 (NO) 産生系を標的としてその作用機作ならびに薬理的生理効果を基礎から臨床応用まで一貫して明らかにしている。

序論で研究背景や現状の課題を概説したのち、本論文は6つの章からなる。

第1章では、アミノ酸代謝の見地から L-Citrulline が有する L-Arginine 代謝上の有益性、および NO サイクルに資する作用をラットおよびウサギを用いた動物実験により明らかにしている。その結果、L-Citrulline 経口投与は L-Arginine 自体の投与よりも生体の L-Arginine レベルを持続的に高めることを実証するとともに、L-Citrulline、L-Arginine の併用投与により、相乗的に NO-cGMP pathway を活性化し得る可能性を示している。

第2章では、マウスストレス誘発性末梢循環低下モデルを構築し、L-Citrulline の薬理作用を検討している。NO 合成酵素阻害剤を用いた評価から、ストレスによる冷えからの回復において NO による皮膚血管拡張反応の重要性を示し、L-Citrulline 投与によりストレス誘発性体温低下が有意に抑制されることを見出している。これにより NO 産生促進を基軸とした血流改善を作用メカニズムと捉えている。

第3章では、より臨床病態に近い一過性脳血管閉塞モデルマウスにおいて、L-Citrulline の影響を検討している。L-Citrulline 投与は、血管障害による内皮型 NO 合成酵素 (eNOS) の発現低下を抑制し、脳微小血管系の NO 産生能を有意に回復することを認めている。さらに、血管内皮の脱落や、海馬神経細胞死を有意に抑制し、記憶認知機能といった高次脳機能をも改善する作用を明らかにしている。その新規メカニズ

ムに、CaM Kinase II を介した神経保護作用の関与を示している。

第4章では、ヒトでの臨床検討に移り、L-Citrulline 摂取による生理的影響をランダム化プラセボ対照クロスオーバー比較試験により評価している。その結果、5日間のL-Citrulline 摂取 (3.2 g/day) は血漿 L-Arginine 濃度を増加させ、これと相関し NOx 濃度を有意に上昇させること、さらに冷水負荷後の末梢血流の回復を亢進することを明らかにしている。このことから、ヒトにおいても L-Citrulline 摂取は NO の生物学的作用を促進するという作用機作の根幹を見出している。

第5章では、血管壁硬化に及ぼす影響を検討するため、動脈壁硬化の指標である baPWV がリスクカットオフ値である $> 1,400$ cm/s の中高年男性を選抜し、ランダム化プラセボ対照並行群間比較試験を実施している。その結果、プラセボ群と比べ、7日間の L-Citrulline 摂取 (5.6 g/day) によって baPWV が有意に低下し、動脈伸展性の改善が認められている。さらに、L-Citrulline 摂取による血漿 L-Arginine 濃度の上昇と baPWV の低下には有意な負の相関が存在し、L-Citrulline は eNOS への L-Arginine 利用能を向上させることで、血管壁硬化の機能的改善をもたらした機構を提示している。

第6章では、冠動脈攣縮性狭心症患者への介入試験 (N=22) を行い、血管内皮への作用解明を進めている。8週間の L-Citrulline (800 mg/day) 継続摂取は、NO 依存性の血管内皮機能を有意に改善させ、その主たるメカニズムとして循環器疾患で上昇する内因性 NOS 阻害物質である ADMA レベルの抑制を介した、L-Arginine 利用能促進、さらに血管内皮障害因子である LDL 酸化変性の抑制を明らかにしている。NO の生物学的利用能の上昇に加え、血管内皮の主たる障害因子の抑制においても新規作用点を見出している。

総括では本研究全体の概観と今後の臨床応用に向けた展望がまとめられている。

以上、本研究で申請者は血管の恒常性維持における基幹部位である血管内皮と NO 産生機構に着目し、L-Citrulline の有する生理作用を基礎および臨床の両側面から多角的に明らかにしている。これらの研究成果は、食品科学の側面から、心血管疾患の予防に貢献し得る新たな知見であり、産業上の実用性を踏まえた上で今後の展望を提示するものであって、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって、審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。