

原 著

アルギニンによる血管拡張機能増強効果に対する
抗酸化ビタミンの影響に関する研究田川 辰也 青木 るみ子 境田 靖子
石本 祐子 近江 雅代

＜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。我々はアルギニン 2.5g を含むアイソカル®・アルジネード (アルジネード) の経口投与が若年健康成人の前腕血管拡張機能を増強することを報告した (西南女学院大学大学紀要 2010)。しかし、アルジネードには抗酸化ビタミンであるビタミン C とビタミン E が含まれており、それらが前腕血管拡張機能の増強に影響を及ぼした可能性がある。そこで、前腕血管拡張機能に対する効果を、抗酸化ビタミンを含むアルジネードを投与した場合と、アルギニン 2.5g を含むが抗酸化ビタミンを含まないアイソカル®・ジェリー Arg (ジェリー Arg) を投与した場合で比較し、血管拡張機能の増強効果がアルギニン単独によるものか、抗酸化ビタミンが影響しているのかを検討した。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および 5 分間の疎血後に生じる反応性充血中の前腕血流量を測定した。対象者をランダムに A、B の 2 群に分け、クロスオーバー法を用いて、アルジネードを 1 本/日、もしくはジェリー Arg を 1 個/日を 4 週間投与する前後で安静時および反応性充血中の前腕血流量の測定と血液検査、尿検査を行った。血液検査では総コレステロール、中性脂肪、HDL-コレステロール、高感度 C 反応性蛋白 (CRP)、高分子アディポネクチン、尿検査では尿中 NOx 濃度と NOx/Cr 値を測定した。結果、アルジネードおよびジェリー Arg 投与後に反応性充血中の前腕血流量が有意に増加し、その増加の程度はアルジネードとジェリー Arg で同等であった。血液検査、尿検査では、すべての項目でアルジネードおよびジェリー Arg 投与前後で有意差はなかった。以上の結果より、アルジネード投与による血管拡張機能の増強効果は、主にアルギニンによるものであり、アルジネードに含まれている濃度の抗酸化ビタミンの影響は少ないと示唆された。すなわち、アルギニンは抗酸化ビタミンの非投与下においても、血管拡張機能を増強する可能性が期待できると考えられる。

キーワード：血管内皮機能、アルギニン、動脈硬化、一酸化窒素、抗酸化ビタミン

はじめに

近年、日本人の死因の大部分を占めているのが悪性新生物、虚血性心疾患、脳血管疾患である。このうち虚血性心疾患、脳血管疾患は動脈硬化が主な原因である。そのため、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となる。

血管内皮細胞は血管を拡張させる一酸化窒素 (NO)

を産生する^{1, 2)}。NO はアルギニンを基質として一酸化窒素合成酵素 (NOS) により産生され、血管平滑筋を弛緩させ、血管を拡張させる^{1, 2)}。我々は、この NOS の基質であるアルギニンに注目した。ヒトにアルギニンを動脈注射すると血管内皮機能が増強し、血管拡張機能が亢進することが知られている³⁻⁵⁾。また、我々は 2.5g のアルギニンを含むアイソカル®・アルジネード (アルジネード；表 1) の 1 日 1 本の経口投与

が若年健康成人の前腕血管拡張機能を増強することを報告した⁶⁾。しかし、アルジネードには抗酸化ビタミンであるビタミンCとビタミンEが含まれていたため、これらの抗酸化ビタミンがアルギニンの前腕血管拡張機能の増強効果に影響を与えた可能性がある。

本研究では、2.5gのアルギニンを含むアイソカル®・ジェリー Arg (ジェリー Arg; 表1) 投与 (1日1個) の前腕血管拡張機能に対する効果と、アルジネード投与前腕血管拡張機能に対する効果とを比較検討し、アルジネードによる血管拡張機能の増強効果がアルギニン単独によるものか、それとも抗酸化ビタミンが影響しているかどうか検討した。

方法



対象

若年健康女性9名 (平均年齢 20.8 ± 0.4 歳)

前腕血流量測定

本研究では、血管拡張機能の評価のため、前腕血流量を測定し、その変化量を検討した。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

じる反応性充血中の前腕血流量を測定した。左手首にカフを巻き 200mmHg で加圧して手首から先の血流を遮断し、測定中維持した。左上腕のカフを15秒ごとに40mmHgで加圧、減圧を繰り返して静脈血を遮断し、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200mmHgで5分間加圧した後に解放した。このときに生じる反応性充血中の前腕血流量を安静時と同様に測定した。

図1に、安静時、疎血中、反応性充血中の前腕血流量変化のモデルを示す。反応性充血中の前腕血流量は灰色線で表している。また、で示すBの面積は、反応性充血中の前腕血流量曲線下面積から安静時血流量分を引いたもので、反応性充血中の前腕血流量のベースラインからの増加分を表している。で示すAの面積は、(安静時の前腕血流量) × (疎血している時間)、すなわち、上腕のカフの加圧による疎血時間中に遮断された前腕血流量分を表している。Flow Dept Repayment (FDR) を計算式 ($FDR = (B \text{ の面積}) \div (A \text{ の面積})$) により算出した。FDRは血管拡張機能の指標であり、FDRが大きいほど、血管拡張機能が良いことを示している⁵⁾。

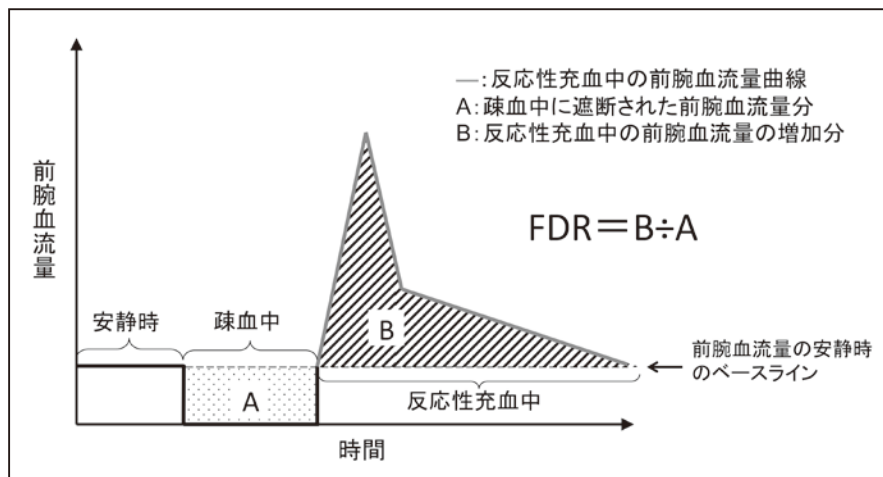




図1. flow dept repayment (FDR) の測定の原理

で示すAの面積は (安静時の前腕血流量) × (疎血している時間)、すなわち、上腕のカフの加圧による疎血時間中に遮断された前腕血流量分を表す。で示すBの面積は反応性充血中の前腕血流量曲線下面積から安静時前腕血流量分を除いたもので、反応性充血中の前腕血流量のベースラインからの増加分を表す。FDRは (Bの面積) ÷ (Aの面積) で求められ、FDRが大きいほど血管拡張機能が良いことを示している。

血液検査

血液検査では、総コレステロール値、中性脂肪値、HDL-コレステロール値、高感度C反応性蛋白（CRP）値、高分子アディポネクチン値を測定した。血中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

$$\text{LDL-コレステロール} = \text{総コレステロール値} - \text{HDL-コレステロール値} - \text{中性脂肪値} \div 5$$

尿検査

尿検査では尿中NOx濃度を測定した。また、血清クレアチニン値より、NOx/Cr値を求めた。

我々の先行研究において、アルジネードによるアルギニン投与により、血中NOx濃度は有意な変化がなかった⁶⁾。本研究では、血中NOx濃度では確認できなかったアルギニン投与によるNOxの変化が、尿中NOx濃度では捉えられる可能性があると考え、血中NOx濃度ではなく、尿中NOx濃度とNOx/Cr値を測定した。

プロトコール (図2)

本研究のプロトコール（タイムスケール）は図2の通りである。最初にアルジネードを投与し、ウォッシュアウト後にジェリー Arg を投与する群と最初にジェリー Arg、ウォッシュアウト後にアルジネードを投与する群の2群に分けるクロスオーバー法を用いた。クロスオーバー法を用いた場合、二種類の薬剤を、ウォッシュアウト期間をはさんで9人の対象者にそれぞれ一斉に投与する方法と比べると、順序効果や時期効果をなくすることができる。また、アルジネード群とジェリー

Arg 群を別々の対象者で2群に設定する2群比較の研究と比べると、クロスオーバー法ではウォッシュアウト期間を設定するため、研究期間が長くなるデメリットがあるが、対象者数が少なく済むメリットがある。

対象者をランダムにA、B群（A群5名、B群4名）に分けた。アルジネードとジェリー Arg 投与前に、安静時と反応性充血時の前腕血流量を測定した。また、体重、血圧、脈拍の測定と血液検査、尿検査を行った。

次に、A群ではアルジネードを1本/日、B群ではジェリー Arg を1個/日を4週間投与した。アルジネードとジェリー Arg の組成を表1に示す。褥瘡患者のための補助食品であるアルジネートには褥瘡の管理・予防の目的でビタミンCおよびビタミンEが含有されているが、ジェリー Arg には含有されていない。ジェリー Arg はビタミンCおよびビタミンEを含有していないが、保存可能期間は6ヵ月間であり、アルジネードと差がない。

アルジネードもしくはジェリー Arg の4週間投与後に、再び安静時と反応性充血時の前腕血流量の測定および体重、血圧、脈拍の測定と血液検査、尿検査を行った。

4週間のウォッシュアウト期間を経た後に、再び安静時と反応性充血時の前腕血流量測定および体重、血圧、脈拍の測定と血液検査、尿検査を行った。経口投与したアルギニンの半減期は4-6時間であり⁷⁾、アルギニンのウォッシュアウト期間として設定した4週間という期間は十分に長いと考えられる。

次にA、B群の投与サンプルを入れ替え、A群ではジェリー Arg を1本/日、B群ではアルジネードを1個/日を4週間投与した。4週間投与後に、安静時お

表1. アイソカル[®]・アルジネード1本（125ml）およびアイソカル[®]・ジェリー Arg 1個（66g）中の標準成分

成分	アルジネード	ジェリーArg	成分	アルジネード	ジェリーArg
エネルギー	100kcal	80kcal	銅	1.0mg	0.9mg
たんぱく質	5.0g	4.0g	セレン	50μg	25μg
脂質	0g	1.2g	ビタミンA	150μg	0μg
炭水化物	20g	14g	ビタミンD	2.4μg	0μg
ナトリウム	55mg	42mg	ビタミンE	5.0mg	0mg
アルギニン	2500mg	2500mg	ビタミンB ₁	0.7mg	0mg
カルシウム	20mg	200mg	ビタミンB ₂	0.8mg	0.01mg
リン	630mg	581mg	ナイアシン	10mg	0.05mg
鉄	7.0mg	7.0mg	ビタミンB ₆	1.0mg	5.0mg
亜鉛	10mg	7.0mg	ビタミンC	500mg	0mg

よび反応性充血中の前腕血流量の測定および体重、血圧、脈拍の測定と血液検査、尿検査を行った。

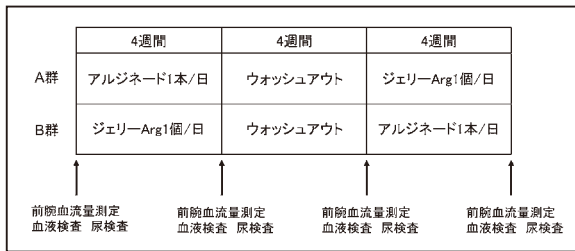


図2. プロトコル (タイムスケール)

A群ではアルジネードを1本/日、B群ではジェリー Arg を1個/日を4週間投与する前後で、前腕血流量の測定および血液検査、尿検査を行った。4週間のウォッシュアウト期間を経た後に、A、B群の投与サンプルを入れ替えた。A群ではジェリー Arg を1個/日、B群ではアルジネードを1本/日を4週間投与する前後で、前腕血流量の測定および血液検査、尿検査を行った。

統計学的処理

データは平均値±標準偏差で表し、群間の差の検定は、SPSS ver.16 を用いて解析した。体重、血圧、脈拍、血液検査、尿検査、FDR の群間比較は paired *t*-test を用いた。反応性充血中の前腕血流量曲線の群間比較は two-way ANOVA with repeated measures on both factors を用い、それぞれの測定ポイントの前腕血流量の群間比較は post hoc *t*-test を用いた⁸⁾。 *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実施されたものである。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

・アルジネードおよびジェリー Arg 投与前後における体重・血圧・脈拍の変化

体重、血圧、脈拍は、アルジネードおよびジェリー Arg 投与前後で有意な変化はなかった (表2、表3)。

・アルジネードおよびジェリー Arg 投与前後における血中脂質、高感度 CRP、高分子アディポネクチンの変化

アルジネードおよびジェリー Arg 投与前後で、血中の総コレステロール値、HDL-コレステロール値、LDL-コレステロール値、高感度 CRP 値、高分子アディポネクチン値に有意な変化はなかった (表2、表3)。

・アルジネードおよびジェリー Arg 投与前後での尿中 NOx 濃度、NOx/Cr の変化

アルジネードおよびジェリー Arg 投与前後で、尿中の NOx 濃度、NOx/Cr 値に有意な変化はなかった (表2、表3)。

表2. アルジネード投与前後の体重、血圧、脈拍、血液検査 (総コレステロール、中性脂肪、HDL-コレステロール、LDL-コレステロール、高感度 C 反応性蛋白 (CRP)、高分子アディポネクチン)、尿検査 (NOx 濃度、NOx/Cr) の変化 (n=9)

項目	アルジネード投与前	アルジネード投与後	<i>p</i> value	
体重(kg)	49.7±5.5	49.9±5.6	n.s.	
血圧	収縮期(mmHg)	105±10	104±9	n.s.
	拡張期(mmHg)	59±8	60±7	n.s.
脈拍 (beats/min)	63±8	65±10	n.s.	
総コレステロール(mg/dL)	181±23	171±18	n.s.	
中性脂肪 (mg/dL)	56±23	56±33	n.s.	
HDLコレステロール(mg/dL)	68±8	69±7	n.s.	
LDLコレステロール(mg/dL)	102±18	90±17	n.s.	
高感度CRP (ng/mL)	141±161	187±193	n.s.	
高分子アディポネクチン(μg/mL)	8.3±4.1	8.1±4.5	n.s.	
NOx濃度 (μmol/L)	1915±926	1526±651	n.s.	
NOx/Cr (μmol/10mg)	1020±333	1139±715	n.s.	

n.s.: not significant

表 3. ジェリー Arg 投与前後の体重、血圧、脈拍、血液検査（総コレステロール、中性脂肪、HDL-コレステロール、LDL-コレステロール、高感度 C 反応性蛋白 (CRP)、高分子アディポネクチン)、尿検査 (NOx 濃度、NOx/Cr) の変化 (n=9)

項目		ジェリーArg投与前	ジェリーArg投与後	p value
体重(kg)		50.7±5.8	50.3±5.6	n.s.
血圧	収縮期 (mmHg)	101±7	104±10	n.s.
	拡張期 (mmHg)	58±7	61±7	n.s.
脈拍 (beats/min)		65±9	67±11	n.s.
総コレステロール(mg/dL)		182±13	176±19	n.s.
中性脂肪 (mg/dL)		57±20	47±15	n.s.
HDLコレステロール (mg/dL)		68±13	71±9	n.s.
LDLコレステロール (mg/dL)		102±13	96±12	n.s.
高感度CRP(ng/mL)		131±155	141±121	n.s.
高分子アディポネクチン(μg/mL)		9.5±4.5	9.2±4.7	n.s.
NOx濃度 (μmol/L)		3337±3095	2578±2055	n.s.
NOx/Cr (μmol/10mg)		886±350.	1017±638	n.s.

n.s.: not significant

・アルジネードおよびジェリー Arg 投与前後での前腕血流量、FDR の変化

アルジネードおよびジェリー Arg 投与前後で、安静時の前腕血流量に変化はなかった。反応性充血中においては、アルジネードおよびジェリー Arg 投与前後で、疎血解放後 5 秒の時点の前腕血流量に差はなかったが、アルジネード投与後では、疎血解放後 20 秒、35 秒、50 秒、65 秒の時点の前腕血流量が有意に増加し (図

3; $p < 0.01$)、ジェリー Arg 投与後では、疎血解放後 20 秒、35 秒、50 秒の時点の前腕血流量が有意に増加した (図 4; $p < 0.01$)。また、FDR もアルジネードおよびジェリー Arg 投与後に有意に増加した (図 5: アルジネード; $p < 0.01$ 、ジェリー Arg; $p < 0.01$)。反応性充血中の前腕血流量増加と、FDR の増加の程度は、アルジネード投与後とジェリー Arg 投与後で同等であった (図 5、6)。

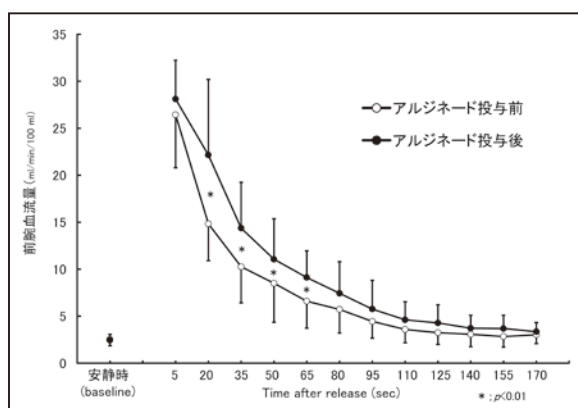


図 3. アルジネード投与前後の反応性充血中の前腕血流量の変化

アルジネード投与前後で、安静時の前腕血流量に変化はなかった。反応性充血中においては、アルジネード投与前後で、疎血解放後 5 秒の時点の前腕血流量に差はなかったが、その後の 20 秒、35 秒、50 秒、65 秒の時点の前腕血流量は、アルジネード投与前と比べて、アルジネード投与後では有意に増加していた。

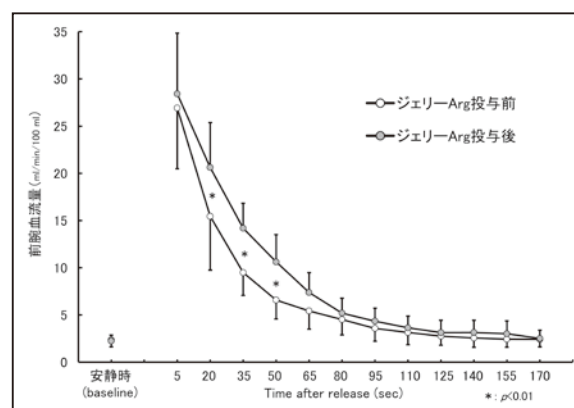


図 4. ジェリー Arg 投与前後の反応性充血中の前腕血流量の変化

ジェリー Arg 投与前後で安静時の前腕血流量に変化はなかった。反応性充血中においては、ジェリー Arg 投与前後で、疎血解放後 5 秒の時点の前腕血流量に差はなかったが、その後の 20 秒、35 秒、50 秒の時点の前腕血流量は、ジェリー Arg 投与前と比べて、ジェリー Arg 投与後では有意に増加していた。

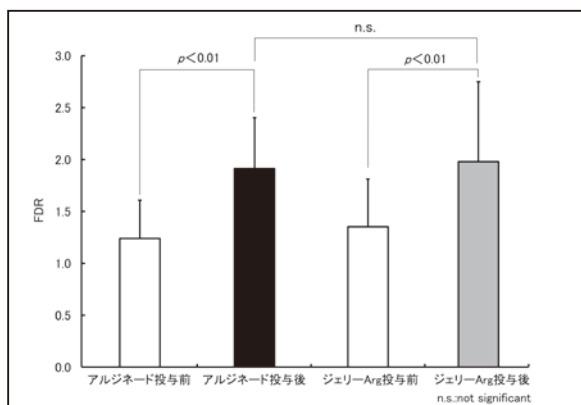


図 5. アルジネードおよびジェリー Arg 投与前後の FDR の変化

アルジネード投与前およびジェリー Arg 投与前により FDR は有意に増加した。アルジネード投与後とジェリー Arg 投与後の FDR の増加の程度に有意な差はなかった。

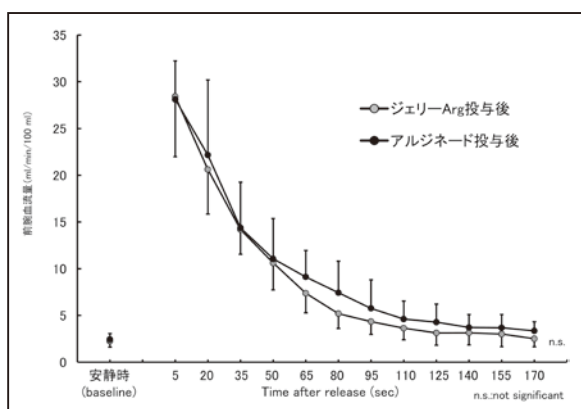


図 6. アルジネード投与後とジェリー Arg 投与後の反応性充血中の前腕血流量の変化

アルジネード投与後とジェリー Arg 投与後の安静時の前腕血流量と反応性充血中の前腕血流量に、有意な差はなかった。

考 察

本研究の結果では、アルジネードおよびジェリー Arg 投与前により反応性充血中の前腕血流量が有意に増加した。また、アルジネードとジェリー Arg の反応性充血中の前腕血流量の増加の程度が同等であったことから、抗酸化ビタミンであるビタミン C とビタミン E の投与の有無に関わらず、アルギニンの長期投与前により、血管拡張機能が増強する可能性があると考えられた。

NO は血管内皮細胞において、アルギニンを基質として NOS により産生され、血管平滑筋を弛緩させ、血管を拡張させる^{1, 2)}。我々は、アルジネードを経口摂取すると、反応性充血中の前腕血流量が増加することを報告した⁶⁾。この研究により、アルギニン投与前が

血管内皮機能を増強し、NO の産生を増加させる可能性が示唆された⁶⁾。しかしながら、アルジネードには抗酸化作用があるビタミン C とビタミン E が含まれていた (表 1)。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ことが知られている^{9, 10)}。したがって、アルジネードの服用による血管拡張機能の増強効果に、ビタミン C とビタミン E の抗酸化作用が影響を与えた可能性が否定できない。そこで本研究では、2.5g のアルギニンを含有するが、ビタミン C とビタミン E を含有しないジェリー Arg による血管拡張機能の増強効果を調べ、アルジネードの効果と比較することにより、アルジネードによる血管拡張機能の増強効果に、ビタミン C とビタミン E の抗酸化作用が影響しているかどうかを検討した。

抗酸化ビタミンを含まないジェリー Arg の投与前により、アルジネード投与前と同様に反応性充血中の前腕血流量が増加し、FDR が有意に上昇し、血管拡張機能の増強が認められた。また、前腕血流量の増加の程度はアルジネード群とジェリー Arg 群の間に有意な差を認めなかった。したがって、ビタミン C とビタミン E の投与前の有無に関わらず、アルギニンの長期投与前は、血管拡張機能を増強すると考えられた。

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おり、動脈硬化を予防することが示唆されている^{9, 10)}。しかし、本研究ではアルジネード投与前とジェリー Arg 投与前による反応性充血中の前腕血流量の増加に有意な差は認められなかった。この結果は、ビタミン C とビタミン E の抗酸化作用は本研究の対象である若年健康成人女性に対し血管内皮機能に影響を与えない可能性を示している。現在まで、ビタミン C およびビタミン E の動脈硬化および心血管病の発症率の低下や、血管内皮機能の改善に関して多くの研究が行われているが、その結果は様々である。Ashor AW らの研究では、ビタミン C の投与前は血管内皮機能を改善させることが報告されているが、この効果は心血管病患者のみに認められ、動脈硬化のない健常者には認められなかった¹¹⁾。Kang JH らは、女性を対象にビタミン C とビタミン E の経口投与前による心血管病発症予防効果の研究を実施しているが、ビタミン C とビタミン E の投与前は心血管病の発症を低下させることはなかった¹²⁾。一方、Ye Z らは、ビタミン C とビタミン E の経口投与前は心血管病のリスクを予防するという研究結果を報告しており¹³⁾、Loria CM らは、血中のビタミン C 濃度が低いほど心血管病の発症率が高くなる

ことを報告している¹⁴⁾。しかし、この Loria CM らの研究では、血中ビタミン C 濃度が低いほど心血管病の発症率が高くなるのは男性のみで、女性では血中ビタミン C 濃度と心血管病の発症率には関連はなかったと報告されている¹⁴⁾。これらの研究結果を考慮すると、本研究でビタミン C とビタミン E が血管拡張機能の増強に影響を及ぼさなかった可能性として、本研究の対象者がビタミン C とビタミン E の影響を受けにくい健常者であったこと、さらに女性であったことが考えられる。本研究を動脈硬化のある心血管病患者を対象に実施すれば、アルジネードとジェリー Arg の血管拡張機能に対する効果に差が認められた可能性がある。この仮説については、次の我々の研究課題である。

尿中 NOx 濃度が体内の NO 産生を反映すること、また、血中 NOx 濃度と相関することが報告されている¹⁵⁻¹⁸⁾。本研究において、アルギニンの投与後に尿中 NOx 濃度および NOx/Cr 値の有意な増加は認められず、NO 産生増加の所見は認められなかった。本研究で用いた尿サンプルが安静時に採取したものであったことから、アルギニンの投与は安静時の全身的な NO の産生増加に関与しないと考えられる。しかし、アルギニンの投与が反応性充血中の局所の NO 産生を増加させている可能性がある。反応性充血中の前腕血管の NO 産生が増加しているどうかを証明するには、反応性充血中に上腕動脈血中および上腕静脈血中の NOx 濃度の測定し、その差を調べる必要がある。残念ながら本研究では、実験設備上そこまでは実験はできなかった。この点については、本研究の限界と言わざるを得ない。

アディポネクチンは、脂肪細胞から分泌されるアディポカインの 1 つで、動脈硬化予防や血管内皮機能を改善する作用があり、注目されている¹⁹⁻²¹⁾。本研究では、アルギニンの血管拡張機能の増強効果にアディポネクチンが関与しているかどうか検討するため、アルジネードとジェリー Arg の投与前後で、血中高分子アディポネクチン値を測定したが、有意な変化は認められなかった。したがって、アルギニンによる血管拡張機能の増強効果はアディポネクチンの分泌増加を介するものではないと考えられる。しかし、アルギニン投与でアディポネクチンの分泌を亢進しなかったことについては、本研究の対象者が、アディポネクチンが低下してない健常者であったことが要因である可能性は否定できない。今後の課題として、アディポネクチンの分泌が低下している肥満患者やメタボリックシンドローム患者を対象に、アルギニン投与がアディポネ

クチンの分泌を亢進させるかどうか検討することが挙げられる。

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 の追加投与をしなくても、アルギニンの長期経口投与によって反応性充血中の前腕血流量が増加し、FDR が有意に増加した。この結果から、女性の健常者では、ビタミン C およびビタミン E を追加投与しなくても、アルギニンの長期投与は血管拡張機能を増強すると考えられる。アルギニンの経口摂取は動脈硬化の進行を予防し、将来起こりうる心血管病や脳卒中の発症を予防する可能性があると期待される。

本研究の限界と課題

本研究では、完全な対照飲料（食品）を用いた検討ができていない。アルジネードとジェリー Arg 比較すると、ビタミン C、E だけでなく、亜鉛、銅、セレンなどのミネラルやビタミン A の含有量に差がある。これらのミネラルは抗酸化酵素に必須のミネラルであり、ビタミン A もカロテノイドには抗酸化作用があるため、ジェリー Arg をアルジネードからビタミン C、E だけを除いた完全なコントロールとは言えない。「アルジネードなどからアルギニンのみを除いたもの」を対照とする研究、あるいは「アルギニンのみ投与」もしくは「ビタミン C、E のみ投与」による影響を検討する研究など、実施可能な比較研究を行うことが重要である。これらの研究により、アルギニン単独の効果を確認することは我々の今後の課題と言える。

本研究ではアルギニン投与により NO の産生を反映する NOx の増加が認められなかった。アルギニン投与後の反応性充血中の前腕血流量の増加が NO の産生増加によることを証明するために、実際に NOx が増加していることを証明することは重要である。反応性充血中またはその直後の採血、採尿を行うなど、NOx の上昇を証明する実験を実施し、アルギニンの投与が、反応性充血中における NO の産生を増強することを証明することが、次の研究課題と考えられる。

本研究では、アルジネードとジェリー Arg の投与期間中、食事の制約は設けていなかった。ほうれん草などの葉野菜などのように硝酸塩を多く含む食品があり、このような食品を多く摂取した場合など、研究期間中の食事の内容が尿中 NOx 濃度に影響していた可能性がある。今後の研究では、アルギニン投与中の食事内容について、NOx 濃度に大きく影響を与えるものは避けるなど、食事の注意事項を設定することが必要と考えられる。

結 論

本研究では、2.5g のアルギニンと抗酸化ビタミンであるビタミン C およびビタミン E を含有するアルジネードと 2.5g のアルギニンは含有するがビタミン C およびビタミン E を含有しないジェリーの反応性充血中の血管拡張機能の増強効果を比較検討した。両群とも反応性充血中の血管拡張機能は増強され、その効果は 2 群間において有意な差はなかった。この結果から、ビタミン C およびビタミン E の追加投与がなくても、アルギニンは血管拡張機能を増強する可能性が示唆される。

謝 辞

本研究は、科学研究費補助金（基盤研究（C）、課題番号：20500736）の研究助成を得て実施したものです。

利益相反

本研究に関連して、開示すべき利益相反関係にある企業などはありません。

引用文献

- 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 Takeshita 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, Takeshita A: Role of nitric oxide in reactive hyperemia in human forearm vessels. *Circulation* 90: 2285-2289, 1994
- 6) 田川辰也、天本理恵、石本祐子、甲斐さや香、柏由佳、北山佳奈：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。西南女学院大学大学記要 14: 69-75, 2010
- 7) 医薬品インタビューフォーム 尿素サイクル異常症薬アルギ U @ 配合顆粒アルギニン製剤（第 6 版）Ⅶ. 薬物動態に関する項目 23-30, 2016
- 8) Glanz SA, Slinker BK: *Two-Way Analysis of Variance With Repeated Measures on Both Factors: Primer of Applied Regression and Analysis of Variance*. New York, NY: McGraw-Hill: 431-445, 1990
- 9) 嵯峨井 勝：「生活習慣病・活性酸素・栄養」シリーズ 高血圧の発症機序と予防、活性酸素との関わり（総説）。日本ヒューマンケア学会誌 5：9-18, 2012
- 10) 嵯峨井 勝：「生活習慣病・活性酸素・栄養」シリーズ 脳卒中、心疾患の発症機序と予防、活性酸素との関わり（総説）。日本ヒューマンケア学会誌 4：1-11, 2011
- 11) Ashor AW, Lara J, Mathers JC, Siervo M: Effect of vitamin C on endothelial function in health and disease: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Atherosclerosis* 235: 9-20, 2014
- 12) Kang JH, Cook NR, Manson JE, Buring JE, Albert CM, Grodstein F: Vitamin E, vitamin C, beta carotene, and cognitive function among women with or at risk of cardiovascular disease: The Women's Antioxidant and Cardiovascular Study. *Circulation* 119: 2772-2780, 2009
- 13) Ye Z, Song H: Antioxidant vitamins intake and coronary heart disease: meta-analysis of cohort studies. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 15: 26-34, 2008
- 14) Loria CM, Klag MJ, Caulfield LE, Whelton PK: Vitamin C status and mortality in US adults. *Am J Clin Nutr* 72: 139-145, 2000
- 15) Wennmalm A, Benthin G, Edlund A, Jungersten L, Kieler-Jensen N, Lundin S, Westfelt UN, Petersson AS, Waagstein F: Metabolism and excretion of nitric oxide in humans: an

- experimental and clinical study. *Circ Res* 73: 1121-1127, 1993
- 16) 大和 滋、大湊政之：血中、尿中 NO_x —その測定意義と限界。腎と透析 45：765-768, 1998
- 17) Moriguchi T, Shimomitsu T, Odagiri Y, Ichimura S, Tomoda A: Circadian changes in urinary bicarbonate, nitric oxide metabolites and pH in Female Player during handball camp involved in an exercise, rest, and sleep cycle. *Tohoku J Exp Med* 196: 281-291, 2002
- 18) Beltowski J, Wojcicka G, Borkowska: Human leptin stimulates systemic nitric oxide production in the rat. *Obes Res* 10:939-946, 2002
- 19) 八巻 幸二：アディポカイン 日本食品科学工学会誌 57: 319, 2010
- 20) Bachmayer C, Kemmer A, Ehrmann N, Hasenberg T, Lammert A, Hammes HP: Adipokines and endothelial dysfunction in obesity WHO^o III. *Microvasc Res* 89: 129-133, 2013
- 21) Ntaios G, Gatselis NK, Makaritsis K, Dalekos GN: Adipokines as mediators of endothelial function and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 227: 216-221, 2013

The Effects of Antioxidant Vitamins on Arginine-Induced Enhancement of Forearm Vasodilatation in Humans

Tatsuya Tagawa, Rumiko Aoki, Yasuko Sakaida,
Yuko Ishimoto, Masayo Oumi

<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 cells. We have reported that oral administration of L-arginine enhances endothelial function in humans. In that study, we used Isocal[®] Arginaid, which includes vitamins C and E. The aim of the present study was to examine whether Isocal[®] Jelly Arg, which includes 2.5g of L-arginine without antioxidant vitamins C or E, enhances endothelial function in human forearms as well as Isocal[®] Arginaid.

Methods: Forearm blood flow (FBF) was measured by strain gauge plethysmography in 9 healthy women, before and after 4 weeks of oral administration with Isocal[®] Arginaid or Isocal[®] Jelly Arg. 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: Long-term administration with Isocal[®] Jelly Arg significantly enhanced total reactive hyperemic flow (flow debt repayment) ($p < 0.01$) and the effect of Isocal[®] Jelly Arg was equivalent to that of Isocal[®] Arginaid.

Conclusions: These results indicate that long-term administration with L-arginine enhances endothelium-dependent forearm vasodilation in healthy humans, without supplementation of vitamins C and E.

Keywords: L-arginine, nitric oxide, endothelial function, atherosclerosis, antioxidant vitamin