

第7回「アミノ酸の科学 シリーズ講演会」

－アルギニンの代謝と機能－

- 日時 2006年 9月 11日 (月) 午後 3時 ~ 5時 10分
- 会場 レベル21 (東京會館) シルバー・ルーム
アーバンネット大手町ビル21階
東京都千代田区大手町2-2-2 TEL 03-5255-1515

プログラム

開始時間		講師
3時 ~	開催にあたって	門脇 基二 先生 新潟大学自然科学系 農学部 教授
3時10分 ~	NO 合成系とアルギナーゼによる NO 合成とアポトーシスの制御	森 正敬 先生 崇城大学薬学部 薬学科 教授
3時55分 ~	質疑	
4時05分 ~	休憩	
4時15分 ~	外科侵襲とアルギニン	深柄 和彦 先生 防衛医科大学校 防衛医学研究センター 助教授
5時 ~	質疑	
5時10分 ~	閉会	

NO合成系とアルギナーゼによる NO合成とアポトーシスの制御

崇城大学薬学部・放送大学（客員） 森 正敬

一酸化窒素（NO）は血管トーンスの調節、神経伝達作用、抗菌作用など多彩な働きを持つ生理活性分子であるが、NOの産生障害や過剰産生は多くの病態に関与する。NOはアルギニンを基質として3種のNO合成酵素（内皮型eNOS、神経型nNOSおよび誘導型iNOS）の働きにより合成される。我々はNO合成が基質アルギニンの供給により調節されるのではないかと考え研究を始めた。NOSによりNOが合成されると同時にシトルリンが生じるが、シトルリンはアルギニノコハク酸合成酵素（AS）とアルギニノコハク酸リアーゼ（AL）の働きでアルギニンに再生されうる。我々は活性化マクロファージにおいてiNOSとAS、ALが共誘導され、シトルリンからのアルギニン再生（シトルリン-NOサイクル）が働いていることを証明した¹⁾。さらに血管内皮細胞の障害時の初期にeNOSとAS、ALからなるシトルリン-NOサイクルが活性化されることを見出した。一方NOは細胞障害性が強く、NOの過剰産生を抑制するしくみがあり、ここにアルギナーゼが関与するのではないかと考え、I型およびII型アルギナーゼcDNAをクローニングし、機能解析を行なった。その結果、活性化マクロファージを含むいくつかの細胞でI型およびII型アルギナーゼが誘導され、NO産生を抑制することを示した²⁾。さらに、アルギナーゼがサイトカインによるマクロファージのNO依存性アポトーシスを抑制することが分かった³⁾。即ち、NO産生はシトルリン-NOサイクルによって正に、アルギナーゼによって負に調節されていることが明らかとなった⁴⁾。

NOによるアポトーシスは一般にDNA傷害およびp53の誘導を介すると考えられている。一方我々は、小胞体ストレスを介するNO依存性アポトーシスの新しい経路を発見した^{5, 6)}。膵β細胞由来のMIN6細胞を低濃度のSNAPで処理すると小胞体ストレスが起り、小胞体ストレス依存性アポトーシスに働く転写因子CHOPが誘導された。この小胞体ストレスは小胞体Ca²⁺の枯渇によるらしく、カルレティキュリンを過剰発現させて小胞体Ca²⁺ストアを増加させるとアポトーシスが抑制された。さらに、CHOPノックアウトマウス由来の膵島細胞はNO抵抗性を示した。これらの結果は、NOが関与する種々の病態の解析や新しい治療法の開発につながると思われる⁷⁻⁹⁾。

1) *J. Biol. Chem.* 271, 2658-2662, 1996 ; 2) *J. Biol. Chem.* 272, 3689-3693, 1997 ; 3) *J. Cell Biol.* 144, 427-434, 1999 ; 4) In "Nitric Oxide" ed. L. Ignarro, pp. 199-208, 2000, Academic Press ; 5) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98, 10845-10850, 2001 ; 6) *J. Biol. Chem.* 277, 25257-25265, 2002 ; 7) *Cell Death Differ.* 11, 381-389, 2004 (Invited review) ; 8) *J. Nutr.* 134, 2820S-2825S, 2004 (Invited review) ; 9) *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 26, 1439-1446, 2006 (Invited review)

外科侵襲とアルギニン

防衛医科大学校防衛医学研究センター 助教授 深柄 和彦

アルギニンは、免疫栄養の主成分として多くの免疫増強経腸栄養剤に含有され、さまざまな生体反応調節作用を有している。しかし、病態によっては、その投与が逆に生体に不利にはたらく危険性も指摘されている。今回、アルギニンが外科侵襲に対してどのような機序で生体反応を調節するのか、その臨床効果も含めてわれわれの知見を報告する。

方法

1. マウスに頸静脈カテを挿入し、標準経静脈栄養製剤による完全経静脈栄養を施行 (STD-TPN)、またはアルギニン強化(1%アルギニン添加)経静脈栄養製剤による栄養管理 (ARG-TPN)、生理食塩水静脈投与下に通常固形飼料投与 (CHOW) を 5 日間おこなった。その後、犠死せしめ、腸管リンパ装置リンパ球を分離、リンパ球数とその phenotype、粘膜 IgA レベルを測定した。
2. 1 同様の栄養管理後に腹腔内常在白血球を採取した。in vitro 下に LPS 刺激し、核内転写因子 NFκB の活性化を測定した。また、グリコーゲン投与後の腹腔内滲出白血球を採取し、NFκB の活性化、腹腔内洗浄液中のサイトカインレベルを測定した。さらに、盲腸結紮穿孔による腹膜炎時の生存時間を調べた。
3. 1 同様の栄養管理後に肝単核球を分離した。単核球の細胞数、LPS 受容体(CD14, TLR-4) の発現レベルを測定した。
4. マウスの上腸間膜動脈をクランプし腸管虚血をおこない、その間、アルギニンまたは生理食塩水を経静脈投与した。再灌流後の生存を観察、末梢白血球の活性化・腸管の微小血流を測定した。
5. アルギニンを多量に強化した免疫増強経腸栄養剤インパクト®を大腸手術前に 5 日間、通常食に加え飲用させた患者群と非飲用群について、術後 Surgical Site Infection (SSI) の発生率を調べた。

結果

1. STD-TPN 群では CHOW 群に比べ、リンパ球数減少、IgA レベル低下がみられた。アルギニン強化によってもこれらの低下は改善できなかった。
2. STD-TPN 群では CHOW 群に比べ、NFκB 活性化・腹腔内サイトカインレベルが低下し、腹膜炎時の生存時間が短縮した。アルギニン強化によって NFκB 活性化の増強・サイトカインレベルの一部上昇がみられ、生存時間も改善した。
3. STD-TPN 群では CHOW 群に比べ、肝単核球数の減少、LPS 受容体の発現レベル低下がみられた。アルギニン強化によってもこれらの改善はなかった。
4. アルギニン投与群は生理食塩水投与群に比べ、腸管虚血中の微小循環を軽度改善したが、白血球の活性化を増強させ、再灌流後早期の生存率を低下させた。
5. 免疫増強経腸栄養剤投与群では、非投与群に比べ SSI 発生率が低下した。

結論

アルギニンは外科手術後の SSI 予防に有効と考えられるが、投与の効果は免疫臓器の部位によって異なり、病態によっては不利に作用する危険もある。