

Title	Dietary L-lysine prevents arterial calcification in adenine-induced uremic rats
Author(s)	下村, 明弘
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34291
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論 文 内 容 の 要 旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	下村 明弘
論文題名 Title	Dietary L-lysine prevents arterial calcification in adenine-induced uremic rats (アミノ酸L-リジン経口投与はアデニンラットの血管石灰化を抑制する)
論文内容の要旨	
<p>〔目的(Purpose)〕</p> <p>血管石灰化は、慢性腎不全患者における心血管イベント発症の主要な危険因子であるが、いまだ十分な治療法は確立されていない。腎不全モデルラットであるアデニン負荷ラットにおいて、低タンパク食が血管石灰化を増悪させることが知られているため、慢性腎不全患者で第一制限アミノ酸となりやすいL-lysine(L-Lys)と血管石灰化の関係を明らかにすることを目的に、以下の実験を行った。</p>	
<p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>13週齢雄性Sprague-Dawleyラットを無作為に「2.5%低蛋白(LP)食群(LP群)」「LP食+アデニン(ade)群(Ade群)」「LP食+ade+glycine群(Gly群:アミノ酸対照群)」「LP食+ade+L-Lys群(Lys群)」の4群に分け、L-Lysがアデニンラットの血管石灰化に与える影響を評価した。その結果、Ade群・Gly群に比べ、Lys群では血管石灰化が著明に抑制されることが明らかとなった。Ade投与3群(Ade群・Gly群・Lys群)間に食餌摂取量、飲水量、体重、腎機能、血清pH、血清リン値に差を認めなかったため、L-Lysの血管石灰化抑制機序はこれらに依存しないことが示唆された。このため、以下、L-Lysによる血管石灰化抑制メカニズムをsystemic factor(臓器連関)とlocal factor(血管局所因子)に分けて検討した。</p> <p>血管石灰化はしばしば骨粗鬆症を伴う(骨血管相関)ため、systemic factorとしてL-Lysが骨に与える影響をマイクロCTにて評価した。その結果、LP群に比べAde群・Gly群で悪化した骨密度・porosity・アパタイト配向性がLys群において改善した。Ade・Gly群で上昇していた血清副甲状腺ホルモン値がLys群で著明に抑制されていたため、L-Lys経口投与は、腎不全に伴う二次性副機能亢進症抑制を介して適切な骨血管相関を保ち、血管石灰化を抑制したと考えられた。</p> <p>次にlocal factorを検討した。Local factorを検討するに当たり、上記4群の血漿アミノ酸濃度をLC/ESI-MS/MS法で測定したところ、Lys群において血漿Lys濃度の上昇を認めず、Lysの分解産物であるhomoarginine(Homo-Arg)、α-amino adipic acidの濃度上昇を認めた。詳細に検討したところ、Lys群では血漿alanine(Ala)、proline(Pro)、arginine(Arg)、Homo-Arg濃度が有意に上昇し、これらアミノ酸の濃度上昇が血管石灰化抑制と関連することが示唆されたため、以下これらのアミノ酸を用いてさらに検討を進めた。</p> <p>血管石灰化を促進するlocal factorには、血管平滑筋のアポトーシスなどによるactive pathwayとカルシウム(Ca)/リン(P)の沈着によるpassive pathwayが知られているため、L-Ala, L-Pro, L-Arg, L-Homo-Argがこれらに与える影響を評価した。培養血管平滑筋細胞にCa/P負荷を行うとアポトーシスが誘導されたため、培地にL-Ala, L-Pro, L-Arg, L-Homo-Argを添加してcleaved caspase 3のウェスタンブロットとTUNEL染色を用いて、アミノ酸がアポトーシスに与える影響を評価した。その結果、L-Ala, L-Proは培養血管平滑筋細胞のアポトーシスを抑制し、L-Arg, L-Homo-Argは抑制しないことが明らかになった。また、passive pathway評価としてCa/P過飽和溶液のCa/P沈殿形成にアミノ酸が与える影響を評価したところ、L-Arg, L-Homo-Argが濃度依存性にCa/P沈殿形成を抑制し、L-Ala, L-Proは抑制しないことが明らかとなった。</p>	
<p>〔総括(Conclusion)〕</p> <p>アミノ酸L-Lysの経口投与が血管石灰化を抑制することを初めて明らかにした。経口L-Lys投与は二次性副甲状腺機能亢進症を抑制して適切な骨血管相関を保つとともに、血漿Ala, Pro, Arg, Homo-Arg上昇を介して血管平滑筋細胞のアポトーシス抑制、Ca/P沈殿形成抑制を介して血管石灰化を抑制すると考えられた。L-Lys経口投与は血管石灰化に対する新たな予防法となり得る可能性がある。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 下村 明弘

論文審査担当者	(職)	氏 名
主 査	大阪大学教授	樂木 宏晃
副 査	大阪大学教授	木蘭 東一
副 査	大阪大学教授	野々村 祝夫

論文審査の結果の要旨

血管石灰化(VC)は腎不全患者における心血管イベント発症の重要な危険因子であるが、いまだ十分な治療法は確立されていない。低蛋白療法は腎不全患者に行われる食事療法であるが、アデニン誘導性腎不全(Ade)ラットにおいて、低蛋白食によりVCが増悪することも知られている。そこで、本研究では蛋白制限時に最も欠乏しやすいL-リジン(L-Lys)とVCの関係を検討した。その結果、L-Lys経口投与によりAdeラットのVCおよび骨粗鬆症病変が著明に抑制されることが明らかになった。L-Lys経口投与は、食餌摂取量、飲水量、体重、腎機能、血清pH、血清リン値に影響しないことから、L-Lysはこれらに依存せずVCを抑制すると考えられた。血漿アミノ酸濃度を測定したところ、L-Lys経口投与によりアルギニン、ホモアルギニン、アラニン、プロリン濃度が上昇しており、in vitro実験系で前二者はCa/P沈殿抑制作用、後二者は血管平滑筋細胞アポトーシス抑制作用を示すことから、両作用はVC抑制に重要であり、これら4種のアミノ酸血漿濃度上昇が、L-Lys経口摂取によるVC抑制機序の少なくとも一部となっていると考えられた。以上の知見は、L-Lys経口投与が新たなVC予防法となる可能性を示唆しており、本研究は新規性も高く学位に値すると考える。