

内因性血管作動物質に対する冠動脈収縮反応に 及ぼすコルチコステロンの影響

— イヌ冠動脈および腎動脈螺旋標本による比較検討 —

金沢大学医学部内科学第二講座 (主任: 竹田亮祐教授)

村 上 達 明

生体内に存在する血管作動物質に対する冠動脈収縮反応に及ぼすコルチコステロンの影響を明らかにするために、摘出イヌ冠動脈標本を用いて血管作動物質の冠動脈収縮作用に対するコルチコステロンの修飾作用を検討した。対比検討の目的で腎動脈についても同様の検討を行った。さらにその修飾作用における内皮の関与を検討した。雑種成熟イヌ (オスまたはメス 28頭, 体重 8~16kg) 冠動脈左冠動脈回旋枝および腎動脈を摘出し螺旋標本を作成した。これをクレブス液で灌流した臓器槽内に装着し、ノルエピネフリン (norepinephrine, NE), セロトニン (serotonin, 5HT), エンドセリン-1 (endothelin-1, ET1), プロスタグランジン- $F_2\alpha$ (prostaglandin- $F_2\alpha$, $PGF_2\alpha$) を累積投与し、コルチコステロン存在下および非存在下において発生張力を等尺性に記録し、冠動脈および腎動脈収縮作用がどう修飾されるかを検討した。また機械的に内皮を剝離した標本で同様な実験を行い、内皮の関与を検討した。コルチコステロンは、ET1, $PGF_2\alpha$ に対する冠動脈収縮反応を減弱させた。NE, 5HT に対する冠動脈収縮反応には有意な影響を及ぼさなかった。他方コルチコステロンは、何れの作動物質に対する腎動脈収縮反応にも有意な影響を及ぼさなかった。また機械的に内皮を剝離した標本においても、コルチコステロンは、ET1, $PGF_2\alpha$ に対する冠動脈収縮反応を減弱させた。以上より、コルチコステロンは、ET1, $PGF_2\alpha$ に対する冠動脈収縮反応の内皮非依存性減弱作用を有しており、冠血管のトーンを調節していると考えられた。

Key words corticosterone, endogenous vasoconstrictor, isolated canine coronary artery

昨今のバイオテクノロジーの飛躍的な進歩により、様々な生体内血管作動物質が同定され¹⁾、そのパラクリンおよびオートクリン作用が明らかにされつつあるが、これらの作用に対し体内ホルモンがいかなる修飾作用を及ぼすかについては未解明の点が多い。他方生体内の恒常性を維持する基本的なホルモンである糖質コルチコイドの作用については複雑多岐にわたり、血管収縮反応に対する影響も不明な点が多く、各種血管作動物質の主たる生理的および病的作用点の一つである冠動脈のトーン調節に与える影響は全く不明である。そこで著者は生体内の血管作動物質に対する冠動脈収縮反応に及ぼす糖質コルチコイドの影響を明らかにする目的で、摘出イヌ冠動脈標本を用いて以下の検討を行った。生体内に存在する血管作動物質に対する冠動脈収縮作用に及ぼすコルチコステロンの修飾作用、換言すれば間接的冠動脈への作用を検討し、次いで生体内に存在する血管作動物質に対する腎動脈収縮作用に及ぼすコルチコステロンの修飾作用、換言すれば冠動脈と腎動脈におけるコルチコステロンの修飾作用を比較検討し、さらにコルチコステロンの修飾作用における内皮の関与を検討した。

対象および方法

1. 対 象

実験には体重 8~16kg の雑種成熟イヌ 28頭を用いた。ペント

バルビタール (30mg/kg) 静脈内投与による麻酔後、脱血屠殺した。正中開胸及び開腹後速やかに心臓および、腎動脈を一括した腎臓を摘出し、氷冷した保生液中で冠動脈および腎動脈を注意深く摘出し、硬性結合組織を丁寧に取り除き、血管縦軸と60度の交差角で長さ 15mm 幅 2mm の螺旋状標本を作製した。内皮剝離が必要なときは、Furchgott らの方法¹⁾に従い保生液で濡らした綿棒で動脈の内膜側を擦過し内皮の剝離を機械的に行った。作製した標本は一定の速度の保生液で灌流した臓器槽内 (容量 4.6ml) に装着した。標本の下端は臓器槽の底に固定し、上端を等尺性張力トランスジューサー TB-651T (日本光電, 東京) に結合した (図 1)。トランスジューサーで検出した等尺性張力の変化は張力用アンプ EF-601G (日本光電) で増幅し、直記式レコーダー (日本光電) を用いて記録した。基本静止張力として 1g を負荷した。保生液にはクレブス液を使用し、その組成を NaCl: 120.0, KCL: 15.9, $NaHCO_3$: 25.0, NaH_2PO_4 : 1.2, $CaCl_2$: 2.5, $MgCl_2$: 1.2, グルコース: 5.5mM とした。実験中は絶えず 95% O_2 , 5% CO_2 混合ガスで通気を行い、pH7.4 に維持した。また恒温ポンプを用いて臓器槽の周囲に温水を灌流し槽内の温度を $37.0 \pm 0.5^\circ C$ に保った。標本を臓器槽内に装着後90分間放置し、標本の発生する張力が安定した後実験を開始した。各薬剤はマイクロシリンジで直接臓器槽内に累積投与方法を用いて投与し、これにより標本に発生する張力を記録し各薬

平成 5 年 10 月 15 日受付, 平成 5 年 12 月 3 日受理

Abbreviations: Ach, acetylcholine chloride; ET1, endothelin-1; 5HT, serotonin; NE, norepinephrine; $PGF_2\alpha$, prostaglandin- $F_2\alpha$

剤の用量反応曲線を求めた。薬物濃度は全て臓器槽内の濃度として求めた。各実験で得られた収縮量は、80mMの高カリウム保生液 (NaCl: 74.1mM を KCl: 74.1mM で置換) で灌流したときの収縮量を 100% として標準化した。

II. 使用薬剤

実験にはコルチコステロン (corticosterone) (Sigma, セントルイス, USA), ノルエピネフリン (norepinephrine, NE) (三共製薬, 東京), セロトニン (serotonin, 5HT) (Sigma), エンドセリン-1 (endothelin-1, ET1) (ペプチド研究所, 大阪), プロスタグランジン-F₂α (prostaglandin-F₂α, PGF₂α) (小野薬品, 大阪), アセチルコリン (acetylcholine hydrochloride, Ach) (第一製薬, 東京), プロプラノロール (propranolol) (ICI, ロンドン, イギリス) を用いた。

III. 実験1 内因性血管作動物質に対する冠動脈収縮作用に及ぼすコルチコステロンの影響に関する検討

同一のイヌより左冠動脈回旋枝近位部標本を二個採取した。螺旋標本を作製後各々を臓器槽内に装着し、一方は 10^{-7} M コルチコステロンを溶解した保生液にて灌流し、他方は通常の保生液で灌流した。3時間灌流後、NE (n=5, 実験 1-1) をマイクロシリンジで 10^{-10} M から 10^{-4} M まで累積的に投与し、各標本における用量反応曲線を求めた。得られた用量反応曲線のコルチコステロン存在下と非存在下における比較を行い、NE の冠動脈収縮作用に対するコルチコステロンの修飾作用を検討した。NE の β 作用による血管拡張作用を除外するため 10^{-6} M プロプラノロールを溶解した保生液を用いた。

5HT (n=5, 実験 1-2) をマイクロシリンジで 10^{-10} M から 10^{-4} M まで累積的に投与し、各標本における用量反応曲線を求めた。得られた用量反応曲線のコルチコステロン存在下と非存在下における比較を行い、5HT の冠動脈収縮作用に対するコルチコステロンの修飾作用を検討した。

ET1 (n=5, 実験 1-3) をマイクロシリンジで 10^{-10} M から 10^{-7} M まで累積的に投与し、各標本における用量反応曲線を求

めた。得られた用量反応曲線のコルチコステロン存在下と非存在下における比較を行い、ET1 の冠動脈収縮作用に対するコルチコステロンの修飾作用を検討した。

PGF₂α (n=5, 実験 1-4) をマイクロシリンジで 10^{-6} M から 10^{-4} M まで累積的に投与し、各標本における用量反応曲線を求めた。得られた用量反応曲線のコルチコステロン存在下と非存在下における比較を行い、PGF₂α の冠動脈収縮作用に対するコルチコステロンの修飾作用を検討した。

IV. 実験2 内因性血管作動物質に対する腎動脈収縮作用に及ぼすコルチコステロンの影響に関する検討

同一のイヌより腎動脈近位部標本を二個採取し、実験 1 と同様な方法で 10^{-7} M コルチコステロン存在下と非存在下における、上記血管作動物質を累積投与した時の用量反応曲線を求めた。

V. 実験3 コルチコステロンの血管作動物質に対する冠動脈反応修飾作用における内皮の関与に関する検討

同一のイヌより左冠動脈回旋枝近位部標本を二個採取した。螺旋標本を作製後、内皮の機械的剝離を行い、各々を臓器槽内に装着し、一方は 10^{-7} M コルチコステロンを溶解した保生液にて灌流し、他方は通常の保生液で灌流した。3時間灌流後、実験 1 でコルチコステロン修飾作用が確認された血管作動物質を、実験 1 と同様な方法で累積投与を行い、用量反応曲線を求め、コルチコステロンの修飾作用における内皮の関与を検討した。

VI. 統計学的検討

得られた成績は全て平均値±標準誤差として表示した。各群間の平均値の差の検定は、二元配置による分散分析を用いて行い、危険率が0.05以下をもって有意とした。

成 績

I. 内因性血管作動物質に対する冠動脈収縮作用に及ぼすコルチコステロンの影響に関する検討

1. NE の冠動脈収縮作用におよぼすコルチコステロンの影響

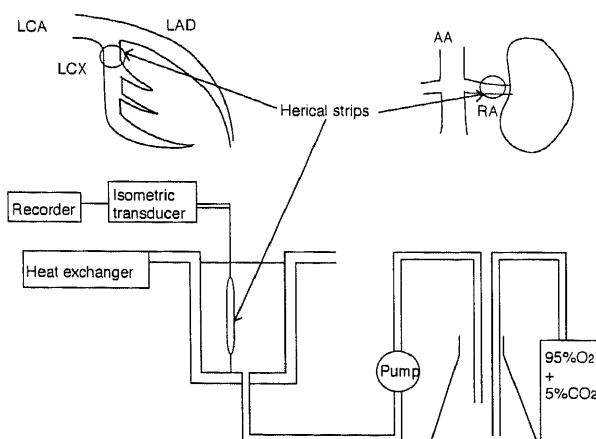


Fig. 1. Schematic presentation of the measurement on isometric contraction. Helical strips prepared from the left circumflex coronary artery and the renal artery of 28 mongrel dogs (either sex, weight 8.0–16.0 kg) were suspended in Krebs Buffer (pH 7.40) gassed with 95% O₂ and 5% CO₂ at 37 °C, and the isometric developed tension was recorded. LCA, left circumflex artery; LAD, left anterior descending artery; LCX, left circumflex artery; AA, abdominal aorta; RA, renal artery.

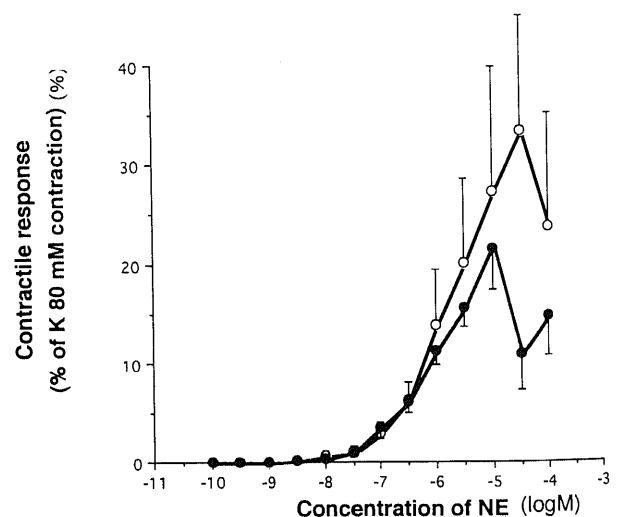


Fig. 2. Dose-response curves to norepinephrine (NE) in the canine coronary artery with (closed circle) and without (open circle) 10^{-7} M corticosterone. Contractions induced by NE were presented as values relative to those induced by 80 mM K. Results were expressed as mean±S.E.M. Vertical bars represent S.E.M. (n=5). The difference was not statistically significant.

本実験はNEの β 作用による血管拡張作用を、除外するため 10^{-6} Mプロプラノロールを溶解した保生液にて行った。NEの 10^{-10} Mから 10^{-4} M累積投与による用量反応曲線は、 10^{-7} Mコルチコステロンの存在により影響を受けなかった(図2)。すなわち 10^{-7} Mコルチコステロン溶解保生液と対照保生液における螺旋標本の収縮量は、 10^{-10} M-NEにおいて各々 $11.0 \pm 1.5\%$ 、 $13.7 \pm 5.8\%$ 、 10^{-6} M-NEにおいて各々 $21.5 \pm 4.5\%$ 、 $27.6 \pm 13.4\%$ であった。

2. 5HTの冠動脈収縮作用に及ぼすコルチコステロンの影響

5HTの 10^{-10} Mから 10^{-4} M累積の投与による用量反応曲線は、コルチコステロン存在下と非存在下とで有意差をみとめなかった(図3)。 10^{-7} Mコルチコステロン溶解保生液と対照保生液における螺旋標本の収縮量は、 10^{-7} M-5HTにおいて各々

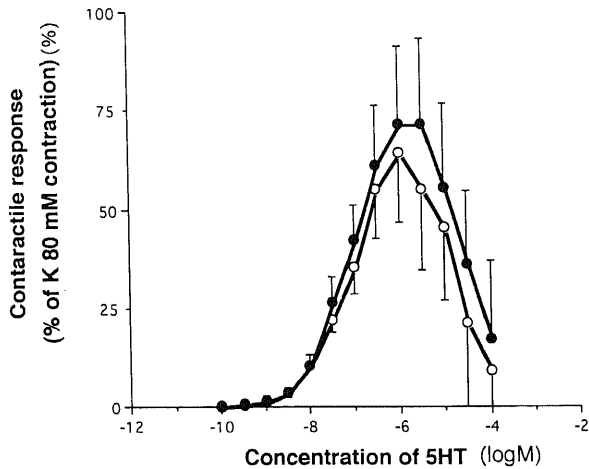


Fig. 3. Dose-response curves to serotonin (5HT) in the canine coronary artery with (closed circle) and without (open circle) 10^{-7} M corticosterone. Contractions induced by 5HT were presented as values relative to those induced by 80 mM K. Results were expressed as mean \pm S.E.M. Vertical bars represent S.E.M. (n=5). The difference was not statistically significant.

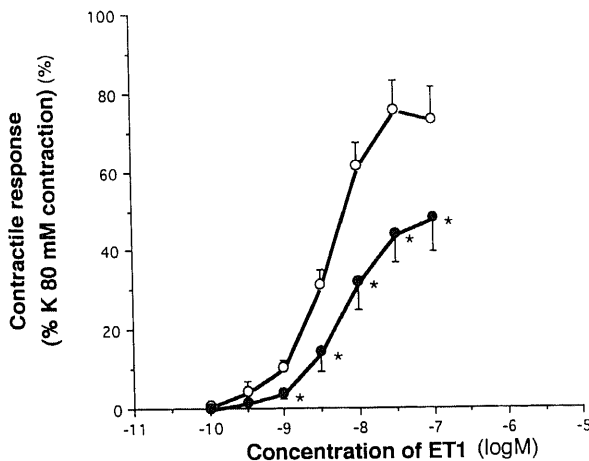


Fig. 4. Dose-response curves to endothelin-1 (ET1) in the canine coronary artery with (closed circle) and without (open circle) 10^{-7} M corticosterone. Results were expressed as mean \pm S.E.M. Vertical bars represent S.E.M. (n=5). The difference was statistically significant (* $p < 0.05$).

$42.9 \pm 8.3\%$ 、 $34.5 \pm 6.6\%$ 、 10^{-6} M-5HTにおいて各々 $71.9 \pm 18.5\%$ 、 $64.0 \pm 16.8\%$ であった。

3. ET1の冠動脈収縮作用に及ぼすコルチコステロンの影響

ET1を 10^{-10} Mから 10^{-4} Mまで累積的投与し求めた用量反応曲線より、 10^{-7} Mコルチコステロンの存在下で、ET1の冠動脈収縮作用は減弱した(図4)。 10^{-7} Mコルチコステロン溶解保生液と対照保生液における螺旋標本の収縮量は、 10^{-10} M-ET1において各々 $31.4 \pm 7.6\%$ 、 $61.2 \pm 6.5\%$ 、 10^{-7} M-ET1において各々 $48.5 \pm 9.9\%$ 、 $72.3 \pm 8.9\%$ であった。

4. $PGF_{2\alpha}$ の冠動脈収縮作用に及ぼすコルチコステロンの影響

$PGF_{2\alpha}$ の 10^{-8} Mから 10^{-4} Mまで累積的に投与し、用量反応曲線を求めた。 10^{-7} Mコルチコステロン存在下において、 $PGF_{2\alpha}$ の冠動脈収縮作用は減弱した(図5)。 10^{-7} Mコルチコ

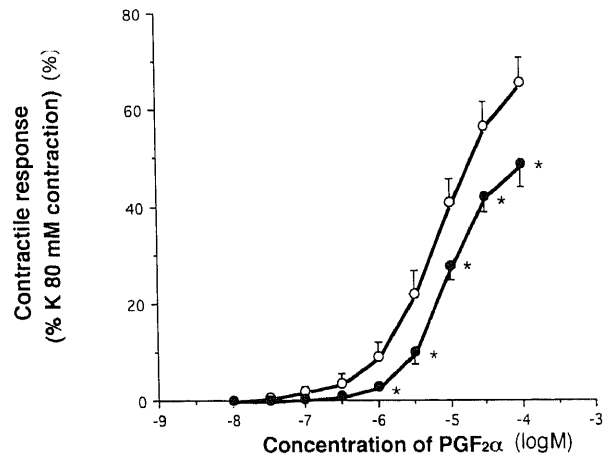


Fig. 5. Dose-response curves to prostaglandin- $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) in the canine coronary artery with (closed circle) and without (open circle) 10^{-7} M corticosterone. Results were expressed as mean \pm S.E.M. Vertical bars represent S.E.M. (n=5). The difference was statistically significant (* $p < 0.05$).

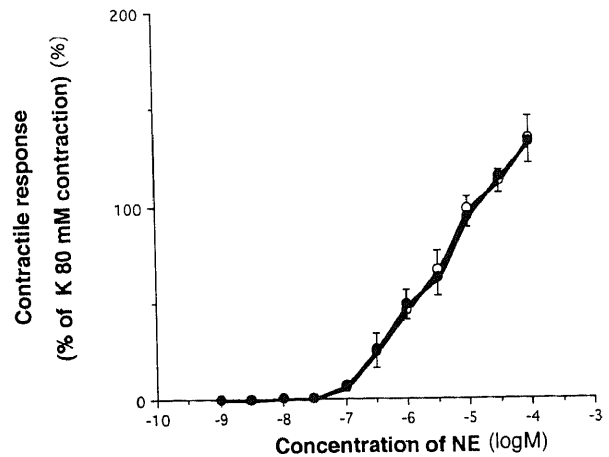


Fig. 6. Dose-response curves to norepinephrine (NE) in the canine renal artery with (closed circle) and without (open circle) 10^{-7} M corticosterone. Contractions induced by NE were presented as values relative to those induced by 80 mM K. Results were expressed as mean \pm S.E.M. Vertical bars represent S.E.M. (n=5). The difference was not statistically significant.

テロン溶解保生液と対照保生液における螺旋標本の収縮量は 10^{-5}M -PGF $_{2\alpha}$ において各々 $26.8 \pm 2.8\%$, $40.1 \pm 4.6\%$, 10^{-4}M -PGF $_{2\alpha}$ において各々 $48.9 \pm 4.5\%$, $65.5 \pm 5.5\%$ であった。

II. 内因性血管作動物質に対する腎動脈収縮作用に及ぼすコルチコステロンの影響に関する検討

1. NE の腎動脈収縮作用に及ぼすコルチコステロンの影響
本実験は NE の β 作用による血管拡張作用を、除外するため 10^{-6}M プロプラノロールを溶解した保生液にて行った。NE の 10^{-10}M から 10^{-4}M 累積投与による用量反応曲線は、 10^{-7}M コルチコステロンの存在により影響を受けなかった (図 6)。
 10^{-7}M コルチコステロン溶解保生液と対照保生液における螺旋標本の収縮量は、 10^{-6}M -NE において各々 $49.5 \pm 6.8\%$, $43.8 \pm 4.5\%$, 10^{-4}M -NE において各々 $134.3 \pm 11.3\%$, $136.6 \pm 10.4\%$ であった。

2. 5HT の腎動脈収縮作用に及ぼすコルチコステロンの影響に関する検討

5HT の 10^{-10}M から 10^{-4}M 累積投与による用量反応曲線は、コルチコステロン存在下にてやや下方に偏位する傾向を示すものの統計学的には有意差を認めなかった (図 7)。 10^{-7}M コルチコステロン溶解保生液と対照保生液における螺旋標本の収縮量は 10^{-7}M -5HT において各々 $9.5 \pm 2.0\%$, $22.5 \pm 9.6\%$, 10^{-6}M -5HT において各々 $37.9 \pm 11.5\%$, $80.0 \pm 27.7\%$ であった。

3. ET1 の腎動脈収縮作用に及ぼすコルチコステロンの影響に関する検討

ET1 の 10^{-10}M から 10^{-6}M 累積投与による用量反応曲線は 10^{-7}M コルチコステロンの存在により影響を受けなかった (図 8)。 10^{-7}M コルチコステロン溶解保生液と対照保生液における螺旋標本の収縮量は、 10^{-8}M -ET1 において各々 $15.5 \pm 2.0\%$, $15.2 \pm 7.0\%$, 10^{-6}M -ET1 において各々 $58.6 \pm 9.7\%$, $62.3 \pm 9.9\%$ であった。

4. PGF $_{2\alpha}$ の腎動脈収縮作用に及ぼすコルチコステロンの影

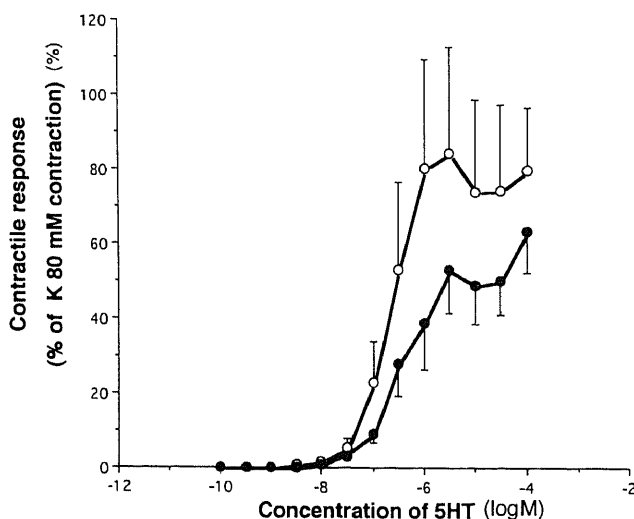


Fig. 7. Dose-response curves to serotonin (5HT) in the canine renal artery with (closed circle) and without (open circle) 10^{-7}M corticosterone. Contractions induced by 5 HT were presented as values relative to those induced by 80 mM K. Results were expressed as mean \pm S.E.M.. Vertical bars represent S.E.M. ($n=5$). The difference was not statistically significant.

響に関する検討

PGF $_{2\alpha}$ の 10^{-8}M から 10^{-4}M まで累積的に投与し求めた用量反応曲線は、 10^{-7}M コルチコステロン存在下と非存在下において、有意差を認めなかった (図 9)。 10^{-7}M コルチコステロン溶解保生液と対照保生液における螺旋標本の収縮量は、 10^{-5}M -PGF $_{2\alpha}$ において各々 $26.0 \pm 2.2\%$, $28.8 \pm 2.0\%$, 10^{-4}M -PGF $_{2\alpha}$ において各々 $44.7 \pm 0.6\%$, $47.3 \pm 2.5\%$ であった。

III. コルチコステロンの血管作動物質に対する冠動脈反応修飾作用における内皮の関与に関する検討

実験 1, 2 でコルチコステロンが、ET1, PGF $_{2\alpha}$ の冠動脈収縮作用を減弱することが確認されたので、内皮の機械的剝離を行った螺旋標本で実験 1 と同様な方法で ET1, PGF $_{2\alpha}$ の累積投与を行い、用量反応を求め、かかるコルチコステロンの修飾作用における内皮の関与を検討した。

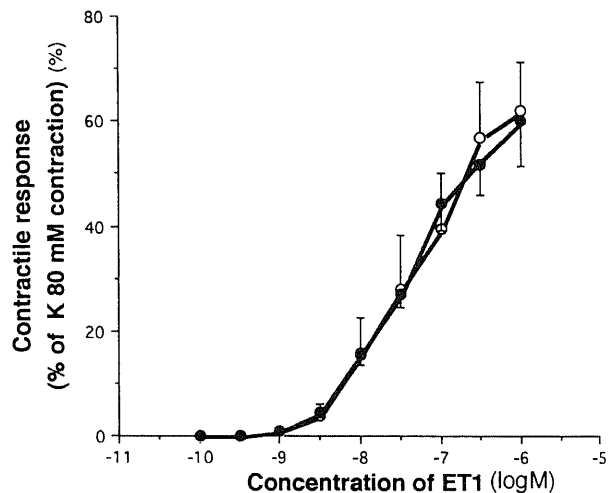


Fig. 8. Dose-response curves to endothelin-1 (ET1) in the canine renal artery with (closed circle) and without (open circle) 10^{-7}M corticosterone. Results were expressed as mean \pm S.E.M.. Vertical bars represent S.E.M. ($n=5$). The difference was not statistically significant.

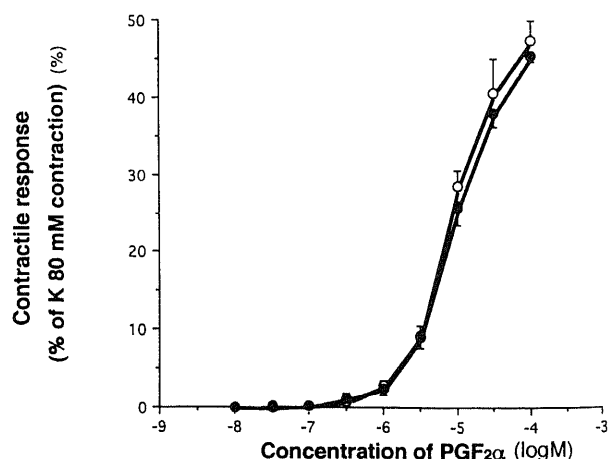


Fig. 9. Dose-response curves to prostaglandin-F $_{2\alpha}$ (PGF $_{2\alpha}$) in the canine renal artery with (closed circle) and without (open circle) 10^{-7}M corticosterone. Results were expressed as mean \pm S.E.M.. Vertical bars represent S.E.M. ($n=5$). The difference was not statistically significant.

1. ET1の冠動脈収縮作用に及ぼすコルチコステロンの減弱作用における内皮の関与に関する検討

内皮の機械的剝離を行った螺旋標本に、ET1を 10^{-10} Mから 10^{-7} Mまで累積的投与し用量反応曲線を求めたところ、内皮温存標本と同様に 10^{-7} Mコルチコステロンの存在下で、ET1の冠動脈収縮作用は減弱した(図10)。 10^{-7} Mコルチコステロン溶解保生液と対照保生液における螺旋標本の収縮量は、 10^{-8} M-ET1において各々 $41.4 \pm 4.4\%$ 、 $70.6 \pm 4.5\%$ 、 10^{-7} M-ET1において各々 $56.7 \pm 4.9\%$ 、 $79.3 \pm 5.8\%$ であった。

2. $PGF_{2\alpha}$ の冠動脈収縮作用に及ぼすコルチコステロンの減弱作用における内皮の関与に関する検討

内皮の機械的剝離を行った螺旋標本に、 $PGF_{2\alpha}$ を 10^{-8} Mから 10^{-4} Mまで内皮の機械的剝離を行った螺旋標本に累積投与し用量反応曲線を求めたところ、内皮温存標本と同様に 10^{-7} Mコルチコステロン存在下において、 $PGF_{2\alpha}$ の冠動脈収縮作用は減弱した(図11)。 10^{-7} Mコルチコステロン溶解保生液と対照保生液における螺旋標本の収縮量は、 10^{-8} M- $PGF_{2\alpha}$ において各々 $18.2 \pm 4.4\%$ 、 $35.6 \pm 5.3\%$ 、 10^{-4} M- $PGF_{2\alpha}$ において各々 $42.3 \pm 2.5\%$ 、 $62.8 \pm 5.4\%$ であった。

考 察

今日ではカテコラミン、ペプチド、プロスタノイドなど多くの血管作動物質が血管収縮物質として同定され、その構造、生理活性、病的意義などが急速に明らかにされつつあるが、体内ホルモンから受ける調節作用については未解明の点も多く今後の発展が待たれる分野である。副腎皮質ステロイドは体内の恒常性を維持する基本的なホルモンであり、多数の研究がなされてきているが、血管作動物質と関連した報告は比較的少なく、そのほとんどがクッシング症候群など慢性グルココルチコイド過剰状態における成績であり、急性病態に関する検討は十分なされていない。一方各種血管作動物質の主たる作用点の一つである冠動脈疾患は、急性心筋梗塞で代表される急性病態である。著者は、各種血管作動物質の冠動脈に対する作用を検討す

る上で、副腎皮質ステロイドとの関連を検討することが重要と考え今回の実験を企画した。その結果コルチコステロンは複数の血管作動物質(ET1, $PGF_{2\alpha}$)の冠動脈収縮作用を減弱させることが判明した。

今日同定されている血管作動物質は非常に多数であり、その全てに対し検討を加えることは不可能である。従って今回は生体内に存在し冠動脈疾患において病的意義の大きい4種の代表的血管作動物質に限定し検討を行った。

NEは交感神経末端から放出されるカテコラミンで生体内に存在するもっとも基本的な血管作動物質の一つである。冠動脈疾患における交感神経の関与については古くから多くの議論がなされてきた。異型狭心症の患者においては、寒冷刺激やストレスなどの内因性カテコラミン刺激で冠攣縮が誘発される³⁾。また交感神経伝達物質であるカテコラミンを外部から投与することによっても高頻度に冠攣縮が誘発され、冠攣縮には交感神経系が深く関与することを示唆する報告が多い⁴⁵⁾。しかし今回の著者の検討ではコルチコステロン存在下でNEに対する冠動脈収縮反応は有意な増強を示さなかった。NEは血管平滑筋に対して α 作用(主として血管収縮作用)と β 作用(血管拡張作用)をもち、両受容体の分布は血管により異なり冠動脈においては β 受容体が優勢である⁶⁾。従って冠動脈平滑筋においては、 β 作動性の血管拡張を考慮すべきであり、我々は β 受容体遮断剤を投与して実験を行なったが、コルチコステロン存在下でNEに対する冠動脈収縮反応は有意な増強を示さなかった。糖質コルチコイドは β 作用の許容効果を持つといわれており、 β 受容体が優勢である冠動脈平滑筋においてはコルチコステロンは冠動脈弛緩反応を増強する可能性がある。

5HTは血小板の濃染顆粒から放出されることが知られており、血栓の関与が心筋梗塞の発症機転において大なることを考慮すれば、冠動脈トーン調節にかかわるセロトニンの病的意義は大きいと思われる。しかしながら今回の我々の検討ではコルチコステロン存在下でセロトニンに対する冠動脈収縮反応は有意な増強を示さなかったことから、少なくともコルチコステ

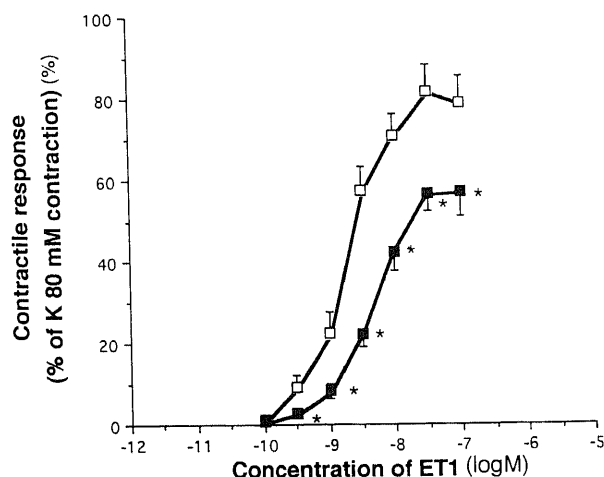


Fig. 10. Dose-response curves to endothelin-1 (ET1) in the endothelium-denuded canine coronary artery with (closed square) and without (open square) 10^{-7} M corticosterone. Results were expressed as mean \pm S.E.M. Vertical bars represent S.E.M. (n=4). The difference was statistically significant (* $p < 0.05$).

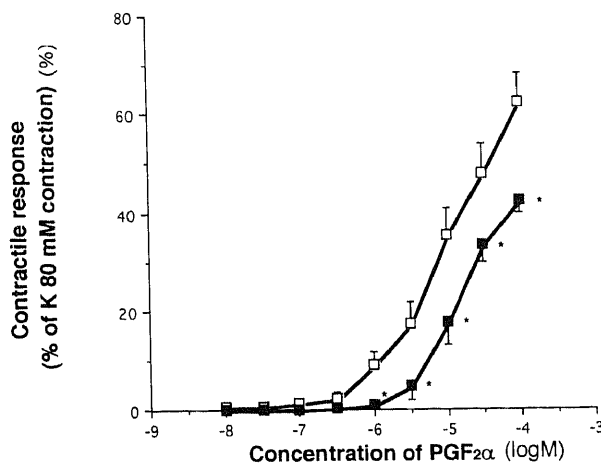


Fig. 11. Dose-response curves to prostaglandin- $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) in the endothelium-denuded canine coronary artery with (closed square) and without (open square) 10^{-7} M corticosterone. Results were expressed as mean \pm S.E.M. Vertical bars represent S.E.M. (n=4). The difference was statistically significant (* $p < 0.05$).

ロンは、5HT を介する冠動脈トーン亢進作用はもたないと考えられた。

ET1 は、21残基のアミノ酸からなる血管収縮ペプチドであり、ブタ血管内皮細胞の培養上清から単離された。ET1 はヒト血管において NE よりも約100倍強力かつ持続の長い収縮反応を引き起こすことが知られている⁹⁻¹¹。ET1 に関しては、分子生物学の急速な進歩と相まってその発見後数年の経過で数多くの知見が得られた。動物実験において、ET1 を冠動脈内に投与すると著明な冠攣縮と心筋虚血を引き起こすこと、低用量の ET1 は NE や 5HT による冠攣縮を増強すること¹²、ジヒドロピリジン系カルシウム拮抗剤の投与で ET1 の冠動脈収縮反応が競合的に阻害されることなどから⁹、冠攣縮の誘発因子としての可能性が強く示唆されている。

今回の著者の検討ではコルチコステロンにより ET1 による冠動脈収縮反応は減弱した。ラット血管平滑筋における検討において、デキサメサゾンがエンドセリンレセプター数を減少させるという報告¹³は、我々の今回の検討と合致し、コルチコステロンによる ET1 に対する冠動脈収縮反応減弱のひとつの機序として、コルチコステロンによるエンドセリンレセプターの減少が考えられる。また ET1 による血管収縮発現にフォスホリパーゼ A₂ 活性化が関与しており^{17,18}、この酵素が糖質コルチコイドにより阻害されることも機序の一つとして考えられる。

PGF_{2α} はアラキドン酸カスケード由来の代表的血管収縮プロスタノイドであり、血液中、血管内皮、病的状態としては血栓に含まれ、血管平滑筋収縮に重要な役割を演じていると考えられる。著者の検討ではコルチコステロンにより PGF_{2α} による冠動脈収縮反応は減弱した。この結果は、Sessa らのデキサメサゾンがプロスタノイドによるウサギ胸部大動脈収縮反応を減弱したという報告¹⁴と一致する。彼らはデキサメサゾンによるプロスタノイドレセプター数減少をその機序として考察している。またフォスホリパーゼ A₂ がアラキドンサンカスケードの活性化の鍵となる酵素であり、この酵素が糖質コルチコイドにより阻害される¹⁶ことも機序の一つとして想定される。

摘出標本血管において、血管作動物質投与に対する収縮量は一般的に血管部位によりまちまちである¹⁹。血管作動物質に対する感受性の違いやレセプター数の差によるほかに、収縮反応を修飾する物質に対する反応性の違いも考えられる。今回の著者の検討では、冠動脈標本においては ET1、PGF_{2α} に対する収縮反応がコルチコステロンにより減弱したが、腎動脈ではコルチコステロンによる有意な影響を受けなかった。冠動脈と腎動脈とで差を認めた理由として、血管床によりコルチコステロンの修飾作用が異なる可能性がある。

内皮除去冠動脈標本においても、ET1、PGF_{2α} に対する収縮反応がコルチコステロンにより減弱した。これよりコルチコステロンの血管作動物質による冠動脈収縮反応に対するコルチコステロンの修飾作用は、血管内皮由来の血管作動物質を介するものではないことが示唆された²⁰。

今日、冠攣縮の機序の解明は、虚血性心疾患の治療上重大な課題となっている。冠動脈血管平滑筋には内膜側からは内皮由来、血漿由来、血小板由来、白血球由来などの数多くの血管作動物質が作用しており、外膜側からは神経性の調節を受けており、さらにはホルモンによる調節がこれらに加わり、種々の収縮性因子と拡張性因子の総和により冠動脈は一定のトーンが

保たれている。冠攣縮の発生機序としては、これらの相対的均衡が収縮側に大きく傾いておけると考えられる。狭心症の患者においてはカテコラミンだけでなく数多くの血管作動物質の投与により冠攣縮が誘発されること、特定の血管作動物質受容体阻害薬の投与では冠攣縮発作は抑制されないことから、特定の血管作動物質に対する感受性亢進というより、多種の血管作動物質に対して非特異的に感受性が高まっている状態と考えられる。コルチコステロンが複数の血管作動物質に対する冠動脈収縮反応を減弱させたと言う今回の実験成績から、副腎皮質ステロイドは冠動脈トーンの相対的な均衡の収縮側への病的傾斜を阻止し冠動脈トーンを安定化させる調節作用を持つと考えられた。

結 論

内因性血管収縮物質に対する冠動脈収縮反応に及ぼすコルチコステロンの影響を明らかにするために、摘出イヌ冠動脈標本を用いて、血管作動物質 (NE, 5HT, ET1, PGF_{2α}) の冠動脈収縮作用に対するコルチコステロンの修飾作用を検討した。対比検討の目的で腎動脈についても同様の検討を行った。さらにその修飾作用における内皮の関与を検討し、以下の結論を得た。

1. コルチコステロンは、ET1、PGF_{2α} に対する冠動脈収縮反応を減弱させた。
 2. NE, 5HT に対する冠動脈収縮反応には有意な影響を及ぼさなかった。
 3. コルチコステロンは、NE, 5HT, ET1, PGF_{2α} に対する腎動脈収縮反応には有意な影響を及ぼさなかった。
 4. 内皮を剝離した標本においても、コルチコステロンは、ET1, PGF_{2α} に対する冠動脈収縮反応を減弱させた。
- 以上よりコルチコステロンは、ET1, PGF_{2α} に対する冠動脈収縮反応を内皮非依存性に減弱させる作用を有しており、冠血管のトーンを調節していると考えられた。

謝 辞

稿を終えるに望み、御指導、御校閲を賜った恩師金沢大学第二内科竹田亮祐教授に深甚の謝意を表します。また終始御指導、御教示を戴いた金沢大学第二内科清水賢巳講師および金沢大学第二内科循環器班の諸先生方に心から感謝いたします。

なお本論文の要旨は第75回日本循環器学会北陸地方会、第22回日本脈管作動物質学会にて発表した。

文 献

- 1) Furchgott, R. F. & Zawadzki, J. V.: The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, 288, 373-376 (1980).
- 2) Itoh, Y., Yanagisawa, M., Ohkubo, S., Kimura, C., Kosaka, T., Inoue, A., Ishi, N., Mitui, Y., Onda, H., Fujino, N. & Masaki, T.: Cloning and sequence analysis of cDNA encoding the precursor of a human endothelium-derived vasoconstrictor peptide, endothelin: Identity of human and porcine endothelin. *FEBS Lett*, 231, 440-444 (1988).
- 3) Prinzmetal, M., Kennamer, R., Merliss, R., Wada, T. & Bor, N.: Angina pectoris. I. A variant form of angina pectoris. A preliminary report. *Am. J. Med.*, 27, 375-388 (1959).

- 4) Yasue, H., Touyama, M., Shimamoto, M., Kato, H., Tanaka, S. & Akiyama, F.: Role of autonomic nervous system in the pathogenesis of Prinzmetal's variant form of angina. *Circulation*, **50** 534-538 (1974).
- 5) Nowlin, J. B., Troyer, W. G., Collins, W. S., Silverman, G., Nichols, C. R., Melntosh, H. D., Estes, E. H. Jr. & Bogdonoff, M. D.: The association of nocturnal angina pectoris with dreaming. *Ann. Intern. Med.*, **63**, 1040-1046 (1965).
- 6) Zuberbuhler, R. C. & Bohr, D. F.: Responses of coronary smooth muscle to catecholamines. *Circ. Res.*, **16**, 431-440 (1965).
- 7) Cohen, R. A., Shepherd, J. T. & Vanhoutte, P. M.: Effects of the adrenergic transmitter of epicardial coronary arteries. *Fed. Proc.*, **43**, 2862-2866 (1984).
- 8) Yanagisawa, M., Kurihara, H., Kimura, S., Tomobe, M., Kobayashi, Y., Yazaki, Y., Goto, K. & Masaki, T.: A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*, **332**, 411-415 (1988).
- 9) Kasuya, Y., Ishikawa, T., Yanagisawa, M., Kimura, S., Goto, K. & Masaki, T.: Mechanism of contraction to endothelin in isolated porcine coronary artery. *Am. J. Physiol.*, **257**, H1828-1835 (1989).
- 10) Miyauchi, T., Tomobe, Y., Shiba, R., Ishikawa, T., Yanagisawa, M., Kimura, S., Sugishita, Y., Ito, I., Goto, K. & Masaki, T.: Involvement of endothelin in the regulation of human vascular tone: Potent vasoconstrictor effect and existence in endothelial cells. *Circulation*, **81**, 1874-1880, 1990.
- 11) Siegfried, M. R., Aoki, N., Mulloy, D. & Lefer, A. M.: Direct positive inotropic and vasoconstrictor effects of endothelin. *Heart Vessels*, **5**, 146-151 (1990).
- 12) Yang, Z., Richard, V., Segeser, V. L., Bauer, E., Stulz, P., Turina, M. & Luscher, T. F.: Threshold concentrations of endothelin-1 potentiate contractions to norepinephrine and serotonin in human arteries: A new mechanism of vasospasm. *Circulation*, **82**, 188-195 (1990).
- 13) Nambi, P., Pullen, M., Wu, H. L., Nuthulaganti, P., Elshourbagy, N. & Kumar, C.: Dexamethasone down-regulates the expression of endothelin receptors in vascular smooth muscle cells. *J. Biol. Chem.*, **267**, 19555-19559 (1992).
- 14) Sessa, W. C. & Najjetti, A.: Dexamethasone selectively attenuates prostanoid-induced vasoconstrictor responses in vitro. *Circ. Res.*, **66**, 383-388 (1990).
- 15) Wallner, B. P., Mattalino, R. J. & Hession, C.: Cloning and expression of human lipocortin, a phospholipase A₂ inhibitor with potential anti-inflammatory activity. *Nature*, **320**, 77-80 (1980).
- 16) Rosenbaum, R. M., Cheli, C. D. & Gerritsen, M. E.: Dexamethasone inhibits prostaglandin release from rabbit coronary microvessel endothelium. *Am. J. Physiol.*, **250**, C970-C977 (1986).
- 17) Resink, T. J., Burden, T. S. & Buehler, F. R.: Activation of phospholipase A₂ by endothelin in cultured vascular smooth muscle cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **158**, 279-286 (1989).
- 18) Takayasu, M., Terashita, Z. & Kondo, K.: Endothelin-1 and platelet activating factor stimulate thromboxane A₂ biosynthesis in rat vascular smooth muscle cells. *Biochem. Pharmacol.*, **40**, 2713-2717 (1990).
- 19) Minami, Y. & Toda, N.: Comparison of the response to Angiotensin II of isolated dog coronary and mesenteric arteries of proximal and distal portions. *Arch. Int. Pharmacodyn.*, **293**, 186-195 (1988).
- 20) Chemtob, S., Inayatulla, A. & Varma, D. R.: Eicosanoid-dependent and endothelin-independent oscillations of rat aorta. *J. Vasc. Res.*, **A46**, 1018-1172 (1992).

Effects of Corticosterone upon Vasoconstrictor Responses in Isolated Canine Coronary Artery Tatsuaki Murakami, Department of Internal Medicine (II), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. *Juzen Med Soc.*, **102**, 809—815 (1993)

Key words corticosterone, endogenous vasoconstrictor, isolated canine coronary artery

Abstract

To elucidate the effects of corticosterone upon contractile response to physiological vasoconstrictive agents, the author measured isometric tension development of helical strips from isolated left circumflex coronary arteries and renal arteries of 28 adult mongrel dogs (either sex, weighing 8-16 kg), when physiological vasoconstrictive agents (norepinephrine, serotonin, endothelin-1, prostaglandin-F₂α) were added in cumulative manner in the presence or in the absence of corticosterone. In the isolated canine coronary arteries, corticosterone attenuated the contractile response to endothelin-1 and prostaglandin-F₂α, but not to norepinephrine or serotonin, while it did not affect the contractile response to any of the vasoactive agents in the renal artery. In the endothelium-denuded canine coronary arteries, corticosterone attenuated the contractile response to endothelin-1 and prostaglandin-F₂α as well. This suggests that corticosterone regulates the tone of the coronary artery, endothelium-independently attenuating the contractile response to endothelin-1 and prostaglandin-F₂α.