

Effects of α -Sympathetic Nerve Activity on Acetylcholine- Induced Endothelium-Dependent Vasodilatation in Human Forearm

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/9294

ヒト前腕血管におけるアセチルコリンに対する内皮依存性血管拡張反応に対する α 交感神経活動の影響に関する検討

—内皮依存性血管反応に対する α 交感神経活動の影響—

金沢大学医学部医学科内科学第一講座 (主任:小林健一教授)

高 村 雅 之

ヒトの血管緊張の調節に内皮因子と神経性因子の相互作用がみられるか否かを明らかにするため、若年健常者24名を対象に内皮依存性血管拡張反応に及ぼす薬物学的交感神経遮断および反射性交感神経活動亢進の影響を検討した。内皮依存性血管拡張は、アセチルコリン (acetylcholine, ACh) を0.15, 0.45, 1.5, 4.5mg/分 \cdot dl¹を上腕動脈に注入し、ストレインゲージ・プレチスモグラフにて求めた前腕血流量 (forearm blood flow, FBF) の変化で評価し、フェントラミン0.1mg前投与、ヒドララジン0.1mg前投与、および下半身陰圧 (lower body negative pressure, LBNP) 負荷による反射性交感神経活動亢進の影響を検討した。いずれの薬物投与にても心拍数、動脈圧に明らかな変化はみられなかった。ACh投与によりFBFは用量依存性に増加した。フェントラミンの前処置により、FBFは 6.0 ± 2.3 ml/100ml \cdot 分¹から 9.7 ± 7.0 ml/100ml \cdot 分¹へ有意に増加 ($p < 0.001$) したが、AChによるFBF増加反応は有意に抑制され、用量-反応曲線は右下方に偏位した ($p < 0.001$)。ヒドララジンの前処置ではフェントラミン投与と同程度に安静時のFBFを増加させたが、AChに対するFBFの反応には有意な変化はなかった。LBNP-10, -20mmHgによりFBFは有意に減少 (それぞれ $p < 0.001$) したが、AChに対するFBFの増加反応は有意に亢進 (それぞれ $p < 0.05$, $p < 0.001$) し、用量-反応曲線は左上方に偏位した。以上の結果より、ヒトの前腕血管緊張の調節には内皮因子と神経性因子の相互作用がみられ、内皮依存性血管拡張反応は α 交感神経活動状態により修飾されている可能性が示唆された。

Key words acetylcholine, endothelium-dependent vasodilation, nitric oxide, α -sympathetic nerve activity, vascular tone

血管の緊張は交感神経やコリン作動性神経などの神経性因子、アンギオテンシンIIなどの循環血液中の体液性因子、さらに血管内皮細胞自体が血管弛緩性物質あるいは収縮性物質を合成、放出し能動的に平滑筋の張力を制御する内皮因子により調節されている。その内皮因子の1つが血管内皮由来弛緩因子 (endothelium-derived relaxing factor, EDRF) である。Furchgottら¹⁾は、1980年にウサギ大動脈摘出標本のアセチルコリン (acetylcholine, ACh) に対する血管拡張反応が、平滑筋に対する直接作用だけでなく内皮細胞膜のムスカリン受容体刺激により血管弛緩因子が放出されることによることを確認し、EDRFとして初めて報告した。その後1988年頃までにEDRFの正体が一酸化窒素 (NO) であることが化学的、薬理学的あるいは生物学的特性の相同性によりいくつかの研究グループにより証明された²⁻⁴⁾。NOの合成は、L-アルギニンを基質としてNO合成酵素 (nitric oxide synthase, NOS) により行われている^{5,6)}。生体内での作用時間は非常に短く、ずり応力などの種々の刺激により合成、放出が行われ⁷⁾、血管の緊張の調節に重要な働きをしている。近年、NOに関する研究の進歩はめざましく、NOSの3種類のアイソフォーム、すなわち構成型神経型NOS、構成型内皮型NOSおよび誘導型NOSのクローニングによる遺伝子構

造、NOSの作用におけるカルシウムイオンの役割や、臨床症例での種々の血管病変における内皮機能の変化などが報告されている⁸⁻¹¹⁾。さらに、Todaら¹²⁻¹⁵⁾は頭蓋内血管や腸管膜動脈ではNO作動性血管拡張神経が存在することを報告しており、生体内においてNOは内皮依存性血管拡張物質としての役割のみならず、神経伝達物質として神経系に深く関与していることが明らかにされている。

血管の緊張には内皮因子のみならず、神経性因子、体液性因子が関与していることは前述したが、内皮因子がほかの血管調節因子とどのような関わりを持ち調節しているかは明らかではない。一方、AChが内皮に作用しNO産生を促進することはよく知られており、動物およびヒトの内皮機能の評価に用いられている^{16,17)}。この事実は内皮表面にムスカリン受容体が存在し、コリン作動性神経の調節を受けている可能性を示唆しているが、コリン作動性神経の血管内走行は明らかではなく、ヒトにおける交感神経による内皮機能の修飾に関しては系統だった検討はみられない。そこで今回、ヒトにおいて内皮機能が交感神経活動により修飾されるか否かを明らかにするため、以下の検討を行った。すなわち、前腕灌流標本を作成し、AChの内皮依存性血管拡張反応に及ぼす薬物学的 α 交感神経遮断の影響を、

平成8年12月9日受付、平成9年2月4日受理

Abbreviations: ACh, acetylcholine; EDRF, endothelium-derived relaxing factor; FBF, forearm blood flow; FVR, forearm vascular resistance; LBNP, lower body negative pressure; NOS, nitric oxide synthase

内皮非依存性血管拡張薬であるヒドララジンの効果と比較検討した。さらに、下半身陰圧 (lower body negative pressure, LBNP) 負荷による反射性交感神経活動亢進時の内皮依存性血管拡張反応を検討した。

対象および方法

I. 対象

若年健康者24名を対象とした。対象の選択においては、病歴上特別な疾患の既往がなく、検査前の診察で異常所見がなく、血圧は収縮期圧140mmHg、拡張期圧90mmHg以下であり、かつ体格指数は24以下の者とした。男性16名、女性8名で、年齢は20~24歳 (22.3 ± 1.3 才: 平均 \pm 標準偏差)であった。身長は 168.7 ± 6.2 cm、体重は 60.6 ± 7.9 kg、収縮期圧 131.3 ± 7.4 mmHg、拡張期圧 67.1 ± 6.8 mmHg、体格指数 21.2 ± 1.5 kg/m²で、水槽内の水位の変化より求めた前腕体積は 1328.5 ± 95.7 mlであった。うち8名に α 遮断薬であるフェントラミン (チバガイキー, 東京) 投与前後でのAChに対する前腕の内皮依存性血管拡張反応 (プロトコル1) を、8名に内皮非依存性血管拡張薬であるヒドララジン^{18)・22)} (チバガイキー) 投与前後で同様の検討 (プロトコル2) を行い、さらに残り8名で-10、-20mmHgでのLBNP^{23)・25)}の影響 (プロトコル3) を検討した。各プロトコルの参加者の臨床像を表1に示す。プロトコル3で全例男性であった以外には、年齢、血圧、体格指数には各プロトコル間で差がなかった。

II. 方法

1. 動脈圧、心拍数、前腕血流量 (forearm blood flow, FBF) の測定

被検者をベット上に安静臥床とした後、胸部に電極を装着し、

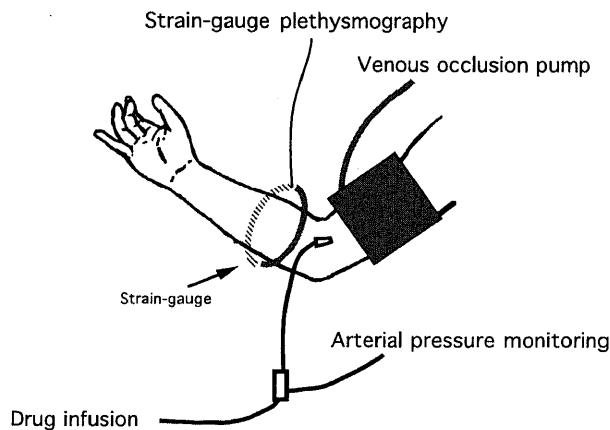


Fig. 1. Schematic illustration of the procedure for forearm perfusion method.

心電図を連続記録した。図1に前腕灌流法を示す。FBF測定側の肘部を局所麻酔用リドカイン (藤沢, 東京) にて浸潤麻酔後、上腕動脈に薬液注入用および動脈圧測定用に20ゲージの留置針 (テルモ, 東京) を挿入した。三方活栓を使用して、一方を動脈注入用シリンジポンプTE311 (テルモ) に接続し薬液注入用を使用し、一方を圧トランスデューサーモニタキット (バクスター, 東京) に接続した。動脈圧は心電図とともにポリグラ

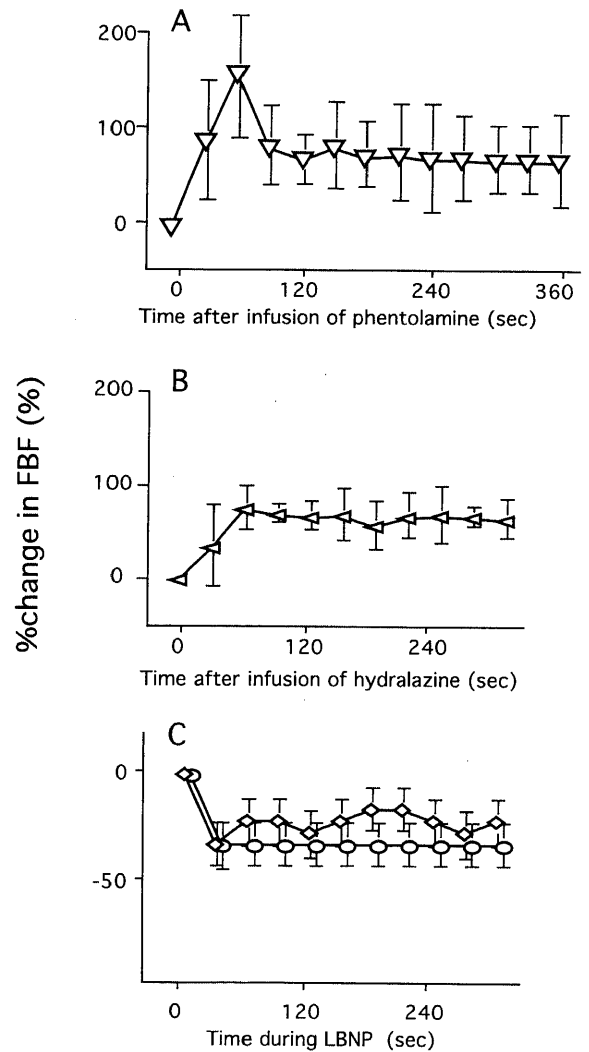


Fig. 2. Time course of percent change in forearm blood flow after phentolamine infusion (A) and hydralazine infusion (B), and during LBNP at -10 and -20mmHg (C). Each point represents the mean and vertical bars indicate SD. ∇ , phentolamine; \diamond , hydralazine; \diamond , LBNP at -10mmHg \circ , LBNP at -20mmHg. FBF, forearm blood flow; LBNP, lower body negative pressure.

Table 1. Clinical characteristics in the volunteers

Protocol	No. of volunteers	Age (yrs)	Height (cm)	Body weight (kg)	Body mass index (kg/m ²)	Forearm volume (ml)
1	8	21.8 \pm 1.5	164.0 \pm 6.3	56.0 \pm 6.9	20.8 \pm 1.5	1236.3 \pm 85.8
2	8	22.0 \pm 0.5	169.1 \pm 3.9	59.3 \pm 5.6	20.7 \pm 1.3	1356.3 \pm 57.8
3	8	23.1 \pm 1.2	172.1 \pm 5.2	65.8 \pm 6.7	22.1 \pm 1.5	1375.0 \pm 70.7

Values are expressed as $\bar{x} \pm$ SD.

Table 2. Systemic hemodynamic effects of drug infusions

Interventions	No. of volunteers	Baseline		Acetylcholine ($4.5 \mu\text{g}/\text{min} \cdot \text{dl}^{-1}$)	
		Mean arterial pressure (mmHg)	Heart rate (bpm)	Mean arterial pressure (mmHg)	Heart rate (bpm)
Control	8	88.1 ± 6.1	64.9 ± 7.6	87.1 ± 5.8	64.3 ± 7.3
Phentolamine	8	88.1 ± 7.0	65.8 ± 9.1	87.8 ± 8.0	66.5 ± 8.8
Control	8	93.8 ± 5.5	66.3 ± 4.5	92.3 ± 6.0	65.5 ± 4.8
Hydralazine	8	94.0 ± 6.0	64.5 ± 5.1	93.4 ± 6.8	67.1 ± 6.0
Control	8	83.1 ± 5.0	71.6 ± 10.1	83.9 ± 4.3	72.3 ± 9.2
LBNP-20	8	83.6 ± 4.5	70.1 ± 8.7	84.4 ± 3.9	70.5 ± 8.1

Results are expressed as $\bar{x} \pm \text{SD}$. LBNP-20, lower body negative pressure at -20mmHg.

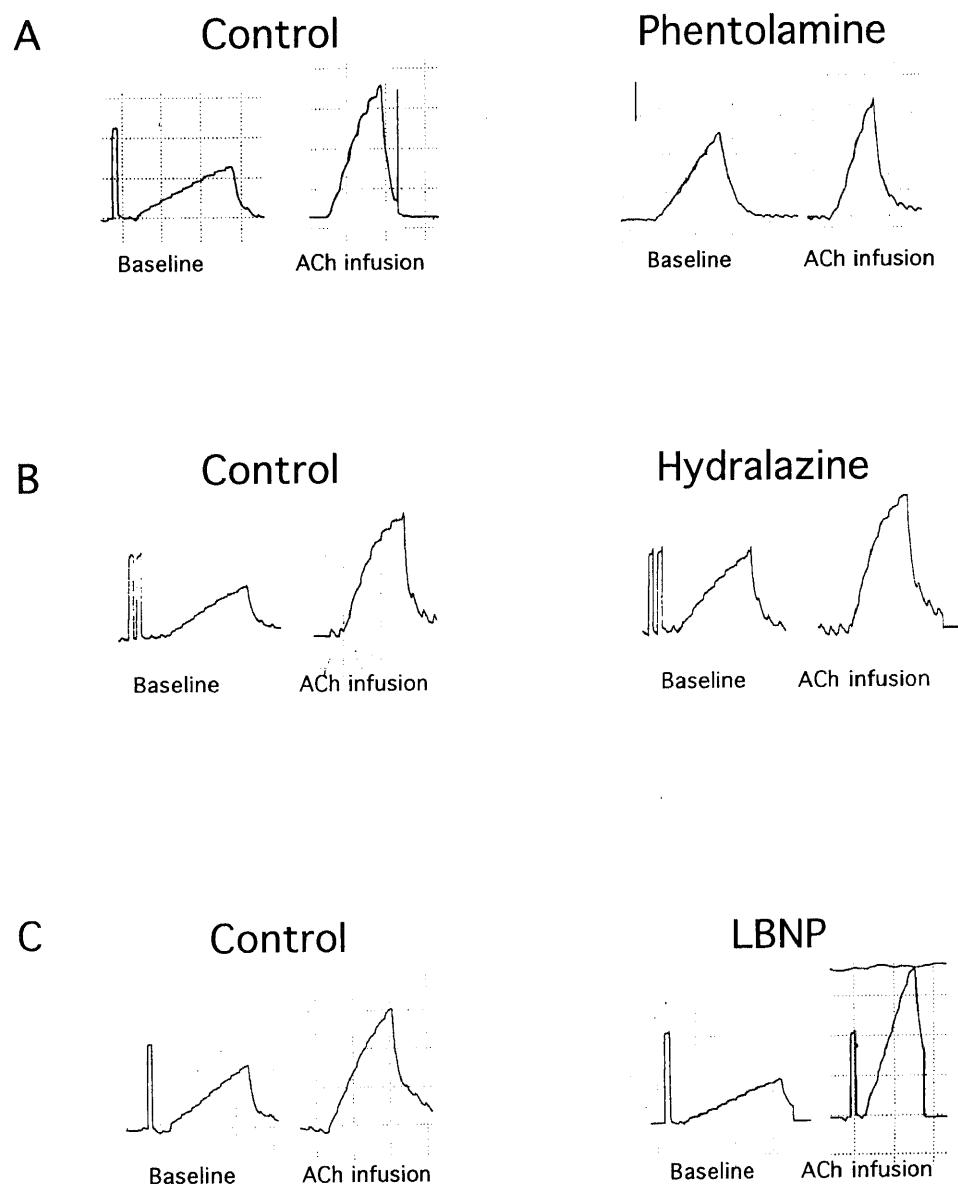


Fig. 3. Typical examples of experimental records showing the effects of phentolamine (A), hydralazine (B), and lower body negative pressure at -20mmHg (C) on acetylcholine-induced increases in forearm blood flow. LBNP, lower body negative pressure.

フRM6000 (日本光電, 東京) に入力し, サーマルアレイレコーダーWS800R (日本光電) にて連続記録した. FBFはストレインゲージ・プレチスモグラフSPG-16 (MedaSonics, Mountain View, USA) を用いて, 静脈閉塞法により測定した²⁶⁾. すなわち, 上腕に静脈閉塞用のカフを巻き, 前腕は肘部で軽く屈曲させて心臓の高さより上方に保ち静脈を虚脱させた状態とした. 前腕の最も太い部位にストレインゲージを巻き, 上腕の静脈閉塞用カフを急速に40mmHgの圧で加圧した. この時の動脈流入曲線を記録し, 流入曲線の最大傾斜よりFBFを計測した. 前腕血管抵抗 (forearm vascular resistance, FVR) は直接測定した動脈圧より算出した平均動脈圧 (拡張期圧 + [収縮期圧 - 拡張期圧] / 3, mmHg) をFBFで除して求めた. なお, 薬剤投与開始前に上腕動脈に動脈注入用シリンジポンプを用いて生理食塩水を0.4 ml/分で少なくとも15分間持続投与し, FBFを30秒ごとに測定し変動が少なく安定していることを確認した.

2. AChの投与方法

AChは, 流量0.4ml/分にて動脈内へ注入する量で, 濃度が0.15, 0.45, 1.5, 4.5 μ g/分 \cdot dl⁻¹になるように生理食塩水にて希釈した. それぞれの濃度の薬液を20mlのシリンジにつめ動脈内注入用シリンジポンプに装着し, 0.4ml/分にて動脈内へ少なくとも240秒間持続注入した. 注入中, 30秒ごとに心拍数, 動脈圧, FBFを測定した.

3. AChの内皮依存性血管拡張反応に及ぼす α 遮断薬の影響 (プロトコール1)

ACh 0.15, 0.45, 1.5, 4.5 μ g/分 \cdot dl⁻¹に対するコントロール時内皮依存性血管拡張反応を測定後, 少なくとも20分以上の安静時間をおいた. FBFが再びコントロール安静時の値に復した後フェントラミン0.1mg/dlを動脈内に投与し, フェントラミンに対する血管拡張反応の時間的経過を観察し, 投与後120~360秒間は安定したFBFの増加反応が維持され, 血圧や心拍

数に有意な変化がないことを確認した. FBFがコントロール安静時の値に復した後, フェントラミン0.1mg/dlを再び動脈内に投与し, 120秒後ACh 0.15 μ g/分 \cdot dl⁻¹を動脈内に注入しFBFの増加反応を観察した. 同様の操作をACh 0.45, 1.5, 4.5 μ g/分 \cdot dl⁻¹で繰り返し施行した.

4. AChの内皮依存性血管拡張反応に及ぼすヒドララジンの影響 (プロトコール2)

フェントラミンによるAChの内皮依存性血管拡張反応への影響が, 血管拡張に伴う非特異的変化かどうかを明らかにするため, 内皮非依存性血管拡張薬であるヒドララジンの効果を検討した. AChに対するコントロール時内皮依存性血管拡張反応を測定後, 20分以上の安静時間をおいた. FBFがコントロール安静時の値に復した後, ヒドララジン0.1mg/dlを動脈内に投与した. 動脈圧, 心拍数, FBFを経時的に測定し, ヒドララジンによる血管拡張反応¹⁹⁾が少なくとも300秒間持続し, 血圧や心拍数に変化がないことを確認した. その後, FBFがコントロール安静時の値に復した後, ヒドララジン0.1mg/dlを動脈内に投与し120秒後ACh 0.15 μ g/分 \cdot dl⁻¹を動脈内に注入しFBFの増加反応を観察した. 同様の操作をACh 0.45, 1.5, 4.5 μ g/分 \cdot dl⁻¹で繰り返し施行した.

5. AChの内皮依存性血管拡張反応に及ぼすLBNPの影響 (プロトコール3)

AChの内皮依存性血管拡張反応に及ぼす反射性交感神経活動亢進の影響をみるため, LBNPの効果を検討した. 被検者を安静臥床位とした後, プロトコール1, 2と同様に右上腕にストレインゲージを装着し, 上腕動脈にポリエチレン製カテーテルを挿入した. その後, 中心静脈圧測定のため左肘静脈にポリエチレン製カテーテルを挿入し, カテーテル先端を胸腔内まで進めた. 中心静脈圧測定は圧トランスデューサーモニタキット (バクスター) を用いて行った. LBNPは, 被検者の腸骨窩より

Table 3. Effects of phentolamine on acetylcholine-induced changes in forearm blood flow and forearm vascular resistance

Dose of ACh	Interventions	No. of volunteers	Measurements	Baseline	Time after ACh infusion (sec)			
					60	120	180	240
0.15 μ g/min \cdot dl ⁻¹	Control	8	FBF (ml/100ml \cdot min ⁻¹) FVR (units)	4.2 \pm 2.4 29.4 \pm 6.4	4.6 \pm 2.6 28.0 \pm 5.9	5.6 \pm 3.4 25.0 \pm 5.9	7.7 \pm 6.2 20.0 \pm 5.6	10.2 \pm 6.1 14.6 \pm 4.8
	Phentolamine	8	FBF (ml/100ml \cdot min ⁻¹) FVR (units)	7.8 \pm 4.4 17.1 \pm 4.9	7.4 \pm 3.5 17.7 \pm 5.5	7.9 \pm 3.8 16.4 \pm 4.7	9.1 \pm 4.4 14.3 \pm 4.6	10.3 \pm 5.1* 12.6 \pm 3.9*
0.45 μ g/min \cdot dl ⁻¹	Control	8	FBF (ml/100ml \cdot min ⁻¹) FVR (units)	5.4 \pm 3.7 27.3 \pm 7.3	6.4 \pm 4.9 25.1 \pm 7.6	7.2 \pm 5.2 20.5 \pm 5.7	8.0 \pm 5.6 17.5 \pm 5.1	10.5 \pm 6.3 12.6 \pm 3.6
	Phentolamine	8	FBF (ml/100ml \cdot min ⁻¹) FVR (units)	6.9 \pm 3.2 17.0 \pm 4.1	7.9 \pm 4.0 16.3 \pm 4.5	8.8 \pm 4.5 14.9 \pm 4.5	8.8 \pm 4.2 12.8 \pm 2.9	10.0 \pm 6.1* 11.8 \pm 3.0*
1.5 μ g/min \cdot dl ⁻¹	Control	8	FBF (ml/100ml \cdot min ⁻¹) FVR (units)	5.2 \pm 3.2 25.4 \pm 5.9	5.9 \pm 3.2 19.4 \pm 3.4	9.2 \pm 4.0 12.5 \pm 3.0	12.6 \pm 9.0 11.3 \pm 3.4	13.3 \pm 9.7 10.6 \pm 2.9
	Phentolamine	8	FBF (ml/100ml \cdot min ⁻¹) FVR (units)	8.4 \pm 5.3 15.9 \pm 4.6	7.9 \pm 3.6 16.0 \pm 4.8	9.9 \pm 5.3 14.2 \pm 5.0	10.3 \pm 5.0 12.2 \pm 3.3	11.2 \pm 5.7* 10.3 \pm 2.0*
4.5 μ g/min \cdot dl ⁻¹	Control	8	FBF (ml/100ml \cdot min ⁻¹) FVR (units)	5.3 \pm 3.0 26.1 \pm 8.0	6.6 \pm 3.1 18.0 \pm 3.9	11.4 \pm 4.3 11.6 \pm 3.2	16.0 \pm 8.4 9.0 \pm 3.4	19.8 \pm 12.1 7.9 \pm 3.0
	Phentolamine	8	FBF (ml/100ml \cdot min ⁻¹) FVR (units)	8.0 \pm 3.6 15.1 \pm 4.0	9.0 \pm 4.1 14.0 \pm 4.3	9.0 \pm 3.8 13.4 \pm 3.9	10.1 \pm 3.8 11.1 \pm 2.3	17.1 \pm 9.3* 7.9 \pm 2.3*

Results are expressed as $\bar{x} \pm SD$. Ach, acetylcholine; FBF, forearm blood flow; FVR, forearm vascular resistance.

*, $p < 0.001$ between control and phentolamine analysed by repeated ANOVA.

下半身を密閉した箱に入れ、吸引器により箱内の圧を急速に-10および-20mmHgの陰圧とすることで行った。この状態でコントロール時のAChに対するFBFの増加反応を観察した後、LBNPを-10mmHgの強さでかけ、FBFの減少が少なくとも300秒間は安定して持続していることを確認した。その後、再びLBNPを-10mmHgでかけFBFが減少して安定後、ACh 0.15, 0.45, 1.5, 4.5 $\mu\text{g}/\text{分}\cdot\text{dl}^3$ に対するFBFの増加反応を観察した。LBNP -20mmHgについても、同様の検討を行った。

Ⅲ. 統計学的検討

結果は平均±標準偏差で示した。統計学的検討は、平均動脈圧、心拍数の薬剤投与前後の比較には一標本t検定を用いた。FBF, FVRの各群間の平均値の差の検定は一元配置、二元配置

による分散分析を行ったうえScheffeの多重比較を行い、 $p<0.05$ を統計学的に有意差ありとした。

成 績

Ⅰ. 上腕動脈への薬物投与の全身血行動態への影響

上腕動脈へのフェントラミン、ヒドララジン、ACh4.5 $\mu\text{g}/\text{分}\cdot\text{dl}^3$ の注入による平均動脈圧、心拍数の変化を表2に示す。フェントラミン、ヒドララジン投与により、平均動脈圧、心拍数の有意な変化はみられなかった。また、コントロール時、フェントラミン投与時、ヒドララジン投与時およびLBNP時のACh動注においても明らかな平均動脈圧、心拍数の変化はなく、今回動脈内注入に用いた薬物の投与量では、全身循環動態への影響はみられなかった。

Ⅱ. AChの内皮依存性血管拡張反応に及ぼす α 遮断薬の影響

図2Aにフェントラミン0.1mg単独投与によるFBFの経時的変化を変化率で示す。FBFは投与60秒で最大血管拡張を示し、

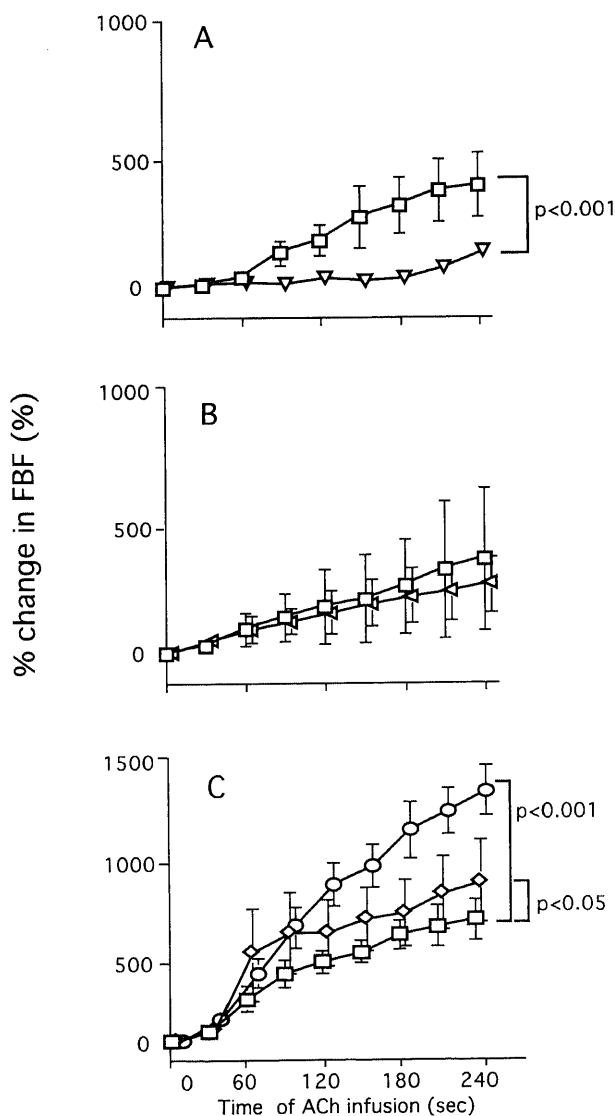


Fig. 4. Effects of phentolamine (A), hydralazine (B), and LBNP at -10 and -20mmHg (C) on acetylcholine ($4.5 \mu\text{g}/\text{min} \cdot \text{dl}^3$)-induced increases in forearm blood flow. Each point represents the mean and vertical bars indicate SD. (A) \square , control; ∇ , phentolamine. (B) \square , control; \triangleleft , hydralazine. (C) \square , control; \diamond , LBNP at -10mmHg; \circ , LBNP at -20mmHg. Ach, acetylcholine; FBF, forearm blood flow; LBNP, lower body negative pressure.

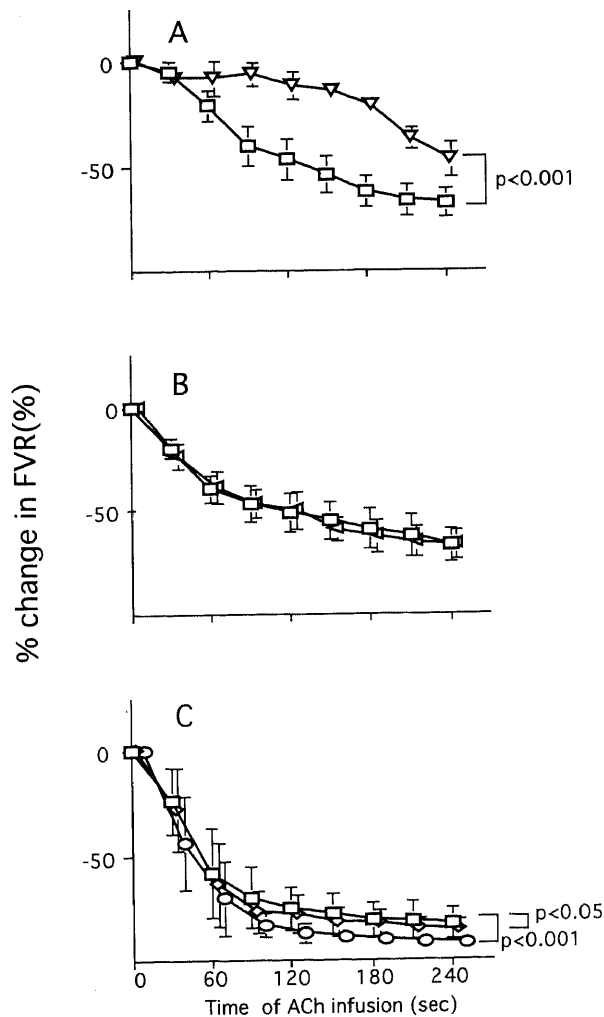


Fig. 5. Effects of phentolamine (A), hydralazine (B), and LBNP at -10 and -20mmHg (C) on acetylcholine ($4.5 \mu\text{g}/\text{min} \cdot \text{dl}^3$)-induced decreases in forearm vascular resistance. Each point represents the mean and vertical bars indicate SD. (A) \square , control; ∇ , phentolamine. (B) \square , control; \triangleleft , hydralazine. (C) \square , control; \diamond , LBNP at -10mmHg; \circ , LBNP at -20mmHg. ACh, acetylcholine; FVR, forearm vascular resistance; LBNP, lower body negative pressure.

その後最大拡張の約50%の血管拡張で少なくとも6分間は安定していた。なお、投与360秒後でFBFは $9.7 \pm 7.0 \text{ ml}/100 \text{ ml} \cdot \text{分}^{-1}$ であり、安静時の $6.0 \pm 2.3 \text{ ml}/100 \text{ ml} \cdot \text{分}^{-1}$ に比較して有意に増加していた ($P < 0.001$)。したがって、今回、AChの投与は、安定した血管拡張が得られる120~360秒の間で行った。図3AにACh $4.5 \mu \text{ g}/\text{分} \cdot \text{dl}^{-1}$ 投与による血管拡張反応に及ぼす、フェントラミンの前投与の影響をみたストレインゲージ・プレテスマグラフの実記録を示す。本例では、コントロールのFBFはACh投与前が $3.4 \text{ ml}/100 \text{ ml} \cdot \text{分}^{-1}$ であり、AChを240秒間投与した後は $17.8 \text{ ml}/100 \text{ ml} \cdot \text{分}^{-1}$ に増加した。これに対し、フェントラミンの前投与によりACh投与前のFBFは $8.3 \text{ ml}/100 \text{ ml} \cdot \text{分}^{-1}$ に増加したが、AChを240秒間投与してもFBFは $17.0 \text{ ml}/100 \text{ ml} \cdot \text{分}^{-1}$ までしか増加せず、フェントラミン投与によりAChによるFBF

の増加の程度は減少した。表3にACh持続投与時の経時的なFBF, FVRの変化に及ぼすフェントラミンの影響を実測値で示し、図4A, 図5AにACh $4.5 \mu \text{ g}/\text{分} \cdot \text{dl}^{-1}$ 投与による経時的なFBF, FVRの変化に及ぼすフェントラミンの影響を変化率で示す。コントロール時にはACh持続投与90秒後よりFBFは徐々に増加したが、フェントラミン投与後は210秒後に初めてFBFの増加がみられた(図4A)。FVRも同様にコントロール時には60秒後より徐々に低下したが、フェントラミン投与後は210秒後に低下が明らかとなった(図5A)。AChの投与濃度とFBFの最大反応の関係を図6Aに示す。ACh $0.15, 0.45, 1.5, 4.5 \mu \text{ g}/\text{分} \cdot \text{dl}^{-1}$ に対するFBFの増加率は、コントロールではそれぞれ $+140.7 \pm 29.4\%$, $+115.3 \pm 30.2\%$, $+181.3 \pm 55.2\%$, $+347.6 \pm 121.2\%$ に対し、フェントラミン投与後では、それぞれ $+38.6 \pm 10.2\%$, $+43.5 \pm$

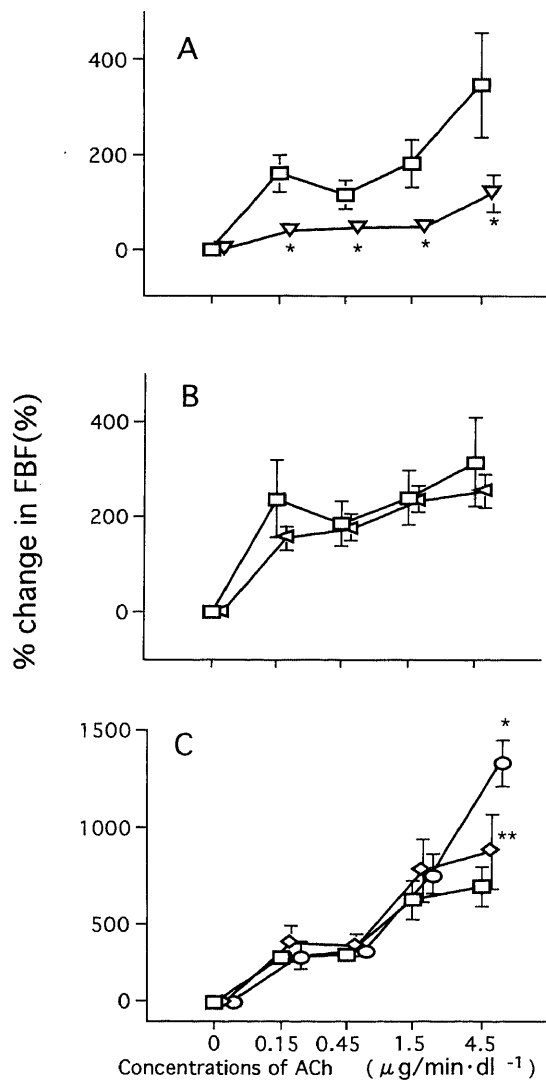


Fig. 6. Effects of phentolamine (A), hydralazine (B), and LBNP at -10 and -20 mmHg (C) on dose-FBF response relation for acetylcholine. Each point represents the mean and vertical bars indicate SD. (A) \square , control; ∇ , phentolamine. (B) \square , control; \triangleleft , hydralazine. (C) \square , control; \diamond , LBNP at -10 mmHg ; \circ , LBNP at -20 mmHg . ACh, acetylcholine; FBF, forearm blood flow; LBNP, lower body negative pressure. *, $p < 0.001$; **, $p < 0.05$ between control and drug infusion or LBNP.

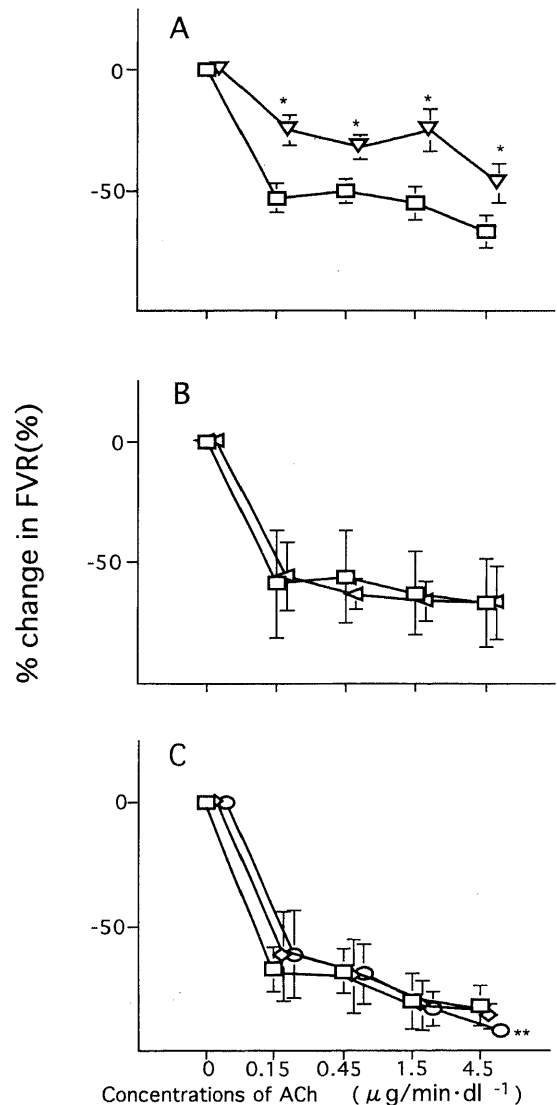


Fig. 7. Effects of phentolamine (A), hydralazine (B), and LBNP at -10 mmHg and -20 mmHg (C) on dose-FVR response relation for acetylcholine. Each point represents the mean and vertical bars indicate SD. (A) \square , control; ∇ , phentolamine. (B) \square , control; \triangleleft , hydralazine. (C) \square , control; \diamond , LBNP at -10 mmHg ; \circ , LBNP at -20 mmHg . ACh, acetylcholine; FVR, forearm vascular resistance; LBNP, lower body negative pressure. *, $p < 0.001$; **, $p < 0.05$ between control and drug infusion or LBNP.

17.3%, $+48.1 \pm 17.3\%$, $+118.5 \pm 32.4\%$ であり、いずれのACh濃度においてもフェントラミン投与後のFBFの増加反応は有意に抑制された(それぞれ $P < 0.001$)。ACh 0.15, 0.45, 1.5, $4.5 \mu\text{g} / \text{分} \cdot \text{dl}^{-1}$ に対するFVRの減少率は、コントロールではそれぞれ $-53.1 \pm 5.9\%$, $-50.1 \pm 5.5\%$, $-55.1 \pm 7.4\%$, $-67.3 \pm 6.9\%$ に対し、フェントラミン投与後では、それぞれ $-24.3 \pm 6.0\%$, $-31.7 \pm 4.8\%$, $-24.9 \pm 9.0\%$, $-46.8 \pm 8.3\%$ であり、いずれのACh濃度においてもFVRの減少反応は有意に低下していた(それぞれ $P < 0.001$, 図7A)。

Ⅲ. AChの内皮依存性血管拡張反応に及ぼすヒドララジンの影響

ヒドララジン0.1mg単独投与によるFBFの経時的変化では、FBFは投与後60秒で最大となり、その後300秒間は安定した血管拡張を示した(図2B)。なお、投与300秒後のFBFは $9.0 \pm 0.32\text{ml}/100\text{ml} \cdot \text{分}^{-1}$ であり、安静時の $4.9 \pm 0.46\text{ml}/100\text{ml} \cdot \text{分}^{-1}$ に比較して有意に増加していた($P < 0.001$)。したがって、今回AChの投与は、安定した血管拡張が得られる60~300秒の間で行った。図3Bに、ACh $4.5 \mu\text{g}/\text{分} \cdot \text{dl}^{-1}$ 投与による血管拡張反応に及ぼすヒドララジンの前投与の影響をみた、ストレインゲージ・プレシスモグラフの実記録を示す。本例では、コントロールのFBFはACh投与前が $4.5\text{ml}/100\text{ml} \cdot \text{分}^{-1}$ であり、AChを240秒間投与した後は $18.2\text{ml}/100\text{ml} \cdot \text{分}^{-1}$ と約4倍に増加した。これに対し、ヒドララジンの前投与によりACh投与前のFBFは $8.5\text{ml}/100\text{ml} \cdot \text{分}^{-1}$ に増加し、さらにAChを240秒間投与したところFBFは $30.2\text{ml}/100\text{ml} \cdot \text{分}^{-1}$ と約3.6倍まで増加し、ヒドララジン投与後のAChによるFBFの増加率はコントロールと比較して同程度であった。表4にACh持続投与時の経時的なFBF, FVRの変化に及ぼすヒドララジンの影響を実測値で示し、図4B, 図5BにACh $4.5 \mu\text{g}/\text{分} \cdot \text{dl}^{-1}$ 投与による経時的なFBF, FVRの変化に及ぼすヒドララジンの影響を変化率で示す。コント

ロール時にはACh持続投与60秒からFBFは有意に増加し240秒後で最大拡張となったが、ヒドララジン投与後も同じような時間経過でFBFの増加がみられた(図4B)。FVRもヒドララジン投与前後も60秒後より有意に低下し240秒後に最大変化を示したが、ヒドララジン投与前後の比較ではAChによるFVRの低下の時間経過に有意差はなかった(図5B)。AChの投与濃度とFBFの最大反応の関係を図6Bに示す。ACh 0.15, 0.45, 1.5, $4.5 \mu\text{g} / \text{分} \cdot \text{dl}^{-1}$ に対するFBFの増加率は、コントロールではそれぞれ $+237.4 \pm 91.7\%$, $+186.1 \pm 56.5\%$, $+239.9 \pm 67.3\%$, $+314.6 \pm 104.2\%$ に対し、ヒドララジン投与後では、それぞれ $+154.1 \pm 35.2\%$, $+172.5 \pm 33.4\%$, $+231.9 \pm 32.9\%$, $+253.3 \pm 44.9\%$ となり、いずれのACh濃度においてもヒドララジン投与後のFBFの増加反応はコントロールと比較して有意差を認めなかった(図6B)。ACh 0.15, 0.45, 1.5, $4.5 \mu\text{g}/\text{分} \cdot \text{dl}^{-1}$ に対するFVRの減少率も、コントロールではそれぞれ $-59.3 \pm 20.8\%$, $-56.3 \pm 20.5\%$, $-63.6 \pm 19.3\%$, $-67.1 \pm 19.5\%$ 、ヒドララジン投与後ではそれぞれ $-56.1 \pm 15.9\%$, $-64.2 \pm 6.5\%$, $-67.9 \pm 10.0\%$, $-67.1 \pm 16.9\%$ であり、いずれのACh濃度においてもFVRの減少反応はコントロールとヒドララジン投与後の間に差はなかった(図7B)。

Ⅳ. AChの内皮依存性血管拡張反応に及ぼすLBNPの影響

LBNPによるFBFの経時的変化では、FBFはLBNP開始後30秒で最小となり、その後、5分間は安定した血管収縮を示した(図2C)。なお、FBFは安静時 $4.8 \pm 0.3\text{ml}/100\text{ml} \cdot \text{分}^{-1}$ に比較して、LBNP-10mmHgでは $4.1 \pm 0.4\text{ml}/100\text{ml} \cdot \text{分}^{-1}$ 、LBNP-20mmHgでFBFは $3.5 \pm 0.5\text{ml}/100\text{ml} \cdot \text{分}^{-1}$ といずれも有意に低下していた(それぞれ $P < 0.001$)。したがって、今回AChの投与は、LBNPによる安定した血管収縮が得られる60~300秒の間で行った。中心静脈圧は安静時 $4.8 \pm 0.8\text{mmHg}$ からLBNP-10mmHgで $3.6 \pm 0.8\text{mmHg}$ へ、LBNP-20mmHgで $2.2 \pm 0.9\text{mmHg}$ へ有意に低下

Table 4. Effects of hydralazine on acetylcholine-induced changes in forearm blood flow and forearm vascular resistance

Dose of ACh	Interventions	No. of volunteers	Measurements	Baseline	Time after ACh infusion (sec)			
					60	120	180	240
0.15 $\mu\text{g}/\text{min} \cdot \text{dl}^{-1}$	Control	8	FBF (ml/100ml $\cdot \text{min}^{-1}$) FVR (units)	3.2 \pm 1.0 35.8 \pm 5.7	3.7 \pm 1.4 31.3 \pm 5.4	5.5 \pm 2.9 24.5 \pm 6.1	8.1 \pm 5.4 20.3 \pm 6.8	11.6 \pm 8.3 16.8 \pm 6.5
	Hydralazine	8	FBF (ml/100ml $\cdot \text{min}^{-1}$) FVR (units)	7.8 \pm 2.7 14.5 \pm 2.9	10.2 \pm 4.6 11.8 \pm 3.0	13.5 \pm 6.4 9.6 \pm 2.8	16.6 \pm 7.8 8.6 \pm 2.8	22.1 \pm 10.3 7.0 \pm 2.5
0.45 $\mu\text{g}/\text{min} \cdot \text{dl}^{-1}$	Control	8	FBF (ml/100ml $\cdot \text{min}^{-1}$) FVR (units)	3.6 \pm 1.4 32.2 \pm 5.8	5.4 \pm 3.0 24.1 \pm 5.1	6.8 \pm 3.8 21.0 \pm 5.7	8.7 \pm 5.8 19.0 \pm 6.3	11.6 \pm 9.3 15.4 \pm 4.8
	Hydralazine	8	FBF (ml/100ml $\cdot \text{min}^{-1}$) FVR (units)	9.2 \pm 2.7 12.6 \pm 2.7	13.3 \pm 4.5 9.0 \pm 1.9	17.9 \pm 7.2 7.3 \pm 2.2	22.8 \pm 9.8 6.1 \pm 2.1	26.6 \pm 10.3 5.7 \pm 2.4
1.5 $\mu\text{g}/\text{min} \cdot \text{dl}^{-1}$	Control	8	FBF (ml/100ml $\cdot \text{min}^{-1}$) FVR (units)	4.0 \pm 1.6 28.5 \pm 4.7	6.1 \pm 3.9 20.6 \pm 4.8	10.0 \pm 8.5 16.1 \pm 4.8	12.2 \pm 10.1 14 \pm 5.0	15.1 \pm 11.4 12.2 \pm 4.3
	Hydralazine	8	FBF (ml/100ml $\cdot \text{min}^{-1}$) FVR (units)	10.9 \pm 3.8 11.4 \pm 3.1	14.1 \pm 5.0 8.4 \pm 1.7	24.8 \pm 11.4 5.6 \pm 1.8	30.8 \pm 11.9 4.7 \pm 1.9	37.8 \pm 15.7 4.2 \pm 1.9
4.5 $\mu\text{g}/\text{min} \cdot \text{dl}^{-1}$	Control	8	FBF (ml/100ml $\cdot \text{min}^{-1}$) FVR (units)	4.2 \pm 1.6 27.3 \pm 4.4	8.1 \pm 5.2 17.7 \pm 4.3	12.2 \pm 10.2 15.1 \pm 4.8	15.5 \pm 12.2 13.2 \pm 4.8	20.5 \pm 18.9 10.6 \pm 3.9
	Hydralazine	8	FBF (ml/100ml $\cdot \text{min}^{-1}$) FVR (units)	11.4 \pm 3.5 10.2 \pm 2.1	22.4 \pm 11.3 6.5 \pm 2.3	29.2 \pm 15.0 5.5 \pm 2.3	36.5 \pm 15.9 4.6 \pm 2.1	42.0 \pm 17.4 4.0 \pm 1.9

Results are expressed as $\bar{x} \pm \text{SD}$. Ach, acetylcholine; FBF, forearm blood flow; FVR, forearm vascular resistance.

Table 5. Effects of lower body negative pressure on acetylcholine-induced changes in forearm blood flow and forearm vascular resistance

Dose of ACh	Interventions	No. of volunteers	Measurements	Baseline	Time after ACh infusion (sec)			
					60	120	180	240
0.15 μ g/min \cdot dl ⁻¹	Control	8	FBF (ml/100ml \cdot min ⁻¹) FVR (units)	4.0 \pm 0.9 22.0 \pm 2.2	4.5 \pm 0.9 19.0 \pm 1.7	7.2 \pm 3.12 13.7 \pm 2.1	11.5 \pm 3.9 8.2 \pm 1.2	12.8 \pm 3.7 7.0 \pm 0.8
	LBNP (-10mmHg)	8	FBF (ml/100ml \cdot min ⁻¹) FVR (units)	4.1 \pm 1.7 22.5 \pm 2.6	5.2 \pm 2.1 17.7 \pm 2.0	6.6 \pm 1.4 13.1 \pm 1.3	11.0 \pm 5.5 9.5 \pm 1.8	15.1 \pm 7.6 7.5 \pm 1.7
	LBNP (-20mmHg)	8	FBF (ml/100ml \cdot min ⁻¹) FVR (units)	3.5 \pm 0.9 25.3 \pm 2.0	4.9 \pm 1.8 18.8 \pm 2.4	6.9 \pm 2.4 13.5 \pm 1.9	8.7 \pm 4.3 11.7 \pm 2.1	11.5 \pm 7.4 9.6 \pm 1.7
0.45 μ g/min \cdot dl ⁻¹	Control	8	FBF (ml/100ml \cdot min ⁻¹) FVR (units)	4.2 \pm 1.5 22.0 \pm 2.6	6.4 \pm 2.2 14.9 \pm 2.5	9.5 \pm 3.8 10.8 \pm 2.2	11.5 \pm 4.2 8.5 \pm 1.4	14.2 \pm 5.5 7.0 \pm 1.1
	LBNP (-10mmHg)	8	FBF (ml/100ml \cdot min ⁻¹) FVR (units)	4.4 \pm 1.7 22.1 \pm 3.4	7.7 \pm 3.4 12.8 \pm 2.3	9.5 \pm 2.9 9.8 \pm 1.4	12.4 \pm 4.3 7.9 \pm 1.4	16.2 \pm 6.7 6.3 \pm 1.4
	LBNP (-20mmHg)	8	FBF (ml/100ml \cdot min ⁻¹) FVR (units)	3.8 \pm 1.8 24.7 \pm 3.0	5.5 \pm 2.0 16.5 \pm 1.8	7.5 \pm 2.4 12.2 \pm 1.5	9.4 \pm 3.3 10.0 \pm 1.6	12.7 \pm 3.9 7.1 \pm 0.9
1.5 μ g/min \cdot dl ⁻¹	Control	8	FBF (ml/100ml \cdot min ⁻¹) FVR (units)	4.8 \pm 1.8 20.3 \pm 2.9	8.0 \pm 2.5 11.1 \pm 1.2	14.1 \pm 4.1 6.4 \pm 0.7	18.2 \pm 4.9 4.9 \pm 0.5	26.4 \pm 10.1 3.7 \pm 0.5
	LBNP (-10mmHg)	8	FBF (ml/100ml \cdot min ⁻¹) FVR (units)	4.4 \pm 1.8 21.6 \pm 3.0	11.7 \pm 3.8 8.5 \pm 2.1	14.7 \pm 6.3 6.9 \pm 1.5	22.6 \pm 8.0 4.0 \pm 0.5	29.7 \pm 14.7 3.3 \pm 0.4
	LBNP (-20mmHg)	8	FBF (ml/100ml \cdot min ⁻¹) FVR (units)	4.2 \pm 1.4 21.4 \pm 2.2	10.7 \pm 2.9 8.312 \pm 1.1	16.7 \pm 7.0 6.0 \pm 1.1	25.7 \pm 15.1 4.9 \pm 1.3	29.9 \pm 14.7 3.1 \pm 0.4
4.5 μ g/min \cdot dl ⁻¹	Control	8	FBF (ml/100ml \cdot min ⁻¹) FVR (units)	5.7 \pm 2.3 16.8 \pm 2.4	15.7 \pm 8.0 8.3 \pm 2.8	25.7 \pm 12.0 5.8 \pm 2.5	32.0 \pm 10.4 3.8 \pm 1.3	35.3 \pm 12.5 3.1 \pm 0.8
	LBNP (-10mmHg)	8	FBF (ml/100ml \cdot min ⁻¹) FVR (units)	6.0 \pm 2.7 16.1 \pm 2.2	25.1 \pm 22.8 5.3 \pm 1.2	31.7 \pm 16.5 3.2 \pm 0.5	38.4 \pm 17.6 2.6 \pm 0.5	45.6 \pm 19.0* 2.1 \pm 0.3
	LBNP (-20mmHg)	8	FBF (ml/100ml \cdot min ⁻¹) FVR (units)	3.7 \pm 1.6 26.9 \pm 4.3	16.1 \pm 10.4 8.7 \pm 3.1	30.5 \pm 15.3 3.3 \pm 0.6	40.1 \pm 19.3 2.6 \pm 0.5	47.7 \pm 20.9* 2.2 \pm 0.5*

Results are expressed as $\bar{x} \pm SD$. ACh, acetylcholine; FBF, forearm blood flow; FVR, forearm vascular resistance. LBNP, lower body negative pressure.

*. $p < 0.001$; **. $p < 0.05$ between control and LBNP analysed by repeated ANOVA.

した (それぞれ $p < 0.001$)。図3Cに、ACh 4.5 μ g/分 \cdot dl⁻¹投与による血管拡張反応に及ぼすLBNP-20mmHgの影響をみた、ストレーンゲージ・プレチスモグラフの実記録を示す。本例では、コントロールのFBFはACh投与前が4.9ml/100ml \cdot 分⁻¹であり、AChを240秒間投与した後は14.5ml/100ml \cdot 分⁻¹に増加した。これに対し、LBNP-20mmHgによりACh投与前のFBFは2.7ml/100ml \cdot 分⁻¹に低下していたが、AChを240秒間投与したところFBFは20.3ml/100ml \cdot 分⁻¹に増加し、LBNP-20mmHgによりAChによるFBFの増加の程度は増大した。表5にACh持続投与時の経時的なFBF、FVRの変化に及ぼすLBNP-10mmHgおよび-20mmHgの影響を実測値で示し、図4C、図5CにACh4.5 μ g/分 \cdot dl⁻¹投与による経時的なFBF、FVRの変化に及ぼすLBNPの影響を変化率で示す。ACh4.5 μ g/分 \cdot dl⁻¹投与では、コントロール時、LBNP-10、-20mmHgともFBFは投与60秒後より増加し、240秒で最大となったが、増加の程度は、コントロールに比較しLBNP-10、-20mmHgで有意に増大した (それぞれ $p < 0.05$, $p < 0.001$, 図4C)。FVRも、LBNP-10、-20mmHg前後とも60秒後より有意に低下したが、低下の程度はコントロールに比較して、有意に大きかった。(それぞれ $p < 0.05$, $p < 0.001$, 図5C) AChの投与濃度とFBFの最大反応の関係を図6Cに示す。ACh 0.15, 0.45, 1.5, 4.5 μ g/分 \cdot dl⁻¹に対するFBFの増加率は、

コントロールではそれぞれ+226.7 \pm 39.6%, +237.1 \pm 35.5%, +529.0 \pm 123.1%, +594.2 \pm 125.3%であるのに対し、LBNP-10mmHgではそれぞれ+302.5 \pm 92.5%, +292.9 \pm 53.7%, +677.9 \pm 184.0%, +774.6 \pm 214.0%, LBNP-20mmHg後ではそれぞれ+233.3 \pm 82.0%, +261.4 \pm 44.3%, +650.9 \pm 110.6%, +1229.6 \pm 147.3%であり、高濃度であるACh 4.5 μ g/分 \cdot dl⁻¹ではLBNP後のFBFの増加反応は有意に増加した (それぞれ $p < 0.05$, $p < 0.001$, 図6C)。ACh 0.15, 0.45, 1.5, 4.5 μ g/分 \cdot dl⁻¹に対するFVRの減少率も、コントロールではそれぞれ-67.1 \pm 3.3%, -68.3 \pm 3.1%, -79.5 \pm 3.8%, -82.4 \pm 2.7%に対し、LBNP-10mmHg後では、それぞれ-63.4 \pm 6.3%, -70.0 \pm 5.3%, -82.4 \pm 3.4%, -85.7 \pm 1.8%となり、また、LBNP-20mmHg後では、それぞれ-61.0 \pm 6.3%, -68.8 \pm 4.3%, -83.5 \pm 2.3%, -91.8 \pm 0.9%となり高濃度であるACh4.5 μ g/分 \cdot dl⁻¹ではLBNP-20mmHg後においてFVR減少の増大が有意であった ($P < 0.05$, 図7C)。

考 察

近年、血管内皮細胞が多くの平滑筋に対する収縮物質や弛緩物質を放出し、血管の緊張を制御していることが明らかとなった。収縮物質としてはエンドセリン、トロンボキサンA₂、拡張物質としてはNO、プロスタグランジンI₂、内皮由来過分極因

子などがあるが、NOは最も重要な内皮由来の血管緊張の調節物質の1つとされている。NOの発見は、Furchgottら⁹が1980年にウサギ大動脈摘出標本のAChに対する血管拡張反応が平滑筋に対する直接作用だけではなく、内皮細胞膜のムスカリン受容体刺激により血管弛緩因子が放出されることによることを示し、EDRFとして報告した。その後1988年頃までにNOがその正体であることが化学的、薬理的、あるいは生物学的特性の相同性により確認された^{21,4}。さらに細胞内でのNOの合成がNOSにより、L-アルギニンを基質として合成されることが示され²⁰、現在では、運動などの生理学的反応における役割^{27,28}や各種臨床病態における内皮機能の変化^{29,30}も多く報告されている。

一方、血管の緊張の調節には内皮因子のほかに、アンジオテンシンIIに代表される体液性因子、コリン作動性神経や交感神経などの神経性因子が関与しているが、それぞれの調節因子がどのような相互作用を持ち血管緊張を調節しているかは十分明らかとはなっていない。この点に関し、Lacolleyら³¹は動物実験において血管のNO合成、放出に α 交感神経系が重要な働きをしている可能性を報告し、注目される。すなわち、彼らはラットを用いNOS阻害薬であるL-N-ニトロアルギニンによる平均動脈圧、腎血管抵抗、腹腔動脈抵抗の上昇が、交感神経節遮断薬であるクロニソダミンの投与後抑制され、クロニソダミン投与と同時に α 刺激薬であるフェニレフリンを投与すると抑制効果が改善することを示した。さらに内皮非依存性血管拡張薬であるヒドララジンではL-N-ニトロアルギニンに対する反応性には影響がなかったことから、 α 交感神経は内皮からのNOの合成、放出を修飾し、内皮因子と神経性因子の相互作用が血管緊張性の調節に重要であることを報告した。ヒトにおける交感神経系による内皮機能の修飾に関する検討はないが、その存在を間接的に示唆する報告がみられる。運動に伴う代謝性および神経性血管反応に対し、NOS阻害薬であるNG-モノメチル-L-アルギニン投与により、血流増加反応が抑制されることが報告され²⁷、内皮因子と神経性因子や体液性因子との相互作用が示唆されている。また、AChはヒトの血管内皮機能の評価に用いられている^{10,12}が、AChの内皮への作用は内皮表面にムスカリン受容体が存在しコリン作動性神経の調節を受けていることを示している。これらの動物実験やヒトにおける成績は、内皮機能がコリン作動性神経や交感神経などの自律神経系により調節を受けている可能性を示唆しているが、ヒトにおける交感神経による内皮機能の修飾に関する系統だった検討はみられない。そこで今回、ヒト前腕血管におけるAChに対する内皮依存性血管拡張反応に及ぼす交感神経活動の影響について検討を行った。

今回の検討では、 α 遮断薬であるフェントラミンによりAChに対する内皮依存性血管拡張反応は有意に抑制された。しかし、フェントラミンと同程度に前腕血管を拡張させる用量でのヒドララジンの投与では、AChに対する内皮依存性血管拡張反応に有意な変化はみられなかった。すなわち、フェントラミンは血管拡張によってではなく、 α 交感神経遮断により内皮依存性血管拡張反応を抑制した。一方、LBNPによる反射性交感神経活動亢進状態では、AChによる内皮依存性血管拡張反応は有意に増大した。これらの成績は、ヒトにおいても α 交感神経活動は内皮依存性血管拡張を修飾していることを示唆している。

今回のヒトにおける内皮依存性血管拡張反応の評価は、前腕灌流法³²を用いて行った。本法は、上腕動脈に薬剤を投与し

トレインゲージ・プレチスモグラフにてFBFの変化を観察するもので、上腕動脈に投与した薬剤により全身循環動態が影響を受けないことが前提となる。全身循環動態が変化した時には、FBFの変化に反射を介した修飾が加わるためである。今回の検討では、ACh、フェントラミン、ヒドララジンのいずれの投与においても心拍数や動脈圧に有意な変化はなく、LBNP時のACh投与による中心静脈圧の変化もみられなかった。またTaddeiら³³はAChを0.15~15mg/分 \cdot dl¹の濃度で前腕へ投与した場合、注入反対側のFBF、心拍数および動脈圧に影響がないと報告しており、今回の用いた投与量でのACh、フェントラミン、ヒドララジンでは全身循環動態への影響はないと考えられた。

α 遮断薬であるフェントラミンの投与により、AChに対する内皮依存性血管拡張反応は有意に抑制されたが、同時に安静時FBFの増加がみられた。内皮細胞からのNO合成、放出の生理的刺激的の代表的なものとして血管壁ずり応力があり、急激な血流増加に伴う血管径拡大に、血流に起因する壁ずり応力とそれに伴う内皮細胞からのNO放出が関与していることが示されている³⁴。Tohdaら³⁵は、血流増加に伴う反応性血管拡張が内皮剥離標本で消失することを報告し内皮細胞が血流の増加に伴い血管拡張物質を放出する可能性を示した。さらにKorenagaら³⁶は、NO産生にあたり内皮細胞内の可溶性グアニル酸シクラーゼが活性化され細胞内cGMPが増加することを利用して、培養ウシ血管内皮細胞に人工的ずり応力を負荷した時の細胞内cGMP濃度の変化を検討した。その結果、人工的ずり応力によりcGMPが上昇すること、NOS阻害薬であるNG-モノメチル-L-アルギニンを加えておくとこの上昇が抑制されること、さらにNOの基質であるL-アルギニンを加えると再び細胞内cGMP濃度が上昇することを示した。このように、血流量の増加は壁ずり応力を変化させ内皮からのNO放出を促進しており、今回の検討でみられたフェントラミンによるFBFの増加は、それ自体が内皮機能に影響を与えている可能性がある。そこで、ヒドララジンの投与により、フェントラミンと同程度にFBFを増加させ、AChに対する内皮依存性血管拡張反応を検討した。その結果、ヒドララジンによりフェントラミンと同程度にFBFを増加させたにもかかわらず、AChに対するFBFの増加率はACh単独投与の場合と有意差を認めず、フェントラミンでみられた内皮依存性血管拡張反応の抑制はみられなかった。ヒドララジンは内皮剥離標本においても内皮温存標本と同程度に血管拡張がみられ、内皮への作用はなく直接血管平滑筋に作用する血管拡張薬とされている¹⁰。したがって、フェントラミンによるAChに対する血管拡張反応の抑制は、血管拡張に伴うものではなく、 α 交感神経の薬物的神経遮断そのものが内皮依存性血管拡張反応を修飾したためと思われる。

一方、交感神経活動亢進の内皮依存性血管拡張反応に及ぼす影響については、今回はLBNPを用い、反射性交感神経活動亢進状態を作製し検討した。LBNPとは、下半身に陰圧をかけることにより下肢に血液を貯留させ、静脈環流量を減少させる方法であり、その結果圧受容体の減負荷(unloading)が起こる²⁹。圧受容体からの求心性インパルスは、中枢からの交感神経活動の流出を緊張性に抑制しており、圧受容体の減負荷により交感神経活動は亢進する。LBNPが ≥ 20 mmHgを越えると動脈圧受容体と心肺圧受容体が同時に減負荷されるが、 -20 mmHg以下では心肺圧受容体のみが減負荷され心臓交感神経活動は変化せず

末梢血管への交感神経活動のみが賦活化されるとされている^{25,36)}。今回の検討では、末梢血管のみへの交感神経活動の亢進を目的として-10mmHgと-20mmHgでLBNPを施行した。その結果、中心静脈圧の低下によりFBFは減少しFVRは増加したが、心拍数、動脈圧には変化はみられず、末梢血管のみへの交感神経活動亢進状態が得られた。この状態でAChを投与したところ、FBFの増加反応は有意に増加し、交感神経活動亢進により内皮依存性血管拡張反応の増大がみられた。したがって、今回の検討でみられた α 遮断薬による内皮依存性血管拡張反応の抑制および反射性交感神経活動亢進による内皮依存性血管拡張反応の促進から、ヒトの内皮を介する血管緊張の調節に α 交感神経が重要な修飾を行っているものと結論して妥当と思われる。

ヒトにおける α 交感神経による内皮機能の修飾に関する報告は著者の調べた範囲内ではみられないが、動物の摘出血管を用いた薬理学的実験において内皮細胞膜に α 受容体が存在する可能性が示されている。Cocksら³⁷⁾は、イヌおよびブタの摘出冠動脈において、血管内皮剥離標本では内皮温存標本と比較してノルエピネフリンに対する血管収縮の閾値が低下しており、最大収縮も増大するが、高カリウム溶液に対する血管収縮は内皮の有無により差がないことを報告した。さらに、イヌとブタでノルエピネフリンに対する内皮温存標本と内皮剥離標本の反応性の差の程度に違いがみられることを示した。これらの結果は、血管内皮に α 受容体が存在し、この α 受容体の刺激により血管平滑筋の緊張が修飾されている可能性と血管内皮の α 受容体を介する作用は動物種によりその関与の程度が異なることを示唆している。また、Zaningerら³⁸⁾は、ネコにおいて、吻側延髄腹外側野を冷却することにより中枢からの交感神経流出を遮断した状態において、ノルエピネフリンに対する昇圧反応は、NO合成阻害薬であるN^G-ニトロ-L-アルギニンを前投与すると過剰反応となり、NO供給物質であるS-ニトロ-N-アセチルペニシラミンにより昇圧反応が抑制されることを示した。一方、アンジオテンシンIIによる昇圧反応性は両薬剤により変化しなかったことから、ノルエピネフリンの血管収縮はNO産生と密接な関係があることを報告した。さらに、Martinら³⁹⁾はラット大動脈摘出標本において、 α_2 交感神経選択性の刺激薬であるクロニジンは、内皮除去標本では血管収縮反応が出現したのに対し、内皮温存標本では収縮反応がみられなかったことを報告し、さらに標本灌流液中にNO産生に不可欠であるグアニル酸サイクレーズを阻害するヘモグロビンを加えておくと、内皮温存標本においてもクロニジンにより収縮反応が誘発されることを示した。一方、 α_1 選択性の交感神経刺激薬であるフェニレフリン、非選択性 α 交感神経刺激薬であるノルエピネフリンでは内皮剥離標本と内皮温存標本との間に収縮反応の違いがみられなかった。この成績は、血管の内皮細胞に α_2 受容体が存在し、その刺激によりNOの合成が促進され平滑筋に対し弛緩性に作用していることを示している。その後、ブタ冠動脈、ブタ肺動脈およびラット骨格筋動脈の摘出標本において、 α_1 選択性の交感神経拮抗薬であるプラゾシンを併用した条件下でのノルエピネフリンの投与や、 α_2 選択性の交感神経刺激薬であるクロニジンやUK14303の投与において、内皮温存標本では内皮剥離標本と比較して血管の弛緩効果がみられることが報告されている^{40)~43)}。いずれの報告も、 α 交感神経刺激薬は平滑筋に対し直接収縮性に作用するが、一方内皮細胞には α_2 受容体が存在し、

NOの放出を介して平滑筋に対し弛緩性に作用していることを示している。また、Flavahanら⁴⁴⁾は、内皮に対する刺激が α_2 交感神経刺激薬と、セロトニンの場合でNO合成阻害物質の効果が異なることから、 α_2 受容体からNO合成に至る経路がセロトニンとは異なる可能性を示している。このように内皮細胞に α_2 受容体が存在し平滑筋収縮を調節している報告が多くみられるが、 α_1 受容体や β 受容体の関与を示唆する報告もみられる。Alosachieら⁴⁵⁾はラット摘出大動脈のフェントラミンやノルエピネフリンに対する収縮反応に対し、 α_1 遮断薬であるプラゾシンが内皮温存標本では非競合的に拮抗するのに対して内皮除去標本では競合的に拮抗し、一方 α_2 遮断薬であるヨヒンビンでは内皮の有無に関わらず α 刺激薬に対して競合的に作用することから、 α_1 受容体を介する作用が内皮機能に強く関与している可能性を示している。また、Hempelmannら⁴⁶⁾はラットの摘出脳底動脈標本において、カテコールアミンによる弛緩反応は内皮細胞の依存が不可欠であり、この反応には α 受容体よりも β 受容体を介する反応が重要である可能性を報告している。以上のように動物実験の成績では、内皮細胞を介する血管緊張の調節には交感神経系が深く関与していることは明らかではあるが、受容体の種類については一定の見解は得られていない。異なった成績が得られる原因は明らかではないが、受容体の分布が動物の種の違いや血管床の違いにより異なる可能性がある。今回のヒトにおける検討では、 α 遮断薬として非選択性の薬剤であるフェントラミンを用いており、ヒト前腕血管において α_1 受容体および α_2 受容体のいずれが重要な働きをしているかについては明らかではない。今後、 α_1 選択性および α_2 選択性交感神経作用薬を使用した検討が必要と思われる。

今回の検討では、ヒトにおいても交感神経が内皮からのNOの合成、放出を調節していることを示したが、一方NOが神経性調節に関与するとの報告がみられる。Kumagaiら⁴⁷⁾はラットにおいて、NO合成阻害薬であるN^G-モノメチル-L-アルギニンの静脈内投与によるNO合成阻害を行うと、交感神経活動が亢進し、動脈圧受容体反射機能が変化することを報告し、循環調節中枢活動にNOが関与する可能性を示した。また、新たな神経伝達物質としてNOの可能性も示され、NO作動性血管拡張神経の存在が報告されている^{7)~10)}。しかしこの点に関しては、今後さらに中枢神経系内でのNO活性や、その受容体、さらにNO作動神経の形態学的証明などの問題を検討する必要があると思われる。

近年、高血圧、心不全などの種々の循環器疾患において内皮機能に障害がみられることが報告されている。これらの報告の多くは、ヒトにおける内皮機能の評価としてAChに対する冠動脈や前腕血管の血管拡張反応により行われている。しかし、今回の成績からは、AChに対する内皮依存性血管拡張反応は α 交感神経の活動状態により修飾されており、その成績の解釈には注意が必要と思われる。すなわち、 α 交感神経活動が亢進した病態ではAChに対する内皮依存性血管拡張反応は過大に評価され、 α 交感神経活動が低下した病態では過小評価されていることとなる。今後、ヒトにおける内皮機能の新しい評価法の開発が必要と思われる。

結 論

ヒトにおける内皮依存性血管拡張反応に α 交感神経活動状態が修飾するか否かを明らかにするため、ヒト上腕動脈のAChに

よる内皮依存性血管性血管拡張反応に及ぼす、 α 遮断薬であるフェントラミン投与の影響、内皮非依存性血管拡張薬であるヒドララジン投与の影響、さらにLBNPによる反射性交感神経活動亢進の影響について検討し、以下の結果を得た。

1. ACh, フェントラミン, ヒドララジンの上腕動脈への投与により、心拍数、動脈圧に明らかな変化はなく、今回の薬物投与では全身循環動態への影響はなかった。

2. ACh投与により用量依存性に前腕血管の拡張がみられた。

3. フェントラミンの前投与によりAChに対する内皮依存性血管拡張反応は有意に抑制された。

4. 内皮非依存性血管拡張薬であるヒドララジンの前投与ではフェントラミン投与と同程度に安静時FBFを増加させたが、AChに対する内皮依存性血管拡張反応は抑制されず、フェントラミンによる内皮依存性血管拡張反応の抑制は血管拡張に伴う非特異的現象ではなかった。

5. LBNPによる反射性交感神経活動亢進によりAChに対する内皮依存性血管拡張反応は増大した。

以上の結果より、ヒトの前腕血管緊張の調節には内皮因子と神経性因子の相互作用がみられ、内皮依存性血管拡張反応は α 交感神経活動状態により修飾されている可能性が示唆された。

謝 辞

稿を終えるに臨み、御指導と御校閲を賜りました恩師金沢大学医学部医学科内科学第一講座小林健一教授に深甚なる謝意を表します。また、終始御指導、御教示を賜りました金沢大学医学部保健学科高田重男教授および金沢大学第一内科循環器班の諸先生方に心から深謝致します。

文 献

1) Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 288 : 373-376, 1980

2) Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 327 : 524-526, 1987

3) Ignarro LJ, Byrns RE, Wood KS. Endothelium-dependent modulation of cGMP levels and intrinsic smooth muscle tone in isolated bovine intrapulmonary artery and vein. *Circ Res* 60 : 82-92, 1987

4) Furchgott RF. Studies on relaxation of rabbit aorta by sodium nitrite : The basis for the proposal that the acid-activatable inhibitory factor from bovine retractor penis is inorganic nitrite and the endothelium-derived relaxing factor is nitric oxide. *In* PM Vanhoutte (ed), *Vasodilation : Vascular Smooth Muscle, Peptides, Autonomic Nerves, and Endothelium*, 1st ed, p401-414, Raven Press, New York, 1988

5) Hibbs JB Jr, Vavrin Z, Taintor RR. L-arginine is required for expression of the activated macrophage effector mechanism causing selective metabolic inhibition in target cells. *J Immunol* 138 : 550-565, 1987

6) Marletta MA, Yoon PS, Iyengar R, Leaf CD, Wishnok JS. Macrophage oxidation of L-arginine to nitrite and nitrate : Nitric oxide is an intermediate. *Biochemistry* 27 : 8706-8711, 1988

7) Ignarro LJ. Endothelium-derived nitric oxide : Pharmacology and relationship to the actions of organic nitrate

esters. *Pharmaceutical Res* 6 : 651-659, 1989

8) Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Biosynthesis of nitric oxide from L-arginine : A pathway for the regulation of cell function and communication. *Biochemical Pharmacol* 38 : 1709-1715, 1989

9) Moncada S, Ress DD, Schulz R, Palmer RMJ. Development and mechanism of a specific supersensitivity to nitrovasodilators after inhibition of vascular nitric oxide synthesis in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 88 : 2166-2170, 1991

10) MacAllister R, Vallance P. Nitric oxide in essential and renal hypertension. *J Am Soc Nephrol* 5 : 1057-1065, 1994

11) Sigmon DH, Carretero OA, Beierwaltes W. Endothelium-derived relaxing factor regulates renin release in vivo. *Am J Physiol* 263 : F256-F261, 1992

12) Toda N, Okamura T. Mechanism of neurally induced monkey mesenteric artery relaxation and contraction. *Hypertension* 19 : 161-166, 1992

13) Toda N, Okamura T. Reciprocal regulation by putatively nitrooxidergic and adrenergic nerves of monkey and dog temporal arterial tone. *Am J Physiol* 261 : H1740-H1745, 1991

14) Toda N, Kitamura Y, Okamura T. Neural mechanism of hypertension by nitric oxide synthase inhibitor in dogs. *Hypertension* 21 : 3-8, 1993

15) Okamura T, Ayajiki K, Toda N. Neural mechanism of pressor action of nitric oxide synthase inhibitor in anesthetized monkeys. *Hypertension* 25 : 341-346, 1996

16) Okumura K, Yasue H, Horio Y, Takaoka K, Matsuyama K, Kugiyama K, Fujii H, Morikami Y. Multivessel coronary spasm in patients with variant angina : A study with intracoronary injection of acetylcholine. *Circulation* 77 : 535-542, 1988

17) Okumura K, Yasue H, Matsuyama K, Goto K, Miyagi H, Ogawa H, Matsuyama K. Sensitivity and specificity of intracoronary injection of acetylcholine for the induction of coronary artery spasm. *J Am Coll Cardiol* 12 : 883-888, 1988

18) McLean AJ, du Souich P, Barron KW, Briggs AH. Interaction of hydralazine with tension development and mechanisms of calcium accumulation in K⁺-stimulated rabbit aortic strips. *J Pharmacol Exp Ther* 207 : 40-48, 1978

19) Lipe S, Mould RFW. In vitro differences between human arteries and veins in their responses to hydralazine. *J Pharmacol Exp Ther* 217 : 204-208, 1980

20) Jacobs M. Mechanism of action of hydralazine on vascular smooth muscle. *Biochemical Pharmacol* 33 : 2915-2919, 1984

21) Drieu la Rochelle C, Dubois-Randé JL, Hittinger L, Richard V, Berdeaux A, Giudicelli JF. Hydralazine dilates large epicardial coronary arteries in conscious dogs through an endothelium-independent mechanism. *J Cardiovasc Pharmacol* 23 : 315-318, 1994

22) Gurney AM, Allam M. Inhibition of calcium release from the sarcoplasmic reticulum of rabbit aorta by hydralazine. *Br J Pharmacol* 114 : 238-244, 1995

23) Stevens PM, Lamb LE. Effect of lower body negative pressure on the cardiovascular system. *Am J Cardiol* 16 : 506-516, 1965

- 24) Worthuis RA, Bergmann SA, Nicogossian AE. Physiological effect of locally applied reduced pressure in man. *Physiol Rev* 54 : 566-595, 1974
- 25) Mark AL, Mancina G. Cardiopulmonary baroreflexes in humans. In JT Shepherd, FM Abboud (eds), *Handbook of Physiology, Sect III The Cardiovascular System, Vol III Peripheral Circulation and Organ Blood Flow*, First ed, p795-813, American Physiological Society, Bethesda, 1983
- 26) Whitney RJ. The measurement of volume changes in human limbs. *J Physiol* 121 : 1-27, 1953
- 27) Gilligan DM, Panza JA, Kilcoyne CM, Waclawiw MA, Casino PR, Quyyumi AA. Contribution of endothelium-derived nitric oxide to exercise-induced vasodilation. *Circulation* 90 : 2853-2858, 1994
- 28) Endo T, Imaizumi T, Tagawa T, Shiramoto M, Ando S, Takeshita A. Role of nitric oxide in exercise-induced vasodilation of the forearm. *Circulation* 90 : 2886-2890, 1994
- 29) Hirooka Y, Imaizumi T, Tagawa T, Shiramoto M, Endo T, Ando S, 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
- 30) Egashira K, Katsuda Y, Mohri M, Kuga T, Tagawa T, Shimokawa H, Takeshita A. Basal release of endothelium-derived nitric oxide at site of spasm in patients with variant angina. *J Am Coll Cardiol* 27 : 1444-1449, 1996
- 31) Lacolley PJ, Lewis SJ, Brody MJ. Role of sympathetic nerve activity in the generation of vascular nitric oxide in urethane-anesthetized rats. *Hypertension* 17 : 881-887, 1991
- 32) Taddei S, Virdis A, Matteri P, Natali A, Ferrannini E, Salvetti A. Effect of insulin on acetylcholine-induced vasodilation in normotensive subjects and patients with essential hypertension. *Circulation* 92 : 2911-2918, 1995
- 33) Kamiya A, Togawa T. Adaptive regulation of wall shear stress to flow change in the canine carotid artery. *Am J Physiol* 239 : H14-H21, 1980
- 34) Tohda K, Masuda H, Kawamura K, Shozawa T. Difference in dilatation between endothelium-preserved and -desquamated segments in the flow-loaded rat common carotid artery. *Arterioscler Thromb* 12 : 519-528, 1992
- 35) Korenaga R, Ando J, Tsuboi H, Yang W, Sakuma I, Toyooka T, Kamiya A. Laminar flow stimulates ATP and shear stress-dependent nitric oxide production in cultured bovine endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 198 : 213-219, 1994
- 36) Ookuwa H, Takata S, Ogawa J, Iwase N, Ikeda T, Hattori N. Abnormal cardiopulmonary baroreflexes in normotensive young subjects with a family history of essential hypertension. *J Clin Hypertens* 3 : 596-604, 1987
- 37) Cocks TM, Angus JA. Endothelium-dependent relaxation of coronary arteries by noradrenaline and serotonin. *Nature* 305 : 627-630, 1983
- 38) Zanzinger J, Czachurski J, Seller H. Inhibition of sympathetic vasoconstriction is a major principle of vasodilation by nitric oxide in vivo. *Circ Res* 75 : 1073-1077, 1994
- 39) Martin W, Furchgott RF, Villani GM, Jothianandan D. Depression of contractile responses in rat aorta by spontaneously released endothelium-derived relaxing factor. *J Pharmacol Exp Ther* 237 : 529-538, 1986
- 40) Cohen RA, Zitnay KM, Weisbrod RM, Tesfamariam B. Influence of the endothelium on tone and the response of isolated pig coronary artery to norepinephrine. *J Pharmacol Exp Ther* 244 : 550-555, 1988
- 41) Flavahan NA, Shimokawa H, Vanhoutte PM. Pertussis toxin inhibits endothelium-dependent relaxations to certain agonists in porcine coronary arteries. *J Physiol* 408 : 549-560, 1989
- 42) Nakamura T, Prewitt RL. Effect of N^G-monomethyl-L-arginine on arcade arterioles of rat spinotrapezius muscles. *Am J Physiol* 261 : H46-H52, 1991
- 43) Liu SF, Crawley DE, Evans TW, Barnes PJ. Endogenous nitric oxide modulates adrenergic neural vasoconstriction in guinea-pig pulmonary artery. *Br J Pharmacol* 104 : 565-569, 1991
- 44) Alosachie I, Godfraind T. The modulatory role of vascular endothelium in the interaction of agonists and antagonists with α -adrenoceptors in the rat aorta. *Br J Pharmacol* 95 : 619-629, 1988
- 45) Hempelmann RG, Ziegler A. Endothelium-dependent noradrenaline-induced relaxation of rat isolated cerebral arteries: Pharmacological characterization of receptor subtypes involved. *Br J Pharmacol* 110 : 1321-1328, 1993
- 46) Kumagai H, Averill DB, Khosla MC, Ferrario CM. Role of nitric oxide and angiotensin II in the regulation of sympathetic nerve activity in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 21 : 476-484, 1993

Effects of α -Sympathetic Nerve Activity on Acetylcholine- Induced Endothelium-Dependent Vasodilatation in Human Forearm Masayuki Takamura, Department of Internal Medicine (I), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920 — J. Juzen Med Soc., **106**, 191 — 203 (1997)

Key words cetylcholine, endothelium-dependent vasodilation, nitric oxide, α -sympathetic nerve activity, vascular tone

Abstract

To clarify whether the interaction between endothelial factor and neural factor exists in the regulation of human vascular tone, the effects of pharmacological sympathetic blockade and reflex sympathetic activation on endothelium-dependent vasodilatation were studied in 24 young healthy volunteers. Forearm blood flow (FBF) was measured using a strain-gauge plethysmograph. Endothelium-dependent vasodilatation was assessed by intrabrachial infusions of acetylcholine (ACh) at doses of 0.15, 0.45, 1.5 and 4.5mg/min \cdot dl⁻¹. The effects of pretreatment of phentolamine (0.1mg) and hydralazine (0.1mg), and lower body negative pressure (LBNP) on ACh-induced vasodilatation were studied. No drug infusion did not altered heart rate or arterial pressure. ACh dose-dependently increased FBF. Phentolamine significantly increased FBF from 6.0 ± 2.3 ml / 100ml \cdot min⁻¹ to 9.7 ± 7.0 ml/100ml \cdot min⁻¹. After an intrabrachial infusion of phentolamine, FBF responses to ACh were significantly inhibited ($p < 0.001$) and the dose-response curves were shifted to the lower right. Hydralazine lead to similar forearm vasodilation, but did not alter FBF responses to ACh. LBNP at -10mmHg and -20mmHg significantly decreased FBF ($p < 0.001$, respectively). During LBNP at -10mmHg and -20mmHg, FBF responses to ACh were significantly activated ($p < 0.05$, $p < 0.001$, respectively) and the dose-response curves were shifted to the upper left. These results suggest that α -adrenergic nerve activity may modulate endothelium-dependent vasodilatation in the human forearm.