

# Vasoconstrictor Effect of Neuropeptide Y on the Isolated Canine Coronary Artery

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	<a href="http://hdl.handle.net/2297/8204">http://hdl.handle.net/2297/8204</a>

## Neuropeptide Y のイヌ冠動脈に対する作用

## —摘出血管標本による検討—

金沢大学医学部内科学第二講座 (主任: 竹田亮祐教授)

清水 邦 芳

(平成2年6月23日受付)

ニューロペプチド Y (neuropeptide Y, NPY) は36個のアミノ酸よりなる内因性生理活性ペプチドで、脳、末梢交感神経末端にノルエピネフリンと共存している。心臓では冠動脈周囲に高濃度に存在することより、冠循環調節に重要な役割を果たしている可能性が推察される。そこで NPY の冠動脈に対する作用を明らかにするために、摘出イヌ冠動脈標本を用いて、NPY の直接の冠動脈に対する作用およびその部位差および他の血管作動物質の冠動脈収縮作用に対する NPY の修飾作用を検討した。さらに NPY の冠動脈に対する作用における内皮の関与を検討した。雑種成熟イヌ (両性39頭、体重9-25kg) より冠動脈を摘出し、左回旋枝の近位部および末梢部から螺旋標本を作成した。これをクレス液で灌流した臓器槽内に装着し、NPY、セロトニン (5-hydroxytryptamine, 5HT)、フェニレフリン (phenylephrine, PHE)、プロスタグランジン  $F_2\alpha$  (prostaglandin  $F_2\alpha$ ,  $PGF_2\alpha$ ) を投与し発生する張力を等尺性に記録した。また  $10^{-8}M$  および  $10^{-7}M$  の NPY の前投与20分後にこれらを再投与し、これらの冠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剥離した標本で同様な実験を行い NPY の直接、間接の冠動脈に対する作用における内皮の関与を検討した。NPY は用量依存性に冠動脈標本を収縮させたが、その収縮量は 5HT に比べ弱く、PHE、 $PGF_2\alpha$  とほぼ同等であった。またこの直接の冠動脈収縮作用は近位部より末梢部に優位であった。 $10^{-8}M$  および  $10^{-7}M$  の NPY の前投与により 5HT、PHE の収縮作用は増強し、その用量-反応曲線は左方に移動した。 $10^{-8}M$  の NPY は直接の冠動脈収縮作用は認めず、 $10^{-7}M$  もごくわずかであった。 $PGF_2\alpha$  および高カリウムの冠動脈収縮作用は NPY の影響を受けなかった。NPY の作用における内皮の関与の検討では、直接の冠動脈収縮作用は内皮の有無に影響を受けなかった。また NPY の PHE の冠動脈収縮作用に対する増強作用も内皮の有無に影響を受けなかった。NPY は直接の冠動脈収縮作用は比較的弱い、他の血管作動物質の冠動脈収縮作用の増強作用を有していた。この直接、間接の作用により NPY は冠血管のトーンを調節していると思われる。また NPY のこの直接、間接の冠動脈収縮作用における内皮の関与は乏しいものと思われた。

---

**Key words** neuropeptide Y, isolated canine coronary artery, endothelium

---

ニューロペプチド Y (neuropeptide Y, NPY) は Tatemoto ら<sup>1)</sup>により最初にブタの脳より抽出単離された新しい内因性生理活性ペプチドで、36個のアミノ酸より構成されている。哺乳類動物の脳、末梢交感神

経末端に広く分布しており<sup>2)</sup>、心臓では冠動脈周囲の交感神経末端に高濃度に存在する<sup>3)</sup>ことより、冠循環調節に重要な役割を果たしている可能性が推察される。また生理的役割のみならず循環器疾患においても

Abbreviations: 5HT, 5-hydroxytryptamine; Ach, acetylcholine; cAMP, adenosine 3', 5'-cyclic monophosphate; EDRF, endothelium derived relaxing factor; EDCF, endothelium derived constricting factor; NE, norepinephrine; NPY, neuropeptide Y;  $PGF_2\alpha$ , prostaglandin  $F_2\alpha$ ; PHE, phenylephrine; 冠攣縮, 冠動脈攣縮

その意義は重大で、虚血性心疾患や心不全などの病態を修飾していると思われ、特にヒトの冠動脈攣縮（冠攣縮）への関与の可能性が推察されている<sup>6</sup>。

しかしその生物学的活性やその作用機序について現在まで多くの研究がなされているが未知の点が多い。

また Furchgott ら<sup>7</sup>による内皮由来血管弛緩因子 (endothelium derived relaxing factor, EDRF) の発見以来、血管作動物質の多くが血管内皮から EDRF, prostaglandin I<sub>2</sub>, 内皮由来血管収縮因子 (endothelium derived constricting factor, EDCF), angiotensin II などの血管拡張性および血管収縮性物質を放出させ血管平滑筋の緊張を変化させていることが明らかとなった。内皮は血管平滑筋機能の調節において重要な役割を果たしており、血管作動物質の作用機序を考察する上で内皮の関与を検討することが不可欠と思われる。

そこで我々は NPY の冠動脈に対する作用を明らかにするために、摘出イヌ冠動脈標本を用いて以下の検討を行った。(1) NPY の直接の冠動脈への作用および

その部位差。(2)他の血管作動物質の冠動脈収縮作用に対する NPY の修飾作用。換言すれば間接の冠動脈への作用。(3)さらにこの直接、間接の NPY の冠動脈に対する作用における内皮の関与を検討した。

#### 対象および方法

##### I. 対象

実験には体重 9-25kg の雑種の成熟イヌ両性39頭を用いた。体重の平均±標準誤差は  $14.5 \pm 0.6$  kg であった。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。すみやかに心臓を取り出し氷冷した保生液中で冠動脈を注意深く摘出した。前下行枝分岐直後の回旋枝近位部 (ヒトではアメリカ心臓病協会分類のセグメント11に相当、外径 2.2-3.3 mm) を冠動脈近位部標本とし、回旋枝末梢部 (ヒトでは上記分類のセグメント12あるいはセグメント14に相当、外径 0.7-1.3mm) を末梢部標本とした (図1)。血管周囲の結合組織を注意深く剝離した後、実体顕微鏡 (オリンパス、東京) 下で大橋ら<sup>8</sup>の方法に従い、血管

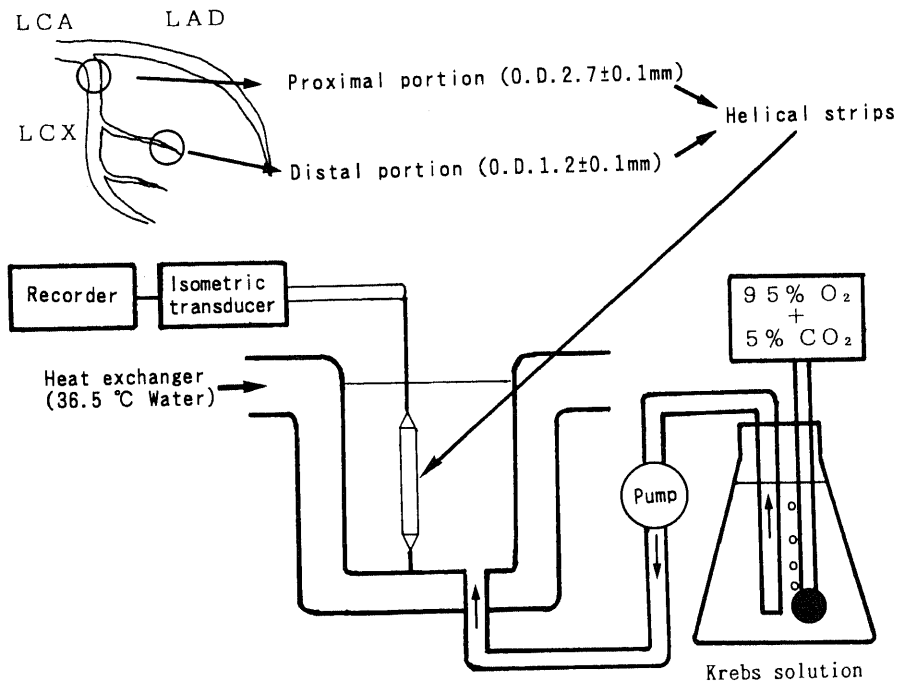


Fig. 1. Schema of measurement of isometric contraction. Helical strips prepared from proximal and distal portions of the left circumflex coronary artery of 39 mongrel dogs (either sex, weighing 9-25kg) were suspended in Krebs Buffer (pH 7.4) gassed with 95% O<sub>2</sub> and 5%CO<sub>2</sub> at 36.5°C, and the isometric developed tension was recorded. LCA, left coronary artery; LAD, left anterior descending artery; LCX, left circumflex artery; O. D., outside diameter.

軸と60度の交差角で螺旋状標本を作製した。近位部標本は長さ15mm 幅1.2mm, 末梢部標本は長さ15mm 幅1.0mm とした。作製した標本は2ml/minの一定の速度の保生液で灌流した臓器槽内(容量2.4ml)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デューサーTB-651T(日本光電, 東京)に結合した。トランスデ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(図1)。基本張力として近位部標本には1.25g, 末梢部標本には0.75gを負荷した。保生液にはクレス液を使用し, その組成をNaCl 120.0, KCl 15.9, NaHCO<sub>3</sub> 25.0, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2, CaCl<sub>2</sub> 2.5, MgCl<sub>2</sub> 1.2, glucose 5.5mMとした。実験中は絶えず95% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>混合ガスで通気を行いpH 7.4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36.5±0.5°Cに保った(図1)。

標本を臓器槽内に装着後80分間放置し, 標本の発生する静止張力が安定してから実験を開始した。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表した。

実験の最後に80mMの高カリウム保生液(NaCl 74.1mMをKCl 74.1mMで置換)で灌流して拘縮を起こさせ, この時の収縮量を100%として, 各実験で得られた収縮量を標準化した。

## II. 使用薬剤

実験にはヒト合成 NPY (ペプチド研究所, 大阪), 5-hydroxytryptamine (Sigma, ST. LOUIS, U. S.

A.), prostaglandin F<sub>2α</sub> (dinoprost, 小野, 大阪), phenylephrine hydrochloride(東京化成, 東京), acetylcholine chloride (第一製薬, 東京)を用いた。

## III. 実験1 (NPYの直接収縮作用の部位差および NPYの直接収縮作用における内皮の関与の検討)

同一のイヌ(n=8)より近位部標本を二個, 末梢部標本を一個採取した。近位部標本および末梢部標本の外径はそれぞれ2.7±0.1mm(平均±標準誤差), 1.2±0.1mmであった。螺旋標本作成後, 近位部標本の一つはFurchgottらの方法<sup>7)</sup>に従い保生液で濡らした濾紙で冠動脈の内膜側を擦過し内皮の剥離を機械的に行った。(走査型電子顕微鏡あるいは銀染色後に光学顕微鏡で観察すると<sup>8)</sup>この操作により内皮のほとんどすべてが剥離されるとされ, またこの操作による平滑筋の損傷は無視できるほど小さいとされている<sup>9)</sup>。

それぞれを臓器槽に装着し, 3×10<sup>-5</sup>Mのプロスタグランジン F<sub>2α</sub>(prostaglandin F<sub>2α</sub>, PGF<sub>2α</sub>)の溶解した保生液で灌流し持続的収縮を起こさせた。この前収縮下にアセチルコリン(acetylcholine, Ach)を投与し, 血管弛緩反応の有無を見て内皮機能の有無を確認した。Achは血管内皮細胞よりEDRFを遊離させることが知られ<sup>7)</sup>, Ach投与により内皮が温存している標本は弛緩反応を示し, 内皮を剥離した標本では弛緩反応が消失した。

80分間静置後, 臓器槽内の濃度が10<sup>-9</sup>, 3×10<sup>-9</sup>, 10<sup>-8</sup>, 3×10<sup>-8</sup>, 10<sup>-7</sup>, 3×10<sup>-7</sup>, 10<sup>-6</sup>, 3×10<sup>-6</sup>Mとなるようにヒト合成 NPY をマイクロシリンジで段階的に保生液内に投与し, 各標本における NPY の用量-反応曲線を求めた(図2)。得られた NPY の用量-反応

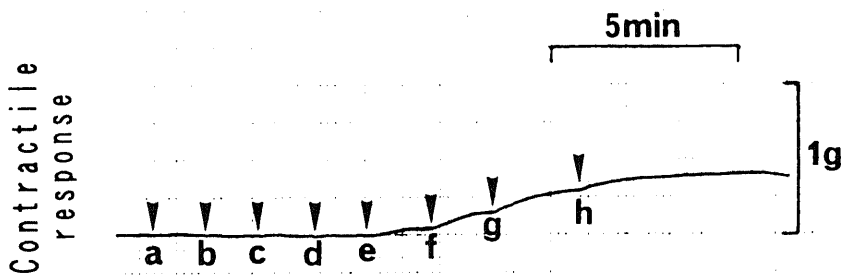


Fig. 2. Contractile response of cumulative addition of neuropeptide Y(NPY) on proximal portions of the canine coronary artery. NPY were added directly to the bath at arrows (a-h) so that the concentration of NPY in the bath would be 10<sup>-9</sup>M (a), 3×10<sup>-9</sup>M (b), 10<sup>-8</sup>M (c), 3×10<sup>-8</sup>M (d), 10<sup>-7</sup>M (e), 3×10<sup>-7</sup>M (f), 10<sup>-6</sup>M (g) and 3×10<sup>-6</sup>M (h), respectively.

曲線の比較を行い、NPY の冠動脈に対する作用の部位差および NPY の冠動脈に対する作用における内皮の関与を検討した。

NPY の用量-反応曲線を求めた後、内皮を温存した近位部標本でのみ引き続き同様な方法でフェニレフリン (phenylephrine, PHE),  $\text{PGF}_2\alpha$ 、セロトニン (5-hydroxytryptamine, 5HT) の用量-反応曲線 ( $10^{-9}$ ,  $3 \times 10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $3 \times 10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $3 \times 10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $3 \times 10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $3 \times 10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  M) を求めた。

#### IV. 実験 2 (PHE, 5HT, $\text{PGF}_2\alpha$ , 高カリウムによる冠動脈収縮に及ぼす NPY の影響の検討)

まず内皮を温存した近位部標本 (n=6) に PHE の投与を行い実験 1 と同様な方法で用量-反応曲線を求めた。60 分間静置後、臓器槽を灌流する保生液を

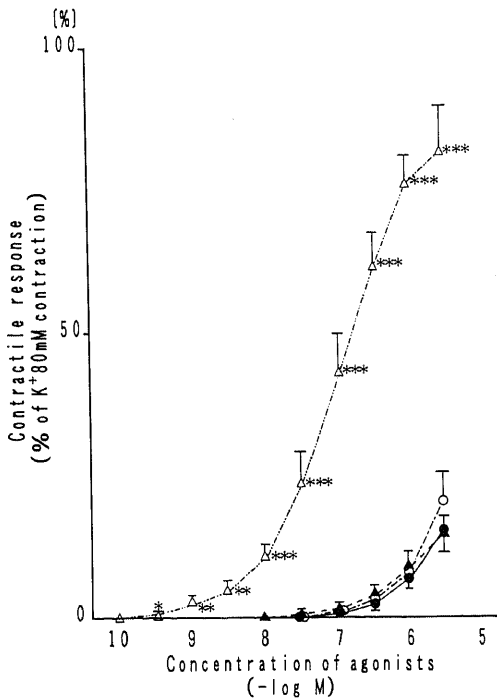


Fig. 3. Concentration-response curves for neuropeptide Y (NPY) and other vasoconstrictor substances in proximal portions of the left circumflex coronary artery. Contraction induced by 80 mM  $\text{K}^+$  were taken as 100%. Vertical bars represent S. E. M. (n=8). ●, NPY; ○, prostaglandin  $\text{F}_2\alpha$  ( $\text{PGF}_2\alpha$ ); △, 5-hydroxytryptamine (5HT); ▲, phenylephrine (PHE). \*,  $p < 0.05$  compared to contractions induced by NPY; \*\*,  $p < 0.01$  compared to contractions induced by NPY; \*\*\*,  $p < 0.001$  compared to contractions induced by NPY.

$10^{-8}$  M の NPY 入りに変更し、 $10^{-8}$  M の NPY の前処置20分後に再度 PHE の用量-反応曲線を求めた。次に正常の保生液に戻して60分間静置した後  $10^{-7}$  M の NPY 入りの保生液に変更した。 $10^{-7}$  M の NPY の前処置20分後にさらにもう一度 PHE の用量-反応曲線を求めた (実験 2-①)。同様な実験を 5HT (n=6, 実験 2-②),  $\text{PGF}_2\alpha$  (n=6, 実験 2-③), 80mM の高カリウム保生液 (n=6, 実験 2-④) でも施行した。えられた用量-反応曲線より小池ら<sup>11)</sup>の方法に従い pD2 値 (各々の最大反応の50%の反応を引き起こすのに必要な各薬物のモル濃度の自然対数を負にした値) を求めた。

また一部の標本において60分間隔で3回 PHE, 5HT,  $\text{PGF}_2\alpha$  の用量-反応曲線および 80mM の高カリウム保生液による収縮量を求め、これらの物質の用量-反応曲線が時間的に変わらなく再現性があることを確認した。

#### V. 実験 3 (NPY の間接的冠動脈収縮作用における内皮の関与の検討)

同一のイヌ (n=7) により近位部標本を二個採取し、一つの標本は実験 1 と同様な方法で内皮の機械的剝離を行い、一つの標本は内皮を温存した。Ach により内皮機能の有無を確認した後、実験 1 と同様な方法で両標本での PHE の用量-反応曲線を求めた。60分間静置後臓器槽を灌流する保生液を  $3 \times 10^{-8}$  M の NPY 入りに変更し、 $3 \times 10^{-8}$  M の NPY の前処置20分間後に再度 PHE の用量-反応曲線を求めた。えられた両標本の用量-反応曲線の比較を行い、PHE の作用に対する NPY 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

えられた成績はすべて平均値±標準誤差として表示した。各群間の平均値の差の検定は Student の t 検定または一元配置による分散分析後、Scheffe の多重比較を用いて行い、危険率が0.05以下をもって有意差ありと判定した。

### 成 績

#### I. NPY の直接の冠動脈収縮作用

実験 1 の内皮を温存した近位部標本において、えられた NPY の用量-反応曲線を他の血管収縮物質である 5HT,  $\text{PGF}_2\alpha$ , PHE と比較検討した。標本は NPY により用量依存性に収縮反応を示した (図 3)。 $\text{PGF}_2\alpha$ , PHE も用量依存性に収縮反応を示した。5HT は  $10^{-5}$  M 以上の濃度で拡張反応を示す標本もあったので  $3 \times 10^{-6}$  M 以下の濃度で、各種血管作動物

質の収縮作用を比較した。イヌ冠動脈に対する NPY の収縮作用は  $3 \times 10^{-10}$  から  $3 \times 10^{-6}$  M までの濃度においては 5HT より有意に小さく、 $3 \times 10^{-6}$  M の濃度における NPY による収縮量は 5HT の収縮量の 18.3% にすぎなかった。また NPY と  $\text{PGF}_2\alpha$  および  $\alpha_1$  受容体刺激剤である PHE とは各濃度における収縮量に差を認めなかった (図 3)。

## II. NPY の直接の冠動脈収縮作用の部位差の検討

実験 1 の内皮を温存した近位部標本と末梢部標本で NPY の用量-反応曲線を比較し、NPY のイヌ冠動脈に対する作用の部位差を検討した。80mM の高カリウムによる収縮量は近位部標本で  $1,111 \pm 70$  mg, 末梢部標本で  $685 \pm 96$  mg であり有意差 ( $p < 0.01$ ) を認めた。これは標本の大きさの差によるものと思われた。

両標本ともに NPY により用量依存性に収縮反応を示したが、収縮反応を認める濃度の閾値は末梢部標本で  $10^{-7}$  M であり、近位部標本の  $3 \times 10^{-7}$  M に比べ低

濃度であった (図 4)。

NPY による標本の収縮量は、近位部標本と末梢部標本とで標本の大きさが異なるため収縮量の絶対値では比較できないので、80mM の高カリウムによる収縮量を 100% としてこれに対する百分率で比較検討した。これによれば近位部標本と末梢部標本の収縮量は  $3 \times 10^{-7}$  M の NPY においてそれぞれ  $1.8 \pm 0.5\%$ ,  $9.7 \pm 2.9\%$ ,  $10^{-6}$  M において  $6.3 \pm 0.9\%$ ,  $18.0 \pm 4.0\%$ ,  $3 \times 10^{-6}$  M において  $14.9 \pm 2.2\%$ ,  $29.6 \pm 4.9\%$  で、これらの濃度における NPY による収縮量は末梢部標本で近位部標本に比べ有意に ( $p < 0.05$ ) 大きかった (図 4)。NPY の冠動脈収縮作用は近位部に比べ末梢部に優位であった。

## III. NPY の直接の冠動脈収縮作用における内皮の関与の検討

実験 1 の内皮を温存した近位部標本と内皮を剥離した近位部標本で、NPY の用量-反応曲線の比較を行い、NPY の直接の冠動脈収縮作用における内皮の関与を検討した。内皮を温存した標本と剥離した標本の 80mM の高カリウムによる収縮量はそれぞれ  $1,111 \pm$

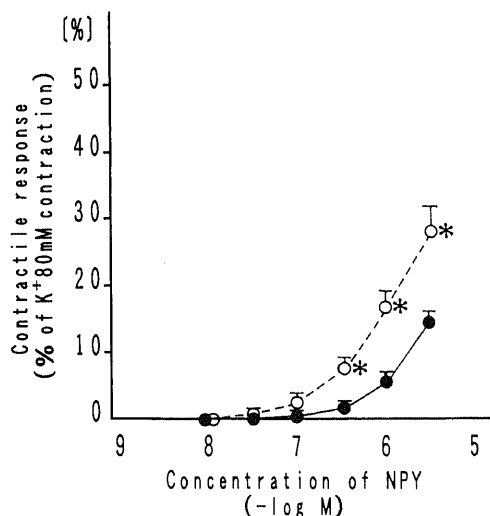


Fig. 4. Concentration-response curves for neuropeptide Y (NPY) in proximal and distal portions of the canine coronary artery. Contractions induced by NPY were presented as values relative to those induced by 80 mM  $\text{K}^+$ ; mean absolute values in strips from proximal and distal portions were  $1,111 \pm 70$  and  $685 \pm 96$  mg ( $n=8$ ), respectively, the difference being statistically significant ( $p < 0.01$ ). Vertical bars represent S. E. M. ( $n=8$ ). ○, strips from distal portions of the canine coronary artery; ●, strips from proximal portions of the canine coronary artery. \*,  $p < 0.05$  compared to contractions induced by NPY in strips from proximal portions.

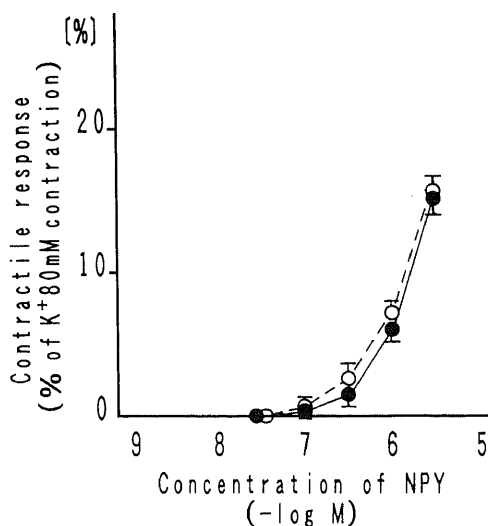


Fig. 5. Concentration-response curves for neuropeptide Y (NPY) in proximal portions of the canine coronary artery with and without endothelium. Contractions induced by NPY were presented as values relative to those induced by 80 mM  $\text{K}^+$ ; mean absolute values in strips with and without endothelium were  $1,111 \pm 70$  and  $968 \pm 77$  mg, respectively, which was not significantly different. ●, strips with endothelium; ○, strips without endothelium. Vertical bars represent S. E. M. ( $n=8$ ).

70mg,  $968 \pm 77$ mg で有意差を認めなかった。よってこの内皮の剥離作業による冠動脈平滑筋の損傷は無視できるものとした。

NPY の各濃度における収縮量は二つの標本の間で有意差はなく (図5), NPY の直接の冠動脈収縮作用においては内皮の関与は認められなかった。

#### IV. PHE, 5HT, $\text{PGF}_2\alpha$ , 高カリウムによる冠動脈収縮に及ぼす NPY の影響の検討

実験2において内皮を温存した近位部標本で、 $10^{-8}\text{M}$  および  $10^{-7}\text{M}$  の NPY の20分間前投与下に PHE, 5HT,  $\text{PGF}_2\alpha$  の投与を行い、用量-反応曲線を求め、NPY がこれらの血管作動物質の作用をどう修飾するかを検討した。

##### 1. PHE の冠動脈収縮作用に及ぼす NPY の影響の検討 (実験2-①)

えられた収縮量は NPY 非存在下での  $10^{-4}\text{M}$  の PHE による収縮量を100%として、これに対する百分率で表した。 $10^{-6}\text{M}$  から  $10^{-5}\text{M}$  までの濃度における PHE による収縮は  $10^{-8}\text{M}$  の NPY の前投与により

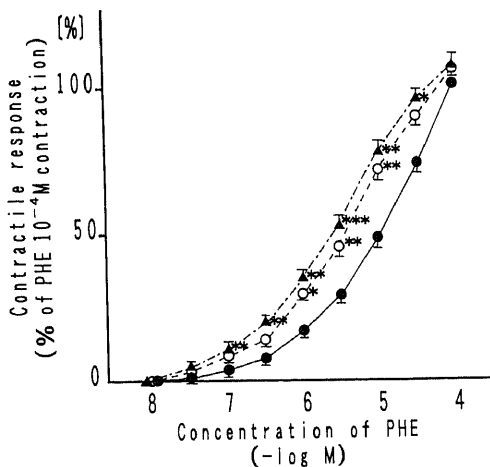


Fig. 6. Concentration-response curves for phenylephrine (PHE) in the absence and the presence of neuropeptide Y (NPY). Contractions induced by PHE were presented as values relative to those induced by  $10^{-4}\text{M}$  PHE in control media without NPY. Vertical bars represent S. E. M. ( $n=6$ ). ●, PHE without NPY; ○, PHE with  $10^{-8}\text{M}$  NPY; ▲, PHE with  $10^{-7}\text{M}$  NPY; \*,  $p < 0.05$  compared to contractions induced by PHE in control media; \*\*,  $p < 0.01$  compared to contractions induced by PHE in control media; \*\*\*,  $p < 0.001$  compared to contractions induced by PHE in control media.

有意に増強した。また  $10^{-7}\text{M}$  の NPY の前投与によっては  $10^{-7}\text{M}$  から  $3 \times 10^{-5}\text{M}$  までの濃度における PHE の収縮が増強された (図6)。pD2 値は  $10^{-8}\text{M}$  の NPY の前投与下で  $5.30 \pm 0.06$  ( $p < 0.05$ ),  $10^{-7}\text{M}$  の NPY の前投与下で  $5.51 \pm 0.04$  ( $p < 0.01$ ) で、NPY 非存在下での  $4.99 \pm 0.08$  に比べ有意に大きく (表1), PHE の用量-反応曲線は比較的低濃度の NPY の存在により左方に移動した (図6)。

##### 2. 5HT の冠動脈収縮作用に及ぼす NPY の影響の検討 (実験2-②)

えられた収縮量は NPY 非存在下での  $3 \times 10^{-6}\text{M}$  の 5HT による収縮量を100%として、これに対する百分率で表した。 $3 \times 10^{-7}\text{M}$  の 5HT による収縮は  $10^{-8}\text{M}$  の NPY の前投与により有意に ( $p < 0.05$ ) 増強した。 $10^{-7}\text{M}$  の NPY によっては  $10^{-7}\text{M}$  から  $3 \times 10^{-6}\text{M}$  までの濃度における 5HT による収縮量が有意に ( $p < 0.01$ ) 増強された (図7)。また  $10^{-7}\text{M}$  の

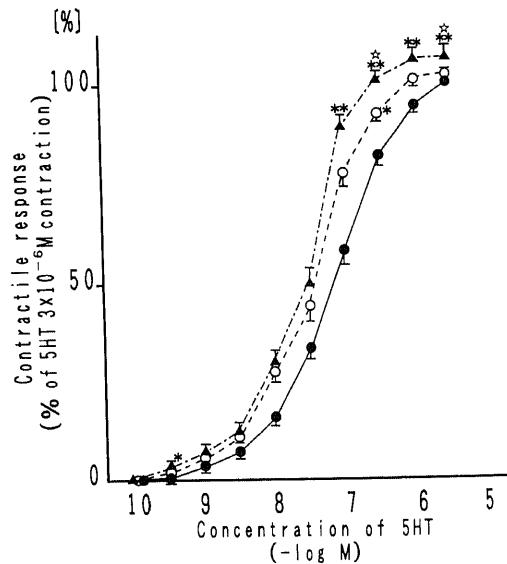


Fig. 7. Concentration-response curves for 5-hydroxytryptamine (5HT) in the absence and the presence of NPY. Contractions induced by 5HT were presented as values relative to those induced by  $3 \times 10^{-6}\text{M}$  5HT in control media without NPY. Vertical bars represent S. E. M. ( $n=6$ ). ●, 5HT without NPY; ○, 5HT with  $10^{-8}\text{M}$  NPY; ▲, 5HT with  $10^{-7}\text{M}$  NPY. \*,  $p < 0.05$  compared to contractions induced by 5HT in control media; \*\*,  $p < 0.01$  compared to contractions induced by 5HT in control media; \*\*\*,  $p < 0.001$  compared to contractions induced by 5HT in control media; ☆,  $p < 0.05$  compared to contractions induced by 5HT in media with  $10^{-8}\text{M}$  NPY.

NPY の前投与下における  $3 \times 10^{-7} \text{M}$ , および  $3 \times 10^{-8} \text{M}$  の 5HT による収縮量は  $10^{-8} \text{M}$  の NPY の前投与下でのそれに比べ有意に ( $p < 0.05$ ) 大であった.  $\text{pD}_2$  値は  $10^{-8} \text{M}$  の NPY の前投与下で  $7.43 \pm 0.11$ ,  $10^{-7} \text{M}$  の NPY の前投与下で  $7.52 \pm 0.10$ , NPY 非存在下で  $7.15 \pm 0.08$  であった. 特に  $10^{-7} \text{M}$  の NPY の前投与下での  $\text{pD}_2$  値は NPY 非存在下でのそれに比べ有意に ( $p < 0.05$ ) 大きかった (表 1).

以上 PHE および 5HT の収縮反応は,  $10^{-8} \text{M}$  および  $10^{-7} \text{M}$  の比較的低濃度の NPY により増強された

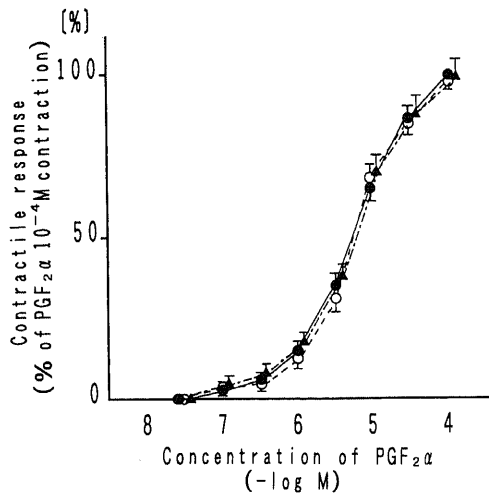


Fig. 8. Concentration-response curves for prostaglandin  $F_2\alpha$  ( $\text{PGF}_2\alpha$ ) in the absence and the presence of NPY. Contractions induced by  $\text{PGF}_2\alpha$  were presented as values relative to those induced by  $10^{-4} \text{M}$   $\text{PGF}_2\alpha$  in control media without NPY. Vertical bars represent S. E. M. ( $n=6$ ). ●,  $\text{PGF}_2\alpha$  without NPY; ○,  $\text{PGF}_2\alpha$  with  $10^{-8} \text{M}$  NPY; ▲,  $\text{PGF}_2\alpha$  with  $10^{-7} \text{M}$  NPY.

が,  $10^{-8} \text{M}$  の NPY は直接の血管収縮作用を認めず,  $10^{-7} \text{M}$  でも直接の血管収縮作用はごくわずかであった (図 3).

3.  $\text{PGF}_2\alpha$  の冠動脈収縮作用に及ぼす NPY の影響の検討 (実験 2-③)

えられた収縮量は NPY 非存在下での  $10^{-4} \text{M}$  の  $\text{PGF}_2\alpha$  による収縮量を 100% として, これに対する百分率で表した.  $\text{PGF}_2\alpha$  の用量-反応曲線は  $10^{-8} \text{M}$  および  $10^{-7} \text{M}$  の NPY により影響を受けず (図 8),  $\text{pD}_2$  値は NPY 非存在下で  $5.24 \pm 0.14$ ,  $10^{-8} \text{M}$  の NPY の前投与下で  $5.24 \pm 0.12$ ,  $10^{-7} \text{M}$  の NPY の前投与下で  $5.25 \pm 0.10$  で有意差を認めなかった (表 1).  $\text{PGF}_2\alpha$  の冠動脈収縮作用は NPY の影響を受けなかった.

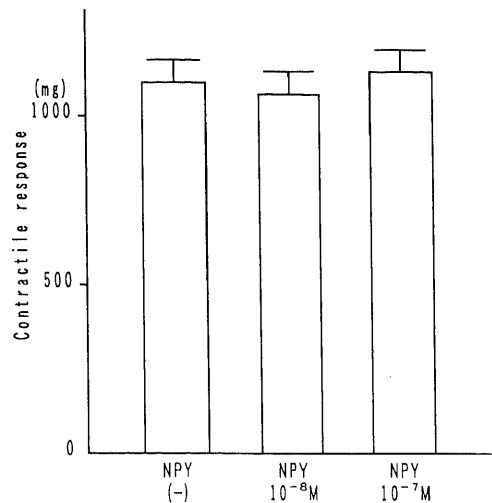


Fig. 9. Contractions induced by  $80 \text{mM}$   $\text{K}^+$  in the absence and the presence of NPY. Vertical bars represent S. E. M. ( $n=6$ ).

Table 1.  $\text{pD}_2$  values for PHE, 5HT and  $\text{PGF}_2\alpha$  in the absence and the presence of NPY.

	$\text{pD}_2$ control	$\text{pD}_2$ NPY $10^{-8} \text{M}$	$\text{pD}_2$ NPY $10^{-7} \text{M}$
PHE	$4.99 \pm 0.08$	$5.30 \pm 0.06^*$	$5.51 \pm 0.04^{**}$
5HT	$7.15 \pm 0.08$	$7.43 \pm 0.11$	$7.52 \pm 0.10^*$
$\text{PGF}_2\alpha$	$5.24 \pm 0.14$	$5.24 \pm 0.12$	$5.25 \pm 0.10$

Values are mean  $\pm$  S.E.M. NPY, neuropeptide Y; PHE, phenylephrine; 5HT, 5-hydroxytryptamine;  $\text{PGF}_2\alpha$ , prostaglandin  $F_2\alpha$ : \*,  $p < 0.05$  compared to  $\text{pD}_2$  values in control media; \*\*,  $p < 0.01$  compared to  $\text{pD}_2$  values in control media.



4. 80mMの高カリウムの冠動脈収縮作用に及ぼす NPY の影響の検討 (実験 2-④)

NPY 非存在下,  $10^{-8}$ M の NPY の前投与下および  $10^{-7}$ M の NPY の前投与下での 80mM の高カリウムによる冠動脈近位部標本の収縮量はそれぞれ  $1065 \pm 96$ mg,  $1048 \pm 107$ mg,  $1082 \pm 113$ mg で有意差を認めなかった (図 9). その標本の持つ最大収縮と考えられる 80mM の高カリウムによる収縮は NPY の影響を受けなかった.

#### V. NPY の間接的冠動脈収縮作用における内皮の関与の検討

えられた収縮量は NPY 非存在下での  $10^{-4}$ M の PHE の収縮量を 100% として, これに対する百分率で表した. 実験 3 においても 80mM の高カリウムによる収縮量は内皮を温存した標本で  $953 \pm 53$ mg, 内皮を

剝離した標本で  $910 \pm 87$ mg で, 両者間に有意差を認めなかった.

NPY 非存在下での PHE の各濃度における収縮量は内皮を温存した標本と剝離した標本の間で有意差はなく (図 10), PHE の冠動脈収縮作用は内皮の有無に影響を受けなかった.

実験 2 と同様に両者ともに PHE による収縮は  $3 \times 10^{-8}$ M の NPY の前投与により増強され, 内皮を温存した標本では  $3 \times 10^{-8}$ M から  $3 \times 10^{-5}$ M までの濃度における PHE による収縮が有意に増強され, 内皮を剝離した標本では  $10^{-7}$ M から  $3 \times 10^{-5}$ M までの濃度における PHE による収縮が有意に増強された (図 10).  $pD_2$  値は内皮を温存した標本で  $4.93 \pm 0.10$  から  $5.29 \pm 0.09$  ( $p < 0.001$ ) に, 内皮を剝離した標本で  $4.99 \pm 0.05$  から  $5.38 \pm 0.07$  ( $p < 0.001$ ) に増強された

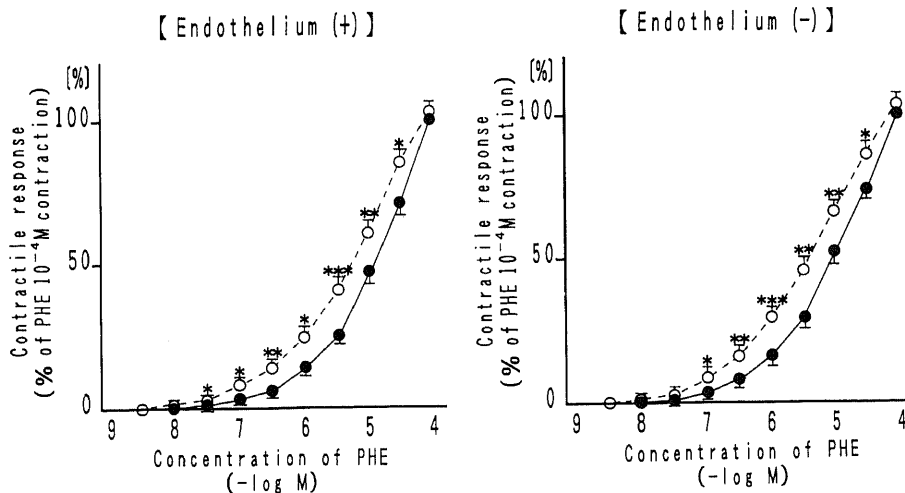


Fig. 10. Potentiating effects of NPY on PHE-induced constriction of the canine coronary artery with and without endothelium. Vertical bars represent S. E. M. ( $n=7$ ). ●, PHE without NPY; ○, PHE with  $3 \times 10^{-8}$ M NPY. \*,  $p < 0.05$  compared to contractions induced by PHE in control media; \*\*,  $p < 0.01$  compared to contractions induced by PHE in control media; \*\*\*,  $p < 0.001$  compared to contractions induced by PHE in control media.

Table 2.  $pD_2$  values for PHE in strips with and without endothelium in the absence and the presence of NPY.

	$pD_2$ control	$pD_2$ NPY $3 \times 10^{-8}$ M	Shifts of concentration-response curves
Endothelium(+)	$4.93 \pm 0.10$	$5.29 \pm 0.09^*$	$2.35 \pm 0.17$
Endothelium(-)	$4.99 \pm 0.05$	$5.38 \pm 0.07^*$	$2.49 \pm 0.22$

Values are mean  $\pm$  S.E.M. NPY, neuropeptide Y; PHE, phenylephrine; \*,  $p < 0.001$  compared to  $pD_2$  values in control media.

(表2). pD2 値より求めた PHE の収縮作用の NPY による増強度は内皮を温存した標本で  $2.35 \pm 0.17$  倍、内皮を剝離した標本で  $2.49 \pm 0.22$  倍で両者の間に有意差を認めなかった(表2). NPY の PHE の冠動脈収縮作用に対する増強作用は内皮の有無に影響を受けなかった.

### 考 察

NPY は C 末端にチロシンアミド基、N 末端にチロシン残基を含む 36 個のアミノ酸より構成されるペプチドで、豚ペプチドファミリーに属する<sup>12)</sup>. ヒトの褐色細胞腫から分離された NPY のメッセンジャー RNA の解析によれば<sup>12)</sup>, NPY の前駆体は 97 個のアミノ酸よりなり、これらは少なくとも 2 カ所でプロセッシングを受けて、アミノ酸 28 個のシグナルペプチド、アミノ酸 36 個の NPY、アミノ酸 30 個の C 末端ペプチドが生成される. NPY は中枢神経、副腎髄質などに認められるが<sup>9)</sup>, 中枢神経では視床下部などに存在<sup>10)</sup>し、血管運動中枢などに作用を及ぼしているとされている. ラットでは NPY の脳室内投与により徐脈と低血圧が誘発される<sup>15)16)</sup>. また各種臓器の末梢血管の周囲にも密な NPY 様の免疫活性を持った神経が認められる<sup>30)</sup>. これは静脈周囲よりも動脈周囲に高濃度に存在する<sup>17)</sup>. この血管周囲の NPY 様免疫活性を持つ神経の走行が交感神経の分布とほとんど同じであり<sup>3)</sup>, 外科的処置やノルエピネフリン (norepinephrine, NE) を枯渇させるレセルピンの処理により NPY 含量が減少する<sup>18)~20)</sup>ことより、NPY は交感神経末端に NE と共存していると思われる. Rudehill ら<sup>21)</sup>はブタの心臓で星状神経節刺激により冠静脈洞中の NPY 濃度が上昇することを報告し、交感神経刺激により NPY が遊離されることを推測した. Potter ら<sup>22)</sup>はウシの輪精管の交感神経末端を用いて、NPY がアドレナリン作動性神経終末の大顆粒小胞内に貯蔵され、神経刺激により NE とともに遊離されることを証明した.

摘出血管標本において NPY は各種の血管を収縮させるが、その収縮の強さは動物種や血管の部位によりまちまちである. NPY による収縮作用は今回検討したイヌ冠動脈においては、ネコの脳動脈<sup>23)</sup>で報告されたよりも小さかった. また他の血管作動物質と比べても 5HT よりはるかに小さかった. また同じ動脈でも近位部と末梢部で異なり、今回検討したイヌ冠動脈では NPY による収縮作用は末梢部で近位部に比べ強いという結果が得られた. カテコラミンに対する反応も近位部と末梢部で異なり、これは末梢ほど  $\alpha$  受容体の分布密度が  $\beta$  受容体のそれに比べ小さいためとされて

いる<sup>24)~26)</sup>. NPY の受容体の分布密度も導管血管においてはより末梢において密であると推測された.

NPY の直接の血管収縮作用は  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$ , 5HT などの各種受容体遮断剤により抑制されない<sup>27)~29)</sup>. また細胞外液のカルシウム濃度を上昇させても、カルシウムを除外しても NPY の収縮は変わらず、NPY による収縮は細胞外のカルシウム濃度に影響を受けない<sup>30)31)</sup>. カルシウム拮抗剤により収縮は抑制される<sup>28)30)</sup>が、カルシウム除去液中でもカルシウム拮抗剤により収縮は正常保生液中と同程度に抑制される. カルシウム拮抗剤は細胞外のカルシウムの流入抑制による以外の機序で NPY の収縮を抑制しており<sup>30)31)</sup>, NPY の直接の収縮作用には血管平滑筋細胞内へのカルシウムの流入は必ずしも必要ではないとされている. ウサギの肺動脈からの培養平滑筋細胞を用いた実験では<sup>32)</sup>細胞内カルシウム濃度も NPY により変化せず、NPY による収縮は細胞外だけではなく細胞内のカルシウム濃度の変化も介さないとと思われる. ネコの脳動脈<sup>23)</sup>やウサギの肺動脈<sup>32)</sup>においては NPY が adenosine 3', 5'-cyclic monophosphate (cAMP) の産生を抑制することが報告されており、cAMP の産生低下を介して NPY の収縮作用が発現していると思われる.

また NPY の血管収縮作用における重要な機序の一つは、NPY が他の血管作動物質の収縮作用を増強することである. NE<sup>33)~36)</sup>やヒスタミン<sup>33)35)</sup>の収縮作用を増強し、神経電気刺激による収縮も増強する<sup>36)37)</sup>. またアデノシン、Ach, NE の  $\beta$  作用による血管拡張も NPY は抑制する<sup>38)</sup>. 我々の検討の結果では、NPY はイヌの冠動脈においても  $\alpha_1$  受容体刺激剤である PHE の作用のみならず、血小板から放出される重要な血管作動性アミンである 5HT の作用も増強させた. Neild<sup>38)</sup>もラットの尾動脈で  $3 \times 10^{-8}$  M の NPY は 5HT による収縮を増強したとしている. NPY は直接の冠動脈収縮作用は比較的弱い、他の血管作動物質の作用を修飾し、冠血管のトーンスを調節していると思われる.

このように NPY が複数の異なる血管作動物質の冠動脈収縮作用を増強することは、この NPY の増強作用が特異的なレセプターのレベルを越えていることを意味する. この機序に関して Daly ら<sup>38)</sup>はウサギの中心耳動脈摘出標本の電気刺激による収縮は NPY により増強されるが、これは内皮の機械的剝離により消失したと報告しており、NPY は EDCF などを介して血管収縮作用を増強していると推測している. そこで我々は PHE の冠動脈収縮作用に及ぼす NPY の増強作用における内皮の関与を検討したが、結果は内皮の

有無に影響を受けず EDCF の関与は考えにくいと思われた。また NPY の直接の冠動脈収縮作用も内皮の有無に影響を受けなかった。NPY のような血管外膜の神経末端から遊離され外側から平滑筋に作用する物質は、その機序において内皮の関与を必要とするとは考えにくい。また今回の検討の結果、PHE による収縮も内皮の影響を受けなかった。これは NE によるイヌ冠動脈の内皮からの EDRF の遊離は  $\alpha_1$  受容体ではなく  $\alpha_2$  受容体を介するものであるという Angus ら<sup>39</sup> の報告と合致する。

一方 Neild<sup>30</sup> は NPY がラットの尾動脈の平滑筋を脱分極させることを報告し、NPY は血管平滑筋を脱分極することにより、多種類の血管収縮物質の作用を増強させることができると報告している<sup>40,41</sup>。NPY はナトリウム-カリウムポンプを抑制し膜の脱分極を生じさせ、これにより他の血管収縮物質の収縮を増強するとしている。また前述した NPY の cAMP の産生抑制作用も、NPY の多種類の血管収縮物質の収縮作用の増強作用や cAMP を介する血管拡張の抑制作用を説明できると思われる<sup>39</sup>。しかし今回の結果では  $\text{PGF}_2\alpha$  の収縮作用は NPY により増強されなかった。Edvinsson ら<sup>39</sup> のウサギの血管を用いた検討でも、胃大網動脈や大腿動脈では  $\text{PGF}_2\alpha$  の作用は増強されなかった。また中林ら<sup>42</sup> もラットの胸部大動脈では、NPY は NE の作用は増強したが  $\text{PGF}_2\alpha$  の収縮は増強しなかったとしている。また NE の収縮の増強作用も血管の部位により増強する部位と増強しない部位があり<sup>39</sup>、必ずしもこの2つの機序では説明がつかず、動物種や血管の部位により機序が異なる可能性が考えられる。

今日冠攣縮は異型狭心症<sup>43</sup>だけでなく、労作性狭心症や心筋梗塞などを含めた多くの虚血性心疾患の発症要因の一つであると考えられ<sup>44</sup>、そ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。冠動脈の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、種々の収縮性の因子と拡張性の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。従って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シフトすることによっておこるとも考えられる。

異型狭心症の患者においては、寒冷刺激や身体ストレス、情動ストレスなどの内因性カテコラミンの遊離刺激で冠攣縮が誘発される<sup>45</sup>。また交感神経系の神経伝達物質であるカテコラミン<sup>46,47</sup>の外部からの投与に

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<sup>48</sup>。しかし異型狭心症の患者においては冠攣縮発作中に全身の交感神経機能の亢進を認めず<sup>49</sup>、また大動脈-冠静脈洞のカテコラミンの濃度較差も上昇せず心交感神経活動の亢進も認められなかった<sup>50</sup>ことより、むしろ冠動脈の交感神経受容体側の感受性の亢進とも推測されている。しかしまた異型狭心症の患者においてはカテコラミンだけではなくアセチルコリン<sup>51</sup>、ヒスタミン<sup>52</sup>、エルゴノビン<sup>53</sup>など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、および  $\alpha$  受容体遮断剤<sup>54</sup>や 5HT 受容体遮断剤<sup>55</sup>などの特定の血管作動物質の受容体遮断剤や拮抗剤の投与によっては冠攣縮の発作は抑制されないことより、特定の血管作動物質に対する受容体の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も推察される。

前述のごとく NPY は冠動脈周囲の交感神経末端に NE と共存し<sup>3</sup>交感神経刺激により NE とともに遊離され<sup>22</sup>、交感神経活動と深く関連している。NPY は NE の血管収縮作用の増強作用をもち、今回の結果でも、 $\alpha_1$  受容体刺激剤である PHE の作用を増強し、そのみならず 5HT の収縮作用も増強させ、NPY は数多く血管作動物質の収縮作用を非特異的に増強していると思われた。また NPY は交感神経終末からの NE の遊離を抑制する作用もあり<sup>56</sup>、NPY はカテコラミンの分泌および作用を調節していると思われる。従って NPY の異常が生じればカテコラミンを含む多くの血管作動物質の血管収縮刺激に対する感受性が亢進し、血管の過剰収縮である冠攣縮が生じる可能性もあると推察される。

また前述したごとく NPY の冠動脈収縮作用は、各種血管作動物質の受容体遮断剤の投与によっては抑制されず、冠攣縮を抑制するカルシウム拮抗剤によって収縮作用は抑制され、冠攣縮の特徴と一致する。実際ブタ<sup>23</sup>やイヌ<sup>27,57</sup>の冠動脈内に NPY を投与すると持続的な冠血管収縮作用を認め、これに伴い心筋虚血を示す心電図変化も認める。これらの点よりヒトの冠攣縮への関与の可能性も推察されている<sup>6</sup>。Clarke ら<sup>58</sup>は冠動脈造影所見が正常で原因不明の胸痛患者に NPY の冠動脈内投与を行い、50%の症例に胸痛および虚血性の心電図変化を認めた。しかしこの時の冠動脈造影では末梢の細い動脈での閉塞所見を認め、異型狭心症で認められる太い近位部の冠動脈の閉塞とは異なっていた。我々の今回の結果も NPY の血管収縮作用は冠動脈では末梢部に優位であり、作用部位からは NPY

がいわゆる狭義の冠攣縮の原因物質であるとは考えにくいようであった。

また血管内皮細胞の損傷あるいは機能障害が冠攣縮の要因のひとつであるという説があるが<sup>60)</sup>、前述したごとく NPY の直接および間接の冠動脈収縮作用は内皮の有無に影響をうけず、この点からも NPY の冠攣縮への関与は積極的に支持できない結果であった。

しかしシンドローム X や冠微小血管症のような太い近位部の冠動脈には器質狭窄がなく、冠攣縮も誘発されない虚血性心疾患では、冠動脈造影上確認できないような細い冠動脈に攣縮が生じている可能性が指摘されており、このような症例の中で自律神経の関与が大きいと思われるものの病態に NPY が関与している可能性が強く疑われる。

また NPY はレニンの分泌を抑制し<sup>60)</sup>、心房利尿ホルモンの分泌を促進する<sup>61)</sup>ことが報告されており、NPY は血管作動性アミンだけではなく体液量や血圧を調節する他のホルモンの分泌も修飾している。実際心不全患者<sup>62)</sup>や食塩負荷ラット<sup>63)</sup>において血中 NPY 濃度の上昇が認められており、NPY は虚血性心疾患のみならず広く循環器疾患の病態に関与していると思われる。

## 結 論

NPY の冠動脈に対する作用を明らかにするために、イヌ摘出冠動脈標本を用いて NPY の直接の冠動脈収縮作用およびその部位差、他の血管作動物質 (PHE, 5HT, PGF<sub>2α</sub>) の冠動脈収縮作用に及ぼす NPY の修飾作用 (間接の冠動脈収縮作用)、およびこの直接、間接の NPY の冠動脈収縮作用における内皮の関与を検討し、以下の結論を得た。

1. NPY は用量依存性に冠動脈標本を収縮させた。
2. NPY の直接の冠動脈収縮作用は近位部より末梢部に優位であった。
3. NPY の直接の冠動脈収縮作用は 5HT に比べ弱く、PHE, PGF<sub>2α</sub> とほぼ同等であった。
4. 直接の冠動脈収縮作用の出現しない低濃度の NPY は 5HT, PHE の冠動脈収縮作用を増強した。
5. NPY の直接の冠動脈収縮作用は内皮の有無に影響を受けなかった。
6. NPY の PHE の冠動脈収縮作用に対する増強作用は内皮の有無に影響を受けなかった。

NPY は直接の冠動脈収縮作用は比較的弱い、他の血管作動物質の作用を修飾し、冠血管のトーンズの調節に重要な役割を果たしているものと思われた。また NPY のこの直接および間接の冠動脈収縮作用にお

ける内皮の関与は乏しいものと思われた。

## 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2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2内科清水賢巳講師および金沢大学第2内科循環器班の諸先生方に心から感謝いたします。また血管摘出標本作製を御指導いただいた信州大学第1生理学教室の諸先生方に感謝いたします。

なお本論文の要旨は第53回および第54回日本循環器学会総会、第26回臨床生理学学会、第30回脈管学会総会において発表した。

## 文 献

- 1) Tatemoto, K., Carlquist, M. & Mutt, V.: Neuropeptide Y-a novel brain peptide with structural similarities to peptide YY and pancreatic polypeptide. *Nature*, **296**, 659-660 (1982).
- 2) Tatemoto, K.: Neuropeptide Y: Complete amino acid sequence of the brain peptide. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **79**, 5485-5489 (1982).
- 3) Lundberg, J. M., Terenius, L., Hokfelt, T., Martling, C. R., Tatemoto, K., Mutt, V., Polak, J., Bloom, S. & Goldstein, M.: Neuropeptide Y (NPY)-like immunoreactivity in peripheral noradrenergic neurons and effects of NPY on sympathetic function. *Acta. Physiol. Scand.*, **116**, 477-480 (1982).
- 4) Lundberg, J. M., Terenius, L., Hokfelt, T. & Goldstein, M.: High levels of neuropeptide Y in peripheral noradrenergic neurons in various mammals including man. *Neurosci. lett.*, **42**, 167-172 (1983).
- 5) Gu, J., Polak, J. M., Adrian, T. E., Allen, J. M., Tatemoto, K. & Bloom, S. R.: Neuropeptide tyrosine (NPY)- a major cardiac neuropeptide. *Lancet*, **1**, 1008-1010 (1983).
- 6) Hayashi, M., Aizawa, Y., Satoh, M., Suzuki, K. & Shibata, A.: Effect of nifedipine on neuropeptide Y-induced coronary vasoconstriction in anesthetized dogs. *Jpn. Heart J.*, **27**, 251-257 (1986).
- 7) 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).
- 8) 大橋俊夫, 福嶋孝義, 東 健彦: 血管壁平滑筋の

機能的走行に対する生理学的解析. I: 実験. 心臓, 11, 1177-1183 (1979).

- 9) **Caplan, B. A., Gerrity, R. G. & Schwartz, C. J.:** Endothelial cell morphology in focal areas of in vivo Evans Blue uptake in the young pig aorta. I. Quantitative light microscopic findings. *Exp. Mol. Pathol.*, **21**, 102-117 (1974).
- 10) **Cocks, T. M. & Angus, J. A.:** Endothelium-dependent relaxation of coronary arteries by noradrenaline and serotonin. *Nature*, **305**, 627-630 (1983).
- 11) 小池勝夫, 高柳一成: 用量作用曲線の解析. 平滑筋の薬物反応 (浦川紀元, 高柳一成, 砂野 哲, 唐木英明編), 第一版, 247-259 頁, 文永堂, 東京, 1986.
- 12) **Minth, C. D., Bloom, S. R., Polak, J. M. & Dixon, J. E.:** Cloning, characterization, and DNA sequence of a human cDNA encoding neuropeptide tyrosine. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **81**, 4577-4581 (1984).
- 13) **Allen, Y. S., Adrian, T. E., Allen, J. M., Tatemoto, K., Crow, T. J., Bloom, S. R. & Polak, J. M.:** Neuropeptide Y distribution in the rat brain. *Science*, **221**, 877-879 (1983).
- 14) **Everitt, B. J., Hokfelt, T., Terenius, L., Tatemoto, K. & Mutt, V.:** Differential co-existence of neuropeptide Y (NPY)-like immunoreactivity with catecholamines in the central nervous system of the rat. *Neuroscience*, **11**, 443-462 (1984).
- 15) **Fuxe, K., Agnati, L. F., Harfstrand, A., Zini, I., Tatemoto, K., Pich, E. M., Hokfelt, T., Mutt, V. & Terenius, L.:** Central administration of neuropeptide Y induces hypotension, bradypnea, and EEG synchronization in the rat. *Acta. Physiol. Scand.*, **118**, 189-192 (1983).
- 16) **Harfstrand, A., Fuxe, K., Agnati, L. F., Eneroth, P., Zini, I., Zoli, M., Andersson, K., Euler, G., Terenius, L., Mutt, V. & Goldstein, M.:** Studies on neuropeptide Y-catecholamine interactions in the hypothalamus and in the forebrain of the male rat. Relationship to neuroendocrine function. *Neurochem. Int.*, **8**, 355-376 (1986).
- 17) **Uddman, R., Ekblad, E., Edvinsson, L. Hakanson, R. & Sundler, F.:** Neuropeptide Y-like immunoreactivity in perivascular nerve

fibres of the guinea-pig. *Regul. Pept.*, **10**, 243-257 (1985).

- 18) **Lundberg, L. M., Saria, A., Franco-Cereceda, A., Hokfelt, T., Terenius, L. & Goldstein, M.:** Differential effects of reserpine and 6-hydroxydopamine on neuropeptide Y and noradrenaline in peripheral neurons. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **328**, 331-340 (1985).
- 19) **Allen, J. M., Polak, J. M., Rodrigo, J., Darcy, K. & Bloom, S. R.:** Localisation of neuropeptide Y in nerves of the rat cardiovascular system and the effect of 6-hydroxydopamine. *Cardiovasc. Res.*, **19**, 570-577 (1985).
- 20) **Morris, J. L., Murphy, R., Furness, J. B. & Costa, M.:** Partial depletion of neuropeptide Y from noradrenergic perivascular and cardiac axons by 6-hydroxydopamine and reserpine. *Regul. Pept.*, **13**, 147-162 (1986).
- 21) **Rudehill, A., Sollevi, A., Franco-Cereceda, A. & Lundberg, J. M.:** Neuropeptide Y and the pig heart: Release and coronary vasoconstrictor effects. *Peptides*, **7**, 821-826 (1986).
- 22) **Potter, W. P., Dillen, L., Annaert, W., Tombeur, K., Berghmans, R. & Coen, E. P.:** Evidence for the co-storage and co-release of neuropeptide Y and noradrenaline from large dense cored vesicles in sympathetic nerves of the bovine vas deferens. *Synapse*, **2**, 157-162 (1988).
- 23) **Fredholm, B. B., Jansen, I. & Edvinsson, L.:** Neuropeptide Y is a potent inhibitor of cyclic AMP accumulation in feline cerebral blood vessels. *Acta. Physiol. Scand.*, **124**, 467-469 (1985).
- 24) **Zuberbuhler, R. C. & Bohr, D. F.:** Responses of coronary smooth muscle to catecholamines. *Circ. Res.*, **16**, 431-440 (1965).
- 25) **Akita, H., Yokoyama, M. & Fukuzaki, H.:** Contractile responses of canine coronary collateral vessels. *Jpn. Heart J.*, **25**, 93-103 (1984).
- 26) 千葉茂俊, 中根登紀男: 摘出イヌ冠動脈標本における血管反応の薬理. *脈管学*, **29**, 431-435 (1989).
- 27) **Aizawa, Y., Murata, M., Hayashi, M., Funazaki, T., Ito, S. & Shibata, A.:** Vasoconstrictor effect neuropeptide Y (NPY) on canine coronary artery. *Jpn. Circ. J.*, **49**, 584-588 (1985).
- 28) **Edvinsson, L., Emson, L., McCulloch, J.,**

- Tatemoto, K. & Uddman, R.:** Neuropeptide Y: Cerebrovascular innervation and vasomotor effect in the cat. *Neurosci. Lett.*, **43**, 79-84 (1983).
- 29) **Lundberg, J. M. & Tatemoto, K.:** Pancreatic polypeptide family (APP, BPP, NPY and PYY) in relation to sympathetic vasoconstriction resistant to alpha-adrenoceptor blockade. *Acta. Physiol. Scand.*, **116**, 393-402 (1982).
- 30) **Pernow, J., Svenberg, T. & Lundberg, J. M.:** Actions of calcium antagonists on pre- and postjunctional effects of neuropeptide Y on human peripheral blood vessels in vitro. *Eur. J. Pharmacol.*, **136**, 207-218 (1987).
- 31) **Pernow, J. & Lundberg, J. M.:** NPY constricts human skeletal muscle arteries via a nifedipine-sensitive mechanism independent of extracellular calcium? *Acta. physiol. Scand.*, **128**, 655-656 (1986).
- 32) **Elwood, E. R. & Yokota, S.:** Neuropeptide Y inhibition of adenylate cyclase in cultured vascular smooth muscle cells. *Circulation*, **76**, Supp. IV-194 (1987).
- 33) **Edvinsson, L., Ekblad, E., Hakanson, R. & Wahlestedt, C.:** Neuropeptide Y potentiates the effect of various vasoconstrictor agents on rabbit blood vessels. *Br. J. Pharmacol.*, **83**, 519-525 (1984).
- 34) **Wahlestedt, C., Edvinsson, L., Ekblad, E. & Hakanson, R.:** NPY potentiates noradrenaline-evoked vasoconstriction: mode of action. *J. pharmacol. Exp. Ther.*, **234**, 735-741 (1985).
- 35) **Han, C. & Abel, P. W.:** Neuropeptide Y potentiates contraction and inhibits relaxation of rabbit coronary arteries. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **9**, 675-681 (1987).
- 36) **Neild, T. O.:** Actions neuropeptide Y on innervated and denervated rat tail arteries. *J. physiol.*, **386**, 19-30 (1987).
- 37) **Hanko, J. H., Toernebrandt, K., Hardebo, J. E., Kahrstrom, J., Nobin, A. & Owman, C. H.:** Neuropeptide Y induces and modulates vasoconstriction in intracranial and peripheral vessels of animals and man. *J. Auton. Pharmacol.*, **6**, 117-124 (1986).
- 38) **Daly, R. N. & Hieble, J. P.:** Neuropeptide Y modulates adrenergic neurotransmission by an endothelium dependent mechanism. *Eur. J. Pharmacol.*, **138**, 445-446 (1987).
- 39) **Angus, J. A., Cocks, T. M. & Satoh, K.:** The  $\alpha$  adrenoceptors on endothelial cells. *Fed. Proc.*, **45**, 2355-2359 (1986).
- 40) **Casteels, R., Kitamura, K., Kuriyama, H. & Suzuki, H.:** Excitation-contraction coupling in the smooth muscle cells of the rabbit main pulmonary artery. *J. Physiol.*, **271**, 63-79 (1977).
- 41) **Mulvany, M. J., Nilsson, H. & Flatman, J. A.:** Role of membrane potential in the response of rat small mesenteric arteries to exogenous noradrenaline stimulation. *J. Physiol.*, **332**, 363-373 (1982).
- 42) 中林才治, 福永隆三, 小川 智, 北川一夫, 松山知弘, 井坂吉成, 松本昌泰, 木村和文, 鎌田武信: 高血圧自然発症ラットとウイスター京都ラットにおける神経ペプチドに対する血管反応性の比較検討. *血管*, **12**, 37 (1989).
- 43) **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).
- 44) **Yasue, H., Ogawa, H. & Okamura, K.:** Coronary artery spasm in the genesis of myocardial ischemia. *Am. J. Cardiol.*, **63**, 29E-32E (1989).
- 45) **Raizner, A. E., Chahine, R. A., Ishimori, T., Verani, M.S., Zacca, N., Jamal, N., Mileer, R. R. & Luchi, R. J.:** Provocation of coronary artery spasm by the cold pressor test; hemodynamic, arteriographic and quantitative angiographic observations. *Circulation*, **62**, 925-932 (1980).
- 46) **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).
- 47) **Yasue, H., Touyama, M., Kato, H., Tanaka, S. & Akiyama, F.:** Prinzmetal's variant form of angina as a manifestation of alpha-adrenergic receptor-mediated coronary artery spasm: documentation by coronary angiography. *Am. Heart J.*, **91**, 148-155 (1976).
- 48) **Nowlin, J. B., Troyer, W. G., Collins, W. S., Silverman, G., Nichols, C. R., McIntosh, H. D., Estes, E. H. Jr. & Bogdonoff, M. D.:** The

association of nocturnal angina pectoris with dreaming. *Ann. Intern. Med.*, **63**, 1040-1046 (1965).

49) **Robertson, D., Robertson, R. M., Nies, A. S., Oates, J. A. & Friesinger, G. C.** : Variant angina pectoris: Investigation of indexes of sympathetic nervous system function. *Am. J. Cardiol.*, **43**, 1080-1085 (1979).

50) **Robertson, R. M., Bernard, Y. & Robertson, D.** : Arterial and coronary sinus catecholamines in the course of spontaneous coronary artery spasm. *Am. Heart J.*, **105**, 901-906 (1983).

51) **Yasue, H., Horio, Y., Nakamura, N., Fujii, H., Imoto, N., Sonoda, R., Kugiyama, K., Obata, K., Morikami, Y. & Kimura, T.** : Induction of coronary artery spasm by acetylcholine in patients with variant angina: possible role of the parasympathetic nervous system in the pathogenesis of coronary artery spasm. *Circulation*, **74**, 955-963 (1986).

52) **Ginsburg, R., Bristow, M. R., Kantrowitz, N., Baim, D. S. & Harrison, D. C.** : Histamin provocation of clinical coronary artery spasm: Implications concerning pathogenesis of variant angina pectoris. *Am. Heart J.*, **102**, 819-822 (1981).

53) **Scroeder, J. S., Bolen, J. L., Quint, R. A., Clark, D. A., Hayden, W. G., Higgins, C. B. & Wexler, L.** : Provocation of coronary spasm with ergonovine maleate. *Am. J. Cardiol.*, **40**, 487-491 (1977).

54) **Chierchia, S., Davies, G., Berkenboom, G., Crea, F., Crean, P. & Maseri, A.** :  $\alpha$ -adrenergic receptors and coronary spasm: an elusive link. *Circulation*, **69**, 8-14 (1984).

55) **Caterina, R. D., Carpeggiani, C. & L'Abbate, A.** : A double-blind, placebo-controlled study of ketanserin in patients with Prinzmetal's angina: Evidence against a role for serotonin in the genesis of coronary vasospasm. *Circulation*, **69**, 889-894 (1984).

56) **Lundberg, J. M., Pernow, J., Tatemoto, K. & Dahlöf, C.** : Pre- and postjunctional effects of NPY on sympathetic control of rat femoral artery. *Acta. Physiol. Scand.*, **123**, 511-513 (1985).

57) 相沢義房, 村田 実, 林 雅美, 船橋俊一, 佐藤政仁, 柴田 昭: 非開胸麻酔犬を用いた定圧灌流下の Neuropeptide Y (NPY) の冠血管作用. *脈管学*, **24**, 1351-1355 (1984).

58) **Clarke, J. G., Davies, G. J., Kerwin, R., Hackett, D., Larkin, S., Dawbarn, D., Lee, Y., Bloom, S. R., Yacoub, M. & Maseri, A.** : Coronary artery infusion of neuropeptide Y in patients with angina pectoris. *Lancet*, **1**, 1057-1059 (1987).

59) **Vanhoutte, P. M. & Shimokawa, H.** : Endothelium-derived relaxing factor and coronary vasospasm. *Circulation*, **80**, 1-9 (1989).

60) **Hackenthal, E., Aktories, K., Jakobs, K. H. & Lang, R. E.** : Neuropeptide Y inhibits renin release by a pertussis toxin-sensitive mechanism. *Am. J. Physiol.*, **552**, F543-F550 (1987).

61) **Baranowska, B., Gutkowska, J., Lemire, A., Cantin, M. & Genest, J.** : Opposite effects of neuropeptide Y and polypeptide YY on plasma immunoreactive atrial natriuretic factor in rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **145**, 680-685 (1987).

62) **Maisel, A. S., Scott, N. A., Motulsky, H. J., Michel, M. C., Boublik, J. H., Rivier, J. E., Ziegler, M., Allen, R. S. & Brown, M. R.** : Elevation of plasma neuropeptide Y levels in congestive heart failure. *Am. J. Med.*, **86**, 43-48 (1989).

63) **Waeber, B., Aubert, J. F., Corder, R., Evequoz, D., Nussberger, J., Gaillard, R. & Brunner, H. R.** : Cardiovascular effects of neuropeptide Y. *Am. J. Hypertens.*, **1**, 193-199 (1988).

**Vasoconstrictor Effect of Neuropeptide Y on the Isolated Canine Coronary Artery** Kuniyoshi Shimizu, Department of Internal Medicine (II), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Juzen Med. Soc., 99, 573—587 (1990)

**Key words** neuropeptide, Y, endothelium, isolated canine coronary artery

#### Abstract

Neuropeptide Y (NPY) is present in sympathetic nerve endings together with norepinephrine, around the coronary arteries in the human heart. The effect of human NPY in vitro on an isolated canine coronary artery was studied. Helical strips prepared from proximal (outside diameter 2.3—3.3mm) and distal (outside diameter 0.8—1.3mm) portions of the left circumflex coronary arteries of 39 mongrel dogs (either sex, weighing 9—25kg) were suspended in Krebs buffer (pH 7.4) gassed with 95% O<sub>2</sub> and 5% CO<sub>2</sub> at 36.5°C, and the isometric developed tension was recorded. In some strips the endothelium was removed by rubbing the intimal surface with a filter paper. In order to study the effects of NPY on agonist-induced vasoconstriction, concentration-response curves for phenylephrine (PHE), 5-hydroxytryptamine (5HT) and prostaglandin F<sub>2</sub>α (PGF<sub>2</sub>α) were obtained after preincubation for 20min with NPY (10<sup>-8</sup> M, 10<sup>-7</sup> M). NPY caused a concentration dependent contraction, which was smaller than that caused by 5HT, but equal to that caused by PGF<sub>2</sub>α and PHE. Contractions induced by 3×10<sup>-7</sup> M, 10<sup>-6</sup> M, 3×10<sup>-6</sup> M NPY were greater in strips from the distal than from the proximal portions, when compared as relative values to 80mM potassium-induced contractions. Low concentrations of NPY (10<sup>-8</sup> M, 10<sup>-7</sup> M) enhanced the contractile response to PHE and 5HT, but not to PGF<sub>2</sub>α or high potassium. At 10<sup>-8</sup> M, NPY itself did not evoke contractions directly; at 10<sup>-7</sup> M, NPY evoked a weak contraction. Concentration-response curves for NPY did not differ in strips with and without endothelium, and there was no difference in the potentiating effect of NPY on the PHE-induced contraction in strips with and without endothelium. On the canine coronary artery, NPY has a direct vasoconstrictor effect equal to that of PHE and PGF<sub>2</sub>α. It also has a potentiating effect on PHE and 5HT induced vasoconstriction. NPY may regulate coronary circulation by its direct and indirect vasoconstrictor effects. Neither the direct nor indirect vasoconstrictor effects of NPY are mediated via an endothelium dependent mechanism.