The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Endothelinの血管収縮機構に関する基礎的検討
Author(s)	金, 章瀅
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37726
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【 7 】

氏名・(本籍)	金(きん)　章(しょう)　瀅(えい)
学位の種類	医　学　博　士
学位記番号	第　9803　号
学位授与の日付	平成 3 年 5 月 28 日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文名	**Endothelinの血管収縮機構に関する基礎的検討**
論文審査委員	(主査) 教授　荻原　俊男 (副査) 教授　三木　直正　　教授　矢内原千鶴子

論文内容の要旨

〔目　的〕

Endothelin（ET)はブタ冠動脈内皮細胞の培養上清から発見された強力な血管収縮性ペプチドである。ETによる血管収縮は，細胞外液中のカルシウム（Ca^{2+}）に依存し，Ca^{2+}-channel blocker により抑制されることから，当初電位依存性Ca^{2+}-channel の活性化によると報告された。しかし標識Ca^{2+}-channel blockerの結合阻害に関する検討から，ETは直接Ca^{2+}-channelには結合しないことが明かとなりこの可能性は否定され，ETの血管収縮機構の詳細は未だ充分明らかでない。本研究においてはETによる血管収縮機構を明らかにするため，ラット大動脈螺旋状条片を用いて，K^+-channel opener およびCa^{2+}-channel blockerのET-1による血管収縮に与える影響を比較検討した。

〔方　法〕

Wistar系ラットから胸部大動脈を摘出し，結合組織を除去した後，長辺約20mmの血管螺旋状条片を作成した。血管標本を約20mlの栄養液（130 mM NaCl，4.7 mM KCl，1.15 mM KH_2PO_4，1.6 mM $CaCl_2$，14.9 mM $NaHCO_3$，5.5 mM glucose，0.03 mM EDTA）内に固定し，5％CO_2-95％O_2で通気しながら，37℃，pH 7.4の条件下で圧トランスデューサーを用いて血管の張力を記録することにより収縮反応を測定した。またETによる血管収縮が細胞外液中のCa^{2+}依存性であるか否かを検討するために，一部の検討では栄養液中の$CaCl_2$を除去し2 mM EGTAを添加した。さらに血管内皮より血管作動物質が放出される可能性があるため，血管内皮は機械的擦過により除去した。

〔成　績〕

① ET-1の血管収縮における細胞内外のCa^{2+}の役割に関する検討

細胞外液中1.6 mM Ca^{2+}存在下において10^{-9} M以上のET-1により用量依存的に30分以上持続する血管収縮が認められた。添加ET-1のED_{50}値は5×10^{-9} Mであった。一方，外液中のCa^{2+}非存在下でもET-1の各濃度により，Ca^{2+}存在下収縮の約30%の収縮が認められた。また外液中のCa^{2+}非存在下では，細胞内Ca^{2+}-storeからのCa^{2+}遊離を抑制するTMB-8（10^{-4} M）により血管条片を前処置することによりET-1による血管収縮は著明に抑制された。

② ETによる血管収縮に対するK^+-channel openerおよびK^+-ionophoreの影響に関する検討

外液中のCa^{2+}存在下において5×10^{-9} M ETの収縮はK^+-channel openerであるcromakalim, nicorandilおよびK^+-ionophoreであるvalinomycinによって著明に抑制され，10^{-9} M ET-1による血管収縮に対するそれぞれの50%抑制濃度は7×10^{-8} M，7.8×10^{-7} M，3×10^{-7} Mであった。外液中のCa^{2+}非存在下においては，cromakalim, valinomycinによる抑制は認められず，一方nicorandilでは抑制が認められた。NicorandilはK^+-channel openerとしての作用の他に亜硝酸剤としてcGMP産生亢進作用が知られており，nicorandilによるCa^{2+}非存在下での抑制作用はmethylene blue（10^{-4} M）の前処置によりほぼ消失した。

③ ET-1による血管収縮に対するCa^{2+}-channel blockerの影響に関する検討

細胞外液Ca^{2+}存在下におけるET-1 10^{-9} Mによる血管収縮に対するCa^{2+}-channel blockerによる抑制は比較的強く，10^{-5} M nicardipine, 10^{-5} M verapamilで，それぞれ28%，35%の抑制率であった。一方，これらのCa^{2+}-channel blockerは細胞外液中Ca^{2+}非存在下におけるET-1による血管収縮を抑制しなかった。

〔総　括〕

① ET-1による血管収縮には細胞外液からのCa^{2+}流入と細胞内Ca^{2+}流入と細胞内Ca^{2+}-storeからのCa^{2+}遊離の両者が関与すると考えられた。

② ET-1による細胞外液から細胞内へのCa^{2+}流入に依存する血管収縮は，Ca^{2+}-channel blockerに感受性を有する電位依存性Ca^{2+}-channelとともに，細胞内K^+濃度に感受性を有するnon-selective cation channelを介する系も関与することが示唆された。

論文審査の結果の要旨

Endothelin（ET)はブタ大動脈内皮細胞の培養血清から発見された強力な血管収縮性ペプチドである。本研究は，ETの血管収縮を明らかにする目的で，ラット大動脈螺旋状条片を用いて，ETによる血管収縮に与える種々の薬剤の影響を比較検討したものである。その結果，ETによる血管収縮には，細胞外液からのCa^{2+}流入と細胞内Ca^{2+}-storeからのCa^{2+}遊離の両者が関与することが明かと

なった。また、細胞外液からのCa^{2+}流入に依存する血管収縮は，Ca^{2+}チャンネル拮抗剤に感受性を有する電位依存性Ca^{2+}チャンネルとともに，K^{+}チャンネル開口薬に感受性を有するイオンチャンネルを介する系も関与することが示唆された。以上より，本研究はETによる血管収縮機構に新知見を加え，学位論文に値するものである。