

Title	Endothelinの血管収縮機構に関する基礎的検討
Author(s)	金, 章滢
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/37726">https://hdl.handle.net/11094/37726</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名・(本籍)	金	章	澄
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(130mM NaCl, 4.7mM KCl, 1.15mM  $KH_2PO_4$ , 1.6mM  $CaCl_2$ , 14.9mM  $NaHCO_3$ , 5.5mM glucose, 0.03mM EDTA)内に固定し、5%  $CO_2$ -95%  $O_2$  で通気しながら、37°C, pH7.4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2mM 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 $\text{Ca}^{2+}$ の役割に関する検討

細胞外液中 1.6 mM  $\text{Ca}^{2+}$  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  $\text{ED}_{50}$  値は  $5 \times 10^{-9}$  M であった。一方、外液中の  $\text{Ca}^{2+}$  非存在下でも ET-1 の各濃度により、 $\text{Ca}^{2+}$  存在下収縮の約30%の収縮が認められた。また外液中の  $\text{Ca}^{2+}$  非存在下では、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$ -store からの  $\text{Ca}^{2+}$  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 $\text{K}^{+}$ -channel opener および $\text{K}^{+}$ -ionophore の影響に関する検討

外液中の  $\text{Ca}^{2+}$  存在下において  $5 \times 10^{-9}$  M ET の収縮は  $\text{K}^{+}$ -channel opener である cromakalim, nicorandil および  $\text{K}^{+}$ -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  $7 \times 10^{-8}$  M,  $7.8 \times 10^{-7}$  M,  $3 \times 10^{-7}$  M であった。外液中の  $\text{Ca}^{2+}$  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  $\text{K}^{+}$ -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  $\text{Ca}^{2+}$  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 $\text{Ca}^{2+}$ -channel blocker の影響に関する検討

細胞外液  $\text{Ca}^{2+}$  存在下における ET-1  $10^{-9}$  M による血管収縮に対する  $\text{Ca}^{2+}$ -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  $\text{Ca}^{2+}$ -channel blocker は細胞外液中  $\text{Ca}^{2+}$  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  $\text{Ca}^{2+}$  流入と細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  流入と細胞内  $\text{Ca}^{2+}$ -store からの  $\text{Ca}^{2+}$  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  $\text{Ca}^{2+}$  流入に依存する血管収縮は、 $\text{Ca}^{2+}$ -channel blocker に感受性を有する電位依存性  $\text{Ca}^{2+}$ -channel とともに、細胞内  $\text{K}^{+}$  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  $\text{Ca}^{2+}$  流入と細胞内  $\text{Ca}^{2+}$ -store からの  $\text{Ca}^{2+}$  遊離の両者が関与することが明か

なった。また、細胞外液からの  $\text{Ca}^{2+}$  流入に依存する血管収縮は、 $\text{Ca}^{2+}$  チャンネル拮抗剤に感受性を有する電位依存性  $\text{Ca}^{2+}$  チャンネルとともに、 $\text{K}^{+}$  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。