

WKY ならびに SHRSP の摘出腎動脈における アセチルコリンによる内皮細胞依存性収縮反応

西村 芳卓 鈴木 有朋 宮武 里江
中井 義裕 河 東 成

近畿大学医学部薬理学教室

Endothelium-dependent contractions induced by acetylcholine
in renal arteries isolated from WKY and SHRSP

Yoshitaka Nishimura, Aritomo Suzuki, Rie Miyatake,
Yoshihiro Nakai and Tosei Koh

Department of Pharmacology, Kinki University
School of Medicine, Osaka, Japan

ABSTRACT

We examined the contractile responses to acetylcholine (ACh) in isolated renal artery rings obtained from WKY and SHRSP at 3 and 6 months of age. ACh caused a transient contraction in endothelium-intact renal arteries from WKY and SHRSP. ACh-induced contraction was abolished by removal of the endothelium, and was augmented by pretreatment with N^G-nitro-L-arginine (NOARG) in both groups. Indomethacin completely inhibited ACh-induced contraction in NOARG-treated arteries of WKY and SHRSP. Contraction induced by ACh was significantly smaller in SHRSP at 3 and 6 months of age than in age-matched WKY. ACh-induced endothelium-dependent relaxation in renal arteries precontracted with phenylephrine was decreased in SHRSP at 3 and 6 months of age when compared to age-matched WKY. Relaxation induced by ACh was inhibited by NOARG in both groups. These results suggest that ACh produces both contractile responses mediated by cyclooxygenase products and relaxation responses mediated by nitric oxide in an endothelium-dependent manner, and that these responses were impaired in SHRSP.

Key words : WKY, SHRSP, renal artery, acetylcholine, endothelium-dependent contraction

緒 言

Furchgott および Zawadzki¹ により内皮細胞依存性の血管弛緩反応が見い出されて以来、血管内皮細胞は、種々の刺激により内皮細胞由

来弛緩因子 (EDRF) のみならず内皮細胞由来収縮因子 (EDCF)² を産生・遊離し、血管トーンの調節に関与していることが明らかとなった。

高血圧モデル動物では、種々の血管床におい

て内皮細胞依存性の弛緩反応が、正常血圧ラットに比し減弱していることが多数報告³⁻⁸ されている。一方、内皮依存性収縮反応に関して、Lüscher および Vanhoutte⁹ は、SHR の大動脈ではアセチルコリン (ACh) により内皮細胞依存性の収縮反応が見られるが、WKY では認められないことを報告している。また、Koga¹⁰ は、WKY の大動脈においても加齢により内皮細胞依存性の収縮反応が見られることを示した。しかし、他の血管における内皮細胞依存性収縮反応についての検討は、ほとんどなされていない。

今回我々は、WKY ならびに SHRSP の摘出腎動脈を用いて、ACh による内皮細胞依存性収縮反応について検討した。

実験方法

実験には、3カ月齢および6カ月齢の SHR-SP ならびに WKY を使用した。ラットを pentobarbital (40 mg/kg, i. p.) 麻酔後、放血致死させ、腎動脈を摘出し、長さ 2 mm のリング状標本を作製した。標本は、37°C に加温し、絶えず 95% O₂-5% CO₂ 混合ガスを通気した Krebs-Henseleit 液中に懸垂した。標本には 1g の静止張力を負荷し、張力の変化を等尺性に測定した。

内皮細胞剥離標本は、血管内腔にステンレス棒を入れ内膜を擦ることにより作製した。

ACh による収縮反応の観察は、静止張力下で単回投与することにより行った。一酸化窒素の合成酵素阻害薬である N^G-nitro-L-arginine (NOARG, 100 μM) ならびに cyclooxygenase 阻害薬である indomethacin (0.3 μM) は、ACh の投与30分前に処置した。ACh による弛緩反応の観察は、標本を phenylephrine (EC₈₀) で収縮させ、収縮反応が安定した後、ACh を単回投与することにより行った。

結果および考察

図1に6カ月齢の WKY ならびに SHRSP の腎動脈における ACh に対する反応例を示し

た。

静止張力下で WKY ならびに SHRSP の正常腎動脈標本に ACh (10 μM) を投与すると、一過性の収縮反応が見られた。ACh による収縮反応は、両群ともに NOARG 前処置により増大し、indomethacin の前処置により消失した。内皮細胞剥離標本では、NOARG 処置、非処置のいずれにおいても ACh による収縮反応は見られなかった。

図2に示したように、WKY と SHRSP の間で ACh 収縮を比較すると、6カ月齢 SHR-SP の収縮反応は、NOARG 処置、非処置のいずれにおいてもそれぞれ同月齢の WKY に比し、有意に減弱していた。3カ月齢 SHRSP では、NOARG 処置群においてのみ ACh 収縮が見られたが、その程度は同月齢 WKY に比し有意に小さかった。KCl (60 mM) による収縮反応は、いずれの月齢においても両群間で有意な差が見られなかった。

一方、phenylephrine で収縮させた WKY ならびに SHRSP の正常腎動脈標本に、ACh を適用すると、一過性の弛緩に続いて収縮反応そして持続的な弛緩反応が観察され、NOARG の前処置により弛緩反応は消失し、収縮反応のみが見られた。内皮細胞剥離標本では、ACh による弛緩反応、収縮反応のいずれも見られなかった。WKY と SHRSP の間で、papaverine (100 μM) による弛緩反応を100%として、ACh による持続性弛緩反応の程度を比較すると、3カ月齢 SHRSP の弛緩反応は 58 ± 7% (n=5)、6カ月齢 SHRSP では 46 ± 6% (n=5) であり、それぞれ対照の WKY における弛緩反応 79 ± 3% (n=5)、78 ± 4% (n=5) に比べ有意に減弱 (p<0.01) していた。

今回の実験において、WKY ならびに SHR-SP の腎動脈では、ACh 刺激により EDCF と EDRF が同時に遊離されることが示された。さらに SHRSP では、ECCF を介した収縮反応ならびに EDRF を介した弛緩反応が、WKY に比し著しく減弱していることが見出された。現在 EDCF としては endothelin¹¹ がす

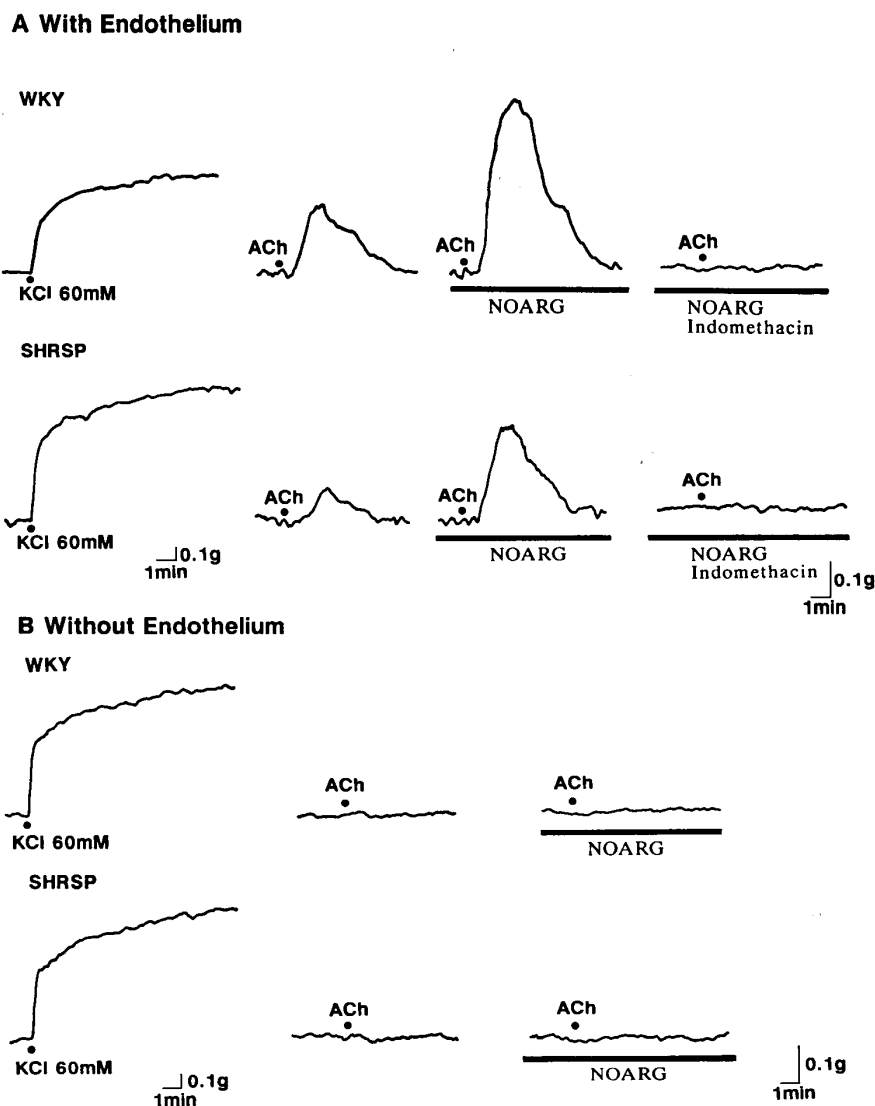


Fig. 1 Representative recordings showing contractile responses to ACh in renal arteries with (A) and without (B) endothelium from WKY and SHRSP. N^G -nitro-L-arginine (NOARG, 100 μ M) and indomethacin (0.3 μ M) were added 30 min before the administration of ACh.

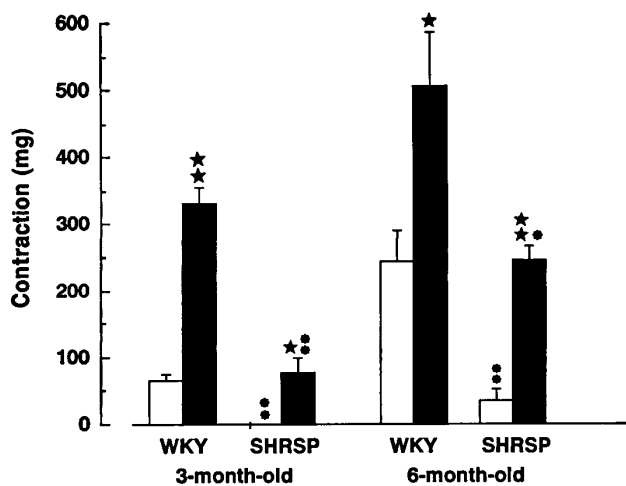


Fig. 2 Contractile effects of ACh in the absence (□) or presence (■) of N^G -nitro-L-arginine on renal arteries from WKY and SHRSP. Data are shown as means \pm SEM ($n=4-6$). * $p<0.05$ and ** $P<0.01$, compared with the respective arteries from WKY, and * $P<0.05$ and ** $P<0.01$, compared with untreated arteries (Student's t -test).

に同定されているが, その他 thromboxane A_2 ^{12, 13}, prostaglandin H_2 ¹⁴, superoxide anion¹⁵ などが候補として提唱されている. WKY および SHRSP の腎動脈では, 内皮依存性収縮反応が indomethacin により抑制されたことより, 血管収縮性 prostaglandin が EDCF として遊離されている可能性が考えられる. 一方, ACh による内皮依存性弛緩反応には, 一酸化窒素が関与していると考えられる. 今後, 腎動脈より遊離される EDCF の本態の解明ならびに, 腎循環調節における EDCF の役割について検討を加えたい.

文 献

1. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980 ; 288 : 373-376.
2. Sánchez-Ferrer CF, Marín J. Endothelium-derived contractile factors. *Gen Pharmac* 1990 ; 21 : 589-603.
3. Konishi M, Su C. Role of endothelium in dilator responses of spontaneously hypertensive rat arteries. *Hypertension* 1983 ; 5 : 881-886.
4. Lüscher TF, Raij L, Vanhoutte PM. Endothelium-dependent vascular responses in normotensive and hypertensive Dahl rats. *Hypertension* 1987 ; 9 : 157-163.
5. Mayhan WG, Faraci FM, Heistad DD. Impairment of endothelium-dependent responses of cerebral arterioles in chronic hypertension. *Am J Physiol* 1987 ; 253 : H1435-H1440.
6. Tesfamariam B, Halpern W. Endothelium-dependent and endothelium-independent vasodilation in resistance arteries from hypertensive rats. *Hypertension* 1988 ; 11 : 440-444.
7. Lüscher TF, Diederich D, Weber E, Vanhoutte PM, Buhler FR. Endothelium-dependent responses in carotid and renal arteries of normotensive and hypertensive rats. *Hypertension* 1988 ; 11 : 573-578.
8. Watt PAC, Thurston H. Endothelium-dependent relaxation in resistance vessels from the spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* 1989 ; 7 : 661-666.
9. Lüscher TF, Vanhoutte PM. Endothelium-dependent contractions to acetylcholine in the aorta of the spontaneously hypertensive rat. *Hypertension* 1986 ; 8 : 344-348.
10. Koga T, Takata Y, Kobayashi K, Takishita S, Yamashita Y, Fujishima M. Age and hypertension promote endothelium-dependent contractions to acetylcholine in the aorta of the rat. *Hypertension* 1989 ; 14 : 542-548.
11. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Goto K, Masaki T. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988 ; 332 : 411-415.
12. Altieri RJ, Kiritsy-Roy JA, Catravas JD. Acetylcholine-induced contractions in isolated rabbit pulmonary arteries: Role of thromboxane A_2 . *J Pharmacol Exp Ther* 1986 ; 236 : 535-541.
13. Shirahase H, Usui H, Kurahashi K, Fujiwara M, Fukui K. Possible role of endothelial thromboxane A_2 in the resting tone and contractile responses to acetylcholine and arachidonic acid in canine cerebral arteries. *J Cardiovasc Pharmacol* 1987 ; 10 : 517-522.
14. Kato T, Iwama Y, Okumura K, Hashimoto H, Ito T, Satake T. Prostaglandin H_2 may be the endothelium-derived contracting factor released by acetylcholine in the aorta of the rat. *Hypertension* 1990 ; 15 : 475-481.
15. Katusic ZS, Vanhoutte PM. Superoxide anion is an endothelium-derived contracting factor. *Am J Physiol* 1989 ; 257 : H33-H77.