

摘出ブタ冠動脈における血管収縮物質の作用機序について

池ノ上晃一*, 河北 成一**, 戸田 昇*

滋賀医科大学薬理学教室*, 第一内科学教室**

(昭和60年11月6日 [特])

要約: 冠動脈攣縮の重要な因子と考えられている histamine, serotonin, norepinephrine および thromboxane A₂ の安定な誘導体 (9, 11-epithio-11, 12-methano TXA₂: S-TXA₂) の血管反応性を摘出ブタ冠動脈条片を用いて検討した。イヌやサル等では拡張作用を起こすことが知られている histamine および acetylcholine は、ブタ冠動脈をヒト冠動脈と同様に収縮させた。この様に、ブタ冠動脈は冠動脈収縮および攣縮を検討する上でヒト冠動脈に極めて類似した薬物反応性を示すために有用である。histamine の収縮作用は chlorpheniramine で、serotonin の収縮作用は methysergide と ketanserin で、norepinephrine の収縮作用は prazosin で拮抗されたことから、これら薬物の収縮作用にはそれぞれ H₁ 受容体, S₁ と S₂ 受容体および α₁ 受容体が関与するようである。histamine, serotonin および S-TXA₂ は相乗的に収縮作用を増強させた。内膜を除去する事により histamine, serotonin および norepinephrine の収縮作用が著明に増強された。この serotonin 収縮作用の増強は主として内膜の S₁ 受容体を介する拡張作用の消失と考えられる。これらの事実より、histamine や serotonin および TXA₂ などの収縮物質が相乗的に作用することおよび内膜の障害によりその収縮作用が増強される事が冠動脈攣縮の発生に重要な因子として働いている可能性が示唆される。

緒 言

ヒト冠動脈を収縮させる物質として histamine, serotonin, acetylcholine, norepinephrine, K⁺, prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}), thromboxane A₂ (TXA₂) 等が報告されているが^{1,2)}、動物により血管反応性が著しく異なる。例えば、サルやイヌの冠動脈はヒトのそれとは逆に histamine や acetylcholine で拡張される^{3,4)}。これらの物質のうち血小板凝集により遊離される serotonin⁵⁾ および TXA₂⁶⁾ や肥脾細胞由来の histamine⁷⁾ などが現在のところ冠動脈攣縮を起こす因子として注目されているが、histamine はヒト以外の多くの動物の冠動脈を拡張することが報告されている。

そこで本研究では、ヒト冠動脈と解剖学的にも血管反応性の面からも類似しており^{8,9)} histamine でも収縮反応を起こすブタ冠動脈を用いて、(1) histamine, serotonin, norepinephrine 等血管収縮物質の収縮機序、(2) 血管収縮における histamine, serotonin および TXA₂ の安定な誘導体 9, 11-epithio-11, 12-methano TXA₂ の相互作用、ならびに (3) これら血管収縮物質の作用に及ぼす内膜除去の影響について検討した。

実験材料および実験方法

雌雄成熟ブタ（体重 50～100 kg）を電気刺激にて失神させ、直ちに放血致死後心臓を摘出し 4°C の栄養液 (modified Ringer Locke 液) 中に保存した。実験には冠動脈前下降枝 (外径 1～3 mm) のラセン状条片 (長さ約 2 cm) を標本として用いた。標本は 37.0 ± 0.5°C で 95% O₂-5% CO₂ 混合ガスを通気した栄養液中に懸垂した。用いた栄養液の成分は以下の如くである (mM): Na⁺ 148, K⁺ 5.4, Ca²⁺ 2.2, Mg²⁺ 1.0, Cl⁻ 131.6, HCO₃⁻ 25.0 ブドウ糖 5.6, 液の pH は 7.34 ~7.41 に保った。

2 g, 4 g, 6 g の静止張力を負荷した時の K⁺ 30 mM による収縮反応は 2 g < 4 g = 6 g となり、また histamine, serotonin および acetylcholine による収縮を K⁺ 30 mM による収縮の強さに対する比で比較すると、これら静止張力による差はみられなかった。したがって、標本は 4 g の張力を負荷して懸垂し 120 分間放置したのち等尺性張力変化をトランシスジューサ (Toyo Baldwin) およびプリアンプ (三栄測器製, 180型) を介してポリグラフ (三栄測器製, 8S 型) 上に記録した。その後標本を最低 10 分毎に三回以上洗浄し、洗浄後 10 分以上放置し静止張力が安定した後次の薬物を投与した。前処置薬は薬物投与の 10 分以上前に処置し、殊に TXA₂ の安

*,** 〒520-21 大津市瀬田月輪町

定な誘導体である 9,11-epithio-11,12-methano TXA₂ (以下 S-TXA₂ と略す) の前処置時には 30 分以上経過後被験薬物を投与した。薬物は標本槽内に累積的に投与し、その血管反応を観察した。薬物の前処置は、被験薬物の用量—収縮反応曲線が最低二回以上安定するのを確認してのち行った。

薬物の収縮反応は、同一標本に適用した K⁺ 30 mM による収縮を 100% として算出した。拡張反応は、あらかじめ PGF_{2α} (5×10^{-7} ~ 3×10^{-6} M) を適用し K⁺ 30 mM による収縮の 20~40% のレベルまで収縮させた状態に、被験薬物を累積的に適用することによって得られた。最後に papaverine 10⁻⁴ M を投与して得た拡張反応を 100% として、被験薬による拡張の程度を % で表示した。内皮細胞の除去はろ紙にて内膜面を擦過する事により行ない、内膜細胞の有無は鍍銀染色¹⁰⁾ および substance P 10⁻⁷ M 拡張の有無¹¹⁾にて確認した。すなわち、PGF_{2α} 又は K⁺ にてあらかじめ収縮させた冠動脈条片に substance P 10⁻⁷ M を適用し、最大拡張の 40% 以上拡張した標本を内皮細胞が正常、拡張反応が全く生じなかった標本を内皮細胞が除去されたと判断して実験を行った。

使用した薬物は、histamine dihydrochloride (Sigma), cimetidine (藤沢薬品), d-chlorpheniramine maleate (Schering), indomethacin crystalline (Sigma), serotonin creatinine sulfate (メルク), ketanserin tartrate (協和醣酵), cinanserin chloride (E.R. Squibb & Sons), methysergide bimaleate (サンド), ouabain (メルク), dl-norepinephrine hydrochloride (三共), l-phenylephrine (Sigma), clonidine hydrochloride (Boehringer Ingelheim), propranolol hydrochloride (ICI), prazosin hydrochloride (Pfizer-Taito), yohimbine hydrochloride (半井化学), acetylcholine chloride (第一製薬), 9,11-epithio-11,12-methano thromboxane A₂ (小野薬工), di-4-phloretin phosphate Na-salt (Aktiebolaget Leo) および papaverine hydrochloride (大日本製薬) である。

本文および図の結果は、平均土標準誤差で表わし、血管収縮に対する histamine, serotonin および S-TXA₂ の相互作用、血管収縮作用に及ぼす内膜除去の影響はそれぞれ 50% 有効量 (ED50) で比較した。また有意差検定には Student の unpaired t-test を行ない $P < 0.05$ を有意差ありとした。

実験結果

I. ブタ冠動脈に対する血管収縮物質の影響

1) histamine

histamine は 10^{-7} ~ 10^{-5} M の範囲で用量依存性の収縮を起こし、 10^{-5} M における収縮は K⁺ 30 mM 収縮の $100.0 \pm 8.0\%$ ($n=7$) であった。しかし histamine 5×10^{-5} M ではそれ以上の収縮はみられなかった。H₁ 拮抗薬である chlorpheniramine 10^{-8} および 10^{-7} M を前処置する事により histamine の収縮作用は用量に応じて減弱した。未処置の標本における histamine 10^{-5} M の収縮を 100% としたとき、chlorpheniramine 10^{-8} M 前処置により histamine 2×10^{-6} M では $39.9 \pm 8.0\%$ から $16.5 \pm 4.2\%$ へと収縮作用が減弱した (図 1)。しかし chlorpheniramine 10^{-6} M を前処置し収縮作用をほぼ完全に抑制しても逆に拡張作用に転じる事はなかった。また、H₂ 拮抗薬 cimetidine を 10^{-5} M 前処置しても histamine の用量作用曲線に有意な変化をもたらさなかった ($n=7$)。

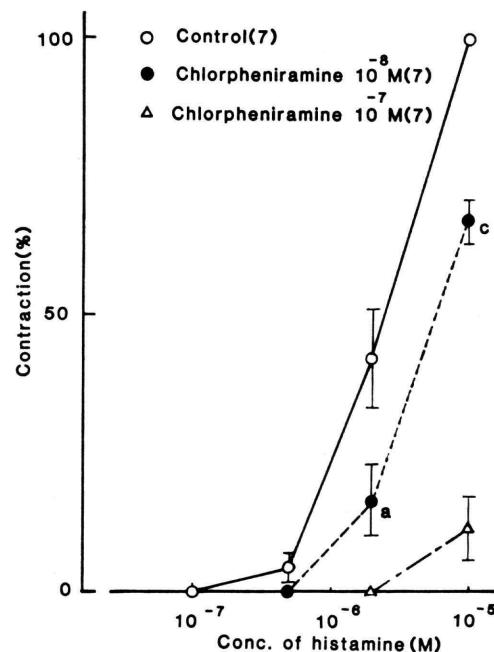


Fig. 1 Effect of chlorpheniramine on the concentration-response curve for histamine in pig coronary arteries. Contractions induced by 10^{-5} M histamine were taken as 100%. Vertical lines represent the mean \pm S.E. ^a $P < 0.05$, ^c $P < 0.001$: significantly different from controls.

2) serotonin

serotonin は $10^{-8} \sim 2 \times 10^{-6}$ Mにおいて用量依存性の収縮を起こしたが 10^{-5} Mではそれ以上の収縮作用がみられなかった。 2×10^{-6} Mでの収縮は K^+ 30 mM 収縮の $25.8 \pm 4.4\%$ ($n=10$) であった。この用量作用曲線は選択的 S_2 拮抗薬である ketanserin 10^{-8} および 10^{-7} M 前処置により右方移動した(図2-左)。また、cinanserin ($n=6$) や methysergide ($n=7$) $10^{-8} \sim$

10^{-6} M 前処置にても同様の傾向がみられた(図2-中央, 右)。

ketanserin 10^{-6} Mを前処置することにより serotonin の用量作用曲線は $10^{-9} \sim 10^{-6}$ M の範囲で拡張作用に転じ、papaverine 10^{-4} Mによる拡張の $50 \sim 70\%$ まで拡張した。この拡張作用は indomethacin 10^{-6} M ($n=6$) や ouabain 2×10^{-6} および 10^{-5} M ($n=6$) の前処置では影響を受けなかつたが、 10^{-5} M以上の cinanserin

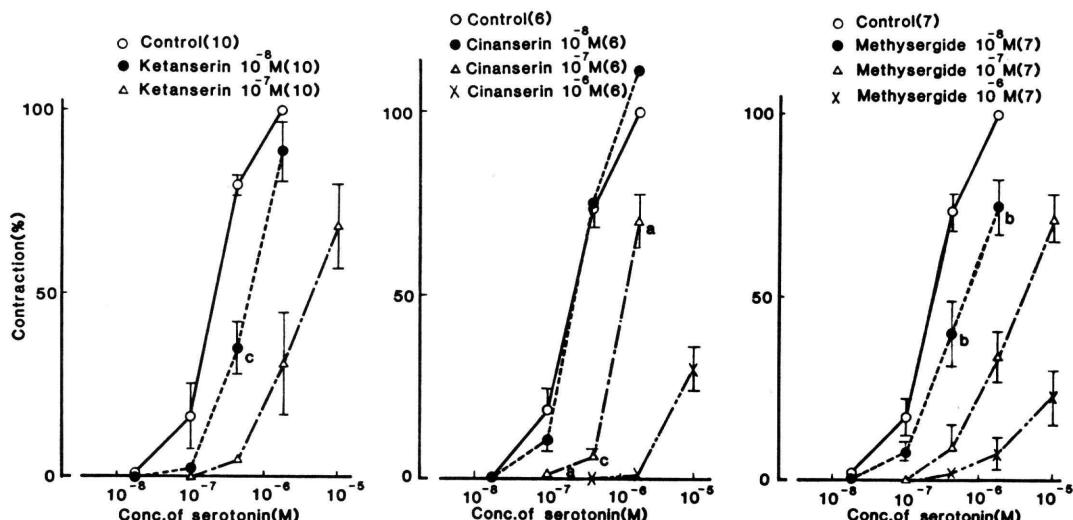


Fig. 2 Effect of ketanserin, cinanserin and methysergide on the concentration-response curve for serotonin in pig coronary arteries. Contractions induced by 2×10^{-6} M serotonin were taken as 100%. Vertical lines represent the mean \pm S.E. ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$, ^c $P < 0.001$: significantly different from controls.

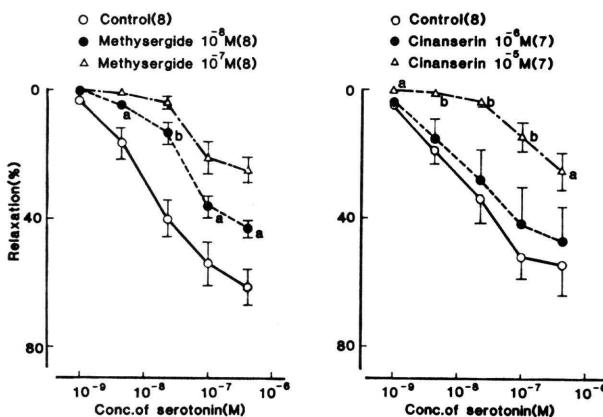


Fig. 3 Modification by methysergide (left figure) and cinanserin (right figure) of the concentration-response curve for serotonin in pig coronary arterial strips contracted with PGF_{2α}. Relaxations induced by 10^{-4} M papaverine were taken as 100%. Vertical lines represent the mean \pm S.E. ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$: significantly different from controls.

(n=7), 10^{-8} M 以上の methysergide (n=8) 前処置で有意に抑制された。 10^{-5} M cinanserin 前処置では serotonin 5×10^{-9} M で $18.6 \pm 4.8\%$ から $0.71 \pm 0.71\%$ へ、 2×10^{-8} M では $34.1 \pm 7.6\%$ から $3.7 \pm 1.3\%$ へとその拡張作用は減弱した。また、methysergide 10^{-8} M 前処置では serotonin 5×10^{-9} M では $16.9 \pm 5.0\%$ から $4.8 \pm 1.7\%$ へ、 2×10^{-8} M では $40.8 \pm 6.1\%$ から $13.5 \pm 3.4\%$ に減弱した(図3)。

3) acetylcholine

acetylcholine は $10^{-8} \sim 10^{-5}$ M の範囲で用量依存性の収縮をひきおこし、 10^{-5} M における収縮は $K^+ 30$ mM 収縮の $84.3 \pm 11.6\%$ (n=8) であった。しかし acetylcholine の反応は繰り返す事により減弱し、安定した反応は得られなかった。acetylcholine 10^{-5} M の最初の回の収縮を 100% としたとき、二回目は $42.0 \pm 10.0\%$ 、三回目は $13.0 \pm 5.9\%$ にまで減弱し拮抗薬による影響は観察できなかった。

4) 9,11-epithio-11,12-methano TXA₂ (S-TXA₂)

S-TXA₂ は 10^{-10} M から用量に応じた収縮反応をひき起こし、その最大収縮は 10^{-8} M で得られた。その収縮度は $K^+ 30$ mM 収縮の $109.4 \pm 8.0\%$ (n=8) であった。高濃度の S-TXA₂ を処置すると標本洗浄を繰り返しても処置前の静止張力にもどりにくかった。そこで S-TXA₂ 3×10^{-10} M 一回投与による収縮の拮抗薬による変化をみた。PG 拮抗薬と言われている diphloretin phosphate¹²⁾ 10^{-5} M 前処置により 3×10^{-10} M S-TXA₂ 収縮は完全に消失した(n=6)。

5) norepinephrine, phenylephrine および clonidine

ブタ冠動脈は norepinephrine 投与により拡張作用を示したが、propranolol 10^{-6} M 前処置により収縮作用に転じた(図4)。 $10^{-7} \sim 10^{-5}$ M の範囲で用量依存性の収縮作用を示し、 10^{-5} M の濃度では $K^+ 30$ mM 収縮の $21.5 \pm 4.9\%$ (n=8) の収縮を示した。この収縮作用は α_2 拮抗薬 yohimbine 10^{-8} および 10^{-7} M 前処置を行なっても影響を受けなかつたが、 α_1 拮抗薬 prazosin 10^{-9} M 以上の前処置で抑制された(図5)。

phenylephrine は 10^{-7} から 10^{-4} M で用量依存性の収縮作用を示し、 10^{-4} M では $K^+ 30$ mM 収縮の $4.6 \pm 1.1\%$ (n=9) の収縮をひきおこした。この収縮作用は prazosin 10^{-9} および 10^{-8} M 前処置により用量に応じて抑制された(n=6)。しかし yohimbine 10^{-8} および 10^{-7} M 前処置は phenylephrine の用量作用曲線に有意に変化しなかつた(図6)。phenylephrine の

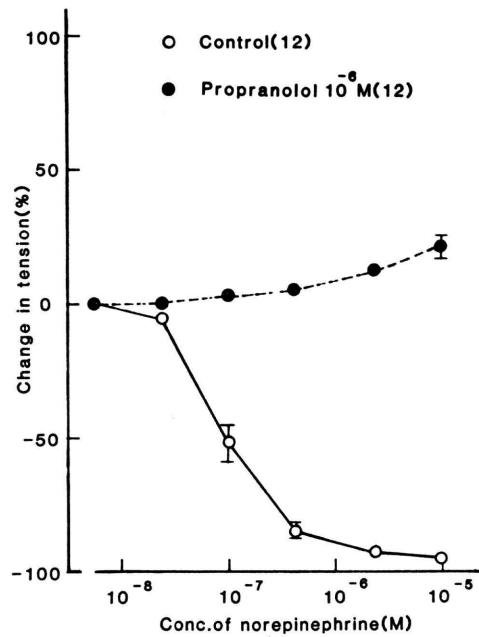


Fig. 4 Concentration-response curves for norepinephrine in the absence (open circles) and presence of 10^{-6} M propranolol (open circles). In the absence of the β -antagonist, preparations were contracted with PGF_{2 α} . Relaxations induced by 10^{-4} M papaverine were taken as 100%. In propranolol-treated preparations, contractions induced by 30 mM K^+ were taken as 100%. Vertical lines represent the mean \pm S.E.

収縮作用は prazosin 高用量処置後も拡張に逆転することはなかつた(n=6)。一方 clonidine は 10^{-7} から 10^{-4} M の範囲で用量依存性の拡張作用を示し、 10^{-4} M では papaverine 10^{-4} M による拡張を 100% としたとき、 $45.0 \pm 9.2\%$ の拡張をひきおこした。この拡張作用は yohimbine 10^{-8} M 前処置により消失した(n=6)。

II. ブタ冠動脈における収縮物質間の相互作用

1) serotonin 5×10^{-8} M および S-TXA₂ 10^{-11} M 前処置による histamine 収縮作用の変化

単独では収縮作用を表わさない serotonin 5×10^{-8} M および S-TXA₂ 10^{-11} M を前処置後、histamine の用量作用曲線の変化を観察した。未処置の標本における histamine 10^{-5} M の収縮を 100% としたとき、serotonin 前処置によって histamine 5×10^{-7} M による収縮は $0.8 \pm 0.4\%$ から $7.9 \pm 1.4\%$ へ、 2×10^{-6} M では $29.2 \pm 3.3\%$ から $58.0 \pm 6.7\%$ へと有意に増強された(図7-左)。

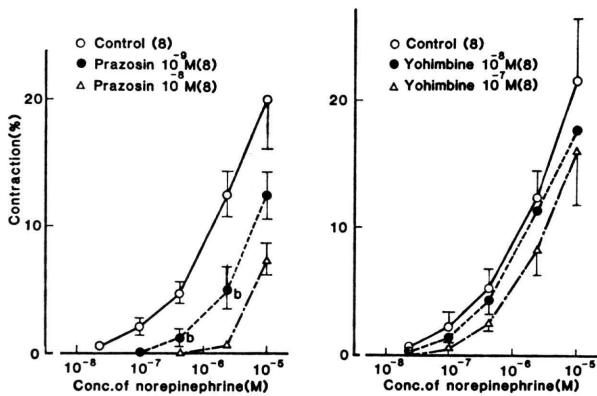


Fig. 5 Modification by prazosin (left figure) and yohimbine (right figure) of the concentration-response curve for norepinephrine in pig coronary arteries treated with propranolol. Contractions induced by 30 mM K⁺ were taken as 100%. b, Significantly different from controls, P<0.01. Vertical lines represent the mean±S.E.

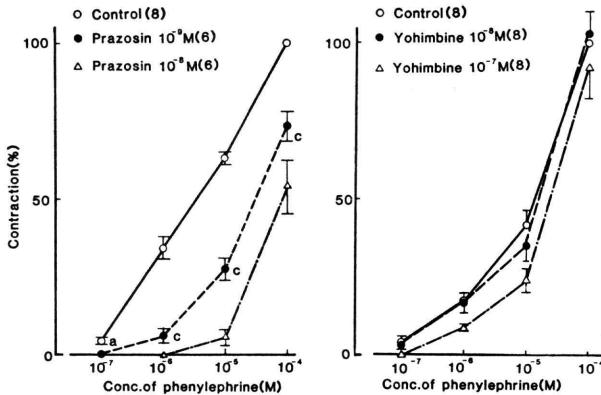


Fig. 6 Modification by prazosin (left figure) and yohimbine (right figure) of the concentration-response curve for phenylephrine in pig coronary arterial strips. Contractions induced by 10⁻⁴ M phenylephrine in control media were taken as 100%. Vertical lines represent the mean±S.E. ^aP<0.05, ^cP<0.001: significantly different from controls.

しかし、histamine 10⁻⁵ M 収縮を 100% としたときの ED₅₀ は未処置の標本で [2.89±0.48]×10⁻⁶ M, serotonin 处置下では [2.52±0.64]×10⁻⁶ M と有意な変化はみられなかった。S-TXA₂ 前処置標本では、histamine 5×10⁻⁷ M の収縮は 3.9±2.2% から 16.0±4.7% へ、2×10⁻⁶ M では 34.6±6.4% から 70.0±7.7% に増強された(図 7-右)。しかし、ED₅₀ はそれぞれ [2.73±0.38]×10⁻⁶ M と [2.23±0.34]×10⁻⁶ M で、両者に有意差がみられなかった。

2) histamine 10⁻⁷ M および S-TXA₂ 10⁻¹¹ M 前処置による serotonin 収縮作用の変化

単独では収縮作用を表わさない histamine 10⁻⁷ M

および S-TXA₂ 10⁻¹¹ M を前処置後、serotonin の用量作用曲線の変化を観察した。未処置の標本における serotonin 2×10⁻⁶ M 収縮を 100% としたとき、histamine 前処置後 serotonin 10⁻⁷ M 収縮は 11.8±2.1% から 21.1±2.6% へ、5×10⁻⁷ M では 70.6±1.7% から 90.0±3.7% へと有意に増大した。しかし、serotonin 2×10⁻⁶ M 収縮を 100% としたときの ED₅₀ はそれぞれ [3.69±0.61]×10⁻⁷ M, [2.88±0.29]×10⁻⁷ M と変化はなかった(図 8-左)。S-TXA₂ 前処置の標本では、serotonin 10⁻⁷ M 収縮は 16.1±4.7% から 45.4±11.5% へ、5×10⁻⁷ M では 69.8±6.0% から 121.5±18.6% へと有意に増大した(図 8-右)。また、ED₅₀ は

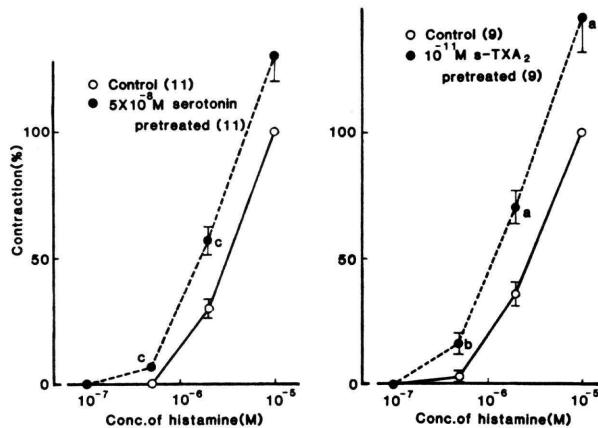


Fig. 7 Modification by serotonin 5×10^{-8} M or s-TXA₂ 10^{-11} M of the concentration-response curve for histamine in pig coronary arteries. Contractions induced by 10^{-5} M histamine in control media were taken as 100%. ^a P < 0.05, ^b P < 0.01, ^c P < 0.001: significantly different from controls. Vertical lines represent the mean \pm S.E.

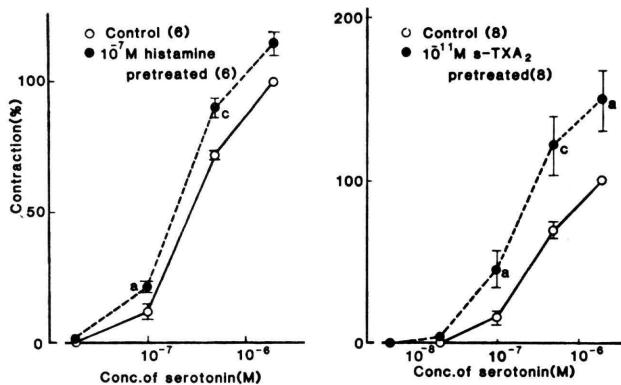


Fig. 8 Modification by 10^{-7} M histamine and 10^{-11} M s-TXA₂ of the concentration-response curve for serotonin in pig coronary arteries. Contractions induced by 2×10^{-6} M serotonin in control media were taken as 100%. ^a P < 0.05, ^c P < 0.001: significantly different from controls. Vertical lines represent the mean \pm S.E.

それぞれ $[2.55 \pm 0.38] \times 10^{-7}$ M, $[1.83 \pm 0.29] \times 10^{-7}$ M と有意な変化はみられなかった。

III. 収縮物質と内膜との関係

内皮細胞の機械的な除去が平滑筋細胞の収縮力に影響を与えない事を確認するために、単位断面積あたりの K⁺ 30 mM による張力を内膜の有無で比較した。内膜の存在する標本の K⁺ 30 mM による発生張力は 6.8 ± 0.2 (g/mm²) (n=12), 存在しない標本では 7.0 ± 0.4 (g/mm²) (n=14) で両者に有意差はなかった。内膜を除去しなかった標本では K⁺ 30 mM で収縮させた時の substance P 10^{-7} M の拡張は $47.8 \pm 4.0\%$ であつ

たのに対し、内膜を除去した場合は拡張が全くみられなかつた。

1) histamine

histamine の収縮作用は内膜の除去により増強した。K⁺ 30 mM 収縮を 100% としたとき、histamine 5×10^{-7} M では $1.0 \pm 1.0\%$ から $13.5 \pm 5.1\%$ へ、 2×10^{-6} M では $25.5 \pm 4.8\%$ から $87.0 \pm 7.1\%$ へと有意に増強した(図 9-左)。また、histamine 10^{-5} M 収縮を 100% としたときの ED₅₀ 値は $[2.97 \pm 0.35] \times 10^{-6}$ M から $[1.98 \pm 0.15] \times 10^{-6}$ M へと有意に減少した (P < 0.05)。histamine の収縮作用は cyclo-oxygenase inhibitor,

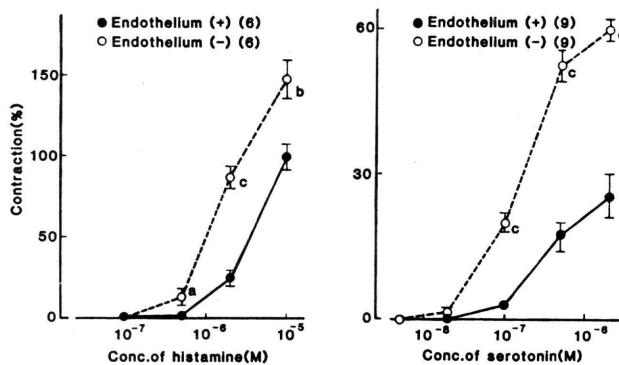


Fig. 9 Modification by removal of endothelium of the contractile response to histamine and serotonin in isolated pig coronary arteries. Contractions are expressed as percent of the maximum contraction induced by 30 mM K⁺. ^aP<0.05, ^bP<0.01, ^cP<0.001: significantly different from controls. Vertical lines represent the mean±S.E.

indomethacin 10⁻⁶ M を前処置しても変化がなかった (n=6).

2) serotonin

serotonin の収縮作用も内膜除去により増強され, K⁺ 30 mM 収縮を 100%としたとき serotonin 10⁻⁷ M では 2.7±0.7% から 20.0±2.1% へ, 5×10⁻⁷ M では 17.7±7.1% から 52.7±3.4% に変化した (図 9-右). serotonin 2×10⁻⁶ M 収縮を 100%としたときの ED₅₀ 値は [2.82±0.28]×10⁻⁷ M から [1.81±0.13]×10⁻⁷ M へと有意に減少した (P<0.01) (n=9). また,

ketanserin 10⁻⁵ M 前処置下でみられた serotonin の拡張作用 (I-2, serotonin の項参照) は内膜除去により完全に消失した.

3) norepinephrine, phenylephrine および clonidine

norepinephrine の収縮作用は内膜除去により増強された. すなわち, K⁺ 30 mM 収縮を 100%としたとき norepinephrine 5×10⁻⁷ M で 0.1±0.1% から 3.4±1.1% へ, 2×10⁻⁶ M では 1.5±0.5% から 12.0±3.7% に増大した (図 10-左). しかし, norepinephrine 10⁻⁵

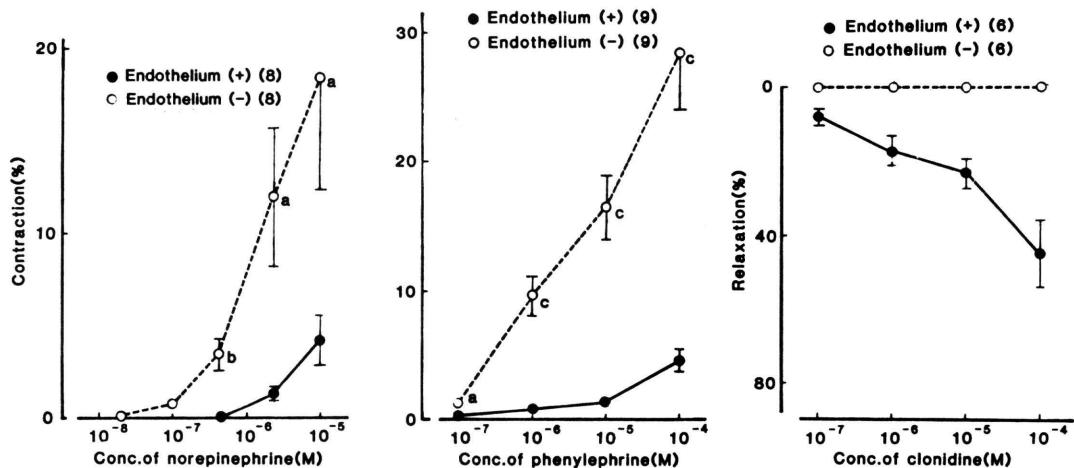


Fig. 10 Concentration-response curve for norepinephrine, phenylephrine and clonidine in control and endothelium-denuded pig coronary arterial strips. Contractions induced by 30 mM K⁺ were taken as 100%. Relaxations induced by 10⁻⁴ M papaverine were taken as 100%. ^aP<0.05, ^bP<0.01, ^cP<0.001: significantly different from controls. Vertical lines represent the mean±S.E.

M 収縮を 100% としたときの ED50 値はそれぞれ $[2.54 \pm 0.50] \times 10^{-6}$ M, $[2.71 \pm 0.91] \times 10^{-6}$ M と有意な変化はなかった (n=8)。

phenylephrine の収縮作用も内膜除去により増強したが, phenylephrine 10^{-4} M 収縮を 100% としたときの ED50 値はそれぞれ $[2.07 \pm 0.30] \times 10^{-5}$ M, $[2.31 \pm 0.59] \times 10^{-5}$ M と有意な変化はなかった (図10-中央). また, clonidine の拡張作用は内膜の除去により完全に消失した (図10-右).

考 察

種々の血管作動性物質の冠動脈作用をブタを用いて検討した. イヌやサルの冠動脈³⁾では acetylcholine や histamine で拡張反応を起こすのに対し, ブタ冠動脈ではヒト⁴⁾と同様に収縮反応を起こした. 一方, norepinephrine はブタ冠動脈に β 受容体優位による拡張反応をひきおこした. この拡張反応はイヌ³⁾やウシ¹³⁾の冠動脈でも報告されているが, 逆にヒト⁴⁾やサル¹⁴⁾の冠動脈では α 受容体優位の収縮反応をひきおこす. しかし, ブタ冠動脈でも β 遮断薬処置後にヒトでみられたと同様の収縮が観察された.

種々の動物の各種の血管部位における histamine の血管作用が報告されている. H₁受容体は収縮と拡張の両者に, H₂受容体は拡張作用に関連しており¹⁵⁾, PGI₂¹⁶⁾ないし内膜依存性拡張因子^{17,18)} (endothelium dependent relaxing factor: EDRF) の放出は内膜の H₁受容体刺激によってひきおこされると考えられている. ブタ冠動脈を用いた今回の実験では, histamine の収縮作用は chlorpheniramine で拮抗されたが, chlorpheniramine 10^{-6} M を前処置して収縮作用を全く消失させても拡張作用に転じる事ではなく, ヒト⁴⁾と比べるとブタ冠動脈における H₂受容体を介する拡張作用は非常に少ないと考えられる. cyclo-oxygenase inhibitor, indomethacin を前処置しても histamine の収縮作用には影響がなく, histamine による PGI₂遊離は本動脈に関する限り考えられない. serotonin に対するブタ冠動脈の収縮作用は, 選択的 S₂拮抗薬 ketanserin 10^{-5} M を前処置するとほぼ完全に消失し逆に拡張作用に転じた. この事実は S₂受容体が serotonin の収縮に関与している事を示唆するが methysergide や cinanserin といった S₁受容体に拮抗を示す薬物でもこの収縮作用に拮抗したため, S₁と S₂の両受容体が serotonin のブタ冠動脈収縮作用に関与していると考えられる. acetylcholine の作用はヒトと異なり tachyphylaxis が強く, 安定し

た用量作用曲線が得られなかつたため拮抗薬前処置の実験ができなかつた. しかし, ヒト⁴⁾やミニブタ¹⁹⁾においてその作用は atropine で拮抗され muscarine 受容体を介して収縮を起こすと考えられている. norepinephrine の収縮作用は yohimbine 前処置による影響を受けなかつたが, prazosin で用量依存性に減弱したことから α_1 受容体を介しているようである. 高濃度の prazosin (10^{-6} M) 前処置により norepinephrine は逆に拡張作用に転じたが, この作用は yohimbine で拮抗され, α_2 受容体を介している²⁰⁾と考えられる. さらに, clonidine は用量依存性にブタ冠動脈を拡張させ,それが yohimbine 10^{-7} M 前処置にて消失した. これらの事実は α_2 受容体がこの拡張作用に関与していることを示唆しており, ヒトやサル²¹⁾とは違った結果であった.

serotonin は, ほとんどの血管を収縮させるため今まで種々の動物, 種々の血管部位において angiotensin II, norepinephrine, fibrin および fibrinogen の分解産物, PGF_{2α}, TXA₂, TXA₂誘導体 (U44069) および histamine との相互作用^{22~26)}が報告されているが, これら血管作動性物質のうち冠動脈で検討されているのは U44069²²⁾だけである. 本実験ではブタ冠動脈で histamine および S-TXA₂の前処置が serotonin の ED50 を変化させずに収縮作用を相乗的に増強させることを観察した. histamine は, 多くの動物の冠動脈を弛緩させるため冠動脈における histamine と他の血管収縮性物質との相互作用は今まで検討されていない. 今回の実験では, 血管を収縮させない濃度の serotonin や S-TXA₂の前処置を行なうと histamine のブタ冠動脈収縮作用は増強されたが ED50 に変化はなかつた. これらの事実は, histamine や serotonin の収縮作用の増強は, これら agonist の受容体への結合を促進するのではなくそれ以降の段階でひき起こされると考えられる. これらの事実は, 生体内においても histamine, serotonin および S-TXA₂はそれぞれ単独でも冠動脈を収縮させるが, これらが相互に関連する事によりさらに強力な冠動脈収縮をひきおこす事を示唆している.

内膜除去により histamine, serotonin および norepinephrine の冠動脈収縮作用は著明に増強し, ED50 も histamine と serotonin で有意に減少した. 一方, K⁺の収縮作用は内膜除去で影響を受けず, ヒト冠動脈と同様の結果が得られた¹⁸⁾. histamine はイヌ腸間膜動脈などでは H₁受容体を介した内膜依存性の PGI₂遊離による拡張作用をひきおこす^{16,27)}と報告されている.

しかし、ブタ冠動脈では histamine の収縮作用は indomethacin で影響を受けなかったことから PGI₂ 遊離の可能性は除外される。Satoh and Inui¹⁷⁾ や Van De Voorde and Leusen¹⁸⁾ の示す様に H₁ 受容体を介する EDRF の遊離がブタ冠動脈でもひきおこされるのかかもしれない。ketanserin 10⁻⁵ M 前処置下での serotonin の拡張作用は内膜除去により消失し、また S₁ 拮抗薬でも拮抗されたことより、この拡張作用には内膜の S₁ 受容体を介した血管拡張性物質の遊離が関与していると考えられる。イス冠動脈でも S₁ 拮抗薬である methiothepin でこの拡張作用が拮抗され^{28,29)} 内膜の S₁ 受容体の関与が示唆されている。

norepinephrine の収縮作用も内膜を除去する事により著明に増強された。この収縮は高用量の prazosin (10⁻⁶ M) 前処置により拡張に逆転し、この拡張作用は内膜除去並びに yohimbine の前処置で消失した。また clonidine は内膜の存在下でのみ拡張をひきおこし、yohimbine でその拡張作用が抑制された。これらの事実は、α₂ 受容体を介して内膜依存性に拡張作用をひきおこす事を示している。一方、phenylephrine の収縮作用は prazosin 高用量前処置後も拡張に転じる事はなかった。phenylephrine の場合、内膜からの血管拡張性物質の遊離が α₁ 受容体を介するものか、α₂ 受容体を介するものか、又はそれ以外の機序によるかは明らかでない。

Furchtgott and Zawadski³⁰⁾ が提唱した EDRF 以外に、他の因子が内膜に存在する可能性が示唆されている。例えは、endothelium derived constricting factor³¹⁾、diffusion barrier³²⁾、endothelial uptake mechanism³³⁾ などであるが今回の内膜除去による histamine, serotonin および norepinephrine の収縮作用の増強にこれらの因子が関与しているとは考えられない。Ishii and Tanaka³⁴⁾ は、ミニブタの冠動脈に動脈硬化を作り histamine の局所注射によりその部位に痙攣が起こる事を報告している。Kalsner and Richard²²⁾ は、心筋梗塞や狭心症、突然死した冠動脈組織中の histamine, serotonin および norepinephrine の濃度およびそれらの薬物に対する血管の反応性を検討し、特に histamine の組織内濃度が二倍以上となっている事、血管反応性も千倍以上と著明に増強している事を報告し、histamine が冠痙攣の発生に重要な役割を果している事を示唆している。血管収縮性物質の収縮作用を修飾する因子として内皮細胞³⁵⁾、低酸素^{36,37)}、低温^{38,39)}、血液の pH¹⁰⁾ などがあげられている。本実験で得られた

結果はこれらに加えて serotonin, histamine, TXA₂ やその他の冠血管収縮性物質が相乘的に働いて強い冠動脈収縮をひきおこすことが冠動脈痙攣の発生に重要である可能性を示唆している。

文 献

- Ginsburg, R., Bristow, M.R., Harrison, D.C. and Stinson, E.B.: Chest **78**, Supp. 180 (1980)
- Kalsner, S. and Richard, S.: Science **30**, 1435 (1984)
- Konishi, M., Toda, N. and Yamamoto, M.: Br. J. Pharmacol. **74**, 111 (1981)
- Toda, N.: Am. J. Physiol. **245**, H937 (1983)
- Müller-Schweintzer, R.: Cardiovasc. Pharmacol. **2**, 645 (1980)
- Tada, M., Kuzuya, T., Inoue, M., Kodama, K., Mishima, M., Yamada, M., Inui, M. and Abe, H.: Circulation **64**, 1107 (1981)
- Ginsburg, R., Bristow, M.R., Stinson, E.B. and Harrison, D.C.: Life Sci. **26**, 2245 (1980)
- Agarwal, O.P.: Artery **10**, 368 (1982)
- Nakagawa, Y., Takeda, K., Katano, Y., Matsubara, I., Nabata, H., Nakazawa, M., Hashimoto, T., Sakurai, H. and Ogasawara, S.: Japan. J. Pharmacol. **29**, 271 (1979)
- Geissinger, H.D.: In Principles and Techniques of Scanning Electromicroscopy, Edited by Hayat, M., Vol. 2, p. 26, Van Nostrand Reinhold, New York (1974)
- Zawadsky, J.V., Furchtgott, R.F. and Cherry, P.: Fed. Proc. **40**, 689 (1981)
- Eakins, K.E., Fex, H., Fredholm, B., Hogberg, B. and Veige, S.: Adv. Biosci. **9**, 135 (1973)
- Alstra, B.: Am. Heart. J. **72**, 709 (1966)
- Toda, N.: Circ. Res. **49**, 1228 (1981)
- Marshall, I.: Cardiovasc. Pharmacol. **6**, S587 (1984)
- Baenziger, N.L., Fogerty, F.J., Mertz, L.F. and Chernuta, L.F.: Cell **24**, 915 (1981)
- Satoh, H. and Inui, J.: Eur. J. Pharmacol. **97**, 321 (1984)
- Van De Voorde, J. and Leusen, I.: Eur. J. Pharmacol. **87**, 113 (1983)
- Nakazawa, M., Takeda, K., Nakagawa, I. and Imai, S.: Experientia **38**, 1470 (1982)
- Cocks, T.M. and Angus, J.A.: Nature **305**, 7627 (1983)
- Toda, N., Okamura, T., Nakajima, M., Shimizu, I. and Miyazaki, M.: Japan. J. Pharmacol. **36**, Supp. 271 (1984)
- Mullae, K.M., Bradley, G. and Moncada, S.: Eur. J. Pharmacol. **84**, 115 (1982)
- Fovster, C., Whalley, E.T., Mohan, J. and Dutton, J.: Br. J. Clin. Pharmacol. **10**, 231

(1980)

- 24) Van Nueten, J.M., Janssen, P.A.J., De Ridder, W. and Vanhoutte, P.M.: Eur. J. Pharmacol. **77**, 281 (1982)
- 25) Van Nueten, J.M., Janssen, P.A.J., Van Beek, J., Xhonnex, R., Verbeuren, I.J. and Vanhoutte, P.M.: J. Pharmacol. Exp. Ther. **218**, 217 (1981)
- 26) Kubo, T. and Su, C.: Clin. Exp. Hypertens. (A) **5**, 1501 (1983)
- 27) Toda, N., Konishi, M. and Miyazaki, M.: J. Pharmacol. Exp. Ther. **223**, 257 (1982)
- 28) Houston, D.S., Shepherd, J.T. and Vanhoutte, P.M.: Am. J. Physiol. **248**, H 389 (1985)
- 29) Cohen, R.R., Shepherd, J.T. and Vanhoutte, P.M.: Science **221**, 273 (1983)
- 30) Furchtgott, R.F. and Zawadski, J.V.: Nature **288**, 373 (1980)
- 31) Ingeman-Wojenski, C., Silver, M.J. and Smith, J.B.: Clin. Invest. **67**, 1292 (1981)
- 32) Catravas, J.D. and Gillis, C.N.: J. Pharmacol. Exp. Ther. **224**, 28 (1983)
- 33) Trederenberg, U.: Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol. **281**, 13 (1974)
- 34) Ishii, Y. and Tanaka, K.: Science **221**, 560 (1983)
- 35) Donald, S.H., Shepherd, T.T. and Vanhoutte, P.M.: Am. J. Physiol. **248**, H 389 (1985)
- 36) Nabata, H. and Sakai, K.: Eur. J. Pharmacol. **96**, 37 (1983)
- 37) Van Nueten, J.M. and Vanhoutte, P.M.: Eur. J. Pharmacol. **64**, 173 (1980)
- 38) Lindblad, L.E., Shepherd, J.T. and Vanhoutte, P.M.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **176**, 119 (1984)
- 39) Vanhoutte, P.M. and Shepherd, J.T.: Am. J. Physiol. **218**, 187 (1970)

Abstract—Kouichi IKENOUE, Seiichi KAWAKITA* and Noboru TODA (Department of Pharmacology, and *First Department of Internal Medicine, Shiga University of Medical Science, Seta, Otsu 520-21, Japan). Vasoconstrictor responses of isolated pig coronary arteries. *Folia pharmacol. japon.* **87**, 281~290 (1986)

In helical strips of pig coronary arteries, histamine, serotonin, acetylcholine and a stable analogue of thromboxane A₂ (9, 11-epithio-11, 12-methano TXA₂: s-TXA₂) produced a dose-dependent contraction. The histamine-induced contraction was suppressed by treatment with chlorpheniramine, suggesting an involvement of H₁ receptors. Contractile responses to serotonin were attenuated by not only ketanserin, an S₂ antagonist, but also by cinanserin and methysergide. Relaxation induced by serotonin in preparations treated with high concentrations of ketanserin were inhibited by cinanserin and methysergide. Norepinephrine contracted coronary arteries treated with propranolol. Contractile responses to norepinephrine were reversed to relaxations by prazosin, which were abolished by treatment with yohimbine. Contractile responses to histamine were potentiated by treatment with low concentrations of serotonin or s-TXA₂. Contractile responses to serotonin were also potentiated by low concentrations of histamine or s-TXA₂. Removal of the endothelium from pig coronary arterial strips potentiated contractions induced by serotonin, histamine and norepinephrine. These results suggest that, in addition to damaged endothelium, integrating action of endogenous vasoconstrictors, including histamine, serotonin, TXA₂ and norepinephrine, may play an important role in producing coronary vasospasm.