

内皮細胞と血管平滑筋の機能

鈴木 光* 長尾 哲彦*
古森 公浩* 陳 貴 発*

1. はじめに

アセチルコリン (ACh) は in vivo では血管拡張作用を示すが、摘出血管標本では必ずしも弛緩反応をひきおこさず、むしろ収縮反応をおこす。この paradox は Robert F. Furchgott の研究室で起こった実験上のミスから、内皮細胞が関与する事が証明されるに及んで見事な解決を見た¹³⁾。彼らはウサギ胸部大動脈標本をノルアドレナリン (NA) で収縮させ、それに各種 β 受容器刺激薬を加えて NA 収縮の抑制の程度から β 受容器刺激作用の比較検討を行なっていて、誤って carbachol を加えてしまったところ大きな弛緩反応がおこった。その当時まで摘出血管では ACh は収縮薬で、NA 収縮時に ACh を加えるとさらに収縮が増強されることを多くの研究者が報告していたし、Furchgott 自身もそのような結果を得ていた¹²⁾ ので、この収縮から弛緩への変化に困惑し、その原因を考えた。ほどなく彼らはその原因が標本作成方法の違いにあることに気付いた。すなわち ACh で収縮するのは血管をラセン状に切った標本で、ACh で弛緩するのは血管を輪切りにした標本であった。両者の違いは標本作成中に内皮細胞が損傷されるか否かであり、さらに種々の方法で内皮細胞を除去すると ACh による弛緩が収縮にかわる事が確められた。ACh や carbachol による収縮も弛緩反応も atropine によって抑制されるので、どちらも muscarinic receptor を介した反応であり、弛緩反応は内皮細胞からの間接作用、収縮反応は血管平滑筋への直接作用であると考えられた⁹⁾。

Furchgott と Zawadzki¹³⁾ の報告以来、血管内皮細胞は多くの研究者の関心を集め、ACh 以外にも多数の生体内生理活性物質、薬物、あるいは生体の生理的反応が内皮細胞を介して間接的に血管平滑筋に作用していることが明らかになってきた。

この内皮細胞に依存した血管弛緩が、内皮細胞から遊離される未知物質が液性に拡散して中膜平滑筋に作用することによって発生することは Furchgott らの巧妙な実験¹³⁾ によって証明された。すなわち、彼らは内皮細胞を除去した血管条片に内皮細胞の附着した他の血管条片を附着させておくと、内皮細胞を除去した血管条片でも ACh で弛緩することを示した。

現在のところ内皮細胞から遊離される血管弛緩物質が何であるか、まだわかっていない。ここでは未知物質を Furchgott ら¹³⁾ に従って EDRF (Endothelium-Derived Relaxing Factor) と呼び、その性質や特徴について考えてみたい。なお内皮細胞依存性血管弛緩についてはすでにいくつかの総説が刊行されている^{9, 10, 11, 41, 52)}。

2. 内皮細胞の形態的機能的特徴

内皮細胞は血管内腔に一層に並ぶ有核の扁平な細胞で、形態的には大血管と毛細血管など部位によって多少異なるものの、基本的には均一な形態をしている。血管壁を構成する成分の中で内皮細胞だけが連続した構造をもち、したがってこの細胞層は血管壁の物質透過に重要な役割をもっている^{28, 54)}。かつて内皮細胞は単なる障壁あるいは隔壁としての機能しか考えられていなかったが、Jaffe ら²⁷⁾ により開発された内皮細胞の培養技術によって、内皮細胞は単なる障壁ではなく、多く

*九州大学医学部薬理学教室

の受容器をもち、高い酵素活性を示し、種々の物質を合成した遊離し得る機能を有することが明らかにされてきた。例えば、

a. 酵素活性

adenylate cyclase (cyclic AMP 合成酵素), guanylate cyclase (cyclic GMP 合成酵素), nucleotidase (adenosine nucleotide 分解酵素), cyclooxygenase (PG 合成酵素), phospholipase A₂ (膜リン脂質からアラキドン酸遊離), angiotensin converting enzyme (angiotensin I を angiotensin II に変換) など。

b. 合成能

コラーゲン (タイプIV), fibronectin, PGI₂, factor VIII-related antigen, α₂-macroglobulin, glucosaminoglycans, heparin, elastin などの合成。

c. 代謝機能

血中の NA, アデノシン, セロトニン, bradykinin, substance P などを入活性化する。

d. 受容器

ホルモン, 神経伝達物質, オータコイドなど多くの生理活性物質の受容器をもち、この受容器刺激で EDRF や PGI₂ など血管平滑筋に作用する物質を遊離する。

e. 障壁としての機能

内皮細胞には収縮タンパク質 (アクチンやミオシン) が存在し、これらのタンパク質の作用で内皮細胞が収縮運動をおこし、細胞間隙を変化させて血液中の物質の血管壁透過を調節しているという。しかしアクチンやミオシンは内皮細胞の細胞骨格の構成成分であって細胞運動の機能は有していないという見解もある。

内皮細胞はこのような多くの機能を持ち、またその量も肝細胞に匹敵する位の量になると推定され²¹⁾、従って内皮細胞による循環系の局所調節の役割は今まで考えられていた以上に重要であるらしい。

内皮細胞膜の電気生理学的性質はまだよく知られていないが、静止膜電位は約 -40 mV 位で、各種二価イオン (Ca⁺⁺, Cu⁺⁺, Fe⁺⁺) やヒスタミンで脱分極するという³⁸⁻⁴⁰⁾。ブタ大動脈から採取した内皮細胞を培養していくと、静止膜電位は -10 mV 位から次第に増大していき6日目以最

大値 (約 -22 mV) になるという⁴⁴⁾。

3. 血管弛緩と内皮細胞

血管弛緩作用をもつ物質は EDRF を介して間接的に中膜平滑筋の収縮を抑制する物質 (内皮細胞依存性物質) と、直接平滑筋に作用して筋収縮を抑制したり弛緩させたりする物質 (内皮細胞非依存性物質) に分けられる (表1)。

内皮細胞非依存性物質には、平滑筋細胞への Ca 流入抑制 (Ca 拮抗薬など), cyclic AMP を介した細胞内 Ca⁺⁺ 濃度減少やミオシン軽鎖キナーゼのリン酸化促進 (β₂-adrenergic agonists, papaverine など), cyclic GMP を介した細胞内 Ca 排出促進 (亜硝酸剤など) などの機序による筋弛緩の他、細胞内収縮系の抑制 (W-7 によるカルモジュリンの阻害や ML-9 によるミオシン軽鎖キナーゼ阻害) などがある²⁴⁾。

内皮細胞依存性物質の多くはホルモン, 神経伝達物質あるいはオータコイドなどの生理活性物質で、内皮細胞膜に存在する受容器を介して EDRF の遊離を促進する。これらの物質には、直接平滑筋に興奮作用をもつものが多く、例えば NA は強い血管収縮作用をもつが内皮細胞を除去するとさらに NA 収縮が増強される^{17,25)}。すなわち NA のように EDRF の遊離も促進するが、平滑筋への直接作用が強く内皮細胞の関与がはっきりしないものから ACh やヒスタミンなどのように低濃度では EDRF による弛緩が発現し、高濃

表1 血管弛緩作用薬

I. 内皮細胞依存性の弛緩作用			
Acetylcholine	ATP	ADP	Adenosine
A23187	Arachidonic acid		
Bradykinin	Catecholamines		Histamine
Hydralazine	Thrombin		
Melittin	Substance P	Vasoactive Intestinal Peptide	
	Vasopressin	PAF (platelet activating factor)	
Hypoxia	電気刺激	血流量	血流速
II. 内皮細胞非依存性の弛緩作用			
a.	Adenosine	Papaverine	Ca-antagonists
b.	cyclic AMP	PGI ₂	Forskolin β ₂ -adrenergic agonists
			Cholera toxin
c.	cyclic GMP	Atrial natriuretic factor	
	Sodium azide	Sodium nitroprusside	
			Nitroglycerine

度になると平滑筋への直接作用によって収縮が発現する⁵¹⁾といった二相性の反応をひき起こすものもある。

内皮細胞から EDRF を遊離させる因子は表 1 に挙げたように、A-23187 のように受容器を介さない物質もある。A-23187 は Ca^{++} ionophore で、内皮細胞への Ca^{++} 流入が EDRF 遊離に関与する事を示唆しているが、その詳細な機序については、例えば神経末端における Ca^{++} による伝達物質放出促進のように、 Ca^{++} と EDRF 分泌の間に関係があるのか、まだよくわからない。Monensin (Na^{+} 選択的 ionophore) には EDRF 遊離促進作用はない¹¹⁾ し、また EGTA など二価イオンキレート剤や Ca^{++} 拮抗薬で EDRF 遊離は減少するので、EDRF 産生又は遊離には Ca^{++} の内皮細胞流入が必須の要因であろう。

Melittin はハチ毒に含まれるポリペプチドで¹⁹⁾ phospholipase A_2 の活性化作用をもち、血管内皮細胞にも作用して強い EDRF 遊離をおこす⁶⁾。

血液の流速や血圧なども内皮細胞から EDRF 遊離量を変化させる。血流量の増加は内皮細胞依存性に血管拡張をきたす⁴²⁾。血管内を流れる血流は脈波などもあり常に変動しており、血圧などと共に EDRF を介して局所循環の調節がおこなわれていると思われる。

EDRF は経壁神経刺激によっても放出される⁷⁾。摘出血管標本で血管運動神経の選択的電気刺激をするのに、平滑筋と神経の細胞膜の時定数の違いを利用して、短い矩形波電気刺激を与えるが、このような刺激が内皮細胞から EDRF を遊離させることもあり得るわけで注意を要する。このような特殊な現象は肺動脈や脳・冠動脈などでよく観察され、脳動脈では平滑筋に電気的变化を惹起し得ないような電気刺激で内皮細胞から遊離した物質によると思われる細胞膜脱分極や収縮が発生する³⁷⁾ (長尾哲彦・未発表)。

4. EDRF の性質

血管弛緩に内皮細胞から遊離される物質に関与している事が報告されて 7 年経つが、現在なお EDRF がどのような化学的性質をもつ物質であるのか、単一の物質であるのか、あるいは血管の部位により遊離される物質が異なるのか等々不明

な点が多い。EDRF は最初アラキドン酸カスケードの 1 つであろうと推定された¹³⁾ が、その後アラキドン酸からプロスタグランジン (PG), プロスタサイクリン (PGI_2), トロンボキサン A_2 (TXA_2) などへの合成に関与する酵素の抑制剤存在下でも内皮依存性弛緩がおこったり、PGs, PGI_2 , TXA_2 などとその血管が弛緩しないなど、矛盾する様な実験結果が提出され、PG 系物質の関与は否定的である¹¹⁾。

EDRF の化学的本体が不明のまま、その生理学的薬理的性質については次々と新しい報告がなされている。先づ EDRF の安定性については、遊離されてから比較的早くその活性を失う不安定な物質であるらしい事が報告されている。それは次の様な実験結果に基づく。内皮細胞を除去した血管と正常の血管とをチューブに連結し、このチューブの長さをいろいろ変えられるようにしておく。ACh を内皮細胞の附着している血管側から流すと内皮細胞の附着していない血管も弛緩する。連結しているチューブの長さを変えて灌流液の流れる速さから EDRF 活性の半減期を測定すると、6 秒¹⁶⁾ から 49 秒⁴⁾ まで種々報告されているが、いずれにせよ遊離後直ちに活性を失う不安定な物質であるといえよう。

血液の pO_2 はふつう 120-150 mmHg であるが、摘出血管標本で灌流液を高酸素分圧 ($\text{pO}_2 > 500 \text{ mmHg}$) にすると、ACh などによる内皮細胞依存性弛緩反応が減弱する。このことは EDRF が高酸素状態で活性を失い易い性質をもっていることを示唆しているであろう。 pO_2 が 120 mmHg 以下の低酸素分圧になると EDRF の遊離又は生成が抑制され^{4, 46)}、平滑筋を興奮させるような物質が放出されるようになるという⁴⁵⁾。

5. ACh と血管平滑筋の電気生理

血管運動神経は主にアドレナリン作動性でコリン作動性神経の存在も推定されているがまだ確認されてはいない。冒頭にも述べたように、ACh は in vivo で血管拡張効果をもち、その機序として、ACh によるアドレナリン作動性神経筋伝達の抑制と平滑筋収縮性の抑制の 2 つが考えられていた⁴⁹⁾。事実 ACh で神経刺激時の NA 放出量は減少し^{1, 34)}、また平滑筋細胞膜電位は K^{+} 透過性増大、膜抵抗減少を伴い過分極する^{3, 29, 33, 50)}。モ

ルモット腸間膜動脈でみられる ACh による過分極反応は内皮細胞を除去すると脱分極反応に転じ、ACh はしたがって血管平滑筋には脱分極（興奮）作用をもっている³⁾。しかしウサギ大腿動脈では ACh による過分極は一過性で、しかもこの過分極は内皮細胞に依存しており、内皮細胞に依存した ACh による弛緩反応が持続的であるのと対照的である³⁰⁾。またこの血管において oxotremorine (muscarinic receptor agonist) は ACh と同じように NA 収縮を内皮細胞依存性に抑制するが、細胞膜電位の変化を伴わない³¹⁾。そこで ACh と oxotremorine は EDRF を遊離させるが、平滑筋を過分極させる物質は ACh によってのみ遊離されると考えられる。

内皮細胞から複数の物質が放出される事はさらに ACh の作用におよぼすムスカリン様受容器拮抗薬の効果の違いからも推定できる。ムスカリン様受容器は M_1 と M_2 受容器に分けられ、pirenzepine は M_1 受容器に選択性の高い拮抗薬であり²⁰⁾、atropine は $M_1 \cdot M_2$ 両受容器に対し同じ位の強い拮抗作用をもつ。ウサギ大腿動脈で、NA 収縮の ACh による内皮細胞依存性弛緩（すなわち EDRF による弛緩）は atropine がより強い拮抗作用を示し、すなわち ACh は内皮細胞の M_2 受容器を介して EDRF を遊離させる。一方、ACh による内皮細胞依存性過分極反応に対し pirenzepine と atropine は同程度の強さで拮抗する。すなわちこの過分極は内皮細胞の M_1 受容器を介して遊離された物質によると考えられる³²⁾。つまり内皮細胞膜にある M_1 および M_2 受容器は各々刺激されると別々の物質を遊離すると考えられる。

モルモット腸間膜動脈では substance P も内皮細胞依存性に平滑筋細胞膜を過分極させる²⁾。

6. EDRF による弛緩の機序

EDRF による血管平滑筋弛緩の機序についてはまだ十分理解されていないが、ACh による弛緩には平滑筋細胞内 cyclic GMP 量の増加を伴うことが最近報告された^{5, 23, 43)}。ACh による cyclic GMP 量の増加は内皮細胞依存性であるが、同じように細胞内 cyclic GMP を増加させ弛緩させる亜硝酸剤は内皮細胞非依存性である点が異なっている。したがって、EDRF 又は亜硝酸剤による

筋弛緩は cyclic GMP 依存性タンパク質のリン酸化によっておこり、その結果ミオシン軽鎖の脱リン酸化、すなわち弛緩がおこる、と考えられている⁴³⁾。cyclic GMP 合成酵素である guanylate cyclase の阻害作用をもつ methylene blue が EDRF による弛緩を抑制し、一方 cyclic GMP 分解酵素抑制剤である MB-22948 が EDRF による弛緩を増強する¹⁵⁾ という実験結果もまた cyclic GMP が EDRF による弛緩に関与するという考えに一致する。

細胞内 cyclic GMP 量の増加には guanylate cyclase 活性を上げて cyclic GMP 合成量を増加させるか、cyclic GMP 分解酵素を抑制して分解速度を遅くすればよい。EDRF による細胞内 cyclic GMP の量の増加については実際に抽出した guanylate cyclase が EDRF によって活性化される事³⁶⁾、また内皮細胞の存在する血管組織の方が guanylate cyclase 活性が高い⁴⁾ などの事実から、EDRF は間断なく流出して、血管平滑筋の guanylate cyclase を活性化しており、平滑筋の興奮性に対して一種の恒常的抑制をかけていると考えられよう。

7. EDRF による弛緩反応を抑制する要因

内皮細胞から遊離される EDRF がどのような物質であるかは、逆に EDRF による弛緩を抑制するような条件又は薬物の作用の解明からも推定し得ると考えられる。アラキドン酸が内皮細胞依存性に血管を弛緩させ、また PGI_2 に血管弛緩作用があり、加えて内皮細胞には強い PGI_2 産生能があるので、最初 EDRF はアラキドン酸代謝物の1つであろうと考えられたが、アラキドン酸から PG 系や PGI_2 系などへの代謝合成に必要な酵素の抑制薬による作用が内皮細胞依存性弛緩反応に常に有効でないことが判明し、PG 系物質の関与は否定的となった¹¹⁾。

Quinacrine は多くの血管で内皮細胞依存性弛緩反応を抑制する。この薬物は phospholipase A_2 (生体膜リン脂質のアラキドン酸をカルシウム依存性に遊離させる酵素) の活性を抑制する作用を持つので、EDRF はアラキドン酸からの代謝物であろうと推定されていたが、他の phospholipase A_2 抑制薬、例えば bromophenacyl bromide では ACh による弛緩を抑制

できず、また形態学的に quinacrine による EDRF に関与した弛緩の抑制は、この薬物が内皮細胞を損傷(脱落)する事よることが判明した^{10,11)}。しかし phospholipase A₂ の活性と EDRF 遊離との間には何か関係があるであろう、という考えは melittin が強い EDRF 遊離作用をもち、この作用が内皮細胞脱落をきたさない程度の濃度の quinacrine によって抑制されるということからまだ残っている。

ACh や A-23187 の内皮細胞依存性弛緩作用は Ca⁺⁺ 拮抗薬によって減弱するので、内皮細胞への Ca⁺⁺ 流入が EDRF の産生あるいは遊離には必要であろうと思われる。Ca⁺⁺ はまた、phospholipase A₂ 活性化にも必要であり、内皮細胞に供給された Ca⁺⁺ がどの過程に関与しているのか不明である。

Methylene blue は EDRF による弛緩の強い抑制薬であるが、その作用点は平滑筋側にあつて guanylate cyclase 活性を抑制し、cyclic GMP 産生の増大がおこらない為であると考えられている¹¹⁾。これらの薬物の他にも antioxidant や radical scavenger が EDRF の作用に有効であるという報告がある。血液中の pO₂ が内皮依存性の反応と関係していて、pO₂ 低下で活性が低下するのは、EDRF が酸化型の物質であることを示唆している^{11,52)}。

8. 内皮細胞に依存した平滑筋興奮

イヌ静脈平滑筋はアラキドン酸で収縮し、この収縮は内皮細胞を除去すると抑制される。さらに cyclooxygenase 抑制によってもこの収縮を抑制する事ができるが PGI₂ 又は TXA₂ 合成酵素は関与していなかった。すなわちイヌ静脈では内皮細胞依存性収縮がおこり、この内皮細胞から遊離される物質(EDCF: Endothelium Derived Contractile Factor)は PGI₂ や TXA₂ 以外の PG または cyclooxygenase 代謝系の産物が関与していることが示唆された³⁵⁾。静脈でみられるアラキドン酸のこのような作用は動脈では逆の作用になるわけで、事実静脈の内皮細胞でアラキドン酸から造られた物質(EDCF)は動脈条片を収縮させる⁴⁵⁾。このように内皮細胞から遊離される物質には部位差があるらしい。

培養ウシ大動脈内皮細胞からは培養液中に冠動

脈を収縮させる物質が遊離²²⁾、この収縮物質は分子量8,500位のポリペプチドであるが、それは substance P や angiotensin とは異なる物質であるという¹⁴⁾。

ウサギ脳底動脈を電気刺激すると1-2分継続するゆるやかな脱分極反応が惹起される。この脱分極反応は各種受容器遮断薬、神経興奮抑制薬、交感神経遮断薬、indomethacin、などで影響されず、血管内皮細胞を除去すると消失する³⁷⁾ので、内皮細胞と関係のあることが推察されるが、詳細は現在のところ不明である。

9. 内皮細胞と動脈硬化

血小板が凝集するとセロトニン、ADP、ATP、TXA₂、12-HETE、血小板凝集因子(PAF)など種々の物質が遊離あるいは放出され、内皮細胞に作用してヘパリン、PGI₂ や EDRF を遊離させる。TXA₂ や PAF はさらに血小板凝集を促進し、PGI₂ は血小板凝集を抑制する。12-HETE は中膜平滑筋細胞の遊走を亢進させ、血管壁肥厚をもたらす、動脈硬化発現の初期反応となる。血管内皮細胞はしたがって血小板凝集阻止に重要な役割を演じている¹⁸⁾。

実験的に動脈硬化モデル作成のために、ウサギやラットに高コレステロール餌を与えると、内皮細胞下にコレステロールの沈着をきたし、内皮細胞の離脱を促し、その結果中膜平滑筋の増殖による血管壁の肥厚、といった動脈硬化像を呈するようになる^{18,47)}。このような状態になった動脈は ACh などによる内皮細胞依存性弛緩が減少したり消失したりするが、亜硝酸剤などによる弛緩には変化が認められない。つまり動脈硬化発症によって内皮細胞の血管弛緩機能が著しく減弱する^{8,25,53)}。このとき血管平滑筋では同時に α 受容器の感受性も著しく低下しており²⁵⁾、動脈硬化発症時に増殖した平滑筋細胞の性質は正常のものと多少違っていることを推察させる。

ミニブタを用いて、冠動脈の内皮細胞の一部を剥離し高コレステロール餌で飼育するとヒトでみられる冠動脈攣縮に似た限局性の血管内径の狭小化がヒスタミン投与時に認められる⁴⁸⁾。このことは何らかの原因で内皮細胞が損傷を受けると攣縮がおこり易くなったり、血栓ができ易くなったり、また中膜平滑筋の増殖によって NA 感受性が低

下する, など高血圧や狭心症のような循環障害の原因となり易いことを示唆している。

膵臓から分泌されるエラスターゼは血中コレステロールの分解, 代謝, 排泄などの作用をもち, 血中脂質代謝に重要な働きをしていて, 加齢と共にエラスターゼ産生能が低下してくるとコレステロールなどの血管沈着がおこり動脈硬化へと進展することになる。実験的にもエラスターゼを投与すると動脈硬化発症をある程度抑制することができる²⁶⁾。

内皮細胞傷害の原因としてはバクテリアやエンドトキシン, 高脂血漿, 流体力学的ストレスなどが考えられているが, まだ必ずしも十分に検討されていないようである¹⁸⁾。

10. おわりに

Furchgott たちによって発見された EDRF の機能を中心に内皮細胞と血管平滑筋との関係についてまとめてみた。内皮細胞の機能には血管壁透過性, 血栓形成との関連, 免疫性, 酵素活性, 血液との相互作用, 血管平滑筋増殖との関連, 等々多数あり, そのどれをとってもお互いに関連した分野で, 独立に1つだけとり上げて論ずることはできない。ここでは主に摘出血管平滑筋の収縮弛緩といった機械的性質を指標にして内皮細胞との関係を考えてが, 血圧変動, 心拍数あるいは局所血流量の変動など, 指標のとり方をかえればまた違った概念の内皮細胞ができて上がるであろう。in vitro の成果が in vivo へそして更には循環系病態治療の一助になれば幸である。

参考文献

- 1) Bevan, J. A., Bevan, R. D., Duckles, S. P.: Adrenergic regulation of vascular smooth muscle. *Handbook of Physiology*, sec. II, vol. 2, chap. 18, American Physiological Society, Bethesda, pp. 515-566, 1980.
- 2) Bolton, T. B., Clapp, L. H.: Endothelium-dependent relaxant actions of carbachol and substance P in arterial smooth muscle. *Br. J. Pharmacol.* **87**:713-723, 1986.
- 3) Bolton, T. B., Lang, R. J., Takewaki, T.: Mechanisms of action of noradrenaline and carbachol on smooth muscle of guinea-pig anterior mesenteric artery. *J. Physiol.* **351**:549-572, 1984.
- 4) Busse, R., Trogisch, G., Bassenge, E.: The role of endothelium in the control of vascular tone. *Basic Res. Cardio.* **80**:475-490, 1985.
- 5) Diamond, J., Chu, E. B.: Possible role for cyclic GMP in endothelium-dependent relaxation of rabbit aorta by acetylcholine. Comparison with nitroglycerine. *Res. Comm. Chem. Pathol. Pharmacol.* **41**:369-389, 1983.
- 6) Forstermann, U., Neufang, B.: Endothelium-dependent vasodilation by melittin: are lipoxygenase products involved? *Am. J. Physiol.* **249**:H14-H19, 1985.
- 7) Frank, G. W., Bevan, J. A.: Electrical stimulation causes endothelium-dependent relaxation in lung vessels. *Am. J. Physiol.* **244**:H793-H798, 1983.
- 8) Freiman, P. C., Mitchell, G. G., Heistad, D. D., Armstrong, M. L., Harrison, D. G.: Atherosclerosis impairs endothelium-dependent vascular relaxation to acetylcholine and thrombin in primates. *Circul. Res.* **58**:783-789, 1986.
- 9) Furchgott, R. F.: Acetylcholine and blood vessel relaxation: Comparisons and clarifications. *Trend. Autonom. Pharmacol.* **2**:497-510, 1982.
- 10) Furchgott, R. F.: Role of endothelium in responses of vascular smooth muscle. *Circul. Res.* **53**:557-573, 1983.
- 11) Furchgott, R. F.: The role of endothelium in the responses of vascular smooth muscle to drugs. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **24**:175-197, 1984.
- 12) Furchgott, R. F., Bhadrakom, S.: Reactions of strips of rabbit aorta to epinephrine, isopropylarterenol, sodium nitrate and other drugs. *J. Pharmacol. exp. Ther.* **108**:129-143, 1953.
- 13) 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.
- 14) Gillespie, M. N., Owasoyo, J. O., McMurtry, I. F., O'Brien, R. F.: Sustained coronary vasoconstriction provoked by a peptidergic substance released from endothelial cells in culture. *J. Pharmacol. exp. Ther.*, **236**:339-343, 1986.
- 15) Griffith, T. M.: Studies of endothelium-derived relaxant factor (DERF), its nature and mode of action. *Eur. Heart J.* **6**:37-49, 1985.
- 16) Griffith, T. M., Edwards, D. H., Lewis, M. J., Newby, A. C., Henderson, A. H.: The nature of endothelium-derived vascular relaxant factor. *Nature* **308**:645-647, 1984.
- 17) Griffith, T. M., Henderson, A. H., Hughes Edwards, D., Lewis, M. J.: Isolated perfused rabbit coronary artery and aorta strip preparations: the role of endothelium-derived relaxant factor. *J. Physiol.* **351**:13-24, 1984.
- 18) 林 透・浅田祐士郎・住吉昭信: 血管内皮傷害と動脈硬化——形態学的研究を中心として。最新医学 **40**(10): 2073-2080, 1985.
- 19) Harbermann, E.: Bee and wasp venoms. *Science* **177**:314-322, 1972.
- 20) Hammer, R., Giachetti, A.: Muscarinic receptor subtypes: M₁ and M₂ biochemical and functional

- characterization. *Life Sci.* 31:2991-2998, 1982.
- 21) Hammersen, F., Hammersen, E.: Some structural and functional aspects of endothelial cells. *Basic Res. Cardiol.* 80:491-501, 1985.
 - 22) Hickey, K. A., Rubanyi, G., Paul, R. J., Highsmith, R. F.: Characterization of a coronary vasoconstrictor produced by cultured endothelial cells. *Am. J. Physiol.* 248:C550-C556, 1985.
 - 23) Holtzman, S.: Endothelium-induced relaxation by acetylcholine associated with large rises in cyclic GMP in coronary arterial strips. *J. Cyclic Nucl. Res.* 8:409-419, 1982.
 - 24) 伊藤正明・日高弘義: 血管平滑筋の収縮機構とCa⁺⁺. *治療学* 18(3): 279-283, 1987.
 - 25) Ibengwe, J. K., Suzuki, H.: Changes in mechanical responses of vascular smooth muscles to acetylcholine, noradrenaline and high-potassium solution in hypercholesterolemic rabbits. *Br. J. Pharmacol.* 87:395-402, 1986.
 - 26) Ibengwe, J. K., Suzuki, H.: Protective action of elastase on changes in mechanical properties of vascular smooth muscles during atherosclero-genesis in hypercholesterolemic rabbits. *Arch. int. Pharmacodyn.* (in press).
 - 27) Jaffe, E. A., Nachman, R. L., Becker, C. G.: Culture of human endothelial cells derived from umbilical veins. Identification by morphologic and immunologic criteria. *J. Clin. Invest.* 52:2745-2756, 1973.
 - 28) 神谷 瞭: 物質透過性と血管内皮細胞, *生体の科学* 36(3): 180-184, 1985.
 - 29) Kitamura, K., Kuriyama, H.: Effects of acetylcholine on the smooth muscle cells of isolated main coronary artery of the guinea-pig. *J. Physiol.* 293:119-133, 1979.
 - 30) Komori, K., Suzuki, H.: Prejunctional cholinergic modulation of noradrenergic transmission in the rabbit saphenous artery. *Jap. J. Pharmacol.* 40:suppl. 180p, 1986.
 - 31) Komori, K., Suzuki, H.: Electrical responses of smooth muscle cells during cholinergic vasodilation in the rabbit saphenous artery. *Circul. Res.* (in press).
 - 32) Komori, K., Suzuki, H.: Heterogenous distribution of muscarinic receptors in the per-and post-junctional membrane of the rabbit saphenous artery. *Jap. J. Pharmacol.* 43:suppl. 119p, 1987.
 - 33) Kuriyama, H., Suzuki, H.: The effects of acetylcholine on the membrane and contractile properties of smooth muscle cells of the rabbit superior mesenteric artery. *Br. J. Pharmacol.* 64:493-501, 1978.
 - 34) Kuriyama, H., Suzuki, H.: Adrenergic transmission in the guinea-pig mesenteric artery and their cholinergic modulations. *J. Physiol.* 317:383-396, 1981.
 - 35) Miller, V. M., Vanhoutte, P. M.: Endothelium-dependent contractions to arachidonic acid are mediated by products of cyclooxygenase. *Am. J. Physiol.* 248:H432-H437, 1985.
 - 36) Mulsch, A., Busse, R., Bohme, E.: Evidence for stimulation of soluble guanylate cyclase by endothelium derived relaxing factor. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 329: suppl. R36, 1985.
 - 37) Nagao, T., Suzuki, H.: Non-neural electrical responses of smooth muscle cells of the rabbit basilar artery to electrical field stimulation. *Jap. J. Physiol.* (in press).
 - 38) Nothover, B. J.: Interaction of mono- and divalent metallic cations and of indomethacin on the membrane potential of vascular endothelial cells in vitro. *Br. J. Pharmacol.* 55:105-110, 1975.
 - 39) Nothover, B. J.: Effects of anti-inflammatory drugs on the membrane potential of vascular endothelial cells in vitro. *Br. J. Pharmacol.* 53:113-120, 1975.
 - 40) Northover, A. M., Yoffe, J. R., Northover, B. J.: Some effects of histamine and nonsteroidal anti-inflammatory drugs on vascular endothelial cells. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 3:1381-1387, 1981.
 - 41) Peach, M. J., Singer, H. A., Loeb, A. L.: Mechanisms of endothelium-dependent vascular smooth muscle relaxation. *Biochem. Pharmacol.* 34:1867-1874, 1985.
 - 42) Pohl, U., Holtz, J., Busse, R., Bassenge, E.: Crucial role of endothelium in the vasodilator response to increased flow in vivo. *Hypertension* 8:37-44, 1986.
 - 43) Rapoport, R. M., Murad, F.: Agonist-induced endothelium-dependent relaxation in rat thoracic aorta may be mediated through cGMP. *Circul. Res.* 52:352-357, 1983.
 - 44) Richter, R., Groth, T. H., Halle, W.: The membrane potential of pig aortic endothelial cells. *Biomed. Biochim. Acta* 45:897-902, 1986.
 - 45) Rubanyi, G. M., Vanhoutte, P. M.: Hypoxia releases a vasoconstrictor substance from the canine vascular endothelium. *J. Physiol.* 364:45-56, 1985.
 - 46) Rubin, D. B., Housset, B., Jean-Mairet, Y., Junod, A. F.: Effects of hyperoxia on biochemical indexes of pig aortic endothelial function. *In Vitro* 19:625-634, 1983.
 - 47) Shimamoto, T.: New concept on atherogenesis and treatment of atherosclerotic diseases. *Jap. Heart J.* 13:537-562, 1972.
 - 48) Shimokawa, H., Tomoike, H., Nabeyama, S., Yamamoto, H., Araki, H., Nakamura, M., Ishii, Y., Tanaka, K.: Coronary artery spasm induced in atherosclerotic miniature swine. *Science* 221:560-562, 1983.
 - 49) Su, C.: Adrenergic and nonadrenergic vasodilator innervation. *Factors Influencing Vascular Reactivity*, Igaku-Shoin, Tokyo, pp. 156-168, 1977.
 - 50) Takata, Y.: Regional differences in electrical and mechanical properties of guinea-pig mesenteric vessels. *Jap. J. Physiol.* 30:709-728, 1980.
 - 51) Vanhoutte, P. M., Miller, V. M.: Heterogeneity of endothelium-dependent responses in mammalian

- blood vessels. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 7:S12-S23, 1985.
- 52) Vanhoutte, P. M., Rubanyi, G. M., Miller, V. M., Houston, D. S.: Modulation of vascular smooth muscle contraction by the endothelium. *Ann. R. Physiol.* 48:307-320, 1986.
- 53) Verbeuren, T. J., Jordaens, F. H., Zonnekeyn, L. L., Van Hove, C. E., Coene, M. C., Herman, A. G.: Effect of hypercholesterolemia on vascular reactivity in the rabbit. I. Endothelium-dependent and endothelium-independent contractions and relaxations in isolated arteries of control and hypercholesterolemic rabbits. *Circul. Res.* 58:552-564, 1986.
- 54) 山元寅男: 血管壁の構造と透過性, 最新医学 40(10): 2002-2010, 1985.

* * * * *

* * * * *

* * * * *

* * * * *