

EDRF について

今井昭一*

はじめに

1980年 Furchgott and Zawadzki はウサギの大動脈標本を用いてアセチルコリン (ACh) の血管拡張作用に検討を加え、拡張作用の発現には内皮の存在が必須である事を示した。大動脈では平滑筋は輪状に配列しているので、縦切り標本では張力の発生が殆んどない事を利用し、彼らは内皮なしの輪状標本に内皮つきの縦切り標本を内膜面が相対する形でサンドイッチ様に組合せて実験し、ACh により内皮から血管拡張性物質が遊離する事を証明した。図1にサンドイッチ標本で得られた彼らの実験成績を示す。内皮細胞がプロスタグランジン (PG) を遊離することは既に知られていたがウサギの大動脈は PG で弛緩しないし ACh による内皮依存性の弛緩はインドメサシンやアスピリンのような cyclooxygenase の抑制薬では抑制されないので、内皮由来の弛緩因子が PG でない事は明らかであると考え Furchgott ら (Cherry et al. 1982) はこの物質に endothelium-derived relaxing factor (EDRF) という名前をつけたのである。

その後 ACh 以外にも ATP (大抵の場合)、ブラジキニン (ネコ、ウサギの動脈を除く)、substance P, トロンビン (イヌ動脈)、ヒスタミン (ラット大動脈)、セロトニン (イヌ冠動脈) など多くの物質が内皮依存性の拡張を起す事が知られるようになった。表1に現在 EDRF を介して血管拡張を起すと考えられている薬物をまとめて示す。使われている血管標本は殆ど動脈であるが、これは図2に Vanhoutte and Miller (1985) の実験成績で示すように内皮依存性の拡張が静脈

より動脈で強い事の表われといえよう。イヌの大動脈と伏在静脈とを用いた Seidel and

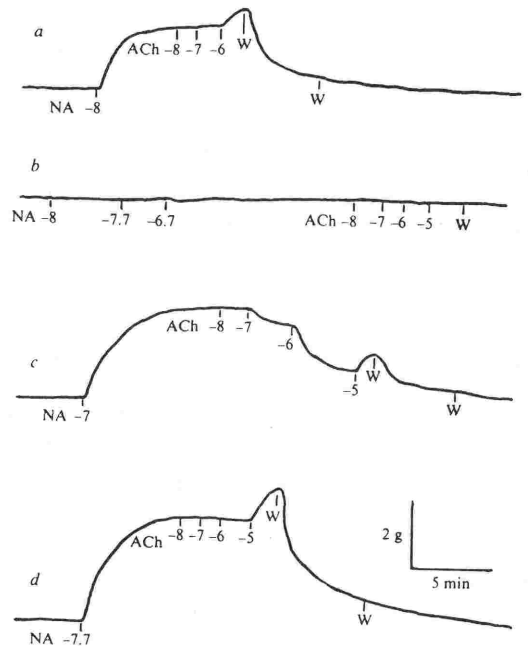


図1 アセチルコリン (ACh) による EDRF 遊離を証明した実験

- ① 内皮を剥離したウサギ胸部大動脈の横切り標本
- ② 内皮を保持している同じ動脈の縦切り標本及び
- ③ 両者を内膜面同志を向かい合わせて“サンドイッチ”状標本とした標本の3種で実験。
標本は予めノルアドレナリン (NA) で収縮させた。
 - a. 内皮を剥離した横切り標本
 - b. 内皮を保持している縦切り標本
 - c. サンドイッチ標本
 - d. サンドイッチ標本から内皮を保持している縦切り標本をはずし内皮のない横切り標本のみとした場合

Furchgott and Zawadzki: Nature 288: 373, 1980.

*新潟大学医学部薬理学教室

表1 内皮依存性の拡張を起す血管拡張薬の特徴

血管拡張薬	動物種	血管	内皮依存性	インドメサシン	ETYA	キナクリン
Acetylcholine (muscarinic agonists)	Rabbit	Aorta	Yes	No	Yes	Yes
		Mesenteric bed	Yes	No		
		Ear artery	Yes			
	Rat	Aorta	Yes	No	Yes	Yes
		Dog	Femoral artery	Yes	No	Yes
	Dog	Pulmonary artery	Yes	No	No (16)	Yes
		Saphenous artery	Yes			
		Splenic artery	Yes			
		Mesenteric, renal arteries	Yes	No		
		Coronary artery	Yes	No		
		Veins (femoral, pulmonary, saphenous, splenic)	No			
		Cat	Aorta: mesenteric, pulmonary, iliac arteries	Yes		
	Guinea pig	Aorta	Yes			
		Pig	Aorta	Yes	No	
	Adenosine triphosphate	Rabbit	Aorta	Yes	No	Yes
Dog			Femoral artery	Yes	No	No
Dog		Pulmonary, saphenous, splenic arteries	Yes			
		Veins	Yes			
Pig	Aorta	Yes	No			
Adenosine diphosphate	Rabbit	Aorta	Partial	No		
	Dog	Femoral artery	Partial	No		
	Pig	Aorta	Yes			
Adenosine monophosphate adenosine	Dog	Femoral artery	No			
	pig	Aorta	Partial			
A23187	Rabbit	Aorta	Yes	No	Yes	No
		Mesenteric bed	Yes			
	Rat	Aorta	Yes	No	Yes	No
	Pig	Aorta	Yes	No		
	Dog, cat	Arteries	Yes			
	Human	Arteries	Yes			
Bradykinin	Rabbit	Arteries	No			
	Dog	Arteries (pulmonary, renal, coronary, mesenteric, etc.)	Yes	No	Yes	Yes
		Cat	Mesenteric bed	No	Yes	
	Human	Mesenteric bed	Yes	No		
Substance P	Rabbit, dog	Renal, celiac arteries	Yes	No	Yes	Yes
		Cat	Mesenteric bed, arteries	Yes	No	Yes
	Dog	Femoral artery (in situ)	Yes	No		
Vasoactive intestinal polypeptide	Rat	Aorta	Yes	No	Yes	
Calcitonin gene-related peptide	Rat	Aorta	Yes	Partial		
Melittin	Rabbit	Aorta	Yes	No	Yes	Yes
Angiotensin II	Dog	Renal artery	Yes	Yes		
Thrombin	Dog	Femoral artery	Yes	No	No	No
		Pulmonary, saphenous, splenic, coronary arteries	Yes	No		
Histamine (H ₁)	Rat	Aorta	Yes	No		
	Rabbit	Aorta	Yes			
	Dog	Mesenteric artery	Partial	Yes		
Norepinephrine (α_1)	Pig	Coronary, renal, mesenteric arteries	Yes			
Serotonin (S ₁)	Dog	Coronary	Yes			
	Pig	Coronary, renal, mesenteric arteries	Yes			
Arachidonic acid	Rabbit	Aorta	Yes	No	Yes	
	Rat	Aorta	Yes	No		
	Dog	Femoral artery	Partial	Yes	Yes	
		Splenic arteries; pulmonary, saphenous veins	Partial			
Other saturated and unsaturated fatty acids	Rabbit	Aorta	Yes	No		
	Dog	Coronary, mesenteric arteries	Yes	No		
Hydralazine	Rabbit	Aorta	Partial	No		

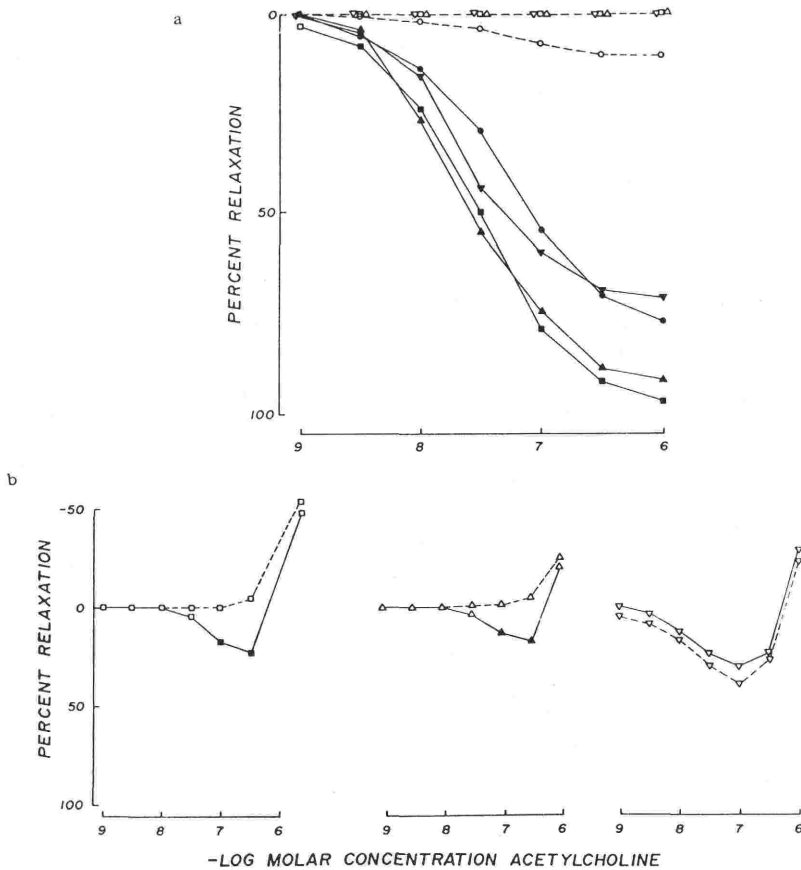


図2 EDRF 遊離の動静脈による差

- a. ノルアドレナリンで収縮させたイヌ動脈標本に対するアセチルコリンの弛緩作用。
 実線は内皮を保持している標本であり、点線は内皮のない標本である。
 □大腿動脈, ○肺動脈
 △伏在動脈, ▽脾動脈
- b. ノルアドレナリンで収縮させたイヌ静脈標本に対するアセチルコリンの弛緩作用。
 実線は内皮を保持している標本であり、点線は内皮のない標本である。
 左: 大腿静脈, 中: 伏在静脈, 右: 脾静脈

LaRochelle (1987) の実験によると静脈で内皮依存性の拡張が弱いのは内皮からの EDRF 遊離が静脈では動脈に比し乏しいためであるという。

動脈の内皮依存性の拡張は摘出血管標本のみでなく摘出灌流心 (Saed ら, 1986) や生体内の動脈 (Angus ら, 1983) でもみとめられている。なお, ACh による拡張が常に内皮依存性だという訳ではなく Brayden and Bevan (1984) によるとネコの耳介後動脈では直接拡張作用を表わすという。

EDRF はどのようにして作られるか

既に述べたように ACh による内皮依存性の弛

緩は cyclooxygenase の抑制薬であるインドメサシンやアスピリンでは抑制されぬが無酸素状態 (anoxia), cyclooxygenase だけでなく lipooxygenase も抑制する 5, 8, 11, 14-eicosatetraynoic acid (ETYA), phospholipase A₂ の inhibitor である quinacrine (mepacrine) では抑制されるので Furchgott and Zawadzki (1980) は EDRF はアラキドン酸 (AA) から lipooxygenase によって作られる物質 (不安定な hydroperoxide 又は遊離ラジカル中間体) ではないかと考えた。事実外から与えられた AA は内皮依存性の拡張を起す (Singer and Peach, 1983; Davis and Williams, 1984; DeMey and Vanhoutte, 1981), イヌでは拡

張は大抵 cyclooxygenase の抑制薬で抑えられるがウサギやラットの大動脈では抑えられず(インドメサシンでは増強) ETYA 及び lipooxygenase の抑制薬である nordihydroguayaretic acid (NDGA) 或いは両者による処理で消失する。しかし乍ら Furchgott ら (1985) の最近の研究によると AA 以外にも EDRF の前駆物質でない幾つかの不飽和脂肪酸が cyclooxygenase 抑制薬存在の有無に拘わりなく内皮依存性の拡張を起すので不飽和脂肪酸は膜の流動性をたかめて EDRF の合成を促進するのではないかという。又 phospholipase A₂ の抑制薬についても例えば quinacrine はウサギ大動脈の ATP, ブラジキニン, A23187による拡張 (Singer and Peach, 1983), イヌ大腿動脈の ATP, トロンビンによる拡張を抑制しないといわれているし (DeMey and Vanhoutte, 1982), Furchgott (1983) が抑制作用を認めている p-bromophenacylbromide (アルキル化により非可逆的に抑制) についても, 無効という報告もある (Griffith ら, 1984)。ACh による EDRF の遊離を初めて証明した Furchgott and Zawadzki (1980) の実験で BW755C が無効であった事もあってであろう (Förstermann and Neufang (1984) の実験では有効), Furchgott 自身必ずしも lipooxygenase の産物説に肩入れしてはいないようで lipooxygenase の抑制薬 ETYA についても最近ではむしろ不飽和脂肪酸として作用し内皮細胞膜の perturbation を起して EDRF 産生及び/或いは遊離を抑制するという機序を考えているようである (Furchgott ら, 1985)。ACh による内皮依存性の弛緩が AA やその他の不飽和脂肪酸によって抑制されるからである (飽和脂肪酸は ACh による弛緩は抑制しない)。NDGA についても lipooxygenase の抑制薬であると共に antioxidant でもある事が知られて居り作用を lipooxygenase の抑制のみに帰する事はできない (Furchgott. 1981; Singer and Peach, 1983; Förstermann and Neufang, 1984)。Griffith ら (1984) によれば antioxidant の作用をもたぬ lipooxygenase 抑制薬は無効であるという。事実幾つかの antioxidants や非特異的なラジカル scavengers (dithiothreitol, cysteine, phenidone, tetrahydroborate, phenylhydrazine, hydroquinone, resorcinol, butylated hydroxytoluene,

α -tocopherol) について内皮依存性拡張の抑制がみとめられている。但し antioxidant でも ascorbic acid は無効であるという (Förstermann and Neufang, 1984)。

最近 AA が cytochrome P-450 の substrate となり得る事がわかり (Oliw and Oates, 1981; Capdevila ら, 1981; Morisson and Pescoe, 1981), EDRF と cytochrome P-450 との関係が注目されている。血管内皮細胞に cytochrome P-450 活性が存在する事は Dees ら (1982); Abraham ら (1985) によって示されているし, Singer ら (1984) によれば cytochrome P-450 の抑制薬である metyrapone, SKF525A は ACh 及び A23187による弛緩を一部抑制する。Morrisson and Pescoe (1981) によれば cytochrome P-450 による AA の代謝は ETYA で抑制される。AA の cytochrome P-450 による代謝産物として多数の hydroxylated AA が同定されているが, 血管拡張性の産物があるかどうかは現在の所不明である。

EDRF はどんな性質をもつ物質であるか

Griffith ら (1984) はウサギの大動脈灌流液でウサギ冠動脈を灌流するという標本を作り, 大動脈標本に ACh を加えて内皮依存性の拡張を起させた上で大動脈からの流出液に様々な物質を加え冠動脈の反応の有無から, それら物質の EDRF への直接の不活性化作用について検討し, dithiothreitol, cysteine, hydroquinone, phenidone, NDGA など antioxidant であると同時に free radical scavengers である物質で EDRF が不活性化されるのを見とめている。彼らは phenylhydrazine 及び KBH₄ が直接 EDRF を不活性化させるので EDRF はカルボニル基を含む化合物ではないかと考えた。Lückoff ら (1987) も培養内皮細胞を用いた系でブラジキニン, ATP, A23187によって遊離した EDRF の作用が dithiothreitol, NDGA によって打消されるのを見とめている。彼らによると metyrapone, ヘモグロビンも EDRF の作用を抑制する。

極く最近 Palmer ら (1987) によって EDRF は酸化窒素 (NO) である事が明らかとなった。図 3 a にマイクロキャリアーの上で生育した内皮細胞で充たしたカラムを Krebs buffer で灌流し, プ

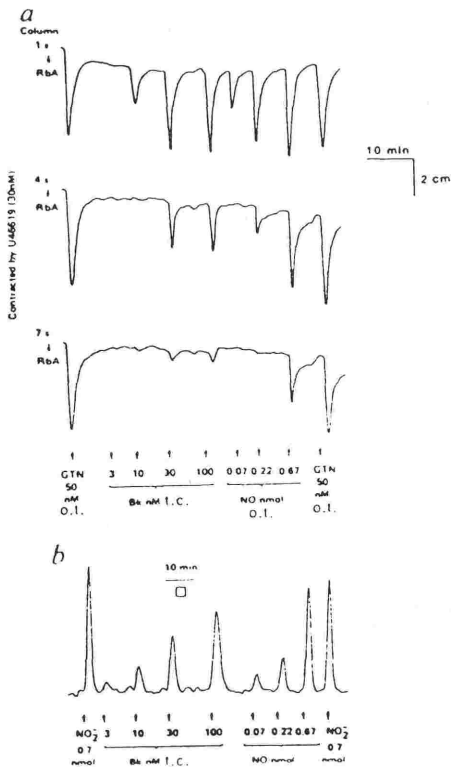


図3 EDRFはNOである事を示した実験

a. ウサギ大動脈のEDRF及びNOによる弛緩。

標本は前もってPGF_{2α}の誘導体で最大収縮させてある。マイクロキャリアの上で育成させたブタ大動脈内皮細胞で充たされたカラムを通して(t. c.)ブラジキニン(BK)を1分間注入する事によって内皮細胞からEDRFを遊離させた。

NOはヘリウムで脱気したH₂Oにとかし1分間カラムからの流出液(o. t.)に注入した。

b. Chemiluminescence.

NO定量のための標準物質としてはNO₂⁻を用いた。ニトログリセリン(GTN)は標本の感度を調整する目的でカラムからの流出液(o. t.)に投与した。

Palmer, Ferrige and Moncada: Nature 327:524. 1987.

ラジキニン(BK)を加えた時に遊離して来るEDRFを、内皮を除去したウサギ大動脈標本を用いてbioassayした彼らの実験成績を示す。カラムからの流出液は内皮細胞から1, 4, 7 sec離れて置かれた3つの大動脈標本をcascade状にsuperfuseする。図3bは同様のカラムに同様の操作を加えた上で、カラムからの流出液のchemiluminescenceを測定した記録であ

る。3~100 nMのBKで濃度依存性のEDRF遊離が起るので大動脈標本の弛緩が見られるがその反応はNO(0.07~0.67 nmole)による弛緩反応とよく似ていること、BKにより遊離するEDRFをNOであると仮定し、その量をchemiluminescenceから推定するとBKによる大動脈標本の弛緩を説明するのに充分な量のNOが濃度依存性に遊離している事がこの図からわかるであろう。しかもchemiluminescenceにより定量されたNOの量とbioassay tissueの弛緩との間にはr=0.94(n=12)のよい相関がみとめられている。

EDRFの産生・遊離とカルシウム

図4に示すように内皮依存性の拡張が外液カルシウムに依存性である事は多くの研究者の認める通りである。これはEDRFの産生・遊離にカルシウムが必要なためと考えられる。培養線維芽細胞での研究結果を見ると内皮依存性の弛緩を起す物質であるブラジキニン、カルシウムionophoreのA23187(内皮依存性拡張薬としてもっとも効力の高い物質の1つ)、トロンビンによるphospholipaseの活性化、アラキドン酸の遊離はカルシウム依存性の現象であるが、AAによる反応は外液からのCa²⁺除去やカルシウム拮抗薬投与によって変化しない。

Singer and Peach(1982)はカルシウム拮抗薬が内皮依存性の拡張を抑制すると報告したが、最近Winqvistら(1985)によって報告されたNa-Ca交換の抑制薬であるジクロロベンザミルによる抑制に比べると抑制は弱くその意義はあまり大きくないと思われる。図4にWinqvistらの成績を示す。

AChによる内皮依存性弛緩の発現には平滑筋の共存が必要である

培養内皮細胞を用いた最近の研究によるとブラジキニン、ATP、A23187では内皮細胞のみでもEDRFの遊離が見られるのに(Cocksら, 1985)AChでは見られないという([³H]QNBの特異的結合も起らない)(Cocksら, 1985; Peachら, 1985; Loebら, 1985; Lückhoffら, 1987)。細胞内cyclic GMPの増加も内皮細胞と平滑筋細胞とをcocultureした時にのみ見られる(Loebら,

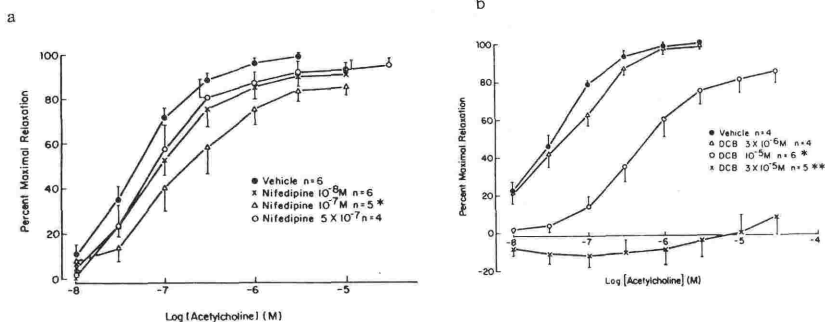


図4 ラット大動脈のアセチルコリンによる内皮依存性弛緩に対するニフェジピン (a) 及びジクロロベンザミル (DCB) (b) の作用
Winquist ら: J. Pharmac. exp. Ther. 235:644, 1985.

1985). 又 EDRF の basal release も平滑筋との coculture では見られるが内皮細胞のみの培養では見られぬという (Lückhoff ら, 1987). 但し basal release の有無は shear stress の有無によるという考えもある. 内皮細胞に対する shear stress の増加は in vitro (Rubanyi ら, 1986) でも in situ (Pohl ら, 1986) でも EDRF 遊離を促進する.

血管により EDRF に対する感受性に差があるか

摘出血管標本を用いた実験では大動脈のような大きな血管より冠動脈において内皮依存性の弛緩は大きいといわれているし (Griffith ら, 1984; De Mey and Vanhoutte, 1981; Cocks and Angas, 1983) 血管系では末梢に行く程内皮を介する反応が大きくなるといわれている (Owen and Bevan, 1985) が microcarrier beads の表面で内皮を培養させその effluent を内皮を除去した各種血管標本に作用させるという方法を用いた Lückhoff ら (1987) の実験結果ではウサギ大動脈, 大腿動脈; イヌ冠動脈で EDRF に対する感受性には違いがみとめられていない. 従って上で述べた反応性の差は内皮細胞と平滑筋との比が血管によって異なるため生じたものと考えられる.

EDRF による平滑筋の弛緩はどのような機序で起るか

1983年に Rapoport and Murad はラット大動脈を用い, ACh, ヒスタミン, A23187によって内皮依存性に cyclic GMP の蓄積が生ずる事を示した. Förstermann ら (1986) はウサギ大動脈及び

大腿動脈の摘出灌流標本の内腔に部分精製した soluble guanylate cyclase と GTP を投与するという方法で内皮の健存する場合には, 試験管内におけるよりも強い活性化が見られること, ACh を投与すると血管の拡張とともに活性の更なる増強が見られること, guanylate cyclase 活性化因子の形成及び遊離は内皮除去により見られなくなる事を確認している. アトロピン, mepacrine, NDGA は ACh による内皮依存性拡張を抑制するが同時に ACh による内皮依存性の guanylate cyclase の活性化も抑制する. なお Furchgott ら (1985) によると飽和脂肪酸も内皮依存性の弛緩を起すという. この弛緩は cyclic GMP の増加と結びついているし, 弛緩も cyclic GMP の増加もヘモグロビンで抑制されるという.

ニトログリセリンを代表とする亜硝酸化合物も guanylate cyclase の活性化を起す薬物であるが, これらの物質は何れも NO をもっているか生体内で NO を生成する可能性をもつ物質である. すでに述べたように EDRF は NO であるとする と亜硝酸化合物は外因性の EDRF であるという事になる.

EDRF や亜硝酸化合物による cyclic GMP の蓄積を抑制する物質としてはメチレンブルー, ヘモグロビンが知られているが, これらの物質は EDRF による血管平滑筋の弛緩, cyclic GMP の蓄積も抑制する (Holzmann, 1982; Martin ら, 1985). メチレンブルーは soluble guanylate cyclase の特異的抑制薬と考えられている物質であるが (Griffith ら, 1985)によれば内皮細胞に作用して EDRF の生成遊離に作用したり EDRF

を直接不活性化させたりする作用はない), 最近の Lückhoff ら (1987) の研究によると短時間メチレンブルーにさらされた内皮細胞でブラジキニン, ATP 又は A23187 による EDRF の遊離が見られなくなるという。

血管による EDRF の release と亜硝酸化合物の作用

血管標本を用いた実験の結果を見ると EDRF はたえず遊離されていると考えられる (Diamond and Chu, 1983; Förstermann ら, 1986; Griffith ら, 1984; Holzmann, 1982; Rapoport and Murad, 1983). そのため内皮が健存する場合 EDRF と同じ機序で作用する亜硝酸化合物の作用は様々な程度に抑制される。Pohl and Busse (1987) はウサギの大動脈で用量作用曲線の右方への移動を確認している。反対に内皮を除去したり NDGA で EDRF の遊離を抑制したりすると亜硝酸化合物に対する反応は増強される。EDRF の basal release の低いウサギ大動脈ではこのような現象は見られない。Diamond and Chu (1983), Rubanyi and Vanhoutte (1985) もウサギ大動脈, イヌの冠動脈では亜硝酸化合物の作用に内皮が影響しない事をもとめている。同じ大動脈でもラットでは内皮除去によりニトロプルシドソーダに対する反応が増強されるという (Shirasaki and Su, 1985). EDRF による抑制の差は亜硝酸化合物の動脈と静脈に対する作用の違いの原因ともなっているものと考えられる (De Mey and Vanhoutte, 1982). Saeed and Bing (1986) によると 8-bromoguanosine 3', 5'-cyclic phosphate による血管拡張も内皮が存在すると減弱する。

文 献

- 1) Abraham, N. G., Pinto, A., Mullane, K. M., Levere, R. D. and Spokas, E.: Presence of cytochrome P-450-dependent monooxygenase in intimal cells of the hog aorta. *Hypertension* 7: 899-904, 1985.
- 2) Angus, J. A., Campbell, G. R., Cocks, T. M. and Manerson, J. A.: Vasodilatation by acetylcholine is endothelium-dependent: A study by sonomicrometry in canine femoral artery in vivo. *J. Physiol.* 344:209-222, 1983.
- 3) Brayden, J. and Bevan, J.: Muscarinic neurogenic vasodilation: an example of direct smooth muscle cell relaxation. (Abstract) *Blood vessels* 21:185, 1984.
- 4) Bunting, S., Gryglewski, R., Moncada, S. and Vane, J. R.: Arteriol walls generate from prostaglandin endoperoxides a substance (prostaglandin X) which relaxes strips of mesenteric and coeliac arteries and inhibits platelet aggregation. *Prostaglandins* 12:897-915, 1976.
- 5) Capdevila, J., Chacos, N., Werringloer, J., Prough, R. A. and Estabrook, R. W.: Liver microsomal cytochrome P-450 and the oxidative metabolism of arachidonic acid. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 78:5362-5366, 1981.
- 6) Cherry, P. D., Furchgott, R. F., Zawadzki, J. V. and Jothianandan, D.: The role of endothelial cells in the relaxation of isolated arteries by bradykinin. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 79:2106-2110, 1982.
- 7) Cocks, T. M. and Angus, J. A.: Endothelium-dependent relaxation of coronary arteries by noradrenaline and serotonin. *Nature* 305: 627-630, 1983.
- 8) Cocks, T. M., Angus, J. A., Campbell, J. H. and Campbell, G. R.: Release and properties of endothelium-derived relaxing factor (EDRF) from endothelial cells in culture. *J. Cell Physiol.* 123: 310-320, 1985.
- 9) Davis, J. and Williams, K.: Endothelial-dependent relaxant effects of vaso-active intestinal peptides and arachidonic acid in rat aortic strips. *Prostaglandins* 27:195-202, 1984.
- 10) Dees, J. A., Masters, B. S. S., Muller-Eberhard, U. and Johnson, E. F.: Effect of 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-P-dioxin and phenobarbital on the occurrence and distribution of four cytochrome P-450 isozymes in rabbit kidney, lung and liver. *Cancer Res.* 42:1423-1432, 1982.
- 11) De Mey, J. G. and Vanhoutte, P. M.: Role of the intima in cholinergic and purinergic relaxation of isolated canine femoral arteries. *J. Physiol.* 316: 347-355, 1981.
- 12) De Mey, J. G., Claeys, M. and Vanhoutte, P. M.: Endothelium-dependent inhibitory effects of acetylcholine, adenosine triphosphate and arachidonic acid in the canine femoral artery. *J. Pharmac. exp. Ther.* 222:166-173, 1982.
- 13) De Mey, J. G. and Vanhoutte, P. M.: Heterogenous behavior of the canine arterial and venous wall. Importance of the endothelium. *Circ. Res.* 51:439-447, 1982.
- 14) Diamond, J. and Chu, B. B.: Possible role for cyclic GMP in endothelium-dependent relaxation of rabbit aorta by acetylcholine. Comparison with nitroglycerin. *Res. Commun. Chem. Path. Pharmac.* 41:369-381, 1983.
- 15) Förstermann, U. and Neufang, B.: The endothelium-dependent vasodilator effect of acetylcholine: Characterization of the endothelial relaxing factor with inhibitors of arachidonic acid metabolism. *Eur. J. Pharmacol.* 103:65-70, 1984.
- 16) Förstermann, U., Mülsch, A., Böhme, E. and

- Busse, R.: Stimulation of soluble guanylate cyclase by an acetylcholine-induced endothelium-derived factor from rabbit and canine arteries. *Circ. Res.* **58**:531-538, 1986.
- 17) Furchgott, R. F. and Zawadzki, J. V.: The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* **288**:373-376, 1980.
 - 18) Furchgott, R. F.: The requirement for endothelial cells in the relaxation of arteries by acetylcholine and some other vasodilators. *Trends Pharmac. Sci.* **2**:173-176, 1981.
 - 19) Furchgott, R. F.: Role of endothelium in responses of vascular smooth muscle. *Circ. Res.* **53**:557-573, 1983.
 - 20) Griffith, T., Edwards, D., Lewis, M., Newby, A. and Henderson, A.: The nature of endothelium derived vascular relaxant factor. *Nature* **308**:645-647, 1984.
 - 21) Griffith, T. M., Henderson, A. H., Hughes Edwards, D. and Lewis, M. J.: Isolated perfused rabbit coronary artery and aortic strip preparations: The role of endothelium-derived relaxant factor. *J. Physiol.* **351**:13-25, 1984.
 - 22) Holzmann, S.: Endothelium-induced relaxation by acetylcholine associated with large rises in cyclic GMP in coronary arterial strips. *J. Cycl. Nucl. Res.* **8**:409-419, 1982.
 - 23) Loeb, A. L., Owens, G. K. and Peach, M. J.: Evidence for endothelium-derived relaxing factor in cultured cells. *Hypertension* **7**:804-807, 1985.
 - 24) Lückhoff, A., Busse, R., Winter, I. and Bassenge, E.: Characterization of vascular relaxing factor released from cultured endothelial cells. *Hypertension* **9**:295-303, 1987.
 - 25) Morrison, A. R. and Pescoe, N.: Metabolism of arachidonate through NADPH-dependent oxygenase of renal cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **78**:7375-7378, 1981.
 - 26) Oliw, E. H. and Oates, J. A.: Oxygenation of arachidonic acid by hepatic microsomes of the rabbit. Mechanism of biosynthesis of two vincinal dihydroxyeicosatrienoic acids. *Biochim. Biophys. Acta* **666**:327, 1981.
 - 27) Owen, M. P. and Bevan, J. A.: Acetylcholine induced endothelial-dependent vasodilation increases as artery diameter decreases in the rabbit ear. *Experientia* **41**:1057-1058, 1985.
 - 28) Palmer, R. M. J., Ferrige, A. G. and Moncada, S.: Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* **327**:524-526, 1987.
 - 29) Peach, M. J., Singer H. A. and Loeb, A. L.: Mechanisms of endothelium-dependent vascular smooth muscle relaxation. *Biochem. Pharmac.* **34**:1867-1874, 1985.
 - 30) Pohl, U., Holtz, J., Busse, R. and Bassenge, E.: Crucial role of endothelium in the vasodilator response to increased flow in vivo. *Hypertension* **8**:37-44, 1986.
 - 31) Pohl, U. and Busse, R.: Endothelium-derived relaxant factor inhibits effects of nitrocompounds in isolated arteries. *Am. J. Physiol.* **252**:H307-313, 1987.
 - 32) Rapoport, R. M. and Murad, F.: Agonist-induced endothelium dependent relaxation in rat thoracic aorta may be mediated through cGMP. *Circ. Res.* **52**:352-357, 1983.
 - 33) Rapoport, R. M. and Murad, F.: Endothelium-dependent and nitrovasodilator-induced relaxation of vascular smooth muscle: Role of cyclic GMP. *J. Cycl. Nucl. Res.* **9**:281-296, 1983.
 - 34) Rubanyi, G. M. and Vanhoutte, P. M.: Endothelium-removal decreases relaxations of canine coronary arteries caused by β -adrenergic agonists and adenosine. *J. Cardiovasc. Pharmac.* **7**:139-144, 1985.
 - 35) Rubanyi, G. M., Romero, J. C. and Vanhoutte, P. M.: Flow-induced release of endothelium-derived relaxing factor. *Am. J. Physiol.* **250**:H1145-1149, 1986.
 - 36) Saeed, M., Schmidli, J., Metz, M. and Bing, R. J.: Perfused rabbit heart: Endothelium-derived relaxing factor in coronary arteries. *J. Cardiovasc. Pharmac.* **8**:257-261, 1986.
 - 37) Salvati, P. and Whittle, B. J. R.: Investigation of the vascular actions of arachidonate lipooxygenase and cyclo-oxygenase products of the isolated perfused stomach of rat and rabbit. *Prostaglandins* **22**:141-156, 1981.
 - 38) Seidel, C. L. and La Rochelle, J.: Venous and arterial endothelia: Different dilator abilities in dog vessels. *Circ. Res.* **60**:626-630, 1987.
 - 39) Shirasaki, Y. and Su, C.: Endothelium removal augments vasodilation by sodium nitroprusside and sodium nitrite. *Eur. J. Pharmac.* **114**:93-96, 1985.
 - 40) Singer, H. A. and Peach, M. J.: Endothelium-dependent relaxation of rabbit aorta. I. Relaxation stimulated by arachidonic acid (AA). *J. Pharmac. exp. Ther.* **227**:790-795, 1983.
 - 41) Singer, H. A. and Peach, M. J.: Endothelium-dependent relaxation of rabbit aorta. II. Inhibition of relaxation stimulated by methacholine and A23187 with antagonists of arachidonic acid metabolism. *J. Pharmac. exp. Ther.* **266**:796-801, 1983.
 - 42) Singer, H. A., Saye, J. A. and Peach, M. J.: Effects of cytochrome P-450 inhibitors on endothelium-dependent relaxation in rabbit aorta. *Blood Vessels* **21**:223-230, 1984.
 - 43) Vanhoutte, P. M. and Miller, V. M.: Heterogeneity of endothelium-dependent responses in mammalian blood vessels. *J. Cardiovasc. Pharmac.* **7** (suppl. 3):S12-23, 1985.