

総説

循環系におけるバナデイトの作用

砂野 哲* 島村佳一*

バナジウムは生体中に存在する微量元素である。生体中での役割は不明であるが、欠乏すると全体的な成長の障害をきたす¹⁾²⁾。このバナジウムの酸化物であるバナジン酸が Na, K-ATPase やその他の酵素を阻害することがわかり、これらの酵素の研究に用いられるようになった。これらの研究は赤血球、腎組織、神経、骨格筋など多くの組織を用いてなされたが、Na, K-ATPase の抑制は当然のように強心配糖体との作用の比較につながり、ひいては心筋における作用も研究されるようになった。その後血管平滑筋における研究もなされ、循環系の調節における意味も考えられるようになった。

本論文ではバナジン酸塩（バナデイト）の心筋および血管平滑筋に対する作用について述べ、循環系の調節における作用に言及する。

1. バナデイトの化学、生化学

バナジウムの酸化物のうち酸化数 +5 (V₂O₅) の水和物をバナジン酸と呼び、そのうち1水和物 (HVO₃) をメタバナジン酸、3水和物 (H₃VO₄) をオルトバナジン酸と呼んでいる。またそれぞれのバナジン酸を含む塩をバナデイトと呼び、それぞれメタバナデイト、オルトバナデイトと呼ばれる。また、+4 の酸化物はバナジルイオンと呼ばれ、生体内では蛋白などと結合して酵素阻害作用がなくなる。

バナデイトは生体内 (pH 7.3 前後)ではおそらくメタバナデイトとして存在すると考えられる。しかし、実験に用いる場合はこの程度の中性液中ではオルト、メタいずれも H₂VO₄ として存在し、

いずれのバナデイトを用いても効果に差がみられないといわれている。

バナデイトはエネルギー非存在性キャリアーによって細胞内にとり込まれ、細胞内から種々の酵素を阻害する¹⁾²⁾。したがって陰イオンの輸送を抑える 4,4'-diisothiocyano-2,2'-disulfonic acid stilbene (DIDS) や 4-acetamido, 4'-isothiocyano-2,2'-disulfonic acid stilbene (SITS) でこの効果が抑えられる。

バナデイトは E₂ 状態の ATPase の磷酸結合部位に結合し、low affinity site への ATP の結合を阻害して Na, K-ATPase 活性を抑える (図1)²⁾。このバナデイトの結合には Mg⁺⁺ が必要で Mg⁺⁺ は酵素阻害を促進する。同様に Kイオンもバナデイトの作用を促進するが、Na イオンはこ

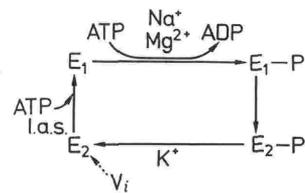


図1 Na, K-ATPase の酵素型変化。矢印の回転によって細胞内 Na⁺ は細胞外にくみ出され、細胞外 K⁺ は細胞内にくみ込まれる。この系の細部では異なる見解もあるがバナデイト (Vi) は E₂ 型の酵素に高親和で結合し ATP の低親和性結合部位 (l. a. s.) への結合を抑え E₁ への移行を抑制し、ひいては Na, K-ATPase 活性を抑えると考えられている。なおバナデイトの E₂ への結合は Mg⁺⁺ を必要とする。

*近畿大学高血圧研究所

れを抑制する²⁾。

ウワバインも同様に Na, K-ATPase を阻害するが、ウワバインの結合は他の強心配糖体で阻害されるがバナデイトでは阻害されないことから、その結合部位は異なると考えられている。また、ウワバインは細胞の外側から作用するのに対しバナジン酸は内側から作用する。

バナデイトは Na, K-ATPase, のほかに Ca-ATPase, H, K-ATPase, アデニルシクラーゼ, アルカリホスファターゼ, 酸ホスファターゼ, グルコース-6-ホスファターゼ, ホスフォフルクトキナーゼ, ミオシン ATPase, リボヌクレアーゼなど多くの酵素を阻害する²⁾。

なお、アルコスピン酸, カテコール, EDTA, メチレンブルー, クロロプロマジン, チトレートなどはバナジン酸の作用を阻害する。したがって循環系の実験でカテコラミンを用いる場合は注意が必要である。

ところでこのバナデイトが Na, K-ATPase 阻害作用をもつことがわかったのはある偶然ともいえるきっかけからである。たまたま某社が骨格筋より抽出した ATP を用いて Na, K-ATPase の実験をしていて、この ATP の中に Na, K-ATPase を阻害する因子が含まれていることがわかり、それを追求した結果、それが骨格筋に含まれているバナジウム化合物、とくにバナデイトであることがわかったのである。その後多くの実験がなされているが、最初にきっかけとなった骨格筋の Na, K-ATPase に関する研究はほとんどなく、この筋では主として Ca-ATPase に関する研究がなされている。

2. 心筋におけるバナデイトの作用

バナデイトは Na, K-ATPase 阻害という強心配糖体類似の作用をもつので、心筋における作用についても研究がなされている¹⁾²⁾。例えばネコ乳頭筋において 20 μM 以上のバナデイトが陽性変力作用をもつことが最初に Hackbarth らによって報告された³⁾。同様の作用は同じネコ乳頭筋を用いた他の研究においても得られている⁴⁾⁻⁶⁾。そのほかにもモルモット乳頭筋⁴⁾⁻⁶⁾、ラット乳頭筋⁵⁾⁷⁾、ウサギ乳頭筋⁵⁾⁷⁾をはじめ、モルモット、ラット、ウシ、ウサギ、カエルなどの心室筋⁶⁾⁷⁾⁸⁾⁹⁾、あるいはラットやウサギの心房筋⁵⁾⁻⁷⁾

においてバナデイトが陽性変力作用をもつことが報告されている。心筋においては β 刺激薬やヒスタミンが陽性変力作用を示すが、バナデイトの効果はプロプラノロールやメチアמידによって遮断されないので、 β -レセプターあるいは H_2 -レセプターとは無関係のものである⁶⁾。

一方、ラット、ネコ、モルモットの心房筋ではバナデイトは無効かあるいは陰性の変力作用をあらわす⁸⁾¹⁰⁾⁻¹²⁾。しかし、上に述べたラット心房筋ではバナデイトが陽性変力作用を示すという報告⁵⁾¹¹⁾⁻¹²⁾ もあって一致しないが、このような異なる結果がどうして得られたかは不明である。(Borchard ら¹¹⁾によると初期には収縮の抑制がみられ、ついで反転して増強されるといわれている)。Takeda ら¹²⁾はモルモット心房筋ではバナジン酸による収縮力の抑制は高頻度刺激下で強くなると報告しているが、ラットではいずれも陽性変力作用で刺激頻度に影響されないと報告しているので、すくなくとも刺激頻度の差によるものではない。また、これらの抑制作用はコリン作動性、あるいはアドレナリン作動性、およびヒスタミン作動性の遮断薬によって影響されない⁷⁾¹¹⁾。

このように同じ動物でも心室筋と心房筋ではバナデイトの作用が異なるものがある。この原因の一つの可能性として Na, K-ATPase 抑制の差が考えられるが、生化学的実験結果はこの可能性を支持しない。つまり心房筋、心室筋いずれにおいてもバナデイトは Na, K-ATPase を抑制するという点で一致した報告がなされている⁹⁾⁻¹¹⁾。

Borchard ら¹⁰⁾によるとウシあるいはモルモットの心房筋いずれでも Na, K-ATPase が抑制され、その IC_{50} が 6-7 μM で各標本間で有意差がみられなかったと報告している。ラットでも心房筋、心室筋とも同じように阻害される¹¹⁾。したがってこれらの動物の心房筋におけるバナデイトの作用の差は Na, K-ATPase 阻害作用の差によるものではない。このことは心筋細胞における陽性、陰性両変力作用のいずれも Na, K-ATPase の阻害とは無関係なものである可能性を示す。また、ウワバインはこれらの心臓で心房筋、心室筋いずれでも陽性の変力作用を示す⁵⁾。しかし、ウサギの左心室筋を用いた実験ではバナデイト、ウワバインはともに Na, K-ATPase 阻害作用と陽性変力作用を示し、この両効果が加算的にみられるこ

とからバナデイトの陽性変力作用は Na, K-AT-Pase 抑制効果によると考えられている⁹⁾。先に述べたようにバナデイトによる Na, K-ATPase 阻害作用はKイオンによって促進されるが、バナデイトの収縮抑制作用もまた細胞外K濃度上昇で促進されること⁹⁾はこの可能性を支持する。

Werdan ら¹³⁾ は培養ラット心筋でバナデイトは Rb⁺ のとり込みを増加させると報告している。このとり込みの増加は K⁺ とり込みの増加を意味するが、この著者らはこの増加はウワバインで抑えられることからバナデイトによる Na, K-AT-Pase 活性の亢進が原因と考え、さらにバナデイトが心筋におけるイオンの能動輸送における内因性の調節因子としての役割を果たしているのであろうと考えているが、他の多くの研究はバナデイトは Na, K-ATPase を抑制するという結果を得ているので、これらとは矛盾することになる。なお、この実験ではバナデイトのとり込みの測定も行っているが、バナデイトはエネルギー非依存性の輸送系でとり込まれ、細胞内で複数の結合部位に結合するという結果が得られている。

心筋における変力作用の原因の一つとして活動電位の変化が考えられる。Borchard ら¹⁰⁾ によるとモルモットの心房筋と心室筋いずれでもバナデイトによって膜電位に大きな変化は起こらないが、心房筋では活動電位の持続時間の短縮がみられ、心室筋では延長がみられるといわれる。モルモット心房筋における活動電位の短縮は他にも報告されているが⁶⁾¹¹⁾、この結果はモルモットの心房筋におけるバナジン酸の陰性変力作用、心室筋における陽性変力作用を説明するのに都合がよい。同様の結果はネコやウシの心房筋と心室筋においても得られている¹⁰⁾。モルモットの乳頭筋でも高濃度 (10^{-2} M) のバナデイトを用いた場合は膜の過分極や活動電位のオーバーシュートが増加するが、活動電位の短縮が起こり収縮は小さくなる⁴⁾。ラットの心房筋でも静止電位に変化がなく活動電位が短縮すると報告されているが⁶⁾¹¹⁾、この筋ではバナデイトは陽性変力作用(すくなくとも最終的には)を示すので、活動電位の変化で変力作用を説明することができない。しかし、ラットの心房筋で細胞外K濃度をあげて膜を脱分極させ slow potential のみを発生させてバナデイトの効果のみをみた実験があるが⁶⁾、バナデイトはこの電

位を増強する。この電位は Ca 流入によってもたらされると考えられており、この電位と収縮の増強との間に密接な関係があると考えられている。なお、これらの心筋では活動電位の高さや立上がり速度に大きな変化がみられない。いずれにしても活動電位の変化では各種心筋におけるバナデイトの変力作用の全てを説明することはできない。

バナデイトは心筋の細胞膜や筋小胞体の Ca-ATPase や Ca とり込みにも影響を与える⁵⁾¹⁴⁾⁻¹⁸⁾。ブタ心筋の筋小胞体における Ca-AT-Pase の抑制は遊離 Ca 濃度によって影響され、Ca 濃度が高い方が IC₅₀ も高くなるが¹⁵⁾、Ca 濃度 10^{-6} - 10^{-4} M の間ではいずれも 10^{-5} M 前後である。イヌ心筋の筋小胞体でも遊離 Ca 濃度 1.3×10^{-6} M 存在下でのバナデイトの IC₅₀ M は 5-50 μ M であったと報告されている¹⁴⁾。これらの値は骨格筋の筋小胞体の場合とほぼ同じである¹⁴⁾、他の動物の心室筋における陽性変力作用を示す濃度とも近い値である⁷⁾。しかし、Na, K-ATPase の抑制に比べるとずっと高い値である¹⁰⁾。バナデイトは筋小胞体の Ca とり込みを抑制するがこの場合の IC₅₀ は 20 μ M であったと報告されている⁵⁾。いずれにしても筋小胞体の Ca-ATPase あるいは Ca とり込みの抑制は陽性変力作用を説明するには都合がよい。

バナデイトによる Ca-ATPase の抑制は K⁺ によって促進される¹⁴⁾。また、Mg⁺⁺ によっても促進され、Mg⁺⁺ の存在しない条件下ではバナデイトの Ca-ATPase 阻害作用がみられなくなる¹⁵⁾。このことは先に述べたようにバナデイトと酵素の結合には Mg⁺⁺ が必要であることによる。なお、高濃度の ATP がバナデイトの作用を抑えることも一般的な Na, K-ATPase の阻害の場合と同様である¹⁵⁾。

心筋細胞膜を用いた実験ではイヌ心筋でバナデイトが ATP 存在下の Ca とり込みや Ca-AT-Pase を阻害し、その IC₅₀ はいずれも 0.6 μ M であったと報告されている¹⁷⁾。この値は筋小胞体の場合よりもはるかに低い。同様の結果はウサギ心筋の細胞膜でも得られているが¹⁶⁾、いずれにしても細胞膜 Ca-ATPase の阻害は Ca くみ出しの抑制につながると考えられ陽性変力作用につながると考えられる。しかし、Ca-efflux の実験結果は必ずしもこれを支持しない⁸⁾。骨格筋では逆に

Ca-efflux が亢進することが報告されていて、これは筋小胞体からの遊離によると考えられている¹⁹⁾。したがって、膜 Ca-ATPase の阻害と Ca-efflux の変化は必ずしも一致しないのかも知れない。

バナデイトはアデニレートクラーゼ活性をたかめサイクリック AMP を増加させることがモルモット心室筋⁷⁾、同心房筋⁷⁾、ネコ乳頭筋²⁰⁾、ヒト心筋²¹⁾、などで報告されている。これらの効果はアドレナリン遮断薬やヒスタミン遮断薬で影響されない⁷⁾²⁰⁾。バナデイトによるサイクリック AMP の増加は陽性変力作用の一因として考えるには都合がよい。しかし、上に述べた各心筋のうちモルモット心室筋ではバナデイトが陰性変力作用を示すことが知られており、必ずしも全ての作用をサイクリック AMP の変動で説明することはできない。なお、サイクリック AMP の分解酵素であるホスホジエステラーゼ活性は変わらないので²⁰⁾、サイクリック AMP の増加は主としてアデニレートクラーゼの活性上昇によると考えられる。また、バナデイトは心筋細胞膜の NADH-oxidoreductase を活性化し NADH を NAD にするが、この際バナデイトはバナジールになって蛋白と結合し作用を失う。

なお、イヌやモルモットの灌流心ではバナデイトによって収縮力が低下すると報告されている²⁾⁵⁾、ウサギの心臓では仕事量が増加することが報告されているが¹⁸⁾、これらの実験ではバナデイトの冠動脈平滑筋に対する作用による影響を考慮に入れておく必要がある。

変力作用の最終段階として心筋の収縮蛋白に対する作用が考えられる。Solaro ら¹⁸⁾ はウサギ心筋でバナデイトが myofibrillar-ATPase を抑制することを報告している。この抑制は myofibril 蛋白の変性や Ca 結合の変化によるものではない。同様にブタ心筋のスキンド標本を用いた研究でも収縮の抑制につながる結果が得られている²²⁾。いずれにしても陽性変力作用は収縮蛋白系に対する作用で説明することはできない。

バナデイトは心筋の自発性の収縮頻度にも影響を与える。Werdan らは培養ラット心筋の拍動の頻度が 10^{-6} M 以上のバナデイトで上昇し、 10^{-3} M 以上では逆に低下して消失することをみている¹³⁾。このことは後で述べる生体における実

験結果とは一致しないが、バナデイトの濃度が極端に高いので比較はできない。以上述べた心筋におけるバナデイトの作用部位を図2にまとめて示した。

3. 血管平滑筋に対する作用

血管平滑筋でバナデイトは収縮作用を示すことが多くの血管で報告されている。大動脈ではラット²³⁾²⁶⁾、モルモット²⁴⁾²⁷⁾²⁸⁾、ウサギ²⁴⁾などで強い収縮作用がみられる。この収縮には比較的高濃度のバナデイトが必要でラット、モルモットいずれの大動脈でも 10^{-5} M 以上のバナデイトが必要である²⁴⁾²⁷⁾。また最大収縮反応は 10^{-3} M 以上で得られる²⁴⁾²⁷⁾。これらの収縮はフェントラミン、グアネシジン、ヨヒンビン、プラゾシンあるいは6-ヒドロキシドーパミンなどによって遮断されずアドレナリン作動性神経の関与はないと考えられている²⁴⁾²⁷⁾。また、インドメタシン処理でも影響されない²⁴⁾。さらにウバイン処理やK除去あるいは両者の併用で遮断されることはなく、Na, K-ATPase 阻害作用とは無関係のものと考えられている²⁴⁾²⁷⁾。

大動脈のバナデイトによる収縮がK脱分極標本においてもみられることは膜電位変化に無関係の収縮であることを意味する²⁴⁾²⁷⁾。しかし、後で述べるようにモルモット大動脈のK脱分極標本にお

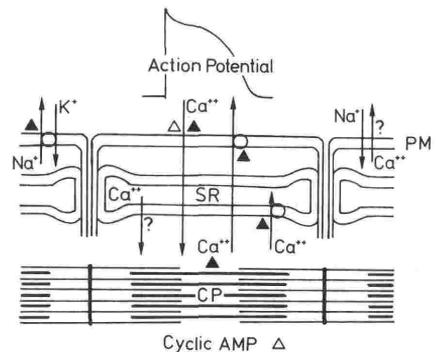


図2 心筋におけるバナデイトの作用部位。

PM, SR, CP はそれぞれ細胞膜、筋小胞体および収縮蛋白を示す。膜系における○はポンプによる能動輸送、また△と▲はバナデイト作用部位における促進効果および抑制効果を示す。

ける最終反応は弛緩であることに注意しなければならない。また、バナデイトの作用は陰イオン輸送の阻害剤である DIDS で阻害されることからバナデイトは細胞内に流入して細胞の内側で作用すると考えられる²³⁾²⁴⁾²⁶⁾。

バナデイトによる大動脈の収縮は動物によって異なり、K 収縮に対する割合でみた場合はラットにおいて大きく、モルモットやウサギでは比較的小さい²⁴⁾。この収縮には細胞外 Ca に依存する部分と依存しない部分があり、モルモット大動脈では細胞外 Ca 除去下でも正常の約50%程度の張力発生がみられる²⁷⁾²⁹⁾ (図3)。しかし、ラットではこれが10-20%程度と小さくなる。またモルモット大動脈では Ca 拮抗剤は張力の動揺がある場合のみ一部分抑制するがこれがない場合は無効である²⁷⁾²⁹⁾。おそらく一部に膜電位変化を介する収縮があってこの部分は Ca 拮抗剤によって抑えられるのであろう。一方、ラット大動脈では Ca 拮抗剤によって50%以上抑制され収縮が小さくなる²⁷⁾²⁹⁾。これらの結果はバナデイトが Ca とり込みを増加させると同時に細胞内 Ca を遊離させて収縮をもたらす可能性を示している。⁴⁵Ca を用いた実験ではバナデイトは Ca のとり込みを増加させるがその程度は高Kによる刺激の場合よりもはるかに低いという結果がえられた²⁹⁾。大動脈における ⁴⁵Ca efflux 実験はみられないが、同じく Ca 除去下で収縮反応がみられるモルモット気管平滑筋でバナデイトによる Ca efflux の増加が観察されている³⁰⁾。

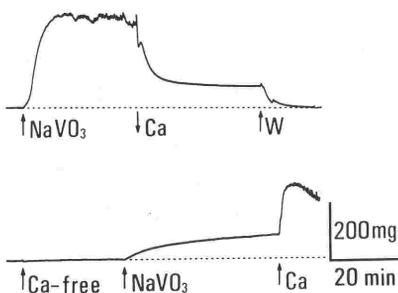


図3 モルモット大動脈平滑筋におけるバナデイト (NaVO_3) による収縮と Ca 除去の効果。
上の図の下向き矢印の Ca は Ca 除去を、下図の Ca-free は Ca 除去した Tyrode 液を示す。

心筋の場合と同じようにバナデイトが直接収縮蛋白を活性化して収縮をもたらす可能性はない。つまり、ウサギ大動脈²⁹⁾ やブタ頸動脈³¹⁾ のスキンド平滑筋標本を用いた実験でバナデイトの効果はいずれも抑制的であることが知られている。

血管平滑筋の膜系 Ca 輸送に対するバナデイトの作用に関する詳細な報告はみられないが、他の平滑筋細胞膜あるいは筋小胞体においてバナデイトは Ca-ATPase あるいは Ca とり込みが抑えるという研究がある³²⁾。筋小胞体の Ca とり込みの阻害は筋小胞体からの Ca 遊離につながる可能性があり、また平滑筋の弛緩を抑制する可能性もある。同様に細胞膜の Ca くみ出しの抑制は、Ca の流入がある場合には細胞内 Ca 濃度の上昇となり、ひいては張力の発生につながる。さらに弛緩の抑制によって収縮の増強をきたす可能性もある。

大動脈における収縮が Na, K-ATPase 阻害作用とは無関係のものであることは先に述べたが、生化学的な実験では Na, K-ATPase を阻害するという報告がある。Searle ら³³⁾ はバナデイトはラット頸動脈より得た培養平滑筋の膜フラクションの Na, K-ATPase を強力に抑制しその IC_{50} は 10^{-6} - 10^{-7} M であったと報告している。この場合オルトとメタバナデイトでは有意差がみられない。この抑制はK濃度依存性で、Na がこの阻害作用を抑えることは他の細胞における一般的な Na, ATPase の抑制の場合と同じである。一方、無傷の筋細胞の Rb のとり込みは 10^{-5} M のバナデイトでは抑制されない。このことはバナデイトの細胞内への流入がよくないか、あるいは流入したバナデイトが細胞内蛋白と結合してしまうかまたはバナジルに変わってしまって作用がなくなるからと考えられる。しかし、血管平滑筋で収縮を起こさせる濃度はこれよりさらに高く、この濃度で実際 Na, K-ATPase がどうなっているかは不明である。このことに関してモルモット大動脈で 10^{-3} M のバナデイトは細胞内K濃度を変化させないと報告されている²⁷⁾。後述べる門脈平滑筋でも細胞内K濃度を変化させない³⁴⁾。伏在静脈の Rb とり込みも変えない³⁵⁾。前者では細胞内 Na 濃度が有意に上昇する³⁴⁾。なお、他の組織と同様にバナデイトはウワバインの結合とは拮抗しないことが尾動脈や大動脈でも報告されている³⁶⁾。いずれにしてもバナデイトによる収縮は

Na, K-ATPase の阻害によるものではないことは先に述べたとおりである。

腸間膜動脈ではラット, モルモット, ウサギで 10^{-3} M 程度のバナデイトで収縮反応がみられるが収縮はいずれも極めて弱い²³⁾。これらの血管で細胞外K濃度を上昇させ膜を軽度脱分極させておくとバナデイトによる収縮が著明に増強される。この説明としては二つの可能性がある。一つは細胞膜の脱分極によってバナデイトが細胞内に流入しやすくなるという可能性で、もう一つは細胞外より流入する Ca 量が増加し、この消退をバナデイトが抑制するという可能性である。前者は DIDS が収縮を抑えること、後者は高K下のバナデイトによる収縮は細胞外 Ca 除去や Ca 拮抗剤で消失することによって支持されるが結論はでない。

脳底動脈ではバナデイトに対し比較的強い収縮反応がみられる²⁴⁾。とくにウサギ脳底動脈では大動脈よりも強い収縮がみられている²⁴⁾。

以上述べた種々血管におけるバナデイトに対する収縮反応の強さの傾向はウワバイン収縮の傾向と類似するが、この反応には Na, K-ATPase 阻害が大きな意味をもたないことは先に述べた²³⁾。

以上、動脈平滑筋のバナデイトによる収縮について述べたが、先にもふれたようにK脱分極した血管平滑筋ではバナデイトによって弛緩反応がみられるものがある。この反応は一過性の収縮反応の後でみられるがその強さは血管によって異なる。モルモットやラットの大動脈では小さな一過性収縮反応の後に強い弛緩反応がみられる²⁵⁾²⁸⁾。同様の弛緩反応はモルモット腸間膜動脈でもみられるがウサギ腸間膜動脈では弛緩反応が弱く、ラット腸間膜動脈では収縮反応が強く弛緩は長時間作用後ゆるやかに起こる²⁴⁾²⁵⁾。結腸紐においても同様の弛緩作用がみられておりこれはバナデイトによる細胞内 Na の増加で説明されているが、これらの血管標本ではウワバインが弛緩作用を示さないので、おそらく他の機序、たとえば上に述べた収縮蛋白への直接作用などが原因であろう。

バナデイトは静脈系の平滑筋に対しても刺激作用を示す。例えばイヌの伏在静脈では 10^{-4} M 以上のバナデイトが収縮作用を示し、これはフェントラミンでは遮断されないと報告されている³⁵⁾。ラット門脈平滑筋では自発性の収縮があるが、

5×10^{-5} M 以上のバナデイトはこの収縮頻度を増加させ収縮張力を増強させる²⁴⁾³⁴⁾。このとき基本張力は変化しない(持続性の収縮はみられない)。一方、ウサギの門脈では各収縮張力の著明な増加はみられないが収縮頻度の増加がいちじるしく、 10^{-4} M 以上では強縮様となって持続性となる²⁴⁾。これらの血管ではウワバインは最終的に抑制効果を示し、バナデイトの効果とは異なる。また、アドレナリンあるいはコリン遮断薬によって影響されない³⁴⁾。ラット門脈の自発性収縮はスパイク電位の群発によって惹起されているが、バナデイトは膜静止電位を変えずに群発中のスパイク数を増加させる。収縮力の増大はこのスパイク数の増加によってもたらせるがその機序は不明である³⁴⁾。この血管平滑筋の高Kによる収縮は一過性と持続性の両収縮要素で構成されているが、バナデイトはこれらの両収縮要素を著明に増大させる³⁴⁾。またK拘縮の持続性要素の経過中にバナデイトを作用させた場合も張力がさらに増大する³⁴⁾。これらの効果の全ては細胞外 Ca 除去下ではみられず、バナデイトの刺激作用は何らかの意味で細胞外 Ca の流入と関係があると言える。つまり、この血管平滑筋においては Ca の流入を促進するか、流入 Ca のくみ出しを抑えることあるいはこの両者によって収縮させると考えられる。

以上、多くの血管平滑筋においてバナデイトは収縮作用あるいは収縮増強作用をもつことが示された。これらの作用は内在神経とは無関係のもので、Na, K-ATPase 抑制作用も関係しないと考えられる。おそらく Ca 流入促進と流入 Ca の消

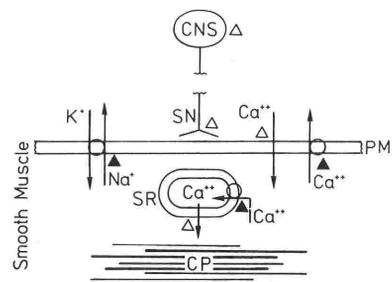


図4 交感神経系と血管平滑筋におけるバナデイトの作用部位。CNS, SN はそれぞれ中枢神経系, 交感神経を示す。他は図2と同じ。

退機能の障害によるものであろう (図4)。

4. 交感神経系に対する作用

Na, K-ATPase の抑制は自律神経に対しても種々の影響を与え多様な効果をあらわすことが知られており血管レベルの交感神経の伝達においても種々の影響が報告されている³⁷⁾。同様に Na, K-ATPase 阻害作用をもつバナデイトに関しても2,3の報告がある。1982年 Török ら³⁸⁾はウサギ肺動脈で 10^{-5}M 以上のバナデイトがノルアドレナリンの遊離を促進することを報告している。この促進はノルアドレナリンによって阻止されるが、これは α_2 受容体を介するものであるといわれている。しかし、カテコラミンとバナデイトの間の酵素阻害における相互作用も考慮に入れる必要がある。さらに、Na, K-ATPase 阻害作用の他に Ca 動態に及ぼす作用も考えなければならない。ネコの脳動脈と大腿動脈でも同様にノルアドレナリンの遊離がみられるが³⁹⁾、この遊離は Ca や Na によって影響されず、ウワバインによる遊離とは異なることから Na, K-ATPase 抑制とは無関係の遊離であると考えられている。また神経刺激による血管の収縮反応はバナデイトで増強されるが、この場合は平滑筋筋力の変化によるところが大きい⁴⁰⁾。いずれにしても血管における交感神経筋伝達は促進されると考えられる。

勿論このほかにバナデイトの中樞神経系に対する作用も考えなければならない。Hom ら⁴¹⁾によると麻醉犬でバナデイトを脳室内に投与すると血圧の上昇がみられるがこれはヘキサメトニウムで遮断されることをみている。バナデイトを静注した場合は迷走神経切除したイヌにおいてのみ血圧の上昇がみられる。これらはいずれも昇圧効果が中樞神経系を介するものであることを示唆している。(図4)。

5. 腎臓に対する作用

バナデイトは腎細胞膜においても Na, K-ATPase 阻害作用を示す²⁾⁴²⁾。バナデイトが E_2 状態の酵素に結合し、K, Mg などはこれを促進することは先に述べた。Na, K-ATPase 阻害の結果 Na の再吸収が阻害され、尿中 Na 排泄量が増加するとともに尿量が増加する⁴³⁾⁻⁴⁷⁾。なお、このとき生体に注入したバナデイトは腎皮質に高濃度に

分布している⁴³⁾。これらのことからバナデイトは近位尿細管の Na, K-ATPase を阻害して Na の再吸収を抑制し水の再吸収をへらして尿量を増加させるものと考えられる。(その後、バナデイトはネフロンを全部分で再吸収を抑えるといわれている⁴⁸⁾。

Kumar と Corder⁴⁴⁾はラットの摘出腎でバナデイトによって糸球体濾過量が増加することを報告し、腎血管抵抗が増大することから、毛細血管の後部での血管が収縮することをその原因とした。一方、Hatfield と Churchill⁴⁵⁾は麻醉ラットで腎血管抵抗が増大し腎血漿流量と糸球体濾過量は減少すると報告している。しかしこの報告でも尿中 Na と尿量は増加するといっている。またこの報告ではバナデイトの効果は Na, K-ATPase と Ca-ATPase の両者の阻害が関係している可能性があると考えている。しかし腎血流量低下と糸球体濾過量の低下を示すネコでは尿量が減少すると報告されているし⁴⁹⁾、同様の結果はイヌでもみられている⁴⁹⁾。このように報告によって異なる結果が示されているがこれらは用いた動物の差や実験方法の差によるものであろう。いずれにしてもこれらの作用はいずれも直接血圧の上昇につながるものではないが、血圧の調節に関与し得ることは確かである。なお尿毒症の患者で血清バナデイト濃度が上昇しているという報告⁵⁰⁾や本能性高血圧のあるタイプの患者で尿中バナデイトの排泄が増加しているという報告⁵¹⁾は興味がある。

6. 生体におけるバナデイトの作用

バナデイトの生体における作用は数多くあるがここではこのうち循環系における作用について述べる。

バナデイトを生体に投与すると通常血圧の上昇がみられる⁴¹⁾⁴⁵⁾⁴⁸⁾⁴⁹⁾⁵²⁾。Inciarte ら⁵²⁾によるとイヌに麻醉下でバナデイトを持続注入すると血圧動脈圧の持続的な上昇がみられ、注入を停止すると比較的速やかに戻ると報告している。このとき肺動脈圧や右心房内圧も上昇する。しかし、stroke volume や心拍出量は低下する。一方、総血管抵抗の著明な増大がみられる。また心拍数は一時減少するがこれはやがて元に戻る。これらのことはバナデイトによる血圧の上昇には総血管抵抗の増大が一番大きな影響を与えていることを意味す

る。一般的に血圧を変化させる因子のうちもっとも大きな意味をもつのは末梢血管抵抗であることを考慮すれば⁵³⁾、これは極めて当然のことである。この総血管抵抗の増大は血管の収縮によると考えられ、生体でも内臓血管や皮膚、骨格筋の細い血管で収縮がみられる⁵²⁾。大腿動脈や頸動脈では血流量の増加がみられ、皮膚や筋の太い血管では変化しないという報告⁴⁹⁾もあるが、これらは血管抵抗に大きな影響を与えるとは考えられない。われわれもラットにバナデイトを持続静注すると血圧の持続的な上昇がみられることをみている(図5)。このとき心拍数は減少する。ラットにおいてもバナデイトの注入を停止すると上昇した血圧が速やかに元に戻る。これはおそらくバナデイトが無効な形に変化するか、速やかに排泄されるためと考えられるが、確認されていない。

バナデイトを静脈や冠動脈に注入した場合は冠血管抵抗が増大して冠血流量が減り心収縮力が低下するので⁵²⁾ 心臓の灌流実験を行う場合に注意しなければならないことは先に述べた。またイヌでは腎血管の抵抗増大と腎血流量の減少もみられる⁴⁹⁾ また、糖尿病ラットでは心筋の収縮力の低下がみられノルアドレナリンに対する反応も低下しているが、バナデイト経口投与によって正常ラットのレベルまで戻すことができるという報告もある⁵²⁾。しかしこの場合機序としてバナデイトのインシュリン様作用がもっとも可能性が高いとされている⁵⁴⁾。

バナデイトの長期経口投与に関する報告もみられる⁵⁵⁾⁵⁶⁾。Steffen らによるとラットをバナデイトを含む飼料で飼育すると徐々に血圧の上昇がみられるが、これは飲水量や尿量あるいは尿中 Na 排泄量とは関係がなく、血漿中のバナジウム濃度に関係するといわれる。Jadhav と Jandhyala⁵⁶⁾ は同じラットで飲料水中にバナデイトを加えると

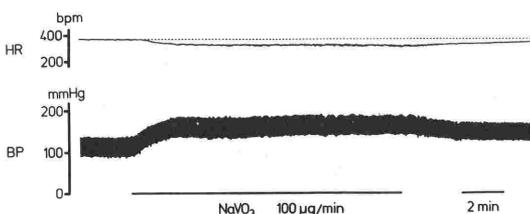


図5 バナデイトによるラットの血圧上昇。
B. P, 血圧; HR, 心拍数。心拍数は減少する。

はじめの3週間は血圧が上昇しやがて元に戻ることをみている。心拍数には変化がみられない。また、このときノルアドレナリンやアンジオテンシンIIの昇圧作用は増強されている。これらの効果はいずれも高血圧へつながる。なお高濃度バナデイト投与では腎の Na, K-ATPase の抑制もみられる。なお、生体に投与されたバナデイトは腎にもっとも多く、ついで骨、肝、骨格筋などに分布する。

まとめ

以上、循環系におけるバナデイトの作用について述べた。各々の組織における実験データのほとんどは循環系に対する促進につながる作用を示しており、例えば血圧に関しては昇圧をもたらすという結果が得られている。実際にバナデイトを生体に投与した場合にも血圧の上昇がみられている。

バナジウムは生体における微量元素でその生理学的意義についても種々の可能性が考えられているがまだ不明の点が多い。バナデイトが Na, K-ATPase 阻害作用をもつということは繰り返し述べたが、これと同じ作用をもつ内因性ジギタリス様物質についても循環系における作用がいろいろと問題になっていて、とくに血圧の調節における意味も重要視されてきている⁵³⁾。しかし、バナデイトの昇圧に関与する作用のなかには Na, K-ATPase の阻害とは関係がないものもある可能性も示された。おそらく他の酵素、例えば Ca-ATPase などの阻害による細胞内 Ca の上昇が主な原因と考えられる。

バナデイトの昇圧作用のもっとも大きな原因となり得るのは血管平滑筋の収縮による末梢血管抵抗の増大であろう。このことに関しては血管平滑筋の興奮性の亢進(例えば活動電位の発生)、細胞外 Ca 流入の増加(電位依存性および非依存性 Ca チャンネルの開口による)、細胞内 Ca 消退の抑制、支配交感神経興奮性変化、神経筋興奮伝達の変化など全てが促進的な方面になっていることで一致している。これらの生理学的諸機能にバナデイトが生体内に存在する濃度でいかに関与し得るかが問題である。また、高血圧患者におけるバナデイト排泄の異常が報告されているものの、生体内濃度異常に関する詳細な研究がなされていないのでただちに関連づけることもできない。しか

し、バナデイトは実際に生体内に存在する物質であり、しかも強力な作用をもつ物質であることが明らかになっている以上、この物質の意義とその異常についても興味があるところである。

勿論、循環系の調節はきわめて複雑で非常に多くの因子、あるいは物質によって調節されている。これらはたがいに複雑に関連していて多くの生体機能を調節しているが、多くの場合同じ目的（例えば昇圧）に向かって調節して作用する。この意味でバナデイトも多くの作用をもつ物質の一つとして循環系の複雑な相互関係⁵³⁾⁵⁷⁾に加わる可能性がある。

文 献

- Erdmann, E., Werdan, K., Krawietz, W., et al.: Vanadate and its significance in biochemistry and pharmacology. *Biochem. Pharmacol.* **33**:945-950, 1984.
- Nechay, B. R.: Mechanism of action of vanadium. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **24**:501-524, 1984.
- Hackbarth, I., Schmitz, W. and Scholtz, H.: Positive inotropism of vanadate in cat papillary muscle. *Nature* **275**:67, 1978.
- Tritthart, H. A., Koidl, B. and Windisch, H.: Effects of vanadate on action potential and tension development in papillary muscle and cultured heart muscle cells. *Basic Res. Cardiol.* **75**:472-477, 1980.
- Schwartz, A., Adams, R. J., Grupp, I., et al.: Effects of vanadate of myocardial function. *Basic Res. Cardiol.* **75**:444-451, 1980.
- Takeda, K., Akera, T., Yamamoto, S., et al.: Possible mechanisms for inotropic actions of vanadate in isolated guinea-pig and rat heart preparation. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **314**:161-170, 1980.
- Grupp, G., Grupp, I., Johnson, C. L., Wallick, E. T., et al.: Effects of vanadate on cardiac contraction and adenylate cyclase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **88**:440-447, 1979.
- Gesser, H. and Jørgensen, E.: Effect of vanadate and of removal of extracellular Ca^{2+} and Na^+ on tension development and ^{45}Ca efflux in rat and frog myocardium. *Comp. Biochem. Physiol.* **76C**:199-202, 1983.
- Myers, T. D. and Boerth, R. C.: Interaction of ouabain and vanadate with $(\text{Na}^+, \text{K}^+)$ ATPase and isolated cardiac muscle. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **96**:39-46, 1980.
- Borchard, U., Fox, A. A. L., Greeff, K., et al.: Negative and positive inotropic action of vanadate on atrial and ventricular myocardium. *Nature* **279**:339-341, 1979.
- Borchard, U., Fox, A. A., Greeff, K., et al.: Influence of vanadate on electrophysiological and contractile parameters of atrial myocardium. *Basic Res. Cardiol.* **75**:423-427, 1980.
- Takeda, K., Temma, K. and Akera, T.: Inotropic effects of vanadate in isolated rat and guinea-pig heart under conditions which modify calcium pools involved in contractile activation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **222**:132-139, 1982.
- Werdan, K., Bauriedel, G., Bozsik, M., et al.: Effects of vanadate in cultured rat heart muscle cells. Vanadate transport, intracellular binding and vanadate-induced changes in beating and in active cation flux. *Biochim. Biophys. Acta.* **597**:364-383, 1980.
- Wang, T., Tsai, L.-I., Solaro, R. J., et al.: Effects of potassium on vanadate inhibition of sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase from dog cardiac and rabbit skeletal muscle. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **91**:356-361, 1979.
- Wierichs, R., Hagenmeyer, A. and Bader, H.: Influence of Ca^{++} and Mg^{++} on the vanadate inhibition of the Ca^{++} -ATPase from pig heart sarcoplasmic reticulum. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **92**:1124-1129, 1980.
- Morcos, N. C.: Localization of $(\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+})$ -ATPase, Ca pump and other ATPase activities in cardiac sarcolemma. *Biochim. Biophys. Acta.* **688**:747-756, 1982.
- Caroni, P. and Carafoli, E.: Regulation of Ca^{2+} -pumping ATPase of heart sarcolemma by a phosphorylation-dephosphorylation process. *J. Biol. Chem.* **25**:9371-9373, 1981.
- Solaro, R. J., Holroyde, M. J., Wang, T., et al.: Effects of vanadate on biochemical and contractile properties of rabbit hearts. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **2**:445-452, 1980.
- Clausen, T., Lindahl Andersen, T., Stürup-Johansen, M., et al.: The relationship between the transport of glucose and cations across cell membrane in isolated tissues. XI. The effects of vanadate on ^{45}Ca -efflux and sugar transport in adipose tissue and skeletal muscle.
- Hackbarth, I., Schmitz, W., Scholz, H., et al.: Stimulating effect of vanadate on cyclic AMP levels in cat papillary muscle. *Biochem. Pharmacol.* **29**:1432-1435, 1980.
- Krawietz, W., Werdan, K. and Erdmann, E.: Stimulation of human cardiac adenylate cyclase by vanadate. *Basic Res. Cardiol.* **75**:443-437, 1980.
- Herzig, J. W., Peterson, J. W., Rüegg, J. C., et al.: Vanadate and phosphate ions reduce tension and increase cross-bridge kinetics in chemically skinned heart muscle. *Biochim. Biophys. Acta.* **672**:191-196, 1981.
- Sunano, S., Tsuji, A., Shimada, T., et al.: Comparison of the effects of sodium vanadate and ouabain on vascular smooth muscles of Wistar-Kyoto rats and stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *J. Hypertension* **4(Suppl. 3)**:S261-S262, 1986.

- 24) Shimada, T., Shimamura, K. and Sunano, S.: Effects of sodium vanadate on various types of vascular smooth muscles. *Blood Vessels* **23**: 113-124, 1986.
- 25) Sunano, S., Shimada, T. and Shimamura, K.: Effects of vanadate on vascular smooth muscles of WKY and SHRSP. *Jpn. Heart J.* **28**:765-781, 1987.
- 26) Rapp, J.P.: Aortic responses to vanadate: Independence from (Na, K)-ATPase and comparison of Dahl salt-sensitive and salt-resistant rats. *Hypertension* **3(Suppl I)**:I-168-I-172, 1981.
- 27) Ozaki, H. and Urakawa, N.: Effects of vanadate on mechanical response and Na-K pump in vascular smooth muscle. *Europ. J. Pharmacol.* **68**:339-347, 1980.
- 28) Ozaki, H., Ueda, F. and Uraka, N.: Inhibitory effects of vanadate on the contractile responses in vascular smooth muscle. *Europ. J. Pharmacol.* **80**:317-322, 1982.
- 29) Sunano, S., Shimada, T., Shimamura, K., et al.: Extra- and intracellular calcium in vanadate-induced contractions of vascular smooth muscles. *Heart and Vessels*. 1988 (in press).
- 30) Nayler, R. A. and Sparrow, M. P.: Mechanism of vanadate-induced contraction of airways smooth muscle of the guinea-pig. *Br. J. Pharmacol.* **80**: 163-172, 1983.
- 31) Peterson, J. W.: Vanadate ion inhibits actomyosin interaction in chemically skinned vascular smooth muscle. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **95**: 1846-1853, 1980.
- 32) Raeymaekers, L., Wuytack, F., Eggermont, J., et al.: Isolation of a plasma-membrane fraction from gastric smooth muscle. Comparison of the calcium uptake with that in endoplasmic reticulum. *Biochem. J.* **210**:315-322, 1983.
- 33) Searle, B. M., Higashino, H., Khalil, F., et al.: Vanadate effect on the Na, K-ATPase and the Na-K pump in *in vitro*-grown rat vascular smooth muscle cells. *Circ. Res.* **53**:186-191, 1983.
- 34) Shimamura, K. and Sunano, S.: Effects of sodium vanadate on the smooth muscle of the rat portal vein. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **337**:347-353, 1988.
- 35) Huot, S., Muldoon, S., Pannani, M., et al.: Effects of sodium vanadate (Na₃VO₄) on wall tension and Na⁺-K⁺ pump activity in isolated saphenous vein. *Fed. Proc.* **38**:1036, 1979.
- 36) Wong, S. K., Wasfall, D. P., Menear, D., et al.: Sodium-potassium pump sites, as assessed by [³H]-ouabain binding, in aorta and caudal artery of normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Blood Vessels* **21**:211-222, 1984.
- 37) Vanhoutte, P., Verbeuren, T. J. and Webb, R. C.: Local modulation of adrenergic neuroeffector interaction in blood vessel wall. *Physiol. Rev.* **61**: 151-247, 1981.
- 38) Török, T., Rubányi, G., Vizi, E. S., et al.: Stimulation by vanadate of [³H]noradrenaline release from rabbit pulmonary artery and its inhibition by noradrenaline. *Europ. J. Pharmacol.* **84**:93-97, 1982.
- 39) Marin, J., Sanchez-Ferrer, C. F., Salaices, M., et al.: Noradrenaline release induced by ouabain and vanadate in cat cerebral and peripheral arteries. *Gen. Pharmac.* **17**:581-584, 1986.
- 40) Shimamura, K., Shimada, T. and Sunano, S.: Effects of vanadate on contraction of SHRSP mesenteric arteries induced by field stimulations. *Jpn. J. Smooth Muscle Res.* **21**:277-278, 1985.
- 41) Hom, G. J., Chelly, J. E. and Jandhyala, B. S.: Evidence for centrally mediated effects of vanadate on the blood pressure and heart rate in anesthetized dogs. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **169**:401-405, 1982.
- 42) Grantham, J.: The renal sodium pump and vanadate. *Am. J. Physiol.* **239**:F97-F109, 1980.
- 43) Balfour, W. E., Grantham, J. J. and Glynn, I. M.: Vanadate-stimulated natriuresis. *Nature* **275**: 768, 1978.
- 44) Kumar, A. and Corder, C. N.: Diuretic and vasoconstriction effects of sodium orthovanadate on the isolated perfused rat kidney. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **213**:85-90, 1980.
- 45) Hatfield, M. and Churchill, P.: Renal vascular and tubular effects of vanadate in the anesthetized rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **217**:406-410, 1981.
- 46) Smith, J. H., Braselton, W. E., Tonsager, S. R., et al.: Effects of vanadate on organic ion accumulation in rat renal cortical slices. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **220**:540-546, 1982.
- 47) Larsen, J. A., Thomsen, O. O. and Hansen, O.: Vanadate-induced oliguria in the anesthetized cat. *Acta Physiol. Scand.* **106**:495-496, 1979.
- 48) Westenfelder, C., Hamburger, R. K. and Garcia, M. E.: Effect of vanadate on renal tubular function in rats. *Am. J. Physiol.* **240**:F522-F529, 1981.
- 49) Hansen, O., Larsen, J. A. and Thomsen, O. O.: Vasoconstriction evoked by vanadate in cats. In: *Cell Membrane in Function and Dysfunction of Vascular Tissue*. ed by Godfraind, T. and Meyer, P., Elsevier/North Holland, Amsterdam, p. 84-85, 1981.
- 50) Bello-Reuss, E., Grady, T. P. and Mazumdar, D. C.: Serum vanadium levels in chronic renal disease. *Ann. Intern. Med.* **91**:743, 1979.
- 51) Schroeder, H. A.: Mechanism in hypertension (Thomas, C. C. ed.) Springfield, Ill, p. 118, 1957. (cited from 4 and 52).
- 52) Inciarte, D. J., Steffen, R. P., Dobbing, D. E., et al.: Cardiovascular effects of vanadate in the dog. *Am. J. Physiol.* **239**:H47-H56, 1980.
- 53) 砂野 哲, 島村佳一: 血圧の調整機構を探る。 *薬局* **39**: 1-7, 1988.
- 54) Paulson, D. J., Kopp, S. J., Tow, J. P., et al.: Effects of vanadate on *in vivo* myocardial reactivity to norepinephrine in diabetic rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **240**:529-534, 1987.

- 55) Steffen, R. P., Pamnani, M. B., Clough, D. L., et al.: Effect of prolonged dietary administration of vanadate on blood pressure in the rat. *Hypertension* **3(Suppl I)**:I-173-I-178, 1981.
- 56) Jadhav, A. L. and Jandhyala, B. S.: Effects of chronic administration of vanadate on blood pressure, heart rate and Na^+/K^+ -ATPase in adult male Wistar rats. *Arch. int. Pharmacodyn.* **263**:74-84, 1983.
- 57) Jandhyala, B. S. and Hom, G.: Physiological and pharmacological properties of vanadium. *Life Sciences* **33**:1325-1340, 1983.