

総説

高血圧モデル動物における血管内皮依存性弛緩の異常

砂野 哲*

はじめに

1980年に Furchgott と Zawadzki¹⁾ がアセチルコリンによる血管内皮依存性の血管平滑筋弛緩反応 (endothelium dependent relaxation) を報告して以来、この約10年間に急速に多くの研究がなされるようになった。これらの研究は多方面にわたるが基本的には二つに大別することができる。その一つは内皮由来の弛緩物質 (endothelium derived relaxing factor, EDRF) の血管弛緩の機序と生理的意義に関する研究である。もう一つは EDRF そのものの追求である。EDRF はその後

酸化窒素 (NO) である可能性が示され²⁾、現在最も有力な候補であるがこれで諸現象が完全に説明されたとは云えないし、複数の物質を想定する研究者もいる。さらに内皮由来の血管収縮物質 (endothelium derived contracting factor, EDCF) があることもわかって来た (最近同定された endothelin³⁾ もその一つである) ため血管の内皮依存性反応はより複雑になってきた。内皮依存性の血管平滑筋弛緩時には平滑筋内の cyclic GMP の増加がみられ、この cyclic GMP の増加を妨げる処理 (例えばグアニレートシクラーゼ活性を抑えるメチレンブルー処理) で弛緩反応が消失する。細胞内 cyclic GMP は細胞内遊離 Ca 濃度を下げることあるいはミオシンライトチェーンを脱リン酸化して弛緩反応をもたらす⁴⁻⁷⁾ (図1)。

血管内皮に作用して弛緩をもたらす物質はアセチルコリンに限らずヒスタミン、ブラジキニン、Ca イオノフォア A23187, ATP, ADP, AMP, アデノシン, サブスタンス P, CGRP, グラミシン, メリチン, セロトニン, アラキドン酸, 血小板, トロンビン, VIP, ビドララジン, ノルアドレナリン, バゾプレシン, アンギオテンシン II などがある。また、血中酸素濃度や血量速度変化によっても内皮依存性の反応がみられる。さらにこれらの刺激物質がない場合にも内皮由来の物質 (とくに弛緩物質) が常時遊離されていることも知られている。これらのことは生体内において内皮が血管緊張に重要な役割をはたしている可能性を示す。

これらの詳細を述べることはできないが多くの総説⁸⁻²⁴⁾ があるのでこれを参考にさせていただきたい。

生体内における調節因子としての可能性が増すと同時に各種病態における内皮の異常にも注目さ

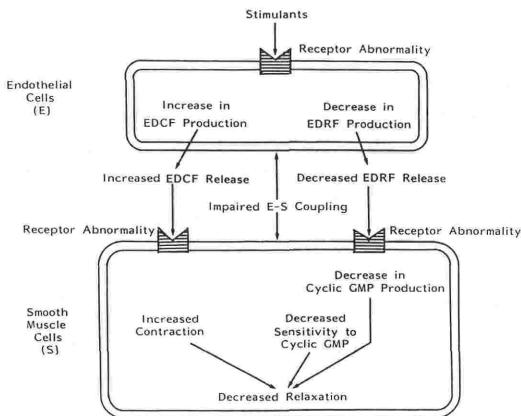


図1 内皮由来血管作動因子の産生と血管平滑筋における作用様式。EDRF: 内皮由来血管弛緩因子。EDCF: 内皮由来血管収縮因子。E-S coupling: 内皮と平滑筋間の連関。[Ca]_i: 細胞内遊離カルシウム濃度。

*近畿大学高血圧研究所

れるようになってきた。なかでも高血圧との関係についての論文が多くみられる²⁴⁾。本論文では各種高血圧モデル動物における血管内皮依存性弛緩の異常についてまとめてみる。

1. 高血圧と血管内皮

1) 組織学的変化

Gabbiani ら²⁵⁾によると大動脈絞扼, 片腎摘出食塩負荷, DOCA 食塩負荷等で高血圧にしたラットの動脈でいずれも血管内皮の肥大と内皮細胞内 microfilament の出現, および内皮下層の肥厚がみられると報告されている。同様の報告は Huttner らの論文²⁶⁾をはじめ他にもいくつかみられる²⁷⁻²⁹⁾。高血圧自然発症ラット (spontaneously hypertensive rats, SHR) の大動脈では, 胎児や高血圧発症前の幼若動物では正常ラット (Wistar Kyoto rats, WKY) の大動脈との間に内膜の構造上の差がみられないが³⁰⁻³²⁾、高血圧発症と同時に (10週令程度) に内膜における異常が生じてくる。内膜レベルにおけるこの変化は内皮下層の拡大と内皮細胞の乱れである。詳細はここにあげた論文を参考にされたいが, SHR では加齢とともに内皮の変化が著明となり, 内皮の細胞の破壊までみられるようになる。しかし, 中動脈や小動脈では20週令でも内皮下層の拡大は大きくないという報告³²⁾もある。大動脈における内皮細胞の傷害は脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット (SHRSP) でも報告されている³³⁾。また腎動脈でも部位によって多少異なるもののほぼ同様の結果が得られている³⁴⁾。

Dahl 食塩感受性高血圧ラットでも同様の結果が得られていて, この動物の腸間膜動脈でやはり内皮下層の拡大と内皮細胞の壊死あるいは崩壊がみられる³⁵⁾。また大動脈でも著明ではないが内膜の肥厚がみられる³⁶⁾。

このような内皮あるいは内膜における変化は早期からの抗高血圧処置によって予防することができる^{37,38)}。あるいは高血圧発症後に降圧治療することによって回復させることができる³⁷⁾。さらに7週令から治療を開始して24週令で中止した動物で42週令でみると再び内膜の変化が起きていることが確認されている。ただし, 回復に関しては異論もあり, 一度変化が起こると回復させるのは困難であるという報告もみられる²⁷⁾。

全身的な高血圧ではないが monocrotaline で誘発した肺性高血圧ラットの肺動脈における血管内皮の変化に関する報告がある³⁹⁾。この場合は内皮細胞が膨化するが, 同時に microfilament が減少し, 基質と膨化したミトコンドリアが多くなる。

以上の結果はいずれも高血圧動物血管内膜における変化が高血圧による二次的变化であることを示し, また遺伝的高血圧モデル動物においてもこれらの変化が高血圧の発症なしに起こる可能性がないことを示している。一方, SHR 腎動脈での実験で早期より降圧剤で血圧を下げてても内膜の変化を防ぐことができなかったという報告⁴⁰⁾や内皮細胞の gap junction および tight junction は高血圧発症前にすでに長くなっているという報告⁴¹⁾もあって遺伝的な異常の可能性も示唆されているが, これらの異常が高血圧発症によってこの変化が急速に増加することも確認されている。なお, 高血圧動物におけるこの構造上の変化と弛緩機能の異常との関係については後の章で述べることにする。

2) 高血圧モデル動物における内皮依存性弛緩

i) 内皮依存性弛緩反応に影響を与える諸因子

内皮依存性弛緩反応は多くの場合刺激薬存在下で収縮した血管を用いて観察するが, このときに用いる薬物やその濃度によって弛緩反応が異なる可能性がある。また, 弛緩反応を誘発する物質も種々報告されているが, この物質の差によっても反応が異なる。

高血圧動物は種類も多く, 高血圧の程度も異なる。同じ高血圧モデル動物でも報告によって血圧が異なる。たとえば SHR を用いても異なる血圧が得られるが, この一部は最近系統の乱れが生じてきていることによる。もちろん, 血圧測定の手法の差 (熟練度を含めた) も大きな問題である。内皮依存性の反応は用いた動物の年齢 (週令) にも影響され, さらに飼育条件, とくに栄養によって変わってくる。

このように内皮依存性弛緩は多くの因子による影響を受けるが, これらの条件は報告によって異なるので, これらの全てを考慮に入れて述べることは困難であり, したがって各論文の結果を単純に比較するのは問題であるが, 以下この点も考慮しながら考察を加える。

ii) 高血圧自然発症ラット

Konishi and Su⁴²⁾ および Shirasaki and Su⁴³⁾ は15~16週令の SHR の大動脈でアセチルコリンによる内皮依存性の弛緩が悪くなっていることを報告している。この弛緩はアセチルコリンの高濃度側で反転してくる傾向がある^{42,44)}。アセチルコリンの高濃度側での弛緩の反転は Lüscher and Vanhoutte⁴⁵⁾ によっても報告されているが、彼等によるとこの反転はインドメタシンで切れて、WKY の弛緩との間の差がなくなるといわれる。

このアセチルコリンによる内皮依存性弛緩反応の減弱は5~6週令の幼若 SHR ではみられず、15~18週令で著明になる⁴⁶⁾。一方、Sim and Chua⁴⁷⁾ はヒスタミンによる弛緩は SHR で減弱しているが、アセチルコリンによる弛緩には SHR と WKY 間の差がみられないと報告している。この著者らは後に SHR をさらに腎性高血圧

にするとアセチルコリンによる弛緩が悪くなることを報告して⁴⁸⁾、SHR における高血圧と腎性高血圧の影響は異なる述べているが、いずれにしても他の多くの報告とは異なる結果である。

大動脈におけるアセチルコリンによる内皮依存性の弛緩反応の減弱はより高度の高血圧を示す脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット (SHRSP) で著明にみられる^{33,49-55)} (ここでも Sim and Chua⁴⁷⁾ は有意差がみられなかったといっている)。われわれは SHR, SHRSP およびさらに悪性の高血圧と脳卒中発症を示す M-SHRSP の三種の高血圧自然発症ラットを用いて内皮依存性弛緩の異常を検討した^{51,56)} (図2)。これらのラットはいずれも Wistar Kyoto rat (WKY) を祖先と

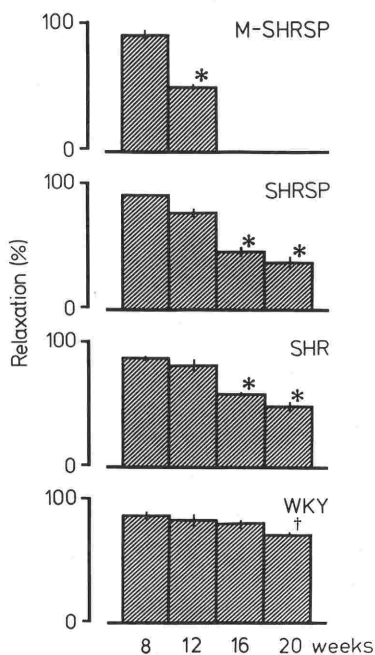


図2 種々の高血圧ラットにおける週令と内皮依存性弛緩。WKY, SHR, SHRSP および M-SHRSP はそれぞれ Wistar Kyoto rat, spontaneously hypertensive rat, stroke-prone SHR, marignant SHRSP を示し血圧はこの順序で高くなっている。縦軸はノルアドレナリン (5×10^{-7} M) による収縮を100%とした場合の弛緩の割合。*は WKY の血管における弛緩との有為差を示す。M-SHRSP における16, 20週令の実験は脳卒中発作のため不可能であった。(Sunano et al., 1989⁵¹⁾)

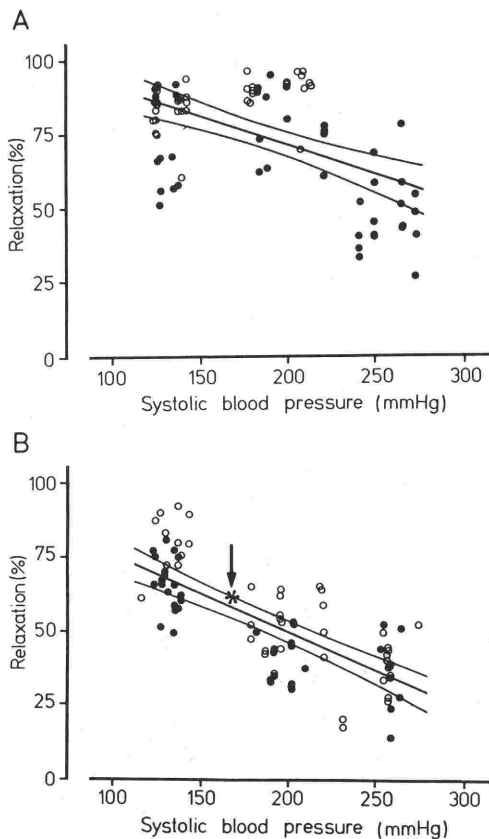


図3 種々高血圧ラットにおける血圧と内皮依存性弛緩との相関。この図には図2の実験に用いた全ての高血圧自然発症ラットが含まれている。A: 8週令 (白丸) と12週令 (黒丸)。B: 16週令 (白丸) と20週令 (黒丸)。B図において高度の相関がみられる。(Sunano et al., 1989⁵¹⁾)

するもので、高血圧という点を除けば遺伝的にも近い系統と考えられる。正常血圧を示す動物の血管においても内皮依存性の弛緩は加齢とともに減弱して来るが、WKYの大動脈では少なくとも20週令までにはこの減弱は著明ではない。高血圧自然発症ラットではこの減弱が急速になり、その速度は血圧の高さと密接な関係があった。つまり、WKY < SHR < SHRSP < M-SHRSP の順でM-SHRSPにおいては12週令ですでに著明な減弱がみられた。なお16~20週令のラットでは血圧と内皮依存性弛緩反応の減弱との間に明らかな相関関係がみられた(図3)。この関係は12週令以下の幼若では不明瞭となったが、いずれのラットにおいても高血圧発症以前では内皮依存性弛緩反応の減弱はみられなかった。

以上の結果は内皮依存性弛緩反応の減弱が遺伝的に決定されたものではなく高血圧による二次的变化である可能性を示す。このことは降圧治療の結果によっても支持されるが、これは後で述べる。

弛緩の異常は最大弛緩反応のみではなく、その時間経過にもみられる^{49,50,53}。多くの血管では収縮標本にアセチルコリン等の弛緩薬を作用させた場合急速な一過性の弛緩反応がみられ、これが反転してくる傾向がある。WKYの大動脈でも一過性の急速な弛緩のちに反転してくる。高濃度のアセチルコリンを用いた場合はとくにこの傾向が強い。一方、SHRSPの大動脈では弛緩反応も減弱しているが、反転傾向も弱い。

高血圧自然発症ラットにおけるアセチルコリンによる内皮依存性弛緩反応の減弱は他の血管においてもみられる。例えばSHRの頸動脈⁵⁷、腎動脈⁵⁷、腸間膜動脈⁵⁸⁻⁶⁰、SHRSPの腸間膜動脈⁵⁴⁻⁶¹、脳動脈⁵⁵⁻⁶²などで程度の差はあるもののいずれもアセチルコリンによる弛緩あるいは血管拡張が減弱していることが報告されている。しかし、大腿動脈では逆にSHRの方で弛緩反応が亢進しているという報告⁴²もある。腎動脈では先に述べた大動脈と同様に 10^{-7} ~ 10^{-6} Mのアセチルコリンで最大弛緩がみられ、それより高濃度では反転して収縮してくる傾向があるが、この傾向はSHRの標本において著明である⁵⁷。この収縮傾向はインドメタシンで遮断され、アセチルコリン高濃度側で弛緩反応が増大される。このことはこの反転が血管収縮性のプロスタノイドの遊離

によるものであることを意味する。なお、この反転傾向はSHRの大腿動脈⁴²、総頸動脈⁵⁷あるいはSHRSPの腸間膜動脈ではみられない。

高血圧自然発症ラット血管における弛緩反応の異常はアセチルコリン誘発の場合のみならず他の誘発物質による場合にもみられる。例えばSim and Chua⁴⁷はSHRやSHRSPの大動脈におけるヒスタミンによる弛緩反応はWKYの大動脈に比べて減弱しているという報告をしている。先に述べたようにこれら著者はアセチルコリンによる弛緩反応は減弱していないと報告しているので、レセプター特異的な減弱と考えられるが、他の多くの報告はこれを支持しない。ブラデイキニンによる弛緩もSHRの血管で著明に減弱しているという結果が腸間膜動脈で得られている⁴⁵。脳血管ではWKYの標本でセロトニンが弛緩反応をもたらすのに対してSHR⁶⁴やSHRSP^{55,62,63}の標本では逆に収縮反応をもたらす。SHRSPの脳動脈ではメタコリンによる弛緩反応も極めて小さいか、あるいは高濃度側では収縮反応がみられる⁶²。このほかにADPも内皮依存性の弛緩反応をもたらすが、Lüscher et al⁵⁷はSHRの腎動脈の標本で内皮依存性の弛緩が有意に小さくなっていると報告している。同様の報告はSHRSPの脳の小動脈でもみられ^{55,62,63}、SHRの大動脈でもADPの高濃度側で内皮依存性の弛緩が有意に悪くなっていることが報告されている⁶⁴。なお、SHRの脳動脈ではインドメタシン処理によってADPによる弛緩が大きくなるが、WKYではこの傾向がみられない⁶³。このようにほとんどの報告はいずれの物質による内皮依存性の弛緩反応も高血圧自然発症ラットの血管で減弱しているという点で一致する。

アデノシンは内皮依存性と非依存性の弛緩反応を示し、WKYの大動脈の弛緩は内皮除去によっても影響されないがSHRの大動脈では内皮除去で大きく阻害される⁴²。このことはSHRの血管において内皮依存性弛緩が大きいことを意味するがよく説明されていない。一方、大腿動脈では内皮存在下、非存在下いずれもSHRの標本で弛緩の減弱がみられる⁴²。なお、トロンビンによる弛緩は、最大弛緩、時間経過とともにSHRとWKY間に差がみられなかったという報告がある⁶⁴。このように例外はあるものの、一般的にい

って SHR の血管では内皮依存性の弛緩が減弱しているといえる。ただ、SHR の血管内皮は WKY のものにくらべて不安定で壊れやすいという報告もあるので⁶⁰⁾、このような実験を行なう場合にはこの点に注意する必要がある。

遺伝性高血圧ラットの血管における内皮依存性弛緩反応の減弱はニュージーランド遺伝性高血圧ラットの大動脈でも報告されている⁶⁵⁾。この報告によるとアセチルコリン、A23187いずれによる弛緩反応でもこれらの薬物に対する感受性の低下(IC₂₀, IC₄₀, IC₅₀の高濃度側への移動)と最大弛緩の減少がみられ、いずれもその差が有意であったといわれている。

iii) その他の高血圧動物における内皮依存性弛緩

高血圧自然発症ラット以外でも高血圧による内皮依存性弛緩反応の異常が報告されている。例えば Dahl 食塩感受性ラットで食塩負荷したラットの胸部大動脈では食塩非負荷ラットよりもアセチルコリンやトロンピン、ADP 等による弛緩が減弱している^{36, 66-68)}。Dahl 食塩抵抗性ラットでは食塩負荷によってもこのようなことが起こらないので、この減弱は食塩負荷そのものによって起こる一般的現象ではなく血圧と関係した現象といえる。

なお、SHR の大動脈ではアセチルコリンの高濃度で弛緩が反転するという事は先に述べたが、これは Dahl ラットではみられない⁶⁸⁾。

二次的高血圧では DOCA 食塩負荷で高血圧にしたラットの大動脈でアセチルコリン、A23187 およびヒスタミンによる弛緩反応が著明に減弱していることが報告されている⁶⁹⁻⁷¹⁾。

一方、King and Webb⁷²⁾ は腸間膜の血管灌流実験でアセチルコリンによる灌流圧の低下が DOCA 高血圧ラットで減弱しているがその差は有意ではなかったと報告している。後者では血管が細く後で述べる内膜(とくに内皮下層)の変化が決定因子とならないからと考えられている。

これらの報告はいずれも実験条件が異なっている。たとえば前に述べたように高血圧の程度や持続期間は内皮依存性弛緩に大きな影響を与えるし、後で述べるように高食塩水に K⁺イオンが含まれているか否かも大きな意味をもつが、これらは報告によって異なっているので、各実験結果を直

接比較することは困難である。

血管内皮依存性弛緩の減弱は腎性高血圧ラットにおいてもみられる。1腎1クリップ腎性高血圧ラット大動脈でアセチルコリン、ヒスタミン、A23187などによる弛緩反応が著明に減弱していることが報告されているし^{69, 70)}、2腎1クリップ腎性高血圧ラットでも胸部大動脈、腹部大動脈および頸動脈においてアセチルコリンによる弛緩反応が減弱していることが報告されている⁷³⁾。さらに腎被膜圧迫によって生じた高血圧ラットでも大動脈におけるアセチルコリンあるいはヒスタミンによる内皮依存性弛緩の減弱がみられる⁷⁰⁾。

以上述べた二次性高血圧はいずれも腎機能ないしは Na 代謝と関係が深いものであるが、ラット大動脈を絞扼してそれより上部の血圧を上昇させた場合にも内皮依存性弛緩反応の減弱がみられる^{69, 71)}。この場合はもちろん高血圧にさらされた血管においてのみ内皮依存性弛緩が減弱していて、絞扼部位より遠位の血管では減弱がみられない⁷³⁾。同様の結果はウサギ大動脈でも得られていて、上腸間膜動脈と腹腔動脈の間で絞扼した場合、胸部大動脈や頸動脈でアセチルコリンや A23187 による内皮依存性弛緩が著明に減弱しているが、このラットの腹部大動脈では対照動物のそれと同じであったと報告されている⁷⁴⁾。なお、ここに述べた二次性高血圧動物の血管においては高血圧自然発症ラットの血管で報告されているようなアセチルコリンの高濃度側における弛緩の反転現象はみられていない。

3) 内皮非依存性弛緩反応とくにニトロプロシッドによる弛緩

高血圧動物の血管平滑筋における弛緩に関する研究は多いが、ここでは直接平滑筋に作用し、しかも内皮依存性弛緩と同様に平滑筋細胞内 cyclic GMP の上昇を介して弛緩をもたらすものについて述べる。一般にはその代表的なものとしてニトロプロシッドによる弛緩が対照としてよく用いられる。

ニュージーランド遺伝性高血圧ラット大動脈ではアセチルコリンや A23187 による弛緩と同様にニトロプロシッドによる弛緩も障害されているという報告⁶⁵⁾がある。この場合、用量作用曲線の右側への移動はみられるが、高濃度ニトロプロシッドによる最大弛緩の程度には差がみられない。

同様の用量作用曲線の右方移動は SHR の頸動脈でもみられている⁵⁷⁾。これらの標本はおそらく内皮存在下のものと思われるが、ニトロプルシッドによる弛緩は内皮によって影響をうけるので^{43, 57, 61)}、血管平滑筋直接作用としてとり扱う場合は注意しなければならない。

Shirasaki ら^{43, 75)}の SHR 大動脈での報告によると内皮存在下では上記の報告と同様に WKY 大動脈と比較してニトロプルシッドによる弛緩が減弱しているが、内皮除去標本ではほぼ同様に逆に弛緩反応が増大しているという。つまり内皮はニトロプルシッドによる弛緩を抑える方向に作用していて、この作用は SHR の方で大きくなっている。この内皮の作用は幼若ラットではみられず加齢とともに著明になり、WKY と SHR 間の差も大きくなる⁷⁵⁾。これらの機序はよくわかっていないが、内皮依存性の収縮物質の関与が一つの可能性として考えられている。なお、同様の結果は亜硝酸ナトリウムでも得られている⁷⁴⁾。内皮除去標本におけるニトロプルシッドによる弛緩は SHRSF の大動脈でもみられていて、やはり WKY とほぼ同じか、あるいはむしろ弛緩反応の増大が観察されている^{49, 50)}。いずれにしても高血圧自然発症ラットにおいてはニトロプルシッドの血管平滑筋直接作用による弛緩反応は正常血圧ラットのものと同様に障害されていないと結論できる。

Dahl 食塩感受性ラットでは食塩負荷動物の大動脈で食塩非負荷動物のものに比べてニトロプルシッドによる弛緩が障害されているという報告^{36, 66, 67)}がある。この場合も用量作用曲線が右方に移動するが、最大弛緩反応に差がみられず、 3×10^{-7} M ノルアドレナリン収縮をほぼ完全に弛緩させる⁶⁶⁾。また、Dahl 食塩抵抗性ラットでは食塩負荷によってニトロプルシッド感受性が変わらず、両者ともに食塩負荷食塩感受性ラットの血管と同じであったといわれている^{36, 66, 67)}。この動物では血圧が高くないので両系統間でもともと血圧に関係なくニトロプルシッド感受性の差があるのかもしれない。DOCA 食塩負荷高血圧ラット⁶⁹⁾、1腎1クリップ高血圧ラット⁷³⁾、絞扼性高血圧ラットなどの大動脈でもニトロプルシッド感受性の低下が報告されているが、しかし、腎性高血圧ラット大動脈では亜硝酸ナトリウムによる

弛緩反応は正常ラットの場合と差がない⁷⁰⁾。また、DOCA 食塩高血圧ラットでもニトロプルシッドによる弛緩の減弱が有意ではないという報告⁷⁰⁾もある。さらに DOCA 食塩高血圧ラットの腸間膜血管では内皮が存在する場合は正常ラットの弛緩と差がないが、内皮を除去すると増大された弛緩反応がみられるという報告がある⁶⁴⁾。この傾向は高血圧自然発症ラットの場合と類似するが、内皮存在下の結果は異なっている。大動脈絞扼ラットでは上位の大動脈でニトロプルシッド弛緩に差がみられず、下位の大動脈で絞扼ラットの方が弛緩反応が増大していると報告されている⁷⁴⁾。後者ではコントロールより血圧が下がっていることと関係があるのかもしれないが説明はない。なお、上位でも減弱しているという報告もあるが差は大きくない⁷¹⁾。

このように腸間膜動脈を除いては二次的高血圧ラットの血管でニトロプルシッドによる弛緩反応が減弱しているという報告が多いが、いずれも最大弛緩の程度には差がみられない。

4) 高血圧動物の血管における内皮依存性収縮

先に述べたように刺激薬によって収縮した高血圧自然発症ラットの血管ではアセチルコリンの高濃度側では弛緩反応の反転傾向がみられる。この傾向はインドメタシン処理によって消失する。また、SHR の血管における ADP による弛緩の減弱もインドメタシン処理によって増大する。これらの結果はこの反転にアラキドン酸代謝産物が収縮性に関与していることを示唆する。実際に、内皮がある SHR の大動脈で前収縮させないでアセチルコリンを作用させると収縮反応がみられる⁴⁵⁾。この反応は内皮除去で消失する。一方、WKY の大動脈では内皮の有無いずれの標本でも収縮反応がみられない。SHR 大動脈における内皮依存性収縮反応はフォスホリパーゼ A₂ の抑制剤であるキナクリンやシクロオキゲナーゼ阻害剤であるインドメタシンあるいはシクロフェナメイト等で遮断される。また、SHR 大動脈⁶⁴⁾や SHRSF 脳動脈^{62, 63)}にセロトニンを作用させた場合にも WKY のこれらの動脈とは反対に収縮反応がみられる。後者では収縮反応がインドメタシンで抑制され弛緩反応となる⁶³⁾。これらのことは SHR の大動脈では血管内皮依存性にアラキドン酸代謝産物ができて、これが内皮依存性弛緩を減

弱させている可能性を示す。内皮依存性の弛緩の減弱や収縮は SHR の腎動脈でもみられているが⁶⁵⁾, その機序に関する実験は行なわれていない。また、他の高血圧動物でこのような検討を行なった報告はみられない。

5) 高血圧動物血管平滑筋弛緩と cyclic GMP

先に述べたように内皮依存性の血管平滑筋の弛緩反応は平滑筋細胞内の cyclic GMP 増加によってもたらされる。ラットの大動脈では内皮非刺激時においても内皮依存性の cyclic GMP が存在し、これは内皮除去あるいはメチレンブルー処理によって減少する。18週令の SHR あるいは DOCA 高血圧ラットではこの cyclic GMP 含量が同週令のラットに比べて減少している^{46, 69)}。内皮除去あるいはメチレンブルー存在下の cyclic GMP 含量には差がないので、この減少は内皮依存性弛緩因子の作用の差によると考えられる。

アセチルコリン刺激による cyclic GMP の増加も SHR, DOCA 高血圧ラット, 腎性高血圧ラットあるいは絞扼性高血圧ラットで少なくなっていることが報告されている^{46, 59, 71)}。この減少は幼若ラットよりも成熟ラットでより著明にみられる^{46, 59)}。また、この傾向はアセチルコリンによる弛緩反応の減少の傾向と完全に一致する⁴⁶⁾。一方ニトロプルシッドによる cyclic GMP の増加も DOCA 高血圧ラット, 絞扼高血圧ラット, 腎性高血圧ラットなどで低下するという報告があるが、弛緩作用は減弱していないことからニトロプルシッドの作用の一部に cyclic GMP を介さない作用もあることが示唆されている⁷¹⁾。

2. 内皮の組織学的変化および内皮依存性弛緩反応減弱の治療による防止と回復

高血圧動物の血管内膜の組織学的変化に対する治療効果を検討した報告はいくつかみられるが、その結果は必ずしも一致しない。例えば SHR の大動脈で降圧治療を行なうと内皮あるいはこれに接する細胞の変化を防ぐことができるという報告がある^{37, 38)}。また、降圧効果はないが、高 K 食によっても内皮の障害を防ぐことができる³³⁾。一方、同じ SHR の腎動脈ではたとえ分娩前からヒドララジンを投与して血圧を上げないようにしても内膜の異常を防げなかったと報告されている⁴⁰⁾。こ

の他にも高血圧ラットの血圧を下げて内皮の組織学的変化を防ぐことができるという報告²⁸⁾ や一度変化が起きた後では降圧によって修復するのが困難であったという報告²⁷⁾ などがあって結論を出すことは困難である。

内皮依存性の弛緩反応は降圧処理によって防止できるか、あるいは回復できるという報告がほとんどである。例えば Dahl 食塩感受性ラットで高食塩と同時にレセルピン, ヒドララジン, ハイドロクロロサイアザイドなどの降圧剤を投与すると食塩による血圧の上昇を防止することができるし、高食塩によって上昇した血圧もこの降圧剤によって下げることができる。この処置によって大動脈における内皮依存性の弛緩の減弱を防止あるいは回復させることができる⁶⁷⁾。この場合回復には2週では不十分で8週間程度の期間を必要とする。勿論、このラットでは低食塩食によっても血圧の上昇を防ぐとともに内皮依存性弛緩の減弱を防止することができる^{66, 67)}。

SHRSP の大動脈におけるわれわれの実験でも高血圧発症前から降圧剤を投与して血圧を上げないようにすると内皮依存性弛緩が WKY の大動脈とほぼ同様に起こることをみている^{51, 56)}。この防止効果は血圧をどこまでさげるかによっても変わってくる^{51, 56)}。また、エストロゲン処理も血圧を下げ内皮依存性弛緩反応の減弱を防止することが SHR の胸部大動脈で報告されている⁴⁴⁾。先に述べた高 K 食は SHRSP の血圧は下げないが高血圧による内皮依存性弛緩の減弱を防止する³³⁾。腎性高血圧では1腎1クリップのクリップを解除するか、2腎1クリップのクリップした腎を摘出するかで血圧を下げると内皮依存性弛緩反応がほぼ正常に戻る^{69, 71)}。同様に DOCA 食塩負荷高血圧ラットで血圧を上げたものを低食塩食にして血圧を下げた場合にも内皮依存性弛緩の回復がみられる⁶⁹⁾。

3. 高血圧動物血管における内皮依存性弛緩の異常の機序

以上、高血圧動物の血管における内皮依存性弛緩の異常について述べた。しかし、この異常がいかなる機序で起こるのかということに関してはまだ確かな証明がなされていない。したがってここではいくつかの可能性について述べることにする

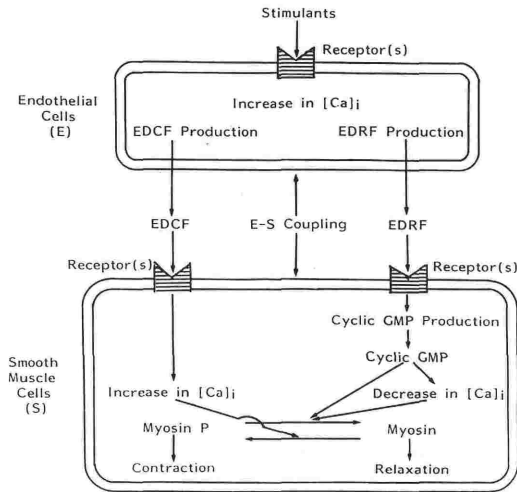


図4 内皮依存性弛緩の減弱の機序。各略語は図1と同じ。内皮依存性弛緩の減弱には EDRF 系と EDCF 系の異常の両者が関与する可能性がある。

(図4)。

1) 遺伝的変化か二次的変化か

上に述べたように高血圧動物における内皮依存性弛緩の異常は例外はあるものの遺伝性高血圧、二次性高血圧いずれでもみられる。

二次的高血圧においては高血圧発症の手段のいかににかかわらずみられる。高血圧の程度と持続期間に関係し、降圧処理によって防止することができる。さらに高血圧発症後も一定期間の治療によって回復する。これらのことはこの異常が高血圧の持続によって生じた二次的変化であることを示す。

2) 異常の機序について

内皮依存性弛緩の減弱がある場合、その機序としてつぎのいくつかの可能性が考えられる。

i) EDRF 遊離の低下

a) 内皮細胞の損傷による機能低下

先に述べたように高血圧動物の血管内皮の損傷が組織学的にみられていることや、降圧治療によって修復されるという報告は内皮依存性弛緩の実験結果と一致する。

b) 内皮細胞膜の受容体の変化

高血圧動物における刺激薬に対する受容体の変化は考慮しなければならないが、受容体と直接関係がないような場合、たとえば Ca イオノフォアによる弛緩反応も減弱しているので一応受容体レ

ベルでの変化は除外できると考えられる。

c) 内皮細胞の EDRF 産生あるいは遊離の減少

ここでは細胞の損傷によらない場合に限るが、現在 EDRF の生化学的定量ができないのでこれに関する報告はみられない。したがってもし産生あるいは遊離の減少があるとしてもその機序に関しては今後の研究をまたなければならない。Van de Voorde and Leusen⁷⁰⁾ は生物学的活性による定量実験で正常血圧ラット、DOCA 高血圧ラットの血管還流を行いアセチルコリンによる EDRF 遊離を内皮除去血管の弛緩反応で検討したが差がみられなかったと報告している。このことは EDRF 遊離に差がないことを示唆するが、他にこのような報告もみられず、これに反対する意見も多い。

3) 内皮と血管平滑筋間の連関の異常

内皮の EDRF の遊離に変化がなく、もし血管平滑筋の EDRF に対する反応性にも変化がないとすれば、内皮と血管平滑筋間の連関の異常が考えられる。この考えは内皮下層の肥厚によって平滑筋までの EDRF 到達の障害が考えられることと、EDRF の寿命が極めて短いことを根拠としている。しかし、内皮下層の拡大は必ずしも内皮依存性弛緩の減弱につながらないという報告もある⁷⁶⁾。

4) 血管平滑筋の反応性

a) 血管平滑筋の EDRF 感受性

高血圧動物の血管平滑筋の薬物感受性の変化に関する報告は多いが、内皮除去標本においては後述べるニトロプルシッドをはじめイソプロテレノール⁴²⁾ その他の弛緩薬物にたいする反応性は低下していないという報告が多い。しかし、高血圧動物の血管平滑筋では同じ EDRF に対する感受性が低下しているという可能性はまだ否定できない。

b) 平滑筋の cyclic GMP 産生能

EDRF による弛緩は平滑筋内の cyclic GMP 産生を介するが、アセチルコリンで内皮を刺激した場合の cyclic GMP 産生能が低下している。しかし、平滑筋に直接作用し cyclic GMP 産生を介して弛緩反応をもたらすニトロプルシッドによる弛緩は減弱していない。したがってアセチルコリンによる cyclic GMP 産生の低下は平滑筋以前の

変化による可能性が強い。

c) cyclic GMP に対する感受性の変化

内皮除去した大動脈の 8-bromo-cyclic GMP に対する弛緩反応は WKY と SHR で差がないので^{24, 71, 75, 77)}, cyclic GMP 感受性の変化の可能性は少ないと考えられる。

5) EDCF

内皮依存性弛緩の減弱は EDRF と同時に遊離される EDCF による可能性もある。しかし、弛緩反応の減弱がみられる全ての血管でこの減弱に EDCF が関与しているとは限らない。

ま と め

以上、高血圧動物血管平滑筋の内皮依存性弛緩の異常を述べ、その機序について簡単にまとめた。この内皮依存性反応の減弱の機序に関しては諸々の考え方があり統一的な見解は得られていないが、現在内皮の損傷による EDRF 分泌異常と内皮と平滑筋の連関の低下が原因とする考えが強い。

いずれにしても内皮依存性弛緩反応の減弱は高血圧による二次的变化であって、遺伝性高血圧動物における高血圧発症に関与しているとは考えられない。しかし、一度発生した異常は高血圧の持続とともに進行するので、この異常は血管平滑筋の収縮性の増強につながり、血圧をさらに上昇させることになる。このように両者は相互協調的に血圧の上昇を促進することになる可能性がある。

降圧治療は血圧を下げるとともに内皮機能を正常化する。また、高K食をはじめ、他の栄養因子も内皮変化を予防する可能性があり、この面から高血圧あるいは脳卒中予防も再考すべき問題であろう。

文 献

- 1) 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.
- 2) Palmer, R. M., Ferige, A. G. et al.: Nitric oxide release account for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 327: 524-526, 1987.
- 3) Yanagisawa, M., Kurihara, H., Kimura, S. et al.: A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 332: 411-415, 1988.
- 4) Rapoport, R. M., Draznin, M. B., Murad, F.: En-

- dothelium-dependent relaxation in rat aorta may be mediated through cyclic GMP-dependent protein phosphorylation. *Nature* 306:174-176, 1983.
- 5) 古川賢一: cGMP による血管平滑筋の弛緩。蛋白質・核酸・酵素 33: 2508-2509, 1988.
 - 6) 中根正樹: 情報伝達系としての cGMP の役割。蛋白質・核酸・酵素 31: 1715-1727, 1986.
 - 7) Rashatwar, S. S., Cornwell, T. L., Lincorn, T. M.: Effects of 8-bromo-cGMP on Ca^{2+} levels in vascular smooth muscle cells: Possible regulation of Ca^{2+} ATPase by cGMP-dependent protein kinase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 84: 5685-5689, 1987.
 - 8) Furchgott, R. F., Zawadzki, J. V., Cherry, P. D.: Role of endothelium in the vasodilator response to acetylcholine. Vanhoutte, P. M., Leusen, I. ed.: *Vasodilatation.* Raven Press, New York, pp. 49-66, 1981.
 - 9) Furchgott, R. F., Cherry, P. D., Zawadzki, J. V.: Endothelium-dependent relaxation of arteries by acetylcholine, bradykinin, and other agents. Bevan, J. A. et al. ed.: *Vascular Neuroeffector Mechanisms.* Raven Press, New York, pp. 151-157, 1983.
 - 10) Furchgott, R. F.: The role of endothelium in the response of vascular smooth muscle to drugs. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 24:175-197, 1984.
 - 11) DeMey, J. G.: Endothelium-dependent vascular relaxation. Fleckenstein, A., Van Breemen, C. Gross, R., Hoffmeister, F. ed.: *Cardiovascular effects of dihydropyridine-type calcium antagonists and agonists.* Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, pp. 327-332, 1985.
 - 12) Furchgott, R. F., Cherry, P. D., Zawadzki, J. V. et al.: Endothelial cells as mediators of vasodilatation of arteries. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 6: S336-S343, 1984.
 - 13) Vanhoutte, P. M., Rubanyi, G. M., Miller, V. M. et al.: Modulation of vascular smooth muscle contraction by the endothelium. *Ann. Rev. Physiol.* 48:307-320, 1986.
 - 14) Rubanyi, G. M., Vanhoutte, P. M.: Nature of endothelium-derived relaxing factor: Are there two relaxing mediators. *Circulation Res.* 61 (Suppl. II):II-61-II-67, 1987.
 - 15) Busse, R., Trogisch, G., Bassenge, E.: The role of endothelium in the control of vascular tone. *Basic Res. Cardiol.* 80:475-490, 1985.
 - 16) Vanhoutte, P. M.: Vascular endothelium and Ca^{2+} antagonists. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 12 (Suppl. 6):S21-S28, 1988.
 - 17) Vanhoutte, P. M.: Why is acetylcholine a vasodilator. Vanhoutte, P. M., Leusen, I. ed.: *Vasodilatation.* pp. 67-72, 1981.
 - 18) 柳沢正史, 栗原裕基: エンドセリン-内皮細胞由来血管収縮因子の新展開. *実験医学* 6: 297-302, 1988.
 - 19) 成宮 周, 大野浩司, 藤原元始: 内皮細胞由来血管弛緩因子 (EDRF). *代謝* 24: 921-932. 1987.
 - 20) 今井昭一: EDRF について. *循環制御* 8: 459-

- 466, 1987.
- 21) 柳沢正史：内皮由来血管収縮調節物質の著しい多様性—EDRF, エンドセリンを中心に. 実験医学 6: 1386-1391, 1988.
 - 22) 重信弘毅：血管拡張薬と内皮由来の血管筋弛緩物質. 医学のあゆみ 131: 429-434, 1984.
 - 23) Moncada, S., Radomski, M. W., Palmer, R. M. J.: Endothelium-derived relaxing factor. Identification as nitric oxide and role in the control of vascular tone and platelet function. *Biochem. Pharmacol.* 37:2495-2501, 1988.
 - 24) Lee, T. J.-F., Shirasaki, Y., Nickols, G. A.: Altered endothelial modulation of vascular tone in aging and hypertension. *Blood Vessels* 24: 132-136, 1987.
 - 25) Gabbiani, G., Elemer, G., Guelpa, Ch., et al.: Morphologic and functional changes of aortic intima during experimental hypertension. *Am. J. Pathol.* 96:399-422, 1979.
 - 26) Huttner, I., Costabella, P. M., De Chastonay, C. et al.: Volume, surface, and junctions of rat aortic endothelium during experimental hypertension. A morphometric and freeze fracture study. *Am. J. Pathol.* 46:489-504, 1982.
 - 27) Haudenschild, C. D., Prescott, M. F., Chobanian, A. V.: Effects of hypertension and its reversal on aortic intima lesions of the rat. *Hypertension* 6 (Suppl. I):I-62-I-68, 1984.
 - 28) Chobanian, A. V., Brecher, P. I., Haudenschild, C. C.: Effects of hypertension and antihypertensive therapy on atherosclerosis. *Hypertension* 8 (Suppl. I):I-15-I-21, 1986.
 - 29) Still, W. J. S., Dennison, S.: The arterial endothelium of the hypertensive rat. A scanning and transmission electron microscopic study. *Arch. Pathol.* 97:337-342, 1974.
 - 30) Lee, R. M. K. W.: Vascular changes at the prehypertensive phase in the mesenteric arteries from spontaneously hypertensive rats. *Blood Vessels* 22:105-126, 1985.
 - 31) Lee, R. M. K. W., McKenzie, R., Roy, M.: Ultrastructure and morphometric measurements of mesenteric arteries from newborn spontaneously hypertensive rats. *Blood Vessels* 25:105-114, 1988.
 - 32) Limas, C., Westrum, B., Limas, C. J.: The evolution of vascular changes in the spontaneously hypertensive rat. *Am. J. Pathol.* 98:357-384, 1980.
 - 33) Sugimoto, T., Tobian, L., Ganguli, M. C.: High potassium diets protect against dysfunction of endothelial cells in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 11:579-585, 1988.
 - 34) Smeda, J. S., Lee, R. M. K. W., Forrest, J. B.: Structural and reactivity alterations of the renal vasculature of spontaneously hypertensive rats prior to and during established hypertension. *Circulation Res.* 63:518-533, 1988.
 - 35) Lee, R. M. K. W., Triggle, C. R.: Morphometric study of mesenteric arteries from genetically hypertensive Dahl strain rats. *Blood Vessels* 23: 199-224, 1986.
 - 36) Raji, L., Lüscher, T. F., Vanhoutte, P. M.: High potassium diet augments endothelium-dependent relaxations in the Dahl rat. *Hypertension* 12: 562-567, 1988.
 - 37) Limas, C., Westrum, B., Limas, C. J.: Effect of antihypertensive therapy on the vascular changes of spontaneously hypertensive rats. *Am. J. Pathol.* 111:380-393, 1983.
 - 38) Haudenschild, C. C., Chobanian, A. V.: Blood pressure lowering diminishes age-related changes in the rat aortic intima. *Hypertension* 6 (Suppl. I):I-62-I-68, 1984.
 - 39) Rosenberg, H. C., Rabinovitch, M.: Endothelial injury and vascular reactivity in monocrotaline pulmonary hypertension. *Am. J. Physiol.* 255: H1484-H1491, 1988.
 - 40) Smeda, J. S., Lee, R. M. K. W., Forrest, J. B.: Prenatal and postnatal hydralazine treatment dose not prevent renal vessel wall thickening in SHR despite the absence of hypertension. *Circulation Res.* 63:534-542, 1988.
 - 41) McGuire, P. G., Twietmeyer, T. A.: Aortic endothelial junction in developing hypertension. *Hypertension* 7:483-490, 1985.
 - 42) Konishi, M., Su, C.: Role of endothelium in dilator responses of spontaneously hypertensive rat arteries. *Hypertension* 5:881-886, 1983.
 - 43) Shirasaki, Y., Su, C.: Endothelium removal augments vasodilatation by sodium nitroprusside and sodium nitrate. *Europ. J. Pharmacol.* 114: 93-96, 1985.
 - 44) Williams, S. P., Shackelford, D. P., Imas, S. G., et al.: Endothelium-dependent relaxation in estrogen-treated spontaneously hypertensive rats. *Europ. J. Pharmacol.* 145:205-207, 1988.
 - 45) Lüscher, T. F., Vsnhoutte, P. M.: Endothelium dependent contractions to acetylcholine in the aorta of the spontaneously hypertensive rat. *Hypertension* 8:344-348, 1986.
 - 46) Shirasaki, Y., Kolm, P., Nickols, G. A.: Endothelial regulation of cyclic GMP and vascular responses in hypertension. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 245:53-58, 1988.
 - 47) Sim, M. K., Chua, M. E.: Altered responsiveness of the aorta of hypertensive rats to histamine and acetylcholine. *Jpn. J. Pharmacol.* 39:551-553, 1985.
 - 48) Sim, M. K., Singh, M.: Decreased responsiveness of the aortae of hypertensive rats to acetylcholine and noradrenaline. *Br. J. Pharmacol.* 90: 147-150, 1987.
 - 49) Osugi, S., Shimamura, K., Moriyama, K. et al.: Influences of endothelium on the contraction of rat aorta by noradrenaline: a comparative study of the response of aorta from spontaneously hypertensive rats. *Japan. J. Smooth Muscle Res.* 24:256-258, 1988.
 - 50) Sunano, S., Osugi, S., Shimamura, K.: Involvement of endothelium-derived factors(s) in contrac-

- tion of aortae from WKY and SHRSP. Abstr. 12th Scientific Meeting of the International Society of Hypertension: 4031, 1988.
- 51) Sunano, S., Osugi, S., Shimamura, K.: Blood pressure and impairment of endothelium-dependent relaxation in spontaneously hypertensive rats. *Experientia* 45:705-708, 1989.
 - 52) 大杉尚子, 島村佳一, 森山健三・ら: SHRSP 大動脈のノルアドレナリン収縮における内皮依存性弛緩と収縮への影響. 第24回高血圧自然発症ラット学会総会抄録集: pp. 14, 1988.
 - 53) Sunano, S., Osugi, S., Shimamura, K.: Influence of endothelium on noradrenaline-induced contraction and on tension oscillation in spontaneously hypertensive rats and Wistar Kyoto rats. *J. Vasc. Med. Biol.* 1:118, 1989.
 - 54) Diederich, D., Yang, Z., Buhler, F. R. et al.: Endothelium-derived relaxing and contracting factors in hypertensive resistance arteries. *J. Vasc. Med. Biol.* 1:103, 1989.
 - 55) Mayhan, W. G., Faraci, F. M., Baumbach, G. L. et al.: Endothelium-dependent responses of cerebral arteries in pathophysiologic conditions. *J. Vasc. Med. Biol.* 1:103, 1989.
 - 56) Osugi, S., Shimamura, K., Moriyama, K., et al.: Relation between blood pressure and endothelium-dependent relaxation in aortae from different strains of spontaneously hypertensive rats. *Japan. J. Pharmacol.* 49 (Suppl.):301P, 1989.
 - 57) Lüscher, T. F., Diederich, D., Weber, E. et al.: Endothelium-dependent responses in carotid and renal arteries of normotensive and hypertensive rats. *Hypertension* 11:573-578, 1988.
 - 58) DeMay, J. G., Gray, S. D.: Endothelium-dependent reactivity in resistance vessels. *Prog. appl. Microcirc.* 8:181-187, 1985.
 - 59) Shirasaki, Y., Nickols, G. A., Lee, T. J.-F.: Endothelial modulation of vascular tone in hypertension. *Blood Vessels* 24:222, 1987.
 - 60) Criscione, L., Powell, J. R.: Lability of the endothelium in the isolated, perfused mesenteric arterial bed of spontaneously hypertensive rats. *Blood Vessels* 24:63, 1987.
 - 61) Tesfamariam, B., Halpern, W.: Endothelium-dependent and endothelium-independent vasodilation in resistance arteries from hypertensive rats. *Hypertension* 11:440-444, 1988.
 - 62) Mayhan, W. G., Faraci, F. M., Heistad, D. D.: Impairment of endothelium-dependent responses of cerebral arterioles in chronic hypertension. *Am. J. Physiol.* 253:H1435-H1440, 1987.
 - 63) Mayhan, W. G., Faraci, F. M., Heistad, D. D.: Responses of cerebral arterioles to adenosine 5'-diphosphate, serotonin, and the thromboxane analogue U-46619 during chronic hypertension. *Hypertension* 12:556-561, 1988.
 - 64) Lüscher, T. F., Vanhoutte, P. M.: Endothelium-dependent responses to platelets and serotonin in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 8 (Suppl. II):II-55-II-60, 1986.
 - 65) Winquist, J. G., Bunting, P. B., Baskin, E. P. et al.: Decreased endothelium-dependent relaxation in New Zealand genetic hypertensive rats. *J. Hypertension* 2:541-545, 1984.
 - 66) Lüscher, T. F., Raij, L., Vanhoutte, P. M.: Endothelium-dependent vascular responses in normotensive and hypertensive Dahl rats. *Hypertension* 9:157-163, 1987.
 - 67) Lüscher, T. F., Vanhoutte, P. M., Rau, L.: Antihypertensive treatment normalizes decreased endothelium-dependent relaxations in the rats with salt-induced hypertension. *Hypertension* 9 (Suppl. III):III-193-III-197, 1987.
 - 68) Lüscher, T. F., Raij, L., Vanhoutte, P. M.: Functional properties of the vascular endothelium in experimental hypertension. *Blood Vessels* 24:87, 1987.
 - 69) Lockette, W., Otuska, Y., Carretero, O.: The loss of endothelium-dependent vascular relaxation in hypertension. *Hypertension* 8 (Suppl. II):II-61-II-66, 1986.
 - 70) Van de Voorde, J., Luesen, I.: Endothelium-dependent and independent relaxation of aortic rings from hypertensive rats. *Am. J. Physiol.* 250:H711-H717, 1986.
 - 71) Otsuka, Y., DiPiero, A., Hirt, E., et al.: Vascular relaxation and cGMP in hypertension. *Am. J. Physiol.* H163-H169, 1988.
 - 72) King, C. M., Webb, R. C.: The endothelium obscures enhanced microvessel reactivity in DOCA hypertensive rats. *Hypertension* 12:420-427, 1988.
 - 73) Van de Voorde, J., Vanheel, B., Luesen, I.: Depressed endothelium-dependent relaxation in hypertension: relation to increased blood pressure and reversibility. *Pflügers Arch.* 411:500-504, 1988.
 - 74) Miller, M. J. S., Pinto, A., Mullane, K. M.: Impaired endothelium-dependent relaxations in rabbits subjected to aortic coarctation hypertension. *Hypertension* 10:164-170, 1987.
 - 75) Shirasaki, Y., Su, C., Lee, T. J.-F., et al.: Endothelial modulation of vascular relaxation to nitrovasodilators in aging and hypertension. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 239:861-866, 1986.
 - 76) Cocks, T. M., Manderson, J. A., Mosse, P. R. L., et al.: Development of large fibromuscular intimal thickening does not impair endothelium-dependent relaxation in the rabbit carotid artery. *Blood Vessels* 24:192-200, 1987.
 - 77) Shirasaki, Y., Nickols, G. A., Lee, T. J.-F.: Endothelium-regulated vascular responses in hypertension. *Blood Vessels* 24:162, 1987.