

289 エストラジオール (E<sub>2</sub>) 慢性投与の血管平滑筋に対する作用とその作用機序の検討九州大附属病院<sup>1</sup>, 九州大<sup>2</sup>江上りか<sup>1</sup>, 野崎雅裕<sup>2</sup>, 山本伸一<sup>2</sup>, 永田英明<sup>2</sup>, 中野仁雄<sup>2</sup>

【目的】E<sub>2</sub>の血管に対する作用の機序を解明することは、HRTの血管に対する有用性を明らかにする上で肝要である。我々は、E<sub>2</sub>の慢性投与が血管への直接作用を有し、内皮由来弛緩物質の放出増加だけでなく、平滑筋の弛緩反応そのものを増強していることを報告した。今回その平滑筋における弛緩作用増強の機序について検討したので報告する。【方法】日本家兎を卵摘し、2週間毎に安息香酸E<sub>2</sub>を筋注したOVX+E<sub>2</sub>群と生食を筋注したOVX群とに分け、12週間後に安楽死させ脳底動脈を摘出し、クレブス液灌流下で等尺性収縮記録法を行った。投与開始前および12週後の血清脂質およびE<sub>2</sub>値を測定した。【成績】30K前収縮に対するCarbacholの内皮依存性弛緩反応は、OVX+E<sub>2</sub>群で50%収縮抑制濃度(IC50:M)が $10^{-3.70}$ であるのに対し、OVX+E<sub>2</sub>群のIC50は $10^{-5.45}$ であった(P<0.05)。NOを発生するNOR1によるOVX+E<sub>2</sub>群での弛緩反応はOVX群より大きかった(IC50= $10^{-6.48}$  v.s.  $10^{-5.65}$ , P<0.05)。NOとnitrosotiolを発生するSNAPにおいても、同様であった(IC50= $10^{-7.25}$  v.s.  $10^{-6.28}$ , P<0.05)。カルシウムチャンネルを介して平滑筋を直接弛緩させるnicardipineおよびwater-soluble typeの17β-E<sub>2</sub>による弛緩反応は両群間で有意差を認めなかった。また膜透過性である8-bromo-cGMP, dibutyryl-cGMPによる弛緩反応も両群間で有意差を認めなかった。【結論】Carbacholによる弛緩反応の方がNOドナーより約3倍の両群間でのIC50値の差があり、これは内皮よりのNO放出の増加を反映しているものと考えられた。血管平滑筋におけるNOドナーに対する弛緩反応の増強はNOがcGMP産生を起こす過程あるいはNO消去の違いにあると考えられた。

## 290 エストロゲンのangiotensin converting enzyme (ACE) 阻害作用は一酸化窒素産生を促進し、前腕血管の内皮依存性血管拡張反応を増加させる

広島大

真田光博, 児玉一郎, 津田幹夫, 大濱絃三

【目的】エストロゲン(E)はE受容体αあるいは脂質改善・抗酸化作用などを介して血管内皮からの一酸化窒素(NO)放出を促進し、内皮依存性血管拡張反応を増加させる。また、angiotensin converting enzyme(ACE)の抑制はカリクレイン・キニン系を介して内因性ブラジキニンを活性化し、NO産生を増加させることが知られている。そこで、エストロゲン補充療法(ERT)の前腕末梢血管内皮機能への影響をNOとACEの関連性から検討した。【方法】同意のもと、閉経女性36人を対象とし、26例には結合型エストロゲン0.625 mg/日を12週間投与(治療群)し、10例を対照群とした。治療前後でプレシモグラフィを用いて上腕を280 mmHg 5分間加圧、解除後(反応性充血)の前腕血流(FBF)増加反応を測定し、内皮依存性血管拡張反応の指標とした。またニトログリセリン(NTG)舌下後のFBF増加反応を検討した。血液検査としては空腹時採血にて脂質項目、ACEおよびNOの指標としてnitrite/nitrate(NOx)を測定した。【成績】両群ともBMI、血圧、脈拍は治療前後で同等であった。12週間後の反応性充血によるFBF増加反応は治療群で有意に増加したが、対照群では変化なかった。NTG舌下後のFBF増加反応は治療前後で両群に変化なかった。治療群では、NOxの有意な増加、ACEの有意な減少が認められ、両者の変化率の間には有意な負の相関を認めた。【結論】Eは前腕末梢血管の内皮依存性血管拡張反応を増加させ、その機序として新たにEのACE阻害作用を介したNO放出促進作用のあることが示された。

## 291 血管内皮細胞におけるエストロゲンのendothelial NOS活性化機構

大阪大

大道正英, 久本浩司, 足立和繁, 早川潤, 馬淵誠士, 森重健一郎, 田坂慶一, 村田雄二

【目的】エストロゲンの血管拡張作用は短時間で生じ、核内レセプターを介さないnon-genomicなresponseであるといわれている。その機構としてエストロゲンが血管内皮細胞膜上にあるレセプターを介してendothelial NOS(eNOS)を活性化しNOを産生し血管平滑筋を弛緩させる事が考えられているが、エストロゲンのeNOS活性化機構は不明であった。最近、eNOSがAkt(別名Protein kinase B)の基質となる事が相次いで報告された。そこで今回我々は、血管内皮細胞においてエストロゲンのeNOS活性化にAktが関与するか否かを検討した。【方法】ヒト臍静脈内皮細胞(HUVEC)及びラット肺血管内皮細胞にsv-40を導入しtransformした細胞株(TRLEC)を用いた。1)エストロゲンがAktを活性化するか否かをAkt抗体で免疫沈降した後に、その基質であるGSK-3αのリン酸化にて検討した。2)eNOS活性化を<sup>14</sup>C-arginineより<sup>14</sup>C-citrullineへの転換により、さらにエストロゲンによるeNOS活性化にAktが関与しているか否かをAktの活性化部分を消失させた遺伝子(dominant negative Akt)を導入し検討した。3)エストロゲンレセプターにはERα及びERβがあるが、各々のレセプターを過剰発現させる事によりエストロゲンのAkt及びeNOS活性化が変化するか否かを検討した。【成績】1)エストロゲンは短時間でAktを活性化した。2)dominant negative Akt導入によりエストロゲンによるeNOS活性化は抑制された。3)ERα過剰発現によりエストロゲンによるAkt及びeNOS活性化は顕著になった。【結論】エストロゲンは主にERαを介してAktを活性化し、eNOS活性化に関与している事が示唆された。