

〈抄録〉 第 21 回 日本臨床薬理学会年会 2000 年 9 月 28~29 日 札幌

Cytochrome P450(CYP)阻害薬により調節される 血管内皮細胞内カルシウムイオン濃度と NO 産生の検討

竹内和彦*¹ 渡辺裕司*² Tran Quan-Kim*¹
 楊軍*² 小菅和仁*² 寺田肇*¹
 大橋京一*²

NOをはじめPGI₂や内皮依存性過分極因子(EDHF)などの内皮依存性血管拡張因子の産生が内皮細胞内 Ca²⁺ 濃度の変化により調節されることが認められている。最近、EDHFの本態が cytochrome P450 (CYP)により代謝される epoxyeicosatrienoic acids(EETs)である可能性が示唆されているが、CYPの内皮細胞内 Ca²⁺ 濃度調節に及ぼす影響については多くの点が明らかではない。本研究では CYP 阻害作用を持つイミダゾール化合物を用い bradykinin (BK), thapsigargin (TG) 刺激時の血管内皮細胞内 Ca²⁺ 濃度変化および NO 産生に及ぼす影響について検討した。

【方法】

対象としてブタ大動脈初代培養血管内皮細胞を用いた。CYP 阻害作用を持つイミダゾール化合物として SKF96365 (SKF, 10-200 μM)とエコナゾール (1-20 μM)を使用した。また、アゴニストとして BK (10nM)と TG (1 μM)を用いた。細胞内 Ca²⁺ 濃度測定は fura-2 (2 μM)負荷法により画像解析し F340 / 380 を算出した。NOx 産生量は HPLC 法により測定した。

【結果】

1) レセプター依存性アゴニストである BK 刺激時、内皮細胞内 Ca²⁺ 濃度はコントロール値

(F340/380 : 0.9±0.2)から速やかに上昇し(peak F340/380 : 5.5±0.7)、その後緩やかな低下を示した(Fig.1)。2) SKF100 μM を 10 分間前投与すると BK による細胞内 Ca²⁺ 濃度の上昇は著明に抑制された(peak F340/380 : 1.2±0.3) (Fig.1)。3) BK による細胞内カルシウム濃度上昇後に SKF を投与すると細胞内 Ca²⁺ 濃度は減少し、SKF の wash-out により細胞内 Ca²⁺ 濃度は再度上昇することが認められた(Fig.2)。4) SKF は BK による細胞内 Ca²⁺ 濃度の上昇を濃度依存的に抑制した(F340/380 : 4.7±1.1(0 μM), 4.6±0.7(10 μM), 2.8±1.0(50 μM), 1.7±0.6(100 μM), 1.2±0.3(200 μM))(Fig.3)。

5)細胞内 Ca²⁺ストア部位 Ca²⁺-ATPase の選択的阻害剤である TG 投与により、細胞内 Ca²⁺ 濃度はコントロール値(F340/380 : 0.8±0.2)から約 2 分でピーク(F340/380 : 5.3±0.7)に達し、その後も持続的な上昇を示した。6) SKF は TG による細胞内 Ca²⁺ 濃度の上昇を濃度依存的に抑制した(F340/380 : 4.5±0.2(0 μM), 3.3±0.3(10 μM), 1.8±0.2(50 μM), 1.5±0.2(100 μM), 1.2±0.2(200 μM)。7) TG による細胞内カルシウム濃度上昇後に SKF を投与すると細胞内 Ca²⁺ 濃度は減少し、SKF の wash-out により細胞内 Ca²⁺ 濃度は再度上昇することが認められた。8)エコナゾールは BK, TG 刺激による細胞内

*¹ 浜松医科大学第三内科
〒431-3192 浜松市半田町 3600

*² 浜松医科大学臨床薬理学

Ca²⁺ 濃度の上昇を濃度依存的に抑制した(vs BK : 5.2±0.9(0 μM), 3.3±0.3(1 μM), 2.6±0.6(5 μM), 1.2±0.3(10 μM) 1.2±0.3(20 μM), vs TG : 5.3±0.7(0 μM), 4.3±0.4(1 μM), 3.6±1.1(5 μM), 1.3±0.2(10 μM), 1.1±0.1(20 μM))。

9) BK 刺激による内皮依存性 NOx 産生は、SKF により濃度依存的に抑制される傾向が認められた (Fig.4)。

【考察】

CYP 阻害薬として知られるイミダゾール化合物はアゴニスト刺激時の内皮細胞内 Ca²⁺ 濃度上昇を抑制し、NO 産生を低下させることが認められた。CYP は EDHF 産生を調節するばかりでなく、血管内皮細胞内 Ca²⁺ 濃度を調節し、NO 産生を調節し、内皮依存性血管拡張反応に深く関与することが示唆された。

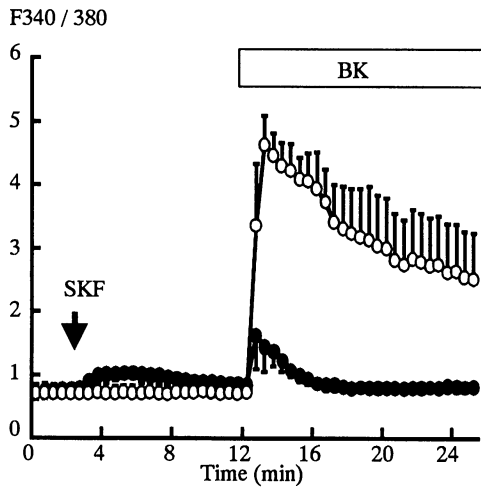


Figure 1. Effect of SKF on BK-induced Ca²⁺ influx.. BK (10nM) was administered at specified time in the presence (closed circles) or absence (open circles) of SKF (100 μM).

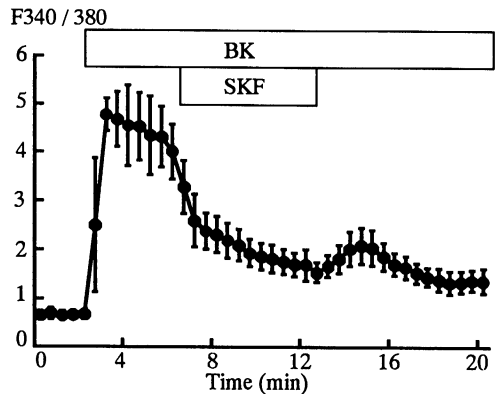


Figure 2. Effect of SKF on BK-induced Ca²⁺ response. SKF was administered 6 min after the treatment of BK for 7 min, and then removed.

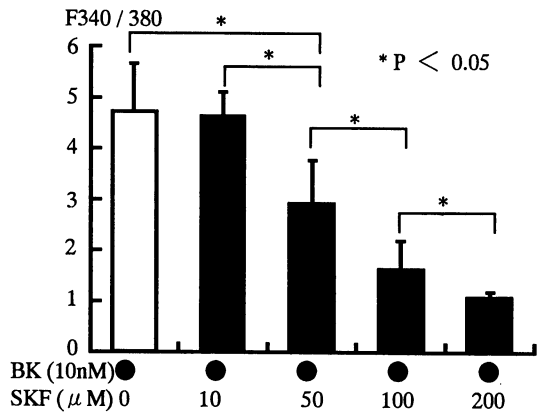


Figure 3. Dose-dependent effects of SKF on BK-induced Ca²⁺ influx. The cells were pretreated with various concentrations of SKF (10-200 μM) for 10 min before the addition of BK (10nM).

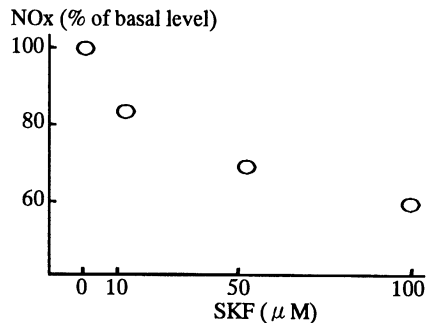


Figure 4. Effect of SKF on BK-induced NOx production. The cells were pretreated with various concentrations of SKF (10-100 μM) for 10 min before the addition of BK (10nM). Samples are taken 10 min after the addition of BK.