

# Vasoactive Intestinal Peptide の肺循環に及ぼす作用に関する研究（ラット摘出灌流肺を用いた検討）

著者	岩淵 悟
号	1210
発行年	1994
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/20921">http://hdl.handle.net/10097/20921</a>

氏名（本籍）	岩 渕 悟
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	医博第 1210 号
学位授与年月日	平成 6 年 3 月 25 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科専攻	東北大学大学院医学研究科 （博士課程）外科学系専攻
学位論文題目	Vasoactive Intestinal Peptide の肺循環に及ぼす 作用に関する研究 （ラット摘出灌流肺を用いた検討）

（主 査）

論文審査委員	教授 藤 村 重 文	教授 森 昌 造
	教授 佐々木 英 忠	

# 論文内容要旨

## 【緒言】

Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) は1969年 Saidらにより発見された28個のアミノ酸から成るペプチドである。この物質は平滑筋弛緩作用を有し、消化管・呼吸器領域における非アドレナリン非コリン作動性神経の主要な神経伝達物質と考えられている。肺循環系ではヒト先天性肺高血圧症にVIP免疫活性神経が認められないこと、また血管平滑筋中・外膜境界部及び中膜にVIP受容体の存在が確認されており、*in vitro*で肺血管平滑筋弛緩作用を示すことから神経系を介した肺循環調節に重要な役割を果たしているものと考えられている。一方、血管内投与によっても肺循環系への降圧作用を示すことから、神経系を介しない肺血管系への直接作用の存在が示唆されているが、その作用機序に関して検討したものは少ない。本研究では、VIPの肺循環系への直接作用を知ることを目的とし、神経系の影響を除外するため摘出灌流肺を用い、VIPの、(1)肺血管拡張作用の有無とその機序、及び、(2)肺血管反応性に及ぼす作用とその機序について検討した。

## 【方法】

Baffalo 雄性ラット (体重 270-390 g) の心肺を摘出し、自作の定流量灌流装置に装着し以下の実験を行った。なお換気条件は、吸入気が酸素 20%・二酸化炭素 5%・窒素 75%、最大吸入気圧 8cm H<sub>2</sub>O、PEEP 2cm H<sub>2</sub>O、毎回 55 回で人工換気した。灌流液は 4% Ficoll 加 Krebs-Henseleit 溶液を用い、灌流量を 0.03ml/g body weight/min とした。

(1) VIP の肺血管拡張作用とその機序に関する検討：灌流圧が安定した後、baseline の状態で VIP をレザバー内に投与した系、及び 20mM KCl にて肺血管収縮を招来させた後 VIP を投与した系の 2 系を作製した。前者は  $3 \times 10^{-8}$  M、後者は  $3 \times 10^{-12}$  M まで濃度累積的に投与し灌流圧の変化を観察した。また灌流液中に cyclooxygenase 阻害剤である meclofenamate  $3 \times 10^{-6}$  M、内皮細胞由来平滑筋弛緩因子 (EDR-F/NO) 合成阻害剤である L-N<sup>ω</sup>-nitro-arginine (L-NNA)  $\times 10^{-6}$  M、対照として同量の蒸留水 (control 群) を投与した 3 群を作製し、20mM KCl にて肺血管収縮を招来させた後 VIP を  $3 \times 10^{-12}$  M から  $3 \times 10^{-8}$  M まで濃度累積的に投与しその灌流圧を観察した。L-NNA 投与群において、KCl 投与後 EDRF/NO 合成基質である L-arginine  $10^{-4}$  M を加え  $3 \times 10^{-8}$  M VIP に対する反応を観察した。

(2) VIP の肺血管反応性に及ぼす作用に関する検討：灌流液中に meclofenamate ( $3 \times 10^{-6}$  M)、L-NNA ( $1 \times 10^{-6}$  M)、及び対照として同量の蒸留水を投与した群の 3 群を作製した。0.1mg の

angiotensin IIの昇圧応答を5回繰り返して3回目と4回目の間に $3 \times 10^{-8}$ M VIPをレザバー内に投与しangiotensin IIの昇圧応答の変化を観察した。

### 【結果と考察】

(1) VIPは、baseline pressureには影響しなかったが、KClによる肺血管収縮に対し、濃度依存性に拡張させた。また、この拡張作用は血管内皮由来平滑筋弛緩因子(EDRF/NO)阻害物質であるL-N<sup>ω</sup>-nitro-arginineにより抑制され、EDRF/NOの合成基質であるL-arginine添加により回復し、VIPの肺血管拡張作用の発現にはEDRF/NOが関与している可能性が強く示された。なお、L-NNAによりbaselineの灌流圧の上昇が観察され、EDRF/NOがbaselineの状態下でも肺循環の低圧性の維持に主要な役割を果たしているものと考えられた。

(2) VIP投与によりangiotensin IIによる肺血管収縮反応の減弱が認められたが、この作用はL-N<sup>ω</sup>-nitro-arginineまたはcyclooxygenase阻害剤であるmeclofenamateにより阻害された。このことからbaseline時においてもVIPが肺血管反応性の減弱作用を有し、その作用の発現にはEDRF/NOのみならず拡張性プロスタグランジンも関与していることが示唆された。

### 【結論】

VIPの肺循環系への直接作用に関して検討し、下記の結論を得た。VIPは、

1. baseline pressureには影響しなかった。
2. KClによる肺血管収縮を濃度依存性に拡張させた。
3. この拡張作用はL-N<sup>ω</sup>-nitro-arginineにより抑制され、L-arginine添加により回復した。
4. angiotensin IIによる肺血管収縮反応を減弱させた。
5. この肺血管反応性の減弱はL-N<sup>ω</sup>-nitro-arginineまたはmeclofenamateにより阻害された。

以上よりVIPは、摘出灌流肺の灌流液内投与により肺血管拡張作用及び肺血管反応性の減弱作用を有すること、またこの作用の発現には主としてEDRF/NOが、部分的に拡張性プロスタグランジンが関与することが示唆された。

## 審査結果の要旨

本論文は、ラット摘出灌流肺を用い Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) の肺血管拡張作用と肺血管反応性減弱作用及びそれらの機序について検討したものである。用いた方法は、ラットの心肺を摘出した。自作の定流量灌流装置に装着し、灌流液として 4% Ficoll 加 Krebs-Henseleit 溶液を用いた。(1) VIP の肺血管拡張作用とその機序に関する検討では、灌流圧が安定した後、baseline の状態で VIP をレザバー内に投与した系、及び 20mMKCl にて肺血管収縮を招来させた後 VIP を投与した系の 2 系を作製し、前者は  $3 \times 10^{-8}$ M、後者は  $3 \times 10^{-12}$ M から  $3 \times 10^{-8}$ M まで濃度累積的に投与し灌流圧の変化を観察した。また灌流液中に cyclooxygenase 阻害剤である meclofenamate  $3 \times 10^{-6}$ M、内皮細胞由来平滑筋弛緩因子 (EDRF) 合成阻害剤である L-N<sup>o</sup>-nitro-arginine (L-NNA)  $1 \times 10^{-6}$ M、対照として同量の蒸留水 (control 群) を投与した 3 群を作製し、20mM KCl にて肺血管収縮を招来させた後 VIP を濃度累積的に投与しその灌流圧を観察した。L-NNA 投与群において、KCl 投与後 EDRF 合成基質である L-arginine  $10^{-4}$ M を加え  $3 \times 10^{-8}$ M VIP に対する反応を観察した。(2) VIP の肺血管反応性及びぼす作用に関する検討では、灌流液中に meclofenamate ( $3 \times 10^{-6}$ M)、L-NNA ( $1 \times 10^{-6}$ M)、及び対照として同量の蒸留水を投与した群の 3 群を作製した。0.1mg の angiotensin II の昇圧応答を 5 回繰り返し 3 回目と 4 回目の間に  $3 \times 10^{-8}$ M VIP をレザバー内に投与し angiotensin II の昇圧応答の変化を観察した。

得られた成績は、(1) VIP は、baseline pressure には影響しなかったが、KCl による肺血管収縮に対し、濃度依存性に拡張させた。また、この拡張作用は血管内皮由来平滑筋弛緩因子 (EDRF) 阻害物質である L-N<sup>o</sup>-nitro-arginine により抑制され、EDRF の合成基質である L-arginine 添加により回復し、VIP の肺血管拡張作用の発現には EDRF が関与している可能性が強く示された。(2) VIP 投与により angiotensin II による肺血管収縮反応の減弱が認められたが、この作用は L-N<sup>o</sup>-nitro-arginine または cyclooxygenase 阻害剤である meclofenamate により阻害された。この事から baseline 時においても VIP が肺血管反応性の減弱作用を有し、その作用の発現には EDRF のみならず拡張性プロスタグランジンも関与していることが示唆された。

以上より本論文は、灌流液内投与された VIP が肺血管拡張作用及び肺血管反応性の減弱作用を有し、この作用の発現には主として EDRF が関与することを示した研究であり学位論文に値するものと考えられる。