

## 喫煙と循環：ニコチンによる内皮細胞依存性動脈収縮の多様性

倉橋 和義\*、紀 旭\*、王 愛民\*

### はじめに

喫煙が心循環や脳循環障害のリスクファクターであると考えられている。しかしながら、たばこ煙成分のいずれの化合物がリスクファクターであるかは特定されていない。その理由は、たばこ煙中の化合物数の多さに起因するところ大である。すなわち、現在のところたばこ煙中の化学構造が明らかなもので約 4000 種類、さらに構造は決定されていないが、存在が確認されているものを含めると 10 万種類以上と考えられている。

本稿では循環のリスクファクターとしてニコチンをとり挙げた。ニコチンの作用部位として、従来より神経筋接合部、中枢神経、神経節や交感神経終末部などが知られている。今回私達の研究結果は、これらの作用部位に加えて、ニコチンの作用点として動脈の内皮細胞も作用部位であることを明らかにした。さらに内皮細胞由来の動脈収縮因子が、動脈の部位により COX-1 あるいは COX-2 代謝産物であることを明らかにした。これらニコチン収縮にかかわる動脈内皮細胞由来因子の循環における意義について考察する。

### ニコチンの動脈収縮における内皮細胞の重要性

これまでニコチンの動脈収縮反応は、おもに動脈を支配する交感神経線維終末部のニコチン性受容体刺激作用により、交感神経終末部から遊離するノルアドレナリンの動脈平滑筋細胞  $\alpha$ -受容体刺激作用の結果と考えられてきた。と

ころが最近、ニコチンの動脈収縮反応には、交感神経線維終末部の他に内皮細胞のニコチン性受容体刺激作用も関与することが明らかになってきた。すなわち、摘出脳底動脈のラセン状標本（イヌ）ならびに摘出冠動脈のリング状標本（ラット）において、ニコチンは収縮反応を示し、さらにそれらの収縮反応は内皮細胞を除去することによりほとんど消失した。これらのことから、ニコチンの作用発現には内皮細胞が必須であることが明らかになった<sup>1)2)</sup>。そこで、ニコチンの感受性について交感神経終末部および内皮細胞のいずれに感受性が高いかを、動脈収縮の閾値を指標として比較すると、交感神経終末部を作用部位とするウサギ胸部大動脈標本に対する感受性が、内皮細胞も作用部位とするラット冠動脈標本に対する感受性よりも約 10 倍高いことを示している。これらの結果だけからでは一般化するには無理があるかも知れないが、低濃度のニコチン作用はまず交感神経終末部作用からはじまり、濃度が上昇すると、あるいは他の条件、加齢および炎症などが加わると低濃度のニコチンでもその作用が内皮細胞でも生じるものと考えられる。

### 動脈内皮細胞のニコチン性受容体の多様性

摘出脳底動脈（ラット）ならびに摘出冠動脈（ラット）の標本におけるニコチンの作用点は内皮細胞であるが、次に冠動脈と脳底動脈のニコチン性受容体の同一性について検討した。従来よりニコチン性受容体を受容体拮抗薬の感受性によって分類すると、骨格筋型 (decamethonium 感受性)、自律神経節 (hexamethonium、mecamylamine、chlorisondamine 感

\*京都大学放射性同位元素総合センター

表-1 ニコチン性コリン作動性受容体

骨格筋型	自律神経節型	中枢神経型
Decamethonium	Chlorisondamine	Chlorisondamine
Gallamine	Hexamethonium	Mecamylamine
	Mecamylamine	

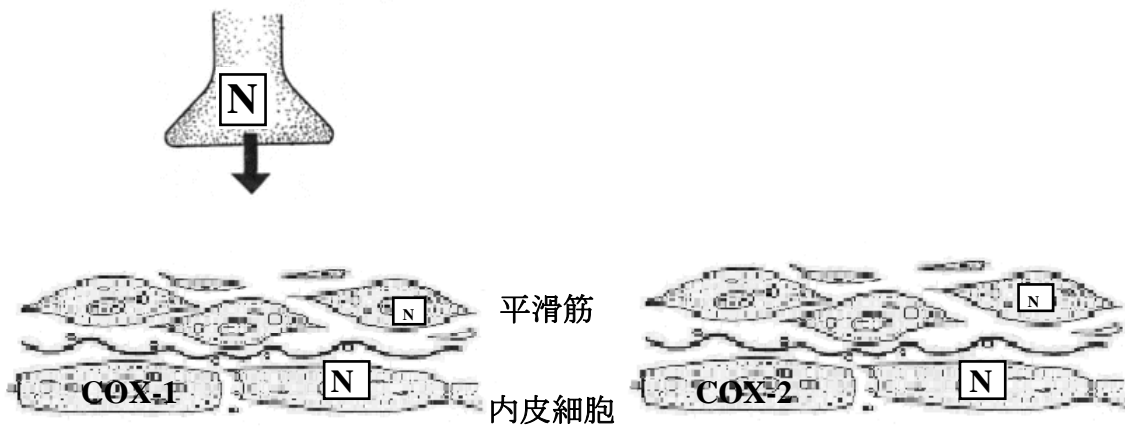
受性) ならびに中枢神経型 (mecamylamine、chlorisondamine 感受性) に分類されている (表-1)<sup>3)</sup>。この分類に従うと、ラット冠動脈のニコチンの動脈収縮反応は、hexamethonium により抑制されることから自律神経節型となり、一方ラット脳底動脈のニコチン収縮反応は、mecamylamine により抑制されることから中枢神経型となることが示唆された。このように動脈の部位が異なると、内皮細胞依存性収縮にかかわるニコチン性受容体が異なることが示唆された。さらに動脈の部位によりニコチン性受容体が異なるのは、その部位における内皮細胞の性質として独自の受容体を発現することによるのか、その部位における平滑筋細胞の性質に支配されているのか、支配神経の種類によるのか、などの可能性が考えられる (図-1)。

### ニコチンによる内皮細胞依存性動脈収縮の多様性

循環が自律神経活性ならびに液性的に制御されていることはよく知られている。すなわちこれまでその制御は、神経伝達物質ならびに液性因子が平滑筋細胞のそれぞれの受容体を刺激することにより制御されていると考えられてきた。ところが、内皮細胞由来の動脈活性因子の重要性が認識されるようになり、従来の制御に加え、もし神経伝達物質ならびに液性因子の作用点がもう一つ内皮細胞にある場合には内皮細胞由来の因子による制御も考慮する必要性がでてきた。さらに、弛緩因子および収縮因子のそれぞれを遊離する内皮細胞が同一であるのか、あるいはそれぞれ特定の内皮細胞が存在するのか、内皮

#### ラット冠動脈タイプ

#### ラット脳底動脈タイプ



N: ニコチン受容体

受容体感受性:  $\boxed{N} > \boxed{N} > \boxed{N}$

図-1 動脈支配神経、平滑筋、内皮細胞および EDCF の概念図

細胞に部位差があるのかなど、今のところ詳細は不明である。また、いかなる動脈作動性物質が主に弛緩因子を遊離し、いかなる動脈作動性物質が主に収縮因子を遊離するかは、比較的良好にわかっている。しかしながら、それぞれ弛緩および収縮因子の遊離を有機的に統御する機構は十分わかっていない。

これまで内皮細胞由来の動脈に対する活性因子としては、NO が最もよく知られている。NO が動脈の緊張に重要な役割を果たしていることはよく知られている。一方、内皮細胞由来の動脈収縮因子 (EDCF) について、真崎グループが同定した endothelin をはじめ、さらに私達は内皮細胞膜リン脂質の arachidonic acid 代謝産物が収縮因子であることを報告してきた<sup>4-7)</sup>。最近、収縮因子としては arachidonic acid 代謝産物の中の特定の 1 種類でなく、複数の代謝産物が収縮因子として明らかになりつつある (表-2)。

以下の項では、冠動脈と脳底動脈のニコチン性受容体刺激による収縮因子が、それぞれの内皮細胞由来の膜リン脂質 arachidonic acid 代謝産物であっても異なることを記述する。

#### 1) ラット冠動脈におけるニコチンの内皮細胞依存性動脈収縮

ラット冠動脈標本のニコチン収縮は、NO の合成阻害薬である L-NAME および外来性の arachidonic acid 処置なしでの収縮はわずかであった。このことは、静止時の平滑筋の状態では、NO 性の弛緩因子系が優位であることを示唆し、その活性が低下している状況では収縮因子系が顕在化することを示唆するものである。さ

らに、同時に arachidonic acid が存在するとその収縮程度はさらに増大したことは、静止時の arachidonic acid の動員が少なく、なんらかの状況でそれが動員されると収縮に利用されると考えられる。このニコチン収縮は、化学的内皮細胞除去薬である saponin 処置により殆ど消失することから、内皮細胞依存性と考えられる。次に、この収縮は、SOD および catalase 処置により、それぞれ約 50% 抑制し、両者の処置により約 100% 抑制した。この結果より、ラット冠動脈のニコチン収縮には活性酸素種の関与が示唆された。これまでイヌ脳底動脈の内皮細胞由来の EDCF は、主に arachidonic acid の COX 代謝産物である TXA<sub>2</sub> であると報告されている<sup>4)5)</sup>。そこでラット冠動脈のニコチン収縮においても収縮因子が TXA<sub>2</sub> である可能性について検討した。その結果、ラット冠動脈のニコチン収縮は COX-2 阻害薬により影響されることなく、COX-1 阻害薬により抑制された。このことから収縮因子は、その COX-1 代謝産物であることが明らかになった。さらに、TXA<sub>2</sub> 合成酵素阻害薬および TXA<sub>2</sub> 受容体拮抗薬の影響を検討したところ、前者により殆ど影響されなかったが、後者により抑制された。これらの結果より、TXA<sub>2</sub> 以外の収縮因子として、TXA<sub>2</sub> 受容体拮抗薬により抑制されるものとして 8-epiPGF<sub>2α</sub> が可能性のある収縮因子と考えられた (表-3)<sup>8)</sup>。従来より動脈におけるニコチンの作用点の一つは、交感神経終末部と考えられてきたことからその可能性について検討した。すなわち α-受容体拮抗薬により抑制されるかどうかを検討した。α-受容体拮抗薬はこのニコチン収縮を抑制したことから、

表-2 各種動物における動脈および刺激薬による EDCF の多様性

標本	刺激薬	EDCF
イヌ脳底動脈	ACh	TXA <sub>2</sub>
ウサギ冠動脈	ACh	LTs
ラット肺内動脈	Bradykinin	COX-metabolites, LTs
ラット肺内動脈	ATP	TXA <sub>2</sub> , LTs

表-3 冠動脈と脳底動脈のニコチン収縮の比較

	交感神経終末部	内皮細胞除去	COX-1 阻害薬	COX-2 阻害薬	TXA <sub>2</sub> 合成酵素阻害薬
冠動脈	(+)	消失	抑制	(-)	(-)
脳底動脈	(-)	消失	(-)	抑制	(-)

(+): 関与あり (-): 関与なし

冠動脈のニコチン収縮は以下のような経路で収縮にいたると考えられた。まずニコチンは交感神経終末部に作用し、遊離した noradrenaline が内皮細胞を刺激し、つづいて EDCF により収縮を示すのであろう。もしそうであるなら noradrenaline も内皮細胞依存性収縮を示し、しかもその収縮は COX-1 阻害薬感受性であり、さらに TXA<sub>2</sub> 合成酵素阻害薬非感受性であるはずである。これらの点を確認した結果、ニコチン収縮の場合と同様、noradrenaline 収縮は、薬物感受性においてほぼ類似した<sup>8)</sup>。以上よりラット冠動脈のニコチン収縮には交感神経終末部および内皮細胞が介在する収縮反応であると考えられる。さらに EDCF は COX-1 代謝産物であるが TXA<sub>2</sub> 以外の可能性が示された (表-3)。

## 2) ラット脳底動脈におけるニコチンの内皮細胞依存性動脈収縮

ラット脳底動脈のニコチン収縮は、冠動脈と異なり NO の合成阻害薬である L-NAME および外来性の arachidonic acid の存在下でも影響されなかった。このことは、静止時の平滑筋の状態では、NO 性の弛緩系が機能していないことを示している。さらに、同時に外来性の arachidonic acid が存在してもその収縮程度には影響しなかったことは、内因性の arachidonic acid が動員され収縮に利用されると考えられる。このニコチン収縮は、化学的内皮細胞除去薬である saponin 処置により殆ど消失することから、内皮細胞依存性と考えられる。次に、この収縮は、SOD および catalase の両者の処置により約 100% 抑制した。この結果より、ラット脳底動脈のニコチン収縮には活性酸素種の関与

が示唆された。次に、ニコチン収縮においても収縮因子が TXA<sub>2</sub> である可能性について検討した。その結果、脳底動脈のニコチン収縮は、冠動脈と異なり COX-1 阻害薬により影響されることなく、COX-2 阻害薬により抑制された。このことから脳底動脈の収縮因子は、冠動脈と異なり COX-2 代謝産物であることが明らかになった。さらに、TXA<sub>2</sub> 合成酵素阻害薬および TXA<sub>2</sub> 受容体拮抗薬の影響を検討したところ、冠動脈と同様に両薬物により殆ど影響されなかった。これらの結果より、COX-2 代謝産物であるが、TXA<sub>2</sub> 以外の代謝産物が収縮因子と考えられた<sup>9)</sup>。冠動脈と異なるもうひとつの点は、脳底動脈の内皮細胞依存性ニコチン収縮は、 $\alpha$ -受容体拮抗薬により影響されなかった点である。すなわち、交感神経終末部の関与が無い点である。脳底動脈のニコチン収縮は、ニコチンが直接内皮細胞の受容体を刺激し、その結果収縮因子を遊離し収縮を引き起こすと考えられる (表-3)。

## おわりに

喫煙習慣は心循環および脳循環障害のリスクファクターであることはよく知られている。しかしながらその詳細、特に喫煙成分の内皮細胞作用はこれまでほとんど報告がない。そこでたばこ煙には多数の成分が含まれているが、中でもニコチンをとりあげ、冠動脈ならびに脳動脈の内皮細胞性収縮にどのようなものが関与するかを検討した。ニコチンのラット冠動脈収縮作用には、支配交感神経終末部に加え内皮細胞にも作用点を有し、最終的には内皮細胞由来の COX-1 代謝産物によることが示された。この際、内皮細胞由来の NO が、加齢により NOS 活性が減

弱することが知られていることから、NO 遊離を加齢状態にするために NOS 阻害下では、ニコチン収縮を増大した。さらに炎症時膜リン脂質から動員されることが知られている arachidonic acid を外来性に添加した条件下ではさらにニコチン収縮を増大した。これらのことから、加齢および炎症を伴う場合には喫煙は冠循環障害のリスクファクター性が増大、顕在化する可能性が考えられた。一方、ニコチンのラット脳底動脈収縮作用は、主に内皮細胞に作用点を有し、最終的には内皮細胞由来の COX-2 代謝産物によることが示された。この際 NOS 阻害および外来性の arachidonic acid 添加はその収縮に影響しなかった。COX-2 は誘導酵素として知られることから慢性的な炎症を伴う場合に、この収縮は増大し、喫煙の脳循環障害リスクファクター性が増大する可能性が考えられた。

以上喫煙の心循環および脳循環障害のリスクファクターを考える場合、作用点としての内皮細胞ならびに加齢や炎症が重要と考えられる。

## 文 献

- 1) Shirahase H, Usui H, Kurahashi K, Fujiwara M, Fukui K. Endothelium-dependent contraction induced by nicotine in isolated canine basilar artery - possible involvement of a thromboxane A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) like substance. *Life Sci* 1988; 42: 437-45.
- 2) Kurahashi K, Shirahase H, Nakamura S, Tarumi T, Koshino Y, Wang A, Nishihashi T, Shimizu Y. Nicotine-induced contraction in the rat coronary artery: possible involvement of the endothelium, reactive oxygen species and COX-1 metabolites. *J Cardiovasc Pharmacol* 2001; 38: S21-5.
- 3) Domino EF. Significance of multiple nicotinic cholinergic receptors for tobacco use. In *Brain Imaging of Nicotine and Tobacco Smoking*, EF Domino, Ed, NPP Books, Ann Arbor, pp1-12, 1995.
- 4) Usui H, Fujiwara M, Tsubomura T, Kurahashi K, Nomura S, Mizuno N. Possible involvement of prostanoids in cholinergic contractile response of canine cerebral artery. In *Neural Regulation of Brain Circulation*, C Owman, J E Hardebo, Eds, Elsevier Science Publishers, Amsterdam • New York • Oxford, pp261-72, 1986.
- 5) Usui H, Fujiwara M, Shirahase H, Kurahashi K, Okamoto S, Miyamoto S. Endothelium-dependent vasoactivation of the canine cerebral artery by cerebrospinal fluid obtained from the patients who had suffered a subarachnoid hemorrhage. In *Neuronal Messengers in Vascular Function*, A Nobin, C Owman, B Arneklo-Nobin, Eds, Elsevier Science Publishers, Amsterdam • New York • Oxford, pp537-47, 1987.
- 6) Kurahashi K, Usui H, Shirahase H, Jino H. Endothelium-dependent contraction of cerebral arteries. In *The Human Brain Circulation*, RD Bevan, JA Bevan, Eds, Humana Press, Totowa, pp167-78, 1994.
- 7) Kurahashi K, Nishihashi T, Trandafir CC, Wang A, Murakami S, Ji X. Diversity of endothelium-derived vasocontracting factors - arachidonic acid metabolites. *Acta Pharmacol Sin* 2003; 24: 1065-9.
- 8) Wang A, Nishihashi T, Murakami S, Trandafir CC, Ji X, Shimizu Y, Kurahashi K. Involvement of endothelial cyclo-oxygenase metabolites in noradrenaline-induced contraction of rat coronary artery. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2005; 32: 628-32.
- 9) Ji X, Nishihashi T, Trandafir CC, Wang A, Kurahashi K. Influence of experimental SAH on effects of PLA<sub>2</sub> and PLC inhibitors in nicotine-induced endothelium-dependent contraction (EDC) in rat basilar artery. *J Pharmacol Sci* 2005; 97 (Suppl I): 292.