

ブタ冠状動脈の多核白血球による内皮依存性弛緩作用

新潟大学医学部麻酔学教室（主任：下地恒毅）

佐久間 一 弘

Endothelium-Dependent Vasorelaxation of Porcine Coronary
Artery by Polymorphonuclear Leukocytes

Kazuhiro SAKUMA

*Department of Anesthesiology,
Niigata University School of Medicine
(Director: Prof. Koki SHIMOJI)*

The effects of human and porcine polymorphonuclear leukocytes (h-and p-PMLs) on coronary arterial tone were studied using ring segments of the branches of left anterior descending arteries (diam. 1.0~1.3 mm, length 2.0 mm) isolated from the pig. PMLs (10^6 cells/ml) reduced the tone of the endothelium-intact preparations contracted with 5×10^{-10} – 3×10^{-9} M endothelin-1 (ET-1) to a greater extent than that of endothelium-denuded ones. The PMLs-induced relaxation of the endothelium-intact preparations were not influenced by various antagonists or inhibitors of nitric oxide production, potassium channel, arachidonate cascade, and adenocine triphosphate dehydroxygenase. However, the relaxation by h-and p-PMLs were almost abolished in preparations treated with Na^+ - K^+ -ATP-ase inhibitor, 5×10^{-6} M ouabain and contracted with potassium chloride. The findings suggest that neither nitric oxide nor eicosanoids account for the h-and p-PMLs-induced relaxation of porcine coronary artery. It appears that other endothelium derived relaxing factors, such as endothelium derived hyperpolarizing factor, may be involved in the PMLs-induced relaxation.

Key words: polymorphonuclear leukocytes, coronary artery, endothelium, endothelium derived hyperpolarizing factor

多核白血球, 冠状動脈, 血管内皮, 内皮由来過分極因子

緒 言

局所における動脈・細動脈の収縮・弛緩は、外膜から

の神経性調節や血管内腔を流れる血液細胞による調節を受け、組織の灌流及び酸素供給を規定する。血液細胞の中で特に多核白血球は血管平滑筋張力の維持に重要であ

Reprint requests to: Kazuhiro SAKUMA,
Department of Anesthesiology, Niigata
University School of Medicine,
Niigata City, 951, JAPAN.

別刷請求先: 〒951 新潟市旭町通1番町
新潟大学医学部麻酔学教室 佐久間一弘

る。多核白血球から放出される物質は生物学的特徴が内皮由来弛緩因子と同じであり、一酸化窒素 (nitric oxide; NO) と考えられている¹⁾⁻³⁾。従ってこの物質は血管平滑筋を弛緩させ⁴⁾⁻⁶⁾、血小板の凝集を抑制する⁷⁾。多核白血球は NO のみならず、活性酸素・アラキドン酸代謝物・蛋白分解酵素等の種々の物質を放出し、血管トームスに影響を及ぼす⁸⁾⁻¹⁰⁾。

一方、血管内皮細胞はエンドセリン¹¹⁾、プロスタサイクリン¹²⁾、内皮由来弛緩因子¹³⁾、内皮由来過分極因子¹⁴⁾¹⁵⁾等の生理学的物質を放出し血管平滑筋張力を調節する。また多核白血球は接着因子により血管内皮に接着することが知られている¹⁶⁾⁻¹⁸⁾。従って多核白血球は血管内皮細胞と相互作用を持ち、血管平滑筋張力に影響すると考えられる。そこで内皮を温存した血管と剥離した血管を用い、多核白血球のブタ冠状動脈平滑筋張力に及ぼす作用を検討した。その結果、多核白血球は NO でもなくプロスタノイドでもない物質を内皮より放出しブタ冠状動脈を弛緩したので報告する。

方 法

ブタ心臓から冠状動脈左前下向枝分枝を摘出し周囲の結合組織を取り除いた後、輪状血管標本(直径 1.0~1.3 mm)を作製した。一部の血管では木製の棒により機械的に内皮細胞を剥離した。クレブス液 5 ml の入ったマグヌス管内で血管内腔に 2 本の綱線を通し一端を固定、もう一端をトランジューサー(日本光電社製 TB-612T 型)に接続し張力を測定した。クレブス液を 95%酸素 + 5%二酸化炭素で飽和し、pH 7.4、温度 37℃、静止時張力を 1.5 g に保った。約 1 時間後静止時張力が安定した後、KCl 50 mM を投与し張力を測定した。その後クレブス液で標本を数回洗浄し、KCl 25 mM を投与し張力が安定した後、ブラジキニン 10^{-7} M を投与した。これによる弛緩反応の有無により機能的な内皮細胞の存在を確認した。

ヒト及びブタ多核白血球はヒト及びブタ末梢静脈血より採血しヘパリン(10単位/ml)及び4分の3溶の1%デキストランを加えた。50分間静置後上清 7 ml を Ficol-Conray 溶液に重層し、30分間、300 g で遠心した。沈査を蒸留水に25秒間浮遊し溶血した後、等量の 1.8% NaCl を加えた。その後多核白血球は数回洗浄し、リン酸緩衝液中に浮遊した。トリパンプル排除試験にて生存率95%以上を確認した。4℃にて保存した後、投与直前に37℃、10分間インキュベートした。

第一の実験では多核白血球の血管平滑筋張力に及ぼす

作用を内皮温存血管及び内皮剥離血管を用いて行った。血管にエンドセリン-1 を 5×10^{-10} M から 3×10^{-9} M または KCl を 25 mM から 30 mM 投与し KCl 50 mM 収縮の約50%の収縮を得た。張力が安定した後、ヒト及びブタ多核白血球を 10^3 /ml から 10^6 /ml まで累積的に浮遊させた。多核白血球による弛緩はエンドセリン-1 または KCl による収縮を 100%とし、これに対する相対値で示した。

第二の実験ではヒト及びブタ多核白血球の上清の作用を調べた。 10^6 /ml に調整した多核白血球浮遊液を37℃、30分間インキュベート後、5分間 300 g にて遠心した。上清(50 μ l)をエンドセリン-1 により収縮させた血管に投与した。

第三の実験では以下の薬剤をエンドセリン-1 を投与する30分前に投与し、多核白血球による反応に及ぼす影響を検討した。メチレンブルー (10^{-5} M) (グアニレートサイクラーゼ阻害薬)、N^ω-ニトロ-L-アルギニン-メチルエステル (3×10^{-4} M) (一酸化窒素合成酵素阻害薬)、グリベンクラミド (10^{-5} M) (ATP 感受性 K⁺ チャンネル阻害薬)、テトラエチルアンモニウム (10^{-2} M) (電位依存性 K⁺ チャンネル阻害薬)、インドメタシン (5×10^{-6} M) (サイクロオキシゲナーゼ阻害薬)、SKF-525a (10^{-5} M) (チトクローム P450 阻害薬) ONO-1078 (10^{-5} M) (ロイコトリエン C₄, D₄ 拮抗薬)、ウアバイン (10^{-5} M) (Na⁺-K⁺-ATPase 阻害薬)、アビラーゼ (0.67 単位/ml) (アデノシン三リン酸及びアデノシン二リン酸脱リン酸化酵素阻害薬)。多核白血球は上述と同様に投与した。

第四の実験では多核白血球浮遊液に混在する血小板の影響を検討した。ヒト末梢静脈血より多血小板血漿を作製し、濃度を調整した後エンドセリン-1 によって収縮させた冠状動脈標本に累積的に投与した (10^6 - 3×10^7 /ml)。

結果の統計計算は一元配置分散分析により行い、また群間の比較は最小有意差検定法により行った。危険率 5%未満をもって有意とした。

結 果

1) ヒト及びブタ多核白血球の内皮温存血管及び内皮剥離血管に及ぼす作用

多核白血球 10^3 - 10^6 /ml は静止時張力に影響しなかった。エンドセリン-1 により収縮させた内皮温存及び剥離血管に対し、ヒト多核白血球 10^3 - 10^5 /ml の投与は張力に影響をおよぼさなかった。しかし 10^6 /ml により両標本で有意な弛緩が認められた。また、この弛緩は内

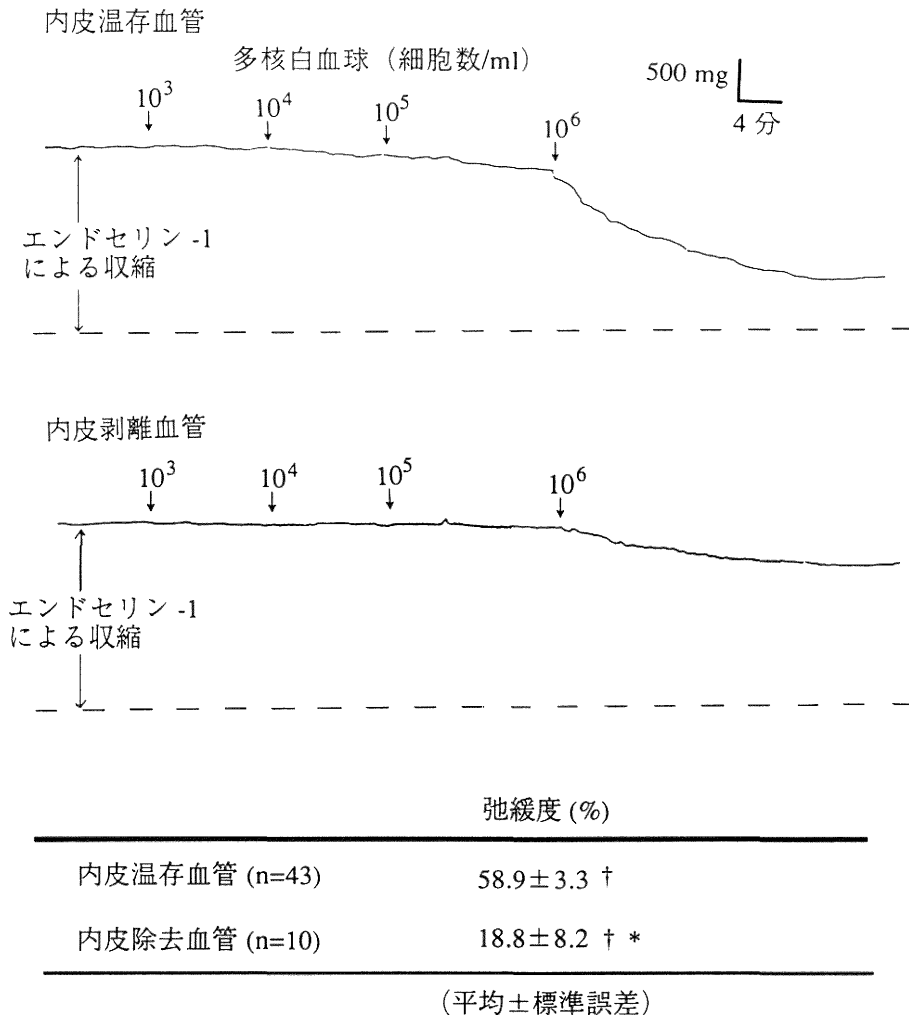


図 1 多核白血球の冠状動脈に及ぼす作用

上段：内皮温存血管の多核白血球による弛緩反応。多核白血球 $10^6/\text{ml}$ により有意に弛緩した。下段：内皮剥離血管に対する多核白血球の作用。多核白血球 $10^6/\text{ml}$ により弛緩したが、内皮温存血管に比べ小さかった。表：多核白血球 $10^6/\text{ml}$ によるブタ冠状動脈の弛緩。†： $p < 0.05$ ，エンドセリン-1 収縮に対して有意な弛緩を示す。*： $p < 0.05$ ，内皮温存血管対内皮剥離血管。いずれの血管も有意に弛緩したが、内皮温存血管が大きく弛緩した。

皮剥離血管よりも内皮温存血管において有意に大きかった (図 1)。ブタ多核白血球を用いた場合は内皮温存血管で有意な弛緩を生じた (内皮温存血管, $45.8 \pm 8.2\%$, $n=6$, $p < 0.05$, エンドセリン-1 収縮に対して。内皮剥離血管, $5.4 \pm 1.2\%$, $n=5$)。この弛緩はヒト多核白血球の場合と同様に内皮温存血管において有意に大きかった ($p < 0.05$, 内皮温存血管対内皮剥離血管)。また一

方、血管を KCl により収縮させた場合は多核白血球による弛緩はエンドセリン-1 により収縮させた場合に比べ有意に小さかった (表 1)。

2) 内皮温存血管の多核白血球による弛緩作用に対する種々の拮抗薬の影響

ヒト多核白血球 $10^6/\text{ml}$ による弛緩は無処置群では $58.9 \pm 3.3\%$ ($n=43$) であった。これに対し種々の拮抗薬

を処置した群における各々の弛緩度を表1に示す。これら拮抗薬のうちウアバイン (10^{-5} M) 前処置により弛緩反応は顕著に抑制された。

3) ヒト及びブタ多核白血球の上清の作用

ヒト及びブタ多核白血球高濃度浮遊液 (10^8 /ml) から得た上清 (50 μ l) はエンドセリン-1によって収縮させた内皮温存血管の張力に対し影響をしなかった (ヒト, $1.6 \pm 1.1\%$, $n=4$, ブタ, $4.4 \pm 2.3\%$, $n=4$)。

4) 血小板の影響

今回の実験で使用したヒト及びブタ多核白血球浮遊液 (10^6 /ml) には各々 $2.2 \pm 1.1 \times 10^6$, $1.5 \pm 0.2 \times 10^6$ /ml の血小板が混在した。ヒト静脈血より分離した血小板 (10^6

及び 3×10^6 /ml) はいずれの濃度における弛緩も多核白血球 10^6 /ml による弛緩に比して有意に小さかった (表2)。

考 察

今回の実験でヒト及びブタ多核白血球はブタ冠状動脈において内皮依存性弛緩作用を呈し、この弛緩作用は一酸化窒素及びプロスタノイドを介さないことがわかった。また、内皮剥離血管における多核白血球の弛緩作用は内皮温存血管の弛緩作用よりも小さかった。このことは多核白血球が内皮に作用して、内皮から何らかの弛緩物質が放出されていることを示す。あらかじめ内皮温存血管を NO 合成阻害薬である N^G-ニトロ-L-アルギニン-メチルエステルで前処置しても、グアニレートサイクラーゼを阻害しサイクリック GMP の産生を抑制するメチレンブルーで前処置しても多核白血球による弛緩に影響しなかった。このことから多核白血球により内皮から放出される物質は NO ではないと思われる。

血管内皮からはアラキドン酸代謝物が放出され血管平滑筋張力を調節していることが知られている¹²⁾。そこで種々のアラキドン酸カスケードに対する拮抗薬を用い、多核白血球による弛緩作用に及ぼす影響を検討した。サイクロオキシゲナーゼ拮抗薬であるインドメサシン、チトクローム P450 の拮抗薬である SKF-525a, 及びロイコトリエン C₄, D₄ のアンタゴニストである ONO-1078 はいずれも弛緩作用を抑制しなかった。従ってアラキドン酸代謝物は多核白血球による弛緩作用には関与しないと考えられる。

以上の考察から多核白血球による弛緩作用には、血管内皮から放出される一酸化窒素及びアラキドン酸代謝物以外の物質によるものと考えられる。血管内皮からは内皮由来過分極因子が放出され、K⁺ チャンネルを活性化することにより血管平滑筋細胞を過分極させて血管平滑筋を弛緩させることが報告されている¹⁴⁾¹⁵⁾¹⁹⁾。しかしこの K⁺ チャンネルに対する効果的拮抗薬はなく、ATP 感受性 K⁺ チャンネル阻害薬であるグリベンクラミド及び電位依存性 K⁺ チャンネル阻害薬であるテトラエチルアンモニウムはいずれも多核白血球による弛緩作用を抑制しなかった。チトクローム P450 を介して産生されるアラキドン酸代謝物が内皮由来過分極因子と同様の性質を示すことが報告されている²⁰⁾²¹⁾。しかし今回の実験ではチトクローム P450 阻害薬である SKF-525a は多核白血球による弛緩作用に影響しなかった。従ってこの代謝物はブタ冠状動脈弛緩作用の機構には関与しな

表1 拮抗薬及び KCl 収縮の影響

(平均±標準誤差)

実験群	実験数	弛緩度 (%)
無処置群	43	58.9±3.3
メチレンブルー 10^{-5} M	7	61.8±7.6
N ^G -ニトロ-L-アルギニン-メチルエステル 3×10^{-4} M	4	50.1±4.7
テトラエチルアンモニウム 10^{-2} M	5	48.5±8.1
グリベンクラミド 10^{-5} M	4	59.3±4.9
インドメサシン 5×10^{-6} M	4	54.2±13.5
ONO-1078 10^{-5} M	4	69.0±6.5
SKF-525a 10^{-5} M	4	58.9±8.5
アピラーゼ 0.67 単位/ml	4	68.1±9.0
ウアバイン 10^{-5} M	9	10.5±2.3**
KCl により収縮	10	5.3±4.7**

** : $p < 0.01$ 無処置群に対して。標本をウアバイン 5×10^{-5} M 前処置または KCl により収縮させた場合、多核白血球 10^6 /ml による弛緩作用は有意に抑制された。

表2 血小板のブタ冠状動脈に及ぼす作用

(平均±標準誤差)

実験群	実験数	弛緩度 (%)
多核白血球 10^6 /ml	43	58.9±3.3
血小板 10^6 /ml	10	6.6±2.4**
血小板 3×10^6 /ml	10	8.7±2.7**

** : $p < 0.01$ 多核白血球 10^6 /ml による弛緩に対して。血小板 10^6 /ml 及び 3×10^6 /ml による弛緩は多核白血球 10^6 /ml による弛緩に対して有意に小さかった。

いと考えられる。細胞外 $[K^+]$ の上昇と $Na^+-K^+ATPase$ の拮抗薬であるウアバインは、血管平滑筋を脱分極させ、内皮由来過分極因子を含む血管平滑筋を過分極させる物質に拮抗することが知られている²²⁾⁻²⁴⁾。今回の実験ではこれらの処置により多核白血球による弛緩作用は有意に抑制された。これらの結果から、多核白血球により内皮細胞から放出される物質は一酸化窒素及びプロスタノイドとは異なり、内皮由来過分極因子と同様の性質を持つことが示唆される。

Kadota ら²⁵⁾ はラット腹腔内に誘導した多核白血球の上清に由来する弛緩因子がフェニレフリンで収縮させたウサギ大動脈を弛緩させ、またこの因子が L-アルギニンから合成されサイクリック GMP を増加させると報告している。しかし我々の実験では、ヒト及びブタ多核白血球から得た上清はエンドセリン-1 により収縮させたブタ冠状動脈の張力には全く影響しなかった。従って多核白血球から抽出される物質は多核白血球による内皮依存性弛緩に関与しないと思われる。以上の結果より、多核白血球による内皮依存性弛緩反応は白血球と内皮の相互作用により生ずることが示唆された。白血球と内皮の相互作用についてはさらなる研究が必要と考える。

本研究において多核白血球により内皮剥離血管でも若干の弛緩が得られた。Metha ら⁶⁾ はヒト多核白血球のラット大動脈標本に対する作用を検討し、多核白血球から放出される NO が血管を弛緩すると報告している。従って本実験の内皮剥離血管における多核白血球による弛緩は、白血球が産生する NO によるものか、混在する血小板によるものであるか、もしくは内皮除去で充分ではなく内皮が残存していた可能性も否定できない。

Houston ら²⁶⁾ は血小板が内皮依存性にイヌ冠状動脈を弛緩させ、アデノシン三リン酸及びアデノシン二リン酸の脱リン酸酵素阻害薬であるアピラーゼにより消失したことを報告している。我々の実験では、多核白血球 $10^6/ml$ の濃度に対し血小板 $2 \times 10^6/ml$ 程度の混入が認められた。本研究において 10^6 及び $3 \times 10^6/ml$ の血小板はいずれの濃度でも有意な弛緩を生じさせたが、多核白血球 $10^6/ml$ による弛緩よりはるかに小さかった。また、アピラーゼの前処置は多核白血球による弛緩作用に影響を与えなかった。従って本研究で用いた多核白血球浮遊液による弛緩反応において混在する血小板の寄与は極めて少ないと考えられる。

心筋梗塞や虚血再灌流傷害といった病的状態において、多核白血球は活性化されフリーラジカルを産生し血管内皮機能を傷害する。Murohara ら²⁷⁾ によれば、ザイモ

ザンによって活性化したヒト多核白血球はブタ冠状動脈を濃度依存的に収縮させた。今回の研究では $10^6/ml$ の多核白血球は弛緩作用を持ち、この作用は内皮由来過分極因子と同様の性質を示した。また一般に太い血管における弛緩では一酸化窒素が主に作用するが、細い血管では内皮由来過分極因子の作用が大きいと考えられている²⁸⁾。従って多核白血球は活性化されない限り、血管内皮を介して弛緩作用を持ち血管抵抗の調節に重要な役割を持つことが示唆された。

以上より多核白血球によりブタ冠状動脈は内皮依存性に弛緩し、この反応には一酸化窒素及びプロスタノイドが関与せず、内皮依存性過分極因子が関与することが示唆された。

稿を終えるにあたり、御指導・御校閲を賜りました新潟大学医学部麻酔学教室 下地恒毅教授、福田悟助教授に深謝いたします。

参 考 文 献

- 1) Wright, C.D., Mush, A., Busse, R. and Osswald, H.: Generation of nitric oxide by human neutrophils. *Biochem. Biophys. Res. Com.*, **160**: 813~819, 1989.
- 2) Yui, Y., Hattori, R., Kosuga, K., Eizawa, H., Hiki, K., Ohsawa, S., Ohnishi, S., Terao, S. and Kawai, C.: Calmodulin-independent nitric oxide synthesis from rat polymorphonuclear neutrophils. *J. Biol. Chem.*, **266**: 3369~3371, 1991.
- 3) McCall, T.B., Boughton-Smith, N.K., Palmer, R.M., Whittle, B.J.R. and Moncada, S.: Synthesis of nitric oxide from L-arginine by neutrophils. Release and interaction with superoxide anion. *Biochem. J.*, **261**: 293~296, 1989.
- 4) Rimere, T.J., Stum, R.J., Adams, L.M., Henry, D.E., Heaslip, R.J., Weichman, R.J. and Grimes, D.: Interaction of neutrophils with vascular smooth muscle: identification of neutrophil-derived relaxing factor. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **245**: 102~111, 1988.
- 5) Rimere, T.J., Armstrong, S.J., Grimes, D. and Sturm, R.J.: Rat peritoneal neutrophils selectively relax vascular smooth muscle tone. *J.*

- Pharmacol. Exp. Ther., 258: 963~971, 1991.
- 6) **Metha, J.L., Lawson, D.L. and Nichols, W.W.:** Modulation of vascular tone by neutrophils: Dependence on endothelial integrity. *Am. J. Physiol.*, 257: H1315~H1320, 1989.
 - 7) **Salvemini, D., Nucci, G., Gryglwsky, R.J., and Vane, J.R.:** Human neutrophils and mononuclear cells inhibit platelet aggregation by releasing a nitric oxide-like factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 86: 6328~6332, 1989.
 - 8) **Luccchi, B.R. and Mullane, K.M.:** Leukocytes and ischemia-induced myocardial injury. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 26: 201~224, 1986.
 - 9) **Metha, J., Dinerman, J., Metha, P., Saldeen, T.G.P., Lawson, D., Donnelly, W.H. and Wallin, R.:** Neutrophil function in ischemic heart disease. *Circulation.*, 79: 549~556, 1989.
 - 10) **Ma, X., Taso, P.S., Viehman, G.E. and Lefer, A.M.:** Neutrophil-mediated vasoconstriction and endothelial dysfunction in low-flow perfusion-reperfusion cat coronary artery. *Circ. Res.*, 69: 95~106, 1991.
 - 11) **Yanagisawa, M., Kurihara, H., Kimura, S., Tomobe, Y., Kobayashi, M., Mitsui, Y., Yazaki, Y., Goto, K. and Masaki, T.:** A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature.*, 323: 411~415, 1988.
 - 12) **Rosolowsky, M. and Campbell, W.B.:** Role of PGI₂ and epoxyeicosatrienoic acids in relaxation of bovine coronary arteries to arachidonic acid. *Am. J. Physiol.*, 264: H327~335, 1993.
 - 13) **Furchgott, R.F. and Zawadzki, J.V.:** The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature.*, 288: 373~376, 1980.
 - 14) **Bolton, T.B., Lang, R.J. and Takewaki, T.:** Mechanisms of action of noradrenaline and carbachol on smooth muscle of guinea pig anterior mesenteric artery. *J. Physiol.*, 351: 549~572, 1984.
 - 15) **Feletou, M. and Vanhoutte, P.M.:** Endothelium-dependent hyperpolarization of canine coronary smooth muscle. *Br. J. Pharmacol.*, 93: 515~524, 1988.
 - 16) **Zimmermann, G.A., Prescott, S.M. and McIntyre, T.M.:** Leukocytes-endothel interactions. *Immunology Today.*, 13: 93~100, 1992.
 - 17) **Springer, T.A.:** Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: The multistep paradigm. *Cell.*, 76: 301~314, 1994.
 - 18) **Adams, D.H. and Show, S.:** Leukocyte-endothelial interactions and regulation of leukocyte migration. *Lancet.*, 343: 831~836, 1994.
 - 19) **Chen, G. and Suzuki, H.:** Some electrical properties of the endothelium-dependent hyperpolarization recorded from rat arterial smooth muscle cells. *J. Physiol.* 410: 91~106, 1989.
 - 20) **Bauersachs, J., Hecker, M. and Busse, R.:** Display of endothelium-derived hyperpolarizing factor by cytochrome P450-derived arachidonic acid metabolite in the coronary microcirculation. *Br. J. Pharmacol.*, 113: 1548~1553, 1994.
 - 21) **Hu, S. and Kim, H.S.:** Activation of K⁺ channel in vascular smooth muscles by cytochrome P450 metabolites of arachidonic acid. *Eur. J. Pharmacol.*, 230: 215~221, 1993.
 - 22) **Feletou, M. and Vanhoutte, P.M.:** Endothelium-dependent hyperpolarization of canine coronary smooth muscle. *Br. J. Pharmacol.*, 93: 515~524, 1988.
 - 23) **Adeagbo, A.S.O. and Triggle, C.R.:** Varying extracellular [K⁺]: A functional approach to separating EDHF- and EDNO-related mechanisms in perfused rat mesenteric arterial bed. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 21: 423~429, 1993.
 - 24) **Wolfson, R.G. and Poston, L.:** Effect of ouabain on endothelium-dependent relaxation of human resistance arteries. *Hypertension.*, 17: 619~625, 1991.
 - 25) **Kadota, K., Yui, Y. and Hattori, R.:** A new relaxing factor in supernatant of incubated rat peritoneal neutrophils. *Am. J. Physiol.*, 260: H967~H972, 1991.
 - 26) **Houston, D., Shepherd, J. and Vanhoutte, P.M.:** Adenine nucleotides, serotonin, and endothelium-dependent relaxation to platelets. *Am. J. Physiol.*, 248: H389~H395, 1985.
 - 27) **Murohara, T., Kugiyama, K., Sugiyama, S.,**

- Ohgushi, M. and Yasue, H.:** Activated human polymorphonuclear leukocytes elicit endothelium-dependent contraction in isolated pig coronary arteries. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **21**: 760~766, 1993.
- 28) **McPherson, G.A. and Angus, J.A.:** Evidence that acetylcholine-mediated hyperpolarization of the rat small mesenteric artery does not involve the K^+ channel opened by cromakalim. *Br. J. Pharmacol.*, **103**: 1184~1190, 1991.
- 29) **Nagao, T., Illiano, S. and Vanhoutte, P.M.:** Heterogeneous distribution of endothelium-dependent relaxations resistant to N^G -nitro-L-arginine in rats. *Am. J. Physiol.*, **263**: H1090~H1094, 1992.

(平成8年2月1日受付)