

アドレナリン作動性 α_1 -受容体刺激によるラット大動脈
平滑筋の収縮：外液 Na^+ 濃度依存性について

新潟大学医学部薬理学教室（主任：今井昭一教授）

水戸元子

A mechanism of contraction of the rat aortic smooth
muscle by α_1 -adrenoceptor stimulation:
dependency on extracellular Na^+ .

Motoko MITO

*Department of Pharmacology,
Niigata University School of Medicine.
(Director: Prof. Shoichi IMAI)*

Contraction of rat aortic smooth muscle by α_1 -adrenoceptor stimulation was examined in relation to extracellular Na^+ concentration. Experiments were carried out in the presence of verapamil (Ver) 10^{-5} M to avoid the contribution of Ca^{2+} influx via voltage dependent Ca^{2+} channel (VDC).

The contraction induced by phenylephrine (Phe) 10^{-6} M under this condition depended on the presence of Ca^{2+} in the extracellular space, suggesting that the Ca^{2+} influx from the extracellular space was indispensable for elicitation of contraction. The contraction was also dependent on the concentration of Na^+ in the extracellular space except for Na^+ -free condition. Tonic component of the contraction constituted a plateau with low Na^+ concentrations, but showed a gradual increase with time with higher Na^+ concentrations. Dichlorobenzamil, a Na^+ - Ca^{2+} exchange system inhibitor, attenuated this contraction. Noradrenaline (Nor) 10^{-6} M also showed an extracellular Na^+ dependent contraction, as Phe did. However, in the absence of Na^+ , almost equal contraction to those observed in the presence of normal concentration of Na^+ was observed, suggesting the contribution of Ca^{2+} release from intracellular Ca^{2+} store. The contraction by Nor as well as by Phe were inhibited by H-7, a C-kinase inhibitor.

These results suggest that, when α_1 -adrenoceptor is stimulated, C-kinase is activated through formation of diacylglycerol and increases in Na^+ influx via Na^+ - H^+ exchange system

Reprint requests to: Motoko MITO,
Department of Pharmacology,
Niigata University School of Medicine
Niigata City, 951, JAPAN.

別刷請求先：〒951 新潟市旭町通1番町
新潟大学医学部薬理学教室 水戸元子

results. The accumulated Na^+ , in turn, enhances $\text{Na}^+-\text{Ca}^{2+}$ exchange leading to increases in Ca^{2+} influx.

Key words: vascular smooth muscle, α_1 -adrenoceptor, C-kinase, Na^+-H^+ exchange, $\text{Na}^+-\text{Ca}^{2+}$ exchange
血管平滑筋, α_1 -受容体, C-キナーゼ, Na^+-H^+ 交換機構, $\text{Na}^+-\text{Ca}^{2+}$ 交換機構

はじめに

アドレナリン作動性 α -受容体刺激が, 細胞膜リン脂質 phosphatidylinositol (PI) の turnover 増大と結びついている事は, 現在広く認められており, 特に α_1 -受容体では, PI turnover が, 情報伝達の主要な機序であると考えられている¹⁾. PI turnover の亢進により, second messenger として細胞内に, inositol-1, 3, 5-triphosphate (IP_3) と diacylglycerol (DG) が作られるが, IP_3 は細胞内 store から Ca^{2+} を遊離させる事により, 又 DG は proteinkinase C を活性化させる事により, 作用を発揮すると考えられている.

著者は α_1 -受容体刺激による血管平滑筋収縮に対する DG 系の関与, 特に C-kinase 活性化以降の機序について, ラット大動脈平滑筋標本を用い, phenylephrine (Phe) を作用薬として検討した.

実験材料及び実験方法

実験には体重 300~400 g 前後の雄性ラットを使用した. エーテル麻酔下に大動脈を摘出し, 氷冷した生理食塩水中で周囲の結合組織を除去した後, 長さ 4~5 mm 程度のリング標本を作成した. やすりで表面を粗くした 18G の注射針を標本に通し, 摩擦することによって内皮を除去した後, 37°C, pH 7.4 に調整し 100% O_2 を通気した Modified Krebs solution (MKS) 中に懸垂した. 500~700 mg の resting tension をかけ, 標本が安定するまで (tension が一定になるか, 約一時間待つ) incubate した後, phenylephrine 10^{-6}M にて反応が安定するまで収縮を繰り返した. Acetylcholine 10^{-7}M による弛緩が, 収縮の 0~5% 未満のものを内皮 (-) の標本として実験に供した.

Verapamil 10^{-6}M 存在下に30分以上 incubate し, Voltage dependent Ca^{2+} channel を介する Ca^{2+} 流入を除外した条件下に全ての実験を行った.

実験に使用した modified Krebs solution (MKS), Ca^{2+} 及び Na^+ -free MKS の組成は以下の通りである (mM)²⁾.

	正常	Ca^{2+}	Na^+
MKS	free	free	free
	MKS	MKS	MKS
NaCl	138	138	(-)
KCl	4.7	4.7	3.5
CaCl_2	1.8	(-)	1.8
MgCl_2	1.2	3.5	1.2
NaH_2PO_4	1.2	1.2	(-)
KH_2PO_4	(-)	(-)	1.2
Glucose	10.0	10.0	10.0
HEPES	5.0	5.0	5.0
Tris	5.0	5.0	5.0
NMG	(-)	(-)	139.2
EDTA 2K	(-)	1.0	(-)
NMG; N-Methyl-D	(-)	(-)	-Glucamine

結 果

1) Phenylephrine (Phe) 収縮に対する外液 Ca^{2+} の関与 (Fig. 1)

EDTA-2K 1.0 mM を加えた Ca^{2+} -free MKS で標本を30分以上 incubate し, Phe 10^{-6}M を投与, 反応が安定してから, 外液の Ca^{2+} 濃度が 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 mM になる様 1M CaCl_2 を累積的に加えて行った. 図 1 に示す様に, Ca^{2+} -free の条件下には, Phe 10^{-6}M による収縮は, 殆ど認められなかったが, Ca^{2+} の添加によって収縮張力は急速に増大し, Ca^{2+} 1.5 mM 前後では, 正常 MKS 中で得られる収縮のほぼ 100% に達した. Ca^{2+} 添加による収縮は phentolamine 10^{-5}M で完全に消失した. 又, phentolamine 10^{-5}M 前処置後には全く認められなくなったので, α -受容体を介する反応である事は明らかである.

2) Phe 収縮に対する外液 Na^+ の関与 (Fig. 2, 3)

次に Na^+ 濃度の異なる MKS を用いて Phe 収縮に対する外液 Na^+ 濃度の影響について検討した. 各 Na^+ 濃度 (0, 20, 40, 80, 120 mM) の MKS は, Na^+ 138

mM を含む正常 MKS と Na^+ -free の MKS を混合することによって作成した。

NaCl をすべて N-methyl-D-glucamine (NMG) で置換した Na^+ -free MKS で標本を30分以上 incubate し、反応が安定した後、 $\text{Phe } 10^{-6}\text{M}$ を投与した。正常 MKS を Na^+ -free MKS で置換すると、標本は若干の収縮（対照の5~10%未満）を示し、その後、その張力を維持して安定する。そこへ $\text{Phe } 10^{-6}\text{M}$ を投与すると、正常 MKS 中で得られる収縮の約36% ($36.3 \pm 2.0\%$) の収縮が観察された。収縮が持続性であることを確認した後、標本を $\text{Na}^+ 20\text{mM}$ の MKS で洗浄し、張

力が安定してから（約20分後）、再度 $\text{Phe } 10^{-6}\text{M}$ を投与して収縮を観察、以後同様に、更に高濃度の Na^+ を含む MKS で洗浄し、 $\text{Phe } 10^{-6}\text{M}$ を投与するという方法で、各 Na^+ 濃度における標本の反応を記録した。

図に示す様に、収縮は、 $\text{Na}^+ 20\text{mM}$ で、正常 MKS 中の収縮の約20% (21.3 ± 1.3) と最低となったが、以後は Na^+ 濃度上昇と共に増大し、 $\text{Na}^+ 120\text{mM}$ で正常 MKS 中での収縮と同程度まで回復した。以上の結果は、 Na^+ -free の場合を除外すれば、 Phe 収縮が外液 Na^+ 濃度依存性である事を示すものである。

Phe による収縮は、急速な立ち上がりとその後徐々

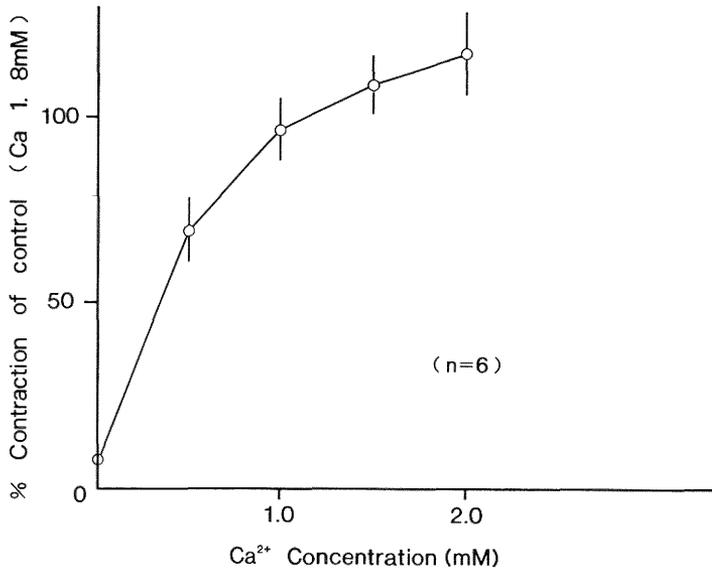


Fig. 1 各 Ca^{2+} 濃度における Phenylephrine 10^{-6}M による収縮。
Verapamil 10^{-5}M 存在下、 $\text{Ca}^{2+} 1.8\text{mM}$ をコントロールとした収縮%。

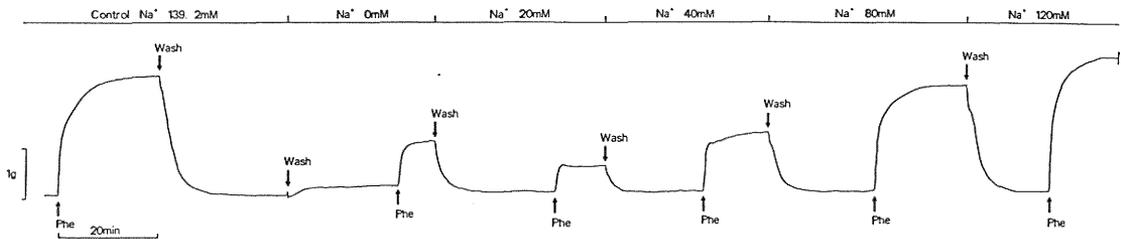


Fig. 2 各 Na^+ 濃度における Phenylephrine 10^{-6}M による収縮。
Verapamil 10^{-5}M 存在下での各 Na^+ 濃度における収縮パターン。

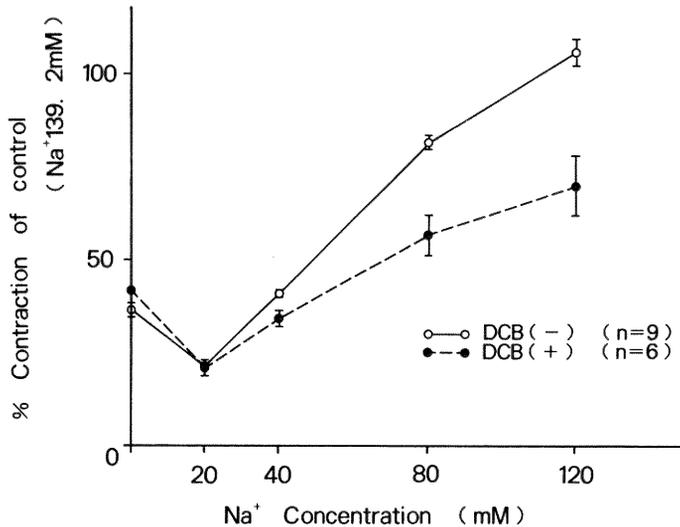


Fig. 3 各 Na⁺ 濃度における Phenylephrine 10⁻⁶ M による収縮。
Verapamil 10⁻⁵ M 存在下, Na⁺ 139.2 mM をコントロールとした収縮%。
DCB: Dichlorobenzamil

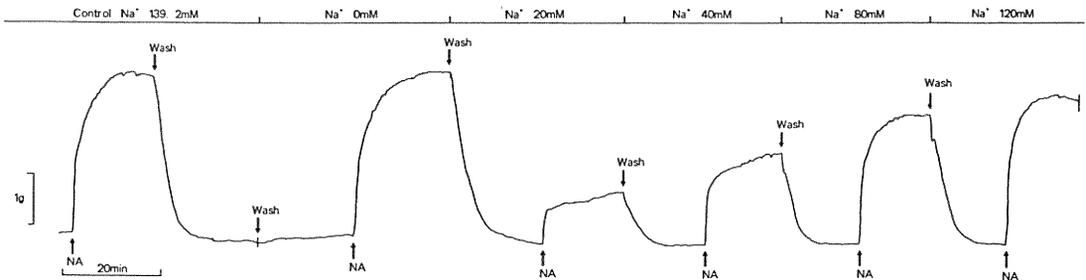


Fig. 4 各 Na⁺ 濃度における Noradrenaline 10⁻⁶ M による収縮。
Verapamil 10⁻⁵ M 存在下での各 Na⁺ 濃度における収縮パターン。

に収縮が増強する持続相とに分けられるが、今回の実験において持続相は、Na⁺ 濃度の低い時には、ほぼ平低で、収縮が最低となった Na⁺ 20 mM では、僅かに弛緩する傾向を示し、Na⁺ 濃度の増大につれ、時間と共に増大する傾向を示した。

Na⁺-Ca²⁺ 交換機構の特異的抑制薬といわれる Dichlorobenzamil (DCB) の前投与によって、収縮は Na⁺ 濃度の上昇に伴い抑制される傾向が見られた。

3) Noradrenaline 収縮に対する外液 Na⁺ の関与 (Fig. 4, 5)

Phe 収縮が外液 Na⁺ 濃度に依存性である事がわかっ

たので、Noradrenaline (Nor) 10⁻⁶ M による収縮に対する外液 Na⁺ 濃度の影響についても検討した。

図に示す様に、Phe の場合と異なり Nor では Na⁺-free MKS 中でも、正常 MKS 中とほぼ同程度の収縮が認められたが、それ以降のパターンは Phe の場合と同様で、収縮は Na⁺ 20 mM で最低 (40.7±6.3%) となった後、Na⁺ 濃度に依存性に増大した。しかし Nor の場合には、収縮は最低でも正常 MKS 中の約40%で、Phe の20%より大きかった。又、Na⁺20 mM でも持続相での収縮の増強が認められた。DCB による収縮の抑制は、Phe の場合と同様であった。

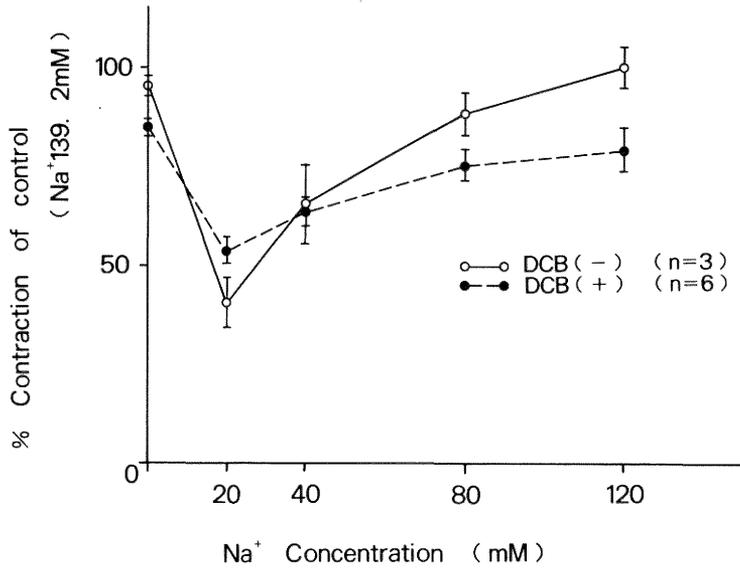


Fig. 5 各 Na^+ 濃度における Noradrenaline 10^{-6} M による収縮。Verapamil 10^{-5} M 存在下, Na^+ 139.2 mM をコントロールとした収縮%。
DCB; Dichlorobenzamil

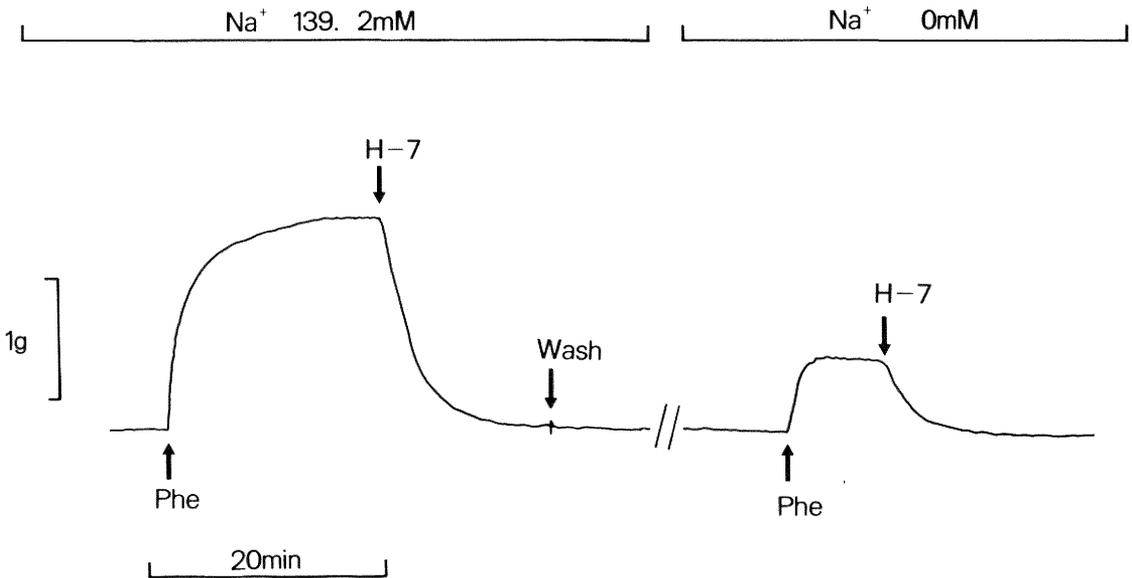


Fig. 6 Phenylephrine 収縮に対する H-7 の効果。Verapamil 10^{-5} M 存在下, Na^+ 139.2 mM, および Na^+ 0mM での収縮に対する H-7 の弛緩作用を示す。

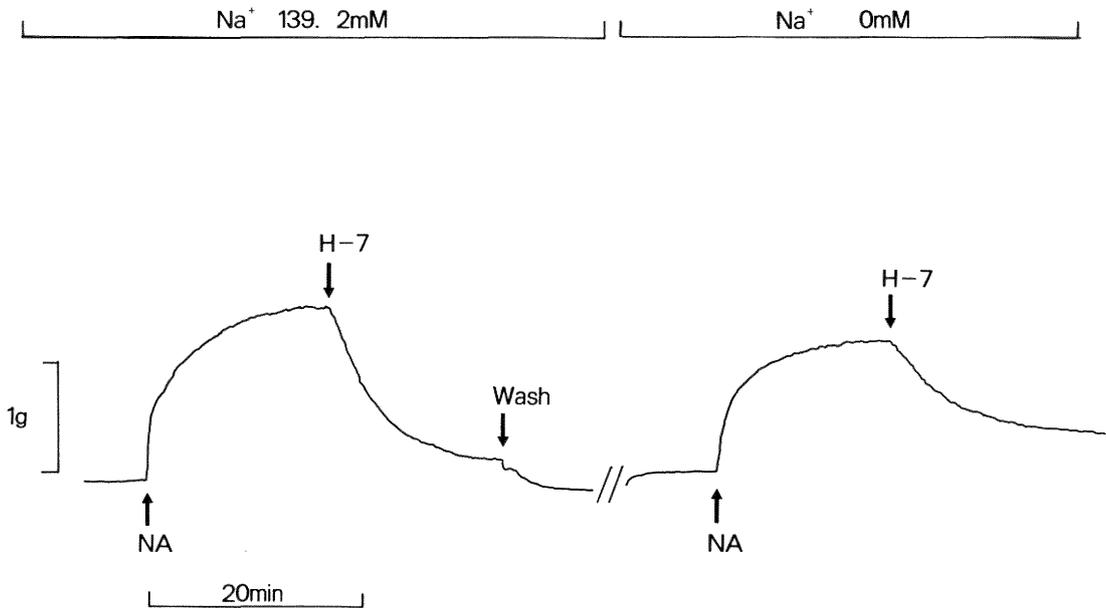


Fig. 7 Noradrenaline 収縮に対する H-7 の効果.
Verapamil 10^{-5} M 存在下, Na^+ 139.2 mM, および Na^+ 0mM での収縮に対する H-7 の弛緩作用を示す.

4) Phe 収縮, Nor 収縮に対する H-7 の影響 (Fig. 6, 7)

Phe 収縮に対する protein kinase C の関与について検討するため, protein kinase C の特異的阻害薬といわれている H-7 を用いて実験を行った. Phe による収縮反応が最大に達し安定した時点で H-7 10^{-5} M を投与すると, 投与直後より標本は弛緩をはじめ, 比較的速やかに完全な弛緩に達した. 外液 Na^+ -free で収縮させた場合も, H-7 によりほぼ 100% の弛緩が認められた. Nor 収縮に対しても H-7 は同様の効果を示したが, 外液 Na^+ -free の場合弛緩は完全ではなかった.

考 案

血管平滑筋の収縮が, 細胞内遊離カルシウム濃度 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の上昇によっておこる事は, 既に認められた事実である. 最近, 収縮蛋白質のカルシウム感受性の変化についても種々議論されているが, 一般的には, 収縮は, $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の上昇によって起こると考えて間違いないであろう.

さて $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇は, 細胞外からの流入と細胞内ストアからの遊離によって起こる. 細胞外から Ca^{2+} が

流入する経路としては, Ca^{2+} -channel が有名であり, 現在, voltage-dependent channel (VDC) と, receptor-operated channel (ROC) の二つが考えられている. 前者は, 更に細分化され, 非常に多彩になってきている. 細胞内ストアとしては, 筋小胞体 (SR) が中心であるが, 細胞膜やミトコンドリアなど他の細胞内小器官からの遊離も考えられている. Agonist による収縮は, SR が多い程大きいとの報告がある³⁾⁴⁾ ので, 細胞内ストアとしては SR が重要であろう.

I) Phenylephrine による収縮

今回の実験では, VDC 以外の機序について研究する事を目的に, 全ての実験を 10^{-5} M の verapamil (Ver) 存在下に行った. これはこの標本のカリウム拘縮を完全に抑制する濃度である. Ver の存在により, phenylephrine (Phe) による収縮は, Ver 非存在時の約 5 割に減少しており, ラット大動脈の Phe による収縮の半分は, VDC を介するものである事がわかった. 従って以下の議論は正常収縮の約半分に関わるものと言う事になる.

Ver 存在下の Phe 収縮は, ほぼ完全に外液カルシウム濃度 $[\text{Ca}^{2+}]_o$ に依存性で, 細胞外からのカルシウム流入が不可欠である事がわかった. 従って, Phe 収縮

に関する限り IP_3 による細胞内 store からのカルシウム遊離は考えなくても良いのではないと思われる。ウサギ大動脈では、外液カルシウムを除去しても Phe により一過性の収縮が認められているが⁵⁾、動物種の違いによるものと考えられる。

1) Na^+ 存在下に見られる収縮の機序

今回の実験で、 Na^+ -free の場合を除けば、Phe による収縮は、外液 Na^+ 濃度に依存性である事が明らかとなった。 Na^+ は、作用薬の受容体との結合の際にも重要である。子牛の脳を用いた Greenberg ら⁶⁾ の [^3H] リガンド結合実験によると、clonidine, norepinephrine, epinephrine 等の作用薬と α 受容体との結合は、 NaCl 濃度が高いほど低くなる。 NaCl は結合部位に対する作用薬の親和性には影響を与えないが、結合部位の数を減らすという。LiCl でも同様のパターンが見られ、KCl では濃度が高くなっても抑制が見られない事から、原子径による違いが示唆されている。何れにしても、結合に関する限り Na^+ はない方がよい訳で、今回の実験結果とは相反する。従って、今回認められた Na^+ 依存性については、agonist の受容体への結合以降の過程の関与を考えねばならない。

α 受容体、特に α_1 -受容体に関しては、agonist の受容体への結合後の過程として phosphatidylinositol (PI) turnover が重要視されており、PI turnover の亢進によって、細胞内に IP_3 と DG という2つの second messenger が作られる事については、既に述べた。

Phe 収縮は、外液カルシウムにはほぼ完全に依存性であるので、細胞内貯蔵部位から Ca^{2+} を遊離させて [Ca^{2+}]_i の上昇を起こす物質である IP_3 が、収縮に主要な役割を演じているとは考えられず、2つの second messenger の中では、DG が重要と考えられる。DG については、protein kinase C (C-kinase) を活性化する作用が知られており、C-kinase の活性化を介して、細胞膜 Na^+ - H^+ 交換機構を活性化し、細胞のアルカリ化と Na^+ influx の増大を起こすと言われている⁷⁾。 IP_3 の生成は速やかで一過性であるのに対し⁸⁾、DG の生成は持続性なので⁹⁾、 IP_3 は一過性の早い収縮相に、DG は持続性の収縮相に関与すると考えられているが、この考えには反論もある。何れにしても、今回の実験で、外液 Na^+ 濃度の増加と共に Phe 収縮の持続相の増大が認められた事は、持続相に、DG の生成→C-kinase の活性化→ Na^+ - H^+ 交換機構の促進→ Na^+ influx の増大という一連の変化が関与している可能性を示すものである。C-kinase の特異的な抑制薬であると言われている H-7 で、Phe 収縮

が完全に抑制された事もこの考えを支持する事実と言えよう。ラット大動脈平滑筋培養細胞での実験によると、 Na^+ - H^+ 交換機構の外液 Na^+ に対する K_m 値は、30~50 mM といわれているが、これも今回の実験結果と一致する。

さて、Phe で Na^+ - H^+ 交換の促進、 Na^+ influx の増大が起こるとして、 Na^+ influx の増大が起こると収縮は何故増強されるのであろうか。C-kinase の活性化により収縮系のカルシウム感受性が増大する事が知られているが、今回の実験で、Ver 存在下の Phe 収縮にも外液カルシウムの存在が必要である事がわかっているので、細胞外からのカルシウム流入の変化をまず考えねばならない。 Na^+ とカップルした Ca^{2+} の流入機構としてよく知られている Na^+ - Ca^{2+} 交換機構は、通常は、外液から流入する Na^+ のエネルギーを利用してカルシウムを汲み出す系として働くと考えられているが Smith らによると、培養血管平滑筋細胞では、細胞内に Na^+ の蓄積が無い場合 Na^+ - Ca^{2+} 交換機構は latent であるという¹⁰⁾。そして、細胞内 Na^+ 濃度の上昇があれば、反対方向に作動してカルシウムを細胞内に取り込む。Ver 存在下にみられた Na^+ 依存性の Phe 収縮は、恐らくその様な機序で起こっているのであろう。事実今回の実験で、 Na^+ - Ca^{2+} 交換機構の特異的な抑制薬と言われる dichlorobenzamil で、この収縮の抑制が認められている。ラット大動脈の Phe による収縮に Na^+ - H^+ 交換機構が関与するという考えに対しては Reynolds ら¹¹⁾ の反論がある。彼らによると、Phe 収縮は、 Na^+ - H^+ 交換の選択的な阻害薬である hexamethylene amiloride (HMA) によって全く抑制されず、むしろ増強されるし、 Na^+ を NMG で置換してもコントロールの84%に抑えられるにすぎないという。しかし、彼らの実験では Ca^{2+} 拮抗薬は使われていない。前述したように、Ver 10^{-5}M 前投与で Phe 収縮はコントロールの約50%に減弱するから、Elwood らが Na^+ 除去下に観察した収縮の50%は VDC を介したものであり、この部分は Na^+ 除去の影響を受けぬとすると、彼らが観察した Na^+ 除去による16%の抑制は全て残りの50%にかかって来る事になり、我々が観察した36%の収縮という数字とそれ程大きく違わないとも言えよう。なお細胞内の Na^+ を増やすような agent は、 Na^+ - Ca^{2+} 交換機構を介して IP_3 生成を促進するという報告もある¹²⁾。

2) Na^+ 非存在下の収縮

それでは、 Na^+ -free でみられた収縮はどう考えたら良いのであろうか。 Na^+ - Ca^{2+} 交換機構は上で述べたよ

うな性格のものであるから、 Na^+ -free では、直接収縮を起こす系として関与する。今回の実験でも、 Na^+ -free にするとそれだけで僅かではあるが収縮が起こっている。この状態で Phe を加えると、DG の産生によって C-kinase が活性化されるが、C-kinase の活性化は収縮系の Ca^{2+} 感受性増大を起こすと言われているので、 Na^+ -free で起こる収縮が C-kinase の活性化によって増強されると考えてもよいのではないか。今回の実験で、H-7 が、 Na^+ -free 時の Phe 収縮を完全に抑制している事はこの考えを支持する事実である。そして Na^+ 20mM は細胞内外の Na^+ の濃度勾配が殆どなくなった状態であるとすれば、この時点での収縮が最低になる事も同じ理由で説明できる。

II) Nor による収縮

今回の実験で、非選択性の Nor では、 Na^+ -free でも、正常 Na^+ 存在下と同程度の収縮が得られている。 Na^+ 20mM 以降の濃度依存性の部分でも、Phe に比し収縮は常に大きい。細胞内 Ca^{2+} の関与があるからであろう。Nor については、外液 Ca^{2+} -free でも収縮が一過性に出ることが知られており、細胞内 Ca^{2+} の関与が考えられている。 Na^+ 20mM では Phe の場合と同様収縮が小さくなるが、それにも細胞内 Ca^{2+} の変化が絡んでいる可能性がある。実験プロトコールの関係で、 Na^+ -free での実験は、常に最初に行われており、この時期には細胞内の貯蔵 Ca^{2+} がまだ十分にあるが(そこで大きな反応が得られる)、外液 Na^+ が 0 に近い状態では、細胞外からの Ca^{2+} 流入が制約されるので、re-store が不十分となり、次の反応では細胞内ストアが枯渇した状態となり、収縮が小さくなったと考える事もできるからである。

III) Na^+ 依存性の臨床的意義

自然発症高血圧ラットにおける血管反応性の変化には、C-kinase を介した情報伝達系の機能変化が関与しているかも知れないという報告がある¹³⁾。今回の実験で、Phe, Nor による収縮が外液 Na^+ 濃度依存性であり、それには C-kinase を介する Na^+ - H^+ 交換機構の活性化が関与するであろう事が示された事は、高血圧の発症機序について大変示唆に富んだ発見と言えよう。

謝 辞

稿を終えるにあたり、ご指導、ご校閲いただきました今井昭一教授、並びに本研究全般にわたりご指導、ご助言いただきました薬理学教室の諸先生方に深謝致します。ありがとうございました。

参 考 文 献

- 1) Fain, J.N. and Garcia-Sainz, J.A.: Role of phosphatidylinositol. turnover in α_1 and of adenylate cyclase inhibition in α_2 effects of catecholamines. *Life Sciences*, **26**: 1183~1194, 1980.
- 2) Ashida, T. and Blaustein, M.P.: Regulation of cell calcium and contractility in mammalian arterial smooth muscle: the role of sodiumcalcium exchange. *J. Physiol.*, **392**: 617~635, 1987.
- 3) 堀田 健: 血管の収縮, 弛緩とカルシウム. *心臓*, **13(9)**: 1162~1168, 1981.
- 4) Devine, C.E., Somlyo, A.V. and Somlyo, A.P.: Sarcoplasmic reticulum and excitation-contraction coupling in mammalian smooth muscles. *J. Cell Biol.*, **52**: 690~718, 1972.
- 5) Khalil, R.A. and van Breemen, C.: Sustained contraction of vascular smooth muscle; Calcium influx or C-kinase activation? *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **244(2)**: 537~542, 1988.
- 6) Greenberg, D.A., U'Prichard, D.C., Sheehan, P. and Snyder, S.H.: α -Noradrenergic receptor in the brain; differential effect of sodium on binding of [^3H] agonists and [^3H] antagonists. *Brain Research*, **140**: 378~384, 1978.
- 7) Moolenaar, W.H., Tertoolen, L.G.J. and de Laat, S.W.: Phorbol ester and diacylglycerol mimic growth factors in raising cytoplasmic pH. *Nature*, **312**: 371~374, 1984.
- 8) Alexander, R.W., Brock, T.A., Gimbrone, M.A., Jr. and Rittenhouse, S.E.: Angiotensin increases inositol trisphosphate and calcium in vascular smooth muscle. *Hypertension*, **7**: 447~451, 1985.
- 9) Griendling, K.K., Rittenhouse, S.E., Brock, T.A., Ekstein, L.S., Gimbrone, M.A., Jr. and Alexander, R.W.: Sustained diacylglycerol formation from inositol phospholipids in angiotensin II-stimulated vascular smooth muscle cells. *J. Biol. Chem.*, **261**: 5901~5906, 1986.
- 10) Smith, J.B., Zheng, T. and Smith, L.: Relationship between cytosolic free Ca^{2+} and Na^+ - Ca^{2+} exchange in aortic muscle cells. *Am. J. Physiol.*, **256**: C147~154, 1989.

- 11) **Reynolds, E.E., Brum, J.M., Cragoe, E.J., Jr. and Ferrario, C.M.**: Effect of Na^+/H^+ exchange inhibitors on agonist-induced contraction of rat aorta. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **247**(3): 1146~1151, 1988.
- 12) **Benuck, M., Reith, M.E.A. and Lajtha, A.**: Evidence for the involvement of $\text{Na}^+-\text{Ca}^{2+}$ exchange in the stimulation of inositol phospholipid hydrolysis by sodium channel activation and depolarization. *Eur. J. Pharmacol.*, **159**: 187~190, 1989.
- 13) **Shibata, R., Morita, S., Nagai, K., Miyata, S. and Iwasaki, T.**: Effects of H-7 (protein kinase inhibitor) and phorbol ester on aortic strips from spontaneously hypertensive rats. *Eur. J. Pharmacol.*, **175**: 261~271, 1990.

(平成4年1月30日受付)
