

ることが報告されている。この急性作用も腎臓の細胞のほかに、心血管系細胞についても報告がある。これらの報告のなかで、MR 阻害薬の感受性の有無や血管トーンに対する作用（血管収縮性か弛緩性か）など、報告により一致しておらず、未だ議論のある領域である。

本研究では、アルドステロンの血管に対する急性作用をより明確に結論づけるため、培養内皮細胞とラット摘出血管という、より単純化した実験系を用いて検証した。

方法

ウシ胎仔大動脈より血管内皮細胞を分離・培養し、経代数 15 までを細胞実験に用いた。実験前の細胞は、血清中に含まれるステロイドホルモンの影響を除くため、血清としてデキストラン・チャーコール処理血清を用いた培地で 3 日間以上培養した。

一酸化窒素 (NO) 指示薬 DAF-2 またはカルシウム (Ca^{2+}) 指示薬 fluo4/FuraRed を内皮細胞内に導入し、共焦点顕微鏡を用いたイメージングにより、ATP による NO 産生または細胞内 Ca^{2+} 濃度 ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) 変化をアルドステロン処置の有無で検討した。NO 産生を定量的に評価するため、細胞非透過性 DAF-2 を用い、培養上清中の NO をマイクロプレートリーダーで評価した。内皮型 NO 合成酵素 (eNOS) の活性化を示すリン酸化 site である Ser¹¹⁷⁹ のリン酸化状態をウエスタンブロッティングで評価した。

ラット大動脈リング実験システムを作製し、8 週齢 Sprague-Dawley (SD) ラットより胸部大動脈を摘出し、リング標本作製して、フェニレフリン (PE) 収縮後の内皮依存性弛緩反応をアセチルコリン (ACh) 添加により評価した。内皮非依存性弛緩反応は、内皮除去したリング標本に対して PE 収縮後のニトロプルシドナトリウム (SNP) 添加により評価した。

イメージングを除くすべての実験において、作用機序を検討するため、MR 阻害薬エプレレノン、phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)阻害薬 LY294002、eNOS 阻害薬 LNAME あるいは内皮除去の効果を検討した。

結果

NO イメージングにより急性のアルドステロン前処置が ATP による NO 産生を亢進する傾向がみとめられた。培養上清中の NO の定量評価により、実際に急性のアルドステロン前処置が ATP による NO 産生を有意に増強することがわかった。一方でアルドステロンを 20 時間処置した細胞では NO の増強はみとめられなかった。またアルドステロン単独では NO 産生に影響しなかった。

急性のアルドステロンの前処置は ATP による eNOS の Ser¹¹⁷⁹ のリン酸化を有意に亢進したが、20 時間処置では減弱していた。

[Ca²⁺]_i はアルドステロンの添加時に変化はなく、またその後の ATP 添加による [Ca²⁺]_i 変化にはアルドステロン前処置の有無で、その強度、Ca²⁺上昇の継続時間ともに違いはみとめられなかった。

PE 収縮ラット大動脈リング標本に対するアルドステロン添加は血管の緊張度に変化を与えなかったが、その後の内皮依存性弛緩反応を有意に増強した。また内皮除去リング標本の内皮非依存性弛緩反応は、アルドステロンの有無で変化はみとめなかった。

これらのアルドステロンによる血管弛緩性の効果は、エプレレノンまたは PI3K 阻害薬の添加により阻害された。

結論

アルドステロンは慢性的には内皮機能を低下させるが、急性的には少なくとも MR、PI3K 阻害薬に感受性のある経路を介して、アゴニスト刺激による NO 産生を増強する。この NO 産生の増強はアルドステロンによる [Ca²⁺]_i の変化では

なく、eNOS のカルシウム感受性の亢進が関与している。この作用の生理的意義は不明であるが、局所での急性の血行動態にアルドステロンの関与が示唆される。

