

モルモット気管平滑筋におけるエンドセリン-1 誘発性弛緩反応

— アナフィラキシー反応後の気管切片を用いての検討 —

筑波大学臨床医学系呼吸器内科

早乙女幹朗 二宮浩樹 野村明広
大瀬寛高 遠藤健夫 長谷川鎮雄

Department of Pharmaceutical Sciences, Wayne State University, Michigan, USA

内田義之

エンドセリン-1は、極めて強力なモルモット気管平滑筋収縮物質として知られているが、その収縮作用にはいくつかの化学伝達物質の介在が推定されている。今回我々は、卵白アルブミンをもちいて能動感作したモルモットの気管平滑筋に *in vitro* でアナフィラキシー反応を惹起させ、その後にエンドセリン-1を作用させると一過性の弛緩反応とそれに引き続く収縮反応を生じることを明らかにした。10⁻⁹M のエンドセリン-1に対するこの弛緩反応の強さは2×10⁻⁵M のイソプロテレノールによる最大弛緩の16.0±1.3%であり、収縮に転じるまでの時間は7.2±0.7分であった。インドメタシン (10⁻⁶M) の存在下でもこの弛緩反応は影響を受けなかったことから、弛緩性のプロスタグランジンの関与は否定的である。また、気管の上皮を機械的に剝離しても弛緩反応は減弱せず、むしろ増強を示したことから、この反応には上皮以外の組織から産生される弛緩性の因子が関与しているものと考えられた。

Key words: anaphylaxis — endothelin-1 — guinea pig trachea — relaxation

緒言

エンドセリン-1(以下 ET-1)は、1988年柳沢らによってブタ大動脈内皮細胞培養上清から分離、同定された強力な血管平滑筋収縮活性を有するペプチドであり、21個のアミノ酸が2カ所のジスルフィド結合で2つの環を形成する特異な構造を有している¹⁾。ET-1の生体内での作用については未だ不明の部分が多いが、血管平滑筋収縮作用の他に気道²⁾、子宮³⁾、膀胱⁴⁾などに対する強力な平滑筋収縮作用、心筋への陽性変力作用⁵⁾、レニン分泌抑制⁶⁾、心房性ナトリウム利尿ペプチド放出促進作用⁷⁾等々、多彩な生理活性作用が知られている。ET-1は複数の哺乳類で同一の構造をもつペプチドとして見いだされているが、類似のペプチドとして ET-2 および 3 がいくつかの哺乳類に共通に知られている⁸⁾。さらに、爬虫類ではクサリヘビ科のあるヘビがもつ蛇毒であるサラフォトキシンが極めて近い構造を有していること⁹⁾、下位の脊椎動物から無脊椎動物にい

たるまで類似構造のペプチドが発見されていること¹⁰⁾¹¹⁾などから、動物界においてかなり根源的な役割をなす物質であろうと想像されている。ラット胎児の諸臓器における ET-1 の mRNA 発現の検討の結果、肺、とくに細気管支の上皮は腸管や髄膜とともに特に ET-1 産生量の多い臓器であることが判明しており¹²⁾、肺に多くの ET-1 結合部位が存在することも確認されている^{13)–15)}。我々はこれまで、ET-1 の肺における作用について様々な角度から検討を進めてきたが、その結果、ET-1 はこれまで知られている物質の中で最も強い気道平滑筋収縮活性を有していること²⁾、この活性が種々の化学伝達物質を介したものである可能性が高いこと¹⁶⁾、ヒトにおける気管支喘息の病態に ET-1 が関わっている可能性があること¹⁷⁾などが明らかとなってきた。ET-1 の肺における生理的、病態生理学的作用については多くの報告がなされてきているが、気管支平滑筋における ET-1 の作用メカニズムについてはいまだ明らかでない部分が多い。ET-1 誘発性の気管支平滑筋収縮に関しては、プロスタノイドの関与^{16)18)–20)}、細胞内カルシウムの動員²¹⁾などが報告されているものの、その全容の解明には更に多くの検討が必要である。今回我々は、肥満細胞から放出される種々の化学伝達

Received: July 1, 1991

Accepted: September 3, 1991

Abbreviations: ET endothelin; OA ovalbumin; PG prostaglandin

物質の影響を除外して ET-1 の作用を検討する目的で、あらかじめ卵白アルブミンで感作したモルモットの気管平滑筋に *in vitro* でアナフィラキシー反応を惹起させる系を用い、これを洗浄した後に ET-1 を作用させたところ、収縮に先立って一過性の弛緩反応を生じることを明らかにしたのでここに報告する。

方 法

1) アルブミン感作モルモットの作成

体重約 300g の Hartley 系雌性モルモットを使用した。抗原として粗製卵白アルブミン(和光純薬工業製、以下 OA) を 1mg/ml の濃度で生理食塩水に溶解して使用し、初回免疫として OA 1.0mg を皮下注射、2 週間後に追加免疫として 0.5mg を皮下注射して初回免疫後 4 週間目に実験に用いた。

2) 気管平滑筋標本の作製および薬理的測定系の作製

モルモットは、ペントバルビタール (50mg/kg) 腹腔内投与による麻酔下に開胸し、約 50ml の Krebs-Ringer 液を左心室から灌流し気管を取り出した。気管は膜様部の対側で縦方向に切り開いて気管軟骨と平行に約 2mm 幅で 15 切片に切り分け、3 切片ずつを糸で連結して気管平滑筋標本とした。なお、反応における上皮の作用を明らかにするため、あらかじめ綿棒を用いて上皮を機械的に剥離した切片も作成し、比較検討に用いた。標本は 95%O₂ + 5%CO₂ で飽和した 37°C の Krebs-Ringer 液 5ml を満たしたマグヌス管内に 9.8 mN の初期張力のもとで懸垂し、張力-変位トランスデューサ(日本光電 TB-611T)、増幅器(日本光電 AP-601G)およびペンレコーダ(理科電機 R-54)を用いて等尺性張力測定を行った。切片は約 30 分間の安定化の後に OA 1μg/ml に暴露してアナフィラキシー反応による収縮を惹起させ、洗浄してから各薬剤を作用させて反応を記録した。

3) アナフィラキシー反応後の気管平滑筋標本に対する ET の作用の検討

アナフィラキシー反応後、張力が基線に復して安定化したところで(約 30 分後)、ET-1 (ペプチド研究所) を濃度蓄積的(10⁻¹²~10⁻⁷M)または単一濃度(10⁻⁹M)でマグヌス管内に添加して反応を記録した。また、ET-1 のイソペプチドである ET-2 および ET-3 についても 10⁻⁹M の濃度で同一系にてアッセイした。更に、イン

ドメタシン (Sigma Chemical Company, USA) 10⁻⁶M 存在下および ONO-RS-082 (フォスフォリパーゼ A₂阻害剤, 小野薬品工業) 10⁻⁵M 存在下、さらに、上皮を剥離した状態での ET-1 10⁻⁹M に対する反応も検討した。ET による弛緩反応は基線を 0%, ET 作用後にイソプロテレノール(和光純薬) 2×10⁻⁵M による反応を記録し、これを 100% として各反応の最大値をパーセント表示した。

4) 統計学的評価

実験結果は mean±SEM で表した。統計学的有意差検定には Student's unpaired t-test を用い、*p*<0.05 をもって有意とした。

結 果

1) ET-1 に対する気管切片の反応

アナフィラキシー反応後の気管切片に ET-1 を作用させたときの反応の一例を Fig. 1 に示す。なお、アナフィラキシー反応後に洗浄した切片に再度 OA を作用させても収縮はみられないことから、この操作により肥満細胞などから放出される各種の化学伝達物質の影響は除外し得るものと考えられた。Fig. 1A は 10⁻⁹M 単一濃度の ET-1 に対する反応であるが、ET-1 添加により速やかな弛緩反応が惹起され、弛緩の最大値は 2×10⁻⁵M のイソプロテレノールによる弛緩の 16.0±1.3% であった。また、弛緩反応は開始後 7.2±0.7 分後には緩やかな収縮反応に転じ、基線を越える張力に達することが観察された。一方、濃度蓄積的に ET-1 を添加した場合、Fig. 1B に示すように 3×10⁻¹¹M から弛緩反応が観察され、10⁻⁸M 以上では収縮反応が優勢となるパターンを示した。

なお、他の気道平滑筋収縮物質であるヒスタミン、アセチルコリン、ニューロキニン A、ロイコトリエン D₄ についても同一系で検討したが、弛緩は観察されず収縮反応のみが観察された。また、卵白アルブミン感作のみで *in vitro* のアナフィラキシー反応を惹起させなかったモルモット気管平滑筋については、ET-1 を作用させても収縮反応のみが引き起こされた。

2) ET ファミリー (ET-1, ET-2 および ET-3) における反応の検討

ET-1 およびそのイソペプチドである ET-2, ET-3 を 10⁻⁹M の濃度で作用させたときの反応を Fig. 2 に示す。ET-1 は 2×10⁻⁵M のイソプロテレノールによる弛

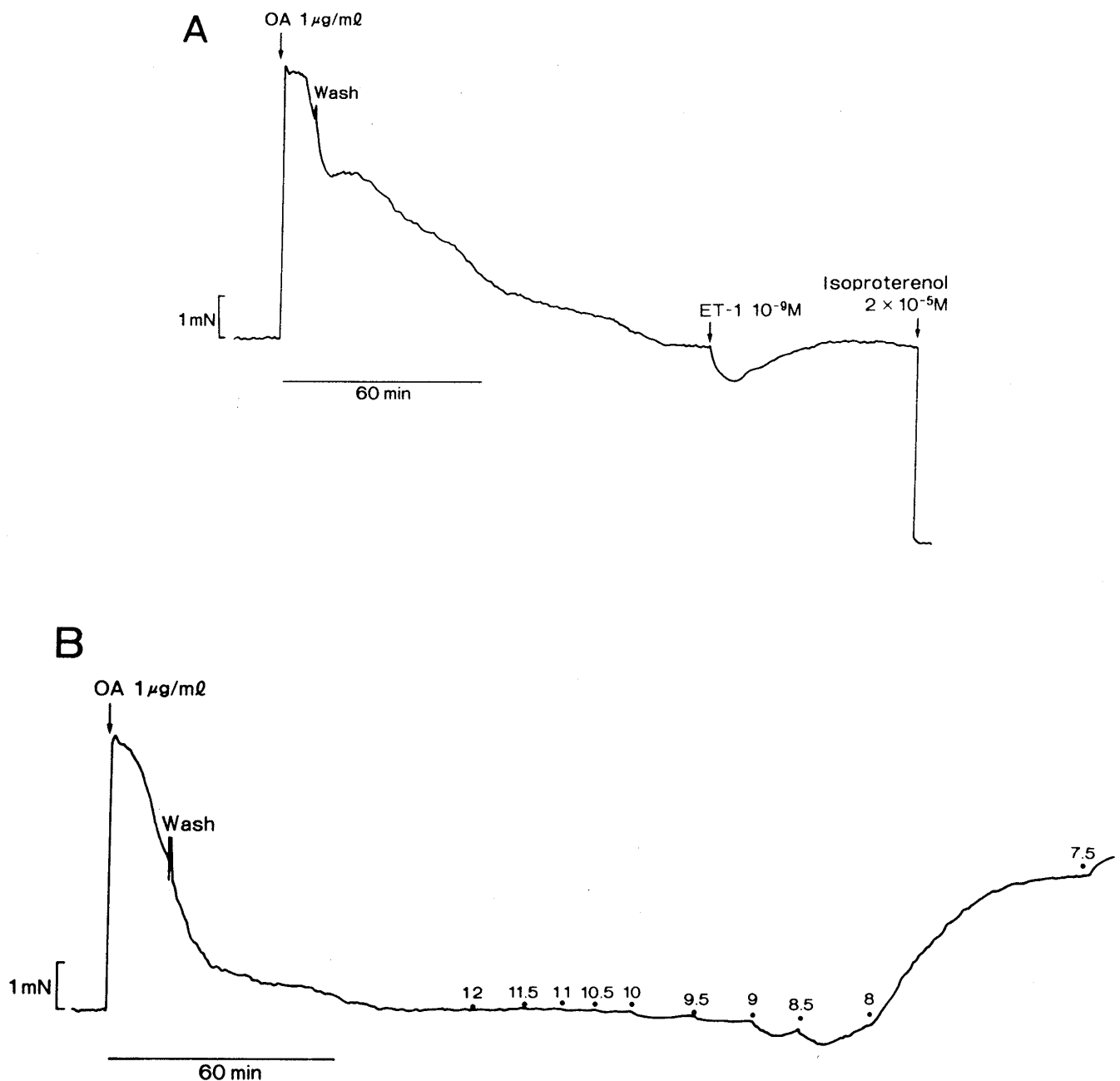


Fig. 1. Effects of endothelin-1 (ET-1) on the guinea pig tracheal strips after an anaphylactic reaction. A: 10^{-9} M of ET-1 was added into the bath after an anaphylactic reaction. B: ET-1 was added into the bath cumulatively after an anaphylactic reaction induced by ovalbumin (OA). Each number represents $-\log [\text{ET-1}]$ (M).

緩反応と比較して $16.0 \pm 1.3\%$, ET-2は $14.9 \pm 2.1\%$ の弛緩反応を引き起こし、二者に統計学的有意差は認められなかった。一方、同一系でET-3を作用させたときにはこの弛緩反応はみられず、弱い収縮のみが観察された。

3) 弛緩反応におけるプロスタグランジンの関与についての検討

この弛緩反応におけるプロスタグランジン (PG) E_2

をはじめとするPG類の関与について検討するため、インドメタシン 10^{-6} M存在下での反応を記録した。弛緩反応は 2×10^{-5} Mのイソプロテレノールによる弛緩の $15.8 \pm 3.5\%$ であり、対照と比較して有意差 ($p < 0.05$) は認められなかった。一方、アラキドン酸合成酵素であるフォスホリパーゼ A_2 を阻害する作用を持つONO RS-082の存在下では弛緩反応は有意に抑制された (Table 1)。

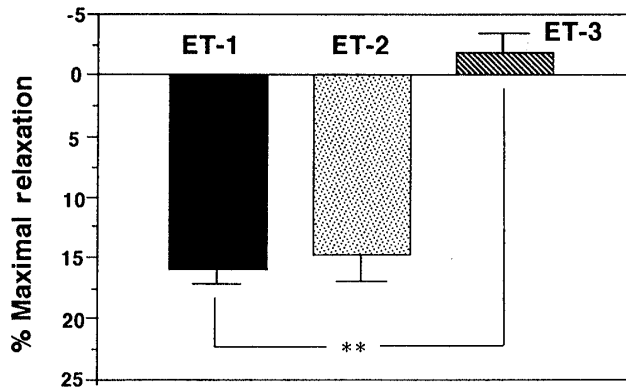


Fig. 2. Effects of ET-1, ET-2 and ET-3 on the guinea pig tracheal strips after an anaphylactic reaction. Columns (■) (▨) and (▧) represent the responses to 10^{-9} M of ET-1, ET-2, and ET-3, respectively. Relaxing responses are expressed as the percentages of maximal relaxation induced by 2×10^{-5} M isoproterenol. Data are shown as means $\pm$ S.E.M. **: $p < 0.01$ ($n=9$).

Table 1 Effects of indomethacin and ONO RS-082 (a phospholipase A_2 inhibitor) on ET-1 induced relaxation of guinea pig trachea

	% Maximal relaxation
Control	16.0 ± 1.3 ($n=16$)
Indomethacin (10^{-6} M)	15.8 ± 3.5 ($n=6$)
ONO-RS-082 (10^{-5} M)	5.9 ± 2.8 ($n=5$)**

Responses are expressed as the percentages of maximal relaxation induced by 2×10^{-5} M isoproterenol. Values are means $\pm$ S.E.M.

** $p < 0.01$, compared with the control value.

4) 上皮の関与についての検討

機械的に上皮を剥離した場合, Fig. 3 に示すように, ET-1 10^{-9} M による弛緩反応は $29.0 \pm 6.5\%$ と, 有意に増強した. なお, 実験終了後に上皮を剥離した切片について光学顕微鏡下で確認したところ, 標本の上皮は完全に脱落していたが, 平滑筋層には全く損傷は認められなかった.

考 案

今回の実験で我々は, 肥満細胞由来の化学伝達物質の影響を除く目的で感作モルモットを用い, アナフィラキシー反応により肥満細胞を脱顆粒させた後に ET-1 を作用させ, 一過性の弛緩反応が生じることを明

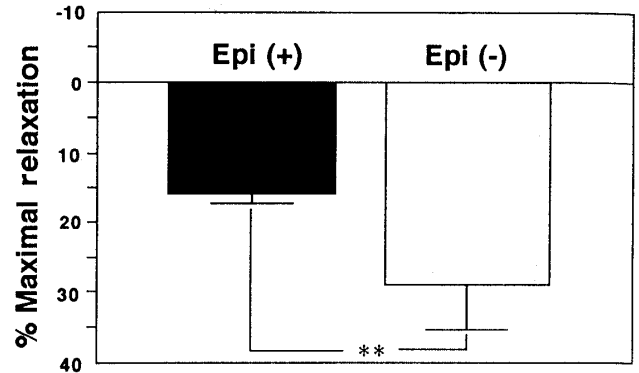


Fig. 3. Effect of epithelium on ET-1 induced relaxation of guinea pig trachea. Epi (+): Intact tracheal strips, Epi (-): Epithelium-denuded tracheal strips. Data are shown as mean $\pm$ S.E.M. **: $p < 0.01$ ($n=6$).

らかにした. この弛緩反応は ET-1 を濃度蓄積的に加えた場合には 10^{-8} M 以上の高濃度にするると殆んどみられず, 収縮反応にとってかわられてしまう性質を持ち, インドメタシンによる影響を全く受けないものである. アナフィラキシー反応を経ないで直接 ET-1 を作用させた時には観察されなかった弛緩反応が出現したことについてはいくつかの可能性が考えられる.

第一の可能性は, 収縮性のメディエーターの枯渇による弛緩反応の出現である. 我々が用いた OA による能動感作法では in vitro でアナフィラキシー反応を起こさせて洗浄した後はもはや OA による収縮が起きないことが確認されており, 抗原抗体反応によって活性化される系に関する収縮性のメディエーター類による気管平滑筋収縮作用はほぼ消失しているものと考えられる. 更に, ET-1 の気道平滑筋収縮活性にヒスタミン, プロスタノイドその他のメディエーター類が関与しているとの報告がいくつかなされている¹⁶⁾¹⁸⁾⁻²⁰⁾ことを考えると, 肥満細胞その他に含まれる収縮性の各種メディエーター類が除かれた状態になったアナフィラキシー後の気管切片が, ET-1 によるメディエーター放出による収縮反応をもはや惹起し得ず, ET-1 に対して元来もっている弱い弛緩性の反応を優勢に現した可能性が推察される.

第二の可能性は, レセプターの状態の変化による反応性の違いである. 最近の研究により, 組織の ET レセプターにはいくつかの種類が存在することが知られており, 肺においては 2 種類のレセプターの存在の報告がある. また, cDNA クローニングにより構造決定された ET レセプターの検討により, これら 2 種類の

レセプターはETファミリーそれぞれのペプチドに対する反応性や親和性が異なっていることが明らかとなっている²³⁾²⁴⁾。今回の弛緩反応はET-1, 2のみで観察され、ET-3では惹起されないことから、ET-1および2に特異的なレセプターを介している可能性がある。また、ETのレセプターはETを作用させることによりダウンレギュレーションを受けることが知られている²⁵⁾。これらのことから考えられる弛緩メカニズムは、OAによる収縮の際にETもしくはETによって活性化される収縮系に関与するレセプターがなんらかの影響を受けて活性を減じ、結果として残った弛緩反応が優勢となることである。モルモット気管平滑筋組織におけるETレセプターの解析はまだこれからであるが、今後の進展により、この経路の可能性についての検討が進むものと考えられる。

ET-1は、血管内皮細胞から産生される血管収縮性のペプチドとして発見された¹⁾が、その後の検討により、血管内皮ばかりでなく気道上皮においても生成され¹²⁾、強力な気道平滑筋収縮活性を有していることが知られてきている。また、気管支喘息患者の気管支洗浄液中に、発作時には緩解時よりも高濃度のET-1様免疫活性が存在する¹⁷⁾ことも報告されており、気管支喘息の病態とのかかわりも注目されている。

ET-1の血管平滑筋組織に対する作用メカニズムの検討から、当初その作用は電位依存型カルシウムチャネルの活性化による細胞外カルシウムの流入によるものと考えられた¹⁾が、その後、各種組織を用いた検討によりET-1作用のメカニズムは高濃度ではイノシトールリン酸系の活性化による細胞内カルシウムの動員、低濃度では細胞外からのカルシウムイオン流入を主とする複雑なものであることが明らかとなってきた²⁶⁾²⁷⁾。さらに、ET-1を各種組織に作用させるとPGE₂、PGI₂などが放出されることが報告されている²⁸⁾が、その生理的意義についてはいまだ不明である。

ET-1の気道平滑筋収縮のメカニズムについても、その一部にアラキドン酸代謝物の介在が推定されている。すなわち、ET-1を作用させることにより平滑筋の近傍の組織から気道平滑筋収縮性のアラキドン酸代謝物(トロンボキサンA₂など)が放出され、それによって二次的に強い気道平滑筋収縮活性が生じるという経路である。アラキドン酸代謝物のなかには一方で気道平滑筋に対して弛緩性に働くもの(PGE₂など)も存在するが、今回の実験系では弛緩反応にインドメタシンによる影響は全くないことが明らかとなっており、弛

緩性のシクロオキシゲナーゼ代謝物の関与は否定的であった。しかしながら、フォスホリパーゼA₂阻害剤であるONO-RS-082により弛緩反応が抑制されたことから、アラキドン酸のリボキシゲナーゼ代謝物を介した弛緩反応である可能性が推察され、さらに検討が必要と思われる。

気道上皮からはいわゆる上皮依存性弛緩因子が各種刺激により放出される²⁹⁾³⁰⁾ことが知られているが、今回報告した反応については、少なくともET-1 10⁻⁹M刺激による弛緩には上皮依存性弛緩因子はかかわっておらず、むしろET-1に対する反応を上皮が減弱していると考えられる結果が得られた。このことから、反応は上皮以外の間質組織等から放出される何らかの因子によるもの、あるいは平滑筋そのもののレセプターにET-1が作用した結果として生じたものと解釈される。今後さらに詳細を検討していく必要があると考えられる。

文 献

- 1) Yanagisawa, M., Kurihara, S., Tomobe, Y., Kobayashi, M., Mitsui, Y., et al.: A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 332, 411-415, 1988.
- 2) Uchida, Y., Ninomiya, H., Saotome, M., Nomura, A., Ohtsuka, M., et al.: Endothelin, a novel vasoconstrictor peptide, as potent bronchoconstrictor. *Eur. J. Pharmacol.* 154, 227-228, 1988.
- 3) Kozuka, M., Ito, T., Hirose, S., Takahashi, K. and Hagiwara, H.: Endothelin induces two types of contractions of rat uterus: Phasic contractions by way of voltage-dependent calcium channels and developing contractions through a second type of calcium channels. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 159, 317-323, 1989.
- 4) Maggi, C.A., Giuliani, S., Patacchini, R., Barbanti, G., Turini, D. and Meli, A.: Contractile responses of the human urinary bladder, renal pelvis and renal artery to endothelins and sarafotoxin S6b. *Gen. Pharmacol.* 21, 247-249, 1990.
- 5) Ishikawa, T., Yamagisawa, M., Kimura, S., Goto, K. and Masaki, T.: Positive inotropic action of novel vasoconstrictor peptide endoth-

- elin on guinea pig atria. *Am. J. Physiol.* 255, H970-973, 1988.
- 6) Matsumura, Y., Nakase, K., Ikegawa, R., Hayaishi, K., Ohyama, T. and Morimoto, S.: The endothelium-derived vasoconstrictor peptide endothelin inhibits renin release in vitro. *Life Sci.* 44, 149-157, 1989.
 - 7) Hu, J.R., Berninger, U.G. and Lang, R.E.: Endothelin stimulates atrial natriuretic peptide (ANP) release from rat atria. *Eur. J. Pharmacol.* 158, 177-178, 1988.
 - 8) Inoue, A., Yanagisawa, M., Kimura, S., Kasuya, Y., Miyauchi, T., et al.: The human endothelin family: Three structurally and pharmacologically distinct isopeptides predicted by three separate genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86, 2863-2867, 1989.
 - 9) Takasaki, C., Yanagisawa, M., Kimura, S., Goto, K. and Masaki, T.: Similarity of endothelin to snake venom toxin. *Nature* 335, 303, 1988.
 - 10) Glaid, A., Cantin, M., Kimura, S., Yanagisawa, M., Masaki, T. and Castellucci, V.F.: Expression of endothelin-like peptide in the nervous system of the marine mollusk aplysia. *J. Vasc. Med. Biol.* 2, 211, 1990. (Suppl)
 - 11) Kasuya, Y., Hasegawa, K., Kobayashi, H. and Uemura, H.: Localization of endothelin-like immunoreactivity in the nervous system of lower vertebrates and invertebrates. *J. Vasc. Med. Biol.* 2, 212, 1990. (Suppl)
 - 12) MacCumber, M.W., Ross, C.A., Glaser, B.M. and Snyder, S.H.: Visualization of mRNAs by in situ hybridization provides evidence for local action. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86, 7285-7289, 1989.
 - 13) Koseki, C., Imai, M., Hirata, Y., Yanagisawa, M. and Masaki, T.: Autoradiographic distribution in rat tissues of binding sites for endothelin; a neuropeptide? *Am. J. Physiol.* 256, R858-R866, 1989.
 - 14) Bilger, G.T., Liard, F., Krogsrud, R., Thibault, D. and Jaramillo, J.: Tissue specificity of endothelin binding sites. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 16, 367-375, 1990.
 - 15) Henry, P.J., Rigby, P.J., Self, G.J., Preuss, J.M. and Goldie, R.G.: Relationship between endothelin-1 binding site densities and constrictor activities in human and animal airway smooth muscle. *Br. J. Pharmacol.* 100, 786-792, 1990.
 - 16) Ninomiya, H., Uchida, Y., Saotome, M., Nomura, A. and Hasegawa, S.: Histamine release from guinea pig mast cells in endothelin-induced tracheal constriction. *Am. Rev. Respir. Dis.* 139(Suppl), A118, 1989.
 - 17) Nomura, A., Uchida, Y., Kameyama, M., Saotome, M., Oki, K. and Hasegawa, S.: Endothelin and bronchial asthma. *Lancet* 2, 747-748, 1989.
 - 18) Payne, A.N. and Whittle, B.J.R.: Potent cyclo-oxygenase-mediated bronchoconstrictor effects of endothelin in the guinea-pig in vivo. *Eur. J. Pharmacol.* 158, 303, 1988.
 - 19) Battistini, B., Filep, J. and Sirois, P.: Potent thromboxane mediated in vitro bronchoconstrictor effect of endothelin in the guinea-pig. *Eur. J. Pharmacol.* 178, 141-142, 1990.
 - 20) Schmacher, W.A., Steinbacher, T.E., Allen, G. T. and Ogletree, M.L.: Role of thromboxane receptor activation in the bronchospastic response to endothelin. *Prostaglandins* 40, 71-79, 1990.
 - 21) Sakata, K., Ozaki, H., Kwon, C. and Karaki, H.: Effects of endothelin on the mechanical activity and cytosolic calcium levels of various types of smooth muscle. *Br. J. Pharmacol.* 98, 483-492, 1989.
 - 22) Masuda, Y., Miyazaki, H., Kondoh, M., Watanabe, H., Yanagisawa, M., et al.: Two different forms of endothelin receptors in rat lung. *FEBS Lett.* 257, 208-210, 1989.
 - 23) Sakurai, T., Yanagisawa, M., Takuwa, Y., Miyazaki, H., Kimura, S., et al.: Cloning of cDNA encoding a non-isopeptide-selective subtype of the endothelin receptor. *Nature* 348, 732-735, 1990.
 - 24) Arai, H., Hori, S., Aramori, I., Ohkubo, H. and Nakanishi, S.: Cloning and expression of a cDNA encoding an endothelin receptor. *Nature* 348, 730-732, 1990.
 - 25) Hirata, Y., Fukuda, Y., Yoshimi, H., Emori, T., Shichiri, M. and Marumo, F.: Specific receptor for endothelin in cultured rat cardiocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 160, 1438-1444, 1989.
 - 26) Renterghem, C.V., Vigne, P., Barhanin, J., Schmid-Alliana, A., Frelin, C. and Lazdunski, M.: Molecular mechanism of action of the vasoconstrictor peptide endothelin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 157, 977-985, 1988.
 - 27) Kasuya, Y., Takuwa, Y., Yanagisawa, M., Kimura, S., Goto, K. and Masaki, T.: Endothelin-1 induces vasoconstriction through

- two functionally distinct pathways in porcine coronary artery: Contribution of phosphoinositide turnover. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 161, 1049-1055, 1989.
- 28) DeNucci, G., Thomas, R., D'Orleans, J.P., Antunes, E., Walder, C., et al.: Pressor effects of circulating endothelin are limited by its removal in the pulmonary circulation and by the release of prostacyclin and endothelium-derived relaxing factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85, 9797-9800, 1988.
- 29) Flavahan, N.A., Aarhus, L.L., Rimelle, T.J. and Vanhoutte, P.M.: The respiratory epithelium inhibits bronchial smooth muscle tone. *J. Appl. Physiol.* 58, 834-838, 1985.
- 30) Hay, D.W.P., Farmer, S.G., Raeburn, D., Robinson, V.A., Fleming, W.W. and Fedan, J.S.: Airway epithelium modulates the reactivity of guinea-pig respiratory smooth muscle. *Eur. J. Pharmacol.* 129, 11-18, 1986.

ENDOTHELIN-1 INDUCED RELAXATION OF GUINEA PIG TRACHEA AFTER AN ANAPHYLACTIC REACTION

Mikio Saotome, Hiroki Ninomiya, Akihiro Nomura, Hirotaka Ohse, Takeo Endoh and Shizuo Hasegawa
Division of Pulmonary Medicine, Institute of Clinical Medicine, University of Tsukuba, Ibaraki, Japan

Yoshiyuki Uchida

Department of Pharmaceutical Sciences, Wayne State University, Michigan, USA

Endothelin-1 (ET-1), one of the most potent constrictors of airway smooth muscles, is reported to act on such inflammatory cells as mast cells and release several chemical mediators. We observed a transient relaxation response to ET-1 after an anaphylactic constriction of guinea pig tracheal smooth muscle. The guinea pig was actively sensitized with ovalbumin, and the tracheal strip was challenged with ovalbumin in vitro. ET-1 induced a transient relaxation followed by a constriction of the tracheal strip. The potency of the relaxation induced by 10^{-9} M of ET-1 was $16.0 \pm 1.3\%$, compared to the response to isoproterenol (2×10^{-5} M), and the duration of the relaxation was 7.2 ± 0.7 minutes. Indomethacin (10^{-6} M) had no effect on the response, indicated that prostaglandins have no relation. Mechanical denudation of the tracheal epithelium did not reduce the relaxation, but rather augmented it.

These results indicate that ET-1 induces a relaxation, associated with a relaxation factor from non-epithelial tissue.