

老化血管に対するポリフェノール含有赤ワイン凍結乾燥物の 内皮依存性弛緩作用とその機序 : 若齢血管との比較

利 美賀子, 石幡 明*, 會田智美, 下田智子, 片野由美

山形大学医学部看護学科臨床看護学講座

*山形大学医学部器官機能統御学講座腫瘍分子医科学分野

(平成16年10月13日受理)

要 旨

〔目的〕我が国では高齢者人口の増加に加えて、動物性脂肪摂取量の増加など食生活の欧米化に伴い、動脈硬化等の循環器疾患が増加している。しかし、フランスでは動物性脂肪摂取量が多いにも関わらず、冠動脈疾患等による死亡率は他国に比べ少ない。フランスでは赤ワイン摂取量が多いことから、赤ワインに含まれるポリフェノール化合物 (Red Wine Polyphenolic Compounds; RWPC) が循環器疾患予防改善効果をもたらすと示唆されている。しかし、このようなRWPCの循環改善効果に対して、RWPCがどのようにして血管の収縮弛緩を調節しているのかは未だ十分に明らかにされていない。特に、虚血性心疾患の罹患率が増加する高齢者に対しても、RWPCが循環機能改善効果を発揮できるか否かは不明である。そこで本研究では、RWPCによる血管弛緩作用およびその作用機序、さらに加齢によってRWPCの血管に対する作用がどう変化するかを、ラット摘出胸部大動脈を用いて検討した。

〔方法〕実験には若齢 (2~3ヶ月齢) および老齢 (27ヶ月齢) の雄性 Fischer 344 ラットを用いた。内皮細胞無傷標本および内皮細胞除去標本を、混合ガスを通気した Krebs-Henseleit 液で満たした organ bath に懸垂し、その等尺性張力を測定した。

〔結果〕RWPCは、内皮細胞無傷標本において濃度依存性に強い血管弛緩反応を惹起した。この血管弛緩反応は、若齢および老齢ラットの双方で同程度認められた。しかし、この弛緩反応は、いずれの群でも内皮細胞の除去により消失した。RWPCによる若齢ラットの血管弛緩反応は、NO合成酵素阻害薬であるN^G-nitro-L-arginine (L-NNA, 100 μM)、cyclooxygenase阻害薬であるdiclofenac (10 μM) および30 mM KClによって有意に抑制された。老齢では、L-NNAおよびdiclofenacによる抑制の程度は若齢より弱く、30 mM KClで最も有意に抑制された。

〔結論〕RWPCは、老化ラットにおいても若齢ラットと同様に、内皮細胞依存性に血管を弛緩させた。その弛緩反応には、若齢ラットではNO、プロスタサイクリンおよび過分極因子 (EDHF) が関与しているのに対して、老齢ラットでは主としてEDHFが関与

していることが示唆された。

キーワード: RWPC、内皮細胞、NO、過分極因子、加齢

緒 言

近年、我が国では食生活の欧米化に伴い、高脂血症や糖尿病などの生活習慣病が増加している¹⁾。さらに、高齢者人口の増加により動脈硬化や虚血性心疾患などの循環器疾患による死亡率が増加している¹⁾。一般に、動物性脂肪を多く摂りすぎると、高脂血症や動脈硬化が進行し、やがては虚血性心疾患などの循環器疾患の発症につながると言われている。ところが、フランスでは動物性脂肪を多く含む食事を摂取しているにも関わらず、冠動脈疾患等による死亡率は他の欧米諸国に比べ少ないことが報告されている²⁾³⁾。このような疫学的事実は“French Paradox”とよばれている。フランスでは赤ワイン摂取量が多いため、赤ワインに含まれるポリフェノール化合物 (Red Wine Polyphenolic Compounds; RWPC) が何らかの形で冠疾患の予防に関与することが推察されている⁴⁾。その後の研究により、RWPCにはLDL減少作用³⁾、抗酸化作用⁵⁾、血小板凝集抑制作用⁶⁾、およびET-1合成抑制作用⁷⁾が認められたことから、これらが循環器疾患の予防効果をもたらすと示唆されている²⁾³⁾⁶⁾⁷⁾。しかし、このようなRWPCの循環改善効果に対して、RWPCの血管に対する作用がどのように寄与しているのか、また、RWPCの血管に対する作用機序も未だ十分には明らかにされていない。特に、虚血性心疾患の罹患率が増加する高齢者に対しても、RWPCが循環機能改善効果を発揮できるか否かは不明である。そこで本研究では、RWPCによる血管弛緩作用およびその作用機序、加齢によってRWPCの血管に対する作用がどう変化するかを、ラット摘出胸部大動脈を用いて検討した。

材料と方法

実験には若齢(2~3ヶ月齢)および老齢(27ヶ月齢)の雄性Fischer 344ラットを用いた。実験は山形大学医学部動物実験指針⁸⁾に基づいて行った。ラットをエーテル麻酔下で頸椎脱臼後、速やかに開胸し、胸部大動脈を摘出した。摘出した大動脈を、冷却したKrebs-Henseleit液に浸し、血液をよく洗い流した後、血管に付着した雑組織等を除去し、幅約2~3mm、直径約1~1.5mmのリング標本作製した。標本は混合ガス(95%O₂, 5%CO₂)を通気したKrebs-Henseleit液(37±0.1℃)を満たした10mlのorgan bathに懸垂し、その収縮張力を等尺性張力トランスデューサー(7T-15-240, オリエンテック, 東京)を用いて測定した(図1)。灌流液の組成(mM)はNaCl 118, KCl 4.7, NaHCO₃ 24.9, MgSO₄ 1.18, KH₂PO₄ 1.18, glucose 11.1, CaCl₂ 1.8, アスコルビン酸 0.057であった。標本をorgan bathに懸垂した後、約0.8gの静止張力を負荷し、約1時間標本を安定させた。この間15分間隔で新鮮な灌流液と交換した。KClによる血管収縮反応は66.7mM(高濃度K⁺)でほぼ最大収縮反応に達した。なお、高濃度K⁺の投与は次のように行った。あらかじめNaClをKClと置換した37℃の灌流液、即ちNaCl 56mM, KCl 66.7mMを含むKrebs-Henseleit液に混合ガスを通気しておき、通常の灌流液と速やかに交換した。本実験では、血管内皮細胞が無傷の標本と、血管の内面をコッヘル先端の凹凸部で軽く擦って内皮細胞を除去した標本を用いた。その際、内皮細胞の有無の確認のため、phenylephrine (10⁻⁷M)で標本を収縮させた後にアセチルコリン(1 μM)

赤ワインポリフェノールによる血管弛緩反応の加齢変化

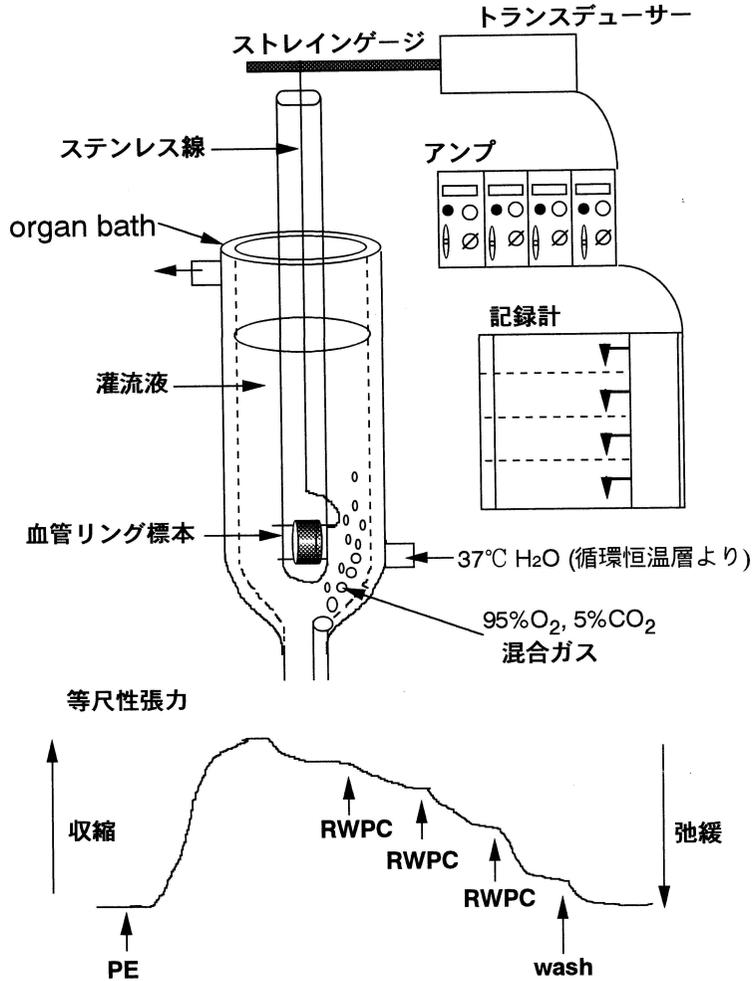


図1 . organ bath および血管リング標本の等尺性張力測定装置の模式図

を投与し、50%以上の弛緩反応が見られたものを内皮細胞無傷標本、弛緩反応が見られなかったものを内皮細胞除去標本とした。

実験にはNO合成酵素阻害薬としてN^G-nitro-L-arginine (L-NNA, 100 μM)、cyclooxygenase阻害薬としてdiclofenac (10 μM)、過分極因子阻害として30 mM KClを用いた。これらの阻害薬はphenylephrine (PE, 10⁻⁷ M)を投与する15分前に投与した。

RWPCの調製は、赤ワインを凍結乾燥し、得られた製品を蒸留水で1 g/mlに溶解したもの

を原液とし、これを生理食塩液で希釈したものを用いた。RWPCの濃度反応曲線は、phenylephrine (10⁻⁷ M)で標本を前収縮させた後にRWPCを累積投与して求めた。phenylephrineによる血管収縮反応を100%とし、それぞれの血管標本におけるRWPCによる血管弛緩反応の大きさを求めた。

使用薬物

赤ワイン (ADRIEN BERTEA VIN DE TEBLE DE FRANCE ROUGE, フランス)、phenylephrine (Sigma Chemical Co.St.Louis,

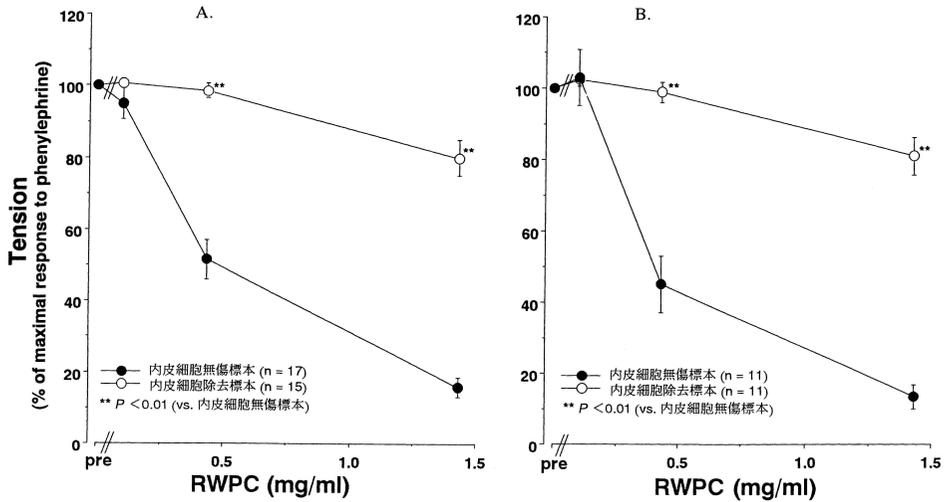


図2. 内皮細胞無傷および内皮細胞除去標本におけるRWPCの血管弛緩作用
 グラフの縦軸はphenylephrine 10^{-7} Mによる最大収縮反応を100%として表し、横軸はRWPCの濃度を表している。
 A: 若齢ラット、B: 老齢ラット。
 ●; 内皮細胞無傷標本、○; 内皮細胞除去標本。
 ()内は実験例数。** $P < 0.01$ (vs. 内皮細胞無傷標本)

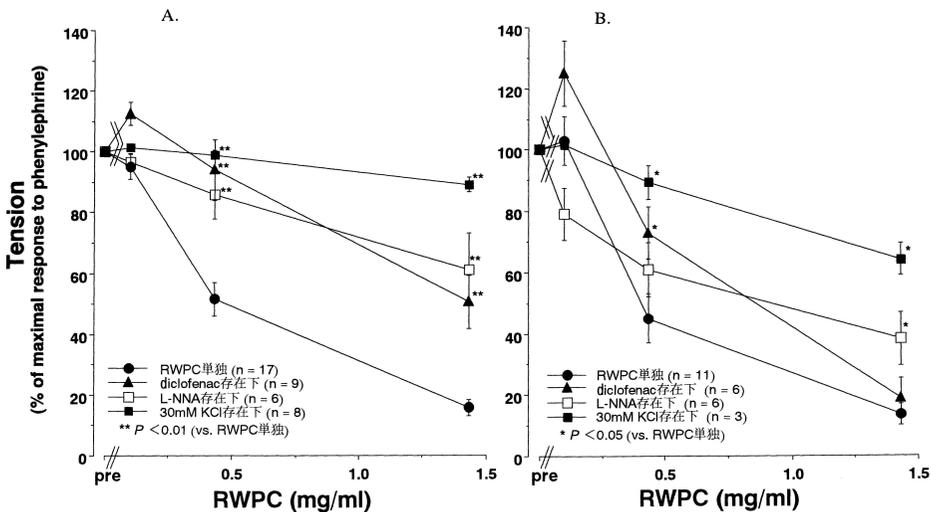


図3. 内皮細胞無傷標本におけるRWPCの血管弛緩作用~diclofenac, L-NNA, 30mM KClの影響~
 グラフの縦軸はphenylephrine 10^{-7} Mによる最大収縮反応を100%として表し、横軸はRWPCの濃度を表している。
 A: 若齢ラット、B: 老齢ラット。
 ●; RWPCを単独投与したもの、▲; diclofenac存在下でRWPCを投与したもの、
 □; L-NNA存在下でRWPCを投与したもの、■; 30mM KCl存在下でRWPCを投与したもの。
 diclofenac (10 μ M)、L-NNA (100 μ M) および 30mM KCl は phenylephrine 10^{-7} M を投与する15分前に投与した。
 ()内は実験例数。* $P < 0.05$ 、** $P < 0.01$ (vs. RWPC 単独投与)

MO, USA)、塩化アセチルコリン(第一製薬,東京)、L-NNA (Sigma Chemical Co.St.Louis, MO, USA)、diclofenac (Sigma Chemical Co. St.Louis, MO, USA)は、生理食塩液を用いて溶解希釈した。

30mM KClの組成(mM)は、NaCl 92.7、KCl 30、NaHCO₃ 24.9、MgSO₄ 1.18、KH₂PO₄ 1.18、glucose 11.1、CaCl₂ 1.8、アスコルビン酸 0.057であった。

統計処理方法

得られたデータは、正規分布の検定を行い、等分散の場合は対応のないStudent's *t*-test、等分散でない場合はWelch's *t*-testを用いて検定した。正規分布でない場合は、Mann-Whitney's U testを用いて検定した。それぞれの値はすべて平均値±標準誤差で表現した。危険率 $P < 0.05$ をもって有意とした。

結 果

1. RWPCによる血管弛緩作用に対する内皮細胞の関与

RWPCによって惹起される血管弛緩作用に内皮細胞が関与しているか否かを、若齢(図2A)および老齢ラット(図2B)の内皮細胞無傷標本と内皮細胞除去標本を用いて検討した。その結果、若齢および老齢ラットの双方で、内皮細胞存在下で濃度依存性に強い血管弛緩反応が認められた。また、内皮細胞存在下におけるRWPCの血管弛緩作用に加齢差は認められず、老齢ラットでも若齢と同程度の弛緩反応を示した。しかし、RWPCによって惹起される血管弛緩作用は、若齢および老齢いずれにおいても内皮細胞の除去により消失した。

2. RWPCによる血管弛緩作用に対する一酸化窒素(NO)の関与

RWPCによって惹起される血管弛緩作用に、内皮細胞由来のNOが関与しているか否かを、NO合成酵素阻害薬であるL-NNA(100 μ M)を用いて検討した。若齢ラットにおける

RWPCの血管弛緩反応は、L-NNA存在下で有意に抑制された(図3A)。一方、老齢ラットにおけるRWPCの血管弛緩反応もまたL-NNAによって抑制されたが、その抑制の程度は若齢に比べ弱く、1.4mg/mlのRWPCによる弛緩作用を約40%のみ抑制した(図3B)。このように、RWPCが惹起する血管弛緩反応に対して、内皮細胞由来NOの関与の程度は、若齢と老齢で異なる結果が示された。

3. RWPCによる血管弛緩作用に対する過分極因子(EDHF)の関与

RWPCによって惹起される血管弛緩作用に、内皮細胞由来の過分極因子(EDHF)が関与しているか否かを、30mM KClを用いて検討した。若齢ラットにおけるRWPCの血管弛緩反応は、30mM KClによりほぼ完全に抑制された(図3A)。また、老齢ラットにおいてもRWPCの血管弛緩反応は、30mM KClにより約70%抑制された(図3B)。

4. RWPCによる血管弛緩作用に対するプロスタサイクリン(PGI₂)の関与

RWPCによって惹起される血管弛緩作用に、血管拡張性プロスタグランジンの一つであるプロスタサイクリン(PGI₂)が関与しているか否かを、diclofenac(10 μ M)を用いて検討した。若齢ラットでは、RWPCによる血管弛緩反応はdiclofenacで有意に抑制された(図3A)。一方、老齢ラットではdiclofenacによる抑制の程度は弱く、RWPC 1.4mg/mlにおいてはほとんど抑制されなかった(図3B)。このことから、RWPCによる血管弛緩反応に対して、PGI₂の関与の程度は、若齢と老齢で異なる結果が示された。

考 察

本実験では、RWPCの血管に対する作用および作用機序、さらにRWPCの作用が加齢によってどう変化するかを、若齢および老齢ラットの胸部大動脈を用いて比較検討した。これまでの

研究は、RWPCの血管に対する作用とその機序について若齢ラットで検討した研究のみであった。本研究では、老齢ラットにおいてもRWPCの血管に対する弛緩作用が存在すること、その作用機序は若齢と老齢ラットでは異なることを初めて証明した。本研究において、RWPCは若齢および老齢ラットの双方で、内皮細胞無傷標本に対して濃度依存性に強い血管弛緩反応を惹起した(図2A, B)。また、老齢ラットでも若齢と同等の血管弛緩反応を認め、その反応に加齢変化は認められなかった。さらに、その弛緩作用は内皮細胞除去により消失した。この結果は、RWPCによって惹起される血管弛緩反応が内皮細胞を介していることを示しており、Andriambelosenら⁹⁾のRWPCによる血管弛緩反応が内皮機能の存在に依存している⁹⁾という報告と一致している。血管内皮細胞は、血圧や血流の変化に加え種々の刺激物質に曝露されたとき、それらに対して血管弛緩因子や血管収縮因子など様々な血管作動性物質を産生し遊離することにより、血管の恒常性を維持するうえで重要な役割を果たしている。本研究結果から、RWPCは血管内皮細胞に作用して血管平滑筋を弛緩させることが明らかになったが、血管内皮細胞を介する血管弛緩の作用機序には、内皮細胞由来のNO、過分極因子(EDHF)、プロスタサイクリン(PGI₂)の経路があげられる。本研究では、RWPCによって惹起される血管弛緩反応にこれらの弛緩因子が関与しているか否かを、NO合成酵素阻害薬であるL-NNA、cyclooxygenase阻害薬であるdiclofenac、および過分極因子阻害として30mM KClを用いて検討し、さらに若齢と老齢ラットでこれらの作用機序がどう異なるかを比較検討した。その結果、若齢ラットにおいては、これらの阻害薬のいずれもがRWPCの血管弛緩反応を有意に抑制したのに対して、老齢ラットでは、L-NNAおよびdiclofenacであまり抑制されず、30mM KClで最も強く抑制された。この結果は、若齢ラットではRWPCの血管弛緩反応にNO、

表1. 赤ワインの凍結乾燥によって抽出されるポリフェノール化合物の例

ポリフェノール化合物	含有量 (mg/ℓ)
Gallic acid	46.7
Catechin	26.4
Epicatechin	69.2
Quercetin	6.2

単位 (mg/ℓ): 赤ワイン 1 ℓ に含まれるポリフェノールの量として示した。(文献¹⁹⁾より引用)

EDHF および PGI₂ の各々が関与していること、一方、老齢ラットでは主として EDHF が関与していることを示唆している。またこの結果は、NOの産生遊離機能が若齢ラットに比べ老齢ラットで低下していることを示唆しており、Katanoら^{10),11),12)}の報告と一致している。Lamontagneら¹³⁾によると、NO経路が障害を受けた際には、PGI₂が血管拡張作用に対して重要な役割を果たすとされる。しかしながら本研究では、老齢ラットにおけるRWPCの血管弛緩反応に対して、cyclooxygenase阻害薬による抑制が弱かったことから、老齢ラットにおけるRWPCの血管弛緩反応には、NOおよびPGI₂よりもむしろ、EDHFが主に関与していると考えられる。

若齢ラットの内皮細胞無傷標本において、NO合成酵素阻害薬であるL-NNA存在下にRWPCを投与した場合、RWPC単独投与に比べ血管弛緩反応は有意に抑制された(図3A)。この結果は、若齢ラットにおけるRWPCの血管弛緩作用にはNOの産生遊離機能が重要な役割を果たしていることを示唆している。最近、培養内皮細胞において、RWPCが細胞外からのCa²⁺流入および細胞内Ca²⁺ storeからのCa²⁺遊離を引き起こし、細胞内Ca²⁺濃度を増加させ、これがNO合成酵素を活性化しNOの産生遊離を促進することが明らかになった¹⁴⁾。産生されたNOは、cGMPの産生を促進し血管平滑筋を弛緩させる¹⁵⁾。本実験においても、若齢ラット摘出血管におけるRWPCの血管弛緩反応には、

赤ワインポリフェノールによる血管弛緩反応の加齢変化

内皮細胞由来の NO によるこれらの一連の経路が関与している可能性が考えられる。さらに、30 mM KCl を用いることにより過分極因子の影響を取り除くと、RWPC の血管弛緩反応がほぼ完全に抑制されたことから、若齢ラットの RWPC による血管弛緩反応には EDHF も関与していることが示唆された。これは、RWPC によるブタ冠動脈の弛緩反応メカニズム¹⁶⁾と一致している。また、若齢ラットでは cyclooxygenase 阻害薬である diclofenac 存在下においても RWPC の血管弛緩反応が有意に抑制された(図 3A)。血小板においても、RWPC が NO および PGI₂ を増加させることがごく最近証明された¹⁷⁾。これらの結果から、若齢ラットの RWPC による血管弛緩反応には内皮細胞由来の NO や EDHF に加えて PGI₂ も関与していると考えられた。

Red wine には、quercetin、tannic acid など様々なポリフェノール化合物が含まれており、これらの物質はヒト、ラットなどにおいて血管弛緩作用を惹起することが報告されている^{15),18)}。また、ワインに使用されるぶどうの種類や、熟成に使われる樽によってもポリフェノール化合物の含有量は異なる¹⁸⁾。赤ワインを凍結乾燥して抽出されるポリフェノール化合物には、主として gallic acid、catechin、epicatechin、quercetin がある(表 1)⁹⁾。また、その他のポリフェノール化合物として、resveratrol、delphinidin、anthocyanins などがある²⁰⁾。本実験で用いた赤ワイン凍結乾燥物にもこのようなポリフェノール成分が含まれると考えられるが、本研究では赤ワイン凍結乾燥物の成分分析を試みておらず、本研究で用いた赤ワイン中にどのポリフェノールがどの程度含まれているのか、およびポリフェノールのどの物質が血管弛緩に関わっているのかは明らかにできなかった。今後は赤ワイン凍結乾燥物中の成分分析を行い、若齢および老齢ラットに対しても血管弛緩反応を惹起する物質を同定することが課題である。

本研究は、文部科学省研究補助金(基盤 C, 15590220)によって行われたものである。

文 献

- 1 . 国民衛生の動向 . 厚生統計協会 ; 2004 年第 51 巻第 9 号 : 35-37, 49-50, 145-147
- 2 . Renaud S, de Lorgeril M: Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *The Lancet* 1992; 339: 1523-1526
- 3 . Frankel EN, Kanner J, German JB, Parks E, Kinsella JE: Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine. *The Lancet* 1993; 341: 454-457
- 4 . St Leger AS, Cochrane AL, Moore F: Factors associated with cardiac mortality in developed countries with particular reference to the consumption of wine. *The Lancet* 1979; 313: 1017-1020
- 5 . Whitehead TP, Robinson D, Allaway S, Syms J, Hale A: Effect of red wine ingestion on the antioxidant capacity of serum. *Clin. Chem.* 1995; 41: 32-35
- 6 . Demrow HS, Slane PR, Folts JD: Administration of wine and grape juice inhibits in vivo platelet activity and thrombosis in stenosed canine coronary arteries. *Circulation* 1995; 91: 1182-1188
- 7 . Corder R, Douthwaite JA, Lees DM, Khan NQ, Santos A, Wood EG et al.: Endothelin-1 synthesis reduced by red wine. *Nature* 2001; 414: 863-864
- 8 . 「山形大学医学部動物実験指針」の解説 . 山形大学医学部 ; 平成 13 年 1 月 : 1-2
- 9 . Andriambeloson E, Kleschyov AL, Muller B, Beretz A, Stoclet JC, Andriantsitohaina R: Nitric oxide production and endothelium-dependent vasorelaxation induced by wine polyphenols in rat aorta. *Br J Pharmacol* 1997; 120: 1053-1058
- 10 . Katano Y, Ishihata A, Morinobu S, Endoh M: Modification by aging of the coronary vascular response to endothelin-1 in the rat isolated

- perfused heart. *Naunyn-Schmiedberg's Arch Pharmacol* 1993; 348: 82-87
- 11 . Katano Y, Ishihata A, Endoh M: Detrimental adaptation of cardiovascular receptor-mediated regulation with age: Changes in cardiac and coronary vascular responses to endothelin-1 in isolated perfused rat heart. In: Nagano M, Takeda N, Dhalla NS, eds. *The Adapted Heart*. New York; Raven Press, 1994: 477-490
- 12 . Ishihata A, Katano Y, Nakamura M, Doi K, Tasaki K, Ono A: Differential modulation of nitric oxide and prostacyclin release in senescent rat heart stimulated by angiotensinII. *Eur J Pharmacol* 1999; 382: 19-26
- 13 . Lamontagne D, Koing A, Bassenge E, Busse R: Prostacyclin and nitric oxide contribute to the vasodilator action of acetylcholine and bradykinin in the intact rabbit coronary bed. *J Cardiovasc Pharmacol* 1992; 20: 652-657
- 14 . Martin S, Andriambelason E, Takeda K, Andriantsitohaina R: Red wine polyphenols increase calcium in bovine aortic endothelial cells: a basis to elucidate signalling pathways leading to nitric oxide production. *Br J Pharmacol* 2002; 135: 1579-1587
- 15 . Fitzpatrick DF, Hirschfield SL, Coffey RG: Endothelium-dependent vasorelaxing activity of wine and other grape products. *Am J Physiol* 1993; 265: H774-H778
- 16 . Ndiaye M, Chataigneau T, Andriantsitohaina R, Stoclet JC, Schini-Kerth VB: Red wine polyphenols cause endothelium-dependent EDHF-mediated relaxations in porcine coronary arteries via a redox-sensitive mechanism. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 310: 371-377
- 17 . Wollny T, Chabielska E, Malinowska-Zaprzalka M, Nazarko J, Rozmyslowicz-Szerminska W, Buczek W: Effects of Bulgarian red and white wines on primary hemostasis and experimental thrombosis in rats. *Pol J Pharmacol* 2003; 55: 1089-1096
- 18 . Flesch M, Schwarz A, Böhm M: Effects of red and white wine on endothelium-dependent vasorelaxation of rat aorta and human coronary arteries. *Am J Physiol* 1998; 257: H1183-H1190
- 19 . van Golde PH, van der Westelaken M, Bouma BN, van de Wiel A: Characteristics of piraltin, a polyphenol concentrate, produced by freeze-drying of red wine. *Life Sci* 2004; 74: 1159-1166
- 20 . Howard A, Chopra M, Thurnham DI, Strain JJ, Fuhrman B, Aviram M: Red wine consumption and inhibition of LDL oxidation: what are the important components? *Medical Hypotheses* 2002; 59(1): 101-104

Extracts of Red Wine with Polyphenol Compounds Induce Endothelium-Dependent Vascular Relaxation in Aged Rat Aorta

**Mikako Kaga, Akira Ishihata*, Tomomi Aita,
Tomoko Shimoda, Yumi Katano**

Course of Clinical Nursing, Department of Nursing,

**Course of Organ Functions and Controls, Yamagata University School
of Medicine, Yamagata, Japan*

ABSTRACT

[Objective] The vasorelaxing effects of the red wine extracts were studied in rat thoracic aorta.

[Methods] Aortas were isolated from young (2-3 months) and aged (27 months) F344 rats and the ring preparations with or without endothelium were mounted in Krebs-Henseleit solution to measure the developed tension. The polyphenolic substances were added cumulatively after the contraction with phenylephrine.

[Results] Extracts of red wine relaxed the vessels concentration-dependently. These vasorelaxant effects were attenuated by endothelial removal. In young rat, vasorelaxation induced by RWPC was significantly inhibited by L-NNA (100 μ M), diclofenac (10 μ M) and 30mM KCl. In aged rat, the inhibition by L-NNA and diclofenac was less than that of young rat, and 30mM KCl potently decreased the relaxation. However, the vasorelaxant responses were preserved even in aged aorta.

[Conclusion] RWPC induces vascular relaxation endothelium-dependently not only in young rat but also in aged rat. The relaxation was mediated via NO, prostacyclin and EDHF in young aorta, while EDHF may play an important role in aged aorta.

Key words : RWPC, endothelium, NO, EDHF, aging