

総 説

# プロスタノイドの循環器疾患における役割 ～受容体欠損マウスを用いた解析～

結 城 幸 一, 牛 首 文 隆

生理活性脂質であるプロスタノイドは、生体の恒常性維持や様々な疾患の病態形成に係わるオートコイドである。現在、生理的に重要な5種類のプロスタノイドに対し、8種類の受容体が同定されている。これらの受容体は、種々の臓器や組織に発現分布し、それぞれ異なったGタンパク質と共役して多彩なプロスタノイドの作用を仲介している。我々は、各受容体欠損マウスに疾患モデルを適用した解析を行い、循環器疾患の病態形成におけるプロスタノイドの役割を明らかにしてきた。今回、心筋梗塞、圧負荷心肥大、炎症性頻脈、腎血管性高血圧、血管緊張におけるプロスタノイドの役割について紹介したい。

## 1. はじめに

プロスタノイドとは、プロスタグランジン (PG) とトロンボキサン (TX) の総称である。プロスタノイド生合成は、まず様々な刺激に応じて活性化されるホスホリパーゼ A<sub>2</sub> が、膜リン脂質よりアラキドン酸を遊離することに始まる。ついで、律速酵素であるシクロオキシゲナーゼ (COX) と引き続く各プロスタノイド特異的な合成酵素の作用によって、各プロスタノイドが合成される (図1)。循環器系で産生放出されるプロスタノイドには化学的半減期が極めて短いものがあり、また1回の肺循環でほとんどのプロスタノイドが代謝されるため、その生物学的半減期は極めて短い。したがってプロスタノイドは、おもに産生局所で作用し、生体の恒常性維持や疾患の病態形成に働くオートコイドと考えられる。

プロスタノイドの作用は、標的細胞上に存在する各プロスタノイドに特異的な受容体を介して発揮される。現在、PGD<sub>2</sub>、PGE<sub>2</sub>、PGF<sub>2</sub>α、PGI<sub>2</sub>、TXA<sub>2</sub> の受容体として DP、EP、FP、IP、TP が知られており、さらに EP には EP<sub>1</sub>～

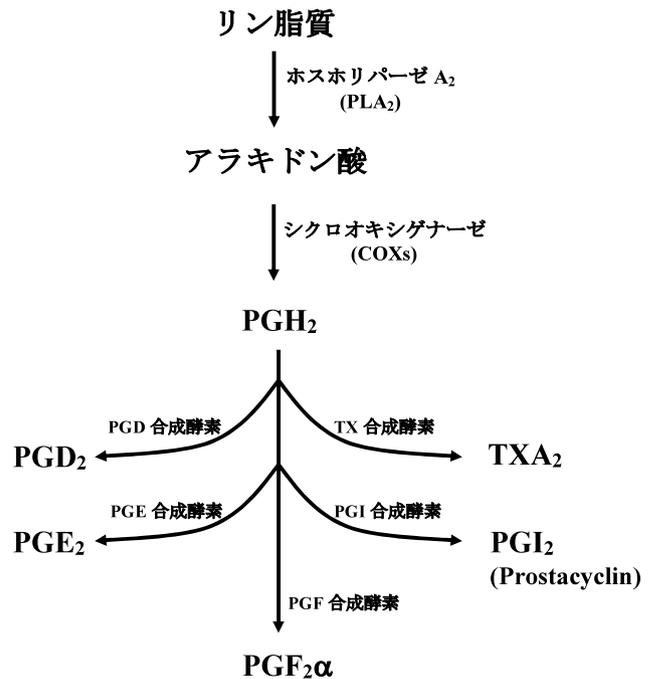


図1 プロスタノイドの生合成経路

細胞が刺激を受けると、ホスホリパーゼ A<sub>2</sub> が活性化され、膜リン脂質よりアラキドン酸が遊離される。ついでシクロオキシゲナーゼによって PGH<sub>2</sub> が合成される。さらに各細胞に存在する各々のプロスタノイドに特異的な合成酵素によって、PGD<sub>2</sub>、PGE<sub>2</sub>、PGF<sub>2</sub>α、PGI<sub>2</sub>、TXA<sub>2</sub> の5種類のプロスタノイドが合成される。

旭川医科大学医学部薬理学講座 (〒078-8510 北海道旭川市緑が丘東 2-1-1-1)

Roles of the prostanoids in the cardiovascular diseases  
Koh-ichi Yuhki and Fumitaka Ushikubi (Department of Pharmacology, Asahikawa Medical College, 2-1-1-1 Midorigaoka Higashi, Asahikawa, 078-8510, Japan)

表1 プロスタノイド受容体とその情報伝達系

タイプ	サブタイプ	G-タンパク質	主要シグナル
DP		Gs	cAMP↑
EP	EP <sub>1</sub>	Gq	Ca <sup>2+</sup> ↑
	EP <sub>2</sub>	Gs	cAMP↑
	EP <sub>3</sub>	Gi	cAMP↓
	EP <sub>4</sub>	Gs	cAMP↑
FP		Gq	Ca <sup>2+</sup> ↑
IP		Gs	cAMP↑
TP		Gq	Ca <sup>2+</sup> ↑

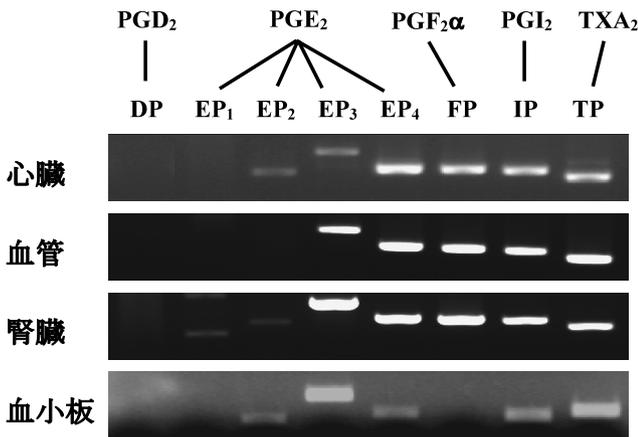


図2 循環器系におけるプロスタノイド受容体の発現  
野生型マウスの心臓、血管、腎臓、血小板におけるプロスタノイド受容体 mRNA 発現を RT-PCR 法により解析した。

EP<sub>4</sub>の4種類のサブタイプが存在する<sup>1)</sup>(図2)。また、プロスタノイド受容体はGタンパク質共役型であり、8種類の受容体は各々異なったGタンパク質と共役して様々な情報伝達を仲介している(表1)。一方、生体のほとんどの細胞が何種類かのプロスタノイドを産生することができ、プロスタノイド受容体の組織発現が多岐に渡ることから、プロスタノイド系の生体における作用や役割は多種多様な様相を呈している。

従来、プロスタノイドの作用解析では、プロスタノイド産生の律速酵素であるCOXを阻害する非ステロイド性抗炎症薬(NSAIDs)や、特異性が限定された各受容体アゴニストが用いられてきた。しかし、これらの手段では、特定のプロスタノイドの作用を正確に評価することが困難であった。そこで各受容体を欠損するマウスが作出され、様々な疾患の病態形成におけるプロスタノイドの役割が解析されている<sup>2-8)</sup>。

我々は、循環器系の臓器・組織に多種類のプロスタノイド受容体が発現分布すること(図2)、また近年、循環器系疾患の病態解明が急務となっている状況に着目し、プロスタノイドの循環器系疾患病態形成における役割解明を

表2 受容体欠損マウスの解析で明らかになった循環器系におけるプロスタノイドの役割

欠損受容体	役割・表現型	文献	
EP <sub>1</sub>	アンジオテンシンII誘発高血圧	44)	
EP <sub>2</sub>	食塩感受性高血圧	41)	
EP <sub>3</sub>	血栓傾向の軽減	36)	
EP <sub>4</sub>	動脈管開存	5), 40)	
	心筋梗塞の増悪	11)	
FP	炎症性頻脈	25)	
IP	血栓傾向	7)	
	心筋梗塞の増悪	10)	
	圧負荷心肥大	24)	
	腎血管性高血圧	31)	
	動脈硬化の亢進	43), 47)	
	食塩感受性高血圧	45)	
	血管リモデリングの増強	46), 48)	
	TP	炎症性頻脈	25)
		全身性炎症下での血管緊張	33)
		動脈硬化の軽減	43)
	血栓傾向の軽減	42)	
	血管リモデリングの減弱	46)	

指している(表2)。本稿では、各受容体欠損マウスを用いた解析から明らかとなってきた、プロスタノイドの心筋梗塞、圧負荷心肥大、炎症性頻脈、腎血管性高血圧、血管緊張における役割について我々の知見を紹介したい。

## 2. 心筋梗塞

心筋梗塞は、動脈硬化の進行に伴って形成される冠動脈プラークの破綻とそれに続く血栓形成による冠動脈の閉塞に起因する。近年、食生活をはじめとする生活様式の欧米化に伴い、動脈硬化に起因する心筋梗塞症が増加しており、その治療法の確立が重要な課題となっている。心筋梗塞の治療では、冠動脈閉塞による心臓への血流遮断(虚血)を解除するため、冠動脈の速やかな再疎通がなされている。しかし、再灌流療法に伴う心筋細胞へのCa<sup>2+</sup>過負荷や産生されるフリーラジカルによる細胞傷害等による病態の悪化(再灌流障害)が、問題となっている。

心筋梗塞症患者の心臓でプロスタノイドの産生が亢進することから、その心筋梗塞への関与が示唆されていた<sup>9)</sup>。以前に我々は、内因性PGI<sub>2</sub>がIPを介して虚血-再灌流障害から心臓を保護するが、内因性TXA<sub>2</sub>は虚血-再灌流障害には関与しないことを明らかにした<sup>10)</sup>。一方、PGE<sub>2</sub>については、EP<sub>3</sub>アゴニストを用いた虚血心筋保護作用が報告されていたが<sup>12-15)</sup>、内因性PGE<sub>2</sub>の役割については不明であった。ヒトを含めた多くの動物種の心臓にはPGE<sub>2</sub>受容体サブタイプのうち主にEP<sub>3</sub>とEP<sub>4</sub>が発現しており<sup>16,17)</sup>、その共役Gタンパク質はEP<sub>3</sub>がGi、EP<sub>4</sub>がGsと異なっている。また、その発現量を比較すると、EP<sub>4</sub>mRNAの発現量が有意に多かった。そこで、EP<sub>4</sub>欠損マウスを用い、PGE<sub>2</sub>-EP<sub>4</sub>系の心筋虚血-再灌流障害における役割の解明を

目指した<sup>11)</sup>。

冠動脈を1時間閉塞した後24時間再灌流を行い、心筋梗塞サイズを解析した。その結果、EP<sub>4</sub>欠損マウスでは野生型マウスに比し心筋梗塞サイズが有意に増大していた(図3a)。この時、誘導型アイソフォームであるCOX-2の心臓における発現上昇が確認された。ついで、神経・体液性因子の影響を受けず心臓における直接作用が解析可能な摘出灌流心臓系を用い、摘出心臓に虚血-再灌流負荷を加えた。この結果、心筋障害の指標である逸脱酵素(クレアチンキナーゼ)の遊出量が、EP<sub>4</sub>欠損マウスでは野生型マウスに比し有意に増加していた(図3b)。これらの結果、内因性PGE<sub>2</sub>がEP<sub>4</sub>を介して虚血-再灌流障害から心臓を保護する役割を持つことが明らかとなった。さらに、選択的EP<sub>4</sub>アゴニストであるONO-4819を心筋梗塞モデルマウ

スへ投与し、EP<sub>4</sub>アゴニストの心筋梗塞治療薬としての可能性を探った。ONO-4819を冠動脈閉塞の1時間前に投与すると、心筋梗塞サイズが有意に減少した。興味深いことに、ONO-4819は冠動脈閉塞の50分後に投与しても、その閉塞前投与と同程度の心保護作用を示した(図3c)。また、これらの効果はEP<sub>4</sub>欠損マウスで消失した。

従来、常在型アイソフォームであるCOX-1由来PGE<sub>2</sub>の細胞保護作用として、胃粘膜上皮の保護作用が良く知られている。実際PGE<sub>2</sub>類縁物質は、消化性潰瘍の予防に用いられている。このため、胃粘膜保護の観点から、COX-1活性を抑制しないCOX-2選択的阻害薬が開発された。しかし、COX-2阻害薬は、心筋梗塞や脳卒中などの心血管イベントの危険性を高めることがいくつかの大規模臨床試験により報告され、問題となっている。したがって、心臓

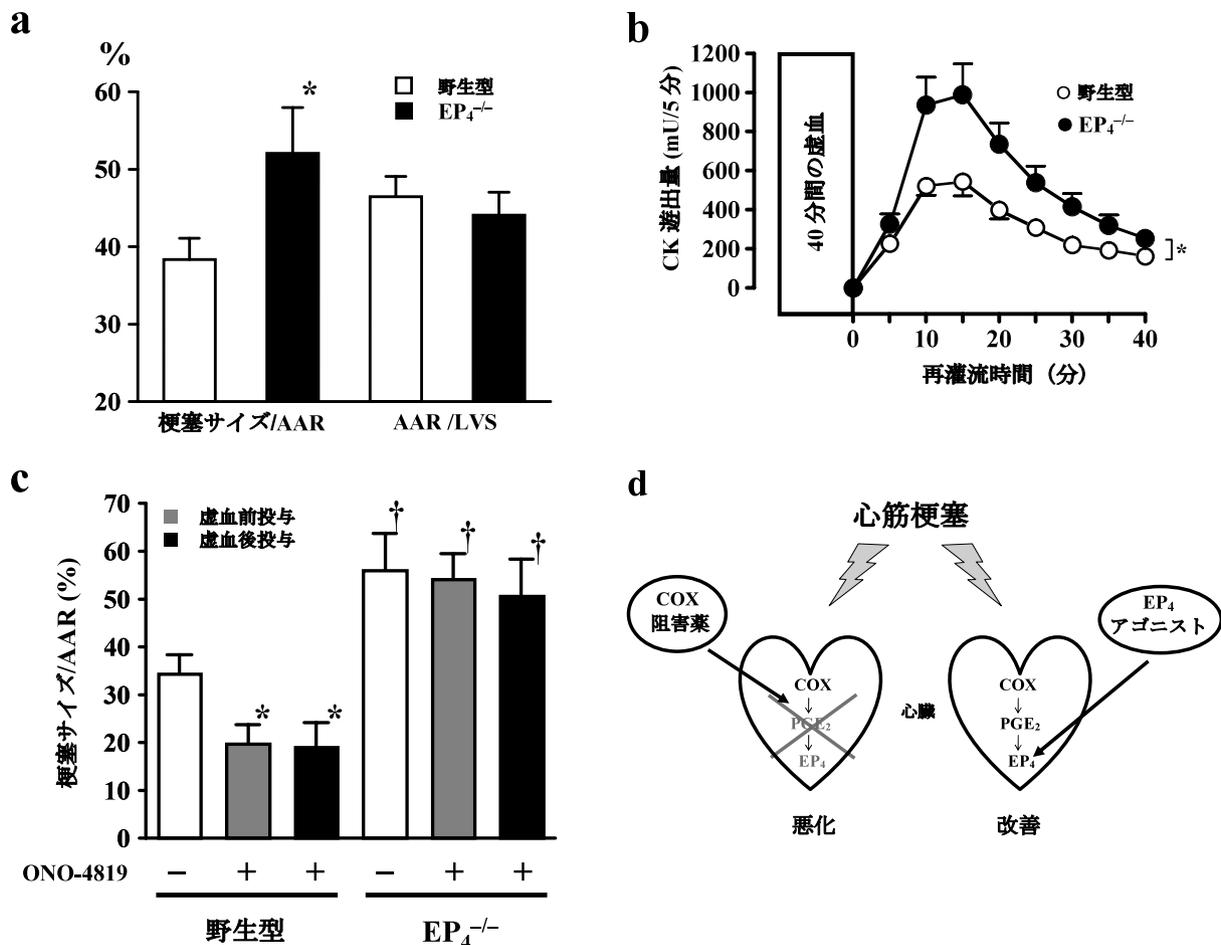


図3 虚血-再灌流障害におけるPGE<sub>2</sub>のEP<sub>4</sub>を介した心臓保護作用

- a. 冠動脈結紮モデルにおける心筋梗塞サイズ。梗塞サイズは、結紮した左冠動脈前下行枝の灌流領域サイズ(AAR)に対する梗塞サイズの比率で示した。LVS(左心室サイズ) \**p*<0.05 vs 野生型マウス
- b. 摘出心臓をランゲンドルフ式に灌流後、虚血-再灌流負荷(灌流液の途絶-再疎通)を加え、心臓からの逸脱酵素であるクレアチンキナーゼ(CK)の遊出量を定量した。\**p*<0.05 vs 野生型マウス
- c. EP<sub>4</sub>特異的アゴニストONO-4819(0.3mg/kg)は、冠動脈結紮前60分(虚血前投与)あるいは結紮後50分(虚血後投与)の時点で皮下投与された。\**p*<0.05 vs コントロール
- d. 心筋梗塞におけるPGE<sub>2</sub>-EP<sub>4</sub>系の心臓保護作用

の虚血-再灌流障害に際して COX-2 由来 PGE<sub>2</sub> が EP<sub>4</sub> を介して心保護に働くことは、COX-2 阻害薬の問題の一部を説明する結果と考えられる (図 3d)。今回、EP<sub>4</sub> アゴニストは、心保護作用を示す用量で血行動態に影響を与えず、心筋梗塞発症後の投与においても有効であった。また最近、アディポネクチンが、一部 EP<sub>4</sub> を介して虚血再灌流障害から心臓を保護することが報告されている<sup>18)</sup>。これらの結果は、EP<sub>4</sub> アゴニストの心筋梗塞治療薬としての可能性を示すものと考えられる。

### 3. 心 肥 大

心臓の収縮を司る心筋細胞は、出生後ほとんど増殖しない。そのため、心臓の成長は、心筋細胞の容積の増大によって起こると考えられている。一方、高齢化社会の到来に伴い高血圧症に罹患する患者が著増し、それに起因する圧負荷心肥大が増加しており、その管理が重要な課題となっている。圧負荷心肥大は、本来高血圧に適応するための代償機構である。しかし、長期にわたる圧負荷は、この代償機構の破綻を招き、心不全を招来する。これまで、心肥大に至る分子機構やそれを促進する因子の解明が進んでいるが、これを抑制する因子に関する情報は極めて少ない。

肥大心や不全心において COX-2 が発現誘導され、PGE<sub>2</sub> や PGI<sub>2</sub> の産生が亢進する<sup>19-21)</sup>。また、PGI<sub>2</sub> 受容体である IP のアゴニストは、培養心筋細胞においてエンドセリンが誘導する心肥大を抑制し<sup>22)</sup>、培養心線維芽細胞においてはその増殖やコラーゲン合成を抑制する<sup>23)</sup>。これらの結果は、心肥大におけるプロスタノイドの肥大抑制作用を示唆している。そこで我々は、受容体欠損マウスを用い、圧負荷心肥大の病態形成におけるプロスタノイドの役割を解析した<sup>24)</sup>。

心臓での mRNA 発現を確認した EP<sub>2</sub>、EP<sub>3</sub>、EP<sub>4</sub>、FP、IP および TP を各々欠損するマウスに対し、大動脈を縮窄して心臓に圧負荷を加えた。その結果、野生型マウスでは、術後に明らかな心肥大が認められた。また、上記 6 種類の各受容体欠損マウスの中で、唯一 IP 欠損マウスのみが野生型マウスに比して有意な心肥大の亢進を示した。一方、他の受容体欠損マウスでの心肥大の程度には、野生型マウスのそれと比較して差が認められなかった (図 4a)。この結果、PGI<sub>2</sub>-IP 系が圧負荷心肥大に対し抑制的に働くことが示された。ついで、この心肥大を組織学的に解析すると、心筋細胞自体の肥大が IP 欠損マウスで有意に亢進していた (図 4b)。一方、心肥大は間質線維化を伴うことが多いことから、これを細胞間質と血管周囲の線維化に分けて解析した。その結果、この両者は共に IP 欠損マウスにおいて有意に亢進しており (図 4c)、PGI<sub>2</sub>-IP 系は心筋肥大と心線維化の両者を抑制することが明らかとなった。また、心肥大発症のマーカー遺伝子として知られる心房性ナ

トリウム利尿ペプチド (atrial natriuretic peptide; ANP) の発現は、野生型マウスでの発現上昇が認められない早期から、IP 欠損マウスで有意に亢進していた (図 4d)。この結果は、PGI<sub>2</sub>-IP 系が心肥大関連遺伝子の発現制御にも係わることを示している。一方、培養細胞を用いた解析では、IP アゴニストである cicaprost が血小板由来成長因子 (PDGF) による非心筋細胞の増殖を有意に抑制した。しかし、cicaprost は主要な心筋肥大因子である cardiotropin-1 による心筋細胞肥大を抑制しなかった。この結果と一致して、cicaprost は非心筋細胞の cAMP 濃度を著明に増加したが、心筋細胞に対するこの作用は軽微であった。これらの結果、PGI<sub>2</sub> の抗心肥大作用は心筋細胞に対する直接作用ではなく、非心筋細胞に対する間接作用に由来すると考えられた。

従来、PGI<sub>2</sub> は強い血管拡張作用を有する降圧物質の代表と考えられてきた。実際、PGI<sub>2</sub> 製剤は閉塞性動脈硬化症や原発性肺高血圧症の有効な治療薬として用いられている。今回の結果は、PGI<sub>2</sub> 製剤が降圧作用以外に直接心臓に作用して抗心肥大作用を示すことを示すものであり、同時にその圧負荷心肥大の治療薬としての可能性をも示唆している。

### 4. 炎症性頻脈

感染症などの全身性炎症 (systemic inflammation) 時には、発熱とともに頻脈が認められる。実際、発熱、頻脈および頻呼吸は全身性炎症の存在を示す三大主徴と規定されている。また、発熱反応とプロスタノイドとの密接な関連は良く認知されており、我々は以前 PGE<sub>2</sub> が EP<sub>3</sub> を介して発熱の最終メディエーターとして働くことを報告している<sup>3)</sup>。一方、炎症性頻脈に関しては、従来、交感神経系の活動亢進に起因するものと考えられてきた。例えば、NSAIDs は、体温上昇に関与する中枢での PGE<sub>2</sub> 産生を抑えて体温を下げ、ついで交感神経系の興奮を鎮め、その結果、炎症性頻脈を抑制すると考えられてきた。しかし、その根拠は脆弱であり、またその発生機構は不明であった。そこで我々は、プロスタノイド受容体欠損マウスを用い、この問題の解明に取り組んだ<sup>25)</sup>。

マウス摘出右心房の拍動数に対するプロスタノイドの作用を解析した結果、PGF<sub>2α</sub> と TP アゴニストである I-BOP は、各々 FP と TP を介して拍動数を著明に上昇させた (図 5a)。また、右心房の各部位からの心電図を用いた解析により、これらプロスタノイドの作用部位は、洞房結節 (SA node) を含む限局した部分に存在した。一方、野生型マウス摘出右心房を炎症性サイトカイン (IL-1β, TNF-α, IFN-γ の混合) で刺激すると、二相性に拍動数が上昇した。このサイトカイン誘発拍動数上昇の初期相は TP 欠損マウス右心房で消失し、二次相は FP 欠損マウス右心房で消失し

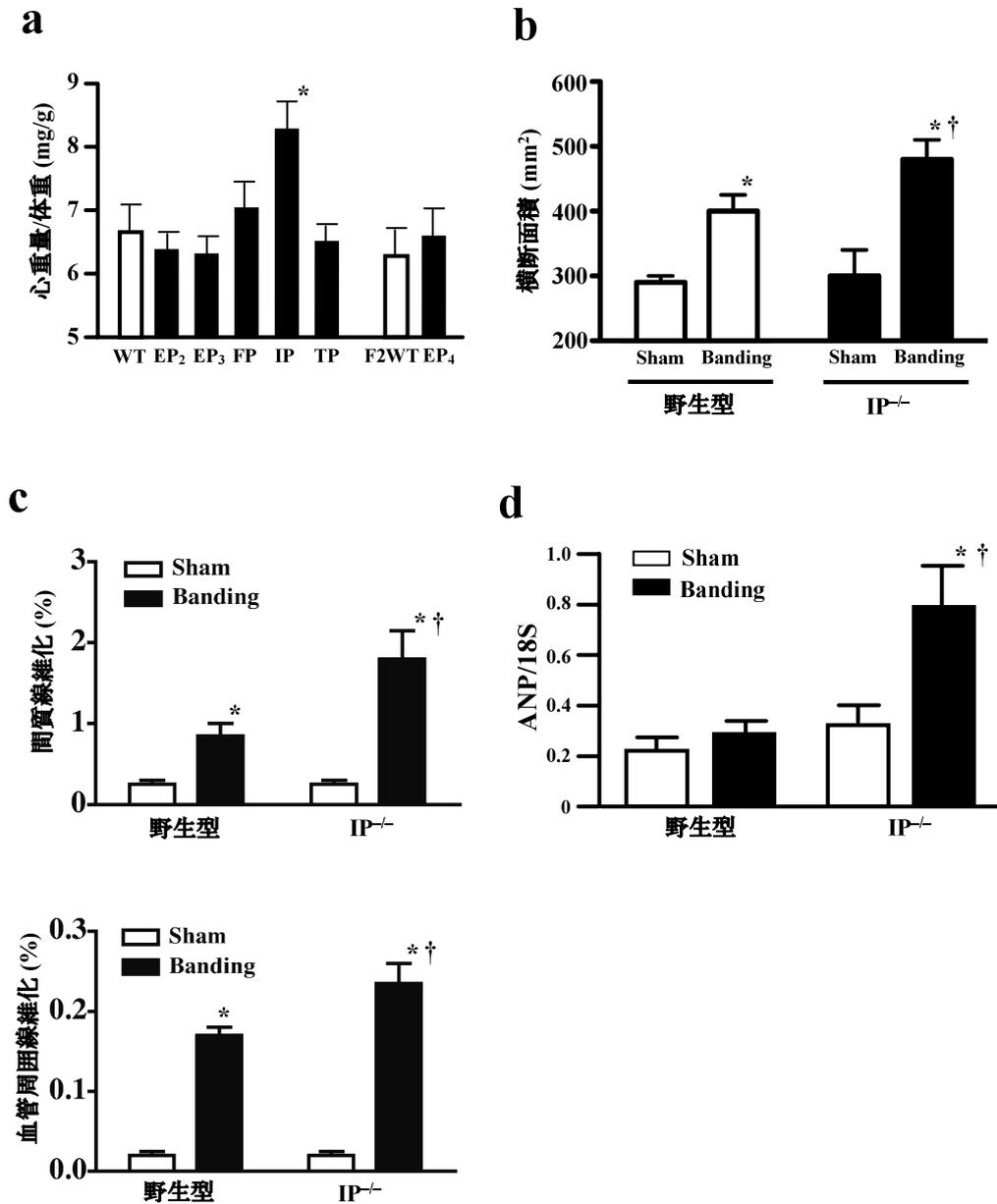


図4 圧負荷心肥大における PGE<sub>2</sub> の肥大抑制作用

a. 各プロスタノイド受容体欠損マウスの大動脈縮窄後2週間での心肥大の程度。\*p<0.05 vs 野生型マウス (WT)。

b. 大動脈縮窄2週間での心筋細胞の横断面積。Sham (大動脈を縮窄する以外 Banding 群と同様の手術をしたマウス)。Banding (大動脈を縮窄したマウス)。\*p<0.05 vs Sham, †p<0.05 vs WT。

c. 大動脈縮窄2週間での間質線維化 (上図) と血管周囲線維化 (下図)。\*p<0.05 vs Sham, †p<0.05 vs WT。

d. 大動脈縮窄後1週間での心臓における ANP mRNA の発現。野生型マウス心臓においても、術後2週間以後には ANP mRNA の発現は有意に増加する。\*p<0.05 vs Sham, †p<0.05 vs WT。

た (図 5b)。また、この二相性の反応は、インドメタシン前処理によって完全に消失した。これらの結果、炎症性サイトカインは洞房結節周辺での TXA<sub>2</sub> および PGF<sub>2</sub>α の産生を刺激し、ついで各々のプロスタノイドが TP と FP に働いて二相性の拍動数増加を来たと考えられた。さらに、この機構が全身性炎症時に認められる頻脈で働くかどうか

を検証するため、リポポリサッカライド (LPS) を腹腔内に投与し、その心拍への影響を解析した。野生型マウスでは、LPS 投与により二相性の頻脈が認められた。また、β-ブロッカーであるプロプラノロールで交感神経系を抑制したところ、頻脈のパターン自体は変化せず全体的に脈拍数が低下した (図 5c)。さらに、この炎症性頻脈の初期相は

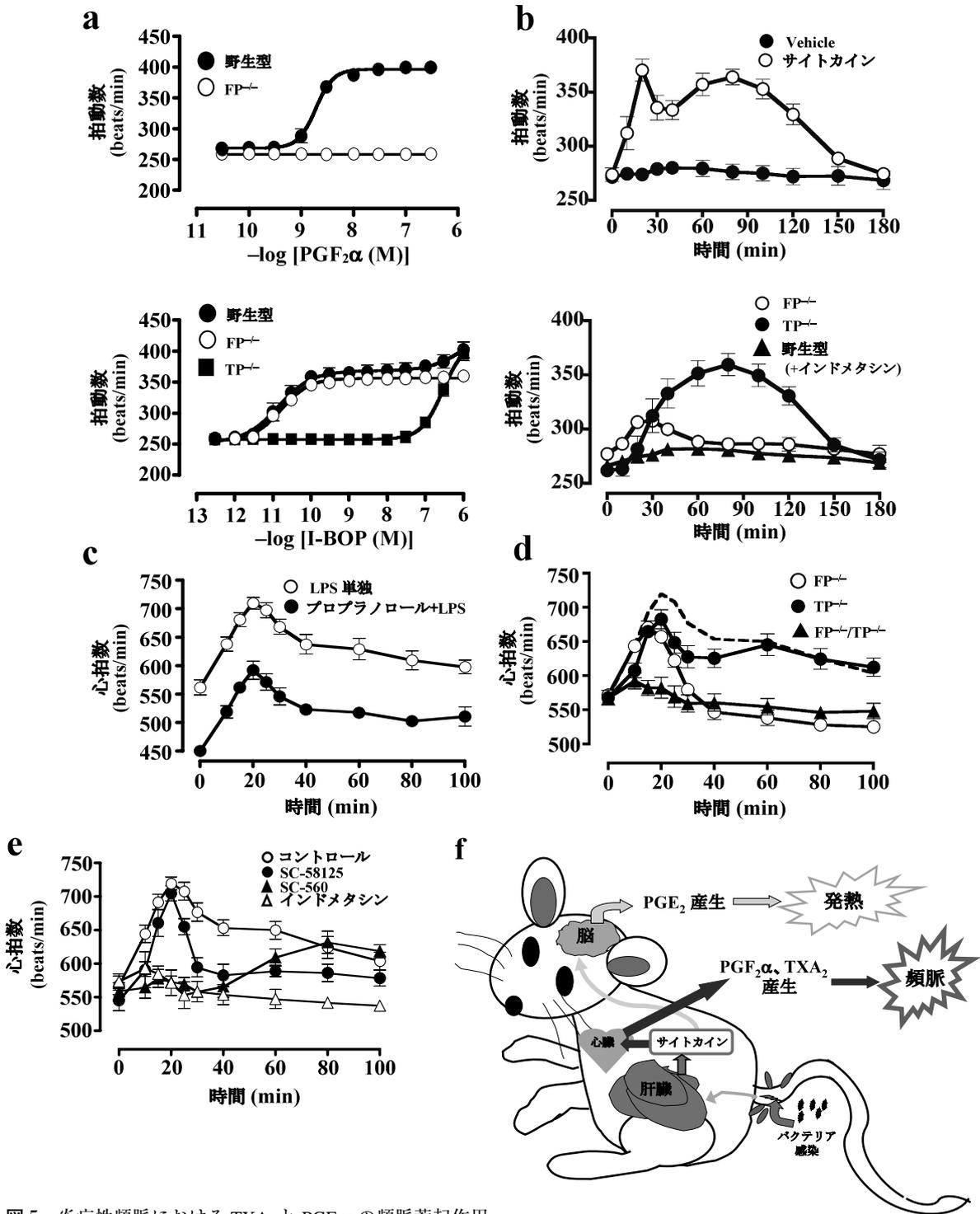


図5 炎症性頻脈における TXA<sub>2</sub> と PGF<sub>2</sub>α の頻脈惹起作用

a. 摘出右心房の拍動数に対する PGF<sub>2</sub>α (上図) と I-BOP (下図) の陽性変時作用. PGF<sub>2</sub>α の作用は, FP 欠損マウスの心房で消失した. 一方, I-BOP の作用は一次相と二次相から成るが, 主要な一次相は TP 欠損マウスで消失し, FP への交叉反応と考えられる二次相は FP 欠損マウスで消失した.

b. 摘出右心房の拍動数に対する炎症性サイトカインの陽性変時作用. サイトカイン刺激として, IL-1β (20 ng/ml), TNF-α (20 ng/ml) と INF-γ (10 ng/ml) を混合して用いた. +Indo; インドメタシン (10 mg/kg, i.p.) 前処理.

c. 野生型マウスにおける LPS 誘発頻脈とそれに対するプロプラノロールの効果. プロプラノロール (1 mg/kg, i.p.) は, LPS (10 mg/kg, i.p.) の 30 分前に投与した.

d. FP, TP, あるいは両者を欠損するマウスにおける LPS 誘発頻脈. 点線は, 野生型マウスの頻脈パターンを示す.

e. LPS 誘発頻脈に対する COX 阻害薬の効果. COX-1 選択的阻害薬として SC-560 (10 mg/kg, i.p.), COX-2 選択的阻害薬として SC-58125 (10 mg/kg, i.p.), 両者の阻害薬としてインドメタシン (10 mg/kg, i.p.) を用いた.

f. 炎症性頻脈における TXA<sub>2</sub>-TP, PGF<sub>2</sub>α-FP 系の頻脈惹起作用

TP欠損マウスで減弱し、持続相はFP欠損マウスで消失していた。また、TPとFPの両者を欠損するマウスでは、野生型マウスで認められた炎症性頻脈は完全に消失していた(図5d)。さらに、炎症性頻脈におけるTXA<sub>2</sub>およびPGF<sub>2</sub>αの産生にどのCOXアイソフォームが関与するかを、選択的COX阻害薬を用いて検討した。その結果、COX-1が初期相に、またCOX-2が持続相に関与することが明らかとなった(図5e)。

頻脈は全身性炎症の主要な徴候であり、従来交感神経系の関与が想定されてきた。しかし、今回の結果は新規の炎症性頻脈発生機構を提唱するものである。つまり、炎症性頻脈への交感神経系の関与は少なく、全身性炎症時に産生される炎症性サイトカインが洞房結節周辺でTXA<sub>2</sub>およびPGF<sub>2</sub>α産生を刺激し、これらが各々の受容体を活性化して頻脈を惹起するというものである(図5f)。また、この炎症性頻脈でのプロスタノイドの役割は、我々が報告してきた全身炎症時の発熱反応<sup>3)</sup>や視床下部-下垂体-副腎軸活性化<sup>26)</sup>での役割と併せ、プロスタノイドが基本的生体防御機構の一翼を担うことを示している。

## 5. 腎血管性高血圧

レニン-アンジオテンシン-アルドステロン(RAA)系は、血圧や循環血液量の調節において中心的な役割を果たす。腎臓の傍糸球体装置の顆粒細胞から分泌されるレニンは、血中のアンジオテンシノーゲンをアンジオテンシンIに変換し、アンジオテンシンIは肺血管内皮に存在する変換酵素(ACE)によって強力な血管収縮物質であるアンジオテンシンIIとなる。また、アンジオテンシンIIは副腎皮質球状層に働きアルドステロン分泌を刺激し、アルドステロンは腎臓の遠位尿細管に作用してナトリウムの再吸収を促進して細胞外液量を増加することにより昇圧的に働く。一方、RAA系活性化の律速酵素であるレニンの分泌は、基本的に交感神経系の支配下にあるが、腎灌流圧の低下や体液電解質の減少によって亢進する<sup>27)</sup>。したがって、動脈硬化性病変などによって腎動脈が狭窄して腎血流量が低下するとRAA系が活性化され、腎血管性高血圧症が発症する。従来、COX阻害薬の腎血管性高血圧症に対する抑制効果<sup>28,29)</sup>や、PGE<sub>2</sub>やPGI<sub>2</sub>の培養顆粒細胞からのレニン分泌刺激作用などが報告されており<sup>30)</sup>、プロスタノイドの腎血管性高血圧症の病態形成への関与が想定されていた。そこで、この病態形成での役割の程度やどのプロスタノイドが関与するのかを受容体欠損マウスを用いて解析した<sup>31)</sup>。

マウスの片側腎動脈を狭窄し(2 Kidney-1 Clip: 2K1Cモデル)、血圧の変動を経時的に観察したところ、野生型マウスの血圧は、術後著明に上昇し、1週間でピークとなった。しかし、IP欠損マウスでは、野生型マウスに比し、その血圧上昇の程度は著明に減弱していた(図6a)。一方、

EP<sub>1</sub>~EP<sub>4</sub>の各々を欠損するマウスでは、その血圧上昇の程度は野生型マウスと同等であった。この結果、PGI<sub>2</sub>-IP系が腎血管性高血圧の発症に重要な役割を果たすこと、またPGE<sub>2</sub>のこの病態への関与は少ないことが明らかとなった。ついで、2K1CモデルにおけるRAA系活性化を検討した。野生型マウスでは、腎動脈狭窄により著明な血漿レニン活性(PRA)の上昇と血漿アルドステロン濃度(PAC)の増加が認められ、RAA系の活性化が高血圧の原因と考えられた。しかし、IP欠損マウスでは、野生型マウスに比してPRAとPACの増加は有意に減弱しており、腎動脈狭窄による刺激で産生されたPGI<sub>2</sub>が、レニン分泌を亢進させ高血圧を惹起することが示唆された(図6b)。実際、培養顆粒細胞を用いた解析では、IPアゴニストであるcicaprostは濃度依存的にレニンmRNA発現を増加させたが、PGE<sub>2</sub>にはこの作用が認められなかった(図6c)。一方、腎動脈狭窄により腎臓でのCOX-2 mRNAが有意に増加し(図6d)、またCOX-2選択的阻害薬がPRAの上昇を有意に抑制したことから、腎血管性高血圧の病態形成に関与するPGI<sub>2</sub>はCOX-2に由来することが示唆された。

従来、PGI<sub>2</sub>は血管弛緩因子の代表と考えられており、血管に直接作用して強力な降圧作用を示す。一方、PGI<sub>2</sub>はRAA系活性化を介して昇圧作用を示すことにより、腎血管性高血圧の病態形成に中心的な役割を果たすことが明らかとなった(図6e)。このように、PGI<sub>2</sub>は様々な状況に応じて産生され、血圧の維持や高血圧症の病態形成において重要な役割を果たすと考えられる。

## 6. 全身性炎症下での血管緊張維持

血管内皮細胞で産生される一酸化窒素(NO)は、生理的条件下での血管緊張を維持している主要な物質である。一方、全身性炎症時には、血管収縮物質に対する血管反応性が低下し、極端な場合には急性循環不全(敗血症性ショック septic shock)を来す。この血管反応性低下の原因として、全身性炎症の基本病態である高サイトカイン血症に起因した血管平滑筋での誘導性一酸化窒素合成酵素(iNOS)発現誘導による多量のNO産生が挙げられる。また、この現象の一部には、PGE<sub>2</sub>やPGI<sub>2</sub>などの血管弛緩性プロスタノイドの関与が知られている<sup>32)</sup>。我々は、プロスタノイドのなかで強い血管収縮作用を持つTXA<sub>2</sub>に焦点をあて、その血管反応性調節における役割を解析した<sup>33)</sup>。

野生型マウス大動脈から調製した培養血管平滑筋細胞(VSMCs)では、炎症性サイトカイン(IL-1β, TNF-α, IFN-γの混合)によってiNOSの強い発現誘導とそれに伴うNO産生の増加が認められた。一方、TP欠損マウスのVSMCsでは、野生型マウスVSMCsに比しサイトカイン刺激に伴うiNOS発現量NO産生量が有意に増加していた(図7a)。これと一致して、TPアゴニストであるU-46619は、この

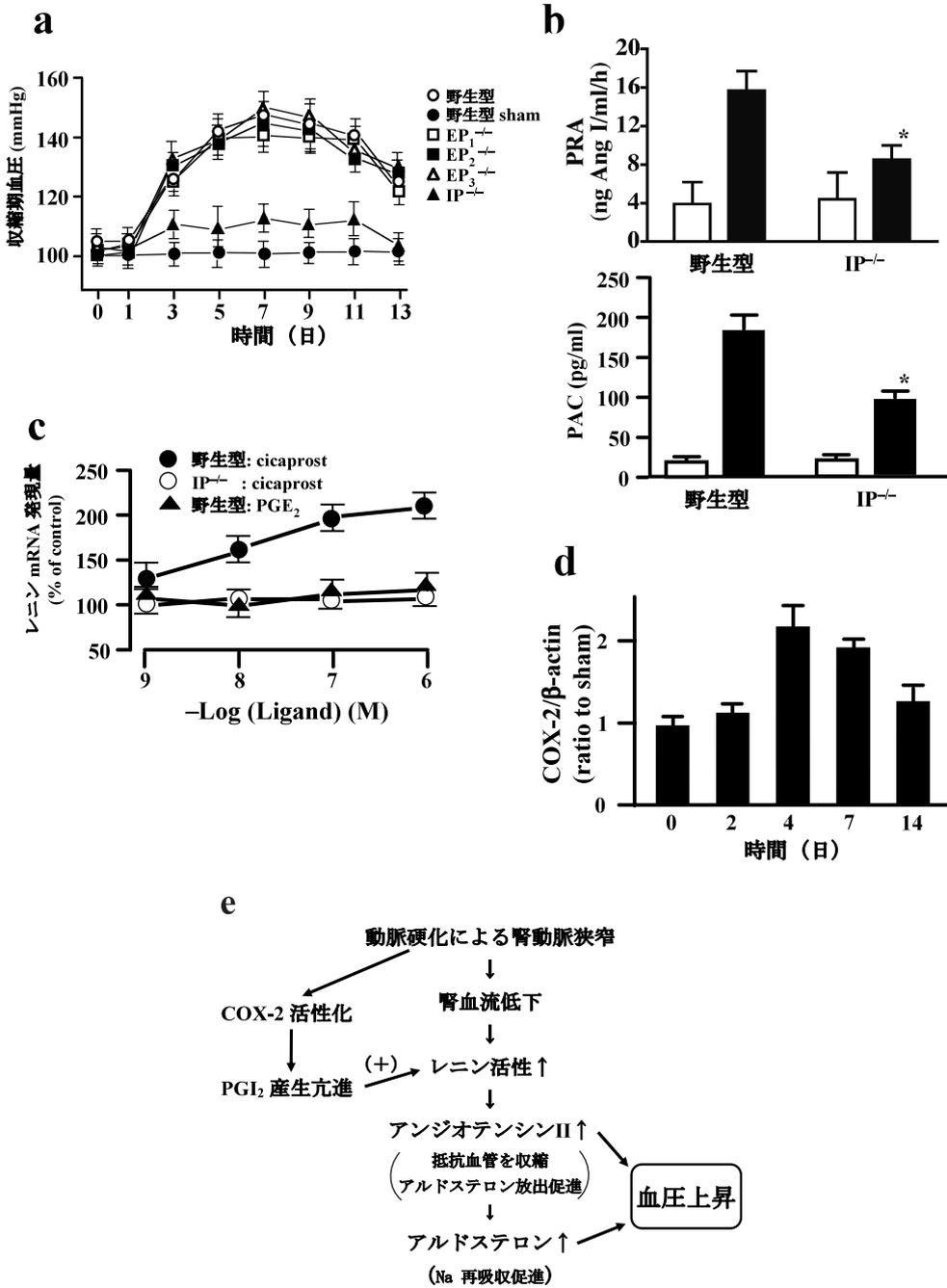


図 6 腎血管性高血圧における PGI<sub>2</sub> のレニン分泌促進による昇圧作用

- 片側腎動脈狭窄によって惹起された腎血管性高血圧。IP 欠損マウスでのみ、腎血管性高血圧の著明な軽減が認められる。
- 腎動脈狭窄後 7 日での血漿レニン活性 (PRA) (上図) と血漿アルドステロン濃度 (PAC) (下図)。\*p<0.05 vs 野生型マウス。
- 培養顆粒細胞のレニン mRNA 発現に対する cicaprost と PGE<sub>2</sub> の作用。
- 腎動脈狭窄後の野生型マウス腎臓における COX-2 発現誘導。
- 腎血管性高血圧の病態形成における PGI<sub>2</sub>-IP 系の役割

サイトカイン誘発 iNOS 発現誘導と NO 産生を濃度依存的に抑制した (図 7b)。これらの結果は、TXA<sub>2</sub> がサイトカインによる iNOS 発現誘導を抑制することにより、全身性炎症時の血管反応性調節に関与する可能性を示唆するもの

と考えられた。そこで、摘出大動脈をサイトカインと共に培養した後、その NO 産生量とフェニレフリン (α<sub>1</sub> アゴニスト) に対する収縮反応を解析した。TP 欠損マウス大動脈では、野生型マウス大動脈に比し NO 産生量が有意に

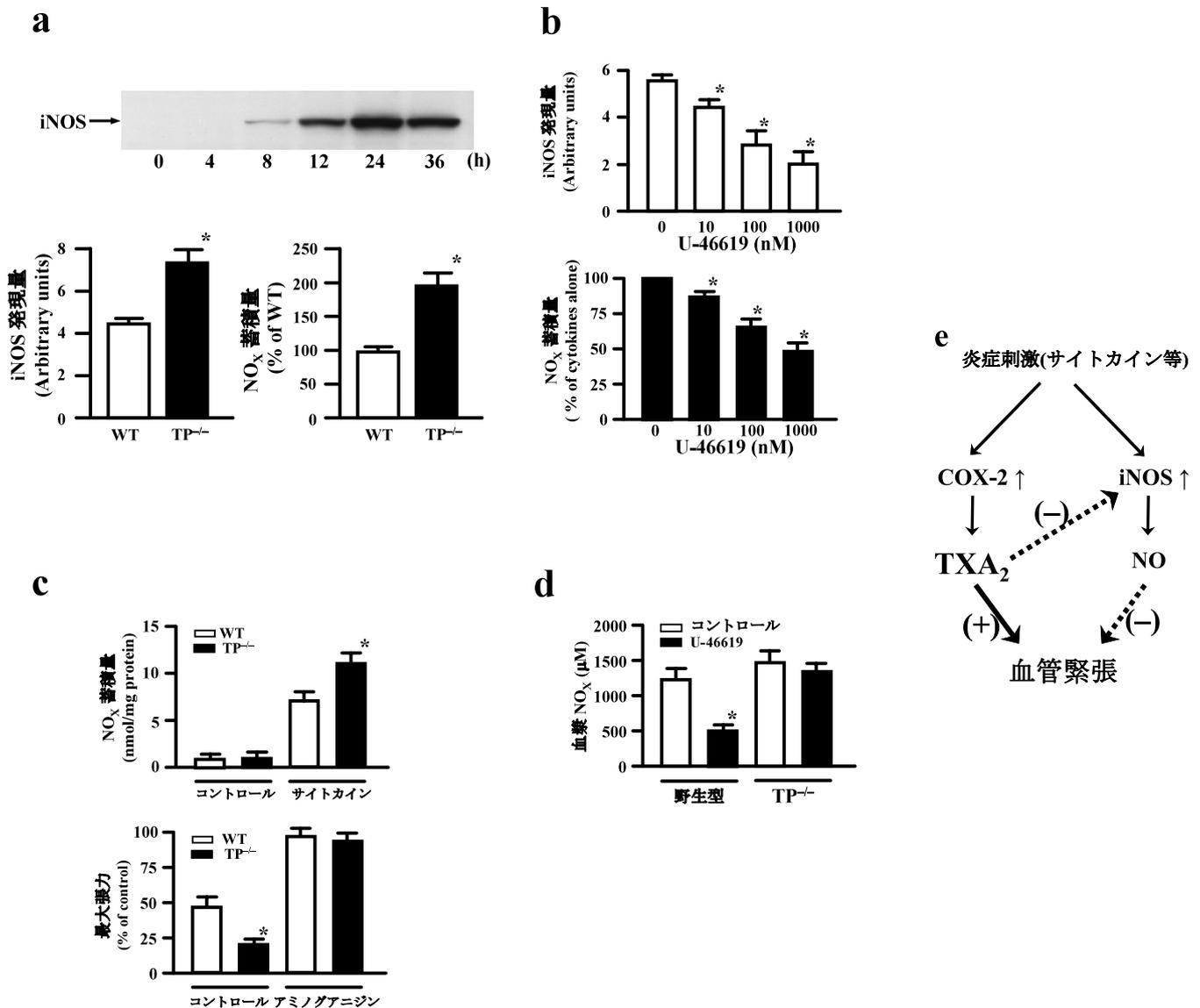


図7 TXA<sub>2</sub>のiNOS発現調節による血管緊張維持

- a. サイトカインによるVSMCsでのiNOS発現誘導とNO産生。サイトカイン刺激として、IL-1β (20 ng/ml), TNF-α (20 ng/ml), IFN-γ (10 ng/ml)を混合して用いた。刺激後24時間で、iNOS発現をウェスタンブロットで、NO産生をその酸化物であるNO<sub>x</sub>の定量で解析した。TP欠損マウスVSMCs培養上清でのNO<sub>x</sub>濃度は、野生型マウスでの濃度(平均51.3 nmol/mg protein)に対する%で示した。\*p<0.05 vs 野生型マウス。
- b. TPアゴニストU-46619のVSMCsでのサイトカイン誘発iNOS発現とNO産生に対する抑制作用。各濃度のU-46619を、サイトカインと共に24時間作用させた。内因性プロスタノイドの産生を抑制するため、培地にインドメタシンを加えた。\*p<0.05 vs コントロール。
- c. 大動脈器官培養におけるサイトカインのNO産生刺激作用(上図)と大動脈のフェニレフリンに対する収縮反応低下の誘発(下図)。大動脈をサイトカインで24時間処理した。フェニレフリン収縮の最大値を、サイトカイン無処置の大動脈での値の%で示した。NOS阻害薬であるアミノグアニジン(100 μM)は、フェニレフリン添加の30分前に加えた。\*p<0.05 vs 野生型マウス。
- d. U-46619の全身性炎症モデルでのNO産生に対する抑制作用。LPS(30 mg/kg)単独あるいはU-46619(100 μg/kg)と同時に投与し、20時間後の血漿NO<sub>x</sub>を測定した。\*p<0.05 vs コントロール。
- e. 全身性炎症下でのTXA<sub>2</sub>-TP系の血管緊張維持における役割

増加していたことから、VSMCsで観察されたように、内因性TXA<sub>2</sub>がiNOS発現に対し抑制的に作用したものと考えられた(図7c上図)。この結果と一致して、野生型マウス大動脈で認められたフェニレフリンに対する収縮反応

の低下は、TP欠損マウス大動脈で著明に増強していた。また予想されるように、これら大動脈の反応性低下はNOS阻害薬によって完全に改善された(図7c下図)。さらに、この現象が*in vivo*でも起こっているかを検討する

ため、LPS 投与による全身性炎症モデルを用いた解析を行った。このモデルでは、野生型マウス大動脈のフェニレフリンに対する反応性低下は出現せず、著明な血圧低下が認められたことから、末梢の抵抗血管での iNOS 発現に起因する血管反応性低下が示唆された。実際、血漿 NO 濃度は LPS 投与によって著明に上昇し、U-46619 はこの NO 濃度の上昇を著明に抑制した (図 7d)。これらの結果、全身炎症時、特に TXA<sub>2</sub> 産生が増加する播種性血管内凝固症候群 (DIC) などにおいて、TXA<sub>2</sub> は血管に対する直接作用に加え iNOS 発現抑制という間接的作用によって血管緊張の維持に重要な役割を果たすことが示唆された (図 7e)。

TXA<sub>2</sub>-TP 系の主要な情報伝達経路は、Gq を介するものである。循環器系での Gq 刺激物質にはエンドセリンやアンジオテンシンがあるが、これらのラット VSMCs での iNOS 発現抑制が報告されている<sup>34,35)</sup>。今回の結果は、これら血管作動性物質が iNOS 発現調節に協同して働き、血管緊張維持に重要な役割を果たすことを示唆するものと考えられる。

## 7. おわりに

従来、プロスタノイドは、炎症性メディエーターとしての役割が良く知られていた。しかし、プロスタノイド受容体の各々を欠損するマウスが作出され、その解析が進むにつれ、プロスタノイドの新たな病態生理的役割が明らかとなりつつある。本稿では紹介できなかったが、これ以外にも我々は様々な疾患の病態形成におけるプロスタノイドの役割を明らかにしてきた<sup>36~38)</sup>。一方、近年広く使用されている COX-2 阻害薬の一部には、心血管死を増加させる危険性が指摘されている<sup>39)</sup>。この結果は、本稿で紹介したプロスタノイドの心血管系疾患病態形成における多様な役割を併せ考えると、非選択的にプロスタノイド産生を抑制する COX 阻害薬の限界を示すのみではなく、個々のプロスタノイド受容体を標的とした新規薬物開発の重要性を示唆するものと考えられる。この視点から、この分野のさらなる発展を期待したい。

## 謝辞

本稿で紹介した旭川医科大学薬理学講座での研究成果は、研究に携わった多くの研究者と研究協力者の創意と努力の賜物と考えております。また、京都大学薬理学教室の成宮先生には、常々御協力を頂いております。この機会をお借りし、皆様に深く感謝申し上げます。

## 文 献

1) Narumiya, S., Sugimoto, Y., & Ushikubi, F. (1999) *Physiol. Rev.*, **79**, 1193-1226.

2) Matsuoka, T., Hirata, M., Tanaka, H., Takahashi, Y., Murata, T., Kabashima, K., Sugimoto, Y., Kobayashi, T., Ushikubi, F., Aze, Y., Eguchi, N., Urade, Y., Yoshida, N., Kimura, K., Mizoguchi, A., Honda, Y., Nagai, H., & Narumiya, S. (2000) *Science*, **287**, 2013-2017.

3) Ushikubi, F., Segi, E., Sugimoto, Y., Murata, T., Matsuoka, T., Kobayashi, T., Hizaki, H., Tuboi, K., Katsuyama, M., Ichikawa, A., Tanaka, T., Yoshida, N., & Narumiya, S. (1998) *Nature*, **395**, 281-284.

4) Hizaki, H., Segi, E., Sugimoto, Y., Hirose, M., Saji, T., Ushikubi, F., Matsuoka, T., Noda, Y., Tanaka, T., Yoshida, N., Narumiya, S., & Ichikawa, A. (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **96**, 10501-10506.

5) Segi, E., Sugimoto, Y., Yamasaki, A., Aze, Y., Oida, H., Nishimura, T., Murata, T., Matsuoka, T., Ushikubi, F., Hirose, M., Tanaka, T., Yoshida, N., Narumiya, S., & Ichikawa, A. (1999) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **246**, 7-12.

6) Sugimoto, Y., Yamasaki, A., Segi, E., Tsuboi, K., Aze, Y., Nishimura, T., Oida, H., Yoshida, N., Tanaka, T., Katsuyama, M., Hasumoto, K., Murata, T., Hirata, M., Ushikubi, F., Negishi, M., Ichikawa, A., & Narumiya, S. (1997) *Science*, **277**, 681-683.

7) Murata, T., Ushikubi, F., Matsuoka, T., Hirata, M., Yamasaki, A., Sugimoto, Y., Ichikawa, A., Aze, Y., Tanaka, T., Yoshida, N., Ueno, A., Oh-ishi, S., & Narumiya, S. (1997) *Nature*, **388**, 678-682.

8) Kabashima, K., Murata, T., Tanaka, H., Matsuoka, T., Sakata, D., Yoshida, N., Katagiri, K., Kinashi, T., Tanaka, T., Miyasaka, M., Nagai, H., Ushikubi, F., & Narumiya, S. (2003) *Nat. Immunol.*, **4**, 694-701.

9) Shinmura, K., Tang, X.L., Wang, Y., Xuan, Y.T., Liu, S.Q., Takano, H., Bhatnagar, A., & Bolli, R. (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **97**, 10197-10202.

10) Xiao, C.Y., Hara, A., Yuhki, K., Fujino, T., Ma, H., Okada, Y., Takahata, O., Yamada, T., Murata, T., Narumiya, S., & Ushikubi, F. (2001) *Circulation*, **104**, 2210-2215.

11) Xiao, C.Y., Yuhki, K., Hara, A., Fujino, T., Kuriyama, S., Yamada, T., Takayama, K., Takahata, O., Karibe, H., Taniguchi, T., Narumiya, S., & Ushikubi, F. (2004) *Circulation*, **109**, 2462-2468.

12) Zacharowski, K., Olbrich, A., Piper, J., Hafner, G., Kondo, K., & Thiemermann, C. (1999) *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **19**, 2141-2147.

13) Zacharowski, K., Olbrich, A., Otto, M., Hafner, G., & Thiemermann, C. (1999) *Br. J. Pharmacol.*, **126**, 849-858.

14) Zacharowski, K., Olbrich, A., & Thiemermann, C. (1999) *Eur. J. Pharmacol.*, **367**, 33-39.

15) Hohlfeld, T., Meyer-Kirchrath, J., Vogel, Y.C., & Schrör, K. (2000) *J. Mol. Cell. Cardiol.*, **32**, 285-296.

16) An, S., Yang, J., Xia, M., & Goetzl, E.J. (1993) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **197**, 263-270.

17) Castleberry, T.A., Lu, B., Smock, S.L., & Owen, T.A. (2001) *Prostaglandins Other Lipid Mediat.*, **65**, 167-187.

18) Shibata, R., Sato, K., Pimentel, D.R., Takemura, Y., Kihara, S., Ohashi, K., Funahashi, T., Ouchi, N., & Walsh, K. (2005) *Nat. Med.*, **11**, 1096-1103.

19) Zamorano, B. & Carmona, M.T. (1992) *Biol. Res.*, **25**, 85-89.

20) Newman, W.H., Frankis, M.B., & Halushka, P.V. (1983) *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **5**, 194-201.

21) Wong, S.C., Fukuchi, M., Melnyk, P., Rodger, I., & Giaid, A. (1998) *Circulation*, **98**, 100-103.

22) Ritchie, R.H., Rosenkranz, A.C., Huynh, L.P., Stephenson, T.,

- Kaye, D.M., & Dusting, G.J. (2004) *Am. J. Physiol.*, **287**, H1179-H1185.
- 23) Yu, H., Gallagher, A.M., Garfin, P.M., & Printz, M.P. (1997) *Hypertension*, **30**, 1047-1053.
- 24) Hara, A., Yuhki, K., Fujino, T., Yamada, T., Takayama, K., Kuriyama, S., Takahata, O., Karibe, H., Okada, Y., Xiao, C.Y., Ma, H., Narumiya, S., & Ushikubi, F. (2005) *Circulation*, **112**, 84-92.
- 25) Takayama, K., Yuhki, K., Ono, K., Fujino, T., Hara, A., Yamada, T., Kuriyama, S., Karibe, H., Okada, Y., Takahata, O., Taniguchi, T., Iijima, T., Iwasaki, H., Narumiya, S., & Ushikubi, F. (2005) *Nat. Med.*, **11**, 562-566.
- 26) Matsuoka, Y., Furuyashiki, T., Bito, H., Ushikubi, F., Tanaka, Y., Kobayashi, T., Muro, S., Satoh, N., Kayahara, T., Higashi, M., Mizoguchi, A., Shichi, H., Fukuda, Y., Nakao, K., & Narumiya, S. (2003) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **100**, 4132-4137.
- 27) Hackenthal, E., Paul, M., Ganten, D., & Taugner, R. (1990) *Physiol. Rev.*, **70**, 1067-1116.
- 28) Imanishi, M., Kawamura, M., Akabane, S., Matsushima, Y., Kuramochi, M., Ito, K., Ohta, M., Kimura, K., Takamiya, M., & Omae, T. (1989) *Hypertension*, **14**, 461-468.
- 29) Wang, J.L., Cheng, H.F., & Harris, R.C. (1999) *Hypertension*, **34**, 96-101.
- 30) Jensen, B.L., Schmid, C., & Kurtz, A. (1996) *Am. J. Physiol.*, **271**, F659-F669.
- 31) Fujino, T., Nakagawa, N., Yuhki, K., Hara, A., Yamada, T., Takayama, K., Kuriyama, S., Hosoki, Y., Takahata, O., Taniguchi, T., Fukuzawa, J., Hasebe, N., Kikuchi, K., Narumiya, S., & Ushikubi, F. (2004) *J. Clin. Invest.*, **114**, 805-812.
- 32) Koide, M., Kawahara, Y., Nakayama, I., Tsuda, T., & Yokoyama, M. (1993) *J. Biol. Chem.*, **268**, 24959-24966.
- 33) Yamada, T., Fujino, T., Yuhki, K., Hara, A., Karibe, H., Takahata, O., Okada, Y., Xiao, C.Y., Takayama, K., Kuriyama, S., Taniguchi, T., Shiokoshi, T., Ohsaki, Y., Kikuchi, K., Narumiya, S., & Ushikubi, F. (2003) *Circulation*, **108**, 2381-2386.
- 34) Nakayama, I., Kawahara, Y., Tsuda, T., Okuda, M., & Yokoyama, M. (1994) *J. Biol. Chem.*, **269**, 11628-11633.
- 35) Ikeda, U., Yamamoto, K., Maeda, Y., Shimpo, M., Kanbe, T., & Shimada, K. (1997) *Hypertension*, **29**, 65-69.
- 36) Ma, H., Hara, A., Xiao, C.Y., Okada, Y., Takahata, O., Nakaya, K., Sugimoto, Y., Ichikawa, A., Narumiya, S., & Ushikubi, F. (2001) *Circulation*, **104**, 1176-1180.
- 37) Yuhki, K., Ueno, A., Naraba, H., Kojima, F., Ushikubi, F., Narumiya, S., & Oh-ishi, S. (2004) *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **311**, 1218-1224.
- 38) Yuhki, K., Ushikubi, F., Naraba, H., Ueno, A., Kato, H., Kojima, F., Narumiya, S., Sugimoto, Y., Matsushita, M., & Oh-ishi, S. (2008) *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **325**, 601-609.
- 39) Antman, E.M., Bennett, J.S., Daugherty, A., Furberg, C., Roberts, H., & Taubert, K.A. (2007) *Circulation*, **115**, 1634-1642.
- 40) Nguyen, M., Camenisch, T., Snouwaert, J.N., Hicks, E., Coffman, T.M., Anderson, P.A., Malouf, N.N., & Koller, B.H. (1997) *Nature*, **390**, 78-81.
- 41) Kennedy, C.R., Zhang, Y., Brandon, S., Guan, Y., Coffee, K., Funk, C.D., Magnuson, M.A., Oates, J.A., Breyer, M.D., & Breyer, R.M. (1999) *Nat. Med.*, **5**, 217-220.
- 42) Thomas, D.W., Mannon, R.B., Mannon, P.J., Latour, A., Oliver, J.A., Hoffman, M., Smithies, O., Koller, B.H., & Coffman, T.M. (1998) *J. Clin. Invest.*, **102**, 1994-2001.
- 43) Kobayashi, T., Tahara, Y., Matsumoto, M., Iguchi, M., Sano, H., Murayama, T., Arai, H., Oida, H., Yurugi-Kobayashi, T., Yamashita, J.K., Katagiri, H., Majima, M., Yokode, M., Kita, T., & Narumiya, S. (2004) *J. Clin. Invest.*, **114**, 784-794.
- 44) Guan, Y., Zhang, Y., Wu, J., Qi, Z., Yang, G., Dou, D., Gao, Y., Chen, L., Zhang, X., Davis, L.S., Wei, M., Fan, X., Carmosino, M., Hao, C., Imig, J.D., Breyer, R.M., & Breyer, M.D. (2007) *J. Clin. Invest.*, **117**, 2496-2505.
- 45) Watanabe, H., Katoh, T., Eiro, M., Iwamoto, M., Ushikubi, F., Narumiya, S., & Watanabe, T. (2005) *Circ. J.*, **69**, 124-126.
- 46) Cheng, Y., Austin, S.C., Rocca, B., Koller, B.H., Coffman, T.M., Grosser, T., Lawson, J.A., & FitzGerald, G.A. (2002) *Science*, **296**, 539-541.
- 47) Egan, K.M., Lawson, J.A., Fries, S., Koller, B., Rader, D.J., Smyth, E.M., & FitzGerald, G.A. (2004) *Science*, **306**, 1954-1957.
- 48) Rudic, R.D., Brinster, D., Cheng, Y., Fries, S., Song, W.L., Austin, S., Coffman, T.M., & FitzGerald, G.A. (2005) *Circ. Res.*, **96**, 1240-1247.