

# AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

上原記念生命科学財団研究報告集 (2002.11) 16巻:155～156.

受容体欠損マウスを用いた循環器系におけるプロスタノイドの役割の解明

牛首文隆

タイトル:

受容体欠損マウスを用いた循環器系におけるプロスタノイドの役割の解明

著者:

牛首 文隆

所属機関名:

旭川医科大学薬理学講座

協同研究者:

原 明義 旭川医科大学薬理学講座・助教授

結城 幸一 旭川医科大学薬理学講座・助手

藤野 貴行 旭川医科大学薬理学講座・助手

キーワード:

プロスタノイド、プロスタグランジン、トロンボキサン、虚血・再灌流、血小板

## 1. 緒言

プロスタノイドは、プロスタグランジン (PG) とトロンボキサン (TX) より成る生理活性脂質であり、生体内において非常に多彩な作用を示す。また、多種類のその受容体が心臓、血管、血小板などの循環器系の臓器・組織に多く発現している。従来、プロスタノイドのうち、PGI<sub>2</sub> は血小板活性化の抑制と血管平滑筋の弛緩作用を示し、一方、TXA<sub>2</sub> はこれとは逆の作用を示すことから、この両者のバランスが血栓傾向や動脈硬化の要因として重要と考えられきた。また、心筋虚血時においては、TXA<sub>2</sub> と PGE<sub>1</sub> が、各々その憎悪因子と保護因子としての働くことが示唆されている。このように、プロスタノイドには、循環器系において、血圧の調節、冠血流を含む種々の臓器の血流量の調節、動脈硬化の促進・抑制、血小板機能の調節、心虚血障害への関与、心筋肥大など多くの作用が想定されている。しかし、これらの作用が生理的・病態生理的どの程度重要なのか、あるいはプロスタノイド受容体のうち、どのタイプ・サブタイプの受容体が関与しているのかは必ずしも明らかではない。その理由として、解析手段に問題があることが挙げられる。従来、プロスタノイドの果たす役割の解析において、プロスタノイドの生合成を阻害するアスピリンやインドメタシンなどの非ステロイド性抗炎症薬、あるいは特異性の低い各プロスタノイド受容体アゴニスト・アンタゴニストが用いられてきた。しかし、これらの手段はある特定のプロスタノイドの作用を増強・抑制することは困難であり、その結果プロスタノイドの持つ役割を正確に評価することができなかった。そこで、本研究はプロスタノイド受容体欠損マウスを用いて解析を行い、循環器系におけるプロスタノイドの生理的・病態生理的役割の解明を目指した。

## 2. 方法

### A. 心筋の虚血・再灌流障害におけるプロスタノイドの役割の解析

マウスの左冠動脈を結紮後、再灌流し、心筋の虚血・再灌流障害を惹起した。その後、心臓の梗塞サイズを測定し、虚血・再灌流障害の指標とした。また、摘出灌流心臓を用いた解析(ランゲンドルフ法)を行い、虚血・再灌流障害の程度を心機能、心筋の代謝動態や逸脱酵素の測定により評価した。

### B. 圧負荷による心肥大・心線維化におけるプロスタノイドの役割の解析

マウスの横行大動脈を結紮し、心臓に後負荷を加えて左室肥大を誘発した。その時の心筋肥大と心線維化を組織学的に定量解析した。また、培養胎児心筋・非心筋細胞を用い、これらの細胞に対するプロスタノイドの作用を解析した。

### C. 血管リモデリングにおけるプロスタノイドの役割の解析

マウスの内頸動脈を結紮し、血管内膜肥厚を伴う血管リモデリングの系を確立した。この系を用い、血管リモデリングでの炎症性細胞の浸潤や平滑筋細胞の増殖に関し組織学的な解析を行った。また、マウスの大動脈からの血管平滑筋細胞を培養し、その増殖に対するプロスタノイドの作用を解析した。

### D. 血小板機能調節における PGE<sub>2</sub> の役割の解析

マウスから多血小板血漿血を調整し、PGE<sub>2</sub> の血小板凝集に対する効果を解析した。また、この作用の *in vivo* での役割を明らかにするため、出血時間とアラキドン酸誘発血栓モデルを用いた解析を行った。

## 2. 結果

A. PGI<sub>2</sub> 受容体(IP)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加していた。また、摘出灌流心臓を用いた解析において、IP 欠損マウスでは野生型マウスに比し、心機能、心筋代謝や逸脱酵素のいずれの指標においても、その虚血・再灌流障害の程度が有意に増強していた。一方、TXA<sub>2</sub> 受容体(TP)欠損マウスの虚血・再灌流障害の程度は、野生型マウスのもと同程度であった。これらの結果、PGI<sub>2</sub> は心筋の虚血・再灌流障害に対し保護作用を持つことが明らかとなった1)。

B. IP 欠損マウスでは野生型マウスに比し、圧負荷による心肥大が有意に増大していた。また、この肥大には、心筋細胞自体の肥大と間質の線維化が関与していた。培養細胞を用いた解析では、PGI<sub>2</sub> が非心筋細胞に対し、その増殖抑制作用を示した。これらの結果、PGI<sub>2</sub> は圧負荷による心肥大や心線維化に対し、その抑制作用を示すことが明らかとなった。

C. IP 欠損マウスでは野生型マウスに比し、頸動脈結紮後の血管内膜肥厚が著明に亢進していた。また、内膜肥厚に先行する血液細胞の浸潤が、IP 欠損マウスの血管では有意に増強していた。また、培養血管平滑筋に対し、PGI<sub>2</sub> はその増殖抑制作用を示した2)。これらの結果、PGI<sub>2</sub> は血管内膜肥厚を抑制する働きを持つことが明らかとなった。

D. PGE<sub>2</sub> は、それ自身では血小板凝集を惹起しなかった。しかし、他の凝集刺激物質による血小板凝集を増強させる作用を示し、この作用は PGE<sub>2</sub> 受容体サブタイプ的一种である EP<sub>3</sub> によって仲介された。また、EP<sub>3</sub> 欠損マウスでは野生型マウスに比し、出血時間やアラキドン酸誘発の肺血栓が有意に延長あるいは増強していた。これらの結果、PGE<sub>2</sub> は EP<sub>3</sub> を介して血小板機能を亢進させ、この作用が生理的な止血機構や病的な血栓形成において重要な役割を果たすことが解明された3)。

## 2. 考察

本研究により、プロスタノイドの循環器における重要な役割のいくつかが明らかとなった。これらには、PGI<sub>2</sub> の虚血・再灌流障害での心筋保護作用、PGI<sub>2</sub> の心肥大・線維化抑制作用、PGI<sub>2</sub> の血管内膜肥厚抑制作用や PGE<sub>2</sub> の血小板機能調節作用が含まれる。これらの研究成果は、プロスタノイドの生体における役割のさらなる解明に資するとともに、種々の循環器疾患の治療薬としてのプロスタノイド関連物質の開発に繋がることを期待される。

## 引用文献

1. Xiao, C.-Y., Hara, A., Yuhki, K., Fujino, T., Ma, H., Okada, Y., Takahata, O., Yamada, T., Murata, T., Narumiya, S. & Ushikubi, F.: Roles of prostaglandin I<sub>2</sub> and thromboxane A<sub>2</sub> in cardiac ischemia-reperfusion injury; a study using mice lacking their respective receptors. *Circulation*, **104**: 2210-2215, 2001.

2. Fujino, T., Yuhki, K., Yamada, T., Hara, A., Takahata, O., Okada, Y., Xiao, C.-Y., Ma, H., Karibe, H., Iwashima, Y., Fukuzawa, J., Hasebe, N., Kikuchi, K., Narumiya, S. & Ushikubi, F. Effects of the prostanoids on the proliferation or hypertrophy of cultured murine aortic smooth muscle cells. *Br. J. Pharmacol.*, 2002, *in press*.
3. Ma, H., Hara, A., Xiao, C.-Y., Okada, Y., Takahata, O., Nakaya, K., Sugimoto, Y., Ichikawa, A., Narumiya, S. & Ushikubi, F. Increased bleeding tendency and decreased susceptibility to thromboembolism in mice lacking the prostaglandin E receptor subtype EP3. *Circulation* **104**: 1176-1180, 2001.