

AMCoR

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

眼薬理 (2007.08) 21巻1号:7~14.

プロスタグランジンの心血管系疾患病態形成における役割

牛首文隆

はじめに

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、その作用は各々に特異的な受容体を介して発揮される。現在、PGD₂、PGE₂、PGF₂α、PGI₂、TXA₂ の受容体として DP、EP、FP、IP、TP が知られており、EP には EP₁~EP₄ の4種類のサブタイプが存在する¹⁾。一方、これら多種類の受容体は、心臓、血管、腎臓や血小板など心血管系の臓器や細胞に広く発現している。また、心血管系で認められる様々な病態に伴い、プロスタノイド産生が亢進することが知られており、その心血管系での作用が注目されてきた。しかし、これらプロスタノイドの作用が生理的・病態生理的のどの程度重要な役割を果たすのかに関し、今だ不明な点が多い。本稿では、各プロスタノイド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、心血管系疾患の病態形成におけるプロスタノイドの役割について紹介する。

1. 心筋梗塞

心筋梗塞は、冠状動脈の閉塞に起因するが、その基本病態は心臓の虚血・再灌流障害と考えられている。また近年、食事や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。一方、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、その心虚血・再灌流障害への関与が示唆されてきた²⁾。実際我々は、PGI₂ が心臓の虚血・再灌流障害において保護的な役割を果たすことを報告している³⁾。また最近、EP₃ アゴニストが様々な動物種において心保護作用を示すことが報告されている⁴⁾。そこで今回、PGE₂ の心虚血・再灌流障害における役割を解析した⁵⁾。

心臓での EP サブタイプ mRNA の発現解析の結果、EP₄ mRNA が最も多く発現していた(図1a)。そこで、PGE₂-EP₄ 系の役割を解明するため、まず、マウス冠動脈前下行枝を1時間閉塞した後、24 時間再灌流させる心筋梗塞モデルを用いた解析を行った。その結果、EP₄ 欠損マウスでは、野性型マウスに比し梗塞サイズが有意に増大していた(図1b)。また、摘出灌流心臓を用いた解析では、虚血・再灌流負荷による心機能傷害の程度や心筋からの逸脱酵素量(図1c)が、EP₄ 欠損マウスでは野性型マウスに比し有意に増加していた。これらの結果、PGE₂ が EP₄ を介して虚

血・再灌流傷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。ついで、この心保護作用が、心筋細胞あるいは間質細胞(非心筋細胞)のどちらに対する作用に起因するかを、培養細胞を用い検討した。EP₄ アゴニストである AE1-329 は、非心筋細胞において濃度依存的に細胞内 cAMP 濃度を著明に増加させたが、心筋細胞に対するこの作用は弱く、PGE₂ は間質細胞の EP₄ を介して働くことが示唆された(図1d)。また、EP₄ アゴニストである ONO-4819 の *in vivo* 心筋梗塞モデルでの効果を検討することにより、そ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1e)。この結果、EP₄ アゴニストは、心筋梗塞治療薬として有望なことが示された。

従来、PGE₂ 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おり、実際 PGE₂ 類縁物質が胃潰瘍の予防に用いられている。また最近、内因性 PGE₂ の EP₂ を介した脳虚血傷害における神経保護作用が報告されている⁶⁾。一方、今回の結果は、心臓の虚血・再灌流傷害に際し内因性 PGE₂ が EP₄ を介して心保護に働くことを明らかにするとともに、EP₄ アゴニストの心筋梗塞治療薬としての可能性を提示するものである。

2. 心肥大

心肥大は、生体の要求に応じた代償反応として生理的に重要な機構であるが、終局的には心機能の破綻に繋がる現象と考えられている。また現在、高齢化社会の到来に伴い高血圧症に罹患する患者が増加し、それに起因する圧負荷心肥大の管理が重要な課題となっている。一方、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。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⁷⁾。

プロスタノイド受容体 mRNA の心臓での発現解析では、EP₂、EP₃、EP₄、FP、IP および TP mRNA の発現が確認された(図2a 上図)。これら受容体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。結果、野性型マウスでは、術後に明らかな心肥大が認められた。また、上記6種類の受容体各欠損マウスでは、唯一 IP 欠損マウスのみが野性型マウスに比して有意な心肥大の亢進を示し、他の受容体欠損マウスでの心肥大の程度は野性型マウスのそれと比較して差が認められなかった(図2a 下図)。この結果、PGI₂-IP 系が圧負荷心肥大に対し抑制的に働くことが示唆された。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2b)。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、この両者共に IP 欠損マウスにおいて有意に亢進しており(図2c)、PGI₂-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、心肥大のマーカ―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)の発現も、野性型マウスでの発現上昇が認められない早期において、IP 欠損マウスで有意に亢進していた(図2d)。この結果は、PGI₂-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 による心筋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(図2e)。これらの結果、PGI₂ 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、PGI₂ 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、PGI₂ 製剤は閉塞性動脈硬化症や原発性肺高血圧症の有効的な治療薬として用いられている。一方今回の結果は、PGI₂ 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唆するものであり、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。

3. 炎症性頻拍

感染症などの全身性炎症(systemic inflammation)時には、発熱と共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 PGE₂ が EP₃ 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⁸⁾。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。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⁹⁾。

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、PGF₂ α と TP アゴニストである I-BOP が各々 FP と TP を介して拍動数を著明に上昇させた(図3a)。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、洞傍結節(SA node)を含む限局した部分に存在した。一方、野性型マウス摘出右心房を炎症性サイトカイン(IL-1 β、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頻拍の初期相は TP 欠損マウス心房で消失し、二次相は FP 欠損マウス心房で消失した(図3b)。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傍結節周辺での TXA₂ および PGF₂ 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すと考えられた。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。野性型マウスでは、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3c)。さらに、この炎症性頻脈の初期相は 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、野性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3d)。一方、プロスタノイド産生の律速酵素として常在型酵素であるシクロオキシゲナーゼ (COX)-1 と誘導型の COX-2 が存在するが、炎症性頻脈における TXA₂ および PGF₂ α の産生にどちらのタイプの COX 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3e)。

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傍結節周辺で TXA₂ および PGF₂ 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。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⁸⁾や視床下部-下垂体-副腎軸活性化¹⁰⁾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。

4. 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。レニンは、RAA 系活性化の律速酵素であり、腎臓の傍糸球体装置の顆粒細胞から分泌される。またレニン分泌は、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¹¹⁾。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や、PGE₂ や PGI₂ 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、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、そ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¹²⁾。

マウスの片側腎動脈を狭窄し (2K1C モデル)、血圧の変動を経時的に観察した。野性型マウスの血圧は、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、野性型マウスに比し、その血圧上昇の程度は著明に減弱していた(図4a)。一方、EP₁ ~ EP₄ の各々を欠損するマウスでは、その血圧上昇の程度は野性型マウスと同等であった。この結果、PGI₂-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 PGE₂ 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。野性型マウスでは、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、野性型マウスに比して 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 PGI₂ 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4b)。実際、培養顆粒細胞を用いた解析では、PGI₂ 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、PGE₂ にはこの作用が認められなかった(図4c)。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4d)、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 PGI₂ は COX-2 に由来することが示唆された。

従来、PGI₂ は血管弛緩性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、PGI₂ 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。このように、PGI₂ 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。

おわりに

従来、プロスタノイドの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。例えば、本稿で紹介したように、心血管系の疾患や病態においても、心保護作用、心肥大抑制作用、炎症性頻脈を含めた急性期反応の制御、レニン分泌を介した血圧制御など、プロスタノイドの新規役割が明らかにされてきている。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¹³⁾。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。

今回紹介したプロスタノイドの役割は、緑内障、眼底動脈の動脈硬化性・糖尿病性変化、網膜の虚血性疾患、網膜血管新生、炎症性眼疾患など、多くの眼科領域疾患

の病態解析にも関連することが示唆される。

最後に、特別講演の機会をあたえて下さった第 26 回日本眼薬理学会 村松 郁延
学会長に感謝申し上げます。

文献

1) Narumiya S, Sugimoto Y, Ushikubi F: Prostanoid receptors: structures, properties and functions. *Physiol Rev* 79: 1193-1226, 1999.

2) Shinmura K, Tang XL, Wang Y, et al: Cyclooxygenase-2 mediates the cardioprotective effects of the late phase of ischemic preconditioning in conscious rabbits. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 10197-10202, 2000.

3) Xiao C-Y, Hara A, Yuhki K, et al: Roles of prostaglandin I2 and thromboxane A2 in cardiac ischemia-reperfusion injury; a study using mice lacking their respective receptors. *Circulation* 104: 2210-2215, 2001.

4) Hohlfeld T, Meyer-Kirchrath J, Vogel YC, Schr 嗽 K: Reduction of infarct size by selective stimulation of prostaglandin EP3 receptors in the reperfused ischemic pig heart. *J Mol Cell Cardiol* 32: 285-296, 2000.

5) Xiao C-Y, Yuhki K, Hara A, et al: Prostaglandin E2 protects the heart from ischemia-reperfusion injury via its receptor subtype EP4. *Circulation* 109: 2462-2468, 2004.

6) McCullough L, Wu L, Haughey N, et al: Neuroprotective function of the PGE2 EP2 receptor in cerebral ischemia. *J Neurosci* 24: 257-268, 2004.

7) Hara A, Yuhki K, Fujino T, et al: Augmented cardiac hypertrophy in response to pressure overload in mice lacking the prostaglandin I2 receptor. *Circulation* 112: 84-92, 2005.

8) Ushikubi F, Segi E, Sugimoto Y, et al: Impaired febrile response in mice lacking the prostaglandin E receptor subtype EP3. *Nature* 395: 281-284, 1998.

9) Takayama K, Yuhki K, Ono K, et al: Thromboxane A2 and prostaglandin F2a mediate inflammatory tachycardia. *Nat Med*: 11: 562-566, 2005.

10) Matsuoka Y, Furuyashiki T, Bito H, et al: Impaired adrenocorticotrophic

hormone response to bacterial endotoxin in mice deficient in prostaglandin E receptor EP1 and EP3 subtypes. *Proc Natl Acad Sci USA* 100: 4132-4137, 2003.

11) Hackenthal E, Paul M, Ganten D, Taugner R: Morphology, physiology, and molecular biology of renin secretion. *Physiol Rev* 70: 1067-1116, 1990.

12) Fujino T, Nakagawa N, Yuhki K, et al: Decreased susceptibility to renovascular hypertension in mice lacking the prostaglandin I2 receptor IP. *J Clin Invest* 114: 805-812, 2004.

13) Couzin J: Withdrawal of Vioxx casts a shadow over COX-2 inhibitors. *Science* 306: 384-385, 2004.

図の説明

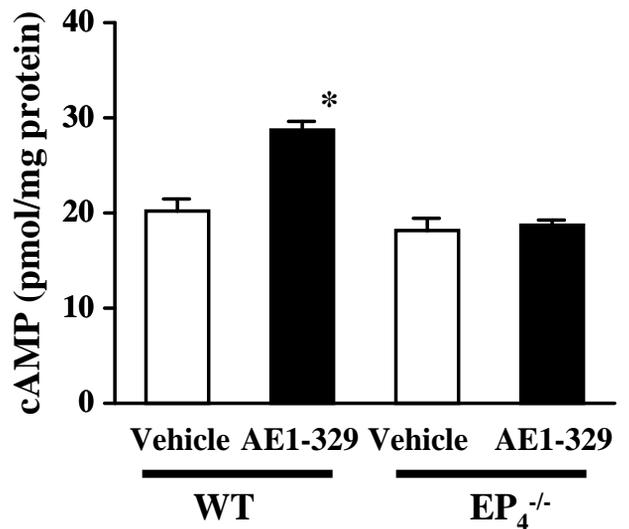
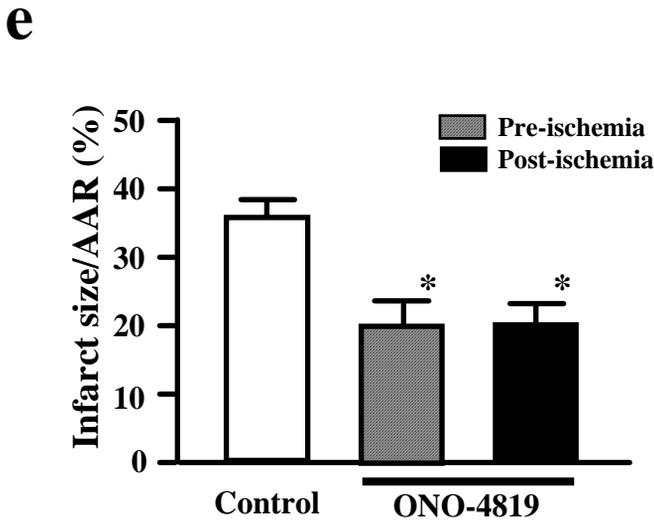
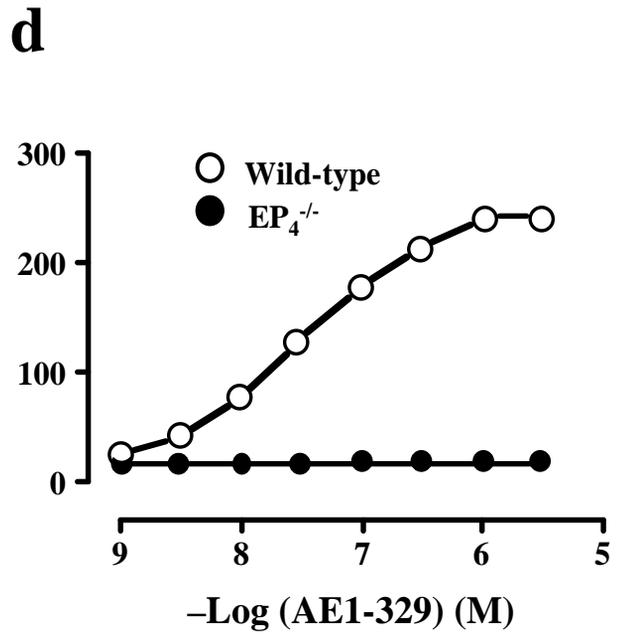
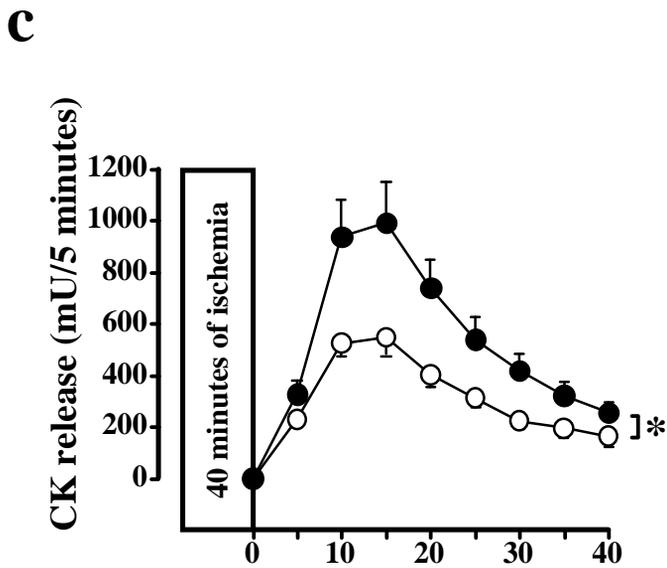
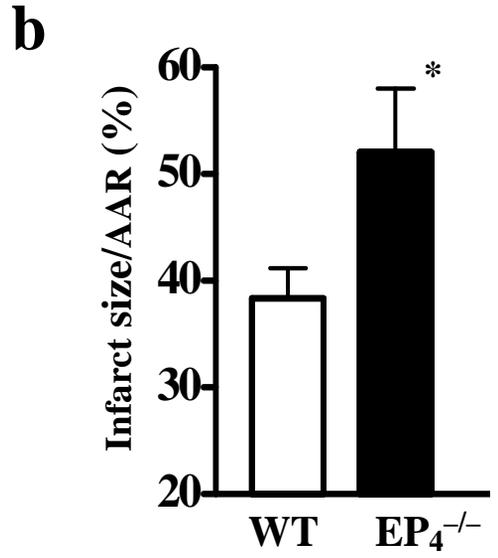
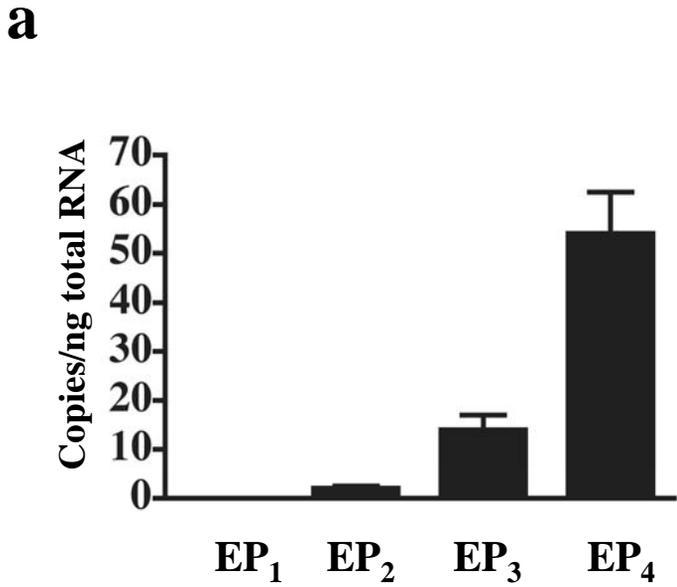
図1. (a) 心臓における PGE₂ 受容体 サブタイプ mRNA の発現。競合的 RT-PCR 法により、各受容体 mRNA の発現量を定量した。(b) 冠動脈結紮モデルにおける心筋梗塞サイズ。梗塞サイズは、結紮した冠動脈左前下行枝の灌流領域サイズに対する梗塞サイズの比率で示した。* P < 0.05 vs WT mice。(c) 摘出心臓に対し、Langendorff 式灌流下に虚血・再灌流負荷を加え、心筋からの逸脱酵素である creatine kinase (CK) を定量した。この手法は、液性因子や神経系の影響を除外でき、内因性 PGE₂ の心臓での直接作用が観察可能である。* P < 0.05 vs WT mice。(d) 培養非心筋細胞(上図)と心筋細胞(下図)の細胞内 cAMP 濃度に対する EP4 特異的アゴニストである AE1-329 の作用。EP4 の主要な情報伝達経路は、adenylate cyclase の活性化を介した cAMP の上昇である。* P < 0.05 vs vehicle control。(e) EP4 特異的アゴニストである ONO-4819 の虚血・再灌流障害における心保護作用。ONO-4819 (0.3 mg/kg)は、冠動脈結紮前 60 分(pre-ischemia)あるいは結紮後 50 分(post-ischemia)の時点で皮下投与された。* P < 0.05 vs control。

図2. (a) 心臓におけるプロスタノイド受容体 mRNA の発現(上図)と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(下図)。* P < 0.05 vs WT mice。(b) 大動脈縮窄2週間での心筋細胞肥大を示す組織標本(上図、x 300)と心筋細胞の横断面積(下図)。* P < 0.05 vs Sham、† P < 0.05 vs WT mice。(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 mice。(d) 大動脈縮窄後1週間での心臓における ANP mRNA の発現。野性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 mice。(e) 培養非心筋および心筋細胞の細胞内 cAMP 濃度([cAMP]_i)に対する cicaprost の作用。* P < 0.05 vs control。

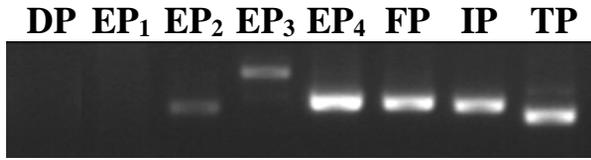
図3. (a) 摘出右心房の拍動数に対する PGF₂α (上図)と I-BOP(下図)の陽性変時作用。PGF₂α の作用は、FP 欠損マウスの心房で消失した。一方、I-BOP の作用は一次相(EC₅₀ = 10⁻¹¹ M)と二次相(EC₅₀ = 3 x 10⁻⁷ M)から成るが、主要な一次相は TP 欠損マウスで消失し、FP への交叉反応と考えられる二次相は FP 欠損マウスで消失した。(b) 摘出右心房の拍動数に対する炎症性サイトカインの陽性変時作用。サイトカイン刺激として、IL-1β (20 ng/ml)、TNF-α (20 ng/ml)と INF-γ (10 ng/ml)を混合して用いた。+ Indo; indomethacin 前処理。(c) 野性型マウスにおける LPS 誘発頻脈とそれに対する propranolol の効果。Propranolol (10

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、野性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、COX-2 選択的阻害薬として SC-58125、両者の阻害薬として indomethacin を用いた。

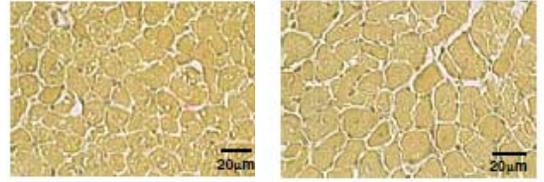
図4. (a) 片側腎動脈結紮によって惹起された腎血管性高血圧。IP 欠損マウスでのみ、腎血管性高血圧の著明な軽減が認められる。(b) 腎動脈結紮後7日での血漿レニン活性(PRA) (上図)と血漿アルドステロン濃度(PAC) (下図)。* $P < 0.05$ vs WT mice。(c) 培養顆粒細胞のレニン mRNA 発現に対する cicaprost と PGE₂ の作用。(d) 腎動脈結紮後の腎臓における COX-2 発現誘導。



a

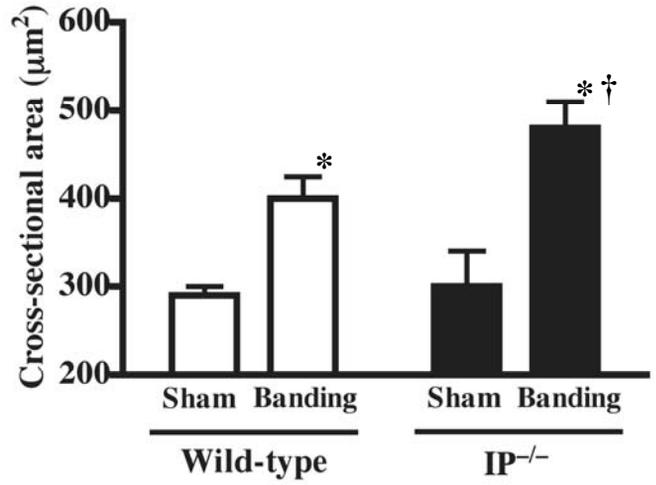
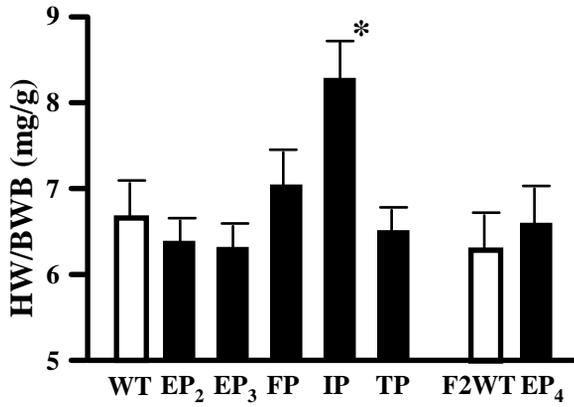


b

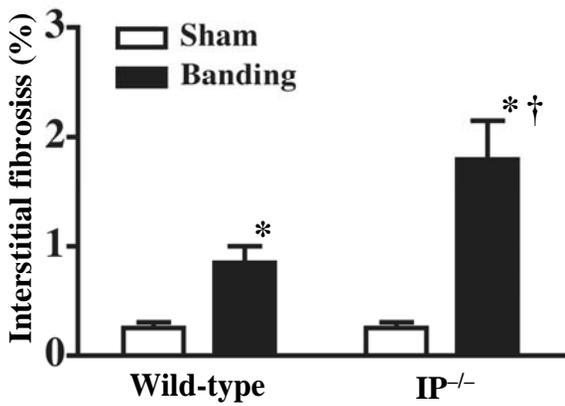


Wild-type

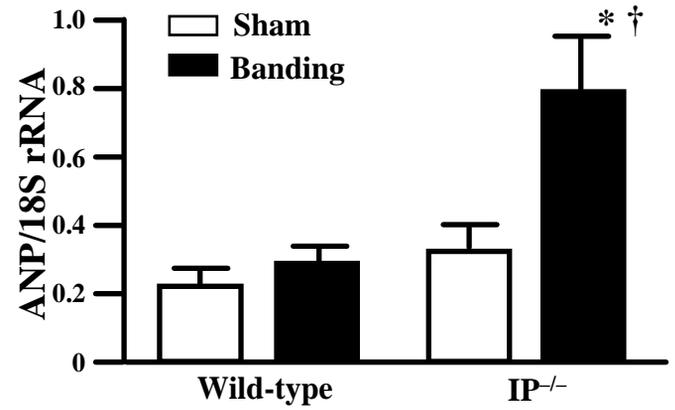
IP^{-/-}



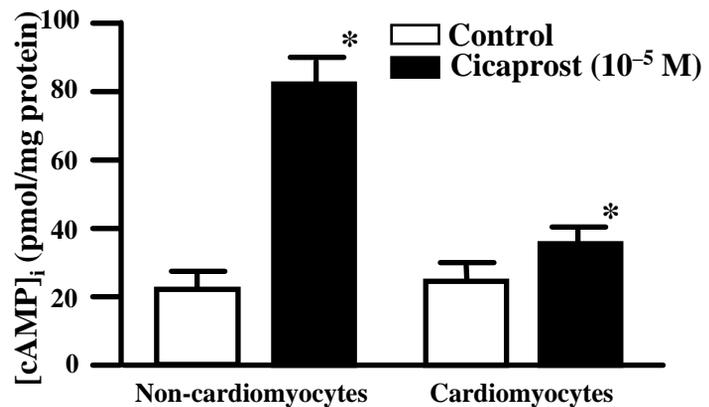
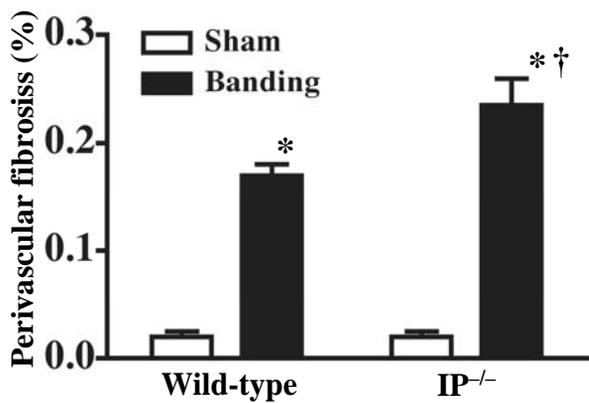
c



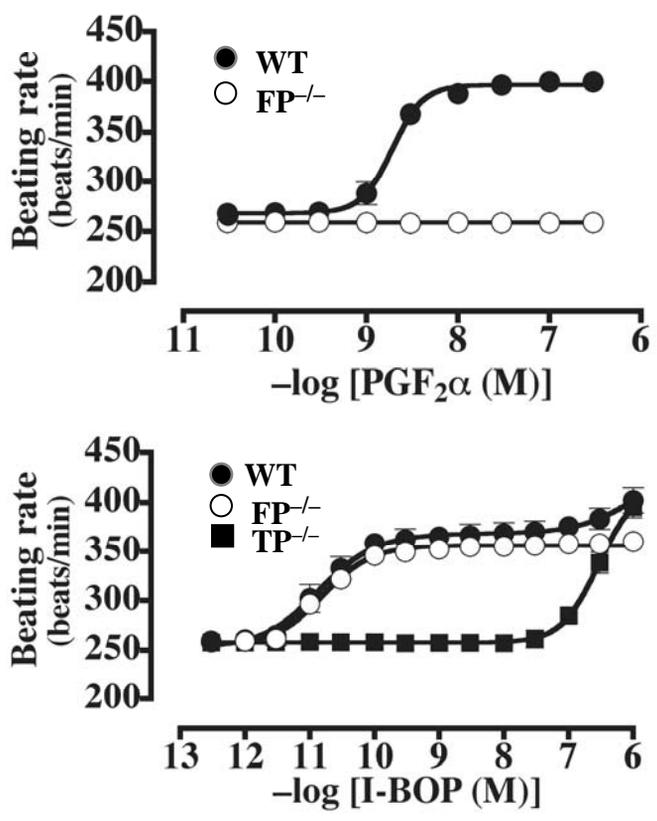
d



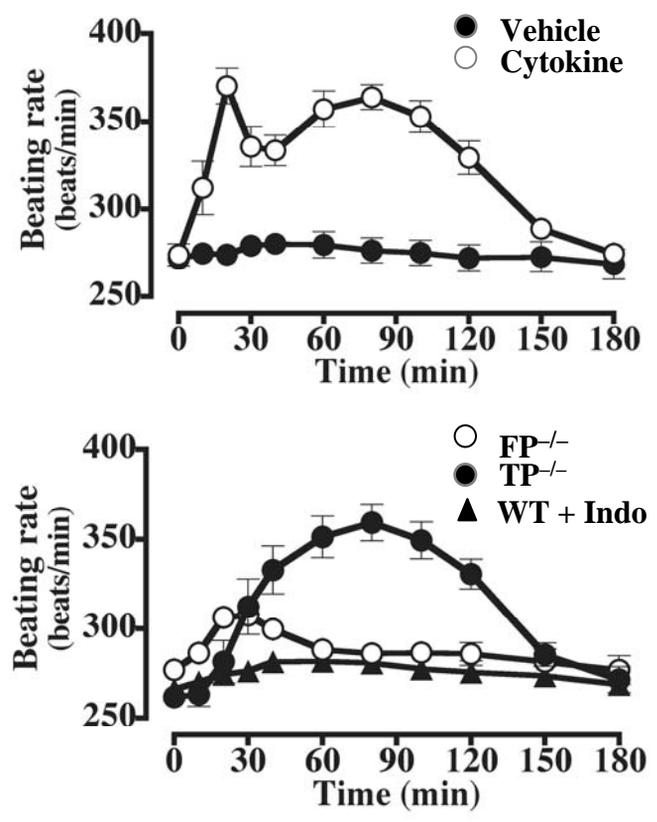
e



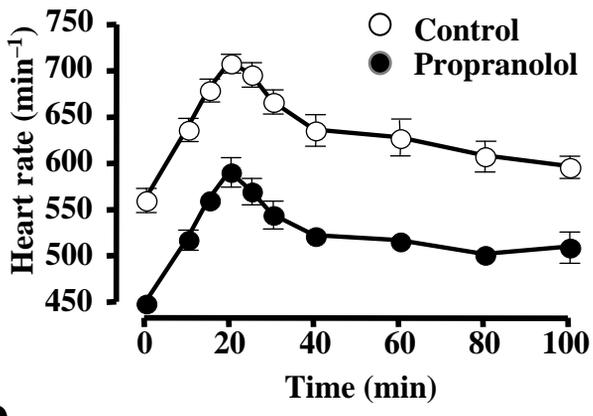
a



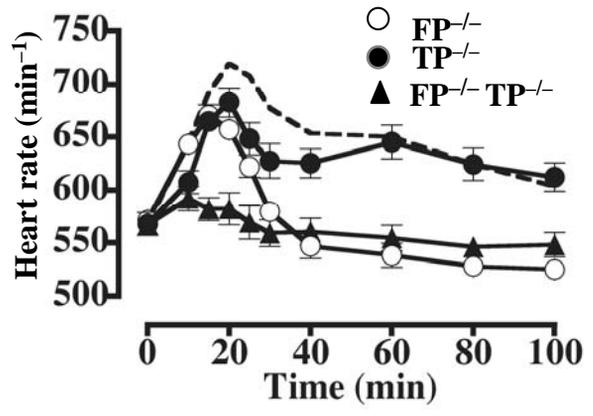
b



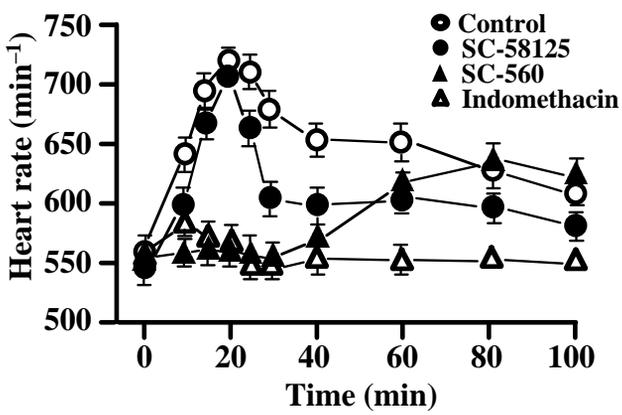
c



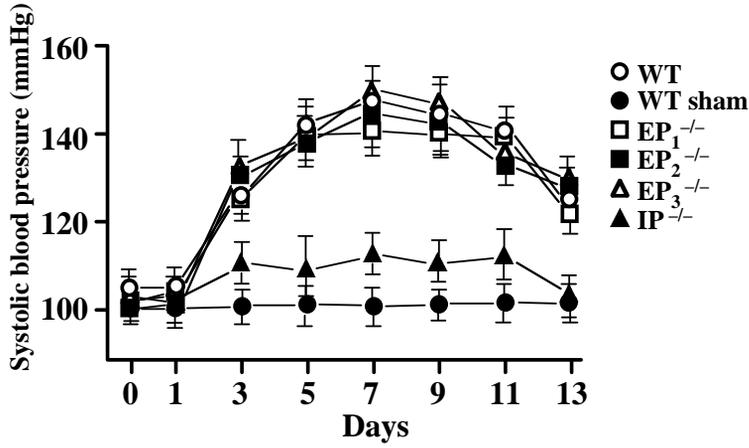
d



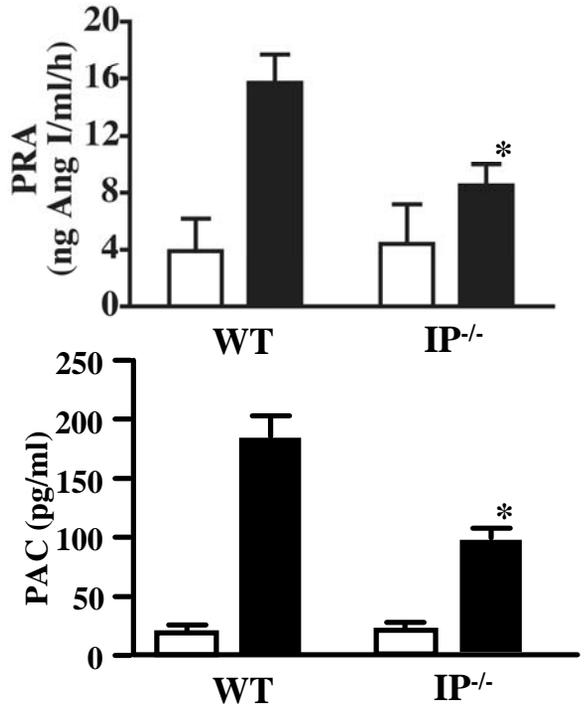
e



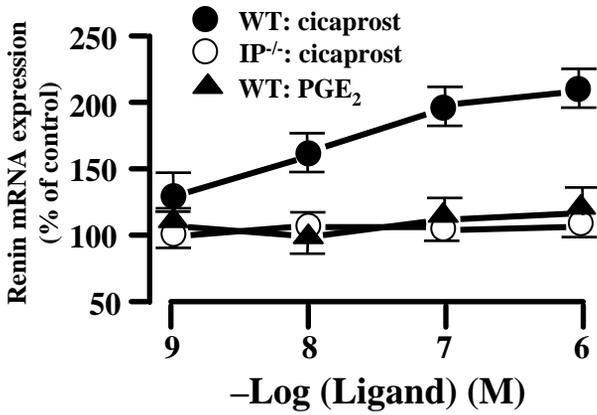
a



b



c



d

