

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

(研究課題番号：11470020)

研究課題

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

平成11年度～平成12年度科学研究費補助金
基盤研究(B)(2) 研究成果報告書

研究課題番号

11470020

研究組織

研究代表者：牛首文隆(平成14年5月・医学部・教授)

研究分担者：原明(旭川医科大学・医学部・助教授)

研究代表者 牛首文隆
(旭川医科大学医学部 教授)

研究経費

平成11年度 7,600千円

平成12年度 7,000千円

計 14,600千円

平成11年度～平成12年度科学研究費補助金
基盤研究(B)(2) 研究成果報告書

研究課題

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

研究課題番号

11470020

研究組織

研究代表者：牛 首 文 隆（旭川医科大学・医学部・教授）
研究分担者：原 明 義（旭川医科大学・医学部・助教授）

研究経費

平成11年度	7,600千円
平成12年度	7,000千円
計	14,600千円

研究の背景・目的および成果の要約

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る。これらの物質は、生体内において非常に多彩な作用を示すが、それは標的細胞表面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ている。これらの受容体は、各々 PGD_2 、 PGE_2 、 $PGF_{2\alpha}$ 、 PGI_2 、 TXA_2 の受容体である DP、EP、FP、IP、TP より成り、EP には4種類のサブタイプ受容体である EP_1 、 EP_2 、 EP_3 、 EP_4 が存在する。また、多種類のプロスタノイド受容体が、心臓、腎臓、血管などの心血管系の臓器や、血小板、リンパ球、好中球などの血液細胞に多く発現している。一方、心血管系での種々の病態において、プロスタノイドの産生が亢進することが知られている。

従来、プロスタノイドの心血管系での作用として血圧・冠血流量の調節、動脈硬化の促進や抑制、血小板機能の調節、心筋虚血障害の保護や憎悪作用、心筋肥大の促進や抑制などが示唆されている。しかし、これらの作用が生理的・病態生理的にどの程度重要な役割を果たすのか、あるいは、どのタイプ・サブタイプの受容体が、これらの作用に関与しているのかは不明である。そこで、本研究は8種類の各プロスタノイド受容体を欠損するマウスを用い、心血管系におけるプロスタノイドの生理的・病態生理的役割を解明することを目的とした。

本研究の基礎的な成果として、マウスを用いた心血管系での *in vivo*, *in vitro* 解析系の立ち上げが挙げられる。まず、*in vivo* の系では、マウスの大動脈狭窄による心肥大モデル、冠動脈結紮による急性心筋梗塞・心筋リモデリングの系、頸動脈結紮や大腿動脈周囲へのカフの留置による血管内膜肥厚モデル、アラキドン酸やコラーゲン静注による血管内血栓形成モデル、腎動脈結紮による腎血管性高血圧モデルなどの確立に成功した。また、*in vitro* の系として、マウス胎仔心筋細胞培養系、摘出灌流心臓の解析系 (Langendorff 法)、大動脈平滑筋培養系、血小板凝集系などを確立した。この成果は、将来的にもプロスタノイドの循環器系における役割の解明に貢献するものと考えられる。

本研究の本来の成果として、まず確立された実験系を用い、 PGE_2 の血小板機能調節を介した止血・血栓形成での役割の重要性を解明した。また、心臓の虚血・再灌流障害における PGI_2 の心筋保護の役割を明らかにした。また、圧負荷に伴う心肥大・心線維化、血管リモデリングや血管トーン・血圧調節などにおけるプロスタノイドの新たな役割を見い出しており、現在研究を継続中である。

研究発表

1. Hizaki, H., Segi, E., Sugimoto, Y., Hirose, M., Saji, T., Ushikubi, F., Matsuoka, T., Noda, Y., Tanaka, T., Yoshida, N., Narumiya, S. and Ichikawa, A. Abortive expansion of the cumulus and impaired fertility in mice lacking the prostaglandin E receptor subtype EP₂. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **96**: 10501-10506, 1999.
2. Narumiya, S., Sugimoto, Y. and Ushikubi, F. Prostanoid receptors: structures, properties and functions. *Physiol. Rev.* **79**: 1193-1226, 1999.
3. Takeuchi, K., Ukawa, H., Kato, S., Furukawa, O., Araki, H., Sugimoto, Y., Ishikawa, A., Ushikubi, F. and Narumiya, S. Impaired duodenal bicarbonate secretion and mucosal integrity in mice lacking prostaglandin E-receptor subtype EP₃. *Gastroenterology* **117**: 1128-1135, 1999.
4. Watanabe, K., Kawamori, T., Nakatsugi, S., Ohta, T., Ohuchida, S., Yamamoto, H., Maruyama, T., Kondo, K., Ushikubi, F., Narumiya, S., Sugimura, T. and Wakabayashi, K. Role of the prostaglandin E receptor subtype EP₁ in colon carcinogenesis. *Cancer Res.* **59**: 5093-5096, 1999.
5. Sakuma, Y., Tanaka, K., Suda, M., Yasoda, A., Natsui, K., Tanaka, I., Ushikubi, F., Narumiya, S., Segi, E., Sugimoto, Y., Ichikawa, A. and Nakao, K. Crucial involvement of the EP₄ subtype of prostaglandin E receptor in osteoclast formation by proinflammatory cytokines and lipopolysaccharide. *J. Bone. Miner. Res.* **15**: 218-227, 2000.
6. Suzawa, T., Miyaura, C., Inada, M., Maruyama, T., Sugimoto, Y., Ushikubi, F., Ichikawa, A., Narumiya, S. and Suda, T. The role of prostaglandin E receptor subtypes (EP₁, EP₂, EP₃, and EP₄) in bone resorption: an analysis using specific agonists for the respective EPs. *Endocrinology* **141**: 1554-1559, 2000.
7. Matsuoka, T., Hirata, M., Tanaka, H., Takahashi, Y., Murata, T., Kabashima, K., Sugimoto, Y., Kobayashi, T., Ushikubi, F., Aze, Y., Yoshida, N., Honda, Y., Nagai, H. and Narumiya, S. Prostaglandin D₂ as a mediator of allergic asthma. *Science* **287**: 2013-2017, 2000.
8. Miyaura, C., Inada, M., Suzawa, T., Sugimoto, Y., Ushikubi, F., Ichikawa, A., Narumiya, S. and Suda, T. Impaired bone resorption to prostaglandin E₂ in prostaglandin E receptor EP₄-knockout mice. *J. Biol. Chem.* **275**: 19819-19823, 2000.
9. Kobayashi, T., Ushikubi, F. and Narumiya, S. Amino acid residues conferring ligand binding properties of prostaglandin I and prostaglandin D receptors; identification by site-directed mutagenesis. *J. Biol. Chem.* **275**: 24294-24303, 2000.

10. Ushikubi, F., Sugimoto, Y., Ichikawa, A. and Narumiya, S. Roles of prostanoids revealed from studies using mice lacking specific prostanoid receptors. *Jpn. J. Pharmacol.* **83**: 279-285, 2000.
11. Okada, Y., Hara, A., Ma, H., Xiao, C.-Y., Takahata, O., Kohgo, Y., Narumiya, S. and Ushikubi, F. Characterization of prostanoid receptors mediating contraction of the gastric fundus and ileum: Studies using mice deficient in prostanoid receptors. *Br. J. Pharmacol.* **131**: 745-755, 2000.
12. Iwashima, Y., Eto, M., Hata, A., Kaku, K., Horiuchi, S., Ushikubi, F. and Sano, H. Advanced glycation end products-induced gene expression of scavenger receptors in cultured human monocyte-derived macrophages. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **277**: 368-380, 2000.
13. Sakuma, Y., Tanaka, K., Suda, M., Komatsu, Y., Yasoda, A., Miura, M., Ozasa, A., Narumiya, S., Sugimoto, Y., Ichikawa, A., Ushikubi, F. and Nakao, K. Impaired bone resorption by lipopolysaccharide in vivo in mice deficient in the prostaglandin E receptor EP4 subtype. *Infect. Immun.* **68**: 6819-6825, 2000.
14. Ma, H., Hara, A., Xiao, C.-Y., Okada, Y., Takahata, O., Nakaya, K., Sugimoto, Y., Ichikawa, A., Narumiya, S. and Ushikubi, F. Increased bleeding tendency and decreased susceptibility to thromboembolism in mice lacking the prostaglandin E receptor subtype EP₃. *Circulation* **104**: 1176-1180, 2001.
15. Xiao, C.-Y., Hara, A., Yuhki, K., Fujino, T., Ma, H., Okada, Y., Takahata, O., Yamada, T., Murata, T., Narumiya, S. and Ushikubi, F. 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.