

# AMCoR

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

最新医学 (2000.02) 55巻2号:273～279.

発熱とプロスタグランジンE2受容体

牛首文隆

発熱とプロスタグランジン E<sub>2</sub> 受容体

牛首文隆\*

## はじめに

プロスタグランジン (PG) とトロンボキサン (TX) より成るプロスタノイドは、炭素数 20 個の不飽和脂肪酸であるアラキドン酸から、シクロオキシゲナーゼ (COX) とおのおののプロスタノイドに特異的な合成酵素によって合成される生理活性物質である (図 1)。アラキドン酸は、種々の生理的・病理的な刺激に応じて活性化されたホスホリパーゼ A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) の作用によって膜リン脂質より遊離し、プロスタノイドが合成される。プロスタノイドは、その合成直後に細胞外に放出される。プロスタノイドのうち PGL<sub>2</sub> と TXA<sub>2</sub> は化学的に不安定であり、生理的条件下では 30 秒から数分の半減期で不活性な物質に変化する。それ以外の PG は化学的には比較的安定であるが、肺血管内皮に存在する PG 特異的のトランスポーターにより細胞内に取り込まれて代謝を受け、不活化される。プロスタノイドの示すこの性質から、プロスタノイドは合成された局所で作用し、そのホメオスタシスの維持や局所での病態形成に働くオートコイドと考えられる。

プロスタノイドは、生体内の種々の臓器や組織において非常に多彩な作用を示す。また、これらの作用は標的細胞上に存在するおのおののプロスタノイドに特異的な受容体を介して発揮される。PGD<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub>, PGF<sub>2α</sub>, PGL<sub>2</sub>, TXA<sub>2</sub> に特異的な受容体として、おのおの DP, EP, FP, IP, TP が知られている。さらに EP には EP<sub>1</sub>, EP<sub>2</sub>, EP<sub>3</sub>, EP<sub>4</sub> の 4 種類のサブタイプが存在する<sup>1-4)</sup>。しかし、最近になって TP が

ヒト血小板より精製され<sup>5)</sup>、その cDNA がクローン化されるまで<sup>6)</sup>、プロスタノイド受容体の本態は全く不明であった。これらの研究の結果、TP は 7 回膜貫通構造を持ち、Gタンパク質と関連するロドプシン型の受容体であることが明らかとなった。また、ホモロジークローニングによって、マウスの 8 種類のプロスタノイド受容体 (DP, EP<sub>1</sub>, EP<sub>2</sub>, EP<sub>3</sub>, EP<sub>4</sub>, FP, IP, TP) の 1 次構造が解明された<sup>3)</sup>。次いで、種々の培養細胞系を用いて発現された均一な受容体標本に対して、そのリガンド結合の特異性や情報伝達機構が詳細に解析された。またプロスタノイド受容体 mRNA の発現分布が、ノーザンブロット解析や *in situ* ハイブリダイゼーション法を用いて明らかにされつつある。

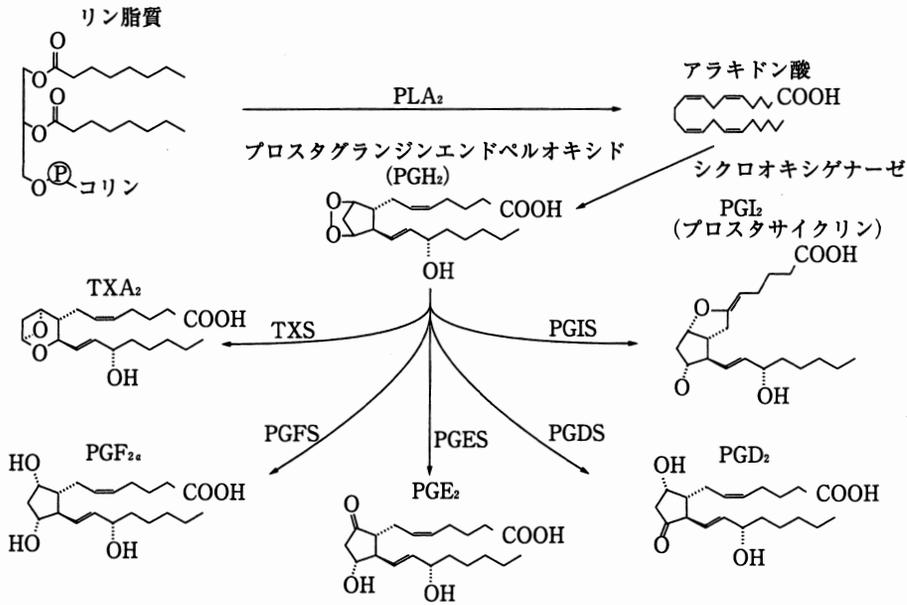
しかし、実際に生体内でプロスタノイドが果たす役割やその意義について、十分には解明されていない。また、発熱などのよく知られた PGE<sub>2</sub> の作用にどの受容体サブタイプが関与するかについても必ずしも明らかではなかった。これらの問題を解決するため、最近になっておのおののプロスタノイド受容体を欠失するマウスが遺伝子ターゲティング法により作出され、種々の生理的・病態生理的な状況においてプロスタノイドが果たす役割が解析・評価されつつある<sup>4)</sup>。本稿では、これらの解析によって明らかにされた、プロスタノイドの発熱反応において果たす役割を紹介したい。

## プロスタノイドと発熱

従来、発熱がプロスタノイドの産生を阻害するアスピリンなどの抗炎症薬によって抑制される<sup>7)</sup> ことから、プロスタノイドが発熱にとって重要な役割を果たすと考えられてきた。中でも

\* 旭川医科大学 薬理学教室

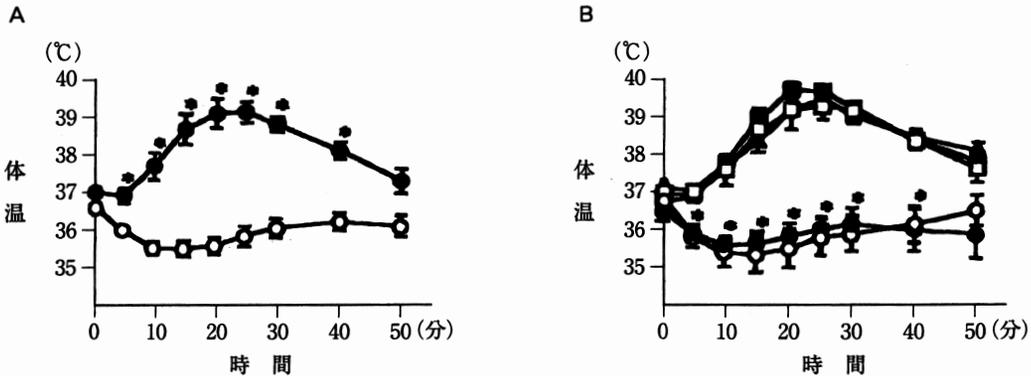
図1 プロスタノイドの生合成経路



S: シンターゼ

略語: 巻末の「今月の略語」参照

図2 プロスタグランジン E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) による発熱



A: 野生型マウスでの PGE<sub>2</sub> 誘発発熱

PGE<sub>2</sub> (1 nmol) を脳室内に投与し、直腸温を経時的に計測した。PGE<sub>2</sub> 投与後 20~25 分をピークとして一過性の発熱を認める。ピークを投与したマウスでの一過性の体温低下はエーテル麻酔による。

●; PGE<sub>2</sub> 投与, ○; ビークル投与, \*; P < 0.01 (ピークを投与した野生型マウスに対して)

B: プロスタノイド受容体欠損マウスでの PGE<sub>2</sub> 誘発発熱

PGE<sub>2</sub> (1 nmol) を脳室内に投与し、直腸温を経時的に計測した。EP<sub>1</sub> (■), EP<sub>2</sub> (□), EP<sub>4</sub> (▲) 受容体欠損マウスでは投与後 20~25 分をピークとして一過性の発熱を認める。しかし、EP<sub>3</sub> (●) 受容体欠損マウスは全く発熱反応を示さない。

○; ビークルを投与した EP<sub>3</sub> 受容体欠損マウス, \*; P < 0.01 (PGE<sub>2</sub> を投与した野生型マウスに対して)

EP: プロスタグランジン E<sub>2</sub> 受容体

PGE<sub>2</sub> が発熱のメディエーターとして重視されてきた<sup>9)</sup>。発熱は疾患の主要な徴候であり、菌体成分であるリポ多糖 (LPS) や炎症を惹起する化学物質などの外因性発熱物質によって引き起こされる。これらの外因性発熱物質は IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF $\alpha$ , マクロファージ抑制タンパク質 1 $\beta$  (MIP-1 $\beta$ ) などのサイトカインの産生を惹起し、これらが内因性発熱物質として脳に作用する<sup>9)</sup>。内因性発熱物質の作用部位として、脳室周辺器官であり第3脳室前部に存在する終板血管器官 (organum vasculosum lamina terminalis) が想定されている<sup>10)</sup>。この部位では血液脳関門が欠如しており、血液中の生理活性物質が脳の組織に直接作用することが可能である。内因性発熱物質はこの部位に作用して PGE<sub>2</sub> の産生を惹起し、PGE<sub>2</sub> は近傍の神経細胞に作用することにより発熱を惹起すると考えられている。しかし、PGE<sub>2</sub> が発熱の最終メディエーターであるという点に関しては多くの議論がなされてきた<sup>11)12)</sup>。例えば、発熱と脳室内 PGE<sub>2</sub> 濃度の上昇が必ずしも連関しないこと、種によって PGE<sub>2</sub> に対し発熱反応を示さないものがあること、MIP-1 $\beta$ <sup>13)</sup> や IL-8<sup>14)</sup> による発熱がプロスタグランジン合成阻害薬によって阻害されないことなどが挙げられる。また、PGE<sub>2</sub> の発熱作用が PGE<sub>2</sub> 受容体の4種類のサブタイプ<sup>9)</sup>である EP<sub>1</sub>, EP<sub>2</sub>, EP<sub>3</sub>, EP<sub>4</sub> のうちどれを介して発揮されるのかについても不明であった。そこで我々は、4種類の EP 受容体サブタイプのおおのを欠損したマウスを用いて PGE<sub>2</sub> や内因性・外因性発熱物質の発熱作用を解析し、これらの問題の解明を目指した<sup>15)</sup>。

### PGE<sub>2</sub> と IL-1 $\beta$ による発熱

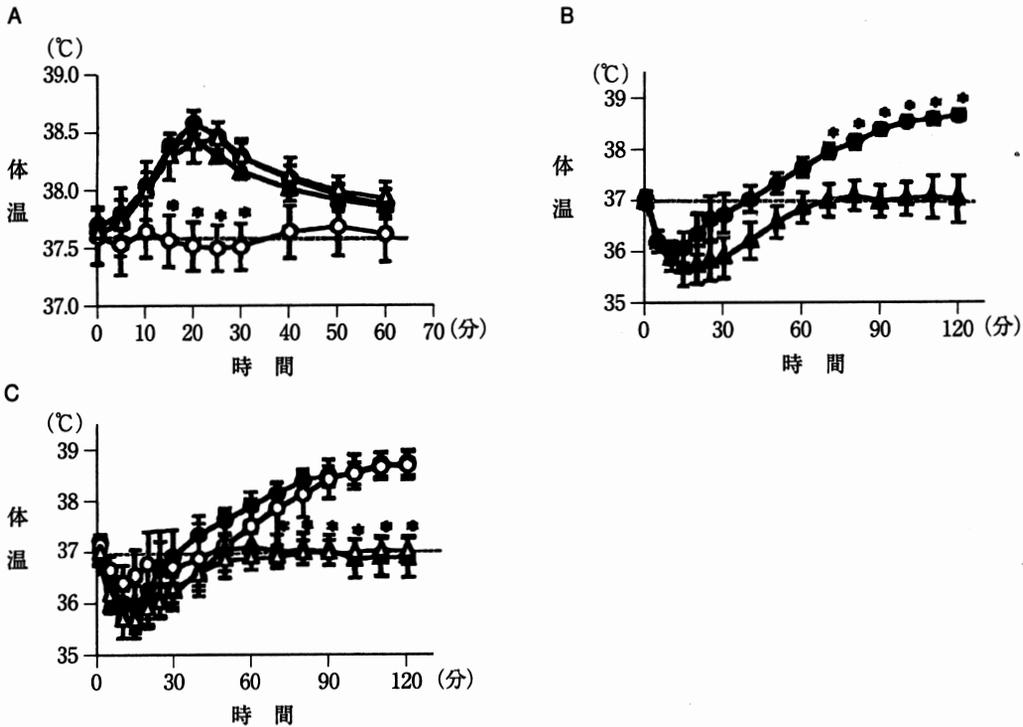
まず、従来知られている PGE<sub>2</sub> の発熱作用が、我々の実験に用いているマウスで認められるかどうかを検討した。PGE<sub>2</sub> (1 nmol) を野生型マウスの脳室内に投与すると、25分後ピークとして約 2.5 $^{\circ}$ C の一過性の発熱が出現し

た (図 2A)。また PGE<sub>2</sub> を脳室内に投与することにより、EP<sub>1</sub>, EP<sub>2</sub>, EP<sub>4</sub> 受容体欠損マウスではおのおの野生型マウスと同様の発熱反応が出現した。しかし、EP<sub>3</sub> 受容体欠損マウスでは全く発熱反応が認められなかった (図 2B)。この結果、PGE<sub>2</sub> は脳室内に投与することにより強い発熱反応を惹起するが、その発熱作用は PGE<sub>2</sub> 受容体のサブタイプである EP<sub>3</sub> 受容体を介することが明らかになった。

次いで、代表的な内因性発熱物質である IL-1 $\beta$  の発熱作用を解析した。IL-1 $\beta$  (10ng) を野生型マウスの静脈内に投与すると、20分後ピークとして約 1 $^{\circ}$ C の一過性の発熱が出現した (図 3A)。一方 IL-1 $\beta$  (100ng) を野生型マウスの脳室内に投与すると、1時間後より数時間持続する約 2 $^{\circ}$ C の発熱が認められた (図 3B)。IL-1 $\beta$  の静脈内投与と脳室内投与ではその発熱経路に差があるという報告があり、その発熱パターンの違いは他の種においても認められる<sup>11)16)</sup>。しかしいずれの投与方法においても、IL-1 $\beta$  による発熱反応は EP<sub>3</sub> 受容体欠損マウスにおいて特異的に消失していた (図 3A・C)。この結果、少なくとも主要な内因性発熱物質である IL-1 $\beta$  による発熱には PGE<sub>2</sub> の産生が必須であり、その作用は EP<sub>3</sub> 受容体を介することが明らかになった。

### 外因性発熱物質である LPS による発熱

LPS による発熱は、IL-1 $\beta$  や IL-6 を含む複数の内因性発熱物質 (サイトカイン) の産生を介して発揮されると考えられている。実際、IL-1 $\beta$  欠損マウスにおいては LPS による発熱反応が野生型マウスと同様に認められることから、この場合 IL-1 $\beta$  以外のサイトカインが LPS 発熱に重要な役割を果たしていると考えられた<sup>17)18)</sup>。一方、プロスタノイドはサイトカインの産生の調節自体にも関与することが知られている。そこで、まず EP<sub>3</sub> 受容体欠損マウスの腹腔マクロファージを用いて LPS 刺激による IL-1 $\beta$  と IL-6 の産生を検討し、これら

図3 IL-1 $\beta$ による発熱A: 静脈内投与による IL-1 $\beta$  誘発発熱

IL-1 $\beta$  (100ng) を静脈内に投与し、直腸温を経時的に計測した。野生型マウス (●) および EP<sub>1</sub> (▲), EP<sub>2</sub> (△) 受容体欠損マウスでは、IL-1 $\beta$  投与後 20 分をピークとして一過性の発熱を認める。しかし、EP<sub>3</sub> (○) 受容体欠損マウスは全く発熱反応を示さない。

\*; P < 0.01 (IL-1 $\beta$  を投与した野生型マウスに対して)

B: IL-1 $\beta$  脳室内投与による野生型マウスでの発熱

IL-1 $\beta$  (10ng) を脳室内に投与し、直腸温を経時的に計測した。IL-1 $\beta$  投与後約 1 時間から持続的な発熱を認める。ピークルを投与したマウスでの一過性の体温低下はエーテル麻酔による。

●; IL-1 $\beta$  投与, ▲; ピークル投与, \*; P < 0.01 (ピークルを投与した野生型マウスに対して)

C: IL-1 $\beta$  脳室内投与によるプロスタノイド受容体欠損マウスでの発熱

IL-1 $\beta$  (10ng) を脳室内に投与し、直腸温を経時的に計測した。EP<sub>1</sub> (●), EP<sub>2</sub> (○) 受容体欠損マウスでは、IL-1 $\beta$  投与により野生型マウスと同様に持続的な発熱を認める。しかし、EP<sub>3</sub> (▲) 受容体欠損マウスは全く発熱反応を示さない。

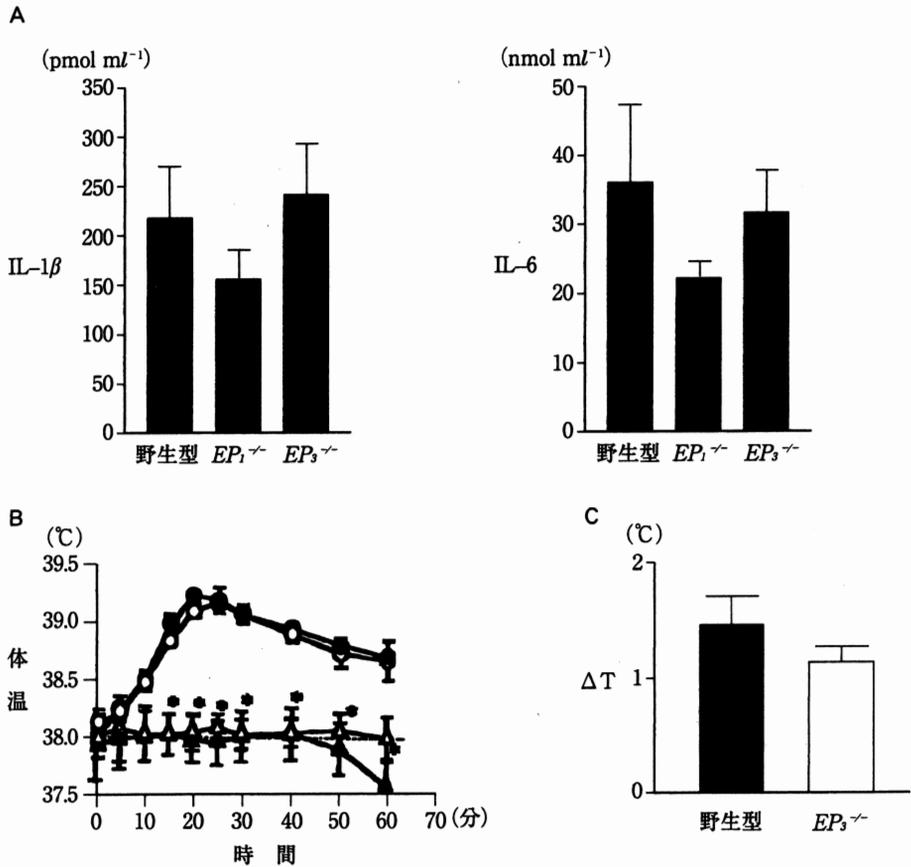
△; ピークルを投与した EP<sub>3</sub> 受容体欠損マウス, \*; P < 0.01 (IL-1 $\beta$  を投与した野生型マウスに対して)

EP: プロスタグランジン E<sub>2</sub> 受容体

の産生が野生型マウスのものと差がないことを確認した (図 4 A)。次いで、LPS による発熱反応を解析した。LPS (10mg/kg 体重) を野生型マウスに静脈内投与すると、投与後 20 分をピークとして約 1°C の持続性の発熱が出現

した。また、EP<sub>1</sub> 受容体欠損マウスにおいても、野生型マウスと同様の発熱反応が観察された。しかし、LPS を EP<sub>3</sub> 受容体欠損マウスに投与すると全く発熱反応が認められなかった (図 4 B)。この結果、LPS によって産生され

図4 リポ多糖 (LPS) および拘束ストレスによる反応

**A: 腹腔マクロファージによる IL-1 $\beta$  と IL-6 の産生**

未刺激の腹腔マクロファージを採取して LPS (1  $\mu$ g/ml) 存在下で 24 時間培養し、上清中に遊離したサイトカインを ELISA 法にて測定した。

**B: EP<sub>3</sub> 受容体欠損マウスでの LPS 誘発発熱**

LPS (10mg/kg 体重) を尾静脈より投与し、直腸温を経時的に計測した。野生型マウス (○) と EP<sub>1</sub> 受容体欠損マウス (●) では投与後 20~25 分をピークとして持続性の発熱を認める。しかし、EP<sub>3</sub> 受容体欠損マウス (▲) は全く発熱反応を示さない。

△; ピークを投与した EP<sub>3</sub> 受容体欠損マウス, \*; P < 0.01

**C: EP<sub>3</sub> 受容体欠損マウスでのストレス誘発発熱**

マウスをホルダーに入れることで拘束性ストレスを加え、30 分後の体温の上昇を測定した。この解析では、野生型マウスと EP<sub>3</sub> 受容体欠損マウスとでその体温上昇の程度に差は認められない。

ELISA: 酵素標識免疫定量法, EP: プロスタグランジン E<sub>2</sub> 受容体

る複数の内因性発熱物質による発熱には、EP<sub>3</sub> 受容体を介して PGE<sub>2</sub> がその共通のメディエーターとして働くことが明らかになった。

**EP<sub>3</sub> 受容体欠損マウスの発熱機構**

従来、種々のストレスによって体温が上昇する現象が知られており、ストレス誘発発熱<sup>10)19)</sup>

と総称されている。この中に、拘束のストレスによる拘束誘発発熱が含まれる。これらのストレス誘発発熱は、その発熱に至る経路が発熱物質によるものとは異なるが、体温上昇機構（発熱の遠心路）は共通であると考えられている。そこで、EP<sub>3</sub> 受容体欠損マウスの体温上昇機構の異常の有無を、拘束性ストレスを用いて解析した。野生型マウスをホルダー内に入れると、30 分の間に約 1.5°C の体温上昇が認められた。また、EP<sub>3</sub> 受容体欠損マウスの拘束による体温上昇は、野生型のものとは有意な差は認められなかった（図 4 C）。この結果、EP<sub>3</sub> 受容体欠損マウスの発熱機構そのものは正常と考えられた。

#### おわりに

プロスタノイドは、生体内において非常に多彩な作用を示す一群の生理活性物質である。しかし、その生理的・病態生理的役割については必ずしも明らかではない。この点を解明するために、プロスタノイド受容体欠損マウスは非常に有効な手段となる。本稿では、プロスタノイドの代表的な作用として知られている発熱反応に焦点を当て、受容体欠損マウスを用いた解析により、それに関与する受容体が EP<sub>3</sub> 受容体であること、また PGE<sub>2</sub> が外因性・内因性発熱物質の作用を最終的に仲介するメディエーターであることの確証が得られたことを紹介した。今後、これらの受容体欠損マウスの解析によって、発熱以外にもプロスタノイドが生体内で果たす多くの重要な役割が解明されることが期待される。

#### 文 献

- Coleman RA, et al: Prostanoids and their receptors. *In: Comprehensive Medicinal Chemistry* (Emmett J C, ed), Vol.3, p 643-714. Pergamon Press, Oxford, 1990.
- Coleman RA, et al: A novel inhibitory receptor in piglet saphenous vein. *Prostaglandins* 47: 151-168, 1994.
- Ushikubi F, et al: Molecular biology of prostanoid receptors; an overview. *J Lipid Mediators Cell Signal* 12: 343-359, 1995.
- Narumiya S, et al: Prostanoid receptors: structures, properties and functions. *Physiol Rev* 79: 1193-1226, 1999.
- Ushikubi F, et al: Purification of the thromboxane A<sub>2</sub>/prostaglandin H<sub>2</sub> receptor from human blood platelets. *J Biol Chem* 264: 16496-16501, 1989.
- Hirata M, et al: Cloning and expression of cDNA for a human thromboxane A<sub>2</sub> receptor. *Nature* 349: 617-620, 1991.
- Vane JR: Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin like drugs. *Nature New Biol* 231: 232-235, 1971.
- Milton AS, et al: A possible role for prostaglandin E<sub>2</sub> as a modulator for temperature regulation in the central nervous system of the cat. *J Physiol* 207: 76-77, 1970.
- Saper CB, et al: The neurologic basis of fever. *N Engl J Med* 330: 1880-1886, 1994.
- Kluger MJ: Fever: role of pyrogens and cryogens. *Physiol Rev* 71: 93-127, 1991.
- Stitt JT: Prostaglandin E as the neural mediator of the febrile response. *Yale J Biol Med* 59: 137-149, 1986.
- Mitchell D, et al: Is prostaglandin E the neural mediator of the febrile response? The case against a proven obligatory role. *Yale J Biol Med* 59: 159-168, 1986.
- Davatelis G, et al: Macrophage inflammatory protein-1: a prostaglandin-independent endogenous pyrogen. *Science* 243: 1066-1068, 1989.
- Zampronio AR, et al: Interleukin-8 induces fever by a prostaglandin-independent mechanism. *Am J Physiol* 266: R1670-R1674, 1994.
- Ushikubi F, et al: Impaired febrile response in mice lacking the prostaglandin E receptor subtype EP<sub>3</sub>. *Nature* 395: 281-284, 1998.
- Cranston WI, et al: Evidence that brain prostaglandin synthesis is not essential in fever. *J Physiol* 259: 239-249, 1976.

- 
- 17) Zheng H, et al: Resistance to fever induction and impaired acute-phase response in interleukin- $1\beta$ -deficient mice. *Immunity* 3: 9-19, 1995.
- 18) Lozak W, et al: Thermal and behavioral effects of lipopolysaccharide and influenza in interleukin- $1\beta$ -deficient mice. *Am J Physiol* 269: R969-R977, 1995.
- 19) Morley RM, et al: Temperature regulation in biotelemetered spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol* 258: R1064-R1069, 1990.
- 

### Prostaglandin E<sub>2</sub> Receptor Mediating Febrile Response

Fumitaka Ushikubi

Department of Pharmacology, Asahikawa Medical College