

# AMCoR

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

呼吸 (2000.08) 19巻8Suppl.:S155～S163.

【脂質メディエーターの酵素・受容体】  
プロスタノイド受容体欠損マウスの解析

牛首文隆, 成宮 周

# プロスタノイド受容体欠損マウスの解析

旭川医科大学薬理学

牛首 文隆

京都大学医学部薬理学

成宮 周

## 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、アラキドン酸から、シクロオキシゲナーゼ (COX) と各々のプロスタノイド

に特異的な合成酵素によって合成される生理活性脂質である。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> 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 (図1)。プロスタノイドはその合成直後に細

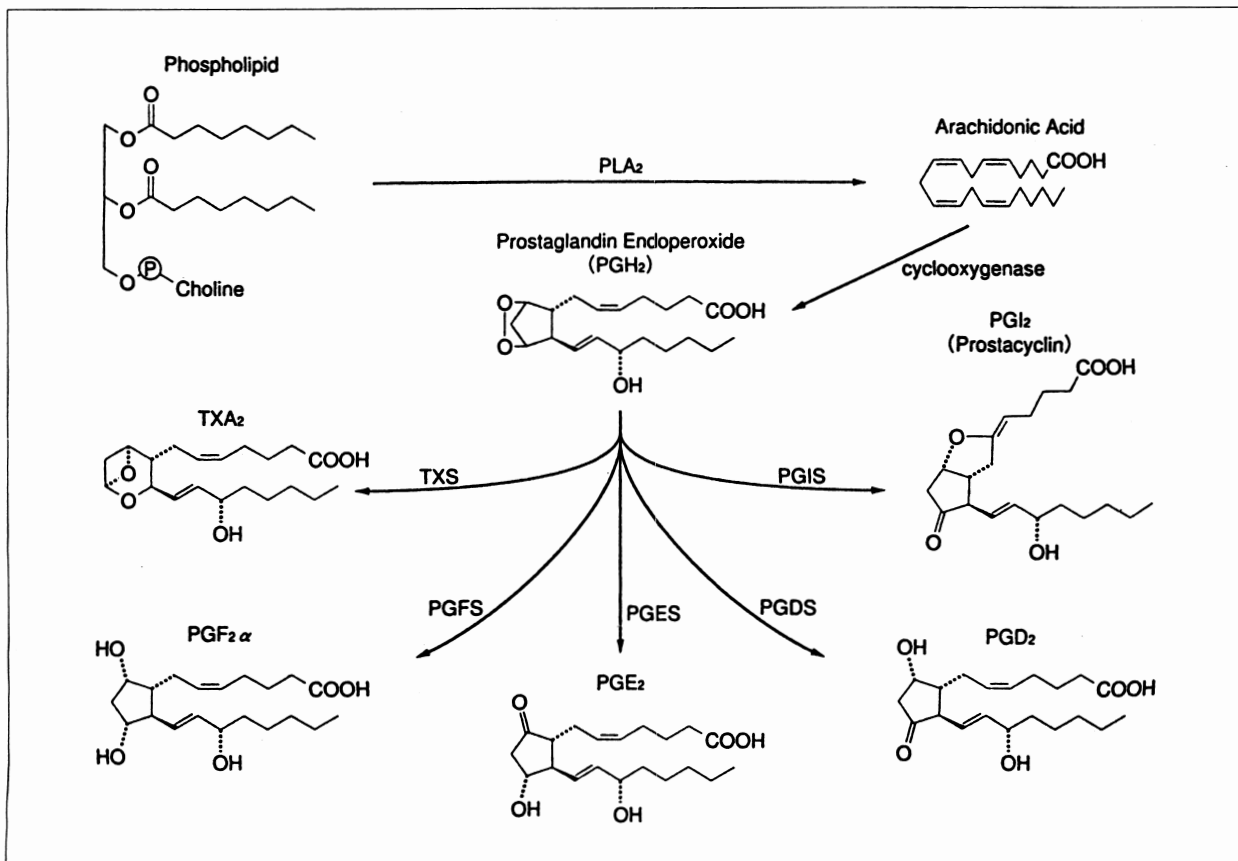


図1 プロスタノイドの生合成経路

細胞が刺激を受けると、ホスホリパーゼ A<sub>2</sub> (PLA<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 PGG<sub>2</sub> を経て PGH<sub>2</sub> が合成される。最終的には、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、生理的に重要な 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。

胞外に放出されるが、その生物学的半減期は極めて短い。このような性質から、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種々の病態形成に関与する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。なかでも代表的なものは、種々のタイプの平滑筋の収縮や弛緩作用である。また、プロスタノイドは末梢神経系の活動を調整し、発熱や睡眠・覚醒、神経内分泌系の調節など中枢神経系でも作用する。さらに、腸管の蠕動運動や消化液分泌、胃粘膜保護や胃酸の分泌抑制、腎臓におけるイオン・水輸送の調整作用を示す。また、プロスタノイドは血小板の機能を調節し、血管のホメオスタシスの維持や止血にも重要な役割を果たす。さらに、プロスタノイドは細胞のアポトーシス、分化・増殖あるいは発癌などにも関与する。このように、プロスタノイドの作用は全身の臓器・組織に及ぶと言っても過言ではない。

一方、これらの作用は標的細胞上に存在する各々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。これらには、PGD<sub>2</sub>、PGE<sub>2</sub>、PGF<sub>2</sub>α、PGL<sub>2</sub>、TXA<sub>2</sub>に特異的な受容体として、各々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、TPがヒト血小板より精製され、そのcDNAがクローニングされるまで<sup>5)</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蛋白質と連関するロドブシン型の受容体であることが明らかとなった。また、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* hybridization法を用いて明らかにされつつある<sup>3, 4)</sup>。

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、最近になって各々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。本稿では、受容体ノックアウトマウスの解析によって現在までに明

らかになったプロスタノイドの生理的・病態生理的役割について紹介する。

## 1. EP<sub>4</sub>欠損マウスと動脈管開存

最近、EP<sub>4</sub>欠損マウスの作出と解析の報告が2ヵ所の研究所からなされた<sup>6, 7)</sup>。EP<sub>4</sub>欠損マウスは生後呼吸を開始し正常に授乳を受けるが、その95%は次第に衰弱し72時間以内に死亡した。残りの5%のマウスは、正常に発育して1年以上生存する。衰弱したEP<sub>4</sub>欠損マウスを解剖すると、左心不全の所見が認められた。そこで、心血管系を解析したところ、動脈管の開存が見出された。動脈管は肺動脈と下行大動脈を繋ぐ血管であり、胎生期に肺への血流を大動脈へシャントする働きをする。通常、動脈管は生直後に閉鎖するが、これは肺呼吸の開始に伴う動脈血酸素分圧の上昇による動脈管の収縮と、出産に伴うPGE<sub>2</sub>の血中濃度の低下に基づく動脈管拡張作用の消失による。動脈管が開存すると肺への血流が過剰となり、肺高血圧症を経て心不全に陥る。

従来、アスピリン (PGE<sub>2</sub>を含めてプロスタノイドの産生を抑制する薬物) を妊婦に投与すると動脈管が胎生期に閉鎖することが知られており<sup>8)</sup>、この作用は動脈管開存症の治療に利用されている<sup>9)</sup>。一方、PGE<sub>2</sub>は動脈管の閉鎖を抑制するため、この作用を利用してある種の心奇形の治療に用いられている。

最近、PGE<sub>2</sub>の動脈管拡張作用はEP<sub>4</sub>を介することが示された<sup>10)</sup>。実際に、EP<sub>4</sub>が野性型マウスの動脈管に多く発現していることが*in situ* hybridization法によって確認された。これらの結果は、EP<sub>4</sub>が胎生期に動脈管を開存させる役割を持つことを示唆しているが、EP<sub>4</sub>欠損マウスで認められた動脈管の開存の所見とは一見矛盾する。この結果の解釈は困難であるが、動脈を持続的に拡張しておき、突然これを中止することによって血管の収縮が増強される現象が注目される。つまり、EP<sub>4</sub>欠損マウスでは胎生期に十分な動脈管の拡張が得られず、それに対抗する収縮力の増強が認められない、その結果、出生直後の動脈管の収縮が相対的に弱まる可能性が挙げられる。いずれにせよ、EP<sub>4</sub>が出生直後の動脈管の閉鎖にとって重要な役割を持つことが明らかにされた。

## 2. EP<sub>3</sub>欠損マウスと発熱

発熱は疾患の主要な徴候であり、菌体成分である

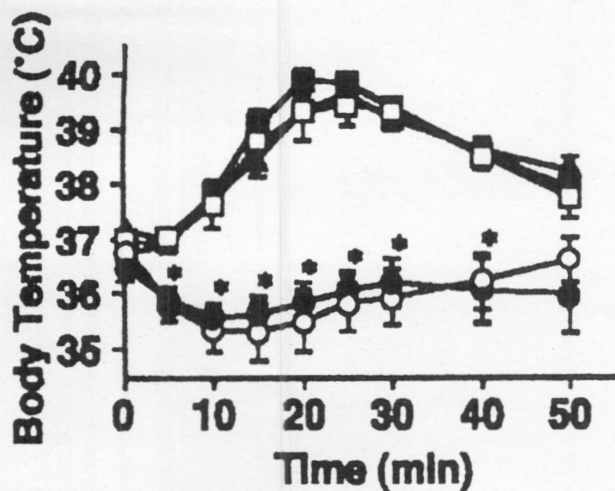


図2A

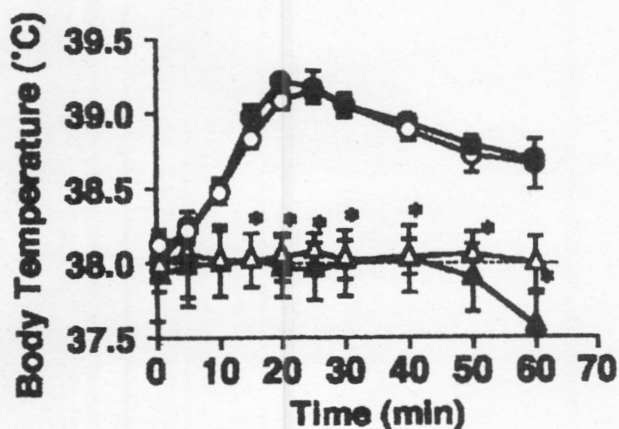


図2B

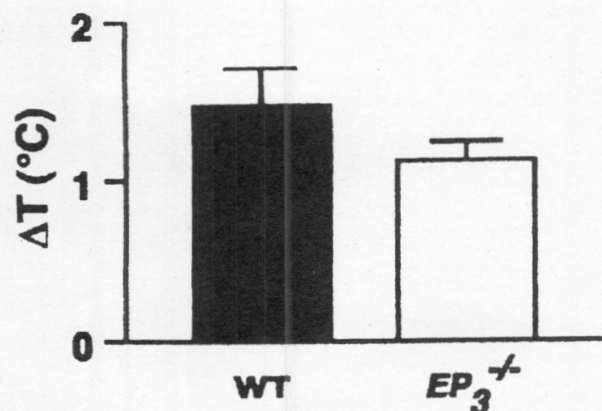


図2C

LPSなどの外因性発熱物質により引き起こされる。これらの外因性発熱物質はIL-1 $\beta$ , IL-6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>11)</sup>。

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>12)</sup> ことが

図2 EP<sub>3</sub>欠損マウスと発熱A. EP<sub>3</sub>欠損マウスでのPGE<sub>2</sub>誘発発熱

PGE<sub>2</sub> (1nmol) 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> (▲) 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>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>欠損マウス

\*; P < 0.01 (PGE<sub>2</sub>投与した野性型マウスに対して)

B. EP<sub>3</sub>欠損マウスでのLPS誘発発熱

LPS (10 mg/kg body weight) を尾静脈より投与し、直腸温を経時的に計測した。野性型マウス (○) とEP<sub>1</sub>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>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>欠損マウス

\*; P < 0.01

C. EP<sub>3</sub>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、野性型マウスとEP<sub>3</sub>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。

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。なかでも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>13)</sup> が、この点に関しては多くの議論がなされてきた。また、PGE<sub>2</sub>の発熱作用がEP<sub>1</sub>, EP<sub>2</sub>, EP<sub>3</sub>, EP<sub>4</sub>のうち、どのサブタイプ受容体を介して発揮されるのかについても不明であっ

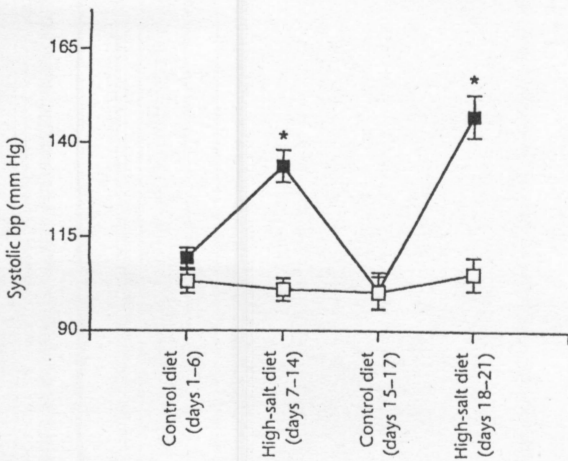


図3A

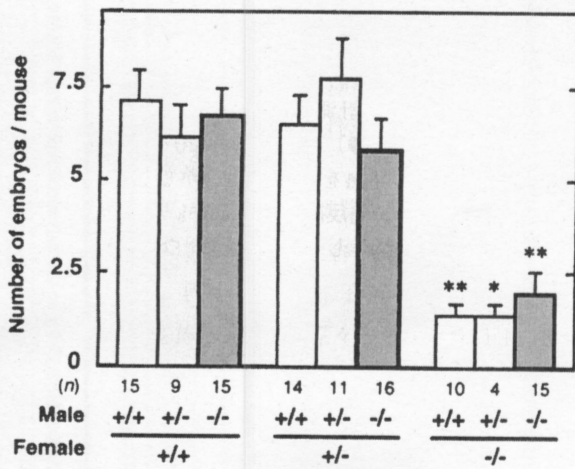


図3B

図3 EP<sub>2</sub>欠損マウスと食塩感受性高血圧, 受精障害 (A. 文献17より; B~E. 文献18より)

A. EP<sub>2</sub>欠損マウスと食塩感受性高血圧

縦軸には収縮期血圧を, 横軸に示された期間の平均値で示す。EP<sub>2</sub>欠損マウス (■) では, 高塩分食摂取によって, 野生型マウス (□) に比較して有意な血圧上昇を認める。

\*; P < 0.0001 (野生型マウスに対して)

B. EP<sub>2</sub>欠損メスマウスでの胎仔数の減少

オスとメスを遺伝子型の種々の組み合わせによって交配し, 交配後19日目の胎仔数を調べた。メスがEP<sub>2</sub>のホモ欠損の場合, 交配に用いるオスの遺伝子型に係わらず胎仔数の有意な低下を認める。

\*; P < 0.05, \*\*; P < 0.01 (野生型メスマウスに対して)

CとD. EP<sub>2</sub>欠損マウスでの排卵・受精障害

成熟したメスと過排卵処理したメスを野生型オスマウスと交配し, 卵管内の卵子数 (C) とその受精率 (D) を調べた。自然排卵あるいは過排卵処理の両者において, その排卵数はEP<sub>2</sub>欠損マウスで野生型マウスと比較して有意な低下を認めた。しかし, 受精率の低下はさらに顕著である。

E. EP<sub>2</sub>欠損マウスでの卵丘細胞のexpansionの障害

過排卵処理したマウスより卵子-卵丘細胞複合体を取り出して培養した。培養液中にFSH, PGE<sub>2</sub>, dbcAMPを加えて卵丘細胞のexpansionを観察した。FSHによる卵丘細胞のexpansionには, 野生型マウスとEP<sub>2</sub>欠損マウスで差が認められない。しかし, PGE<sub>2</sub>刺激によるexpansionは, EP<sub>2</sub>欠損マウスでは認められない。また, EP<sub>2</sub>刺激後のセカンドメッセンジャーであるcAMPの安定類似物質であるdbcAMPでは, EP<sub>2</sub>欠損マウスにおいてもexpansionが認められる。矢印は, 卵子-卵丘細胞複合体の表面部分を示す。

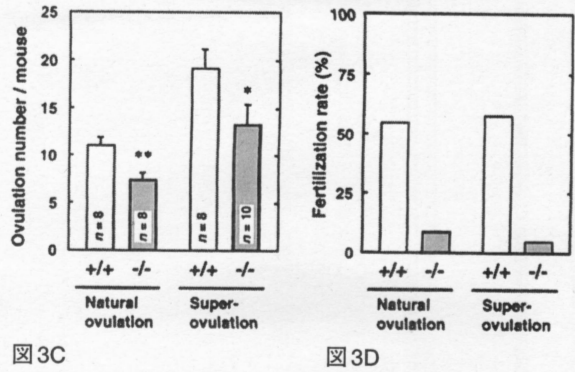


図3C

図3D

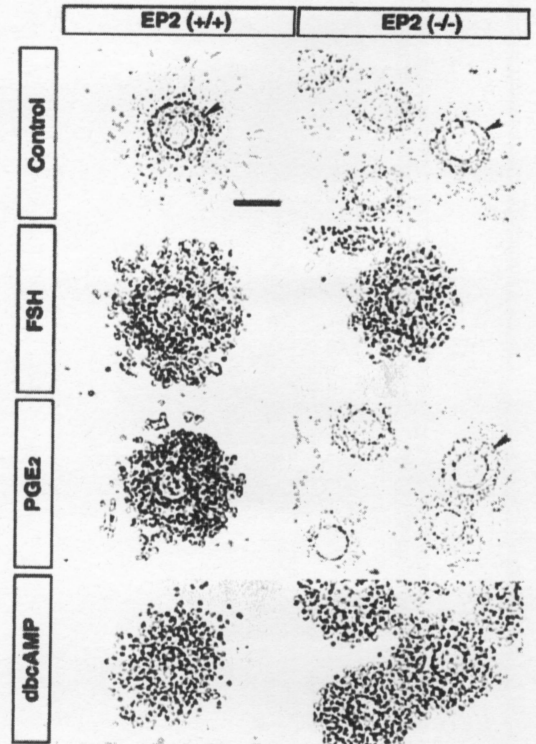


図3E



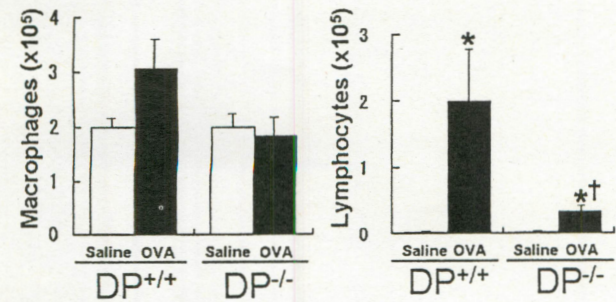
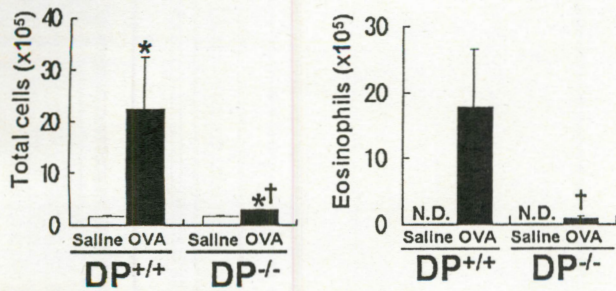


図4A

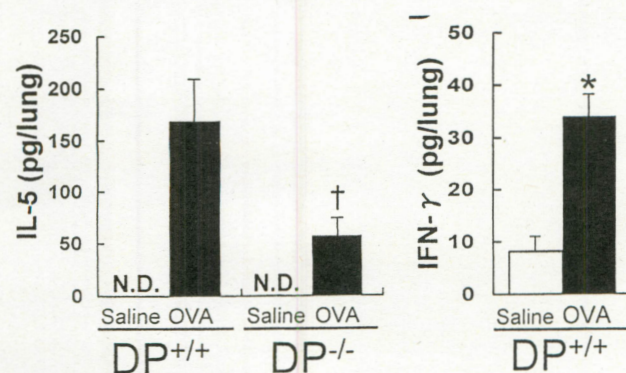
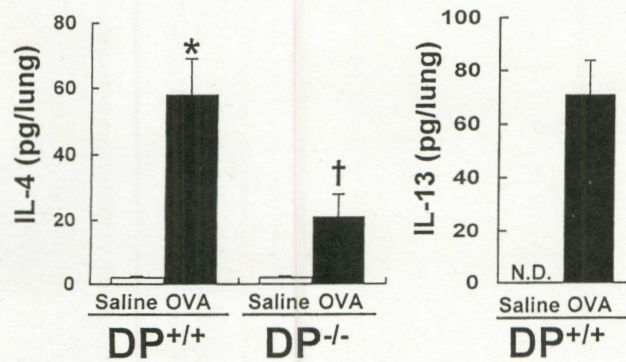


図4B

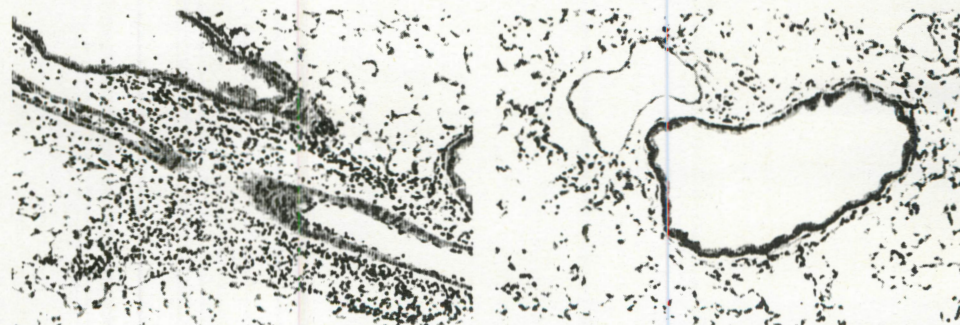


図4C

図4 抗原感作にともなう肺への細胞浸潤とDPの発現誘導 (文献20より)

- A. 肺胞洗浄液中の細胞数を示す。野生型マウスでは卵白アルブミンの感作によって、好酸球を中心として、リンパ球やマクロファージが著増する。しかし、DP欠損マウスでは、好酸球とリンパ球の増加は野生型マウスに比し著減している。  
\* ; P < 0.05 (非感作群に対して), † ; P < 0.05 (野生型マウスに対して)
- B. 肺胞洗浄液中のサイトカイン濃度を示す。DP欠損マウスでは、感作にともなう肺胞洗浄液中のIL-4, IL-13, IL-5などのTh2サイトカイン濃度の増加は野生型マウスに比し有意に低下している。  
\* ; P < 0.05 (非感作群に対して), † ; P < 0.05 (野生型マウスに対して)
- C. 抗原感作にともなう肺への細胞浸潤。野生型マウスでは、抗原感作によって気道の粘膜下や血管周囲に著明な細胞浸潤がみとめられる (左図)。しかし、DP欠損マウスでは、これらの変化は認められない (右図)。
- D. 肺におけるDPの発現誘導。野生型マウスの肺におけるDPの発現誘導を、免疫組織化学的に解析した。卵白アルブミンを腹腔内に投与したもの (左図) では、DPの発現は弱い。しかし、抗原の気道曝露によって、DPは気道上皮や肺胞上皮で著明に発現誘導を受ける (右図)。

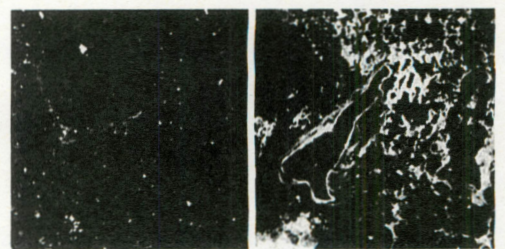


図4D

た。そこで4種類のEPサブタイプの各々を欠損したマウスを用いてPGE<sub>2</sub>の発熱作用が解析された<sup>14)</sup>。PGE<sub>2</sub>を野性型マウスの脳室内に投与すると25分後をピークとして約2℃の一過性の発熱が出現する。EP<sub>1</sub>, EP<sub>2</sub>, EP<sub>4</sub>欠損マウスでは、野性型マウスと同様の発熱反応が出現したが、EP<sub>3</sub>欠損マウスでは全く反応が認められなかった(図2A)。

ついで、代表的な内因性発熱物質であるIL-1 $\beta$ を野性型マウスの静脈内に投与すると、20分後をピークとして約1℃の一過性の発熱が出現し、脳室内に投与すると、1時間後より数時間持続する発熱が認められた。この発熱反応もEP<sub>3</sub>欠損マウスにおいて特異的に消失しており、少なくとも一部の内因性発熱物質による発熱はEP<sub>3</sub>を介することが明らかになった。

一方、LPSによる発熱は、IL-1 $\beta$ を含む複数のサイトカインの産生を介して発揮される。実際、IL-1 $\beta$ 欠損マウスにおいてもLPSによる発熱反応は野性型マウスと同様に認められ<sup>15, 16)</sup>、IL-1 $\beta$ 以外のサイトカインもLPS発熱に重要な役割を果たすと考えられる。そこで、まずEP<sub>3</sub>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、これらの産生が正常であることが確認された。また、LPSを野性型マウスに静脈内投与すると20分後をピークとして約1℃の持続性の発熱が出現した。ついで、LPSをEP<sub>3</sub>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2B)。この結果、PGE<sub>2</sub>はEP<sub>3</sub>を介して外因性発熱物質による発熱のメディエーターとして働くことが明らかになった。

また、EP<sub>3</sub>欠損マウスでは、マウスを拘束することによるストレス誘発発熱反応は正常であり(図2C)、発熱機構そのものは正常と考えられた。以上の結果、PGE<sub>2</sub>は外因性発熱物質や内因性発熱物質による発熱の最終メディエーターとして作用すること、およびその作用はEP<sub>3</sub>受容体を介することが証明された。

### 3. EP<sub>2</sub>欠損マウスと塩分感受性高血圧、受精障害

プロスタノイドは血管の収縮や弛緩作用を示す。例えば、TXA<sub>2</sub>やPGF<sub>2</sub> $\alpha$ は血管平滑筋を収縮させ、PGL<sub>2</sub>がその弛緩に働くことはよく知られている。一方、PGE<sub>2</sub>は血管に対して、EP<sub>1</sub>, EP<sub>3</sub>を介して収縮作用を示し、EP<sub>2</sub>, EP<sub>4</sub>を介して弛緩作用を示す。また、腎の血管や尿細管に多種類のプロスタノイド受容体

が発現しており、腎血流量や糸球体濾過率の調節、水・電解質の再吸収に関与している。これらの結果、プロスタノイドは血圧の調節に重要な役割を果たすことが予想された。しかし、血管への作用が強いTXA<sub>2</sub>とPGL<sub>2</sub>の各受容体欠損マウスにおいては、平常時の血圧は野性型マウスと差を認めなかった。そこで、EP<sub>2</sub>欠損マウスと血圧との関係が解析された<sup>17)</sup>。EP<sub>2</sub>欠損マウスの平常時の血圧は、野性型マウスに比し軽度の上昇を認めた。一方、PGE<sub>2</sub>の静脈内投与によって野性型マウスでは血圧が低下し、EP<sub>2</sub>欠損マウスでは逆に血圧が上昇することから、血管のEP<sub>2</sub>はPGE<sub>2</sub>の血圧低下作用を仲介し、EP<sub>1</sub>やEP<sub>3</sub>が血圧の上昇を仲介することが示された。

さらに、高塩分食の負荷によってEP<sub>2</sub>欠損マウスでは著明な高血圧が出現し、この時、野性型マウスの血圧上昇は認めなかった(図3A)。また、塩分負荷にともない野性型マウスとEP<sub>2</sub>欠損マウスは同程度に尿中のPGE<sub>2</sub>排泄量の増加を認めた。これらの結果、EP<sub>2</sub>欠損マウスの塩分感受性高血圧は、塩分負荷によってPGE<sub>2</sub>産生が亢進し、これが血管に作用し血圧の上昇をきたしたものと考えられた。

EP<sub>2</sub>欠損マウスの出産直前の胎児数は平均すると1.5であり、野性型マウスの平均値7.1と比し極端に低下している<sup>18)</sup>(図3B)。この胎児数の減少は、受精障害を大きな原因としており、一部排卵障害によっている(図3C)。排卵から受精に至る過程において、卵子は卵丘細胞に取り囲まれている。この卵丘細胞は、最初細胞間の接着が緻密であるが、次第にexpansionと呼ばれる現象によって細胞間の接着が脆弱となり、卵子が精子と受精しやすい状態へ移行する。この卵丘細胞のexpansionは、卵胞刺激ホルモンとPGE<sub>2</sub>によって促進され、このPGE<sub>2</sub>の作用は、卵丘細胞に発現誘導されたEP<sub>2</sub>を介することが証明された(図3D)。また、この現象は排卵後から受精に至る子宮内の過程においても進行するため、排卵後の卵胞刺激ホルモンが作用不能な状況下ではPGE<sub>2</sub>の作用が必須となる。したがって、EP<sub>2</sub>欠損マウスでは特に子宮内での卵丘細胞のexpansionが障害され、著明な受精障害が出現することが明らかとなった。

### 4. DP欠損マウスとアレルギー性喘息

従来PGD<sub>2</sub>は、睡眠誘導作用や血小板活性化抑制作用を持つことが知られている。また、抗原刺激によ



て活性化された肥満細胞から多量のPGD<sub>2</sub>が産生放出されることから<sup>19)</sup>, PGD<sub>2</sub>がアレルギー反応に関与することが想定されていた。しかし, PGD<sub>2</sub>とアレルギー反応との関連の詳細は不明であった。そこで, この問題を解明するためDP欠損マウスが作出・解析された<sup>20)</sup>。解析には, 卵白アルブミンの腹腔内投与に引き続き気道投与による, 感作および喘息発作誘発モデルが用いられた。感作によって, 血中の特異的あるいは非特異的Ig-E濃度は著明に上昇し, これはDP欠損マウスと野生型マウスで差が認められなかった。また, 野生型マウスでは, 肺胞洗浄液中の細胞数が著増し, その内訳は好酸球が約80%, リンパ球が約10%, マクロファージが約10%であった。しかし, DP欠損マウスでは, 肺胞洗浄液中の細胞数はほとんど増加しなかった。この結果, DP欠損マウスにおいては, 気道へのこれらの細胞の動員に障害があることが示された(図4A)。さらに, 感作によって野生型マウスに認められるアセチルコリンに対する反応亢進が, DP欠損マウスにおいて欠失していた。

一方, アレルギー性喘息の病態形成に, Th2サイトカインが重要な役割をはたすことが知られている<sup>21, 22)</sup>。実際, 感作された野生型マウスでは, 肺胞洗浄液中のIL-4, IL-5, IL-13などのTh2サイトカインが著増していたが, DP欠損マウスではこの増加は有意に低下していた。一方, Th1サイトカインであるIFN- $\gamma$ の増加は, 野生型マウスとDP欠損マウスでは差を認めなかった(図4B)。これらの所見と一致して, Th2サイトカイン反応性細胞である好酸球やリンパ球は, 感作された野生型マウスの気道粘膜下や肺血管の周囲に著明に集積していた。しかし, DP欠損マウスでは, これらの細胞浸潤は認められなかった(図4C)。また, DPは気道の抗原感作によって, 気道粘膜上皮細胞やII型肺胞上皮細胞で著明に発現誘導された(図4D)。

これらの結果を総合すると, 気道感作によってDP受容体が発現誘導され, 抗原曝露により産生されたPGD<sub>2</sub>がDPに作用し, サイトカインやケモカインの産生を促して局所へのリンパ球や好酸球の動員するとともに, 気道感受性の亢進を惹起すると考えられた。

## 5. その他の解析

家族性大腸ポリポーシスや散発性の大腸癌の80%以上に癌抑制遺伝子であるAPCの突然変異が見出されており, その発症に大きな役割を果たしている。ま

た, 家族性大腸ポリポーシスの進展を, プロスタノイドの生合成における律速酵素であるサイクロオキシゲナーゼを阻害する非ステロイド系抗炎症薬が抑制する。さらに, APCと2型サイクロオキシゲナーゼのダブル・ノックアウトマウスでは, 腸管のポリープの発生が10%以下に抑えられた<sup>23)</sup>。これらの結果は, 大腸癌の発生にはAPC遺伝子の変異に加え, プロスタノイドが大きな役割をもつことを示唆している。最近, 受容体欠損マウスを用いてアゾキシメタンによる化学発癌が解析された。その結果, この発癌系においては, PGE<sub>2</sub>のEP<sub>1</sub>を介する作用が重要であることが示された<sup>24)</sup>。

一方, プロスタノイド受容体は, 胃腸管にも多く発現している。*in situ hybridization*法によるEPの発現解析では, EP<sub>1</sub>が粘膜筋板に, EP<sub>3</sub>が腺上皮や神経節に, EP<sub>4</sub>が粘膜上皮細胞に多く発現していた<sup>25)</sup>。また, 従来PGE<sub>2</sub>が胃・十二指腸における酸・アルカリの分泌調節に関与することが示唆されており, 最近, この点について解析が行われた。その結果, PGE<sub>2</sub>による十二指腸のアルカリ分泌やそれともなう粘膜保護は, EP<sub>3</sub>を介することが示された<sup>26)</sup>。また, プロスタノイドは, 骨代謝の調節因子としても重要な役割を果たす。最近の解析では, PGE<sub>2</sub>の示す骨吸収作用はEP<sub>4</sub>を介することが示された<sup>27, 28)</sup>。

## おわりに

最近になって, 各々のプロスタノイド受容体を欠損するマウスの作出と解析によって, プロスタノイドの生体内における役割の解明がなされつつあり, その現在までの成果について紹介した。これらの解析の結果, 新たなプロスタノイドの作用や作用機構が解明され, それらが生体内でどの程度重要な役割を果たすかの評価が可能となってきた。これらの成果は, 創薬の観点からも重要な情報を提供するものと考えられる。

本稿で紹介した結果は, 各プロスタノイド受容体に特異的なアゴニストやアンタゴニストの開発を促し, 副作用の少ない新たな抗炎症薬, 鎮痛薬, 解熱薬あるいは高血圧薬の開発へと展開する根拠を与えるものである。今後さらに, プロスタノイドの多くの臓器・器官で果たす生理的・病態生理的役割の解明がなされることが期待される。



## 文 献

- 1) Coleman RA, Kennedy I, Humphrey PPA, Bunce K, Lumley P: Prostanoids and their receptors. In Emmett JC (ed): *Comprehensive Medicinal Chemistry* Vol. 3, Pergamon Press, Oxford, pp. 643-714, 1990.
- 2) Coleman RA, Grix SP, Head SA, Louttit JB, Mallett A, Sheldrick RLG: A novel inhibitory receptor in piglet saphenous vein. *Prostaglandins* 47: 151-168, 1994.
- 3) Ushikubi, F., Hirata, M. & Narumiya, S.: Molecular biology of prostanoid receptors: An overview. *J. Lipid Mediators* 12: 343-359, 1995.
- 4) Narumiya S, Sugimoto Y, Ushikubi F: Prostanoid receptors: structures, properties and functions. *Physiol Rev* 79: 1193-1226, 1999.
- 5) Hirata M, Hayashi Y, Ushikubi F, Yokota Y, Kageyama R, Nakanishi S, Narumiya S: Cloning and expression of cDNA for a human thromboxane A<sub>2</sub> receptor. *Nature* 349: 617-620, 1991.
- 6) Nguyen M, Camenisch T, Snouwaert JN, Hicks E, Coffman TM, Anderson PA, Malouf NN, Koller BH: The prostaglandin receptor EP<sub>4</sub> triggers remodeling of the cardiovascular system at birth. *Nature* 390: 78-81, 1997.
- 7) Segi E, Sugimoto Y, Yamasaki A, Aze Y, Oida H, Nishimura T, Murata T, Matsuoka T, Ushikubi F, Fukumoto M, Tanaka T, Yoshida N, Narumiya S: Patent ductus arteriosus and neonatal death in prostaglandin receptor EP<sub>4</sub>-deficient mice. *Biochem Biophys Res Commun* 246: 7-12, 1998.
- 8) Levin DL, Fixler DE, Morriss FC, Tyson J: Morphologic analysis of the pulmonary vascular bed in infants exposed in utero to prostaglandin synthetase inhibitors. *J Pediatr* 92: 478-483, 1978.
- 9) Yeh TF, Luken JA, Thalji A, Raval D, Carr I, Pildes RS: Intravenous indomethacin therapy in premature infants with persistent ductus arteriosus; a double-blind controlled study. *J Pediatr* 98: 137-145, 1981.
- 10) Smith GC, Coleman RA, McGrath JC: Characterization of dilator prostanoid receptors in the fetal rabbit ductus arteriosus. *J Pharmacol Exp Ther* 271: 390-396, 1994.
- 11) Kluger MJ: Fever: role of pyrogens and cryogens. *Physiol Rev* 71: 93-127, 1991.
- 12) Vane JR: Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nature New Biol* 231: 232-235, 1971.
- 13) Milton AS, Wendlandt SA: A possible role for prostaglandin E<sub>1</sub> as a modulator for temperature regulation in the central nervous system of the cat. *J Physiol* 207: 76P-77P, 1970.
- 14) 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: *Nature* 395: 281-284, 1998.
- 15) Zheng H, Fletcher D, Kozak W, Jiang M, Hofmann KJ, Conn CA, Soszynski D, Grabiec C, Trumbauer ME, Shaw A: Resistance to fever induction and impaired acute-phase response in interleukin-1 $\beta$  deficient mice. *Immunity* 3: 9-19, 1995.
- 16) Kozak W, Zheng H, Conn CA, Soszynski D, Ploeg LH, Kluger MJ: Thermal and behavioral effects of lipopolysaccharide and influenza in interleukin-1 $\beta$ -deficient mice. *Am J Physiol* 269: R969-R977, 1995.
- 17) Kennedy CRJ, Zhang Y, Brandon S, Guan Y, Coffee K, Funk CD, Magnuson MA, Oates JA, Breyer MD, Breyer RM: Salt-sensitive hypertension and reduced fertility in mice lacking the prostaglandin EP<sub>2</sub> receptor. *Nature Med* 5: 217-220, 1999.
- 18) Hizaki H, Segi E, Sugimoto Y, Hirose M, Saji T, Ushikubi F, Matsuoka T, Noda Y, Tanaka T, Yoshida N, Narumiya S, Ichikawa A: Abortive expansion of the cumulus and impaired fertility in mice lacking the prostaglandin E receptor subtype EP<sub>2</sub>. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 10501-10506, 1999.
- 19) Murray JJ, Tonnel AB, Brash AR, Roberts LJ, Gosset P, Workman R, Capron A and Oates JA: Release of prostaglandin D<sub>2</sub> into human airways during acute antigen challenge. *N Engl J Med* 315: 800-804, 1986.
- 20) 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 and Narumiya S: Prostaglandin D<sub>2</sub> as a mediator of allergic asthma. *Science* 287: 2013-2017, 2000.
- 21) Foster PS, Hogan SP, Ramsay AJ, Matthaei KI and Young IG: Interleukin 5 deficiency abolishes eosinophilia, airways hyperreactivity, and lung damage in a mouse asthma model. *J Exp Med* 183: 195-201, 1996.
- 22) Grunig G, Warnock M, Wakil AE, Venkayya R, Brombacher F, Rennick DM, Sheppard D, Mohrs M, Donaldson DD, Locksley RM and Corry DB: Requirement for IL-13 independently of IL-4 in experimental asthma. *Science* 282: 2261-2263, 1998.
- 23) Ohshima M, Dinchuk JE, Kargman SL, Ohshima H, Hancock B, Kwong E, Trzaskos JM, Evans JF, Taketo MM: Suppression of intestinal polyposis in Apc delta 716 knockout mice by inhibition of cyclooxygenase 2 (COX-2). *Cell* 87: 803-809, 1996.
- 24) Watanabe K, Kawamori T, Nakatsugi S, Ohta T, Ohuchida S, Yamamoto H, Maruyama T, Kondo K, Ushikubi F, Narumiya S, Sugimura T, Wakabayashi K: Role of the prostaglandin E receptor subtype EP<sub>1</sub>

- in colon carcinogenesis. *Cancer Res* **59**: 5093-5096, 1999.
- 25) Morimoto K, Sugimoto Y, Katsuyama M, Oida H, Tsuboi K, Kishi K, Kinoshita Y, Negishi M, Chiba T, Narumiya S, Ichikawa A: Cellular localization of mRNAs for prostaglandin E receptor subtypes in mouse gastrointestinal tract. *Am J Physiol* **272**: G681-G687, 1997.
- 26) Takeuchi K, Ukawa H, Kato S, Furukawa O, Araki H, Sugimoto Y, Ishikawa A, Ushikubi F, Narumiya S: Impaired duodenal bicarbonate secretion and mucosal integrity in mice lacking prostaglandin E receptor subtype EP3. *Gastroenterology* **117**: 1128-1135, 1999.
- 27) Sakuma Y, Tanaka K, Suda M, Yasoda A, Natsui K, Tanaka I, Ushikubi F, Narumiya S, Segi E, Sugimoto Y, Ichikawa A, 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.
- 28) 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*, in press.

## 質疑応答

永井厚志(東京女子医科大学) 先程のEP<sub>4</sub>の欠損マウスのところで先生は血管系のところをお示しになりましたが、大動脈の開存の方ですね。それで、私は、10年前に、インドメタシンで抑制してPGE<sub>2</sub>をやると肺のsegmentationというのがちゃんとできるというのをしていますが、その時に、なぜPGE<sub>2</sub>がそういう肺胞形成をするのかというのが分からなかったのですが、先生の先程の写真で見せていただくと、その肺胞の形成というのは抑制されていますでしょうか。血管系は先生はお話になりましたが。

牛首(演者) 肺胞ということに関しては、特に、例えば生き残ったものでも差はございませんし、発生に関係しているという所見は得ておりません。

永井 ちゃんと壁ができるのですね。EP<sub>4</sub>欠損マウスでも。

牛首 そうですね。実際に生き残っているものもいますし、そういったものが特に寿命が短いわけでもござ

いません。

永井 そうですか。どうもありがとうございます。

福田 健(司会, 獨協医科大学) 今の動脈管開存の件ですが、人間の先天性心疾患の動脈管開存というのはそうするとこの遺伝子上であることがわかっているのですか。

牛首 これだけに関係しているのかどうかということは非常に難しく、ただ従来、分娩間近に、NSAIDを投入した場合に動脈管開存が起きる例があるという報告はあるので、関係があるということは確かに分かったわけですが、例えばこのマウスの場合でも、5%は生き残るというわけで、やはり何か他の要因も関係しているように考えています。

福田 そういう患者さんの遺伝子解析はまだされていないのですか。

牛首 ええ、特には行っていません。