

# AMCoR

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

旭川医科大学研究フォーラム (2016.3) 16:21-22.

平成25・26年度「独創性のある生命科学研究」個別研究課題 10) プロスタグランジン F2 $\alpha$  によるヒト血小板の機能調節に関する研究

柏木 仁

(TX) A<sub>2</sub>とその抑制作用を示すプロスタグランジン (PG) I<sub>2</sub>のバランスが重要と考えられてきた。一方、研究代表者は、PGF<sub>2</sub>αがアデノシン二リン酸 (ADP) により惹起されたマウス血小板の凝集を促進し、この作用がPGF<sub>2</sub>αの受容体であるFP以外の受容体を介したものであることを見出した。本研究では、血小板におけるPGF<sub>2</sub>αの標的受容体を同定し、PGF<sub>2</sub>αがヒト血小板の機能にも影響を及ぼすか否かを検討した。

#### 【方 法】

マウスおよびヒトの血液から多血小板血漿 (PRP) を調製し、ADP (0.8 ~ 1.2 μM) で惹起した凝集 (凝集率が15%程度となるように調整)がPGF<sub>2</sub>αによりどの程度促進されるかを血小板凝集計で解析した。また、血小板におけるPGF<sub>2</sub>αの標的受容体を同定するため、プロスタノイドの各受容体を欠損するマウスからPRPを調製し、PGF<sub>2</sub>αの血小板凝集促進作用が減弱もしくは消失するかを検討した。

#### 【結 果】

##### PGF<sub>2</sub>αのマウス血小板凝集促進作用

PGF<sub>2</sub>αは、単独では血小板凝集を惹起しなかった。そこで、ADPで弱い血小板凝集を惹起して検討した結果、PGF<sub>2</sub>αはADPによる凝集を濃度依存的に促進し、そのEC<sub>50</sub>値は5.8 μMであった。また、PGF<sub>2</sub>αの濃度が1 μMより高濃度では、PGF<sub>2</sub>αにより血小板の形態変化が起きていることを示唆する凝集波形が認められた。

##### マウス血小板におけるプロスタノイド受容体の発現確認

マウス血小板からmRNAを調製し、プロスタノイド受容体の発現をRT-PCRにより観察した。TXA<sub>2</sub>受容体のTPやPGI<sub>2</sub>受容体のIPに加え、PGE<sub>2</sub>受容体のサブタイプであるEP<sub>2</sub>、EP<sub>3</sub>、EP<sub>4</sub>の発現は認められたが、PGF<sub>2</sub>αの受容体であるFPの発現は確認できなかった。

##### PGF<sub>2</sub>αのマウス血小板凝集促進作用へのプロスタノイド受容体の寄与

前述のように、血小板の機能は主にTXA<sub>2</sub>とPGL<sub>2</sub>により調節されていることが知られているが、近年、PGE<sub>2</sub>がその受容体のサブタイプを介して血小板の機能調節に関与していることを当研究室より報告し

#### 10) プロスタグランジンF<sub>2</sub>αによるヒト血小板の機能調節に関する研究

研究代表者 柏木 仁

##### 【目 的】

血小板は、生理的な止血機構や病理的な血栓形成過程において中心的な役割を果たす。従来、血小板の機能調節には、血小板活性化作用を示すトロンボキサン

た<sup>1,2)</sup>。そこで、血小板におけるPGF<sub>2</sub>αの標的受容体を同定するため、これらプロスタノイドの各受容体欠損マウスの血小板を用いてPGF<sub>2</sub>αの凝集促進作用を検討した。その結果、FPもしくはIPを欠損したマウスにおいては、野生型マウスと比較して有意な差は認められなかった。一方、EP<sub>3</sub>もしくはTPを欠損したマウスにおいては、PGF<sub>2</sub>αの凝集促進作用は有意に減弱した。また、TP欠損マウスにおいては、PGF<sub>2</sub>αによる血小板の形態変化を示す凝集波形が認められなくなった。さらに、EP<sub>3</sub>とTPの両欠損マウスにおいては、PGF<sub>2</sub>αの凝集促進作用がほぼ完全に消失した。

## PGF<sub>2</sub>αのヒト血小板凝集に対する作用

ヒト血小板を用いて検討した結果、マウス血小板同様、PGF<sub>2</sub>αは単独では血小板凝集を惹起しなかった。そこで、ADPで弱い血小板凝集を惹起して検討したが、PGF<sub>2</sub>αはADPによる凝集にほとんど影響しなかった。

## 【考 察】

PGF<sub>2</sub>αは、マウス血小板の凝集を濃度依存的に促進したが、この促進作用はFPを介したのではなく、EP<sub>3</sub>およびTPを介したものであることが示唆された。心疾患、脳血管疾患は、悪性新生物に次いで永らく日本の死亡率の上位を占めている。なかでも心筋梗塞や脳梗塞は高い割合を示しており、これら疾患の再発予防を目的に使用される抗血小板薬の重要性が高まっている。血小板の機能を調節している因子として新たにPGF<sub>2</sub>αを提案することにより、本研究が新規作用機序を持つ抗血小板薬開発の一助となることを期待していたが、PGF<sub>2</sub>αの凝集促進作用はヒト血小板においては認められなかった。PGF<sub>2</sub>αの血小板凝集に対する作用には、ヒトとマウス間で種差があることが示唆された。

## 【文 献】

- 1) Ma H, Hara A, Xiao CY, et al. Increased bleeding tendency and decreased susceptibility to thromboembolism in mice lacking the prostaglandin E receptor subtype EP<sub>3</sub>. *Circulation* 104 : 1176-1180, 2001.
- 2) Kuriyama S, Kashiwagi H, Yuhki K, et al. Selective activation of the prostaglandin E<sub>2</sub> receptor subtype EP<sub>2</sub> or EP<sub>4</sub> leads to inhibition of platelet aggregation. *ThrombHaemost* 104 : 796-803, 2010.