

AMCoR

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

炎症と免疫 (1999.10) 7巻6号:635～642.

【ノックアウトマウスを用いた炎症の解析】
プロスタノイドレセプター欠損マウスと炎症・発熱反応

牛首文隆、成宮 周

プロスタノイドレセプター欠損マウスと 炎症・発熱反応

牛首文隆* 成宮 周**

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)よりなる生理活性物質であり、合成された局所でオータコイドとしてはたらく。また、プロスタノイドはおのおのに特異的なレセプターを介して、非常に多彩な作用を発揮することが知られている。最近になって、これらのレセプターの一次構造が解明され、そのリガンド結合の特異性や情報伝達機構およびその発現分布が明らかにされてきた。しかし、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。そこで、おのおののレセプターを欠失するマウスが作出され、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。

はじめに

プロスタグランジン(PG)とトロンボキサン(TX)よりな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 A₂(PLA₂)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 PGI₂と TXA₂は化学的に

不安定であり、生理的条件下では 30 秒～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にはたらくオータ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レセプターを介して発揮される。これらには、PGD₂、PGE₂、PGF₂α、PGI₂、TXA₂に特異的なレセプターとして、おのおのの DP、EP、FP、IP、TP が知られている。さらに EP には EP 1、EP 2、EP 3、EP 4 の 4 種類のサブタイプが存在する^{1)~3)}。しかし、最近になって TP がヒト血小板より精製され⁴⁾、その cDNA がクローン化されるまで⁵⁾、プロスタノイドレセプターの本態はまったく不明であった。これらの研

【キーワード】
プロスタノイド
PG
TX
ノックアウトマウス
レセプター

* USHIKUBI Fumitaka/旭川医科大学薬理学講座
** NARUMIYA Shuh/京都大学医学部薬理学教室

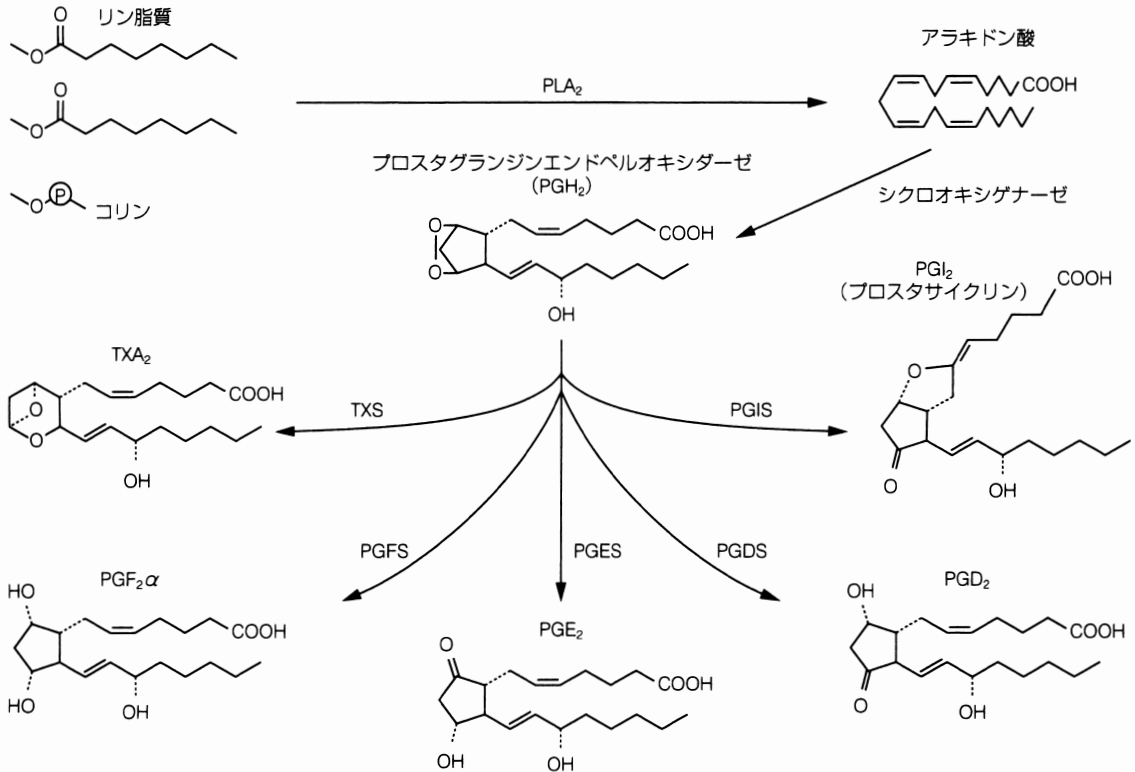


図 1. プロスタノイドの生合成

細胞が刺激を受けると、ホスホリパーゼ A₂ (PLA₂) 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 PGG₂ を経て PGH₂ が合成される。最終的には、各細胞に存在する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、生理的に重要な PGD₂, PGE₂, PGF₂α, PGI₂, TXA₂ の 5 種類のプロスタノイドが合成される。

究の結果、TP は 7 回膜貫通構造をもち、G 蛋白質と連関するロドプシン型のレセプター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レセプター (DP, EP 1, EP 2, EP 3, EP 4, FP, IP, TP) の一次構造が解明された³⁾(図 2)。ついで、種々の培養細胞系を用いて発現された均一なレセプター標本に対して、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、プロスタノイドレセプター mRNA の発現分布がノーザンプロット解析や *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 PGE₂ の作用にどのレセプター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レセプター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、これらの解析によって明らかにされた、プロスタノイドの炎症や発熱反応において果たす役割を紹介したい。

DP	MNSYI---RCQISTWVRGSSATMGAVLFGA	LLGNLELVLL-ARSGLGS
EP2	MDFLDSKMDCKSRQWLLSGSPATISVWFSA	GVGNLALAIL-ARRWGD
IP	---MAG---SCMHTYDSDVGPATISVWFSA	GVGNLALAILGARR---
EP4	MAEVGGTIPRMRKRLQRCVLTITTIMIPGVA	SRFVTPFVIVVIVLCKSR---
EP3	---PMSAKHMLSSITDDCGS---VSAPFPI	HMVTFVGNLIVLRSYKRRK---
EP1	---AATCATPRLEHTLAVLPTDGGTSPALP	IFMTELVGALALAQVAGMR---
TP	---PVE---ITLQRRRAIASPWFAPFMTAL	GLSNLALSLVLAGARFAG
FP	MSMNSKQ-----PVSPAAGLIANTC---	QTEHNSVPPSIIIMTVGILSNLAIKAKYQPK

DP	---CRPGPLHPPSPSVYVCGQITVTDLIGK	CLISPMVLAAGQMQSKKELLASGHLKETA	PAFLMSEFGASTLQLLANAVTCM
EP2	TGCSAGS-RNSISLPHVIVSIVLTDLIGKCLIS	SPVLAAGQMQSKKELLASGHLKETA	PAFLMSEFGASTLQLLANAVTCM
IP	---KNSPSAFVIVCGAVTDLIGKCLISPMV	LAAGQMQSKKELLASGHLKETA	PAFLMSEFGASTLQLLANAVTCM
EP4	---KNSPETFIVCGAVTDLIGKCLISPMV	LAAGQMQSKKELLASGHLKETA	PAFLMSEFGASTLQLLANAVTCM
EP3	---KRRK-SFLCIGNALDVLQDLSGAVIVL	QDLSGAVIVLQDLSGAVIVLQDLSGAVIVL	QDLSGAVIVLQDLSGAVIVLQDLSGAVIVL
EP1	---RRAATFLVFAVLAIDACHVPGAVIVL	QDLSGAVIVLQDLSGAVIVLQDLSGAVIVL	QDLSGAVIVLQDLSGAVIVLQDLSGAVIVL
TP	---RES---FLALCGVITDFLCLVGTAGIV	ASQAAALDWRATISCR---LCCYFGVAV	VFGLCFPLLGAANADERY
FP	---K-SKASFLLEASQVITDFLCLVGTAGIV	ASQAAALDWRATISCR---LCCYFGVAV	VFGLCFPLLGAANADERY

DP	LSLGMPFYIQHNVTRRGVLVAVVAAFCLAP	CAFPAGFCMPF-VQYCPGTRCFIQ	-----MIKERSP	SVIGFVLSYBEMAL
EP2	LSIGPPYFYKHLRRGGLAVPVVYIGABLF	PCSLPRLMIMY-VQYCPGTRCFIQ	-----HGRTAYLQ	-----LYRTMILL
IP	LALSHPYFYKHLRRGGLAVPVVYIGABLF	PCSLPRLMIMY-VQYCPGTRCFIQ	-----MNSAQ	PPGGCA--PSLAYRSMAL
EP4	LAINMAYFYKHLRRGGLAVPVVYIGABLF	PCSLPRLMIMY-VQYCPGTRCFIQ	-----MNSAQ	PPGGCA--PSLAYRSMAL
EP3	LAIKAPLHMYAKMKT-RATPVLGVMLSV	LAVALLPVLGVMLSVAVLALPVLGVMLSV	AVM-PGTWCFID	-----MNTMTAYAA--PSYMYAGVSMAL
EP1	VGVTOPLIHAKRVSVA-KARLALAVLAV	LAVALLPVLGVMLSVAVLALPVLGVMLSV	AVM-PGTWCFID	-----MNTMTAYAA--PSYMYAGVSMAL
TP	VGITPEP-FRSPATATSERAWTVGLVM	VAAAGLGLPVLGVMLSVAVLALPVLGVMLSV	AVM-PGTWCFID	-----MNTMTAYAA--PSYMYAGVSMAL
FP	IGVTEP-IFPHEKITSKHVKNMISGVC	MPAVFVAVLPLIGHRVYQIQA-SR	WCFEYMT	TEHIEDDED-----RNYLLPFPVYDGLL

DP	LVLAVVCLGAMVMIYDM-----HRQR	HYPCRSRDAQ-----SGS	-----DYNKGS	LHPLRRE
EP2	LIVAVLACNSVLEMIYM-----HRQR	HYPCRSRDAQ-----SGS	-----DYNKGS	LHPLRRE
IP	LIVSIFCRNSVLEMIYM-----HRQR	HYPCRSRDAQ-----SGS	-----DYNKGS	LHPLRRE
EP4	LILAVLACNSVLEMIYM-----HRQR	HYPCRSRDAQ-----SGS	-----DYNKGS	LHPLRRE
EP3	ALVTFACNSVLEMIYM-----HRQR	HYPCRSRDAQ-----SGS	-----DYNKGS	LHPLRRE
EP1	ALLAALVCLSGALIC-----KARWR	RRRFRKRTAGPDRKRWGSRGP	PLASASBSSISEATATLRS	SKGGSSARRVHAND
TP	SVGLSLLENTSVATLIC-----RVIX	TRKATQPRDC	-----	-----
FP	ALGVSPGCAVTVGTLL-----RVK	FRSQHKGCR	-----	-----

DP	LDFHVLALMVLVFTMCSLP	IYRAYIGAFKLEN	-----KAE	GDSRDP	QRLRFLSVI	SEIVDP	PIPIF	RTSVF	-----RMLLPHK
EP2	TDFHVLALMVLVFTMCSLP	IYRAYIGAFKLEN	-----KAE	GDSRDP	QRLRFLSVI	SEIVDP	PIPIF	RTSVF	-----RMLLPHK
IP	VRELVLALMVLVFTMCSLP	IYRAYIGAFKLEN	-----KAE	GDSRDP	QRLRFLSVI	SEIVDP	PIPIF	RTSVF	-----RMLLPHK
EP4	IQMWLILALMVLVFTMCSLP	IYRAYIGAFKLEN	-----KAE	GDSRDP	QRLRFLSVI	SEIVDP	PIPIF	RTSVF	-----RMLLPHK
EP3	---KTAIQLMGMICVLSVCS	PIYVRFIMQIYQHMNV	-----KDI	SRMPP	PIYVRFIMQIYQHMNV	-----KDI	SRMPP	PIYVRFIMQIYQHMNV	-----KDI
EP1	---KTAIQLMGMICVLSVCS	PIYVRFIMQIYQHMNV	-----KDI	SRMPP	PIYVRFIMQIYQHMNV	-----KDI	SRMPP	PIYVRFIMQIYQHMNV	-----KDI
TP	---KTAIQLMGMICVLSVCS	PIYVRFIMQIYQHMNV	-----KDI	SRMPP	PIYVRFIMQIYQHMNV	-----KDI	SRMPP	PIYVRFIMQIYQHMNV	-----KDI
FP	---KTAIQLMGMICVLSVCS	PIYVRFIMQIYQHMNV	-----KDI	SRMPP	PIYVRFIMQIYQHMNV	-----KDI	SRMPP	PIYVRFIMQIYQHMNV	-----KDI

DP	VTRPLIYRNVSSNSQSNVKS	TL	-----	-----
EP2	LCCLCARVNGDLOQLSR	PAAGRRDPPAPT	SLQAKGSGNVPLSSMGTQV	APLTA
IP	---KTKLFCRIGGSDNS	SAQCSCSERN	TSAMSGHRSPLAN	HEKEISSTSQ
EP4	---KTKLFCRIGGSDNS	SAQCSCSERN	TSAMSGHRSPLAN	HEKEISSTSQ
EP3	---KTKLFCRIGGSDNS	SAQCSCSERN	TSAMSGHRSPLAN	HEKEISSTSQ
EP1	PLKVASAKGPTLGLTK	KSANABSLSRNS	-----RH	SGVFSHL
TP	---KTKLFCRIGGSDNS	SAQCSCSERN	TSAMSGHRSPLAN	HEKEISSTSQ
FP	---KTKLFCRIGGSDNS	SAQCSCSERN	TSAMSGHRSPLAN	HEKEISSTSQ

図 2. プロスタノイドレセプターのアミノ酸配列
 マウスの PGD₂レセプター (DP), PGI₂レセプター (IP), 4 種類の PGE₂レセプターサブタイプ (EP1, EP2, EP3, EP4), TXA₂レセプター (TP), PGF₂αレセプター (FP) のアミノ酸配列を相同性が最も高くなるように並べた。横線は細胞膜貫通領域を示し、プロスタノイドレセプター間でよく保存されたアミノ酸を白抜き強調して示す。

1. IP 欠損マウスの解析

PGI₂は血小板活性化の抑制と血管平滑筋の弛緩作用を示す。一方、TXA₂は血小板活性化と血管平滑筋の収縮作用を示すことから、この両者のバランスが血栓傾向や動脈硬化の要因として重要と考えられている⁶⁾。

IP 遺伝子の第1および第2エクソンの一部をネオマイシン耐性遺伝子で置換し、相同組換えによってIPを欠損するマウスが作製された⁷⁾。IPホモ欠損マウスは正常に発育し、生殖機能にも異常を認めなかった。また、IP欠損マウスの血小板や血管平滑筋はPGI₂アゴニストに対する反応を欠如するが、出血時間や血圧には変化を認めなかった。したがってこれらの血小板や血管平滑筋での作用は、種々の病態時の血小板機能や局所での臓器血流の調節などに関与すると考えられる。つぎに血管内皮障害モデルを用いた血栓形成⁸⁾が検討された。頸動脈の外膜側より塩化第二鉄を添加して血管内皮障害を惹起し、4時間後に血流と血管組織像が解析された。その結果、IP欠損マウスでは著明な血栓形成の増強が認められ、PGI₂が血管の内皮障害に起因する血栓形成に重要な役割を果たすことが示された。また、動脈硬化が血管内皮の障害を契機として発症・進展することを考えると、この抗血栓効果がPGI₂のもつ抗動脈硬化の作用機構の一部であると考えられる。

従来、プロスタノイドは炎症のメディエーターとしての役割が知られている⁹⁾。なかでもPGE₂がその中心と考えられ、PGI₂の関与は明らかではなかった。そこで、炎症反応の指標として血管透過性の亢進について焦点をあて、外来性に投与したこれらのPGの作用が解析された。マウスにpontamine skyblue色素を静注した後、背部皮下にブラジキニン単独あるいはPGとあわせて注入し、4時間後に皮内に漏出した色素を抽出し比色定量した¹⁰⁾。この結果、野生型マウスではPGE₂とPGI₂はともにブラジキニンの血管透過性亢進作

用を強く増強し、IP欠損マウスではPGI₂の作用のみが欠失していた。この結果は、PGE₂とPGI₂がともに炎症の場において血管透過性を亢進させる可能性を示唆した。ついで内因性PGの炎症反応への関与がカラゲニン浮腫モデル¹¹⁾を用いて検討された。マウス後肢にカラゲニンを皮下注入し、惹起された炎症反応に伴う血管透過性亢進による浮腫を足趾の体積の変化として解析した。その結果、IP欠損マウスでは浮腫の形成が著明に減弱しており、その程度は野生型マウスをインドメタシン処理したものと同程度であった(図3-A)。この結果、予想に反してPGE₂ではなくPGI₂がカラゲニン炎症に伴う血管透過性に重要なプロスタノイドであることが明らかとなった。

一方、脊髄後根神経節の神経細胞の約50%にIPの発現が認められることから知覚伝達へのPGI₂の関与が示唆されている。そこで、酢酸ライジング¹²⁾を用いた炎症反応に伴う疼痛が解析された。マウス腹腔内に希酢酸を注入し疼痛反応としてのライジングの回数を30分間計測した。その結果、野生型マウスでは約40回反応が認められるのに対し、IP欠損マウスでは約8回と疼痛反応の著明な減少を認め、その程度は野生型マウスをインドメタシン処理したものと同程度であった(図3-B)。この結果、この系において痛覚の伝達はおもにIPを介していることが証明された。このように、PGI₂は心血管系での抗血栓作用以外に炎症反応の場において血管透過性の亢進や疼痛の伝達など非常に重要な役割を果たしていることが示された。

2. EP3 欠損マウスの解析

発熱は疾患の主要な徴候であり、菌体成分であるLPS(リポ多糖)や無菌性炎症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インターロイキン(IL)-1 β 、IL-6、IL-8、腫瘍壊死因子(tumor necrosis factor: TNF)- α 、MIP-1 β などのサイトカインの産生を惹起

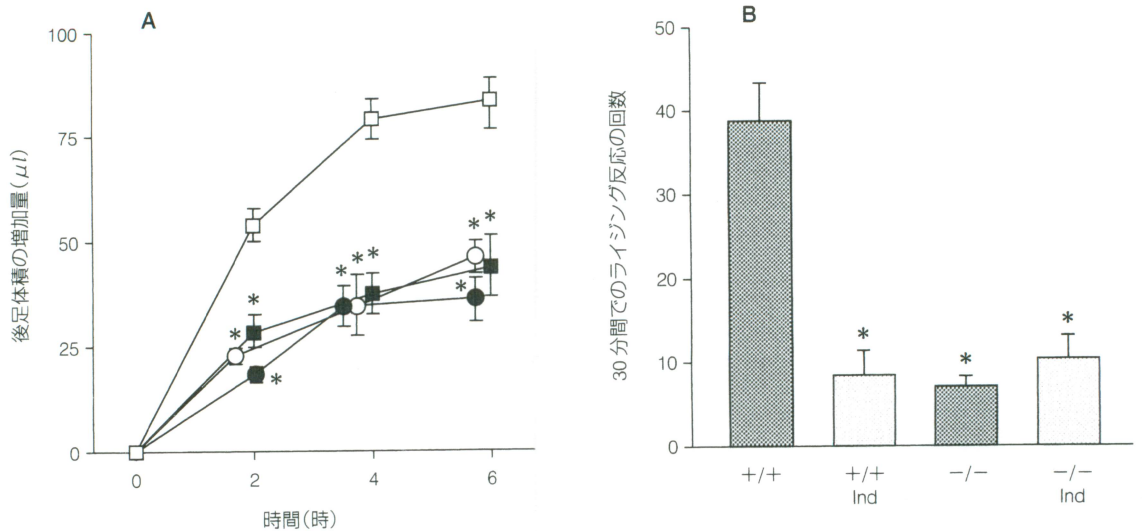


図 3-A, B. IPレセプター欠損マウスにおける炎症性浮腫と疼痛感受性

A. カラゲニン誘発足浮腫: 2%カラゲニン溶液 30 μ l をマウスの右後肢足掌に注入し, 足の体積の経時変化を測定した. インドメタシン (10 mg/kg) はカラゲニン注入の 30 分前に腹腔内に投与した. □, 野生型マウス (n=9); ○, IPレセプター欠損マウス (n=10); ■, インドメタシン処理した野生型マウス (n=8); ●, インドメタシン処理したIPレセプター欠損マウス (n=7), *; $P < 0.01$.

B. 酢酸ライジング試験: 0.9%酢酸溶液 (5 ml/kg) を腹腔内に投与し, 30 分のあいだに認められるライジング (疼痛反応) の回数を測定した. インドメタシン処理は A. と同様におこなった. +/+, 野生型マウス; -/-, IPレセプター欠損マウス; Ind, インドメタシン処理, n=6-9, *; $P < 0.01$.

し, これらが内因性発熱物質として脳に作用する¹³⁾. 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¹⁴⁾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. なかでも PGE_2 が発熱のメディエーターとして重視されてきた¹⁵⁾が, この点に関しては多くの議論がなされてきた^{13)16)~19)}. また, PGE_2 の発熱作用が EP 1, EP 2, EP 3, EP 4 のうちのサブタイプレセプター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 4 種類の EP サブタイプのおおのを欠損したマウスを用いて PGE_2 の発熱作用が解析された²⁰⁾. PGE_2 を野生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 $2^{\circ}C$ の一過性の発熱が出現する. EP 1, EP 2, EP 4 欠損マウスでは PGE_2 の脳室内投与により野生型マウスと同様の発熱反応が出現したが, EP 3 欠損マウスではまったく反応が認められなかった (図 4-A). この

結果, PGE_2 の発熱作用は EP 3 を介することが明らかになった. ついで, 代表的な内因性発熱物質である $IL-1\beta$ を野生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 $1^{\circ}C$ 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 3 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 3 を介することが明らかになった. 一方, LPS による発熱は $IL-1\beta$ を含む複数の内因性発熱物質 (サイトカイン) の産生を介して発揮されている. 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生型マウスと同様に認められ²¹⁾²²⁾, $IL-1\beta$ 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 3 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,

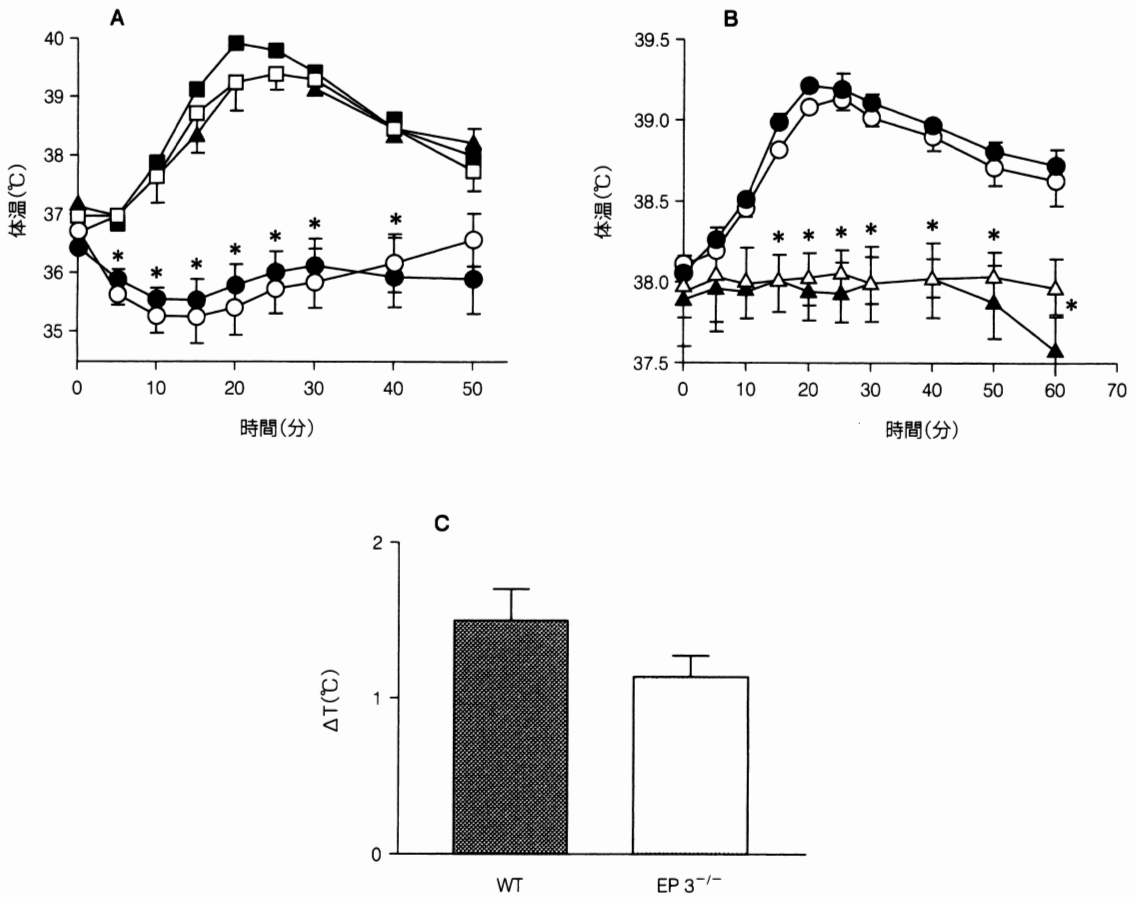


図 4-A~C. EP3 レセプター欠損マウスと発熱

A. EP3 レセプター欠損マウスでの PGE₂ 誘発発熱: PGE₂ (1 nmol) を脳室内に投与し, 直腸温を経時的に計測した. EP1 (■), EP2 (□), EP4 (▲) レセプター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, EP3 (●) レセプター欠損マウスはまったく発熱反応を示さない. ○; ビークルを投与した EP3 レセプター欠損マウス, *; P<0.01(PGE₂ 投与した野生型マウスに対して).

B. EP3 レセプター欠損マウスでの 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. 野生型マウス (○) と EP1 レセプター欠損マウス (●) 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, EP3 レセプター欠損マウス (▲) はまったく発熱反応を示さない. △; ビークルを投与した EP3 レセプター欠損マウス, *; P<0.01

C. EP3 レセプター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 EP3 レセプター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.

LPS を野生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°C の持続性の発熱が出現した. ついで, LPS を EP3 欠損マウスに投与するとまったく発熱反応が認められなかった (図 4-B). この結果, PGE₂ は EP3 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はたらくこと

が明らかになった. 一方, EP3 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 4-C), 発熱機構そのものは正常と考えられた. 以上の結果, PGE₂ 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 3 を介することが証明された。

3. TP レセプター欠損マウスの解析

TP mRNA の発現をノーザンブロット法で解析すると、従来 TXA₂ 自身の作用部位として心血管系がよく知られており、これと一致して心臓、肺、腎臓といった部位に発現が認められた。しかし、驚いたことに、胸腺とか脾臓といった、いわゆる免疫系の中心臓器に非常にたくさんのメッセージが発現していることがわかった²³⁾。実際に、この TP の発現をレセプターアンタゴニストである [³H] S-145 を用いたリガンド結合実験で解析すると、胸腺の T 細胞には 10⁸ 個の細胞当たり 1.5 pmol と非常に高い発現を認めた。一方、末梢の T 細胞である脾臓の T 細胞にも発現を認めたが、B 細胞には認めなかった。また、未熟な胸腺細胞を培養しておき、そこに TP アゴニストである STA₂ を加えると、STA₂ は用量依存的にアポトーシスを亢進させることが明らかになった²⁴⁾。これらの結果、TXA₂ は免疫系において何らかの役割を果たすことが予想された。そこで現在、TP ノックアウトマウスを用いた解析が進められている。この解析では、種々の免疫反応のモデルにおいて、TP 欠損マウスでの反応が亢進していることが明らかにされつつある。

おわりに

最近になって、プロスタノイドレセプターのクローニングに伴い、レセプターの構造、機能やその生体内分布の解析は飛躍的に進展した。また、おのおののプロスタノイドレセプター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、その成果について炎症・発熱を中心に紹介した。今後は、プロスタノイドの炎症や免疫系において果たす生理的・病態生理的な役割のさらなる解明が期待される。

文 献

- 1) Coleman, R. A. *et al.* : Prostanoids and their receptors. In : *Comprehensive Medicinal Chemistry*, ed. by Emmett, J. C., Vol. 3, pp. 643-714, Pergamon Press, Oxford, 1990, pp. 643-714
- 2) Coleman, R. A. *et al.* : A novel inhibitory receptor in piglet saphenous vein. *Prostaglandins* **47** : 151-168, 1994
- 3) Ushikubi, F. *et al.* : Molecular biology of prostanoid receptors ; an overview. *J. Lipid Mediators Cell Signal.* **12** : 343-359, 1995
- 4) Ushikubi, F. *et al.* : Purification of the thromboxane A₂/prostaglandin H₂ receptor from human blood platelets. *J. Biol. Chem.* **264** : 16496-16501, 1989
- 5) Hirata, M. *et al.* : Cloning and expression of cDNA for a human thromboxane A₂ receptor. *Nature* **349** : 617-620, 1991
- 6) Bunting, S. *et al.* : The prostacyclin-thromboxane A₂ balance : pathophysiological and therapeutic implications. *Br. Med. Bull.* **39** : 271-276, 1983
- 7) Murata, T. *et al.* : Altered pain perception and inflammatory response in mice lacking prostacyclin receptor. *Nature* **388** : 678-682, 1997
- 8) Kurz, K. D. *et al.* : Rat model of arterial thrombosis induced by ferric chloride. *Thromb. Res.* **60** : 269-280, 1990
- 9) Vadas, P. *et al.* : Extracellular phospholipase A₂ mediates inflammatory hyperaemia. *Nature* **293** : 583-585, 1981
- 10) Ueno, A. *et al.* : Involvement of bradykinin in endotoxin-induced vascular permeability increase in the skin of rats. *Eur. J. Pharmacol.* **284** : 211-214, 1995
- 11) Winter, C. A. and Flataker, L. : Reaction thresholds to pressure in edematous hindpaws of rats and responses to analgesic drugs. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **150** : 165-171, 1965
- 12) Koster, R. *et al.* : Acetic acid for analgesic screening. *Fed. Proc.* **18** : 412, 1959
- 13) Kluger, M. J. : Fever : role of pyrogens and cryogens. *Physiol. Rev.* **71** : 93-127, 1991
- 14) Vane, J. R. : Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin like drugs. *Nature New Biol.* **231** : 232-235, 1971

- 15) Milton, A. S. and Wendlandt, S. A. : A possible role for prostaglandin E 1 as a modulator for temperature regulation in the central nervous system of the cat. *J. Physiol. (Lond)* **207** : 76-77, 1970
- 16) Stitt, J. T. : Prostaglandin E as the neural mediator of the febrile response. *Yale J. Biol. Med.* **59** : 137-149, 1986
- 17) 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
- 18) Milton, A. S. : Thermoregulatory actions of eicosanoids in the central nervous system with particular regard to the pathogenesis of fever. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **559** : 392-410, 1989
- 19) Saper, C. B. and Breder, C. D. : The neurologic basis of fever. *N. Engl. J. Med.* **330** : 1880-1886, 1994
- 20) Ushikubi, F. *et al.* : Impaired febrile response in mice lacking the prostaglandin E receptor subtype EP 3. *Nature* **395** : 281-284, 1998
- 21) Zheng, H. *et al.* : Resistance to fever induction and impaired acute-phase response in interleukin-1 β -deficient mice. *Immunity* **3** : 9-19, 1995
- 22) Kozak, W. *et al.* : Thermal and behavioral effects of lipopolysaccharide and influenza in interleukin-1 β -deficient mice. *Am. J. Physiol.* **269** : R 969-R 977, 1995
- 23) Namba, T. *et al.* : Mouse thromboxane A₂ receptor : cDNA cloning, expression and northern blot analysis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **184** : 1187-1203, 1992
- 24) Ushikubi, F. *et al.* : Thromboxane A₂ receptor is highly expressed in mouse immature thymocytes and mediates DNA fragmentation and apoptosis. *J. Exp. Med.* **178** : 1825-1830, 1993