
受容体欠損マウスを用いた心血管リモデリング
におけるプロスタノイドの役割の解明

(研究課題番号 15590265)

平成15～17年度科学研究費補助金
(基盤研究(C)) 研究成果報告書

平成 18 年 3 月

研究代表者 原 明義

旭川医科大学・医学部・助教授

はしがき

この研究報告書は、平成15～17年度科学研究費補助金（基盤研究（C））の助成のもとに行われた「受容体欠損マウスを用いた心血管リモデリングにおけるプロスタノイドの役割の解明」に関する研究の成果をまとめたものです。本研究計画の一部は、現在も解析中ですが、この3年間で多くの新しい知見を得ることができたと考えております。報告書をまとめるにあたり、各分野の先生方から率直なご批判を頂ければ幸いに存じます。

研究組織

研究代表者： 原 明義（旭川医科大学薬理学講座・助教授）

研究分担者： 結城 幸一（旭川医科大学薬理学講座・助手）

研究協力者： 牛首 文隆（旭川医科大学薬理学講座・教授）

成宮 周（京都大学大学院医学研究科
神経・細胞薬理学講座・教授）

交付決定額（配分額）

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
平成15年度	1,200,000	0	1,200,000
平成16年度	1,500,000	0	1,500,000
平成17年度	900,000	0	900,000
総計	3,600,000	0	3,600,000

研究発表

(1) 学会誌等

● 原著論文

1. Yamada T, Fujino T, Yuhki K, Hara A, Karibe H, Takahata O, Okada Y, Xiao CY, Takayama K, Kuriyama S, Taniguchi T, Shiokoshi T, Ohsaki Y, Kikuchi K, Narumiya S and Ushikubi F. Thromboxane A₂ regulates vascular tone via its inhibitory effect on the expression of inducible nitric oxide synthase. *Circulation* 108, 2381-2386, 2003
2. Xiao CY, Yuhki K, Hara A, Fujino T, Kuriyama S, Yamada T, Takayama K, Takahata O, Karibe H, Taniguchi T, Narumiya S and Ushikubi F. Prostaglandin E₂ protects the heart from ischemia-reperfusion injury via its receptors subtype EP₄. *Circulation* 109, 2462-2468, 2004
3. Fujino T, Nakagawa N, Yuhki K, Hara A, Yamada T, Takayama K, Kuriyama S, Hosoki Y, Takahata O, Taniguchi T, Fukuzawa J, Hasebe N, Kikuchi K, Narumiya S and Ushikubi F. Decreased susceptibility to renovascular hypertension in mice lacking the prostaglandin I₂ receptor IP. *J. Clin. Invest.* 114, 805-812, 2004
4. Takayama K, Yuhki K, Ono K, Fujino T, Hara A, Yamada T, Kuriyama S, Karibe H, Okada Y, Takahata O, Taniguchi T, Iijima T, Iwasaki H, Narumiya S and Ushikubi F. Thromboxane A₂ and prostaglandin F₂α mediate inflammatory tachycardia. *Nat. Med.* 11, 562-566, 2005
5. Hara A, Yuhki K, Fujino T, Yamada T, Takayama K, Kuriyama S, Takahata O, Karibe H, Okada Y, Xiao CY, Ma H, Narumiya S and Ushikubi F. Augmented cardiac hypertrophy in response to pressure overload in mice lacking the prostaglandin I₂ receptor. *Circulation* 112, 84-92, 2005

● 総説

1. 原 明義、結城幸一、藤野貴行、成宮 周、牛首文隆. 心血管系におけるプロスタノイドの病態生理的役割：受容体欠損マウスを用いた解析、日薬理誌 122, 384-390, 2003
2. 牛首文隆、原 明義、結城幸一、藤野貴行、成宮 周. 心血管系におけるプロスタグランジンの役割：受容体欠損から、血管医学 6, 337-349, 2005

3. 結城幸一、藤野貴行、原 明義、牛首文隆. 循環器系におけるプロスタノイドの役割、炎症と免疫 14, 59-65, 2006

(2) 口頭発表

● 国内学会一般演題

1. 山田武宏、藤野貴行、結城幸一、原 明義、成宮 周、牛首文隆. トロンボキサン A_2 による誘導型一酸化窒素合成酵素の発現抑制を介した血管張力の調節、第76回日本薬理学会年会（福岡）、平成15年3月
2. 莉部英寿、原 明義、結城幸一、藤野貴行、成宮 周、牛首文隆. 胸部大動脈の収縮・弛緩を仲介するプロスタノイド受容体について、第76回日本薬理学会年会（福岡）、平成15年3月
3. 藤野貴行、結城幸一、原 明義、高畑 治、長谷部直幸、菊池健次郎、牛首文隆. 腎血管高血圧症におけるプロスタノイドの役割、第76回日本薬理学会年会（福岡）、平成15年3月
4. 結城幸一、肖 春陽、原 明義、藤野貴行、成宮周、牛首文隆. 虚血-再灌流障害における PGE_2 - EP_4 を介した心筋保護作用、第17回北海道薬物作用談話会（札幌）、平成15年8月
5. 原 明義、結城幸一、藤野貴行、山田武宏、成宮 周、牛首文隆. マウスの心筋細胞肥大および非心筋細胞増殖におよぼすプロスタグランジン I_2 の作用、第54回日本薬理学会北部会（仙台）、平成15年10月
6. 結城幸一、肖 春陽、原 明義、藤野貴行、成宮 周、牛首文隆. 虚血-再灌流障害における PGE_2 - EP_4 を介した心筋保護作用、第54回日本薬理学会北部会（仙台）、平成15年10月
7. 山田武宏、藤野貴行、結城幸一、原 明義、成宮 周、牛首文隆. プロスタノイドによるCyclooxygenase-2の発現調節、第54回日本薬理学会北部会（仙台）、平成15年10月
8. 栗山周子、結城幸一、山田武宏、藤野貴行、原 明義、成宮 周、牛首文隆. 血小板凝集反応におけるプロスタグランジン(PG) E_2 の作用、第54回日本薬理学会北部会（仙台）、平成15年10月

9. 中川直樹、藤野貴行、結城幸一、原 明義、長谷部直幸、菊池健次郎、成宮周、牛首文隆. 腎線維化におけるプロスタグランジンE₂の役割、第54回日本薬理学会北部会（仙台）、平成15年10月
10. 山田武宏、藤野貴行、結城幸一、原 明義、牛首文隆. トロンボキサンA₂による血管機能調節 - 誘導型 NO 合成酵素の発現抑制を介して-, 第30回細胞情報伝達系北海道研究会（札幌）、平成15年11月
11. 中川直樹、藤野貴行、結城幸一、原 明義、長谷部直幸、菊池健次郎、成宮周、牛首文隆. 腎線維化におけるプロスタグランジンE₂の役割、第30回細胞情報伝達系北海道研究会（札幌）、平成15年11月
12. 原 明義、結城幸一、藤野貴行、成宮 周、牛首文隆. プロスタグランジンI₂受容体欠損マウスでは、圧負荷による心肥大形成が増強する、第77回日本薬理学会年会（大阪）、平成15年3月
13. 岡田優二、結城幸一、中西 桂、細木弥生、原 明義、藤野貴行、高後 裕、成宮 周、牛首文隆. プロスタグランジンE₂受容体サブタイプEP₄アゴニストは四塩化炭素急性肝障害から肝臓を保護する、第77回日本薬理学会年会（大阪）、平成15年3月
14. 苅部英寿、原 明義、結城幸一、藤野貴行、成宮 周、牛首文隆. 受容体欠損マウスを用いたプロスタノイドの血圧・心拍に対する作用の解析、第77回日本薬理学会年会（大阪）、平成15年3月
15. 山田武宏、藤野貴行、結城幸一、原 明義、牛首文隆. プロスタノイドによるcyclooxygenase-2の発現調節、第77回日本薬理学会年会（大阪）、平成15年3月
16. 中川直樹、藤野貴行、結城幸一、原 明義、成宮 周、牛首文隆. プロスタグランジンE₂はその受容体サブタイプEP₄を介して腎線維化を抑制する、第77回日本薬理学会年会（大阪）、平成15年3月
17. 細木弥生、結城幸一、原 明義、大蔵暁正、高後 裕、成宮 周、牛首文隆. マウス肝再生におけるプロスタグランジンI₂-IP系の役割、第56回日本薬理学会北部会（小樽）、平成16年9月
18. 原 明義、結城幸一、成宮 周、牛首文隆. 圧負荷による心筋細胞肥大および心線維化におけるプロスタノイドの役割、第78回日本薬理学会年会（横浜）、平成17年3月

19. 苅部英寿、結城幸一、原 明義、成宮 周、牛首文隆. 血圧・心拍に対するプロスタグランジン D₂ の作用、第78回日本薬理学会年会（横浜）、平成17年3月
20. 細木弥生、結城幸一、原 明義、李 暁正、高後 裕、成宮 周、牛首文隆. 肝再生におけるプロスタグランジン I₂-IP 系の役割、第78回日本薬理学会年会（横浜）、平成17年3月
21. 李 暁正、結城幸一、原 明義、岩崎 寛、成宮 周、牛首文隆. 脳血栓症の病態形成における PGE₂-EP₄ 系の役割、第57回日本薬理学会北部会（新潟）、平成17年10月
22. 李 暁正、結城幸一、原 明義、岩崎 寛、成宮 周、牛首文隆. プロスタグランジン E₂ はマウス脳血栓症モデルにおいて EP₄ を介して脳虚血障害を悪化させる、第79回日本薬理学会年会（横浜）、平成18年3月

● シンポジウム

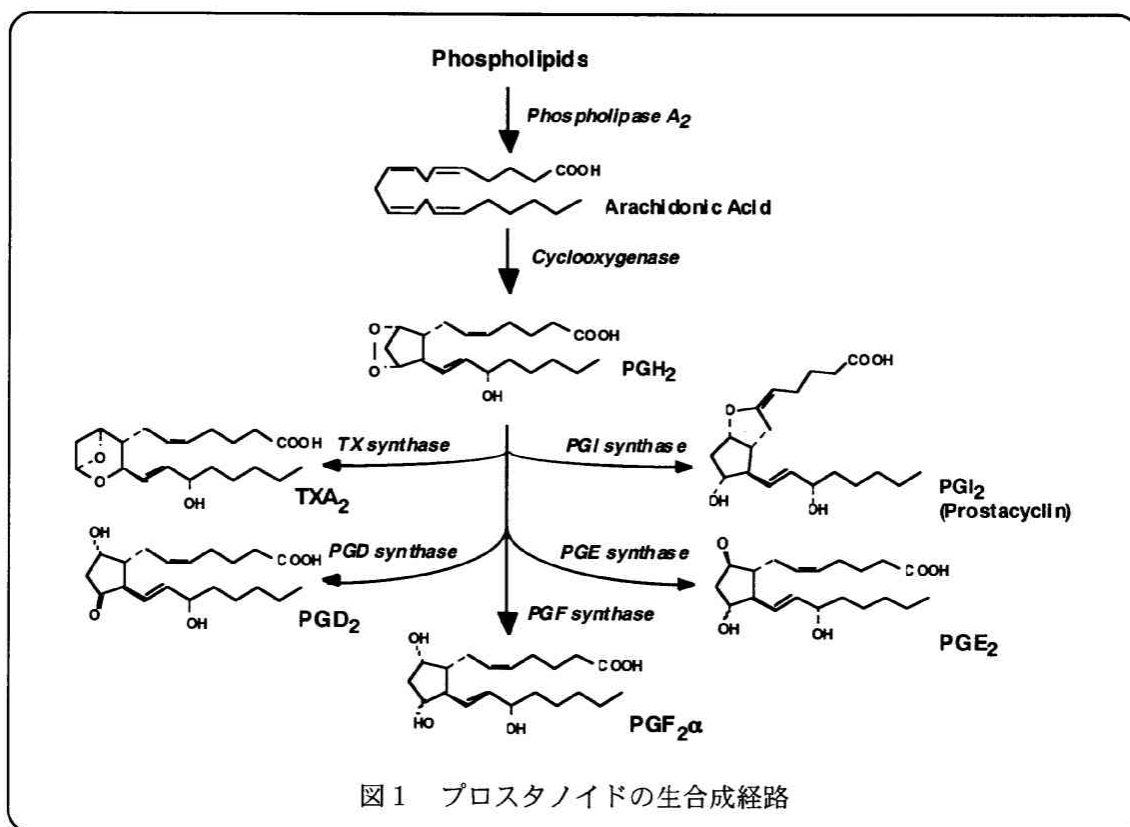
1. 原 明義、結城幸一、藤野貴行、成宮 周、牛首文隆. 心血管系におけるプロスタノイドの病態生理的役割：受容体欠損マウスを用いた解析、第76回日本薬理学会年会（福岡）、平成15年3月
2. 結城幸一、原 明義、成宮 周、牛首文隆. 循環器疾患におけるプロスタノイドの役割、第78回日本薬理学会年会（横浜）、平成17年3月

● 国際学会

1. Yuhki K, Xiao CY, Hara A, Fujino T, Narumiya S and Ushikubi F. The prostaglandin E₂-EP₄ system protects the heart from ischemia-reperfusion injury. The 12th World Congress of Heart Disease (Vancouver, Canada), 平成17年7月
2. Yamada T, Fujino T, Yuhki K, Hara A, Matsubara H, Narumiya S and Ushikubi, F. Thromboxane A₂ inhibits expression of inducible nitric oxide synthase and regulates vascular tone. The 12th World Congress of Heart Disease (Vancouver, Canada), 平成17年7月

研究成果の要旨

プロスタノイドとは、アラキドン酸にシクロオキシゲナーゼ (COX) が作用することによって産生されるプロスタグランジン (PG) とトロンボキサン (TX) の総称である (図1)。これらのプロスタノイドは標的細胞表面にある各プロスタノイドに特異的な受容体を介して、多彩な生理作用を発揮する。現在、PGD₂、PGE₂、PGF₂α、PGI₂、TXA₂ の受容体として、それぞれ DP、EP、FP、IP、TP が知られており、EP は EP₁、EP₂、EP₃、EP₄ の4種類のサブタイプに分類されている。



近年、多数種のプロスタノイド受容体が、心筋組織に発現していることや、肥全心において、ある種のプロスタノイドの産生が亢進していることが明らかとなり、心臓の肥大化や線維化などの心筋リモデリングの成因に、プロスタノイドが関与している可能性が想定されてきた。事実、PGF₂α を投与したラットでは心肥大が生じることが報告されている。

心肥大は負荷に対する一種の適応現象であるが、長期的には心臓の拡張障害を招き心不全の原因となる。したがって、心筋リモデリングにおいて、どの種の内因性プロスタノイド

が、どのような役割を演じているかを解明することは、その発生機序や予防・治療法を論ずるうえで重要である。しかし、各プロスタノイド受容体に対する特異的なアゴニストやアンタゴニストは殆どなく、心筋リモデリングにおけるプロスタノイドの役割については不明な点が多く残されている。そこで、我々はジーンターゲット法により作成したプロスタノイド受容体欠損マウスを用いて、圧負荷により惹起される心肥大に関与する内因性プロスタノイドとその作用機序を解析することを試みた。

始めに、心臓におけるプロスタノイド受容体 mRNA の発現を解析したところ、EP₂、EP₃、EP₄、FP、IP および TP mRNA の発現が確認された。そこで、これらの受容体を各々欠損するマウスの胸部大動脈を、慢性的に縮窄することにより圧負荷心肥大モデルを作成した。野生型および各プロスタノイド受容体欠損マウスの心重量/体重比は、いずれも狭窄4週間後に著しく増加し、明らかな心肥大が認められた。その値は上記6種類の受容体各欠損マウスのなかで、唯一 IP 欠損マウスのみが野生型マウスに比較して有意に高く、他の受容体欠損マウスの心重量/体重比は、野生型マウスのそれと差を認めなかった。一方、非狭窄群の心重量/体重比は、各マウスのあいだに有意な差を認めなかった。この結果、PGI₂-IP 系が圧負荷による心肥大形成に対し抑制的に作用することが示唆された。

IP は心筋細胞や心臓の間質細胞に発現していることから、PGI₂ はこれらの細胞に作用して圧負荷心肥大を抑制した可能性がある。そこで次に、心臓の組織標本を作製し、左心室筋細胞の横断面積を計測した。さらに、間質と冠血管周囲の線維化の程度を解析した。野生型および IP 欠損マウスの心筋細胞断面積と線維化面積は、大動脈狭窄により増加したが、それらの程度は野生型マウスに比較し IP 欠損マウスにおいて有意に亢進しており、PGI₂-IP 系は心筋細胞肥大と心線維化の両者を抑制することが明らかとなった。また、心肥大のマーカー遺伝子として知られる心房性ナトリウム利尿ペプチドの発現も、野生型マウスでの発現上昇が認められない早期において、IP 欠損マウスで亢進していた。このことは、PGI₂-IP 系が心肥大関連遺伝子の発現制御にも関わることを示している。

一方、培養細胞を用いた解析では、IPアゴニストである cicaprost が血小板由来成長因子による非心筋細胞の増殖を抑制した。しかし、cicaprost は主要な心筋肥大因子である cardiotrophin による心筋肥大を抑制しなかった。この結果と一致して、cicaprost は非心筋細胞の cAMP 濃度を著明に増加したが、心筋細胞に対するこの作用は軽度であった。これらの結果、PGI₂ の抗心肥大作用は心筋細胞に対する直接作用ではなく、非心筋細胞に対する間接作用に由来すると考えられた。

従来、PGI₂ は強力な血管拡張作用を有する降圧物質と考えられてきた。実際、PGI₂ 製剤は慢性動脈閉塞症や原発性肺高血圧症の治療薬として用いられている。一方、本研究の結果は、PGI₂ が降圧作用以外に直接心臓に作用して抗心肥大作用を発現することを意味するとともに、その製剤が圧負荷心肥大の予防・治療に応用できる可能性を示唆している。