

Figure 4

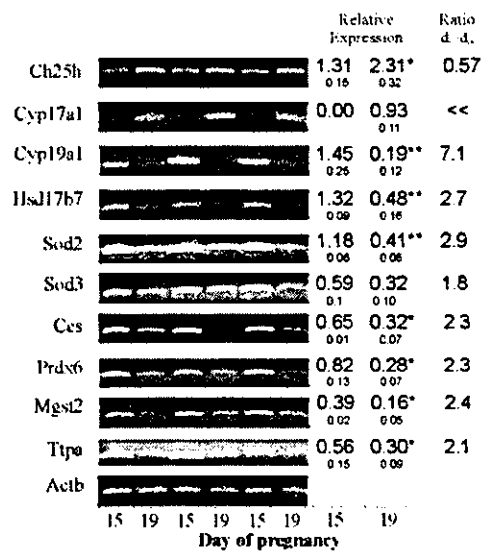


Figure 5

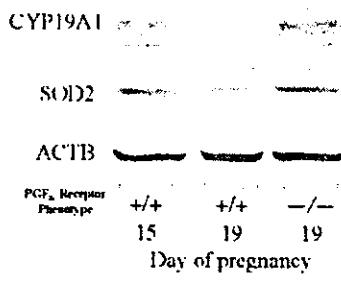


Figure 6

### 発熱とプロスタグランジン

すぎもとゆきひこ 京都大学大学院薬学研究科生体情報制御学 (〒606-8501 京都市左京区吉田下阿達町 46-29)  
杉本幸彦 E-mail: ysugimot@pharm.kyoto-u.ac.jp

#### SUMMARY

プロスタグランジン (PG)E<sub>2</sub> が発熱のメディエーターであることは、アスピリンが強力な解熱作用を示すことから裏付けられているものの、その分子機作に関しては未だ不明な点が多く残されていた。近年、①末梢免疫系からのシグナルはどこに作用して、発熱性の脳内 PGE<sub>2</sub> が産生されるのか、②炎症性発熱は全て PGE<sub>2</sub> を介した経路で説明できるのか、③発熱性の PGE<sub>2</sub> の刺激を伝える受容体はどのサブタイプか、といった疑問に答える知見が蓄積してきた。本稿では、これらの新知見を交えて、発熱反応における脳内 PGE<sub>2</sub> の意義とその作用機作について概説する。

#### KEY WORDS

非ステロイド性抗炎症薬  
シクロオキシゲナーゼ  
プロスタノイド  
視床下部  
血管内皮細胞

#### はじめに

発熱は疾患に伴う極めて普遍的な症候として知られ、哺乳類のみならず、昆虫などにも保存された現象である。発熱は中枢性に制御された反応であり、エネルギー消費を高めて体温を上昇させることは、単なる警告のみならず、ある種の目的を持った現象と見なすことが出来る。実際、感染時には、体温上昇は病原体に対する生体防御反応を高める効果を持っている。アスピリンは、強力な解熱鎮痛作用を持つ薬として 1899 年に市場に登場したが、人類は、その前身となるサリチル酸を含む柳の樹皮を紀元前より生薬として用いてきた歴史を持っている。アスピリンが何故強力な解熱効果を発揮するのか、その機序は長い間不明であったが、1969 年 Vane らは、アスピリンがプロスタグランジン (PG) の合成を阻害することを発見し<sup>1)</sup>、PG 研究と発熱や疼痛の研究が一つに繋がった。最近の研究から、発熱に関与する PG の産生機構や受容体分子の同定が進み、その分子機作が浮かび上がってきた。本稿では、アスピリンの標的分子 PG とその発熱への寄与に関して最新の知見を交えて概説する。

#### 1. 発熱反応における PGE<sub>2</sub> の役割

感染や細胞障害に伴う発熱反応の機序は、一般に次のように理解されている (図 1)。末梢における異物の侵入や腫瘍増殖によって、マクロファージに代表さ

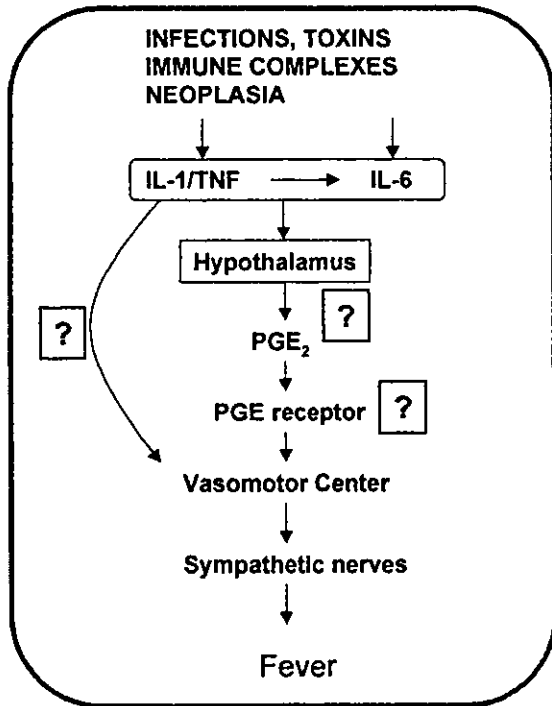


図1 感染から発熱に至る経路

れる免疫細胞が活性化される。マクロファージから放出されたインターロイキン(IL)-1 $\beta$ やIL-6は、内因性の発熱物質(pyrogen)として機能し、循環系を介して視床下部のPGE<sub>2</sub>レベルを亢進する。PGE<sub>2</sub>は視床下部の発熱中枢に作用して、体温のセットポイントを上昇させ、交感神経系を介して体温が上昇する。このように、発熱反応においてPGE<sub>2</sub>が中心的な役割を果たすであろうことは、アスピリンが強力な解熱効果を示すこと、またPGE<sub>2</sub>の中樞投与がほとんどの動物で実際に発熱反応を惹起すること、さらには発熱と脳脊髄液中のPGE<sub>2</sub>レベルがよく一致することに裏付けられている。しかしながら、この作業仮説には幾つかの問題点が残されていた。一つは、先に述べたIL1 $\beta$ やIL-6などのサイトカイン自身を中枢に投与することでも発熱が引き起こされることから、PG以外の発熱経路が存在するのではないかという点である。もう一つの問題点は、免疫系からのシグナルを担うサイトカインが、どのようなメカニズムによって血液脳関門を越え、PGシグナルとして中枢神経系に入るのか、明確な答えが得られていなかった。

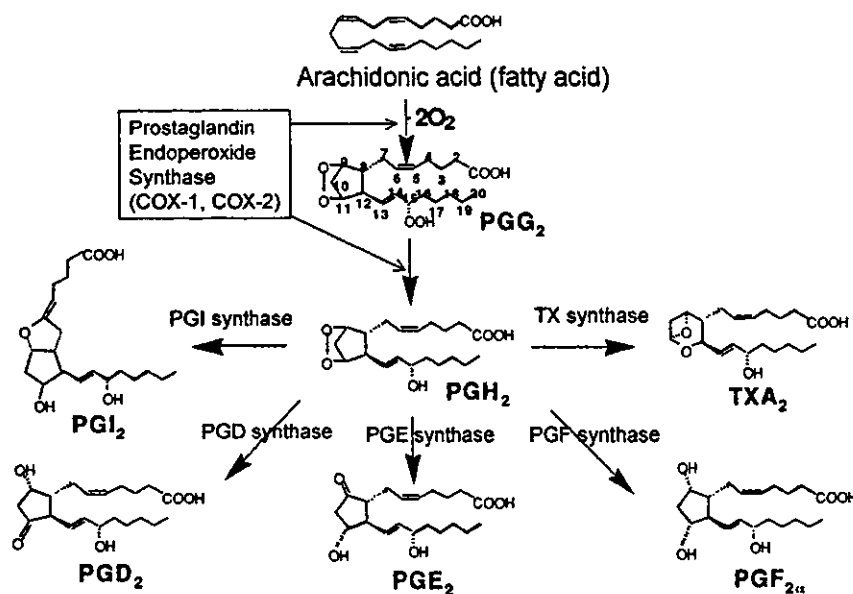


図2 シクロオキシゲナーゼによるプロスタノイドの産生

シクロオキシゲナーゼは、アラキドン酸を基質としてPGH<sub>2</sub>を産生する酵素で、実際にはシクロオキシゲナーゼ活性とエンドペルオキシゲナーゼ活性の2種類の反応を触媒する。アスピリンは、本酵素の活性中心を不可逆的にアセチル化することで不活性化する。産生されたPGH<sub>2</sub>は、細胞に固有の特異的な合成酵素によって各プロスタノイドに変換される。

## 2. 発熱反応における PGE<sub>2</sub> の中枢産生部位

シクロオキシゲナーゼ (COX) を律速酵素として産生される5種類の生理活性脂質, PGE<sub>2</sub>, PGD<sub>2</sub>, PGF<sub>2α</sub>, PGI<sub>2</sub>とトロンボキサン (TX) A<sub>2</sub>は, 総じてプロスタノイドと呼ばれる (図2). シクロオキシゲナーゼには二つの分子種, COX-1とCOX-2が存在する<sup>2)</sup>. 一般に, COX-1が恒常的に発現しているのに対してCOX-2は炎症やホルモン刺激に応じて新たに発現誘導される. COX-1, COX-2はいずれもPGH<sub>2</sub>を生成し, その細胞に存在するPGE合成酵素によってPGE<sub>2</sub>が産生される. 近年, PGES分子同定が行われ, 膜結合型PGES (mPGES-1)と細胞質型PGES (cPGES)の2種類が存

在することが判明した<sup>3,4)</sup>. これらの酵素はいずれもその活性発現にグルタチオン (GSH) を要求するが, 最近, GSH非特異的なmPGES (mPGES-2)も別に存在することが報告された<sup>5)</sup>. 末梢にLPSやIL-1βを投与すると, 脳内毛細血管の内皮細胞において, COX-2, mPGESの順に誘導される<sup>6,7)</sup> (図3). LPS投与による発熱, 脳脊髄液内PGE<sub>2</sub>産生とともにCOX-2選択的阻害剤で抑制されること, さらにCOX-2欠損マウスが発熱反応を示さないことなどから, 発熱に関与するPGE<sub>2</sub>を産生するのは, 血管内皮のCOX-2である<sup>8,9)</sup>と推察される. しかし, PGESについては, COX-2と同様の挙動を示すmPGESの寄与が少なくとも考えられる

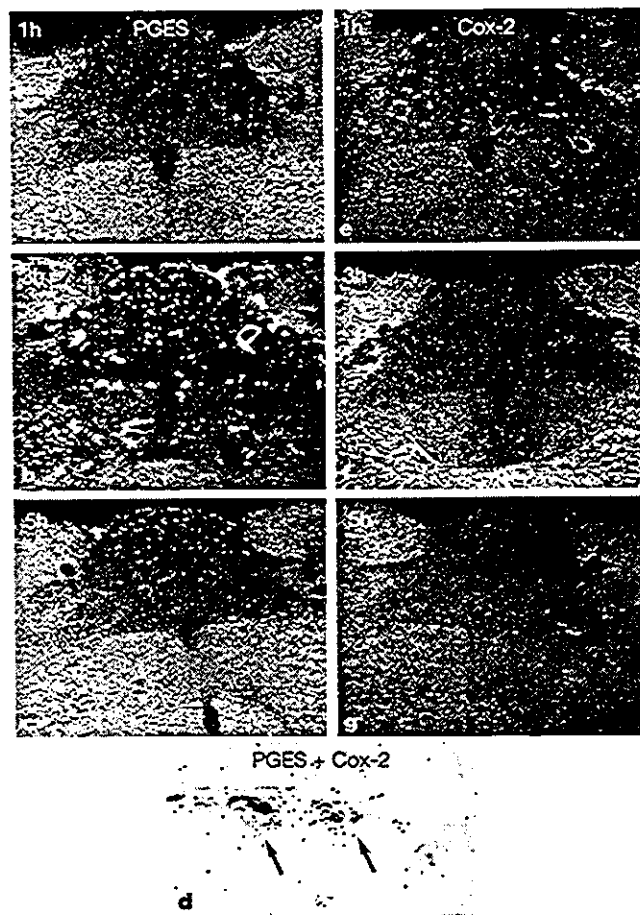


図3 IL-1によるmPGES, COX-2の発現誘導 (文献6)

IL-1β (2 μg per kg) の静脈内投与後のラット脳幹におけるmPGES(a-c)とCOX-2(e-g)のmRNAの発現をin situ hybridizationにより検出した. mPGESの発現は, 3時間をピークとするのに対して, COX-2の発現は, 1時間をピークとして, それ以降はほぼ検出されない. d: mPGES(褐色)とCOX-2(銀粒子)は, 共に内皮細胞(矢印)に発現している.

が、cPGESについてもLPS投与ラット脳で発現亢進と活性上昇を示す<sup>9)</sup>ことから、何らかの寄与があるかもしれない。いずれにしても免疫からのサイトカインシグナルは、脳内血管の内皮細胞に作用して、COX-2を誘導し、PGE<sub>2</sub>を脳脊髄液中に放出しているものと考えられる。

### 3. PGE受容体サブタイプ

プロスタノイド受容体は、いずれも7回膜貫通構造を持ついわゆるG蛋白質共役型受容体ファミリーに属するが、PGE受容体に関しては、EP1, EP2, EP3, EP4の4種類のサブタイプが存在し、細胞内情報伝達系が異なる<sup>10,11)</sup>(図4)。EP1は細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度上昇に、EP2とEP4はcyclicAMP(cAMP)産生系に、EP3は主にその抑制系に共役することが示されている。EP2とEP4はともにPGE<sub>2</sub>を内因リガンドとしてcAMP産生系に共役するが、EP2は分子進化論的には他のcAMP産生系の受容体、DPやIPにむしろ近いことから、そ

の生理機能も異なることが推測されている<sup>11)</sup>。実際、EP2は、マクロファージや卵巣の細胞においては、刺激によりCOX-2と同様にそのmRNAが誘導される。従って、これらサブタイプは、情報伝達系が異なる上に、その発現様式もかなり異なることが予測され、PGE<sub>2</sub>の多彩な作用の一因となっているものと考えられる。しかし、脂質であるPGに膜受容体が存在するという概念が確立していなかったことや、PG間の交差反応性の問題点から、これらの受容体サブタイプの存在が確かめられたのは比較的最近のことであり、サブタイプ特異的なアゴニスト、アンタゴニストが存在しなかった。従って、発熱を含む特定のPGE<sub>2</sub>作用が、どの受容体を介して引き起こされるかに関する知見も希薄であった。

### 4. PGE受容体の脳内分布

筆者らは、1990年代前半にPGE受容体の4種類のサブタイプのcDNAクローニングを行い、その結合特

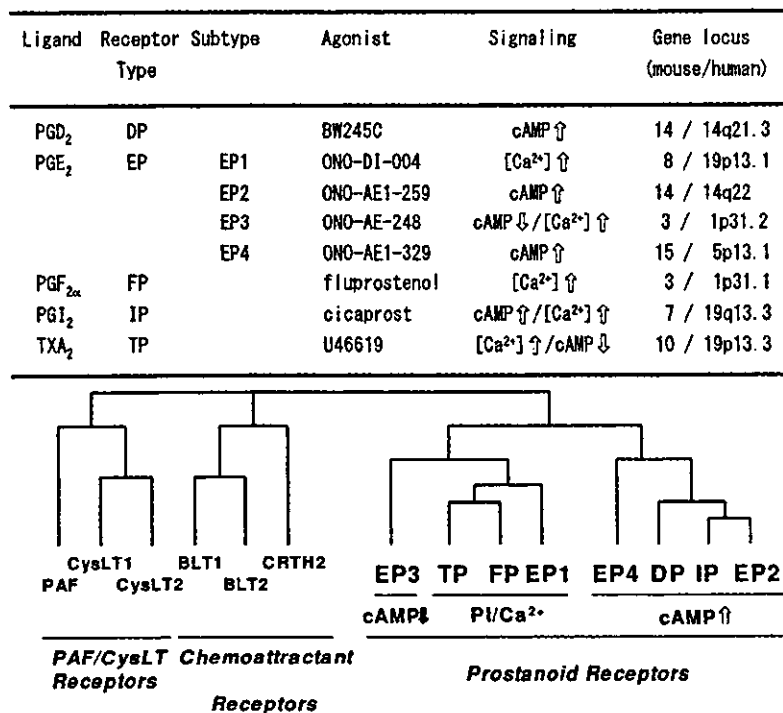


図4 プロスタノイド受容体の分類表とアラキドン酸カスケード受容体の分子進化系統樹  
 プロスタノイド受容体の詳細、ならびにEP選択的アゴニスト、アンタゴニストに関しては、文献12を参照のこと。

性や細胞内情報伝達系を明らかにするとともに、各サブタイプの臓器分布ならびに臓器内発現情報の解析を行ってきた<sup>10</sup>。その結果、PGE受容体の4種類のサブタイプのうち、脳内に最も豊富に発現するのは、EP3であり、大脳皮質から橋延髄に至るまで広い領域に分布している<sup>11</sup>。しかしながら、EP3の発現は特定のニューロンに限局しており、特徴的な分布を示す。例えば、EP3は、脳幹の縫線核群（セロトニン）や青斑核（ノルアドレナリン）といったモノアミン神経核の細胞体に発現することが、RNA、蛋白の両レベルで確認されている<sup>13,14</sup>。中村らは、これらモノアミン神経核に焦点を当て、個々のモノアミン神経特異マーカーとEP3の二重染色を行い、大縫線核や青斑核のモノアミン陽性細胞のほぼ全てがEP3を発現することを示した<sup>15</sup>。延髄縫線核は、下向性に投射して自律神経出力や痛覚伝達を脊髄レベルで修飾することから、PGE<sub>2</sub>は、これらのセロトニン神経のEP3を介して、自律神経調節や痛覚過敏を引き起こしている可能性も考えら

れる。一方、脳内にはEP3以外のサブタイプも発現しており<sup>16</sup>、EP4は視索上核と視床下部室傍核をはじめ孤束核など限局した発現を示し、視索上核や室傍核における発現は、末梢にLPSやIL-1 $\beta$ を投与することで亢進する。また、EP1とEP2についても特定の神経核での発現が報告されている。

### 5. 視索前野におけるPGE受容体の発現

視床下部の前底部に位置する視索前野は、PGE<sub>2</sub>の発熱誘発の作用点であることが示唆されてきた<sup>17</sup>。この部位を特異的に破壊すると発熱が見られなくなることや、PGE<sub>2</sub>の発熱作用が最も顕著に見られる部位であることが示されたためである。従って、視索前野に何らかのPGE受容体が存在し、この作用によって交感神経系の賦活化を引き起こし、発熱を誘発するものと考えられた。松村らは視索前野の終板器官周囲部ならびに第三脳室前底部に高いPGE<sub>2</sub>結合活性が存在することを示した<sup>18</sup>。Scammelらは、視索前野内で、

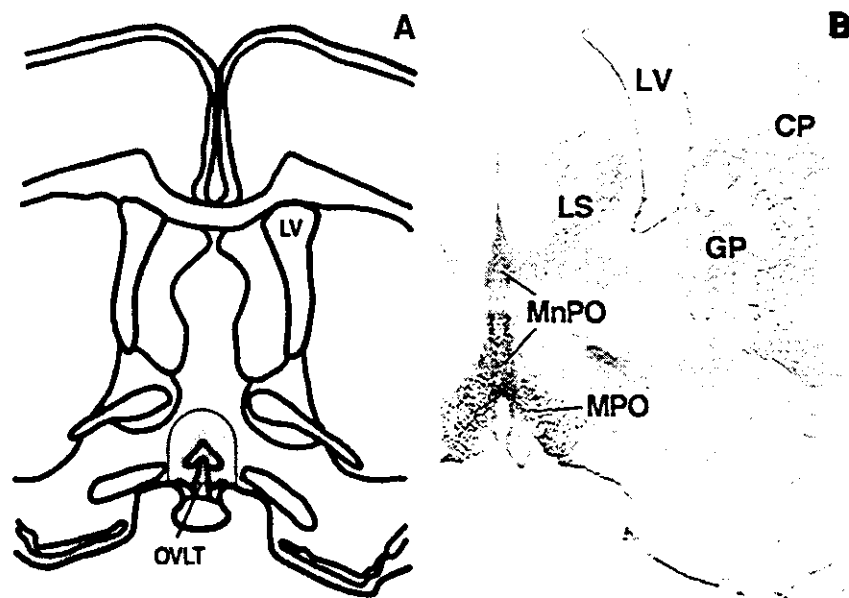


図5 ラット視索前野におけるPGE<sub>2</sub>発熱の高感受性部位とEP3の局在

- A : ラット視索前野において1 ngのPGE<sub>2</sub>を局部投与した際に、1℃以上の体温上昇を示す部位 (hatched)。詳細は(文献19,20)を参照。
  - B : ラットEP3に対する特異抗体を用いてラット脳切片を染色した(文献14)。視索前核(MnPO, MPO)に強い陽性シグナル(矢印)を認める。
- OVLT : 終板器官, LV : 側脳室, CP : 尾状被殻, GP : 淡蒼球, LS : 外側中隔核



1 ng の PGE<sub>2</sub> 投与で発熱作用が見られる部位のマッピングを行うとともに、PGE<sub>2</sub> による発熱時に cFos 発現亢進を認める部位を解析して、発熱の出力系の検索を行った<sup>19,20</sup> (図 5A)。著者らは、in situ hybridization によってマウスの内側視索前核をはじめとする視索前野の神経核に EP3-RNA が豊富に発現し、松村らの解析結果によく一致することを示した<sup>13</sup>。さらに中村らは、ラット EP3 に対する特異抗体を用いて、EP3 受容体を発現する神経細胞がこの部位に豊富に存在していることを示した<sup>14</sup> (図 5B)。しかし、最近の岡らの報告によると、視索前野領域には、EP3 のみならず、EP4 と EP1 の RNA 発現が見られ、それぞれ特徴的な分布をとるといふ<sup>21</sup>。従って、PGE<sub>2</sub> に感受性の高い領域には複数の受容体の発現が見られることになり、解剖学的な受容体発現情報から発熱作用におけるサブタイプの寄与を判断することには限界があるように思われる。

## 6. 受容体ノックアウトマウスを用いた発熱の解析

筆者らは、発熱を含む多彩な PGE<sub>2</sub> 作用の生理的意義と個々の作用に関与する受容体サブタイプを評価するために、4 種類の PGE 受容体欠損マウスをそれぞれ

作成した<sup>22</sup>。PGE<sub>2</sub> を野生型マウスの脳室内に投与すると約 2.5 °C の一過性の発熱反応を認める (図 6)。この反応は、EP1, EP2, EP4 の各欠損マウスでは野生型と同様に観察されたが、EP3 欠損マウスでは全く見られなかった。従って、PGE<sub>2</sub> による発熱反応は EP3 を介して引き起こされるものと考えられた。次に、EP3 欠損マウスが他の発熱刺激に対しても応答を示すのかを確認した。発熱性サイトカインである IL-1β は末梢あるいは脳室内のいずれの投与の場合でも発熱反応を惹起できる。また LPS の末梢投与によりマクロファージを活性化すると発熱反応が引き起こされるが、これは実際の感染に最も近い状態であり、IL-1β を含む複数のサイトカインを介するものと考えられる。しかし、EP3 欠損マウスにおいてはいずれの刺激を加えた場合においても全く発熱を認めなかった (図 7)。従って、LPS 刺激によっていかなる内因性発熱物質が産生されても、最終的には PGE<sub>2</sub> が伝達し、これには EP3 が関与するものと思われる。一方、EP3 欠損マウスにおける発熱反応の消失は、体温中枢からの出力系の不具であるという可能性も考えられたため、ストレスによる体温上昇を観察した (図 7)。しかし拘束性ストレスによる体温上昇は、EP3 欠損マウスにお

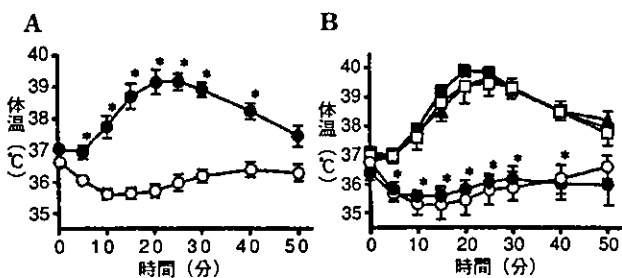


図 6 PGE<sub>2</sub> による発熱 (文献 22)

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。● : PGE<sub>2</sub> 投与、○ : 生理食塩水投与、\* : P < 0.01 (生理食塩水を投与した野生型マウスに対して)。

B : PGE 受容体サブタイプ欠損マウスでの 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。EP1 (■), EP2 (□), EP4 (▲) 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が、EP3 (●) 受容体欠損マウスは全く発熱反応を示さない。○ : 生理食塩水を投与した EP3 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)。

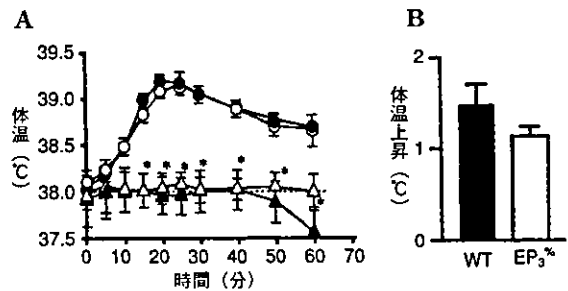


図 7 LPS および拘束ストレスによる反応 (文献 22)

A : EP3 受容体欠損マウスでの LPS 誘発発熱。LPS (10 mg/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 EP1 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が、EP3 欠損マウス (▲) は全く発熱反応を示さない。△ : 生理食塩水を投与した EP3 受容体欠損マウス、\* : P < 0.01。

B : EP3 受容体欠損マウスでのストレス誘発発熱。マウスをホルダー内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 受容体欠損マウスとでその体温上昇の程度に有意な差は認められない。

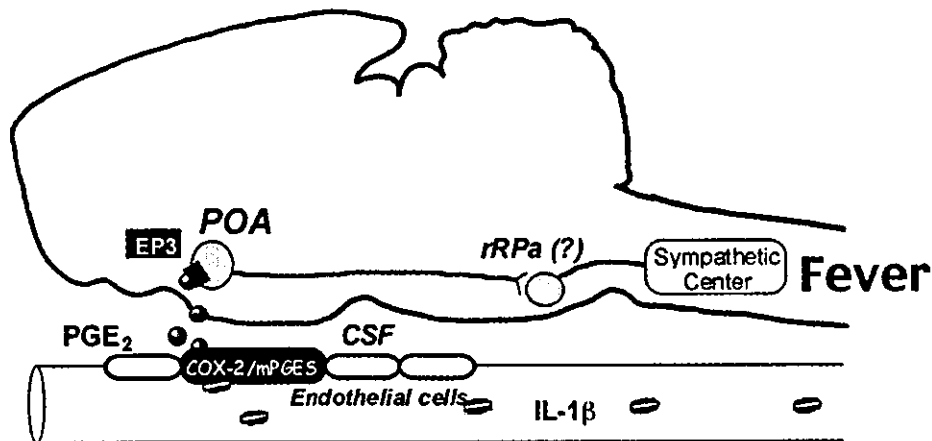


図8 発熱の入力と出力

末梢の感染・細胞障害の情報は、免疫細胞から放出されたIL-1 $\beta$ などのサイトカイン（内因性 pyrogen）により循環血を通じて中枢へ送られる。

中枢の血管内皮細胞には、IL-1受容体が発現しており、これにIL-1が結合することでCOX-2ならびにmPGESの発現誘導され、PGE<sub>2</sub>を脳脊髄液（CSF）中に放出する。PGE<sub>2</sub>は最終的に視索前野（POA）のEP3発現ニューロンに作用して、体温上昇を引き起こす。発熱の出力系の中継核として、延髄淡蒼縫線核吻側部（rRPa）が示唆される。

いても認められ、体温上昇の出力系には異常を認めないことが判明した。従って、PGE<sub>2</sub>は、EP3を介して炎症性の発熱シグナルを体温中枢へ入力する際の最終メディエーターとして働くことが判明し、体温上昇の出力系には必須ではないものと推察される。

### 7. EP3による発熱の出力系

従来知見と受容体ノックアウトマウスの結果を考え合わせると、PGE<sub>2</sub>は、視索前野のEP3受容体発現ニューロンに作用して、最終的に交感神経系の賦活化を引き起こすものと考えられるが、視索前野から交感神経系への伝達経路は不明であった。ごく最近、中村らはPGE<sub>2</sub>を視索前野に投与すると、延髄淡蒼縫線核吻側部（rRPa）の非セロトニン神経細胞群がFos発現を亢進することを見出した<sup>23)</sup>。GABA<sub>A</sub>受容体アゴニストであるムシモールをrRPaに局所投与すると、PGE<sub>2</sub>による発熱反応が抑制された。さらに巡行性、逆行性のトレーサー解析により、視索前野のEP3受容体発現神経核からrRPaへの神経投射が確認された。従って、視索前野のEP3を介したPGE<sub>2</sub>シグナルは、rRPaを介して交感神経中枢へと伝達され、体温上昇

を引き起こすものと考えられた。

### ◆◆ おわりに

このように、PGE<sub>2</sub>は、免疫系からのシグナルを神経系へと変換する中枢性のメディエーターとして機能することが明らかとなり、その変換の舞台は脳血管の内皮細胞であり、PG産生にはCOX-2が機能すること、神経系でそのシグナルを受け取るのはEP3受容体であることなど、鍵となる知見が積み重ねられつつある（図8）。PGを中心とした発熱機構の全貌が解明される日も近いと思われる。PGE<sub>2</sub>は、中枢においては発熱因子であるが、免疫系においては、マクロファージやリンパ球の機能を抑制することが知られる。最近の研究から、これらPGE<sub>2</sub>の免疫機能抑制には、EP3以外の受容体に関与することが示された<sup>24,25)</sup>。これらの結果は、COX-2選択的阻害剤と同様、PGE受容体サブタイプの選択的遮断薬が、副作用のない優れた薬物になりうる可能性を示唆するものである。

謝辞：本稿で紹介したプロスタノイド受容体欠損マウスを用いた解析は、京都大学大学院薬学研究科の市川厚教授ならびに同大学院医学研究科の成宮周教授の指導の下に行われたものであり、深甚の謝意を表します。また、抗体によるEP3受容体発現の写真、COX-2とmPGESの発現誘導の図をそれぞれ提供いただいた同大学院薬学研究科の中村和弘博士（現関西医科大学）、Linköping大学のBlomqvist教授（Sweden）のご厚意に万謝いたします。

## 参考文献

- 1) Piper PJ, Vane JR : Release of additional factors in anaphylaxis and its antagonism by anti-inflammatory drugs. *Nature* **223**(201) : 29-35, 1969.
- 2) Smith WL, Langenbach R : Why there are two cyclooxygenase isozymes. *J Clin Invest* **107** : 1491-1495, 2001.
- 3) Jakobsson PJ, et al : Identification of human prostaglandin E synthase: a microsomal, glutathione-dependent, inducible enzyme, constituting a potential novel drug target. *Proc Natl Acad Sci USA* **96**(13) : 7220-7225, 1999.
- 4) Tanioka T, et al : Molecular identification of cytosolic prostaglandin E2 synthase that is functionally coupled with cyclooxygenase-1 in immediate prostaglandin E2 biosynthesis. *J Biol Chem* **275** : 32775-32782, 2000.
- 5) Tanikawa N, et al : Identification and characterization of a novel type of membrane-associated prostaglandin E synthase. *Biochem Biophys Res Commun* **291**(4) : 884-889, 2002.
- 6) Ek M, et al : Inflammatory response: pathway across the blood-brain barrier. *Nature* **410** : 430-431, 2001.
- 7) Yamagata K, et al : Coexpression of microsomal-type prostaglandin E synthase with cyclooxygenase-2 in brain endothelial cells of rats during endotoxin-induced fever. *J Neurosci* **21** : 2669-2677, 2001.
- 8) Li S, et al : The febrile response to lipopolysaccharide is blocked in cyclooxygenase-2(-/-), but not in cyclooxygenase-1(-/-) mice. *Brain Res* **825** : 86-94, 1999.
- 9) Matsumura K, et al : Brain endothelial cells express cyclooxygenase-2 during lipopolysaccharide-induced fever: light and electron microscopic immunocytochemical studies. *J Neurosci* **18** : 6279-6289, 1998.
- 10) Narumiya S, et al : Prostanoid receptors; structures, properties and functions. *Physiol Rev* **79** : 1193-1226, 1999.
- 11) Sugimoto Y, et al : Distribution and function of prostanoid receptors: studies from knockout mice. *Prog Lipid Res* **39** : 289-314, 2000.
- 12) 成宮 周 : 序論 クロン化プロスタグランジン受容体と新規薬物の開発. *日薬理誌* **117** : 243-247, 2001.
- 13) Sugimoto Y, et al : Distribution of the messenger RNA for the prostaglandin E receptor subtype EP3 in the mouse nervous system. *Neuroscience* **62** : 919-928, 1994.
- 14) Nakamura K, et al : Immunohistochemical localization of prostaglandin EP3 receptor in the rat nervous system. *J Comp Neurol* **421**(4) : 543-569, 2000.
- 15) Nakamura K, et al : Prostaglandin EP3 receptor protein in serotonin and catecholamine cell groups: a double immunofluorescence study in the rat brain. *Neuroscience* **103** : 763-775, 2001.
- 16) Zhang J, Rivest S : Distribution, regulation and colocalization of the genes encoding the EP2- and EP4-PGE2 receptors in the rat brain and neuronal responses to systemic inflammation. *Eur J Neurosci* **11** : 2651-2668, 1999.
- 17) Stitt JT : Prostaglandin E as the neural mediator of the febrile response. *Yale J Biol Med* **59** : 137-149, 1986.
- 18) Matsumura K, et al : O. High density of prostaglandin E2 binding sites in the anterior wall of the 3rd ventricle: a possible site of its hyperthermic action. *Brain Res* **533** : 147-151, 1990.
- 19) Scammell TE, et al : Ventromedial preoptic prostaglandin E2 activates fever-producing autonomic pathways. *J Neurosci* **16** : 6246-6254, 1996.
- 20) Elmquist JK, et al : Mechanisms of CNS response to systemic immune challenge: the febrile response. *Trends Neurosci* **20** : 565-570, 1997.
- 21) Oka T, et al : Relationship of EP(1-4) prostaglandin receptors with rat hypothalamic cell groups involved in lipopolysaccharide fever responses. *J Comp Neurol* **428** : 20-32, 2000.
- 22) Ushikubi F, et al : Impaired febrile response in mice lacking the prostaglandin E receptor subtype EP3. *Nature* **395** : 281-284, 1998.
- 23) Nakamura K, et al : The rostral Raphe Pallidus nucleus mediates pyrogenic transmission from the preoptic area. *J Neurosci* **22** : 4600-4610, 2002.
- 24) Shinomiya S, et al : Regulation of TNFalpha and interleukin-10 production by prostaglandins I(2) and E(2): studies with prostaglandin receptor-deficient mice and prostaglandin E-receptor subtype-selective synthetic agonists. *Biochem Pharmacol* **61** : 1153-1160, 2001.
- 25) Kabashima K, et al : The prostaglandin receptor EP4 suppresses colitis, mucosal damage and CD4 cell activation in the gut. *J Clin Invest* **109** : 883-893, 2002.

# プロスタノイドの生殖生理機能：受容体欠損マウスを用いた解析

Reproductive function of prostanoids: Lessons from receptor-deficient mice

京都大学大学院薬学研究科

\*京都大学大学院医学研究科

杉本 幸彦 Yukihiko SUGIMOTO

坪井 一人 Kazuhito TSUBOI

成宮 周\* Shuh NARUMIYA

市川 厚 Atsushi ICHIKAWA

**Key words:** prostaglandins; cyclooxygenases; parturition; luteolysis; cumulus expansion

## はじめに

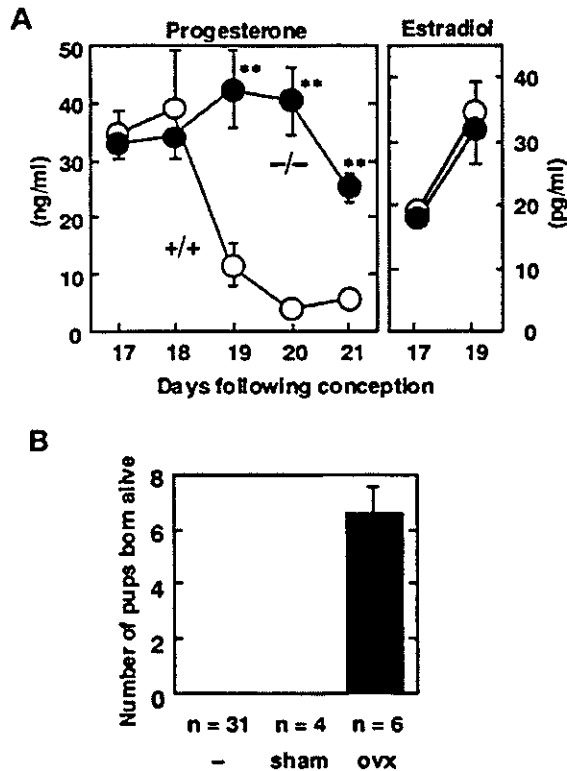
プロスタノイドは、アラキドン酸からシクロオキシゲナーゼ(COX)を律速酵素として合成されるプロスタグランジン(PG)とトロンボキサンの総称であり、全身のさまざまな組織・細胞で産生され、多彩な作用を発揮する。アスピリンなどの抗炎症薬が、COX阻害によって解熱・鎮痛など多彩な薬理作用を示すことから、内因性プロスタノイドは、多くの生理機能や病態発現にかかわることが示唆されてきた。プロスタノイドは、子宮収縮物質として産婦人科医によって発見された経緯に見られるように、生殖生理と密接な関係がある。なかでもPGE<sub>2</sub>とPGF<sub>2α</sub>は、分娩、排卵など雌性の生殖生理の多くに影響することが知られている。しかしながら、個々のプロセスにおけるその生理的意義については不明な点が多かった。

プロスタノイドの作用は、標的細胞の細胞膜上に存在する特異受容体を介して発揮される<sup>1)</sup>。最も代表的なプロスタノイドであるPGE<sub>2</sub>の受容体には4種類のサブタイプ(EP1, EP2, EP3, EP4)が存在し、それぞれ異なる情報伝達系に共役する。しかしながらこれらのサブタイプに特異的に作用するアゴニストやアンタゴニストはごく最近まで存在せず、個々のサブタイプの機能が、PGE<sub>2</sub>のどの作用に対応しているのかはほとんど不明であった。そこで筆者らは、8種類存在するプロスタノイド受容体の個々についてその遺伝子欠損マウスを作成しその表現型を解析してきた<sup>2)</sup>。ここでは、生殖生理に異常を示したPGF受容体(FP)欠損マウスとEP2受容体欠損マウスの解析結果について述べる。

## 1. PGF<sub>2α</sub>と黄体退縮・分娩

PGF<sub>2α</sub>は、強力な子宮収縮物質(Uterotonin)であるこ

とから、分娩時の生理的な陣痛誘発物質ではないかと指摘されてきた。一方、家畜動物においては、PGF<sub>2α</sub>は、子宮に由来する生理的な黄体退縮物質(Luteolysin)であると考えられ、実際、畜産分野では、PGF<sub>2α</sub>は発情周期を同調させる薬剤として用いられる。しかし、PGF<sub>2α</sub>が示す子宮収縮と黄体退縮の二つの作用が、それぞれどれくらい決定的なものかについては、分子レベルでの裏づけに乏しいのが現状であった。筆者らは、マウスFPのcDNAクローニングを行い、これがPGF<sub>2α</sub>に対する唯一の受容体であること、卵巣の黄体細胞に最も高い発現を示すことを示した<sup>3)</sup>。作成したFP欠損マウスの雌は、妊娠が可能で、胎児数や胎児の成育には何ら異常を認めないが、分娩予定日を過ぎても出産が見られず、100%の胎児が子宮内で死亡した<sup>4)</sup>。この際、妊娠20日の野生型で見られるオキシトシン受容体の子宮での発現(陣痛生来に必須とされる)は、FP欠損マウスでは見られず、分娩障害を有すると考えられた。この原因の一つとして、PGF<sub>2α</sub>による子宮収縮活性の消失が考えられるが、妊娠維持ホルモンであるプロゲステロンは、マウスでは妊娠期間を通して黄体から産生されるため、PGF<sub>2α</sub>による黄体退縮の不具が原因である可能性も考えられた。そこで妊娠17~21日の血中プロゲステロン濃度を測定したところ、野生型では妊娠17~19日に見られるプロゲステロン濃度の低下が、FP欠損マウスでは見られず、妊娠21日でも依然高い値を示し、FP欠損マウスにおける分娩消失は、黄体機能の異常亢進によるものと考えられた(図1)。さらに妊娠変異マウスの卵巣を19日の時点で切除したところ、12時間後に子宮でのオキシトシン受容体発現、20時間後には分娩が回復した。したがって、PGF<sub>2α</sub>は、妊娠後期に黄体退縮を引き起こすことで分娩誘導の引き金となることが判明した。一方、FP欠損マウスでは、受容体が存在しないにもかかわらず卵巣切除で分娩が回復したことから、PGF<sub>2α</sub>による子宮収縮は、分娩に必須ではないと考えられた。



**図1** FP欠損マウスにおける黄体機能の亢進と分娩  
 A: FP欠損マウスにおける妊娠黄体の退縮不全  
 野生型ならびにFP欠損マウスの妊娠後期あるいは分娩後において、血漿中のプロゲステロン(左)とエストラジオール(右)レベルをRIAにより測定した。(n=4 to 6, mean±S.E.M.)  
 B: 卵巣切除による分娩の回復  
 妊娠19日のFP欠損マウスを、無処理(-), sham処理(sham), 卵巣切除処理(ovx)した後、妊娠20日に生存して生まれた仔の総数を示した。

生殖生理におけるプロスタノイドの重要性は、合成酵素の欠損マウスの表現型からも裏づけられている。COX-1欠損マウスは、FP欠損マウスと同様の分娩異常を示し、これはPGF<sub>2α</sub>の投与で回復した<sup>5)</sup>。一方、リン脂質からアラキドン酸を切り出す酵素の一つ、cytosolic phospholipase A<sub>2</sub> (cPLA<sub>2</sub>)の欠損マウスも、分娩遅延を示す<sup>6)</sup>。これはプロゲステロン受容体遮断薬の投与により回復したことから、やはり黄体機能の亢進が原因と考えられ、FP欠損マウスの表現型に一致する。筆者らは、野生型の妊娠マウス子宮におけるCOX-1, COX-2の発現様式を確認したところ、COX-1は妊娠17日をピークとして子宮内膜に発現すること、COX-2は妊娠17日にはほとんど発現を認めないが、分娩の出現(20日)とともに子宮筋層に発現することを見いだした<sup>7)</sup>(図2)。COX-1はcPLA<sub>2</sub>とともにPGF<sub>2α</sub>を産生するものと考えられるが、COX-2が分娩の時期特異的に筋層に誘導されることは興味深い。残念な

とに、COX-2欠損マウスは、排卵・受精・着床の障害によって妊娠することが不可能<sup>8)</sup>であり、分娩解析を行うことができない。FP欠損マウスの解析結果から、PGF<sub>2α</sub>による子宮収縮は、分娩に必須でないと考察したが、COX-2により産生されたPGE<sub>2</sub>が子宮収縮に寄与する可能性が十分に考えられる。そこで筆者らは、FP欠損の妊娠マウスに卵巣切除処理を行った後、インドメタシンならびにCOX-2選択的阻害薬を投与したところ、対照群に比べて12時間以上の遅延を引き起こした<sup>9)</sup>。以上の結果から、妊娠後期のプロスタノイドの役割には大きく二つあり、分娩に先立ってcPLA<sub>2</sub>/COX-1/PGF<sub>2α</sub>により黄体退縮が引き起こされ、分娩時にCOX-2/PGE<sub>2</sub>(?)により子宮収縮が引き起こされるものと考えられた。

## 2. PGE<sub>2</sub>と排卵・受精

EP1, EP2, EP3, EP4の4種類のPGE受容体欠損マウスの中で、雌の生殖生理に異常を示したのは、EP2のみであった<sup>2)</sup>。EP2欠損マウスは妊娠・分娩が可能だが、Litter sizeが、野生型の7~8に比べ、1~2と著明な減少を示した<sup>10)</sup>。上述のように、COX-2欠損マウスは排卵、受精、着床に異常を有することが示された<sup>9)</sup>が、EP2欠損マウスの子宮は、野生型と同程度の着床能を示し、着床に異常は認めないことが判明した。一方、排卵数と受精率を解析したところ、排卵数が野生型の約80%、受精率にいたっては約15%の値を示すに留まった(図3)。これらの値は、自然排卵、過排卵いずれの場合についても、同様に見られたことから、その原因は、ゴナドトロピンの分泌段階ではなく、卵巣のレベルにあると考えられた。そこで筆者らは、過排卵処理した卵巣におけるEP2受容体の発現を調べたところ、hCG投与後3時間で卵丘細胞と顆粒膜細胞に発現誘導され、このうち卵丘細胞での発現が排卵の起こる12時間まで維持された。同時期の卵胞においては、LH刺激によりやはり卵丘細胞と顆粒膜細胞にCOX-2発現が誘導され、このうち卵丘細胞では高いレベルの発現が排卵後に至るまで維持されている。<sup>11)</sup>したがって、卵丘細胞においてはCOX-2により産生されたPGE<sub>2</sub>がオートクライン的にEP2に作用している可能性が考えられた。そこで卵丘細胞の機能であるcumulus expansionを*in vitro*で解析したところ、野生型マウスではFSH, PGE<sub>2</sub>, dbcAMPいずれの刺激でもexpansionを引き起こしたが、EP2欠損マウスの卵丘細胞は、FSH, dbcAMPに対しては応答したが、PGE<sub>2</sub>に対しては全く応答を示さなかった。このことからPGE<sub>2</sub>によるexpansionはEP2を介するものと考えられた。野生型とEP2欠損マウスの卵-卵丘細胞複合体を用いて、人工授精を行ったところ、卵丘細胞存在下では野生型

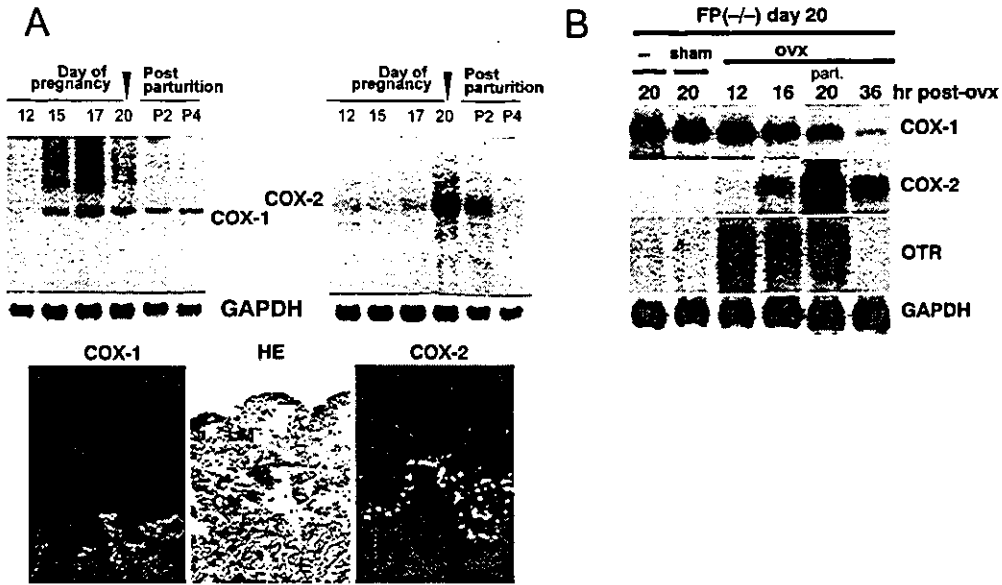


図 2 分娩時子宮における COX-1 と COX-2 の発現

A: 妊娠子宮における COX アイソザイムの発現

野生型の妊娠マウス子宮において、COX-1 と COX-2 の mRNA 発現を、ノザンプロット (上) あるいは *in situ* hybridization (下) により検出した。ノザンプロットには、妊娠 12, 15, 17 日、分娩時 (妊娠 20 日)、分娩後 2, 4 日の各時点において子宮を単離し RNA 抽出に用いた。In situ hybridization には、分娩時 (妊娠 20 日) の子宮を摘出し、組織切片を作成し、HE 染色像 (中央) とともに COX シグナルの暗視野像を示した。COX-1 は内膜上皮 (E)、COX-2 は輪状筋 (CM) に発現が見られる。

B: 卵巣切除した妊娠 FP 欠損マウスにおける COX 発現の経時変化

妊娠 19 日の FP 欠損マウスにおいて、無処理 (-)、sham 処理 (sham)、卵巣切除処理 (ovx) した後、示した時間後における子宮を摘出して RNA 抽出を行った。COX-2 の発現は、オキントシン受容体 (OTR) 発現よりも分娩に近い時点 (ovx 後 20 時間) で誘導が見られる。

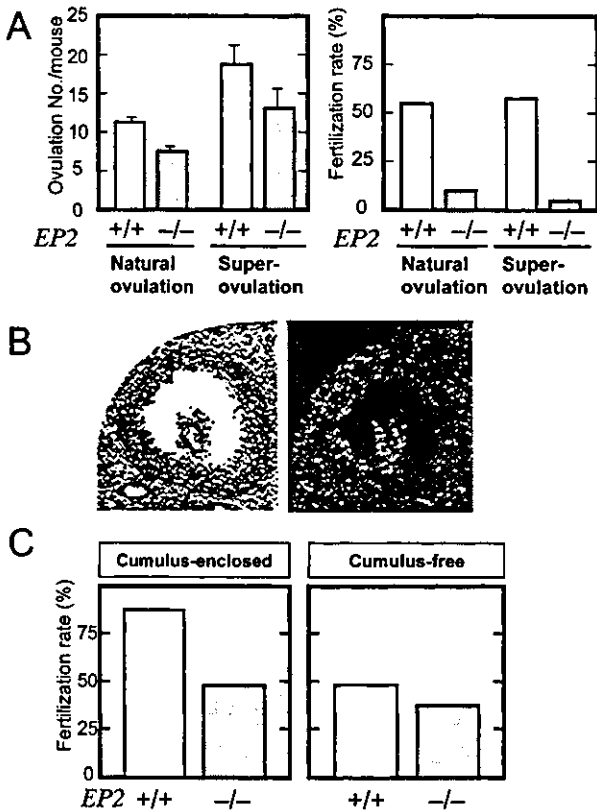


図 3 EP2 欠損マウスにおける生殖障害

A: 野生型ならびに EP2 欠損マウスにおける排卵数 (左) と受精率 (右)

8 週齢の雌マウスまたは 5 週齢の過排卵処理マウスを野生型の雄マウスと交配後、卵管より卵を回収し、その総数と受精卵の割合を調べた。

B: 卵胞における EP2-mRNA の発現部位

野生型マウスを過排卵 (PMSG/hCG) 処理し、hCG 処理後 3 時間の卵巣における EP2-mRNA の発現を *in situ* hybridization により検出した。左は HE 染色像、右は EP2 シグナルの暗視野像。

C: 野生型ならびに EP2 欠損マウスの卵・卵丘複合体を用いた人工授精

野生型あるいは変異マウスにおいて、過排卵処理後 14 時間の卵管より卵・卵丘複合体を単離し、そのまま (cumulus-enclosed) あるいはヒアルロニダーゼ処理により卵丘を除いた卵 (cumulus-free) を用いて人工授精を行った。受精した卵の同定は、前核形成により行った。

が88%, EP2欠損マウスでは49%の受精率であり, 大きな相違が見られた。一方, 卵丘細胞を剥離した卵を用いた場合は, 野生型で49%, EP2欠損マウスで39%と, 両者の受精率の差が近いものとなった。これらの結果から, EP2欠損マウスにおける受精率の低下は, 卵丘細胞の機能異常が原因である可能性が高いと考えられた。EP2欠損マウスでもゴナドトロピンによる expansion は正常であったことから, PGE<sub>2</sub> はゴナドトロピンの作用を介達するのではなく, これを協調的に補填し, さらに排卵後, 循環系から独立した環境下でも cumulus の機能維持に寄与している可能性が想定される。

このように, プロスタノイドは生殖生理の過程において, 従来想像されていた以上に重要な働きをもつことがわかってきた。これらの点は, 今後プロスタノイドの病態作用を標的とした薬物を開発上で十分考慮しなければならない点であると同時に, PGE<sub>2</sub> による排卵・受精促進効果は, ヒトの不妊治療や家畜動物の繁殖性向上を考えるうえで有用な知見であると考えられる。

- 1) S. Narumiya, Y. Sugimoto, and F. Ushikubi: *Physiol. Rev.*, **79**, 1193-1226 (1999).
- 2) Y. Sugimoto, S. Narumiya, and A. Ichikawa: *Prog. Lipid Res.*, **39**, 289-314 (2000).

- 3) Y. Sugimoto, K. Hasumoto, T. Namba, A. Irie, M. Katsuyama, M. Negishi, A. Kakizuka, S. Narumiya, and A. Ichikawa: *J. Biol. Chem.*, **269**, 1356-1360 (1994).
- 4) Y. Sugimoto, A. Yamasaki, E. Segi, K. Tsuboi, Y. Aze, T. Nishimura, H. Oida, N. Yoshida, T. Tanaka, M. Katsuyama, K. Hasumoto, T. Murata, M. Hirata, F. Ushikubi, M. Negishi, A. Ichikawa, S. Narumiya: *Science*, **277**, 681-684 (1997).
- 5) G. A. Gross, T. Imamura, C. Luedke, S. K. Vogt, L. M. Olson, D. M. Nelson, Y. Sadovsky, and L. J. Muglia: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **95**, 11875-11879 (1998).
- 6) N. Uozumi, K. Kume, T. Nagase, N. Nakatani, S. Ishii, F. Tashiro, Y. Komagata, K. Maki, K. Ikuta, Y. Ouchi, J. Miyazaki, and T. Shimizu: *Nature*, **390**, 618-622 (1997).
- 7) T. Tsuboi, Y. Sugimoto, A. Iwane, K. Yamamoto, S. Yamamoto, and A. Ichikawa: *Endocrinology*, **141**, 315-324 (2000).
- 8) H. Lim, B. C. Paria, S. K. Das, J. E. Dinchuck, R. Langenbach, J. M. Trzaskos, and S. K. Dey: *Cell*, **91**, 197-208 (1997).
- 9) T. Tsuboi, Y. Sugimoto, and A. Ichikawa: 投稿中.
- 10) H. Hizaki, E. Segi, Y. Sugimoto, M. Hirose, T. Saji, F. Ushikubi, T. Matsuoka, Y. Noda, T. Tanaka, N. Yoshida, S. Narumiya, and A. Ichikawa: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **96**, 10501-10506 (1999).
- 11) E. Segi, K. Haraguchi, Y. Sugimoto, M. Tsuji, H. Tsunekawa, S. Tamba, K. Tsuboi, S. Tanaka, and A. Ichikawa: *Biol. Reprod.*, 印刷中 (2002).

## プロスタノイド受容体による痛覚調節

杉本幸彦

京都大学大学院薬学研究科生体情報制御学分野

### 1. はじめに

プロスタノイドは、シクロオキシゲナーゼ (COX) を律速酵素として合成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。COX は、細胞膜から切り出されたアラキドン酸を基質として PGH<sub>2</sub> を合成し、各細胞に存在する変換酵素によって最終産物に変換される (図1)。プロスタノイドは、全身のほとんど全ての組織において産生されうるが、その作用様式は、ホルモンや神経伝達物質とは一線を画する。プロスタノイドは、刺激に応じて産生され、神経伝達物質のようにプールされることなく、速やかに細胞外に放出される。また、細胞外に放出されると様々な酵素により代謝を受けて不活化される (図1) ため、ホルモンのように全身性に血中濃度が上昇することはなく、隣接する一部の細胞にのみ作用する。つまり、プロスタノイドは、刺激を受けて産生されてからその生物活性を発揮するまでが局所に限局される。このような作用様式から、プロスタノイドはオートコイドと呼ばれている。プロスタノイドが、発熱や疼痛をはじめとする様々な炎症性病変の発症・進展に重要な役割を果たしていることは、アスピリンの強力な薬効から推察される<sup>1)</sup>ところであるが、産生されたプロスタノイドがどのようにしてその生理機能を発揮するのかについては依然として不明な点が多い。今回のシンポジウムでは、プロスタノイドによる炎症性疼痛に関して、関与する受容体とその作用部位について議論する機会にできれば幸いである。

### 2. 研究の現状

#### A. プロスタノイドの受容体とサブタイプ

5種類のプロスタノイドには特異的な受容体が存在するが、これらは7回膜貫通構造を有するロドプシン型受容体であり、特有のプロスタノイド受容体ファミリーを形成している<sup>2)</sup>。いずれの受容体も各プロスタノイドに対して  $10^{-9}$ ~ $10^{-8}$  M の高親和性結合定数を示す。最も代表的な PG である PGE<sub>2</sub> の受容体については4種類のサブタイプ (EP1-4) が存在し、それぞれ異なる情報伝達系に共役している (表1)。PGE<sub>2</sub> は、発熱や疼痛はもとより消化器系、泌尿器系、生殖器系などで多彩な機能を有し、その作用は複雑であること (例えば、ある平滑筋では収縮、別の平滑筋では弛緩といった相反する作用を呈する) が知られていたが、その理由として情報伝達系を異にする複数のサブタイプが存在するためであると考えられた<sup>2,3)</sup>。しかしこれまで受容体の解析が立ち後れていた最大の理由は、各 EP サブタイプに特異性の高い薬物が存在しないことであった。最近になってようやく特異的な作働薬<sup>4)</sup>、またごく最近、EP1 と EP4 に特異的な遮断薬が開発された<sup>5)</sup>が、EP2 ならびに EP3 に特異的な特異遮断薬は存在しない。従って、これらサブタイプの生体内における発現分布はほとんど不明であった。しかし受容体の cDNA クローニングを契機として、様々な



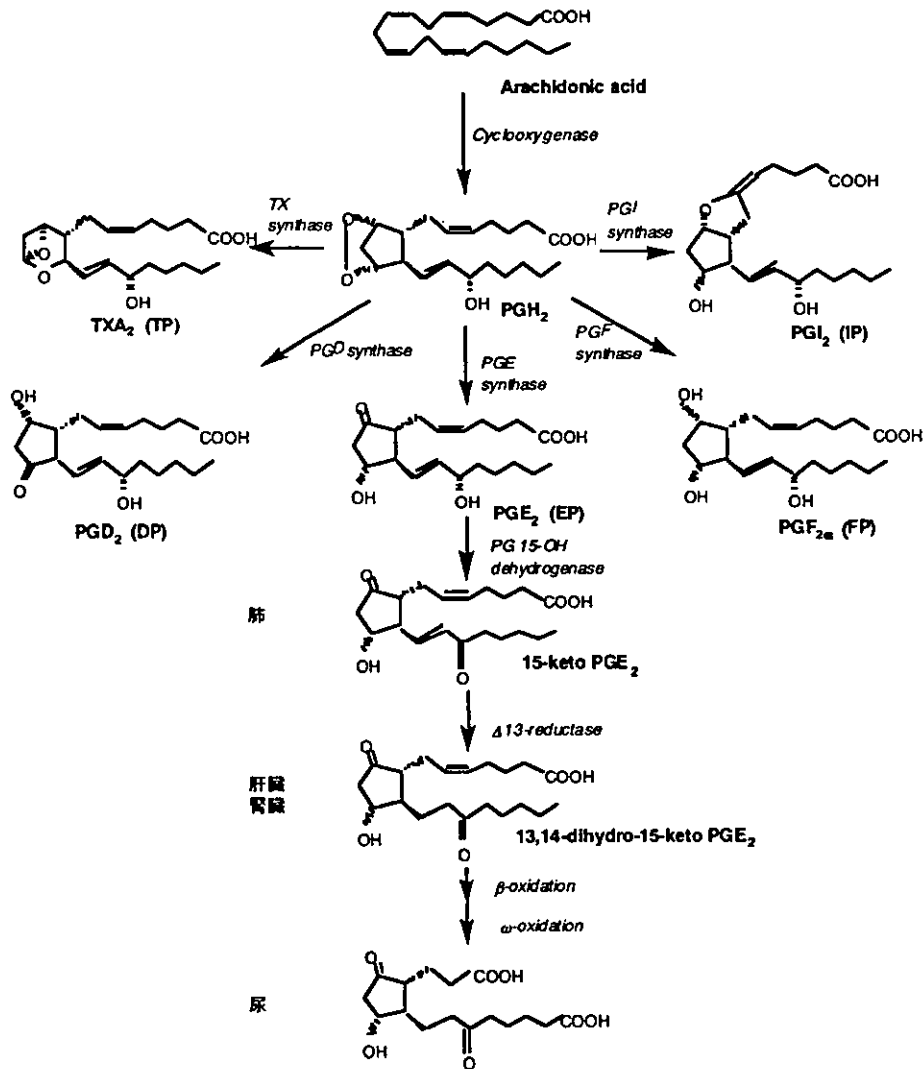


図1：プロスタノイドの合成系と PGE<sub>2</sub>の代謝系

組織におけるサブタイプ発現のマッピング解析が行われ、機能面との対応が図られるとともに、またプロスタノイド受容体を個々に欠損したマウスが作出され、上述の組織分布の情報を基盤として、プロスタノイドの各機能の解析がようやく可能となった<sup>6,7)</sup>。

### B. 末梢神経系に発現するプロスタノイド受容体

アスピリン様薬物の強力な薬効の一つに、鎮痛効果が挙げられる。既に良く知られるように、プロスタノイド自身は発痛物質として働くわけではなく、炎症局部においてブラジキニンやセロトニンなどの発痛物質と同時に放出され、末梢の侵害受容器 (Aδ、C線維) を感作して、熱、機械、化学物質などの侵害性刺激に対する閾値を下げることで痛覚過敏反応を引き起こすと考えられている<sup>8,9)</sup>。しかしながら最近の知見から、脊髄のレベルでも痛覚修飾に関与していることが判ってきた。例えば、末梢に侵害性刺激を加えると脊髄液中のPG濃度が上昇すること、さらにアスピリン様薬物を髄腔内投与すると神経伝達物質遊離が抑制さ

プロスタノイド受容体	Kd 値 (nM)	作働薬 (radio ligand)	遮断薬	情報伝達系	遺伝子配座 (mouse / human)	
PGD <sub>2</sub>	DP	40	BW245C	cAMP↑	chr 14 / 14q21.3	
		[ <sup>3</sup> H]PGD <sub>2</sub>				
PGE <sub>2</sub>	EP1	21	ONO-004	ONO-8713	[Ca <sup>2+</sup> ]↑	chr 8 / 19p13.1
		[ <sup>3</sup> H]PGE <sub>2</sub>				
	EP2	27	butaprost		cAMP↑	chr 14 / 14q22
		[ <sup>3</sup> H]PGE <sub>2</sub>	ONO-259			
	EP3	3	ONO-248		cAMP↓	chr 3 / 1p31.2
		[ <sup>3</sup> H]PGE <sub>2</sub>			[Ca <sup>2+</sup> ]↑	
	EP4	11	ONO-329	ONO-329	cAMP↑	chr 15 / 5p13.1
		[ <sup>3</sup> H]PGE <sub>2</sub>				
PGF <sub>2α</sub>	FP	1.3	fuluprostenol		[Ca <sup>2+</sup> ]↑	chr 3 / 1p31.1
		[ <sup>3</sup> H]PGF <sub>2α</sub>				
PGI <sub>2</sub>	IP	4.5	cicaprost		cAMP↑	chr 7 / 19q13.3
		[ <sup>3</sup> H]iloprost			[Ca <sup>2+</sup> ]↑	
TXA <sub>2</sub>	TP	3.3	U46619	S-145	[Ca <sup>2+</sup> ]↑	chr 10 / 19p13.3
		[ <sup>3</sup> H]S-145			cAMP↓	

表 1. プロスタノイドの受容体とサブタイプ

れることなどが報告されている<sup>10)</sup>。一方、触覚や圧などは通常、非侵害性受容器 (Aβ線維) に認識され、通常、痛覚として認識されないが、帯状疱疹後神経痛などの病態条件下では、軽い触覚が痛みとして認識され、アロディニアという状態を引き起こす。プロスタノイドはこのアロディニアの誘発にも関与することが判ってきた。実際、PGE<sub>2</sub>を髄腔内投与すると痛覚過敏のみならずアロディニアが誘発される。このように、プロスタノイドによる痛覚調節機構は、従来考えられていたよりも複雑で多彩なようである。

筆者らは、求心性一次ニューロンにどのプロスタノイド受容体が存在するのかを調べるために、後根神経節ニューロンで *in situ hybridization* を行った<sup>11,12)</sup>ところ、IP と EP3 受容体の強い発現を認め、どちらの受容体も小型の細胞体に存在する傾向が強かった。また、IP、EP3 受容体に比して、一細胞体あたりのシグナルは弱いながら、EP1、EP4 受容体も全体の 20-30% の細胞体に発現することを見出した (図 2)。さらに、EP3 受容体については、抗体による発現部位の解析がなされ、EP3 が後根神経節内の細胞体と痛覚伝達に重要とされる脊髄後角の第二層に存在することが確かめられた<sup>13)</sup>。従って、PGE<sub>2</sub> は、脊髄後角において前シナプス性に発現する EP3 に作用し、痛覚伝達を調節している可能性が考えられる。現在のところ、それ以外の受容体に関しては、末梢側・脊髄側のどちらに発現するのかといった受容体蛋白の局在は不明である。しかし後根神経節においてサブスタンス P 前駆体と各受容体の共存を調べたところ、サブスタンス P 陽性細胞の約 7 割が IP 受容体を発現するが、他の EP 受容体を発現するものはいずれも 2-3 割に留まったことから、IP 受容体が侵害受容と密接に関連している可能性が示唆された<sup>12)</sup>。

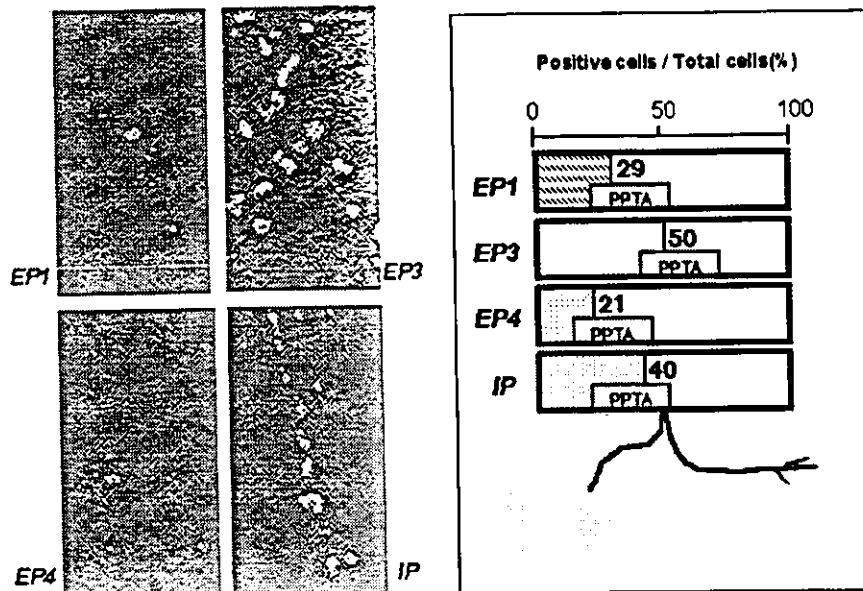


図2：後根神経節におけるプロスタノイド受容体発現の割合とサブスタンスPとの共存。横軸は、後根神経節における前細胞体のうち、各受容体 mRNA を発現するものの割合を示し、サブスタンス P 前駆体 mRNA との共存関係を示している。

### C. プロスタノイド受容体による疼痛調節

これらの実験結果に基づき、著者らはまず IP 欠損マウスを用いてカラゲニン誘発性炎症モデルの解析を行った<sup>14)</sup>。IP 欠損マウスは、tail-flick や hot plate 等の試験では、野生型と差が見られず、痛覚受容そのものや脊髄反射のプロセスに異常を認めなかった。また IP 欠損マウスは、炎症応答そのものが顕著に減弱していることが判明し、例えばカラゲニン投与による足浮腫形成能が野生型に比べて低かった (図3)。このことは、 $PGI_2$  は、血管透過性の亢進、ひいては炎症の進展に重要な因子であることを示しており、臨床上非常に重要な事実であるが、炎症性疼痛を解析する以前に、欠損マウスの組織炎症病変が既に大きく異なることから、このモデルを用いた解析は不適当であると判断した。そこで、炎症に伴う痛覚応答のモデルと考えられている酢酸ライジング試験を試みた。酢酸を腹腔内に投与すると、野生型マウスでは 30 分間に約 40 回の身をよじる反応 (ライジング反応) を示すが、インドメタシンを前投与しておくとその反応は約 10 回に減少する。ところが、IP 欠損マウスでは、酢酸のみによるライジング反応が既に顕著に減少しており、この値は野生型のインドメタシン投与群と同等であった (図3)。このことは、野生型で見られたインドメタシンの効果が主として  $PGI_2$  産生の阻害によることを示している。実際、酢酸投与群の腹腔内プロスタノイド含量を測定してみると、野生型、IP 欠損ともに、 $PGI_2$  と  $PGE_2$  の産生が顕著に増大しており、また、 $PGI_2$  そのものを野生型マウスに腹腔投与すると、酢酸なしでも大多数がライジング反応を呈した。従って、酢酸の刺激によって、ブラジキニン等の発痛物質とともにプロスタノイドが産生され、このうち  $PGI_2$  が疼痛を増強していると解釈できる。おそらく  $PGI_2$  は、炎症局所で侵害受容器 (末梢側) の IP 受容体に作用し、小さな痛み刺激を増幅して疼痛に変えているものと考えられる。

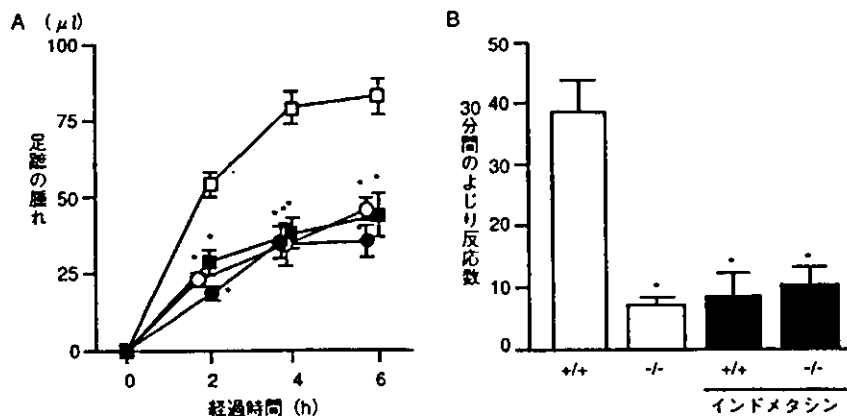


図3：IP欠損マウスにおける炎症反応の減弱（文献14より改変）

A；カラゲニン浮腫モデル。2%カラゲニンを足皮下に注射し、足容積の変化を調べた。インドメタシン(10 mg/kg)を30分前に腹腔内投与した。■、□；野生型マウス、●、○；IP欠損マウス。■、●はインドメタシン処理群。B；酢酸ライジング試験。0.9%酢酸を腹腔内投与して30分間のよじり反応の回数を数えた。+/+；野生型マウス、-/-；IP欠損マウス。

\*； $p < 0.01$ （無処置の野生型マウスに対して）

一方、4種類の PGE 受容体サブタイプに関して、それぞれの欠損マウスを用いて酢酸ライジング反応を解析したが、有意な差を認めなかった（図4）<sup>15)</sup>。大石らは、本ライジング試験において、リポポリサッカライド(LPS)を腹腔に前投与しておく、野生型マウスにおいても酢酸によるライジング応答が促進されることを見出した<sup>16)</sup>。そこでIPならびに4種類のEP欠損マウスにこのLPS前処理を施し、24時間後に酢酸を投与したところ、IP欠損マウスに加えて、EP3欠損マウスにおいてライジング応答の減少を認めた（図4）<sup>15)</sup>。酢酸の投与時にPGE2あるいはPGI誘導体のCarbacyclinを添加すると、それぞれライジング応答の亢進を認めること、さらに両者を同時に加えるとその効果は相加的であったことから、IPとEP3は、異なる受容体に作用しているか、もしくは異なる機序で痛覚を亢進している可能性が考えられた。筆者らは、上記のDRGにおける発現解析において、強いシグナルを呈したEP3、IP受容体（全ニューロンのそれぞれ50%、40%に発現）の共存を調べており<sup>12)</sup>、その結果によると、EP3、IPを共に発現するニューロンは全体の16%であり、両受容体は異なるニューロンに発現する傾向が伺えた。（全体の76%がIPまたはEP3受容体を発現していることになり、この2種類だけでもかなりの一次感覚ニューロンにプロスタノイド受容体が発現していることとなる。）従って、これまでの結果を総合すると、少なくともIPとEP3受容体は、末梢の感覚受容体に作用して炎症性疼痛の感作に関与する可能性が考えられた。しかしながら、EP3欠損マウスで差を認めたライジング試験では、LPS投与後24時間とかなりの時間を経過しており、脊髄もしくは上位のレベルにおいてもCOX-2由来のPG産生が亢進しているであろうこと<sup>17,18)</sup>や、脊髄後角でのEP3タンパクの発現を考え合わせると、EP3は脊髄側においても機能している可能性が十分に考えられる。