

総説

新たな NSAIDs の標的としてのプロスタグランジン最終合成酵素

原 俊太郎

昭和大学薬学部衛生化学教室

要 旨

臨床の場で広く用いられる非ステロイド性抗炎症性薬 (NSAIDs) は、プロスタグランジン (PG) 合成の律速酵素であるシクロオキシゲナーゼ (COX) を阻害することによりその作用を発揮するが、PG 類は生体の恒常性維持にも関わるために NSAIDs の使用においては胃粘膜障害等様々な副作用が問題となっている。副作用のない NSAIDs として期待された誘導型の COX-2 特異的阻害剤においても心血管疾患リスクの増加作用を示す可能性が指摘され、COX-2 に代わる新たな NSAIDs の標的の探索が進められている。種々の PG 類は COX によりアラキドン酸から産生された PGH_2 に、各々の PG 類に特異的な PG 最終合成酵素が働くことにより産生される。本総説では、NSAIDs の新たな標的として注目されている PG 最終合成酵素のうち、COX-2 と機能関連し、それぞれ PGE_2 と PGI_2 を産生する膜結合型 PGE 合成酵素-1 (mPGES-1) と PGI 合成酵素 (PGIS) に焦点を絞り、その発見の経緯からその生体内機能に関わる最近の知見までを概説する。

Key Words : プロスタグランジン, NSAIDs, 炎症, 発がん, 循環器疾患

はじめに

臨床の場で広く用いられている非ステロイド性抗炎症薬 (NSAIDs) は、シクロオキシゲナーゼ (COX) を阻害し、プロスタグランジン (PG) の産生を抑制することで、その作用を発揮する。しかし、PG 類が病態の発症や進展のみならず、生体の恒常性維持においても重要な機能を担うために、NSAIDs を用いる際には消化器系障害などの副作用が避けてとれない。今から20年近く前に、COX には、構成的に常時発現して生体の恒常性維持に深く関わる COX-1 に加え、炎症時等に発現誘導され病態の発症や進展に深く関わる COX-2 が存在することが見出された¹⁾。このため、従来の NSAIDs とは異なり、消化器系の恒常性維持に関わる COX-1 を阻害せず、COX-2 を特異的

に阻害することができれば、より副作用の少ない NSAIDs ができるのではないかと考えられ、ロフェコキシブやセレコキシブをはじめ多くの COX-2 特異的阻害剤が開発された。しかし後になって、ロフェコキシブは、消化器障害を引き起こさないが、心血管疾患リスクの増加を引き起こすことが報告され、市場からの撤退を余儀なくされた²⁾。ほかの COX-2 特異的阻害剤についても同様の心血管疾患リスクの増加作用を示す可能性が指摘され、COX-2 に代わる新たな NSAIDs の標的の探索が進められている。

COX は、膜リン脂質からホスホリパーゼ A_2 (PLA_2) により切り出されたアラキドン酸に作用し、 PGG_2 を経て PGH_2 を産生する酵素である。各々の PG 類 (PGD_2 , PGE_2 , $\text{PGF}_{2\alpha}$, プロスタサイクリン (PGI_2), トロンボキサン A_2 (TXA_2)) は、こ

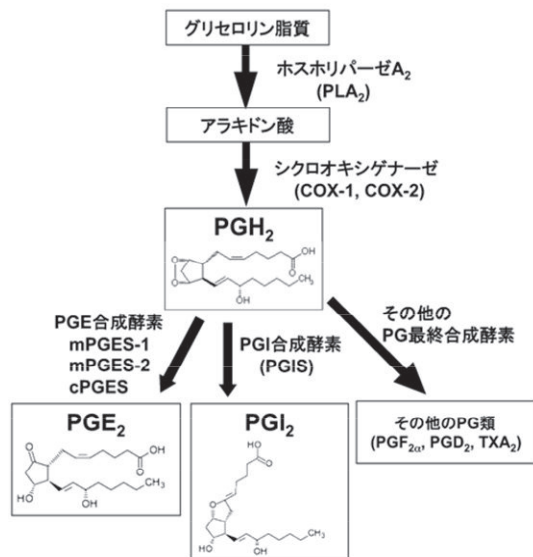


図1 PG 生合成経路における PG 最終合成酵素

のPGH₂に、各々のPG類に特異的なPG最終合成酵素が働くことにより産生される(図1)。NSAIDsはCOXの活性を阻害し全てのPG類の産生を抑制するために様々な副作用を生じてしまうが、病態の発症や進行に関わるPG類の産生を担うPG最終合成酵素の活性のみを抑制することができれば、副作用を軽減できることが期待される。このため、現在、NSAIDsの新たな標的としてPG最終合成酵素が注目されている。PG最終合成酵素の多くは、その上流で働くCOX-1、COX-2のいずれか一方から供給されるPGH₂をより優先的に代謝するという、いわゆるCOXアイソザイム選択的機能連関を示す(表1には主なPG最終合成酵素の性質をまとめた)^{3)~6)}。各々のPG最終合成酵素とCOXのいずれかのアイソザイムとの間に何らかの特異的な相互作用があるのか、単に細胞内の局在場所が近いことによるのかなど、この機能連

関がどのような機構により引き起こされるかについては現在も不明のままである。しかし、これまでの解析により、創薬の標的となるCOX-2とは、PG最終合成酵素のうち、膜結合型PGE合成酵素-1(mPGES-1)とPGI合成酵素(PGIS)が強く機能連関することが示されている^{3, 5)}。本総説では、この2つのPG最終合成酵素、mPGES-1とPGISに焦点を絞り、その発見の経緯からその生体内機能に関わる最近の知見までを概説したい。

膜結合型プロスタグランジンE合成酵素-1 (mPGES-1)

(1) mPGES-1の発見・性状解析

1999年にJakobssonらは、MAPEG(membrane-associated proteins involved in eicosanoid and glutathione metabolism)ファミリーに属するタンパク質の1つとしてデータベースに登録されていたMGST-L1が、PGH₂をPGE₂に変換するPGES活性をもつことを見出した⁷⁾。このMGST-L1が現在mPGES-1と呼ばれるPGESである。一方、当教室ではリポ多糖により処理したマクロファージにおいて発現誘導されるPGESの解析を進めていたが、2000年にこの酵素がMGST-L1のラットあるいはマウスホモログであることを明らかにした³⁾。

mPGES-1は152~153アミノ酸(ヒトでは152アミノ酸、マウスでは153アミノ酸)からなる分子量16kDaの膜タンパク質であり、PGES活性発現に補因子としてグルタチオンを必要とする。現在、PGESとしては、mPGES-1、-2、細胞質型PGES(cPGES)の3種類が存在することが明らかになっ

表1 主なPG最終合成酵素の性質

	略号	分子量	細胞内局在	構造上の特徴	COXとの機能連関
TXA ₂ 合成酵素	TXS	60kDa	核周縁膜	シトクロムP450	COX-2 > COX-1
PGI ₂ 合成酵素	PGIS	55kDa	核周縁膜	シトクロムP450	COX-2 > COX-1
PGD ₂ 合成酵素					
リポカリン型	L-PGDS	26kDa	分泌性	リポカリン	-
造血器型	H-PGDS	26kDa	細胞質	細胞質型グルタチオンS-トランスフェラーゼ	COX-1 > COX-2
PGE ₂ 合成酵素					
膜結合型-1	mPGES-1	18kDa	核周縁膜	MAPEG	COX-2 > COX-1
膜結合型-2	mPGES-2	45kDa	ゴルジ体, 細胞質	チオレドキシン様ドメインをもつ	選択性なし
細胞質型	cPGES	23kDa	細胞質	-	COX-1 > COX-2

ているが, mPGES-2と cPGES が構成的に発現するのに対し, mPGES-1は COX-2同様に, インターロイキン-1やリポ多糖などの炎症性刺激で発現誘導され, その発現誘導は抗炎症ステロイドにより抑制される^{8,9)}. mPGES-1遺伝子のプロモーター解析により, Egr-1という転写因子がその発現誘導に関わることが示されている¹⁰⁾. また, mPGES-1遺伝子の転写制御機構は COX-2¹¹⁾と異なるものの, その発現誘導はCOX-2とリンクしており, 炎症部位や腫瘍組織など COX-2が高発現している病変部位において, mPGES-1と COX-2の共発現が認められている⁸⁾. さらに, mPGES-1は, mPGES-2と cPGES とは異なり, COX-1よりCOX-2と選択的に機能連関する³⁾ことから, 炎症や発がんといった病態の発症や進行に関わるPGE₂は, 主にCOX-2/mPGES-1経路を介し産生されることが考えられる.

(2) mPGES-1 KO マウスを用いた解析

2002年に植松ら¹²⁾, 2003年にTrebbino ら¹³⁾により mPGES-1の KO マウスが作製され, この KO マウスを用いた解析を通じて, mPGES-1 が実際に多くの病態の発症・進行に関与することが示されてきた. 本総説では, 当教室において, mPGES-1 KO マウスを用い明らかにしてきた mPGES-1 の炎症性疾患, 疼痛応答, 発がん, 神経疾患への関与について概説する. その他の mPGES-1 KO マウスの解析による知見については他の最近の総説^{8,9)}を参照していただきたい.

1. 炎症性疾患

関節リウマチの炎症部位において, mPGES-1は COX-2とともに高発現していることが報告されている¹⁴⁾. この関節リウマチの主な病態モデルとしては, コラーゲン投与による CIA (collagen-induced arthritis) モデルならびに抗コラーゲン抗体投与による CAIA (collagen antibody-induced arthritis) モデルが汎用されているが, mPGES-1 KO マウスではいずれのモデルにおいても関節炎症状が緩和される. 当教室では, CIA モデルより短期間で発症する CAIA モデルを用い, mPGES-1 KO マウスにおいて,

関節組織の腫脹, 発赤の低下, 骨破壊の抑制など, 関節炎症状が顕著に緩和されることを明らかにした¹⁵⁾. 一方, Trebbino ら¹³⁾および小島ら¹⁶⁾は CIA モデルの検討において, mPGES-1 KO マウスで関節炎症状の緩和を報告している. 小島らの報告によると, CIA モデルでは, mPGES-1の欠損は関節炎症状の緩和に加え, 抗コラーゲン抗体の産生低下も引き起こすことが明らかとなっている.

さらに, 当教室では, 急性炎症反応に及ぼす mPGES-1欠損の影響について, 綿糸移植モデルやカラゲニン誘導胸膜炎モデルを用い解析を行った^{9, 15)}. その結果, 綿糸移植モデルにおける炎症性肉芽形成, 胸膜炎モデルにおける白血球の浸潤や滲出液の漏出が, mPGES-1 KO マウスでは抑制されることがわかった. これらの解析から, mPGES-1の抑制は NSAIDs の適用と同様に, 炎症反応の軽減につながることが示唆された.

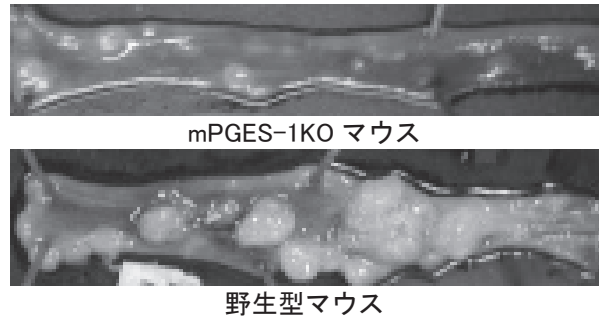
2. 疼痛応答

NSAIDs の重要な作用の1つに鎮痛効果がある. マウスの腹腔に酢酸を投与すると, 体をよじる反応(酢酸ライジング反応)を示すが, mPGES-1 KO マウスではこの反応が野生型マウスに比べて有意に抑制された¹⁵⁾. mPGES-1遺伝子欠損による酢酸ライジング反応の減少は, あらかじめマウスにリポ多糖を投与し, COX-2の発現を誘導しておくと, より顕著ではあるが, リポ多糖を投与していない場合においても観察された. すなわち, COX-2が誘導されない状況においても mPGES-1が疼痛応答に関わることが明らかとなった.

また, 神経障害性疼痛への関与については, 座骨神経の部分結紮モデルにより解析されている¹⁷⁾. このモデルにおいて, 機械的アロディニア(異痛症)および熱痛覚過敏のいずれもが, mPGES-1 KO マウスでは生じないことが報告された.

図2 mPGES-1 KO マウスにおける大腸化学発がんの抑制

野生型および mPGES-1 KO マウスに、アゾキシメタン10mg/kg を週1回ずつ6週間腹腔投与し、投与開始24週間後大腸を摘出した。詳細については文献23を参照。



3. がんの発症・進展

mPGES-1と機能連関する COX-2は炎症時のみならず腫瘍組織においても発現が誘導され、COX-2特異的阻害剤のみならず多くの NSAIDs は炎症反応を抑えるだけでなく、がんの進展を抑える効果があることが示されている¹⁸⁾。mPGES-1もまた COX-2同様に腫瘍組織で高発現していることが報告されているが、当教室では、COX-2と mPGES-1をとともに強制発現させた細胞株が悪性形質転換することを見出し、mPGES-1が発がん過程に関わることを示してきた¹⁹⁾。大島らも COX-2と mPGES-1の消化管粘膜特異的なダブルトランスジェニックマウスが過形成病変を発症することを報告している²⁰⁾。さらに私たちは、mPGES-1を過剰発現させたがん細胞株は、細胞の増殖速度、浸潤能の亢進が認められ、逆に siRNA により mPGES-1の発現を抑制した細胞株では、増殖速度、浸潤能の低下が見られることを明らかにした^{19,21)}。これらの結果は、mPGES-1ががんの進展に深く関わることを示唆している。

さらに mPGES-1 KO マウスを用いた解析において、mPGES-1のがんの発症・進展への関与は *in vivo* でも実証されている。中西らは、腸管腫瘍を自然に発症する *Apc* 遺伝子変異マウスを mPGES-1 KO マウスと交配すると、mPGES-1の欠損により生じる腸管ポリープの数、大きさがいずれも減少することを報告している²²⁾。一方、私たちは、mPGES-1 KO マウスでは、化学発がん物質であるアゾキシメタンで誘導される大腸の化学発がんも抑えられることを明らかにした(図2)²³⁾が、中西らも最近同様の報告をしている²⁴⁾。さらに、私たちは KO マウスを用い、

がん細胞に高発現している mPGES-1に加え、宿主側の細胞における mPGES-1の発現誘導もまた、がんの増殖や転移に深く関与することを明らかにした。肺がん細胞株 LLC を野生型または mPGES-1 KO マウスの背部皮下に移植し、局部腫瘍の増大を経時的にモニターしたところ、KO マウスに移植した場合、腫瘍増殖の有意な低下が観察された²¹⁾。また、LLC 細胞を mPGES-1 KO マウスの脾臓内に投与した際にも腫瘍細胞の増殖低下が観察されるが、この増殖低下は野生型マウス骨髓由来のマクロファージを投与すると回復することから、宿主細胞の中でもマクロファージに発現誘導される mPGES-1ががんの増殖に深く関与すると考えられる²³⁾。さらに、LLC 細胞を静脈内に投与し、肺への血行性転移を検討したところ、KO マウスへの投与では野生型マウスへ投与した際と比較し肺転移の抑制がみられた²¹⁾。これらの結果は、mPGES-1の抑制が発がんの様々な過程を抑える可能性を示唆している。

4. 神経疾患

疾患モデルマウスを用いた解析から mPGES-1の神経疾患への関与も明らかになりつつある。松尾らは、虚血再灌流モデルにおいて、mPGES-1 KO マウスでは、再灌流により引き起こされる脳梗塞と脳浮腫が対照マウスと比較して顕著に抑制されることを見出した²⁵⁾。

一方私たちは、アルツハイマー病様症状を自然に発症する APP 遺伝子変異マウスを用い、mPGES-1遺伝子を欠損させると症状の抑制が認められることを明らかにしている(秋武ら、投稿準備中)。

(3) mPGES-1阻害剤の有効性と今後の問題点

mPGES-1 KO マウスを用いた解析の結果を受け、国内外において mPGES-1の阻害剤の開発が進められており、その中には既に、実験動物モデルを用い、有効性が示されているものもいくつかある。

Xu らは、ヒトの mPGES-1遺伝子をノックインしたマウスを作製し、このマウスの足底にリポ多糖を前投与した際に見られる熱性痛覚過敏が、MF63という mPGES-1の阻害剤により抑制されることを示している²⁶⁾。さらに、MF63はモルモットにおけるリポ多糖による発熱や熱性痛覚過敏、ヨード酢酸を肩関節に投与した際の疼痛応答に対しても減弱効果を示すこと、マウスにおいて MF63投与群ではインドメタシン投与群でみられる胃潰瘍がほとんど発症しないことを明らかにした。この結果は、mPGES-1阻害剤が、COX-2阻害剤に代わる新たな副作用の少ない NSAIDs となりうることを示している。

しかし一方で、mPGES-1阻害剤については、今後いくつか検討すべき点がある。消化器系において、mPGES-1と機能関連する COX-2は、COX-1と異なり構成的には発現していないが、消化器障害時には発現誘導され、COX-2より産生される PGE₂は消化器障害からの回復時においても重要な機能を担うことが示されている。最近私たちは、mPGES-1 KO マウスでは、デキストラン硫酸で大腸炎を誘導した際に、回復が遅れ病態が悪化するを見出した⁹⁾。mPGES-1特異的阻害剤が開発されたとしても、その適用にあたってはこの点を十分に考慮すべきである。

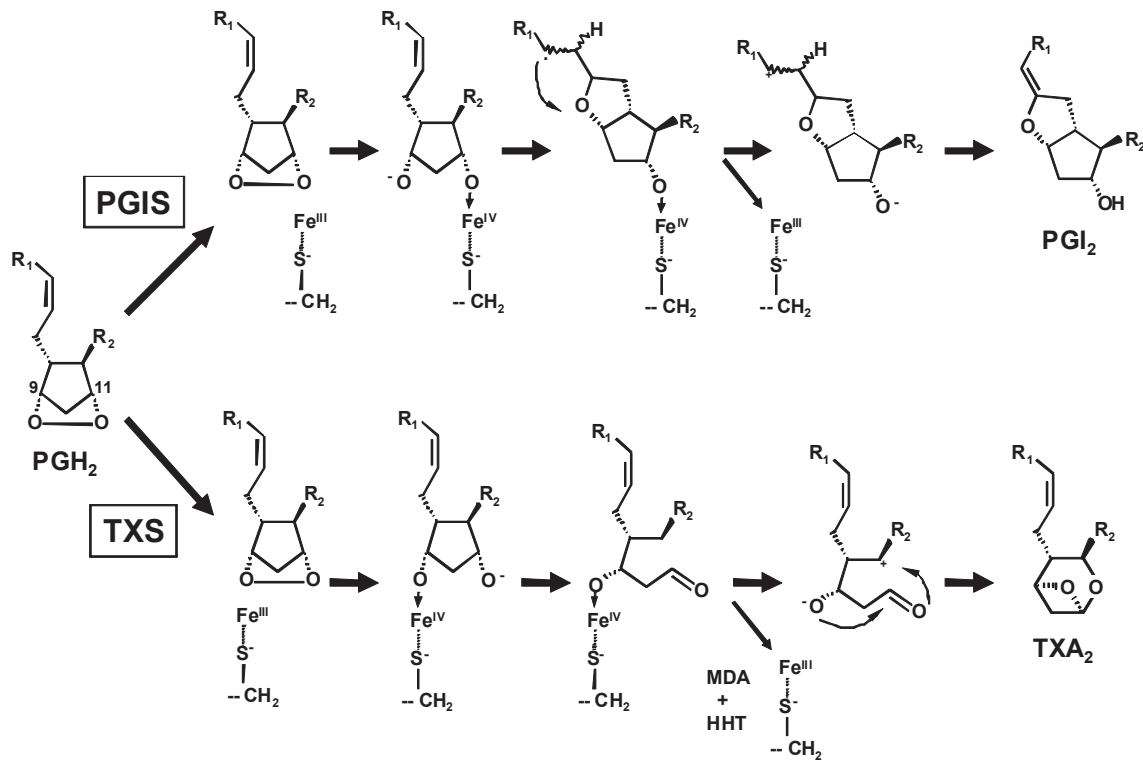
また、PG 最終合成酵素の1つを抑制すると、COX により産生された PGH₂の別の PG 最終合成酵素による代謝が亢進し、別の PG 類の産生が増加するという shunting 現象が報告されている²⁷⁾。mPGES-1を抑制するにあたっては、この shunting 現象にも注意しなくてはならない。

プロスタサイクリン合成酵素 (PGIS)

(1) PGIS の性状および発現

血小板活性化抑制作用・血管平滑筋弛緩作用を示す PGI₂に PGH₂を変換する PGIS 活性が血管壁に多く存在することは以前より知られていた²⁸⁾が、私は国立循環器病センター研究所在籍時に、ウシ大動脈より PGIS を精製し、その部分アミノ酸配列をもとに PGIS の cDNA クローニングを行い、全一次構造を明らかにした²⁹⁻³¹⁾。PGIS は500~501アミノ酸（ヒトでは500アミノ酸、マウスでは501アミノ酸）からなる分子量55kDa の膜タンパク質であり、PGI₂と逆の作用を示す TXA₂を産生する TXS と同様シトクロム P450の1つである。PGIS と TXS は、多くの P450と異なりその酵素反応に酸素分子と電子供与体 NADPH を必要とせず、PGH₂の9,11-エンドペルオキシドの酸素原子間の結合を切断しエポキシ基や水酸基に異性化する大変ユニークな P450である (図3)³²⁾。しかしながら、PGIS と TXS はアミノ酸配列全体のホモロジーは14%と低く、P450の分類では別のサブファミリー (PGIS は CYP8²⁹⁾、TXS は CYP5³³⁾) に属する。

PGIS は血管内皮細胞をはじめ様々な組織の細胞に構成的に発現する³¹⁾。血管内皮細胞では腫瘍壊死因子などの炎症性サイトカインで発現上昇誘導されるが、その上昇の程度は COX-2や mPGES-1と比べると小さい^{29,30)}。ヒト PGIS 遺伝子の転写開始点近傍には、発現誘導される多くの遺伝子にみられる TATA box がいないことから、PGIS は基本的には構成的な遺伝子であると考えられる³⁴⁾。また、開始コドンから-150塩基対までの領域は GC rich であり、プロモーター解析の結果この領域が PGIS の発現に不可欠であることが示されている。この GC rich 領域内には、転写因子 Sp1と AP-2が結合すると考えられる9塩基対 (CCGCCAGCC) の繰り返し配列が存在する。ヒトサンプルを用いた解析により、この繰り返しには3から7リピートまでの5種類の遺伝子多型があり、このリピート数が少ないほど高血圧や脳梗塞の発症率が高くなることが示されている^{35,36)}。

図3 PGIS と TXS による PGH₂ の異性化の反応機構

PGIS と PGH₂ との反応では、活性中心のシステイン残基に結合しているヘム鉄が、PGH₂ の11位のエンドペルオキシド酸素と結合し、9,11-エンドペルオキシドの酸素原子間の結合を切断した結果生じたラジカル作用により、6,9-エポキシおよび11 α -水酸基に異性化して PGI₂ を生じさせる。一方、TXS と PGH₂ との反応では、ヘム鉄が PGH₂ の9位のエンドペルオキシド酸素と結合し、TXA₂ が生じる。TXS の反応では、反応産物の50～70%はマロンジアルデヒド (MDA) とヒドロキシ不飽和脂肪酸 (HHT) として得られる。詳細については文献32を参照。

In vitro transfection の結果、このリピート数が少ないほど転写活性が低くなることも明らかになっており、PGIS の発現レベルは循環器疾患の発症に深く関与していると考えられる。

また、PGIS は構成的な遺伝子であるものの、mPGES-1と同様に、COX-1より COX-2と選択的に機能連関することが報告されている⁵⁾。このため COX-2特異的 NSAIDs が心血管疾患リスクの増加を引き起こす原因の1つとして、PGIS を介した PGI₂ の産生低下が指摘されている²⁾。

(2) PGIS の局所における過剰発現の効果

動脈硬化や血管拡張術後再狭窄では、血管内膜における血管平滑筋細胞 (VSMC) の異常増殖が問題となるが、PGI₂ には血小板活性化抑制作用・血管平滑筋弛緩作用に加え、VSMC の増殖抑制作用があることが知られている³⁷⁾。血管内皮細胞は PGIS を高いレベルで発現する³¹⁾が、病変部におけ

る血管内皮細胞の脱落が PGI₂ 産生低下を促し、その結果として VSMC の異常増殖につながる可能性も考えられる。そこで、私たちは、*in vitro* および *in vivo* で VSMC に PGIS を過剰発現させ、VSMC の増殖に対する影響について検討した。大阪大学の森下らが開発した HVJ (Hemagglutinating virus of Japan) -リポソームを用いた遺伝子導入法³⁸⁾により、ラット血管内膜から調製した VSMC に PGIS を過剰発現させたところ、PGI₂ 産生の上昇に伴い細胞増殖の抑制が観察された³⁹⁾。また、ラットの頸動脈にあらかじめ PGIS 遺伝子を導入した後にバルーンカテーテルで傷害したところ、この *in vivo* の系においても、PGIS 遺伝子の導入により、VSMC の異常増殖により引き起こされる血管内膜肥厚が軽減された (図4)⁴⁰⁾。この結果は、PGIS の遺伝子導入が動脈硬化の治療に有効である可能性を示唆している。

さらにその後、PGIS の遺伝子導入は高血圧の改

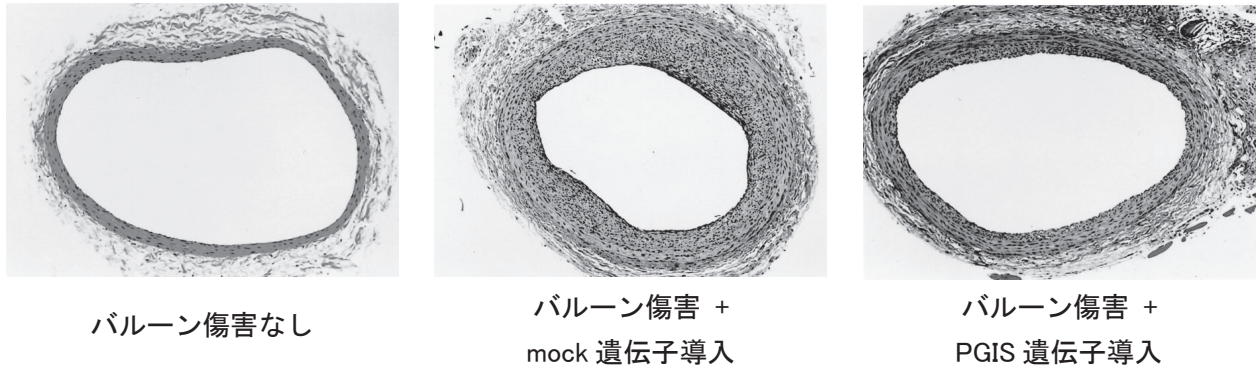


図4 PGIS 遺伝子の血管内導入によるバルーン障害血管内膜肥厚の抑制

ラットの頸動脈に HVJ-リポソーム法により PGIS 遺伝子あるいは対照として mock 遺伝子を導入した後、バルーンで傷害し、2週間後に血管内膜肥厚を観察した。詳細については文献40を参照。

善にも有効であることが示された。永谷らは、HVJ-リポソーム法により、PGIS 遺伝子を経気道的にモノクロタリン肺高血圧ラットに導入した結果、肺高血圧の軽減、生存率の改善がみられることを報告している⁴¹⁾。また、川上らは、アデノウィルスベクターを用い PGIS 遺伝子を導入したマウスでは、低酸素曝露による肺高血圧症が軽減されることを見出した⁴²⁾。肺動脈性肺高血圧症では、 PGI_2 の持続投与により症状の改善が試みられているが、今後 PGIS 遺伝子を用いた遺伝子治療の開発が待たれるところである。

一方、森下らの研究グループは、PGIS 遺伝子と肝細胞増殖因子 (HGF) 遺伝子の同時導入が、閉塞性動脈硬化症の治療に有効である可能性を示唆している。彼らは、マウスあるいはウサギの下肢虚血モデルにおいて、PGIS 遺伝子を HGF 遺伝子と同時に導入すると、HGF 遺伝子を単独で導入した場合に比べ、著大な血流改善効果がみられることを明らかにした^{43,44)}。PGIS 由来の PGI_2 が血小板凝集を抑制し血管を拡張することにより、HGF の血管への作用を増強したのではないかと考えられている。

(3) PGIS KO マウスを用いた解析

PGIS の KO マウスは、筆者が在籍していた国立循環病センターの研究グループにより作製され、2002年その表現型が報告された⁴⁵⁾。PGIS KO マウスでは血圧の有意な上昇が観察されるが、最も顕

著な表現型は腎臓の萎縮である。PGIS KO マウスの腎臓では髄質から皮質に至る広範囲で、繊維化および組織の壊死が認められ、さらに腎臓の機能異常に伴い尿素窒素ならびにクレアチニンの血中濃度が増加していた。また、加齢した KO マウスでは、胸部大動脈の中膜および外膜の肥厚も観察された。PGIS KO マウスで見出された腎臓の形態異常は、COX-2の KO マウスでも報告されている^{46,47)}ことから、COX-2/PGIS 経路を介し産生される PGI_2 が腎臓の恒常性維持に深く関わる可能性が示唆される。しかし興味深いことに、これまでに PGI_2 の唯一の細胞膜受容体として報告されている IP の KO マウスでは、このような腎臓の形態異常は報告されていない⁴⁸⁾。IP 以外に PGI_2 の標的タンパク質が存在する可能性が考えられる。

(4) PGIS は阻害すべきか否か

以上述べてきたように、PGIS の発現レベルの低下は動脈硬化や高血圧といった循環器疾患の発症や進展に関与し、逆に PGIS の過剰発現はこれらの疾患の治療につながる可能性が指摘されている。さらに、PGIS は COX-2と選択的に機能関連し、COX-2/PGIS を介した PGI_2 の産生低下が、COX-2特異的 NSAIDs が心血管疾患リスクの増加を引き起こす大きな原因の1つと考えられている²⁾。すなわち、PGIS と循環器疾患との関連の面からみると、PGIS は阻害すべきでないことは明らかである。また、COX-2特異的阻害剤をはじめとす

る多くの NSAIDs に、がんの進展を抑える効果があることが示されており¹⁸⁾、COX を介し産生される PG 類はがんの悪性化に関わると考えられるが、一方で、PGIS をマウス肺に過剰発現すると、タバコの煙により誘導される発がんが抑制される⁴⁹⁾という報告もある。発がん抑制の面からも PGIS は阻害すべきでないのかもしれない。

しかし一方で、PGI₂受容体 IP の KO マウスを用いた解析から、PGI₂には循環器疾患や発がんのリスク軽減という生体にとって「良い」作用のみならず、発痛や炎症反応を亢進するという「悪い」作用を併せ持つことも示唆されている⁴⁸⁾。実際、私たちは最近 mPGES-1 と PGIS の二重欠損マウスを作製し、mPGES-1 KO マウスで観察される炎症反応、疼痛応答の減弱が、PGIS との二重欠損マウスではさらに減弱されることを見出している(佐々木ら、発表準備中)。より強い抗炎症抗鎮痛効果を示す薬剤の開発においては、PGIS を介する PGI₂産生を抑制することも重要であると考えられる。

おわりに

副作用のない「夢のアスピリン」と期待された COX-2 を特異的に阻害する NSAIDs であったが、その後、消化器障害を引き起こさないものの、心血管疾患リスクの増加を引き起こすことが報告された²⁾。中には、市場からの撤退を余儀なくされたものもある。本総説では、COX-2 の下流で働き、COX-2 に代わる新たな NSAIDs の標的として注目される mPGES-1 と PGIS について、その生体内機能を中心に概説した。両酵素のうち mPGES-1 の阻害剤は炎症や発がんに関わる PGE₂産生を抑える一方、COX-2 特異的阻害剤とは異なり、血小板活性化抑制作用・血管平滑筋弛緩作用・VSMC 増殖抑制作用をもつ PGI₂産生を抑えることはない。このため、mPGES-1 阻害剤が心血管疾患リスクの増加を引き起こすことはないと考えられ、国内外で mPGES-1 阻害剤の開発が進められている。しかし、上述したように、mPGES-1 を介し産生される PGE₂は消化器障害からの回復に関わる可能性も指摘されている。また、COX を阻害する

NSAIDs では抑えられた炎症反応や疼痛応答に関わる PGI₂産生が、mPGES-1 阻害剤では抑えられることはなく、shunting 現象によって却って増加してしまう可能性も考えられる。mPGES-1 阻害剤が COX-2 阻害剤の二の舞にならないためにも、その効果および副作用については様々なアプローチからの解析が必要だろう。今後も「夢のアスピリン」を求め、PG 最終合成酵素の解析を進めていきたいと考えている。

謝 辞

本総説で紹介した PGES に関する研究は、筆者が昭和大学に赴任する以前に、故工藤一郎教授のもと昭和大学薬学部衛生化学教室において開始され、その後現在に至るまで衛生化学教室の教員、大学院生、学部生、多くの共同研究者と行われているものです。また、PGIS に関する研究は、筆者が国立循環器病センター研究所薬理部において田辺忠部長のもと行ったものです。関係された方々に深く感謝致します。

文 献

- 1) 原 俊太郎, 七山豊通, 田辺 忠: シクロオキシゲナーゼ-2 のヒト遺伝子構造と発現, 炎症, 15, 283-292 (1995).
- 2) Hara, S., Kudo, I.: COX-2 inhibitors and the risk of cardiovascular events, Jpn. Med. Assoc. J., 49, 276-278 (2006).
- 3) Murakami, M., Naraba, H., Tanioka, T., et al.: Regulation of prostaglandin E₂ biosynthesis by inducible membrane-associated prostaglandin E₂ synthase that acts in concert with cyclooxygenase-2, J. Biol. Chem., 275, 32783-32792 (2000).
- 4) Tanioka, T., Nakatani, Y., Semmyo, N., 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) Ueno, N., Murakami, M., Tanioka, T., et al.:

- Coupling between cyclooxygenase, terminal prostanoid synthase, and phospholipase A₂, *J. Biol. Chem.*, 276, 34918–34927 (2001).
- 6) Murakami, M., Nakashima, K., Kamei, D., et al.: Cellular prostaglandin E₂ production by membrane-bound prostaglandin E synthase-2 via both cyclooxygenase-1 and 2, *J. Biol. Chem.*, 278, 37937–37947 (2003).
 - 7) Jakobsson, P.J., Thorén, S., Morgenstern, R., et al.: Identification of human prostaglandin E synthase: a microsomal, glutathione-dependent, inducible enzyme, constituting a potential novel drug target, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 96, 7220–7225 (1999).
 - 8) Samuelsson, B., Morgenstern, R., Jakobsson, P.J., Membrane prostaglandin E synthase-1: a novel therapeutic target, *Pharmacol. Rev.*, 59, 207–224 (2007).
 - 9) Hara, S., Kamei, D., Sasaki, Y., et al.: Prostaglandin E synthases: understanding their pathophysiological roles through mouse genetic models, *Biochimie*, 92, 651–659 (2010).
 - 10) Naraba, H., Yokoyama, C., Tago, N., et al.: Transcriptional regulation of the membrane-associated prostaglandin E₂ synthase gene: Essential role of the transcription factor Egr-1, *J. Biol. Chem.*, 277, 28601–28608 (2002).
 - 11) Inoue, H., Yokoyama, C., Hara, S., et al.: Transcriptional regulation of human prostaglandin-endoperoxide synthase-2 gene by lipopolysaccharide and phorbol ester in vascular endothelial cells: Involvement of both nuclear factor for interleukin-6 expression site and cAMP response element, *J. Biol. Chem.*, 270, 24965–24971 (1995).
 - 12) Uematsu, S., Matsumoto, M., Takeda, K., et al.: Lipopolysaccharide-dependent prostaglandin E₂ production is regulated by the glutathione-dependent prostaglandin E₂ synthase gene induced by the Toll-like receptor 4/MyD88/NF-IL6 pathway, *J. Immunol.*, 168, 5811–5816 (2002).
 - 13) Trebino, C.E., Stock, J.L., Gibbons, C.P., et al.: Impaired inflammatory and pain responses in mice lacking an inducible prostaglandin E synthase, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 100, 9044–9049 (2003).
 - 14) Westman, M., Korotkova, M., af Klint, E., et al.: Expression of microsomal prostaglandin E synthase 1 in rheumatoid arthritis synovium, *Arthritis Rheum.*, 50, 1774–1780 (2004).
 - 15) Kamei, D., Yamakawa, K., Takegoshi, Y., et al.: Reduced pain hypersensitivity and inflammation in mice lacking microsomal prostaglandin E synthase-1, *J. Biol. Chem.*, 279, 33684–33695 (2004).
 - 16) Kojima, F., Kapoor, M., Yang, L., et al.: Defective generation of a humoral immune response is associated with a reduced incidence and severity of collagen-induced arthritis in microsomal prostaglandin E synthase-1 null mice, *J. Immunol.*, 180, 8361–8368 (2008).
 - 17) Mabuchi, T., Kojima, H., Abe, T., et al.: Membrane-associated prostaglandin E synthase-1 is required for neuropathic pain, *Neuroreport*, 1395–1398 (2004).
 - 18) Cha, Y.I., DuBois, R.N.: NSAIDs and cancer prevention: targets downstream of COX-2, *Annu. Rev. Med.*, 58, 239–252 (2007).
 - 19) Kamei, D., Murakami, M., Nakatani, Y., et al.: Potential role of microsomal prostaglandin E synthase-1 in tumorigenesis, *J. Biol. Chem.*, 278, 19396–19405 (2003).
 - 20) Oshima, H., Oshima, M., Inaba, K., et al.: Hyperplastic gastric tumors induced by activated macrophages in COX-2/mPGES-1 transgenic mice, *EMBO J.*, 23, 1669–1678 (2004).
 - 21) Kamei, D., Murakami, M., Sasaki, Y., et al.: Microsomal prostaglandin E synthase-1 in both cancer cells and hosts contributes to tumour

- growth, invasion and metastasis, *Biochem. J.*, 425, 361-371 (2010).
- 22) Nakanishi, M., Montrose, D.C., Clark, P., et al.: Genetic deletion of mPGES-1 suppresses intestinal tumorigenesis, *Cancer Res.*, 68, 3251-3259 (2008).
- 23) Sasaki, Y., Kamei, D., Ishikawa, Y., et al.: Microsomal prostaglandin E synthase-1 is involved in multiple steps of colon carcinogenesis, *Oncogene*, in press (2012).
- 24) Nakanishi M., Menoret, A., Tanaka, T., et al.: Selective PGE₂ suppression inhibits colon carcinogenesis and modifies local mucosal immunity, *Cancer Prev. Res.*, 4, 1198-1208 (2011).
- 25) Ikeda-Matsuo, Y., Ota, A., Fukada, T., et al.: Microsomal prostaglandin E synthase-1 is a critical factor of stroke-reperfusion injury, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 103, 11790-11795 (2006).
- 26) Xu, D., Rowland, S.E., Clark, P., et al.: MF63 [2-(6-chloro-1*H*-phenanthro[9,10-*d*]imidazol-2-yl)-isophthalonitrile], a selective microsomal prostaglandin E synthase-1 inhibitor, relieves pyresis and pain in preclinical models of inflammation, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 326, 754-763 (2008).
- 27) Boulet, L., Ouellet, M., Bateman, K.P., et al.: Deletion of microsomal prostaglandin E₂ (PGE₂) synthase-1 reduces inducible and basal PGE₂ production and alters the gastric prostanoid profile, *J. Biol. Chem.*, 279, 23229-23237 (2004).
- 28) DeWitt, D.L., Smith, W.L.: Purification of prostacyclin synthase from bovine aorta by immunoaffinity chromatography: Evidence that the enzyme is a hemoprotein, *J. Biol. Chem.*, 258, 3285-3293 (1983).
- 29) Hara, S., Miyata, A., Yokoyama, C., et al.: Isolation and molecular cloning of prostacyclin synthase from bovine endothelial cells, *J. Biol. Chem.*, 269, 19897-19903 (1994).
- 30) Miyata, A., Hara, S., Yokoyama, C., et al.: Molecular cloning and expression of human prostacyclin synthase, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 200, 1728-1734 (1994).
- 31) Tone, Y., Inoue, H., Hara, S., et al.: The regional distribution and cellular localization of mRNA encoding rat prostacyclin synthase, *Eur. J. Cell. Biol.*, 72, 268-277 (1997).
- 32) Tanabe, T., Ullrich, V.: Prostacyclin and thromboxane synthases, *J. Lipid Mediat. Cell Signal.*, 12, 243-255 (1995).
- 33) Yokoyama, C., Miyata, A., Ihara, H., et al.: Molecular cloning of human platelet thromboxane A synthase, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 178, 1479-1484 (1991).
- 34) Yokoyama, C., Yabuki, T., Inoue, H., et al.: Human gene encoding prostacyclin synthase (PTGIS): genomic organization, chromosomal localization, and promoter activity, *Genomics*, 36, 296-304 (1996).
- 35) Iwai, N., Katsuya, T., Ishikawa, K., et al.: Human prostacyclin synthase gene and hypertension : the Suita Study, *Circulation*, 100, 2231-2236 (1999).
- 36) Nakayama, T., Soma, M., Rehemudula, D., et al.: Association of 5' upstream promoter region of prostacyclin synthase gene variant with cerebral infarction, *Am. J. Hypertens.*, 13, 1263-1267 (2000).
- 37) Uehara, Y., Takada, S., Hirawa, N., et al.: De novo synthesis of phospholipase A₂ and prostacyclin production by proliferating rat smooth muscle cells, *Prostaglandins*, 46, 331-346 (1993).
- 38) Morishita, R., Gibbons GH, Kaneda Y, et al.: Novel and effective gene transfer technique for study of vascular renin angiotensin system, *J. Clin. Invest.*, 91, 2580-2585 (1993).
- 39) Hara, S., Morishita, R., Tone, Y., et al.: Overexpression of prostacyclin synthase inhibits

- growth of vascular smooth muscle cells, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 216, 862-867 (1995).
- 40) Todaka, T., Yokoyama, C., Yanamoto, H., et al.: Gene transfer of prostacyclin synthase prevents neointimal formation after carotid balloon injury in rats, *Stroke*, 30, 419-426 (1999).
 - 41) Nagaya, N., Yokoyama, C., Kyotani, S, et al.: Gene transfer of human prostacyclin synthase ameliorates monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats, *Circulation*, 102, 2005-2010 (2000).
 - 42) Kawakami, T., Kanazawa, H., Satoh, T., et al.: AAV-PGIS gene transfer improves hypoxia-induced pulmonary hypertension in mice, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 363, 656-661 (2007).
 - 43) Koike, H., Morishita, R., Iguchi, S., et al.: Enhanced angiogenesis and improvement of neuropathy by cotransfection of human hepatocyte growth factor and prostacyclin synthase gene, *FASEB J.*, 17, 779-781 (2003).
 - 44) Hiraoka, K., Koike, H., Yamamoto, S., et al.: Enhanced therapeutic angiogenesis by cotransfection of prostacyclin synthase gene or optimization of intramuscular injection of naked plasmid DNA, *Circulation*, 108, 2689-2696 (2003).
 - 45) Yokoyama, C., Yabuki, T., Shimonishi, M., et al.: Prostacyclin-deficient mice develop ischemic renal disorders, including nephrosclerosis and renal infarction, *Circulation*, 106, 2397-2403 (2002).
 - 46) Morham, S.G., Langenbach, R., Loftin, C.D., et al.: Prostaglandin synthase 2 gene disruption causes severe renal pathology in the mouse, *Cell*, 83, 473-482 (1995).
 - 47) Dinchuk, J.E., Car, B.D., Focht, R.J., et al.: Renal abnormalities and an altered inflammatory response in mice lacking cyclooxygenase II, *Nature*, 378, 406-409 (1995).
 - 48) Murata, T., Ushikubi, F., Matsuoka, T., et al.: Altered pain perception and inflammatory response in mice lacking prostacyclin receptor, *Nature*, 388, 678-682 (1997).
 - 49) Keith, R.L., Miller, Y.E., Hudish, T.M., et al.: Pulmonary prostacyclin synthase overexpression chemoprevents tobacco smoke lung carcinogenesis in mice, *Cancer Res.*, 64, 5897-5904 (2004).

Prostaglandin Terminal Synthases as Novel Targets for NSAIDs

Shuntaro HARA

School of Pharmacy, Showa University

Abstract

Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) exert their anti-inflammatory and antitumor effects by reducing prostaglandin (PG) production by inhibition of cyclooxygenase (COX). Of two COX isozymes, constitutive COX-1 plays a role in homeostasis, whereas inducible COX-2 is shown to be related to inflammatory reactions and carcinogenesis. Long-term application of NSAIDs is associated with severe side effects, mainly gastrointestinal injury and renal irritations, apparently due to impaired COX-1-dependent PG biosynthesis. Although COX-2 selective inhibitors show reduced gastrointestinal complications, recent clinical trials indicated a significantly increased cardiovascular risk. Thus, more selective modulation of PG production appeared to be desirable. PGH_2 , COX metabolite, is converted to each PG species by species-specific PG terminal synthases. Among PG terminal synthases, microsomal PGE synthase-1 (mPGES-1) and PGI synthase (PGIS) are functionally coupled with COX-2 in marked preference to COX-1 to produce PGE_2 and PGI_2 , respectively. Now, these PG terminal synthases have gained attention as novel targets for NSAIDs. In this review, we summarize the current understanding of mPGES-1 and PGIS.

Key Words : prostaglandin, NSAIDs, inflammatory reaction, carcinogenesis, cardiovascular diseases

Received 3 October 2011; accepted 1 November 2011.