

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		血管病変でのプロスタグランジン受容体 EP4 刺激を介するエラスチン蛋白制御の解明			
研究テーマ (欧文) AZ		Regulation of of Vascular Elastic Fiber Assembly via Prostaglandin EP4 Signaling.			
研究氏 代表名 者	カナ CC	姓)ヨコヤマ	名)ウタコ	研究期間 B	2008 ~ 2010 年
	漢字 CB	横山	詩子	報告年度 YR	2010 年
	ローマ字 CZ	Yokoyama	Utako	研究機関名	横浜市立大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		横浜市立大学医学部循環制御医学・助教			
<p>概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)</p> <p>弾性線維は血管に必須の構成要素であり、その異常は大動脈瘤、血管狭窄性疾患など重篤な疾患をもたらす。弾性線維形成の分子機構は徐々に明らかにされているが、ホルモン、受容体刺激による弾性線維の制御は不明である。我々は、動脈管で隣接する大動脈や肺動脈に比べて弾性線維の形成が著しく低下していることに着目し、動脈管に高発現するプロスタグランジン E 受容体 EP4 のシグナルが弾性線維形成を負に制御するという仮説のもと解析を行った。</p> <p>エラスチン蛋白がマイクロフィブリルなどの足場に沈着し、リシルオキシダーゼがその足場上に並んだエラスチン蛋白を架橋することで不可溶性の弾性線維となるが、プロスタグランジン E 受容体 EP4 が高発現している動脈管平滑筋初代培養細胞を EP4 agonist で刺激するとリシルオキシダーゼの発現が有意に低下し、in vitro での弾性線維形成を抑制した。EP1/3, EP2 刺激ではこれらの作用は認められなかった。EP4 agonist 刺激によるリシルオキシダーゼの発現低下は、extracellular signal-regulated kinase 1/2 (ERK1/2) の活性低下によることが示され、この経路はサイクリック AMP シグナルとは独立していることが示唆された。野生型マウスの動脈管では弾性線維形成が大動脈や肺動脈に比べて低形成であるのに対し、EP4 欠損マウスの動脈管組織では、弾性線維形成が大動脈や肺動脈と同程度に増強していた。さらに、先天性心疾患である大動脈縮索症や後天性の大動脈瘤といった弾性線維の異常がおこる疾患でも、弾性線維形成の低下部位と一致して EP4 の過剰発現が認められ、ヒトでも EP4 シグナルが弾性線維形成を負に制御している可能性が示された。</p> <p>本研究から、プロスタグランジン E は EP4 を介してリシルオキシダーゼの発現を低下させ、弾性線維の形成を低下させることが示唆された。</p>					
キーワード FA	プロスタグランジンE	弾性線維	大動脈瘤	動脈管	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	Regulation of vascular tone and remodeling of the ductus arteriosus							
	著者名 <sup>GA</sup>	Utako Yokoyama, et al.	雑誌名 <sup>GC</sup>	J. Smooth Muscle Res.					
	ページ <sup>GF</sup>	77~87	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	1	0	巻号 <sup>GD</sup>	46
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>	Utako Yokoyama, et al.	雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	~	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	1	0	巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	Differential roles of Epac in regulating cell death in neuronal and myocardial cells							
	著者名 <sup>GA</sup>	Utako Yokoyama, et al.	雑誌名 <sup>GC</sup>	The Journal of Biological Chemistry					
	ページ <sup>GF</sup>	24248~24259	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	1	0	巻号 <sup>GD</sup>	285
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	

#### 欧文概要<sup>EZ</sup>

Elastic fiber formation is essential for elasticity of arteries. However, the hormonal regulation of elastic fiber formation remains largely unknown. Because the ductus arteriosus (DA), where prostaglandin E receptor, EP4, is highly expressed, exhibits hypoplastic elastic fiber formation, we hypothesized that EP4 signaling inhibits elastic fiber formation in arteries.

Pooled tissues from the rat DA and the aorta were used for RT-PCR. Protein expression and elastolytic activity were assessed by immunoblotting and elastin-zymography, respectively. Smooth muscle cells (DASMCs) was obtained from the rat DA.

Elastica staining, immunostaining and electron microscopy studies showed that elastic fiber was less formed in the DA compared to the aorta (0.56-fold,  $P < 0.01$ ,  $n = 6$ ). The expression level of lysyl oxidase (LOX) mRNA that catalyzes cross-links in elastin was lower in the DA tissue than in the aorta (0.52-fold,  $P < 0.01$ ,  $n = 8$ ). A selective EP4 agonist, ONO-AE1-329, significantly decreased LOX mRNA and protein (0.18- and 0.25-fold,  $P < 0.01$ ,  $n = 6$ ) in DASMCs, but EP1/3 (sulprostone) or EP2 agonist (butaprost) did not. An EP4 agonist decreased phosphorylation of extracellular signal-regulated kinase 1/2 (ERK1/2) in DASMCs. An ERK1/2 inhibitor, U0126, decreased LOX expression. Immunocytochemistry showed that an EP4 agonist attenuated elastic fiber formation of DASMCs, but EP1/3 or EP2 agonist did not. Adenovirus-mediated overexpression of LOX rescued EP4-mediated disruption of elastic fiber formation. EP4 agonist increased elastolytic matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) activity in DASMCs. When EP4 was disrupted in mice, elastic fiber formation was increased in the DA. More importantly, human coarctation of the aorta showed disrupted elastic fiber formation and increased EP4 expression.

These results suggest that EP4 signaling inhibits vascular elastic fiber formation through attenuation of LOX-mediated cross-linking of elastic fiber and MMP-2-mediated degradation of elastin. Pharmacological inhibition of EP4 signaling may be a novel strategy for treating abnormal elastic fiber formation, such as coarctation of the aorta, in which no effective pharmacological therapy has been available.