

総 説

脊髄におけるプロスタグランジン

山本 登志子

徳島大学大学院ヘルスパイオサイエンス研究部情報統合医学講座形態情報医学分野

(平成17年3月31日受付)

(平成17年4月8日受理)

プロスタグランジンは脊髄において、痛覚誘発に関与する。中でも、プロスタグランジン E₂ と F_{2α} がアロディニア、プロスタグランジン D₂ と E₂ が痛覚過敏反応をそれぞれ誘導することが知られている。本稿では、脊髄痛覚反応に対するプロスタグランジンの関与についてのこれまでの報告と、アロディニアに関与するとされるプロスタグランジン F_{2α} を合成する酵素について、最近得られた所見を中心に紹介する。

はじめに

アスピリンに代表される非ステロイド性抗炎症薬は、解熱鎮痛作用に加えて、抗炎症、抗血栓、抗腫瘍などの作用を有することが知られている。一方で、その副作用として、胃腸障害や腎機能低下などがあげられる。これらの薬理作用は、非ステロイド性抗炎症薬によってプロスタグランジン(PG)の合成が阻害されることに起因する。PGの合成系では、図1で示すように、まず細胞膜よりホスホリパーゼ A₂(PLA₂)によって切り出されたアラキドン酸から、シクロオキシゲナーゼ(COX)の触媒で、PGG₂を経てPG合成の共通基質であるPGH₂が産生される。このPGH₂に特異的なPG合成酵素が働くことにより、組織や細胞の局所においてPGD₂、PGE₂、PGF_{2α}、PGI₂、TXA₂などが合成される。このようなアラキドン酸の代謝に始まるPG合成系において、非ステロイド性抗炎症薬は初発酵素のCOXを阻害する。合成されたPGのうち、脊髄痛覚反応に関与するのはPGD₂、PGE₂、PGF_{2α}である。PGD₂とPGE₂は侵害性刺激に対する閾値が低下する痛覚過敏反応を惹起し、PGE₂とPGF_{2α}は本来痛みを感じない非侵害性刺激による痛覚であるアロディニアを誘発する。

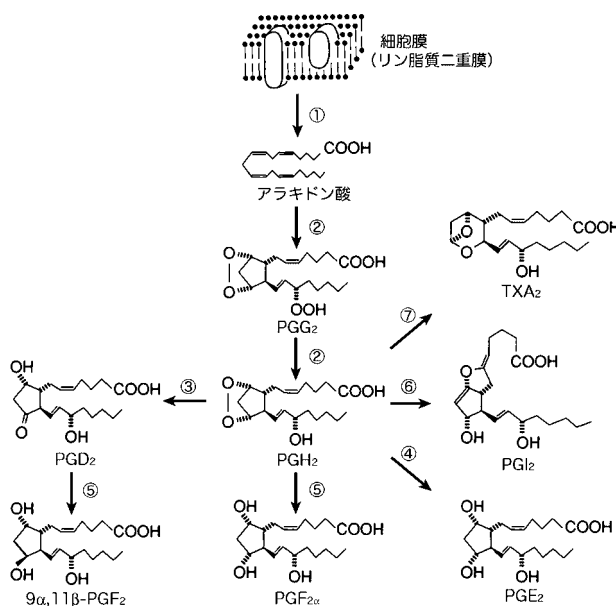


図1 プロスタグランジンの生合成経路

ホスホリパーゼ A₂(PLA₂) シクロオキシゲナーゼ(COX) プロスタグランジン D 合成酵素(PGDS) プロスタグランジン E 合成酵素(PGES) プロスタグランジン F 合成酵素(PGFS) プロスタグランジン I 合成酵素(PGIS) トロンボキサン合成酵素(TXS)

1. 脊髄痛覚反応と PG

脊髄痛覚反応に関与する PG については、南、伊藤のグループによって多くの報告がなされている^{1,2)}。脊髄中心管腔内投与した際に、PGE₂は痛覚過敏反応とアロディニアを誘発し³⁾、PGF_{2α}はアロディニアのみ⁴⁾、PGD₂は痛覚過敏反応のみを惹起する⁵⁾。PGE₂が痛覚過敏反応とアロディニアの両方に関与するのは、PGE₂の受容体にサブタイプ(EP1~4)が存在することによるものと考えられる⁶⁾。また、PGE₂のアロディニア誘発において、微量のフェムトグラム(fg)レベルのPGD₂が必要であり、一方でピコグラム(pg)レベルのPGD₂はPGE₂の

アロディニアを抑制する^{5,7)}。しかしながら、PGF_{2α}のアロディニア誘発に、PGD₂は関与しない⁵⁾。PGE₂とPGF_{2α}のアロディニア誘発においては、いずれもグルタミン酸が関与し、それぞれNMDA受容体のε1とε4が関わる^{8,9)}。その他にも、PGE₂とPGF_{2α}のアロディニアでは、カプサイシンやモルヒネに対する感受性の違いから、誘発機構が異なることが考えられる。

アロディニアに関わるPGのうち、特にPGF_{2α}を合成する酵素について私達が得た知見を次に紹介する。

2. PGF合成酵素の酵素学的な性質

生体内において、PGF₂には立体構造上9位と11位の水酸基がα位のPGF_{2α}と、11位の水酸基がβ位の9α,11βPGF₂の2つの立体異性体が存在する(図1)。これら2つのPGF₂を生合成する酵素がPGF合成酵素である。PGF合成酵素はNADPHを補酵素として、その還元反応によりPGH₂からPGF_{2α}と、PGD₂から9α,11βPGF₂への2つの反応を、別々の活性部位で同時に触媒する多機能酵素である^{10,11)}。PGF合成酵素には、少なくとも2つのアイソザイムPGFS (lung-type)とPGFS (liver-type)が存在する^{10,13)}。酵素学的に、これら2つのアイソザイムは、PGD₂に対する基質親和性と塩素イオンに対する感受性が異なる^{12,13)}。PGFSとPGFSのPGD₂に対するKm値は、それぞれ120μMと10μMで、PGFSの方がPGD₂に対する基質親和性が高い。また、いずれのアイソザイムも、その一次構造や酵素学的な特性などからアルド・ケト還元酵素群に属し、広い基質親和性を示す。PGF合成酵素は天然物質中ではPGを最も良い基質とするが、構造上ステロイド代謝のジヒドロテストステロンやジヒドロプロゲステロンを基質にする可能性もある。PGF合成酵素が生体内においてどのような触媒反応を行い、生理作用に関与するのかを明らかにするためには、酵素学的な解析に加えて、局所における発現細胞の同定や酵素連関を明らかにすることが必要と考えられる。

3. 脊髄におけるPGF合成酵素の局在

脊髄におけるPGF合成酵素アイソザイムの生理的役割を明らかにするために、PGFSとPGFSのそれぞれに特異的な抗体を用いて、免疫組織化学的に各アイソザイムの発現細胞を同定した^{14,15)}。

(1) PGFS (図2)

PGFSの脊髄における分布を調べると、灰白質全体に免疫陽性反応が観察されたが、特に後角付近の第Ⅰ層と前角部分の第Ⅱ層で強く発現していた。発現細胞の詳細を調べたところ、PGFSは神経細胞体と樹状突起に存在し、樹状突起により強く発現していた。神経細胞体と樹状突起のマーカーであるmicrotubule-associated protein(MAP)2との二重染色では、PGFSがほぼ全てのMAP2陽性細胞に共存することを確認した。神経要素以外には、血管内皮細胞にも存在した。いずれの陽性細胞においても、PGFSは細胞質に発現していた。最近得られた所見では、PGF₂の特異的な受容体FPも神経細胞体と樹状突起に存在しており、特に樹状突起で強い発現が観察され、PGFSとの共存が確認された。また、FPの脊髄における分布では、灰白質の後角第Ⅰ層に強く発現しており、これは、村谷らの報告した薬理学的な実験結果とも一致する¹⁶⁾。これらのことから、神経細胞体と樹状突起に発現するPGFSは、主としてPGF_{2α}の生合成に働き、産生されたPGF_{2α}がオートクライン反応でFPに結合することによって、情報受容に関与していると考えられる。

(2) PGFS (図3)

PGD₂に親和性の高い、もう一つのアイソザイムであるPGFSについても、同様の方法で局在を解析した。PGFSはPGFSで観察されたような神経要素には発現が認められず、特に第Ⅹ層の中心管周囲で、放射状に突起を伸展させる細胞に存在した。その発現細胞を同定するために、vimentinとの免疫二重染色を行ったところ、PGFSは上衣細胞とタニサイトに存在することが分かった。それ以外には、PGFSと同様に血管内皮細胞にも存在した。特に、第Ⅹ層では陽性細胞から伸びる突起の部位で強く発現しており、その陽性の突起が陽性の血管壁へに接している像も一部観察された。PGFSの細胞内局在は、PGFSと同様に細胞質であった。上衣細胞やタニサイトにおけるPGFSはFPとの共存を示さなかった。しかしながら、中心管腔を満たす脳脊髄液中にはPGFSの基質の一つであるPGD₂が非常に多く存在する。PGD₂は脳脊髄液中に分泌され、睡眠を誘発することが知られている。PGFSは、特にPGD₂に対する基質親和性の高い酵素で、中心管周囲においてPGD₂の代謝に積極的に働くのかもかもしれない。形態学上も、上衣細胞間の脳脊髄液の流入は容易で、上衣下層のタニサ

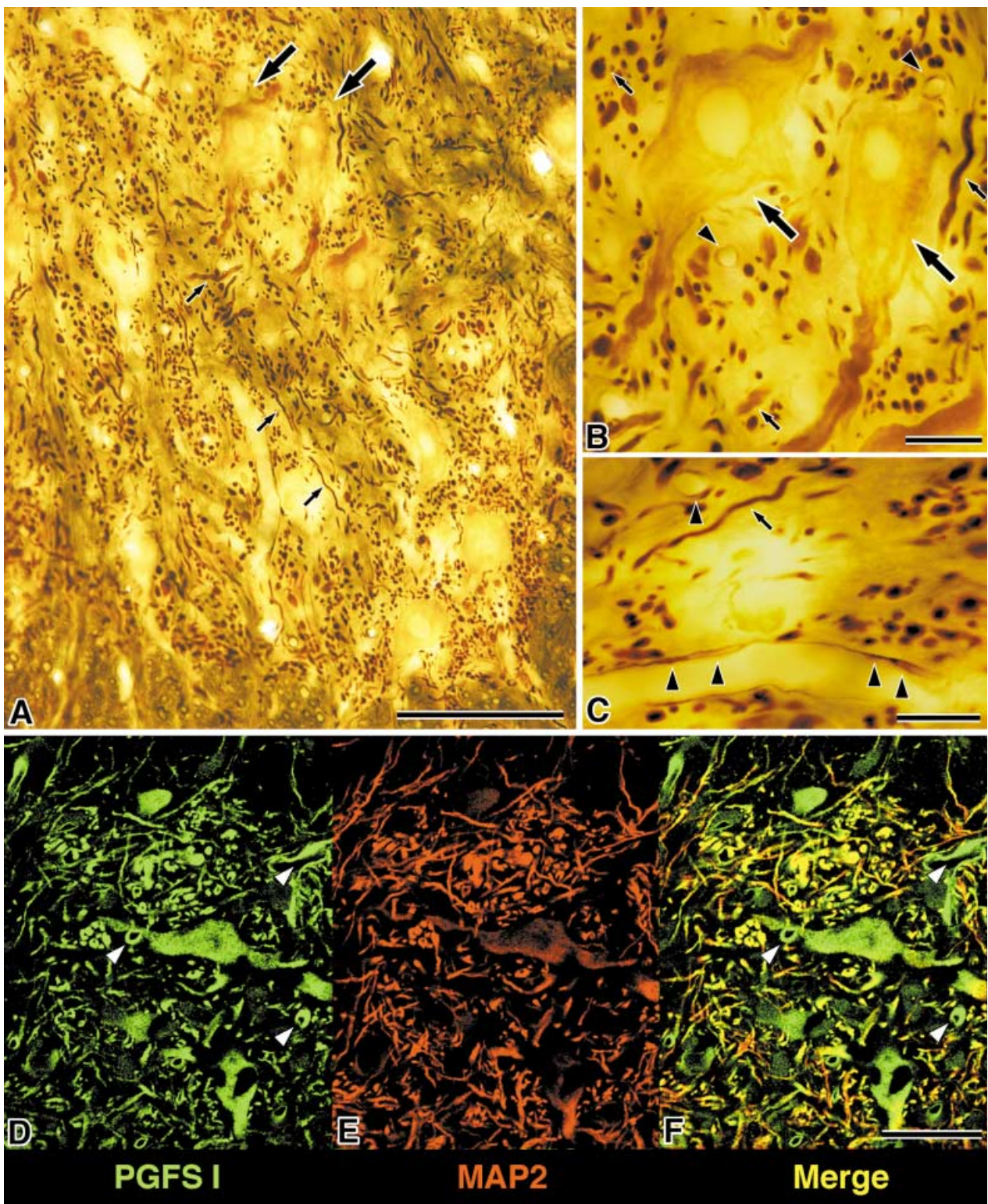


図2 脊髄におけるPGFSの免疫組織化学

PGFSの特異抗体を用いたDAB単染色像(A-C)と、MAP2との蛍光二重染色像(D-F)を示す。脊髄前角部分の弱拡大像(A)と強拡大像(B)で、PGFS陽性の神経細胞体(大矢印)と樹状突起(小矢印)が観察される。また、それ以外にもPGFS陽性の血管内皮細胞()が観察される。蛍光二重染色では、PGFSはMAP2陽性の神経細胞体と樹状突起に局在し(F黄色)、PGFSのみの陽性反応部位は血管内皮細胞(D、Fの)であることが確認できる。それぞれのスケールバーの長さは、A 100 μ m、B、C 20 μ m、D-F 50 μ mを示す。

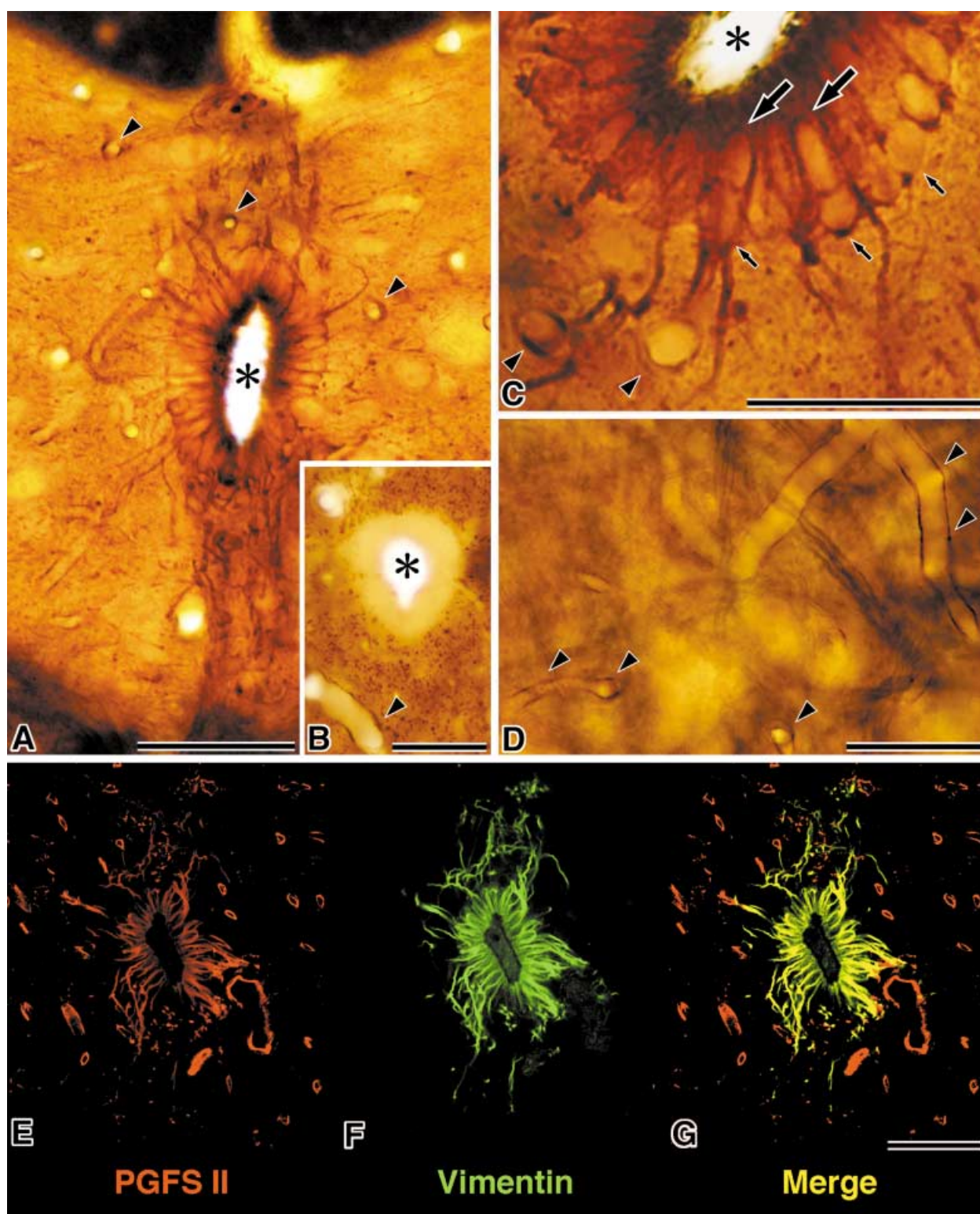


図3 脊髄におけるPGFSの免疫組織化学

PGFSの特異抗体を用いたDAB単染色像(A,C,D)と、vimentinとの蛍光二重染色像(E,G)を示す。脊髄中心管周囲第X層の弱拡大像でPGFS(A)とPGFS(B)の染色像を比較すると、両者の局在性は大きく異なり、PGFSは中心管(*)周囲の細胞体とそこから伸びる突起、血管壁()に強い陽性反応が観察される。一方、PGFSで観察されるような神経要素には陽性反応が見られない。中心管周囲の強拡大像(C)で、PGFS陽性の上皮細胞(大矢印)とタニサイト(小矢印)が観察される。また、PGFS陽性細胞から伸びる突起が、陽性の血管壁()に接している様子も観察される。それ以外に、大小の血管の内皮細胞にもPGFSの陽性反応が観察される(D)。蛍光二重染色では、PGFSがvimentin陽性の上皮細胞とタニサイトに局在することが確認される(G黄色)。PGFSのみの陽性反応部位は血管内皮細胞である。それぞれのスケールバーの長さは、A,B,E,G 100 μ m, C,D 50 μ mを示す。

イトの突起が血管壁に達することが知られており，酵素学的な性質と形態学的な特異性から，PGFS は中心管と血管を結ぶ液性成分の調節に関与することが考えられる。

おわりに

PGF_{2α} を合成する酵素である PGFS のアイソザイムの形態学的な解析から，脊髄における各アイソザイムの役割の違いが示唆された。さらに，FP の形態学的な観察結果をあわせて考察すると，神経要素に存在する PGFS によって生合成された PGF_{2α} が FP に結合し，アロディニアに関与すると思われる。また，PGFS 以外に脊髄痛覚誘発に関与する PG 合成酵素には，PGE 合成酵素 (PGES) や PGD 合成酵素 (PGDS) がある。現在のところ，前者には 3 つのアイソザイム，後者には 2 つのアイソザイムの存在が知られており，合成される PGE₂ と PGD₂ にはそれぞれ 4 つと 1 つの受容体が分かっている。今後，各々のアイソザイムや受容体についての形態学的，生理学的，生化学的な解析から，PG の脊髄痛覚誘発におけるメカニズムと生理的な役割が解明されることと思われる。さらに，脊髄以外の中枢神経系でも各アイソタイプの生理的な役割分担の解明が期待される。

文 献

- 1) Ito, S., Okuda-Ashitaka, E., Minami, T.: Central and peripheral roles of prostaglandins in pain and their interactions with novel neuropeptides nociceptin and nocistatin. *Neurosci. Res.*, 41 : 299 332 ,2001
- 2) 伊藤誠二：痛みの分子機構と Genetic Pharmacology . 蛋白質 核酸 酵素, 44 : 1349 1359 ,1999
- 3) Minami, T., Uda, R., Horiguchi, S., Ito, S., *et al.*: Allodynia evoked by intrathecal administration of prostaglandin E2 to conscious mice. *Pain*, 57 : 217 223 ,1994
- 4) Minami, T., Uda, R., Horiguchi, S., Ito, S., *et al.*: Allodynia evoked by intrathecal administration of prostaglandin F2 alpha to conscious mice. *Pain*, 50 : 223 229 ,1992
- 5) Minami, T., Okuda-Ashitaka, E., Mori, H., Ito, S., *et al.*: Prostaglandin D2 inhibits prostaglandin E2-induced allodynia in conscious mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 278 : 1146 1152 ,1996
- 6) Minami, T., Nishihara, I., Uda, R., Ito, S., *et al.*: Characterization of EP-receptor subtypes involved in allodynia and hyperalgesia induced by intrathecal administration of prostaglandin E2 to mice. *Br. J. Pharmacol.*, 112 : 735 740 ,1994
- 7) Eguchi, N., Minami, T., Shirafuji, N., Kanaoka, Y., *et al.*: Lack of tactile pain (allodynia) in lipocalin-type prostaglandin D synthase-deficient mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96 : 726 730 ,1999
- 8) Minami, T., Okuda-Ashitaka, E., Hori, Y., Sakuma, S., *et al.*: Involvement of primary afferent C-fibres in touch-evoked pain (allodynia) induced by prostaglandin E2. *Eur. J. Neurosci.*, 11 : 1849 1856 ,1999
- 9) Minami, T., Matsumura, S., Okuda-Ashitaka, E., Shimamoto, K., *et al.*: Characterization of the glutamatergic system for induction and maintenance of allodynia. *Brain Res.*, 895 : 178 185 ,2001
- 10) Watanabe, K., Yoshida, R., Shimizu, T., Hayaishi, O.: Enzymatic formation of prostaglandin F2 alpha from prostaglandin H2 and D2 .Purification and properties of prostaglandin F synthetase from bovine lung. *J. Biol. Chem.*, 260 : 7035 7041 ,1985
- 11) Watanabe, K., Iguchi, S., Iguchi, Y., Arai, Y., *et al.*: Stereospecific conversion of prostaglandin D2 to (5Z, 13E)-(15S)-9 alpha-11beta, 15-trihydroxyprosta-5, 13-dien-1-oic acid(9 alpha, 11 beta-prostaglandin F2) and of prostaglandin H2 to prostaglandin F2alpha by bovine lung prostaglandin F synthase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 83 : 1583 1587 ,1986
- 12) Chen, L.-Y., Watanabe, K., Hayaishi, O.: Purification and characterization of prostaglandin F synthase from bovine liver. *Arch. Biochem. Biophys.*, 296 : 17 26 , 1992
- 13) Suzuki, T., Fujii, M., Miyano, M., Chen, L.-Y., *et al.*: cDNA cloning, expression, and mutagenesis study of liver-type prostaglandin F synthase. *J. Biol. Chem.*, 274 : 241 248 ,1999
- 14) Suzuki-Yamamoto, T., Toida, K., Tsuruo, Y., Watanabe, K., *et al.*: Immunocytochemical localization of lung-type prostaglandin F synthase in the rat spinal cord. *Brain Res.*, 877 : 391 395 ,2000
- 15) Suzuki-Yamamoto, T., Toida, K., Watanabe, K., Ishimura, K.: Immunocytochemical localization of prostaglandin F synthase II in the rat spinal cord. *Brain Res.*, 969 :

27-35, 2003

- 16) Muratani, T., Nishizawa, M., Matsumura, S., Mabuchi, T.,
et al. : Functional characterization of prostaglandin
 F₂ alpha receptor in the spinal cord for tactile pain
 (allodynia) J. Neurochem., 86 : 374-382, 2003

Prostaglandins in spinal cord : enzymological and histological study of prostaglandin F synthase

Toshiko Suzuki-Yamamoto

Department of Anatomy and Cell Biology, Institute of Health Biosciences, The University of Tokushima Graduate School, Tokushima, Japan

SUMMARY

In the spinal cord, prostaglandins participate in the pain transmission including hyperalgesia and allodynia. Prostaglandin D₂ and E₂ induce hyperalgesia, while prostaglandin E₂ and F_{2α} induce allodynia. PGF_{2α} synthase (PGFS) produce two stereoisomers of PGF₂, PGF_{2α} and 9α, 11β-PGF₂ which are synthesized from PGH₂ and PGD₂, respectively, by the distinct reductions in the prostaglandin synthesis pathway. Because the two reduction are occurred in the different active sites, PGFS is a multifunctional enzyme. PGFS has at least two isozymes, namely, PGFS and with different Km values for PGD₂ (120 and 10μM, respectively) They belong to the aldo-keto reductase superfamily based on substrate specificity, molecular weight, and amino acid sequence. *In vivo*, PGFSs possibly reduce some steroids such as dihydrotestosterone and dihydroprogesterone by their enzymological characteristic. The morphological study of PGFS and in the rat spinal cord demonstrated their distinct localization. That is, PGFS existed in neuronal somata and dendrites, and PGFS existed in ependymal cells and tanycytes surrounding the central canal. Additionally, both PGFS and existed in endothelial cells of blood vessels. Furthermore, PGF_{2α} receptor, namely FP, was also present in neuronal somata and dendrites. Immunoreactivity for PGFS and FP was relatively intense in the dorsal horn of the spinal cord that is a connection site of pain transmission. PGFS in the ependymal cells and tanycytes is not co-localized with FP, and may mainly metabolize PGD₂ which is one of the sleep inducers and abundant in the cerebrospinal fluid. These findings suggest that PGFS and in the rat spinal cord has different biological actions such as neuronal active receptivity and fluid component control, via different cell groups.

Key words : prostaglandin, spinal cord, PGFS , PGFS , allodynia