

プロスタグランジンの心血管系疾患病態形成における役割

牛首 文隆*

はじめに

プロスタノイドは、プロスタグランジン (PG) とトロンボキサン (TX) より成る生理活性脂質で、その作用は各々の特異的受容体を介して発揮される。現在、PGD₂、PGE₂、PGF_{2α}、PGI₂、TXA₂の受容体としてDP、EP、FP、IP、TPが認知され、EPにはEP₁₋₄の4種類の亜型が存在する¹⁾。一方、これら多種の受容体は、心臓、血管、腎臓、血小板等の心血管系の臓器や細胞に広く発現している。また、心血管系における様々な病態に伴い、プロスタノイド産生が亢進する事から、それらの心血管系での作用が注目されてきた。しかし、各々の作用が生理的・病態生理的にどの程度重要な役割を果たすのかに関し、今だ、不明な点が多い。本稿では、各プロスタノイド受容体欠損マウスを用いた解析から明らかにしてきた、心血管系疾患の病態形成におけるプロスタノイドの役割について、我々の知見を紹介する。

心筋梗塞

心筋梗塞は、冠状動脈の閉塞に起因し、基本病態は心臓の虚血・再灌流障害とされる。近年、食事等の生活様式の欧米化に伴い、動脈硬化に起因する心筋梗塞症が増加し、治療法の確立が重要課題となっている。一方、心筋梗塞症の心臓でプロスタノイド産生が亢進する事から、その虚血・再灌流障害への関与が示唆されてきた²⁾。我々は、PGI₂が心臓の虚血・再灌流障害に保護的役割を果たすと報告した³⁾。最近、EP₃作動薬が様々な動物種で心保護作用を示すと報

告されている⁴⁾。そこで今回、PGE₂の虚血・再灌流障害における役割を解析した⁵⁾。

心臓でのEPサブタイプmRNAの発現解析から、EP₄mRNAが最も多く発現した(図-1a)。そこで、PGE₂-EP₄系の役割の解明に、まず、マウス冠動脈前下行枝を1時間閉塞後、24時間再灌流する心筋梗塞モデルで解析した結果、EP₄欠損マウスでは、野性型マウスに比し、梗塞サイズが有意に増大した(図-1b)。また、摘出灌流心臓による解析では、虚血・再灌流負荷による心機能障害の程度や心筋からの逸脱酵素量(図-1c)が、EP₄欠損マウスでは野性型マウスに比し、有意に増加した。従って、PGE₂がEP₄を介して虚血・再灌流障害から心臓を保護する事が明らかとなった。ついで、この心保護作用が、心筋細胞または非心筋性間質細胞のどちらに対する作用に起因するかを、培養細胞を用い検討した。EP₄作動薬AE1-329は、非心筋細胞で濃度依存的に細胞内cAMP濃度を著明に増加したが、心筋細胞での作用は弱く、PGE₂は間質細胞のEP₄を介して働くことが示唆された(図-1d)。また、EP₄作動薬ONO-4819の*in vivo*心筋梗塞モデルでの効果の検討により、心筋梗塞治療薬としての可能性を探った。ONO-4819の冠動脈閉塞の1時間前の投与は、心筋梗塞サイズを有意に減少させた。興味深い事に、ONO-4819は冠動脈閉塞50分後の投与でも、その閉塞前投与と同程度の心保護作用を示した(図-1e)。この結果、EP₄作動薬は、心筋梗塞治療薬として有望なことが示された。

従来、PGE₂の胃粘膜上皮の保護作用がよく知られており、実際、PGE₂類縁物質が胃潰瘍予防に使用されている。また最近、内因性PGE₂のEP₂

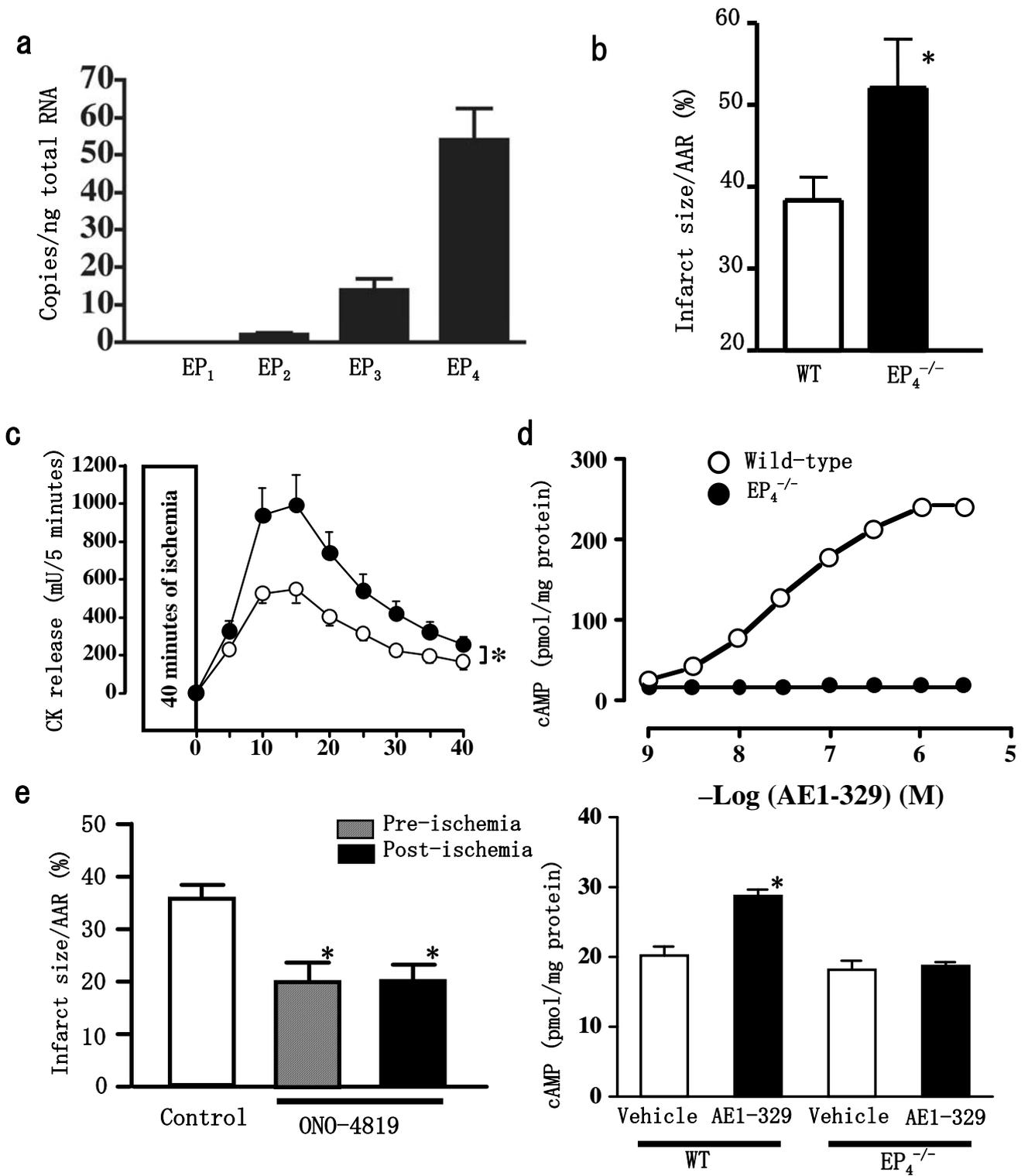


図-1 心筋梗塞と PGE₂

a: 心臓における PGE₂ 受容体サブタイプ mRNA の発現。競合的 RT-PCR 法により、各受容体 mRNA の発現を定量した。b: 冠動脈結紮モデルにおける心筋梗塞サイズ。同サイズは、結紮した冠動脈左前下行枝の灌流領域サイズに対する比率で示した。*p < 0.05 vs. WT mice。c: Langendorff 式灌流下の摘出心臓に虚血・再灌流負荷を加え、心筋からの逸脱酵素 creatine kinase (CK) を定量した。この手法は、液性因子や神経系の影響を除外し、内因性 PGE₂ の心臓に対する直接作用を観察できる。*p < 0.05 vs. WT mice。d: 培養非心筋細胞 (上段) と心筋細胞 (下段) の細胞内 cAMP 量に対する EP₄ 特異的作動薬である AE1-329 の作用。EP₄ の主要情報伝達経路は、adenylate cyclase 活性化を介した cAMP の上昇である。*p < 0.05 vs. vehicle。e: EP₄ 特異的作動薬 ONO-4819 の虚血・再灌流障害に対する心保護作用。0.3 mg/kg を、冠動脈結紮前 60 分 (pre-ischemia) または結紮後 50 分 (post-ischemia) に皮下投与した。*p < 0.05 vs. control。

を介した脳虚血障害時の神経保護作用も報告されている⁶⁾。今回の結果は、心臓の虚血・再灌流障害に際し内因性PGE₂がEP₄を介して心保護に働く事を示すとともに、EP₄作動薬の心筋梗塞治療薬としての可能性を提示するものである。

心肥大

心肥大は、生体の要求に応じた代償反応として重要な生理機構であるが、最終的に心機能の破綻に繋がる現象である。現在、高齢化の進展に伴い高血圧症が増加し、随伴する圧負荷心肥大の管理が重要課題となっている。心肥大に至る分子機構やそれを促進する因子の解明が進んでいる一方、抑制因子の情報は極めて少ない。我々は、受容体欠損マウスを用い、圧負荷心肥大の病態形成におけるプロスタノイドの役割を解析した⁷⁾。

プロスタノイド受容体 mRNA の心臓での発現解析では、EP₂、EP₃、EP₄、FP、IP および TP の発現が確認された。これら受容体を各々欠損するマウスに対し、大動脈を縮窄して心臓に圧負荷を加えた。その結果、野性型マウスは、術後に明らかな心肥大を示した。また、上記6種の受容体各欠損マウスでは、唯一 IP 欠損マウスのみが、野性型マウスに比し、有意な心肥大亢進を示し、他の受容体欠損マウスの心肥大程度は野性型マウスと差がなかった。この結果、PGI₂-IP 系が圧負荷心肥大に対し抑制的に働く事が示唆された。ついで、組織学的に解析すると、心筋細胞自体の肥大が IP 欠損マウスで有意に亢進していた。一方、心肥大は間質線維化を伴うことが多いことから、これを細胞間質と血管周囲の線維化に分けて解析した。その結果、両者共に IP 欠損マウスにおいて有意に亢進しており、PGI₂-IP 系は心筋肥大と心線維化の両者を抑制する事が判明した。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 atrial natriuretic peptide (ANP) の発現も、野性型マウスで上昇が見られない早期に、IP 欠損マウスで有意に亢進した。この結果は、PGI₂-IP 系が心肥大関連遺伝子の

発現制御にも係わる事を示す。一方、培養細胞を用いた解析では、IP 作動薬 cicaprost が血小板由来成長因子による非心筋細胞の増殖を有意に抑制した。しかし、cicaprost は主要な心筋肥大因子の cardiotropin 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、心筋細胞の同増加作用は軽微であった。従って、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は強い血管拡張作用を示す降圧物質の代表とされてきた。実際、PGI₂製剤は閉塞性動脈硬化症や原発性肺高血圧症の有効な治療薬として用いられている。一方、今回の結果は、PGI₂製剤が降圧作用以外に、直接心臓に作用して抗心肥大作用を生じ、圧負荷心肥大治療薬としての可能性をも示唆している。

炎症性頻拍

感染症等の全身性炎症時、発熱と頻脈が認められる。実際、発熱、頻脈と頻呼吸は全身性炎症の存在を示す三大主徴と規定されている。また、発熱反応とプロスタノイドとの密接な関連は良く認知されており、我々はPGE₂がEP₃を介して発熱の最終メディエーターとして働くと報告している⁸⁾。一方、炎症性頻脈に関しては、従来、交感神経系の活動亢進に起因するとされてきた。しかし、根拠は弱く、また発生機構は不明である。そこで我々は、プロスタノイド受容体欠損マウスを用い、この問題の解明に取り組んだ⁹⁾。

マウス摘出右心房の拍動数に対する作用を解析した結果、PGF_{2α}とTP作動薬であるI-BOPが各々FPとTPを介して拍動数を著明に上昇した(図-2a)。また、右心房各部位の心電図解析から、これらプロスタノイドの作用部位は洞傍結節を含む限局部に存在した。一方、野性型マウス摘出右心房をIL-1β、TNF-α、IFN-γの混合の炎症性サイトカインで刺激すると、二相性に拍動数が上昇した。この誘発頻拍の初期相はTP欠損

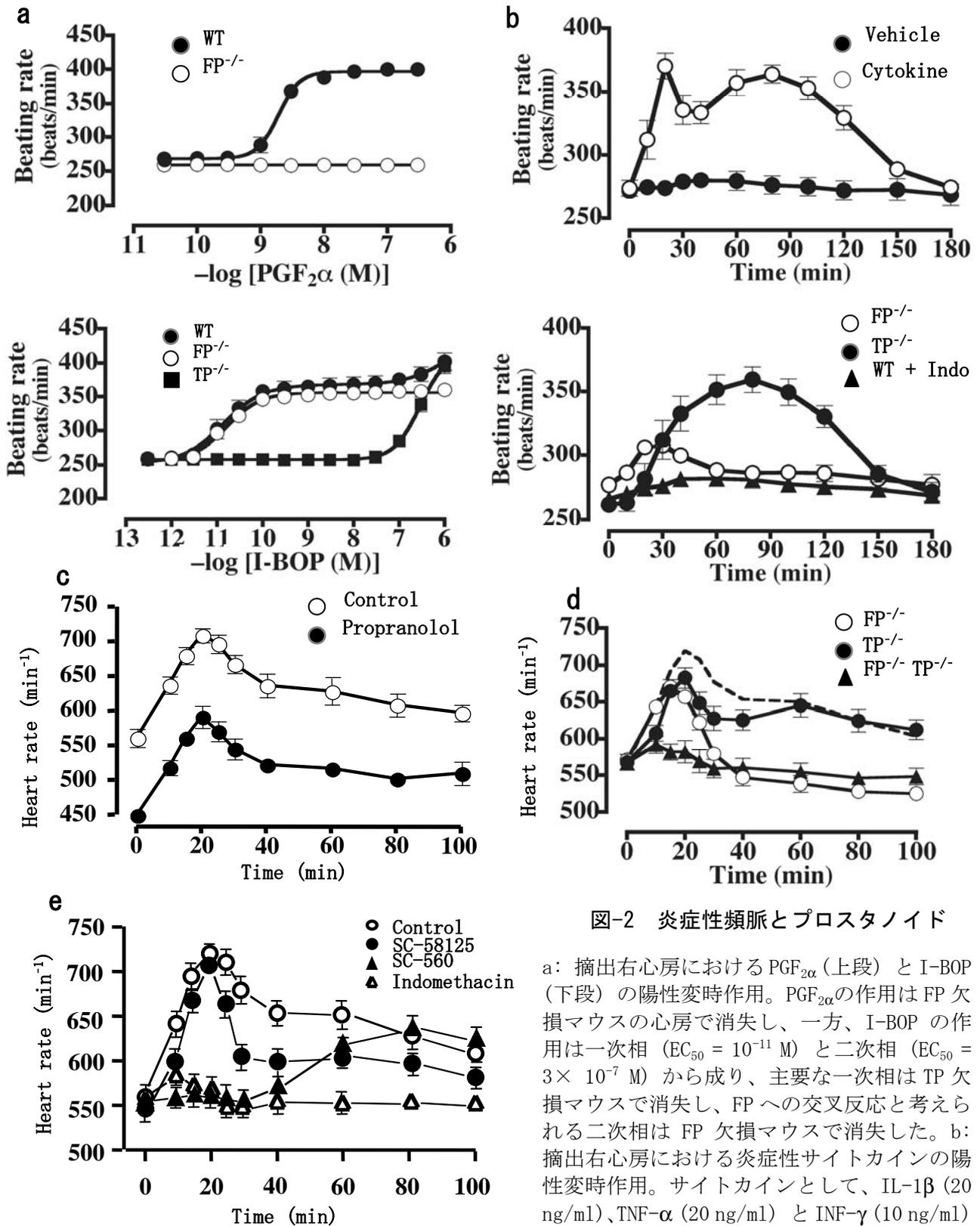


図-2 炎症性頻脈とプロスタノイド

a: 摘出右心房におけるPGF₂α (上段) と I-BOP (下段) の陽性変時作用。PGF₂αの作用はFP欠損マウスの心房で消失し、一方、I-BOPの作用は一次相 (EC₅₀ = 10⁻¹¹ M) と二次相 (EC₅₀ = 3 × 10⁻⁷ M) から成り、主要な一次相はTP欠損マウスで消失し、FPへの交叉反応と考えられる二次相はFP欠損マウスで消失した。b: 摘出右心房における炎症性サイトカインの陽性変時作用。サイトカインとして、IL-1β (20 ng/ml)、TNF-α (20 ng/ml) と INF-γ (10 ng/ml) を混合して用いた。野生型マウスにおける2相性陽性変時作用 (上段)。TP欠損マウスと

FP欠損マウスの頻脈の修飾と野生型マウス頻脈に及ぼす indomethacin 前処理 (+ Indo) の効果 (下段)。c: 野生型マウスのLPS誘発頻脈と propranolol の前処理の効果。Propranolol (10 mg/kg, i.p.) は、LPS (10 mg/kg, i.p.) の30分前に投与した。d: FP、TP、または両者を欠損するマウスのLPS誘発頻脈。点線は野生型マウスの頻脈パターンを示す。e: LPS誘発頻脈に対するCOX阻害薬の効果。COX-1選択的阻害薬としてSC-560、COX-2選択的阻害薬としてSC-58125、両者の阻害薬としてindomethacinを用いた。

マウス心房で消失し、二次相はFP欠損マウス心房で消失した(図-2b)。また、この二相性頻拍はインドメタシン前処理により完全に消失した。これらの結果、炎症性サイトカインは洞傍結節周辺でTXA₂とPGF_{2α}の産生を刺激し、ついで各プロスタノイドがTPとFPに働いて二相性の拍動数増加を来すと考えられた。さらに、この機構の全身性炎症時の頻脈への関与を証明するため、リポポリサッカライド(LPS, i. p.)投与の影響を解析した。野性型マウスでは、LPSは二相性の頻脈を示した。また、プロプラノロールでβ-受容体を遮断すると、頻脈のパターン自体は変化せず全体的に脈拍数が低下した(図-2c)。さらに、この炎症性頻脈の初期相はTP欠損マウスで減弱し、持続相はFP欠損マウスで消失した。また、TPとFPの両者の欠損マウスで、野性型マウスで見た頻脈は完全に消失した(図-2d)。一方、プロスタノイド産生の律速酵素には、常在型酵素のシクロオキシゲナーゼ(COX)-1と誘導型のCOX-2が存在するが、炎症性頻脈におけるTXA₂とPGF_{2α}の産生にどちらの型のCOXが関与するかを選択的阻害薬を用いて検討した結果、COX-1が初期相に、またCOX-2が持続相に関与する事が判明した(図-2e)。

頻脈は全身性炎症の主要徴候であり、交感神経の関与が想定されてきたが、今回の結果から新規炎症性頻脈発生機構を提唱する。即ち、交感神経系の関与は少なく、全身性炎症時に産生される炎症性サイトカインが洞傍結節周辺でTXA₂とPGF_{2α}産生を刺激し、これらが各々の受容体を活性化して頻脈を惹起する機構である。さらに、この炎症性頻脈に果たす役割は、既報の全身性炎症時の発熱反応⁸⁾と視床下部-下垂体-副腎軸活性化¹⁰⁾での役割と併せ、プロスタノイドが基本的生体防御機構の一翼を担う事を示している。

腎血管性高血圧

Renin-angiotensin-aldosterone (RAA)系は、血圧、循環血液量の調節に中心的役割を果たす。レニンは、RAA系活性化の律速酵素で、腎臓の

傍系球体装置の顆粒細胞から分泌される。レニン分泌は、基本的に交感神経に支配されるが、腎灌流圧の低下や体液電解質の減少により亢進する¹¹⁾。したがって、動脈硬化性病変などにより腎動脈が狭窄し、腎血流が低下するとRAA系が活性化され、腎血管性高血圧症が発症する。従来、COX阻害薬の腎血管性高血圧症に対する抑制効果、PGE₂、PGI₂の培養顆粒細胞からのレニン分泌刺激作用等が報告され、プロスタノイドの腎血管性高血圧症の病態形成への関与が想定されてきた。そこで、どのプロスタノイドが病態形成にどの程度関与するのかを受容体欠損マウスを用いて解析した¹²⁾。

マウスの片側腎動脈を狭窄し(2K1Cモデル)、血圧変動を経時的に観察した。野性型マウスの血圧は、術後著明に上昇し、1週間でピークとなった。しかし、IP欠損マウスでは、野性型マウスに比し、血圧上昇の程度は著明に減弱した。一方、EP₁₋₄の各々の欠損マウスで、血圧上昇程度は野性型マウスと同等であった。この結果、PGI₂-IP系が腎血管性高血圧の発症に重要な役割を果たす事、またPGE₂の関与は少ない事が判明した。ついで、2K1CモデルでRAA系活性化を検討した。野性型マウスでは、腎動脈狭窄により血漿レニン活性(PRA)と血漿アルドステロン濃度(PAC)は著明に増加し、RAA系活性化が高血圧の原因と考えられた。しかし、IP欠損マウスでは、野性型マウスに比し、PRAとPACの増加は有意に減弱し、腎動脈狭窄による刺激で産生されたPGI₂がレニン分泌を亢進し高血圧を生じる事が判明した。実際、培養顆粒細胞による解析で、PGI₂作動薬cicaprostは濃度依存的にレニンmRNA発現を増加したが、PGE₂は増加しなかった。また、腎動脈狭窄により腎臓COX-2mRNAが有意に増加し、一方、COX-2選択的阻害薬がPRAの上昇を有意に抑制した事から、腎血管性高血圧の病態形成に関わるPGI₂はCOX-2由来と示唆された。

従来、PGI₂は血管弛緩性因子の代表とされ、血管に直接作用して強力な降圧作用を示す。さらに、PGI₂はRAA系を活性化して昇圧作用を示

し、腎血管性高血圧の病態形成に中心的役割を果たすと言える。PGI₂は様々な状況に応じて産生され、血圧の維持や高血圧症の病態形成に重要な役割を果たすと考えべきである。

全身性炎症下での血管緊張維持

全身性炎症時には、血管収縮物質に対する血管反応性が低下し、緊急時には急性循環不全 (septic shock) を来す。この血管反応性低下の原因は、全身性炎症の基本病態である高サイトカイン血症に起因した血管平滑筋での inducible NO synthase (iNOS) 発現誘導による多量の NO 産生である。また、この原因の一部に、PGE₂ や PGI₂ 等の血管弛緩性プロスタノイドの関与がある。我々は、プロスタノイドのなかで強い血管収縮作用を持つ TXA₂ に着目し、血管反応性調節における役割を解析した¹³⁾。

野性型マウス大動脈から調整した培養血管平滑筋細胞 (VSMCs) で、3 種炎症性サイトカインより iNOS の強い発現誘導と随伴する NO 産生増加が見られた。一方、TP 欠損マウスの VSMCs で、野性型マウスに比しサイトカイン刺激に伴う iNOS 発現と NO 産生が有意に増加した。これと一致して、TP 作動薬 U-46619 は、この iNOS 発現と NO 産生を濃度依存的に抑制した。これらの結果は、TXA₂ がサイトカインの iNOS 発現誘導の抑制により、全身性炎症時の血管反応性調節に関与する可能性を示す。そこで、摘出大動脈をサイトカインと共に培養した後、NO 産生と $\alpha 1$ 作動薬フェニレフリン収縮を解析した。TP 欠損マウス大動脈で、野性型マウス大動脈に比し、NO 産生が有意に増加したので、VSMCs 同様、内因性 TXA₂ が iNOS 発現を抑制したと判断した。これに一致して、野性型マウス大動脈で見られたフェニレフリン収縮の低下は、TP 欠損マウス大動脈で著明に増強した。また予想どおり、これら大動脈の反応性低下は NOS 阻害薬により完全に改善された。さらに、この現象が *in vivo* でも同じか、LPS による全身性炎症モデルで解析した。このモデルで、野性型マウス大動脈のフェニレフリン収縮の低下はなく、著明に血圧

は低下したので、末梢抵抗血管での iNOS 発現に起因する血管反応性低下と判断した。実際、血漿 NO 濃度は LPS により著明に上昇し、U-46619 はこの上昇を著明に抑制した。従って、全身性炎症時、特に、TXA₂ 産生が増加する播種性血管内凝固症候群等の場合、TXA₂ は血管直接作用に加え、間接的な iNOS 発現の抑制により血管緊張維持に重要な役割を果たすといえる。

TXA₂-TP 系の主要情報伝達経路は、Gq を介している。Gq 刺激物質のエンドセリンやアンジオテンシンのラット VSMCs における iNOS 発現抑制が報告されている。今回の結果は、これら血管作働性物質が iNOS 発現調節に協同して働き、血管緊張維持に重要な役割を果たす事を示唆している。

血小板機能調節

血小板は、血液凝固系と共同し、またそれ自身が血栓形成に関与する、生理的止血機構に必須な細胞である。一方、血小板の活性化に伴い、心血管系で様々な作用を示す PDGF 等の成長因子、TXA₂ やリゾリン脂質等のリピッドメディエーターが放出される。従って、血小板は、血栓・塞栓症に加え、動脈硬化症や血管リモデリングの発症・進展に重要な病態生理的役割を果たす細胞とされている。従来、TXA₂ は強く血小板を活性化し、一方、PGI₂ は血小板活性化を抑制する事から、この両者のバランスが血栓形成や動脈硬化の要因として重要視されてきた。実際、脳血栓や心筋梗塞の再発予防に、血小板機能を抑制するため、このバランスを考慮した低用量アスピリンが汎用されている。

TXA₂ と PGI₂ の中心的役割に加えて、PGE₂ の血小板機能調節作用を示す報告がある。また、ヒト血小板の PGE₂ 受容体 mRNA 発現が解析され、EP₂、EP₃、EP₄ の同発現が報告されている。そこで我々は、EP₃ を介した血小板機能調節とその生理的・病態生理的役割を EP₃ 欠損マウスを用いて解析した¹⁴⁾。

PGE₂ は、単独では血小板を凝集しない。そこで、TP 作動薬 U-46619 凝集 (凝集率約 20% に調

節) に対する PGE₂ の作用を、野性型と EP₃ 欠損マウス血小板で比較した。この条件下で、PGE₂ は濃度依存的に U-46619 凝集を促進したが、この作用は EP₃ 欠損マウス血小板で消失した。また、EP₃ 特異的作動薬 AE-248 は、U-46619 凝集を濃度依存的に亢進し、亢進は EP₃ 欠損マウス血小板で消失した。PGE₂ による血小板凝集促進作用は EP₃ を介しているといえる。一方、この凝集促進に繋がる EP₃ の情報伝達経路を解析した結果、血小板 cAMP 濃度の低下と軽度 Ca²⁺ 濃度の上昇が見られ、Gi の活性化が示唆された。ついで、PGE₂ の EP₃ を介する作用が *in vivo* での程度発現するか、まず、止血機構への影響を解析した。EP₃ 欠損マウスで、出血時間は、野生型マウスに比し、著明に延長した。次に、アラキドン酸投与による肺などを含む全身性血栓形成モデルで、EP₃ 欠損マウスは、野生型マウスに比し、顕著に致死率を低下し肺血栓形成を軽減した。従って、PGE₂ は EP₃ を介し生理的止血機構や病態生理的血栓形成に重要な役割を果たすといえる。

我々は、PGE₂ の EP₂ や EP₄ を介した血小板凝集抑制作用の存在を確認している。しかし、血小板の EP₂、EP₄ 発現量は EP₃ に比し少ないので、低濃度 PGE₂ の作用として EP₃ を介した血小板凝集刺激作用が主に見られる。一方、高濃度 PGE₂ は、EP₂ や EP₄ に加え IP に作用し、凝集抑制作用を示すので、生体での PGE₂ の血小板作用は複雑になる。今回の結果は EP₃ 拮抗薬が抗血小板薬たりうる可能性を示す。

おわりに

従来、プロスタノイドは炎症性メディエーターとして知られていた。しかし、その受容体の各々の欠損マウスが作出され、解析が進むにつれ、プロスタノイドの新たな病態生理的役割が明らかとなりつつある。本稿で示したように、心血管系の疾患や病態の場合も、心保護、心肥大抑制、炎症性頻脈を含む急性期反応の制御、レニン分泌を介した血圧制御、血管や血小板の機能調節など、プロスタノイドの新規役割が判

明してきた。一方、近年汎用されている COX-2 阻害薬の一部は、心血管死増加の危険性が指摘されている¹⁵⁾。この結果は、本稿のプロスタノイドの心血管系疾患病態形成における多様な役割を併せ考えると、非選択的にプロスタノイド産生を抑制する COX 阻害薬の限界を示すのみならず、個々のプロスタノイド受容体を標的とした新薬開発の重要性を示唆している。

喫煙科学研究財団の御支援に深謝します。

文献

- 1) Narumiya S, Sugimoto Y, Ushikubi F. Prostanoid receptors: structures, properties and functions. *Physiol Rev* 1999; 79: 1193-226.
- 2) Shinmura K, Tang XL, Wang Y et al. Cyclooxygenase-2 mediates the cardioprotective effects of the late phase of ischemic preconditioning in conscious rabbits. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 10197-202.
- 3) Xiao C-Y, Hara A, Yuhki K et al. Roles of prostaglandin I(2) and thromboxane A(2) in cardiac ischemia-reperfusion injury; a study using mice lacking their respective receptors. *Circulation* 2001; 104: 2210-5.
- 4) Hohlfeld T, Meyer-Kirchrath J, Vogel YC, Schror K. Reduction of infarct size by selective stimulation of prostaglandin EP3 receptors in the reperfused ischemic pig heart. *J Mol Cell Cardiol* 2000; 32: 285-96.
- 5) Xiao C-Y, Yuhki K, Hara A et al. Prostaglandin E2 protects the heart from ischemia-reperfusion injury via its receptor subtype EP4. *Circulation* 2004; 109: 2462-8.
- 6) McCullough L, Wu L, Haughey N et al. Neuroprotective function of the PGE2 EP2 receptor in cerebral ischemia. *J Neurosci* 2004; 24: 257-68.
- 7) Hara A, Yuhki K, Fujino T et al. Augmented cardiac hypertrophy in response to pressure overload in mice lacking the prostaglandin I2 receptor. *Circulation* 2005; 112: 84-92.
- 8) Ushikubi F, Segi E, Sugimoto Y et al. Impaired febrile response in mice lacking the prostaglandin E receptor subtype EP3. *Nature* 1998; 395: 281-4.
- 9) Takayama K, Yuhki K, Ono K et al. Thromboxane A2 and prostaglandin F2 α mediate inflammatory tachycardia. *Nat Med* 2005; 11: 562-6.

- 10) Matsuoka Y, Furuyashiki T, Bito H et al. Impaired adrenocorticotrophic hormone response to bacterial endotoxin in mice deficient in prostaglandin E receptor EP1 and EP3 subtypes. Proc Natl Acad Sci USA 2003; 100: 4132-7.
- 11) Hackenthal E, Paul M, Ganten D, Taugner R. Morphology, physiology, and molecular biology of renin secretion. Physiol Rev 1990; 70: 1067-116.
- 12) Fujino T, Nakagawa N, Yuhki K et al. Decreased susceptibility to renovascular hypertension in mice lacking the prostaglandin I2 receptor IP. J Clin Invest 2004; 114: 805-12.
- 13) Yamada T, Fujino T, Yuhki K et al. Thromboxane A2 regulates vascular tone *via* its inhibitory effect on the expression of inducible nitric oxide synthase. Circulation 2003; 108: 2381-6.
- 14) Ma H, Hara A, Xiao C-Y et al. Increased bleeding tendency and decreased susceptibility to thromboembolism in mice lacking the prostaglandin E receptor subtype EP(3). Circulation 2001; 104: 1176-80.
- 15) Couzin J. Drug safety. Withdrawal of Vioxx casts a shadow over COX-2 inhibitors. Science 2004; 306: 384-5.