

## Protease-Activated Receptors (PARs) をターゲットとしたアゴニスト/ アンタゴニストの開発と消化器系疾患に対する治療応用の可能性

関口 富美子

### Development of Agonists/Antagonists for Protease-Activated Receptors (PARs) and the Possible Therapeutic Application to Gastrointestinal Diseases

Fumiko SEKIGUCHI

*Division of Physiology and Pathophysiology, School of Pharmaceutical Sciences, Kinki University,  
3-4-1 Kowakae, Higashi-Osaka 577-8502, Japan*

(Received March 2, 2005)

Protease-activated receptors (PARs), a family of G-protein-coupled seven-transmembrane-domain receptors, are activated by proteolytic unmasking of the *N*-terminal cryptic tethered ligand by certain serine proteases. Among four PAR family members cloned to date, PAR-1, PAR-2, and PAR-4 can also be activated through a non-enzymatic mechanism, which is achieved by direct binding of exogenously applied synthetic peptides based on the tethered ligand sequence, known as PARs-activating peptides, to the body of the receptor. Various peptide mimetics have been synthesized as agonists for PARs with improved potency, selectivity, and stability. Some peptide mimetics and/or nonpeptide compounds have also been developed as antagonists for PAR-1 and PAR-4. PARs are widely distributed in the mammalian body, especially throughout the alimentary systems, and play various roles in physiological/pathophysiological conditions, i.e., modulation of salivary, gastric, or pancreatic glandular exocrine secretion, gastrointestinal smooth muscle motility, gastric mucosal cytoprotection, suppression/facilitation of visceral pain and inflammation, etc. Thus PARs are now considered novel therapeutic targets, and development of selective agonists and/or antagonists for PARs might provide a novel strategy for the treatment of various diseases that are resistant to current therapeutics.

**Key words**—protease (proteinase)-activated receptor (PAR); protease; gastrointestinal tract; structure-activity relationship

#### 1. はじめに

Protease-activated receptors (PARs) は G タンパク共役 7 回膜貫通型受容体のスーパーファミリーに属しており、これまでに PAR-1 から PAR-4 の 4 つがクローニングされている。<sup>1-5)</sup> PARs はトロンビンやトリプシンなど特定のセリンプロテアーゼによって酵素的に活性化されるほか、PAR-1, PAR-2 及び PAR-4 はそれぞれの tethered ligand の配列に基づいた 5-6 個のアミノ酸からなるペプチドによっても活性化される (Fig. 1 and Table 1).<sup>6-10)</sup> PARs は生体内、特に消化器系に広く分布しており、種々の生理学的・病態生理学的役割を担ってい

ることから、<sup>6,7,9,11)</sup> 新しい治療ターゲット分子になり得ると考えられ、PARs に対する選択的なアゴニストやアンタゴニストの開発は、臨床応用への可能性を秘めている。本総説では、これまでに報告されている PARs のアゴニスト及びアンタゴニストを紹介したのち、消化器系における PARs の生理学的・病態生理学的役割、さらに PARs のアゴニストやアンタゴニストにより治療可能と考えられる疾病・病態についても述べる。消化器系以外における PARs の機能や働きについては、他の総説で詳細に述べられているため、そちらを参照していただきたい。<sup>6-9,11-13)</sup>

#### 2. 内因性の PARs 活性化プロテアーゼ

PAR-1, PAR-3 及び PAR-4 はトロンビン受容体であるが、血小板におけるこれらの発現は、動物種で大きく異なっている (Table 1).<sup>1,3-5,8)</sup> 一方、PAR-2 はトロンビンでは活性化されず、トリプシ

近畿大学薬学部生体機能病因解明学研究室 (〒577-8502 東大阪市小若江 3-4-1)

e-mail: fumiko@phar.kindai.ac.jp

本総説は、平成 16 年度日本薬学会近畿支部奨励賞の受賞を記念して記述したものである。

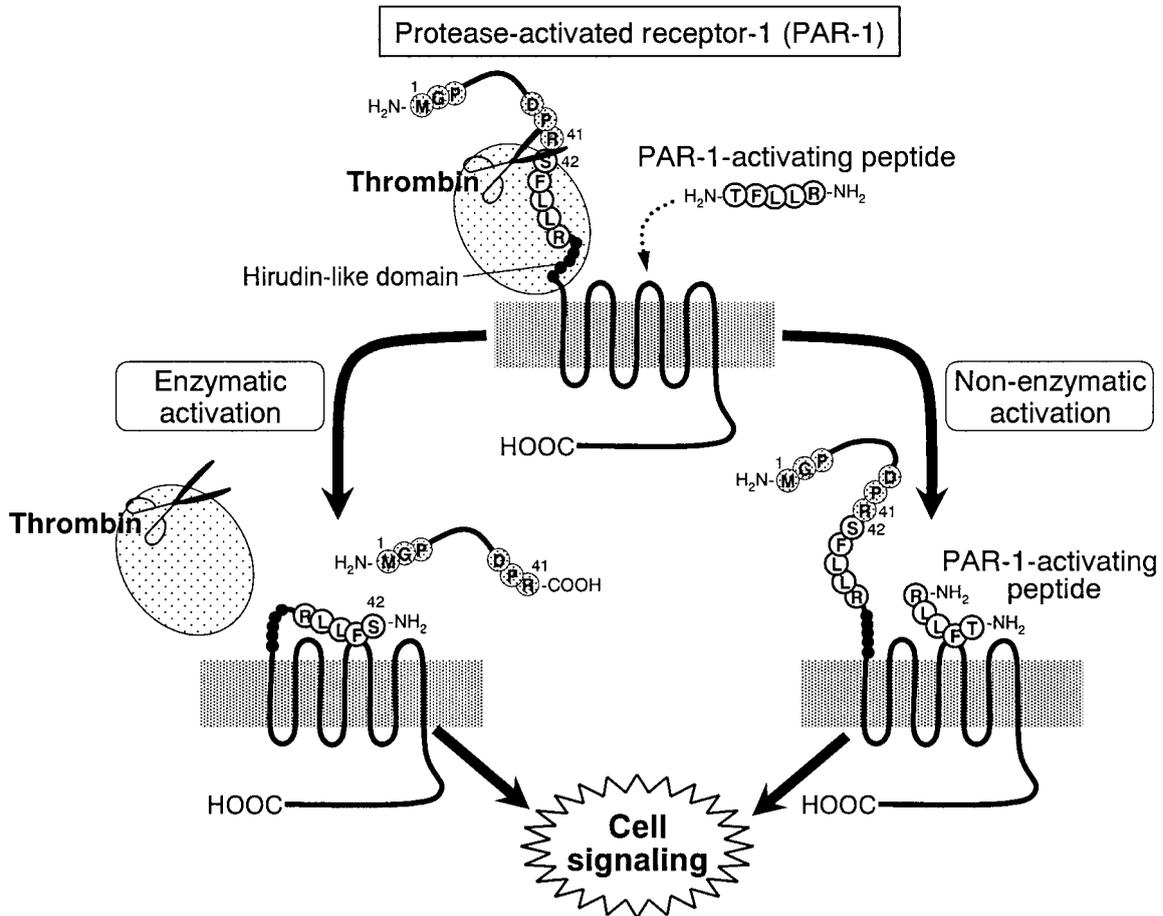


Fig. 1. Activation Mechanisms for Human Protease-Activated Receptor (PAR)-1

PAR-1 is activated by thrombin (enzymatic activation) and by the synthetic PAR-1-activating peptide based on the tethered ligand sequence of the receptor (non-enzymatic activation). Thrombin binds to the hirudin-like domain of PAR-1 and cleaves the N-terminus of PAR-1 at Arg<sup>41</sup>/Ser<sup>42</sup>, exposing the tethered ligand (SFLLR).

ン、トリプターゼ、血液凝固第 VIIa, Xa 因子、活性化好中球由来のプロテアーゼ 3 や膜結合型セリンプロテアーゼ 1、哺乳類の精子に存在するアクロシンなどにより活性化される (Table 1).<sup>2,8,10,14-17</sup> トリプシンは PAR-2 だけでなく PAR-1 及び PAR-4 も活性化するが、PAR-1 活性化には高濃度を要する。<sup>4,5,8</sup>

### 3. 外来性の PARs 活性化プロテアーゼ

ダニのアレルゲン Der p3, Der p9 及び Der p1 や,<sup>18,19</sup> ゴキブリ抽出液に含まれるセリンプロテアーゼは、気道上皮の PAR-2 を活性化し、炎症促進性サイトカイン遊離を引き起こす (Table 1).<sup>18,19</sup> また、成人の歯肉炎起因菌、*Porphyromonas gingivalis* から産生される gingipains-R は、ヒト血小板の PAR-1 と PAR-4、口腔上皮細胞の PAR-1 と PAR-2 を活性化する (Table 1).<sup>20</sup> これらの結果は、PARs が感染症の初期段階に何らかの役割を演じて

いる可能性を示唆している。

### 4. PARs 活性化ペプチド

PAR-3 以外の PARs は、それぞれの tethered ligand のアミノ酸配列に基づいて合成された 5-6 個のアミノ酸からなる PARs 活性化ペプチドを外来性に与えることによっても活性化される (Fig. 1).<sup>6,8,9</sup> 一般に、PARs 活性化ペプチドの C 末をアミド化すると、高活性で代謝抵抗性のペプチドが得られる (例: SFLLR-NH<sub>2</sub> vs. SFLLR-OH).<sup>21,22</sup>

ヒト PAR-1 由来ペプチドの SFLLR-NH<sub>2</sub> は、マウス/ラット PAR-1 由来ペプチドの SFLLR-NH<sub>2</sub> に比べ、ヒト、マウス、ラットいずれの PAR-1 に対しても高い活性を示す。<sup>23</sup> しかし、SFLLR-NH<sub>2</sub> は高濃度で PAR-2 活性化作用も示し、PAR-1 選択性は低い。<sup>21,23</sup> 一方、このペプチドのセリン残基をスレオニンに置き換えた TFLLR-NH<sub>2</sub> は高い PAR-1 選択性を有することから PAR-1 活性化ペプ

Table 1. Tethered Ligand Sequences and Activating or Inactivating Proteases for PARs

	PAR-1	PAR-2	PAR-3	PAR-4
Activating cleavage site	Arg <sup>41</sup> /Ser <sup>42</sup>	Arg <sup>36</sup> /Ser <sup>37</sup>	Lys <sup>38</sup> /Thr <sup>39</sup>	Arg <sup>47</sup> /Gly <sup>48</sup>
Tethered ligand sequences	SFLLR (human) SFLLR (mouse/rat)	SLIGKV (human) SLIGRL (mouse/rat)	TFRGAP (human) SFNGGP (mouse)	GYPGQV (human) GYPGKF (mouse)
Endogenous activating proteases	Thrombin Trypsin Factor Xa	Trypsin Trypsin Factor VIIa Factor Xa Proteinase 3 Trypsin IV Membrane-type serine protease 1 Acrosin	Thrombin	Thrombin Trypsin Factor VIIa Factor Xa Cathepsin G Plasmin Trypsin IV
Exogenous activating proteases	Gingipains-R	Mite allergen Der p3 Mite allergen Der p9 Mite allergen Der p1 Gingipains-R Cockroach protease		Gingipains-R
Major distribution	Platelet (human/guinea pig), kidney, brain, gingiva, esophageal muscularis mucosa, stomach, small intestine, colon	Kidney, C-fiber, skin, gingiva, salivary glands, stomach, small intestine, colon, pancreas	Platelet (mouse/rat/rabbit)	Platelet (human/guinea pig/mouse/rat), esophageal muscularis mucosa, colon

チドとして広く使用されている。<sup>21,23)</sup>

PAR-2 活性化ペプチドの SLIGKV (ヒト型), SLIGRL (マウス/ラット型) はいずれも PAR-2 だけを選択的に活性化するが, 後者はヒト及びマウス/ラットいずれの PAR-2 に対してもより高い活性を示す。<sup>2,6,12,21,22)</sup> また, いずれのペプチドも N 末セリン残基をフロイル基に置換することで活性, 代謝抵抗性が劇的に高くなることが示されている。<sup>22,24)</sup>

ヒト及びラット/マウス PAR-4 の tethered ligand の配列はそれぞれ GYPGQV と GYPGKF であり, いずれのペプチドも PAR-4 を特異的に活性化する (Table 1)。<sup>4-6,12,25)</sup> しかし, PAR-4 活性化ペプチドによる反応は, トロンビンで惹起される反応の約 50% 程度であることから, これらのペプチドは部分アゴニストであると考えられる。<sup>25)</sup> 一方, GYPGKF の第 1 番目のグリシンをアラニンに置換した AYPGKF は, PAR-4 に対してトロンビンと同程度の活性 (最大活性) を有しており, 現在のところ最も活性の強い PAR-4 活性化ペプチドである。<sup>25)</sup>

### 5. PARs アンタゴニスト

Figure 2 はこれまでに報告されているペプチド性あるいは非ペプチド性の PAR-1 及び PAR-4 アンタゴニストの構造を示している。なお, PAR-2 あ

るいは PAR-3 に対するアンタゴニストについては今のところ十分な効力を示すものは報告されていない。

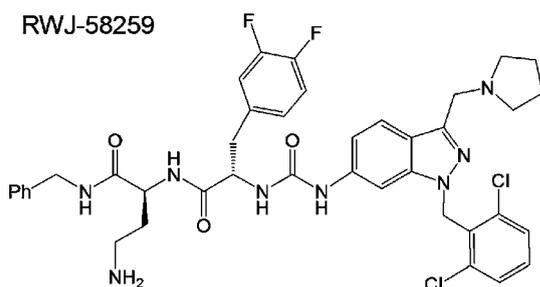
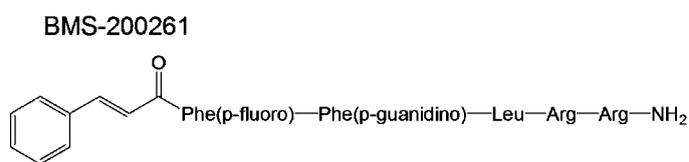
ペプチド性 PAR-1 アンタゴニストとして報告されている BMS-200261 及び RWJ-58259 は (Fig. 2 (A)), PAR-1 活性化ペプチドによる血小板凝集反応をそれぞれ 0.02  $\mu\text{M}$  及び 0.11  $\mu\text{M}$  の IC<sub>50</sub> 値で阻害する。<sup>26,27)</sup> 非ペプチド性 PAR-1 アンタゴニストの FR171113 及び SCH79797 は (Fig. 2 (B)), それぞれ IC<sub>50</sub> 値 0.15  $\mu\text{M}$  及び 0.07  $\mu\text{M}$  で PAR-1 活性化ペプチドによる血小板凝集あるいはヒト血小板膜に対する PAR-1 活性化ペプチドの結合を阻害する。<sup>28,29)</sup>

PAR-4 のペプチド性アンタゴニストとして *N-trans-cinnamoyl*-YPGKF-NH<sub>2</sub> が,<sup>30)</sup> 非ペプチド性アンタゴニストとして YD-3 が<sup>31)</sup> 報告されている (Figs. 2 (C) and 2 (D)). *N-trans-cinnamoyl*-YPGKF-NH<sub>2</sub> は PAR-4 活性化ペプチドによるラット血小板凝集を 400  $\mu\text{M}$  の濃度で阻害する。<sup>30)</sup> 一方, YD-3 は PAR-4 活性化ペプチドによるヒト血小板凝集を IC<sub>50</sub> 値 0.13  $\mu\text{M}$  で阻害する。<sup>31)</sup>

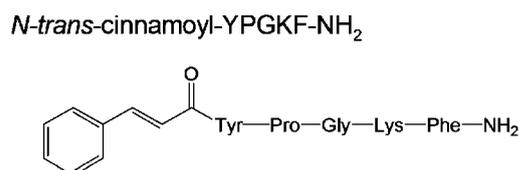
### 6. PARs 誘発細胞内シグナル

PARs 活性化に続く最も一般的なシグナル経路は, G<sub>q/11</sub> タンパク/ホスホオリパーゼ C の活性化を介

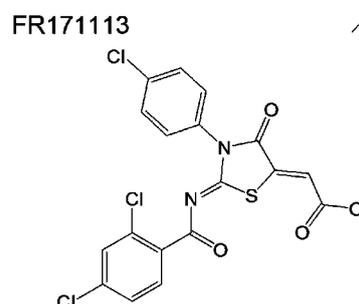
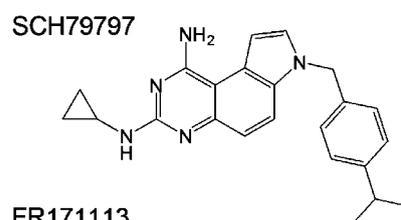
## A) Peptide antagonists for PAR-1



## C) Peptide antagonist for PAR-4



## B) Non-peptide antagonists for PAR-1



## D) Non-peptide antagonist for PAR-4

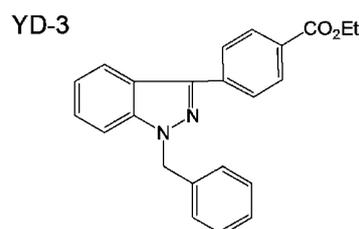


Fig. 2. Structures of Peptide and Non-peptide Antagonists for PAR-1 and PAR-4

BMS-200261: *N-trans-cinnamoyl-para-fluorophenylalanine-para-guanidinophenylalanine-Leu-Arg-Arg-NH<sub>2</sub>*, RWJ-58259: ( $\alpha S$ )-*N*-[[1-(1*S*)-3-amino-1-[[[(phenylmethyl)-amino] carbonyl] propyl]- $\alpha$ -[1-(2,6-dichlorophenyl)methyl]-3-(1-pyrrolidinylmethyl)-1*H*-indazol-6-yl]amino] carbonyl] amino]-3,4-difluorobenzene propanamide, SCH79797: (*N*3-cyclopropyl-7-[4-(1-methylethyl)phenyl]methyl)-7*H*-pyrrolo[3,2-*f*]quinazoline-1,3-diamine, FR171113: 3-(4-chlorophenyl)-2-(2,4-dichlorobenzoylimino)-5-(methoxycarbonylmethylene)-1,3-thiazolidin-4-one, YD-3: [1-benzyl-3(ethoxycarbonylphenyl)-indazole].

するイノシトール三リン酸及びジアシルグリセロールの産生である。<sup>8,12)</sup> PAR-1 は、Rho を介した細胞の形態及び移動をコントロールする Rho グアニンヌクレオチド交換因子とリンクした G<sub>12/13</sub> タンパク、あるいはアデニル酸シクラーゼ阻害によってサイクリック AMP 産生を抑制する G<sub>i</sub> タンパクにカップルする場合もある。<sup>8,12)</sup> 一方、PAR-2 では、G<sub>q/11</sub> 以外の G タンパクにカップルしていることを示す直接的な証拠はないが、G<sub>i</sub> との関連も示唆されている。<sup>6,8,12)</sup> PAR-2 アゴニストはケラチノサイトや筋細胞において NF $\kappa$ B 経路を活性化することが示されており、炎症の進行過程において PAR-2 が重要な役割を演じていることが強く示唆されている。<sup>32)</sup> PAR-1, PAR-2 の活性化はいずれも多くの細胞において ERK を含む MAP キナーゼ系の活性化を引き起こす。<sup>8)</sup> PAR-3 及び PAR-4 は G<sub>q/11</sub> タンパクとカップルしていることが示されているが、それ以外の細胞内シグナルメカニズムに関してはいまだ

不明な点が多い。<sup>4,5)</sup>

## 7. 消化器系における PARs の機能

PARs は消化器系全体の様々な組織及び細胞に豊富に発現しており (Table 1), 特に PAR-1 と PAR-2 は、消化器系における多種多様な生理学的/病態生理学的反応に関与していることが示されている。<sup>9-11)</sup>

口腔内において唾液腺 (耳下腺, 舌下腺, 顎下腺)<sup>33)</sup> 及び口腔上皮細胞<sup>20)</sup> には豊富に PAR-1 及び PAR-2 が存在している。唾液腺の PAR-2 活性化は唾液分泌を促進するが、PAR-1 活性化ではこのような反応は起こらない。<sup>34,35)</sup> また、ヒト口腔上皮細胞の PAR-1 及び PAR-2 活性化はサイトカイン遊離を惹起することから、歯周病に伴う炎症にこれら受容体の関与が示唆されている。<sup>20)</sup>

胃の組織に豊富に発現している PAR-1 及び PAR-2 の活性化は、主に胃粘膜保護作用に関係する種々の反応に関与しているが、そのメカニズムは大きく異

なっている。<sup>11)</sup> PAR-1 及び PAR-2 活性化ペプチドをラットに全身投与すると、塩酸/エタノールによる胃粘膜傷害の抑制がみられるが、この効果には PAR-1 ではプロスタグランジン産生が、PAR-2 ではカプサイシン感受性知覚神経活性化を介した粘液分泌促進が関与している。<sup>36,37)</sup> また、PAR-1 や PAR-2 のアゴニストはいずれも胃粘膜血流増加及び摘出胃微小血管標本の弛緩を引き起こす。<sup>36-38)</sup> さらに、PAR-1 や PAR-2 の活性化は胃酸分泌を抑制することが報告されており、このメカニズムとして、PAR-1 では内因性プロスタノイドの関与が示唆されているが、PAR-2 を介した抑制効果のメカニズムはいまだ明らかになっていない。<sup>8,39)</sup> 一方、これら受容体の活性化はラットの胃ペプシノーゲン分泌の促進も引き起こす。<sup>40,41)</sup>

腸粘膜上皮細胞では、PAR-1 及び PAR-2 のアゴニストは種々のイオントランスポーターの活性化を引き起こす。<sup>42,43)</sup> また PAR-1 及び PAR-2 活性化ペプチドの結腸内投与は結腸炎を引き起こすが、PAR-1 を介した反応にはアポトーシスの増加が、PAR-2 を介した反応には一酸化窒素 (NO) 及びカプサイシン感受性知覚神経の活性化が関与してい

る。<sup>44,45)</sup> 逆に、PAR-2 活性化が結腸炎の発生を抑制するという報告もあり、<sup>46)</sup> 結腸炎症における PAR-2 の役割は複雑である。

PAR-1, PAR-2 及び PAR-4 は胃腸平滑筋にも広く発現しており運動性を調節している。<sup>10,11)</sup> これら受容体活性化による収縮反応には L 型電位依存性  $Ca^{2+}$  チャンネルの活性化や興奮性神経伝達物質のタキキニン (サブスタンス P やニューロキニン A) が、弛緩反応にはアパミン感受性  $K^{+}$  チャンネルの活性化や抑制性神経伝達物質の NO の関与が示唆されているが、これらを含むメカニズムは動物種、標本部位により大きく異なっている。<sup>47-51)</sup>

膵臓では導管上皮細胞や腺房細胞に PAR-2 が豊富に発現しており、PAR-2 活性化は膵液分泌を促進する。<sup>11,35,52)</sup> PAR-2 を介した膵アミラーゼ分泌促進には、NO が一部関与しているが、カプサイシン感受性知覚神経は関与しないことが示されている。<sup>35)</sup>

ヒト由来の様々な消化器系癌細胞株 (膵臓癌、胃癌、結腸癌など) では、PAR-1 あるいは PAR-2 の発現増加が認められている。<sup>53-56)</sup> これら消化器系癌細胞における PAR-1 や PAR-2 の活性化は、細

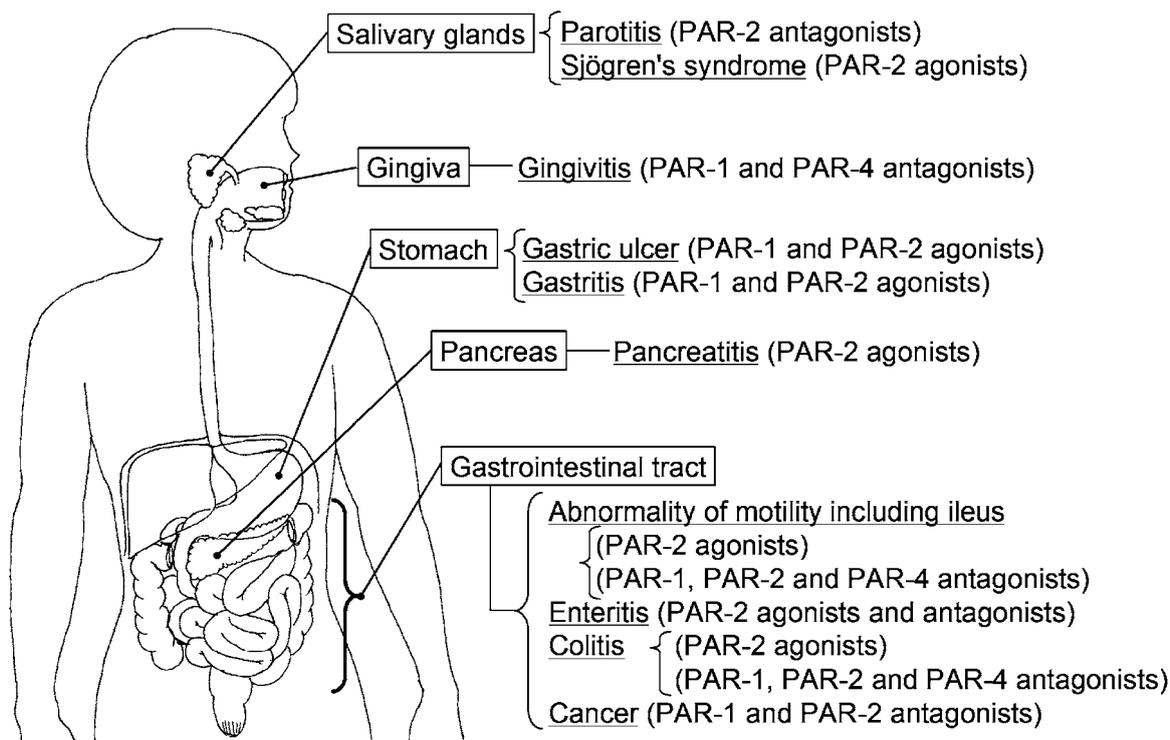


Fig. 3. Possible Therapeutic Targets of Agonists and Antagonists for Proteinase-Activated Receptors in the Digestive System Diseases are underlined and possibly therapeutic agonists/antagonists for PARs are shown in parentheses.

胞増殖や細胞浸潤，細胞接着などを促進し，癌の成長や転移に関与すると考えられている。

### 8. おわりに

上述のように，PARs，特に PAR-1 及び PAR-2 は消化器系における様々な機能の調節及び多様な病態に深くかつ複雑に関わっている。Figure 3 は，将来的に PARs のアゴニストやアンタゴニストにより治療効果が期待できるとされる消化器系疾患を表している。PAR-1 及び PAR-4 はヒト血小板に発現しており，*in vivo* におけるこれら受容体の活性化は血小板を活性化し血栓を誘起してしまうため，PAR-1 及び PAR-4 アゴニストの非経口的ルートからの全身性投与は現実的ではないが，PAR-1 アゴニストを例えば胃腸粘膜局所に適用することは可能である。実際に，重度の胃潰瘍に伴う出血に対してトロンビンの経口投与が有効であることが知られている。PAR-2 は炎症の発現進行過程において，抗炎症，炎症促進の相反する二重の役割を演じていることから，PAR-2 のアゴニスト，アンタゴニストのいずれもが炎症に関わる種々の疾患の治療に利用できる可能性が考えられる。このように，PARs のアゴニストやアンタゴニストは将来的に様々な疾患に対して治療を目的として使用されるようになることが期待できる。

**謝辞** 本総説で紹介した研究は，主に近畿大学薬学部生体機能病因解明学研究室で行われたものであり，ご指導いただきました川畑篤史教授に心よりお礼申し上げます。また，実験を行った共同研究者をはじめ研究室に在籍した方々のご協力に心から感謝いたします。

### REFERENCES

- 1) Vu T. K., Hung D. T., Wheaton V. I., Coughlin S. R., *Cell*, **64**, 1057–1068 (1991).
- 2) Nystedt S., Emilsson K., Wahlestedt C., Sundelin J., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **91**, 9208–9212 (1994).
- 3) Ishihara H., Connolly A. J., Zeng D., Kahn M. L., Zheng Y. W., Timmons C., Tram T., Coughlin S. R., *Nature*, **386**, 502–506 (1997).
- 4) Kahn M. L., Zheng Y. W., Huang W., Bigornia V., Zeng D., Moff S., Farese Jr. R. V., Tam C., Coughlin S. R., *Nature*, **394**, 690–694 (1998).
- 5) Xu W. F., Andersen H., Whitmore T. E., Presnell S. R., Yee D. P., Ching A., Gilbert T., Davie E. W., Foster D. C., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **95**, 6642–6646 (1998).
- 6) Kawabata A., *Expert Rev. Mol. Med.*, **2002**, 1–17 (2002).
- 7) Kawabata A., *Inflammopharmacology*, **10**, 343–349 (2002).
- 8) Macfarlane S. R., Seatter M. J., Kanke T., Hunter G. D., Plevin R., *Pharmacol. Rev.*, **53**, 245–282 (2001).
- 9) Vergnolle N., *Br. J. Pharmacol.*, **141**, 1264–1274 (2004).
- 10) Sekiguchi F., Kawabata A., *Drug Des. Rev.-Online*, **1**, 287–296 (2004).
- 11) Kawabata A., *Life Sci.*, **74**, 247–254 (2003).
- 12) Ossovskaya V. S., Bunnett N. W., *Physiol. Rev.*, **84**, 579–621 (2004).
- 13) Coughlin S. R., *Nature*, **407**, 258–264 (2000).
- 14) Camerer E., Huang W., Coughlin S. R., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **97**, 5255–5260 (2000).
- 15) Uehara A., Sugawara S., Muramoto K., Takada H., *J. Immunol.*, **169**, 4594–4603 (2002).
- 16) Takeuchi T., Harris J. L., Huang W., Yan K. W., Coughlin S. R., Craik C. S., *J. Biol. Chem.*, **275**, 26333–26342 (2000).
- 17) Smith R., Jenkins A., Loubakos A., Thompson P., Ramakrishnan V., Tomlinson J., Deshpande U., Johnson D. A., Jones R., Mackie E. J., Pike R. N., *FEBS Lett.*, **484**, 285–290 (2000).
- 18) Sun G., Stacey M. A., Schmidt M., Mori L., Mattoli S., *J. Immunol.*, **167**, 1014–1021 (2001).
- 19) Asokanathan N., Graham P. T., Stewart D. J., Bakker A. J., Eidne K. A., Thompson P. J., Stewart G. A., *J. Immunol.*, **169**, 4572–4578 (2002).
- 20) Loubakos A., Potempa J., Travis J., D'Andrea M. R., Andrade-Gordon P., Santulli R., Mackie E. J., Pike R. N., *Infect. Immunol.*, **69**, 5121–5130 (2001).
- 21) Kawabata A., Saifeddine M., Al-Ani B., Leblond L., Hollenberg M. D., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **288**, 358–370 (1999).
- 22) Kawabata A., Kanke T., Yonezawa D., Ishiki T., Saka M., Kabeya M., Sekiguchi F., Kubo

- S., Kuroda R., Iwaki M., Katsura K., Plevin R., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **309**, 1098–1107 (2004).
- 23) Hollenberg M. D., Saifeddine M., Al-Ani B., Kawabata A., *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **75**, 832–841 (1997).
- 24) Ferrell W. R., Lockhart J. C., Kelso E. B., Dunning L., Plevin R., Meek S. E., Smith A. J., Hunter G. D., McLean J. S., McGarry F., Ramage R., Jiang L., Kanke T., Kawagoe J., *J. Clin. Invest.*, **111**, 35–41 (2003).
- 25) Faruqi T. R., Weiss E. J., Shapiro M. J., Huang W., Coughlin S. R., *J. Biol. Chem.*, **275**, 19728–19734 (2000).
- 26) Bernatowicz M. S., Klimas C. E., Hartl K. S., Peluso M., Allegretto N. J., Seiler S. M., *J. Med. Chem.*, **39**, 4879–4887 (1996).
- 27) Damiano B. P., Derian C. K., Maryanoff B. E., Zhang H. C., Gordon P. A., *Cardiovasc. Drug Rev.*, **21**, 313–326 (2003).
- 28) Kato Y., Kita Y., Nishio M., Hirasawa Y., Ito K., Yamanaka T., Motoyama Y., Seki J., *Eur. J. Pharmacol.*, **384**, 197–202 (1999).
- 29) Ahn H. S., Foster C., Boykow G., Stamford A., Manna M., Graziano M., *Biochem. Pharmacol.*, **60**, 1425–1434 (2000).
- 30) Hollenberg M. D., Saifeddine M., *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **79**, 439–442 (2001).
- 31) Wu C. C., Hwang T. L., Liao C. H., Kuo S. C., Lee F. Y., Lee C. Y., Teng C. M., *Thromb. Haemost.*, **87**, 1026–1033 (2002).
- 32) Kanke T., Macfarlane S. R., Seatter M. J., Davenport E., Paul A., McKenzie R. C., Plevin R., *J. Biol. Chem.*, **276**, 31657–31666 (2001).
- 33) Kawabata A., Nishikawa H., Kuroda R., Kawai K., Hollenberg M. D., *Br. J. Pharmacol.*, **129**, 1808–1814 (2000).
- 34) Kawabata A., Morimoto N., Nishikawa H., Kuroda R., Oda Y., Kakehi K., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **270**, 298–302 (2000).
- 35) Kawabata A., Kuroda R., Nishida M., Nagata N., Sakaguchi Y., Kawao N., Nishikawa H., Arizono N., Kawai K., *Life Sci.*, **71**, 2435–2446 (2002).
- 36) Kawabata A., Kinoshita M., Nishikawa H., Kuroda R., Nishida M., Araki H., Arizono N., Oda Y., Kakehi K., *J. Clin. Invest.*, **107**, 1443–1450 (2001).
- 37) Kawabata A., Nishikawa H., Saitoh H., Nakaya Y., Hiramatsu K., Kubo S., Nishida M., Kawao N., Kuroda R., Sekiguchi F., Kinoshita M., Kakehi K., Arizono N., Yamagishi H., Kawai K., *Gastroenterology*, **126**, 208–219 (2004).
- 38) Kawabata A., Nakaya Y., Kuroda R., Wakisaka M., Masuko T., Nishikawa H., Kawai K., *Br. J. Pharmacol.*, **140**, 247–254 (2003).
- 39) Nishikawa H., Kawai K., Nishimura S., Tanaka S., Araki H., Al-Ani B., Hollenberg M. D., Kuroda R., Kawabata A., *Eur. J. Pharmacol.*, **447**, 87–90 (2002).
- 40) Kawao N., Sakaguchi Y., Tagome A., Kuroda R., Nishida S., Irimajiri K., Nishikawa H., Kawai K., Hollenberg M. D., Kawabata A., *Br. J. Pharmacol.*, **135**, 1292–1296 (2002).
- 41) Kawao N., Hiramatsu K., Inoi N., Kuroda R., Nishikawa H., Sekiguchi F., Kawabata A., *Peptides*, **24**, 1449–1451 (2003).
- 42) Buresi M. C., Schleihauf E., Vergnolle N., Buret A., Wallace J. L., Hollenberg M. D., MacNaughton W. K., *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, **281**, G323–G332 (2001).
- 43) Vergnolle N., MacNaughton W. K., Al-Ani B., Saifeddine M., Wallace J. L., Hollenberg M. D., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **95**, 7766–7771 (1998).
- 44) Chin A. C., Vergnolle N., MacNaughton W. K., Wallace J. L., Hollenberg M. D., Buret A. G., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **100**, 11104–11109 (2003).
- 45) Cenac N., Garcia-Villar R., Ferrier L., Larauche M., Vergnolle N., Bunnett N. W., Coelho A. M., Fioramonti J., Bueno L., *J. Immunol.*, **170**, 4296–4300 (2003).
- 46) Fiorucci S., Mencarelli A., Palazzetti B., Distrutti E., Vergnolle N., Hollenberg M. D., Wallace J. L., Morelli A., Cirino G., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **98**, 13936–13941 (2001).
- 47) Kawabata A., Kuroda R., Nishikawa H., Kawai K., *Br. J. Pharmacol.*, **128**, 865–872 (1999).
- 48) Mule F., Pizzuti R., Capparelli A., Vergnolle N., *Gut*, **53**, 229–234 (2004).

- 49) Cocks T. M., Sozzi V., Moffatt J. D., Selemidis S., *Gastroenterology*, **116**, 586–592 (1999).
- 50) Gao C., Liu S., Hu H. Z., Gao N., Kim G. Y., Xia Y., Wood J. D., *Gastroenterology*, **123**, 1554–1564 (2002).
- 51) Mule F., Baffi M. C., Capparelli A., Pizzuti R., *Br. J. Pharmacol.*, **139**, 598–604 (2003).
- 52) Nguyen T. D., Moody M. W., Steinhoff M., Okolo C., Koh D. S., Bunnett N. W., *J. Clin. Invest.*, **103**, 261–269 (1999).
- 53) Jikuhara A., Yoshii M., Iwagaki H., Mori S., Nishibori M., Tanaka N., *Life Sci.*, **73**, 2817–2829 (2003).
- 54) Ohta T., Shimizu K., Yi S., Takamura H., Amaya K., Kitagawa H., Kayahara M., Ninomiya I., Fushida S., Fujimura T., Nishimura G., Miwa K., *Int. J. Oncol.*, **23**, 61–66 (2003).
- 55) Miyata S., Koshikawa N., Yasumitsu H., Miyazaki K., *J. Biol. Chem.*, **275**, 4592–4598 (2000).
- 56) Darmoul D., Gratio V., Devaud H., Lehy T., Laburthe M., *Am. J. Pathol.*, **162**, 1503–1513 (2003).