

周産期における動脈管の制御

梶野 浩樹^{1,3)}, Ronald I. Clyman^{2,3)}旭川医科大学小児科¹⁾Department of ²Pediatrics and ³Cardiovascular Research Institute,
University of California San Francisco

Key words :

動脈管, プロスタグランジン,
一酸化窒素, 酸素, EPリセプター

Regulation of the Ductus Arteriosus in the Perinatal Period

Hiroki Kajino,^{1,3)} and Ronald I. Clyman^{2,3)}¹⁾Department of Pediatrics, Asahikawa Medical College, JapanDepartment of ²Pediatrics and ³Cardiovascular Research Institute, University of California San Francisco, USA

The ductus arteriosus is a large vessel that diverts blood away from the lungs toward the descending aorta during fetal life. Vascular tone in the ductus depends on a balance between relaxation and contraction. When the ductus closes after birth, the balance dramatically shifts from relaxation to contraction.

The principal factors for relaxation are prostaglandins and nitric oxide. The placenta provides the fetal ductus with abundant circulating prostaglandins. The fetal ductus expresses three subtypes of EP receptors, which cause ductal relaxation, whereas the newborn ductus expresses only one. Ductal contraction can be categorized into oxygen-dependent and oxygen-independent contraction. After birth, an increase in arterial oxygen tension following initiation of breathing causes ductal contraction. The mechanism in which oxygen causes contraction has not fully been understood. Anoxia that develops in the ductus wall after functional closure and substantial oxygen-independent contraction are essential elements for anatomic closure. Immature ductus is susceptible to reopening because of the lack of those elements.

要 旨

動脈管は胎生期、右室が駆出した血液を体循環に送る導管の役割を果たす。動脈管の血管トーンは、弛緩因子と収縮因子のバランスで決定される。生後、そのバランスは弛緩側から収縮側に急激に傾く。主な弛緩因子はプロスタグランジン(PG)と一酸化窒素である。胎児には胎盤由来のPGが多く循環している。胎児の動脈管には3種類のPGEに対するEPリセプターが発現しており、一部はカリウムチャンネルとも共役しているが、生後その発現が1種類に減少する。動脈管の収縮は酸素に依存する収縮と依存しない収縮とに分けられる。生後肺呼吸の開始とともに酸素分圧が上昇して動脈管が収縮する。この酸素による収縮の機序は完全には解明されていない。動脈管が機能的に閉鎖してから器質的にも閉鎖するまでの機序には動脈管組織の無酸素化と酸素に依存しない大きな収縮力が必須である。未熟な動脈管ではこの機序が働きにくいいため、動脈管開存が発症する。

1. はじめに

胎生期の動脈管は、右室が駆出した血液を体循環に送る導管の役割を果たす¹⁾。下行大動脈に達した血液のうち、約85%は動脈管経由の血液である。その動脈管経由の血液の酸素分圧は20mmHg以下と低く、その約60%が血管抵抗の低い胎盤循環に至り酸素化される。動脈管は妊娠満期に近づく隣接する肺動脈や大動脈に比

べ非常に厚い中膜をもつようになり、生後肺呼吸が開始されると動脈血酸素分圧の上昇に伴って強く収縮する。その後、機能的に閉鎖した動脈管の血管壁内では、内皮細胞の増殖、平滑筋細胞の遊走や細胞死、細胞外基質の増加と線維化などの機転が展開し、器質的閉鎖が達成される²⁻⁸⁾。動脈管は発生学上、第6大動脈弓由来の血管であるが、この部分の血管だけがこれらの巧妙な機転をもつことは神秘的である。

平成13年12月11日受付
平成14年6月3日受理別刷請求先: 〒078-8510 北海道旭川市緑が丘東2-1-1-1
旭川医科大学小児科 梶野 浩樹

一方、早期産児の動脈管は、満期産児と同様の動脈血酸素分圧の上昇を得ても器質的閉鎖に至らず、しばしば再開通し症候性の動脈管開存として児の呼吸循環動態に悪影響を与える^{9,10}。ではいったい、満期産児の動脈管において、どのような因子が動脈管を機能的に閉鎖させ、さらに器質的閉鎖に導くのか。また早期産児ではそれらの因子のうち、どれが欠如して器質的閉鎖を達成することができないのか。この総説では私たちがそれらの機序を解明するために行った実験結果を含めて、動脈管の開存・閉鎖機転に関する近年の研究成果をまとめてみた。

2. 動脈管における弛緩因子

血管トーンは基本的に弛緩因子と収縮因子とのバランスと考えることができる。動脈管における弛緩は主にprostaglandin(PG)による弛緩とnitric oxide(NO)による弛緩に分けられ、収縮は酸素に依存する収縮と依存しない収縮に分けられる。胎生期の動脈血酸素分圧は30mmHg以下であるため¹、この時期の動脈管では酸素に依存する収縮の影響は非常に小さく、以下に示すような弛緩因子が強く働くため、血管トーンのバランスは大きく弛緩側に傾いている^{11,12}。

1) Prostaglandins

PGの産生を制御するcyclooxygenase(COX)にはCOX1とCOX2というisoformがあり、COX1は恒常的に、COX2は炎症などに誘導されて発現する¹³。胎生期の動脈管弛緩の主役はPGE₂であり^{14,15}、その産生にはCOX1とCOX2の両者が関与している¹⁶。PGE₂の動脈管に対する作用は、Gs蛋白と共役したreceptorを介してadenylate cyclaseを活性化し、血管平滑筋細胞内のcAMP濃度を上昇させて弛緩に導くことを基本とする¹⁷。胎生期の動脈管に作用するPGには、血中を循環するPG¹⁸と動脈管の血管壁内で産生されるPG¹⁹とがある。妊娠満期においては循環するPGが量的に重要であり、その主な産生源は胎盤を含む子宮と考えられているが、子宮以外の母体や胎児自体が産生するPGの重要性は不明である。ヒツジやブタでは動脈管壁でCOX1とCOX2の存在が確認されるが^{16,20-22}、マウスでは確認されない²³。胎児は肺血流量が非常に少なくPGが不活化されにくいことも動脈管の弛緩に寄与する²⁴。

陣痛抑制を目的に、子宮にとっては収縮因子となるPGの産生を抑制するためindomethacinなどのCOX阻害薬が母体に投与される場合がある。結果的なPGの産生抑制は、胎児の腎不全²⁵や羊水過少²⁶を招くほか、動脈管にとっては弛緩因子を喪失することになるため、動脈

管を胎生期のうちに収縮させる^{27,28}。ヒトの陣痛の出現にはCOX2が多く関与していることから²⁹、それらの副作用を避けるため、選択的COX2阻害薬を陣痛抑制薬として使用する試みもある³⁰。しかし、その場合でも子宮あるいは動脈管血管壁でのPG産生は減少するため、胎児に腎障害が出現する³¹、必ずしも胎児の動脈管収縮を避けられることにはならない¹⁶。また、胎生期にCOX阻害薬の影響を受けた動脈管は後述する器質的な変化をきたし、それが生後の機能的な収縮を妨げ、動脈管開存の発症を招来する³²。

近年、COX1/COX2欠損マウスが生後動脈管開存を発症すると報告された^{23,33}。COXは動脈管にとって弛緩性ばかりでなく収縮性のPG産生にも関与しているという推測もあるが、この場合の動脈管を開存させる機序はまだ不明と言わざるを得ない。

2) Nitric oxide

NOは内皮細胞のNO合成酵素によって産生され、guanylate cyclaseを活性化し平滑筋細胞内のcGMP濃度を上昇させて³⁴、動脈管を弛緩させる³⁵。一般に胎生期の動脈管の弛緩因子としては、NOに比べPGの方が優位と考えられているが³⁶、ラットでは胎生期早期ほど相対的にNOが優位である³⁷。私たちは内皮性NO合成酵素が動脈管内膜の内皮細胞のほか、動脈管壁内のvasa vasorumの内皮細胞にも存在しており、これらが産生するNOが動脈管内因性の弛緩因子として胎生期を通してPGに劣らず重要であることを示した(Fig. 1)^{1,12,38}。近年、神経性NO合成酵素も動脈管弛緩に関与していることや³⁹、神経性NO合成酵素で産生されるNOが弛緩因子としてばかりでなく、生後の器質的閉塞を制御する作用をもつことが報告された⁴⁰。

3) その他の弛緩因子

胎児期の肺血管抵抗はきわめて高い。そのため左右の肺動脈の血流量は小さく、右室が駆出した血流の多くが動脈管を通過する。つまり動脈管は内腔からの高い圧力で受動的に開いているとも言える⁴¹。

NOと同様、一酸化炭素(CO)も動脈管における内因性のsignal伝達物質として注目された⁴²。heme-oxygenaseの作用の産物であるCOは、やはりguanylate cyclaseを活性化し血管平滑筋細胞内のcGMP濃度を上昇させて動脈管の弛緩に寄与している可能性がある。

3. 動脈管における収縮因子

出生は一生に一度で最大の呼吸循環動態の劇的変化の瞬間である。その時、PGを供給していた胎盤循環が

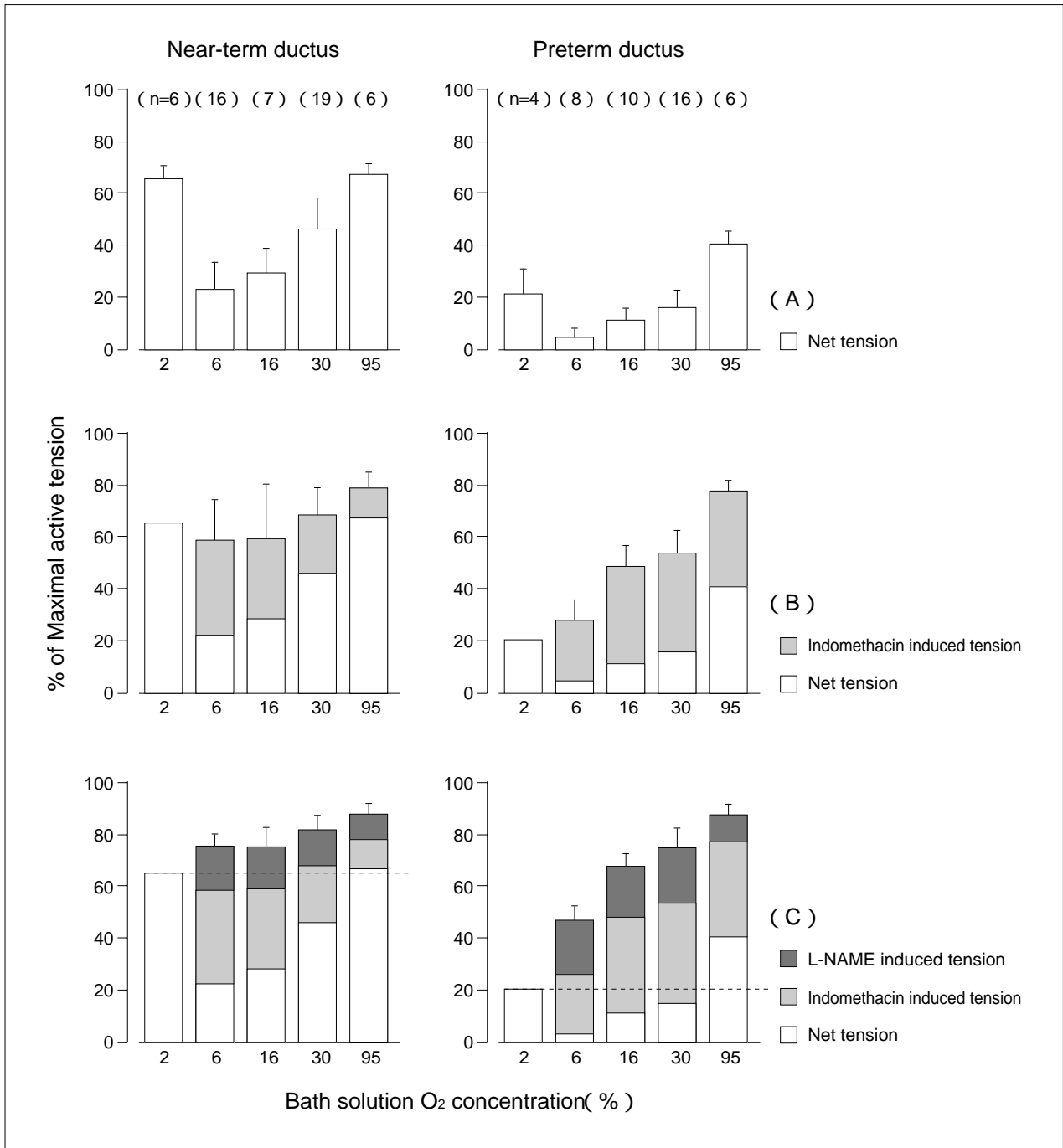


Fig. 1 Effects of oxygen concentration on isometric tension of ductus arteriosus ring in near-term(left)and preterm(right)lambs. The ductus rings were incubated in different bath oxygen concentrations. At 2% of the bath oxygen concentration, severe hypoxia develops in the ring tissue; it corresponds to severe hypoxia that develops in the term ductus media *in vivo* after birth. (A)Height of open column represents net tension(mean \pm SD)developed by the ring at each oxygen concentration.(B)Height of shaded column represents the tension after indomethacin was added, which reveals the relaxant effect of endogenous PG. (C)Height of solid column represents the tension after L-NAME was added, which reveals the relaxant effect of endogenous NO. The tension after indomethacin and L-NAME were added at 2% bath oxygen concentration was considered the oxygen-independent tension(below the dotted line)because the ring tissue is practically anoxic in this setting. The net tension of the preterm ductus was significantly less than that of near-term ductus at any oxygen concentration ($p < 0.01$). Indomethacin and L-NAME had no effect on ductus ring under conditions of severe hypoxia(2% bath oxygen concentration); this is due to the marked inhibition of endogenous PG and NO production. When the bath oxygen concentration was 6%, the tension induced by indomethacin plus L-NAME represented a significantly greater percent of the net tension in the preterm ductus than it did near-term($p < 0.01$). The oxygen-independent tension of the preterm ductus was significantly less than that of near-term ductus($p < 0.01$)^{1,12}.

失われ、PGを不活化する肺循環が開始されることによってPGが血中から一気に消失する。また、肺血管抵抗も減少し右室が駆出した血流は動脈管を通過する必要がなくなる。こうして動脈管は多くの弛緩因子を失う一方で、動脈血酸素分圧の上昇によって酸素に依存する収縮を得る。

1 酸素に依存する収縮

酸素分圧の上昇によって動脈管血管平滑筋細胞が脱分極し、L型カルシウムチャンネルを通してCa²⁺イオンが細胞内に急速流入する⁴³⁾。Ca²⁺イオンは血管平滑筋においてはcalmodulinと結合し収縮蛋白のリン酸化が生じて動脈管が収縮する。しかし、なぜ酸素が動脈管血管平滑筋細胞を脱分極させるのか、いまだ明らかでない³⁴⁾。

有力な仮説として、cytochrome P450が酸素分圧の上昇を感知してendothelin-1の産生を促し、ET-Aリセプターを介して収縮させるという機序^{44,45)}が挙げられ議論された⁴⁶⁾。また、血管平滑筋細胞を再分極・弛緩させるカリウムチャンネルのうち、酸素がATP感受性カリウムチャンネル⁴³⁾、あるいは膜電位依存性カリウムチャンネル^{47,48)}を閉じることによって血管平滑筋細胞が脱分極するという機序も有力視されている。一方、酸素分圧の上昇が過酸化水素を発生し、それがカリウムチャンネルを阻害して脱分極させるという機序⁴⁹⁾、vitamin Aが動脈管の酸素への反応を増強する作用をもつことも示された⁵⁰⁾。

2 酸素に依存しない収縮

動脈管の収縮は主に酸素に依存すると考えられがちだが、満期に近い動脈管では酸素に依存しない収縮力の方が大きい。なぜなら、私たちの*in vitro*の実験上、十分な量のCOX阻害薬やNO合成酵素阻害薬下で主な弛緩因子の影響を除いた後、実質的な無酸素状態にしても動脈管は能動的に強く収縮しているからである¹¹⁾。この収縮を制御する因子は不明であるが、未熟な動脈管ではこの酸素に依存しない収縮力が弱い(Fig. 1)²⁾。未熟児と成熟児のミオシン重鎖などの収縮蛋白の性質の差が酸素に依存しない収縮力の差を説明するのかもしれない⁵¹⁾。また、vitamin Aは酸素への反応を増強するばかりでなく、動脈管の収縮性の成熟を促進することが示された⁵²⁾。

4. 機能的閉鎖と器質的閉鎖

生後、動脈管は以上の因子の影響で機能的に閉鎖する。しかし、ここから器質的閉鎖を達成するまでにはいくつかのメカニズムが正常に作動する必要がある。

逆に器質的閉鎖の機序を遺伝子操作によって停止させると生後動脈管開存を発生させることができる⁵³⁾。

胎生期の動脈管の血管平滑筋は他の動脈よりも早く分化し^{6,51)}、生後の収縮に備える。機能的閉鎖では、動脈管組織が短軸方向にも長軸方向にも縮み、血管壁がその厚さを増し実質的な管腔内の血流が途絶える。その後内膜の内皮細胞が増殖して管腔の隙間を埋め、同時にinternal elastic laminaが断裂し、中膜の平滑筋細胞が細胞外器質の中を遊走するための接着分子を発現しながら内膜側に移動する(“intimal cushion”の形成)。中膜では一時的に外膜から侵入するvasa vasorumが増生するが、次第に平滑筋細胞が失われ(cell death)、もはや再開通は不可能になる。さらにその後ゆっくり線維化が進み、器質的閉鎖が完成する²⁻⁸⁾。

私たちはこの器質的閉鎖のプロセスに血管壁が無酸素状態に陥る必要があることを証明した(Fig. 2)^{11,12,54,55)}。すなわち、満期の羊新生仔の動脈管の中膜の中央が生後まもなく無酸素状態に陥ること、無酸素状態の領域がTUNELで示したcell deathの生じる領域と一致し、低酸素で誘導され内皮細胞の増殖を促進するvascular endothelial growth factor(VEGF)の発現と相関することを示した。動脈管壁が無酸素化する機序は、収縮に伴う管腔内血流の減少と、血管壁の圧縮によるvasa vasorum血流の途絶が酸素の供給をなくすること(Fig. 3)、そして血管壁厚の増大によって酸素の拡散距離も増大することによると考えた⁵⁵⁾。

さらに私たちは、酸素分圧の上昇によって機能的に閉鎖した動脈管が無酸素化しても閉鎖を維持できる理由を検討したところ、それは無酸素状態では酸素に依存する収縮を失うものの、酸素を基質とするPGやNOが動脈管血管壁内で産生され得ず、つまり主な弛緩因子を失って、前述の酸素に依存しない大きな収縮力が顕在化したためであった(Fig. 1)¹¹⁾。実際の動脈管では、生後の酸素分圧の上昇に伴う収縮が血管壁の内膜側あるいは外膜側で生じている間、中膜の中央から無酸素状態に陥る領域が広がり、それにより収縮が維持され、かつ器質的閉鎖が進行する。

5. 早期産児で動脈管開存が発症しやすい理由

早期産児に発症する動脈管開存では満期産児で見られる器質的な変化が生じない⁵⁶⁾。このことに関し、私たちは未熟な動脈管では酸素に依存しない収縮力が小さく、弛緩因子の影響が強いことを示した(Fig. 1)。また、実際の早期産の羊新生仔は生後器質的閉鎖に必要な無酸素状態に陥りにくかった。これは酸素に依存しない収縮力が小さいため管腔の狭小化や壁厚の増大に

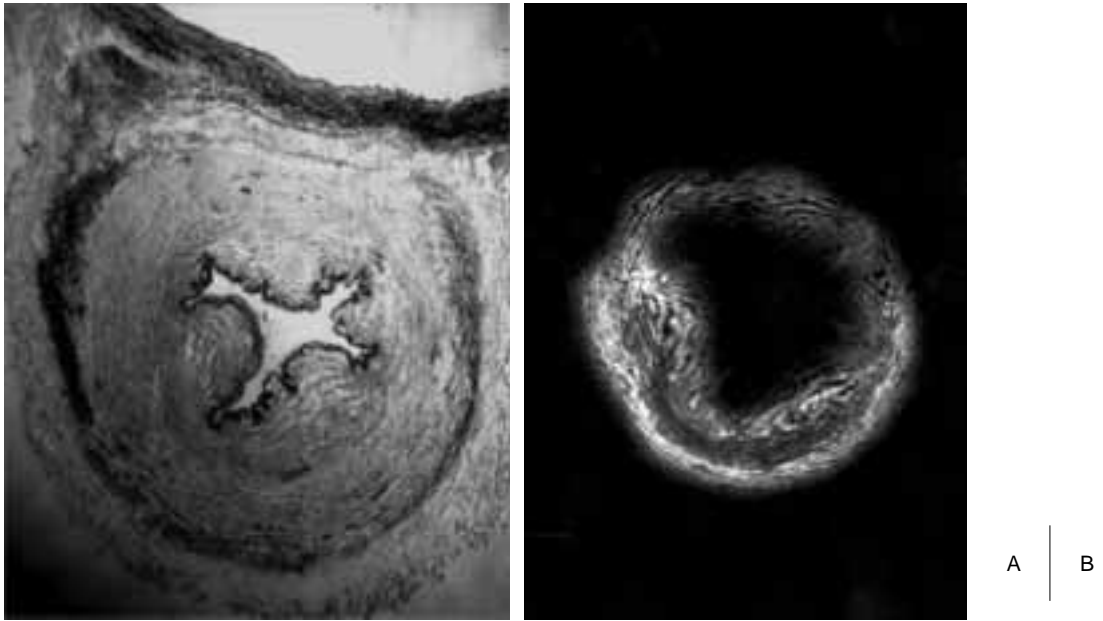


Fig. 2 EF5 binding to newborn baboon ductus. EF5 is a compound that exclusively binds to hypoxic tissues. (A) The section of the constricted ductus adjacent to the section used for the detection of EF5 binding. (B) There is intense EF5 binding to the viable smooth muscle cells, which suggests development of severe hypoxia in the ductus media after birth^{12, 55}.

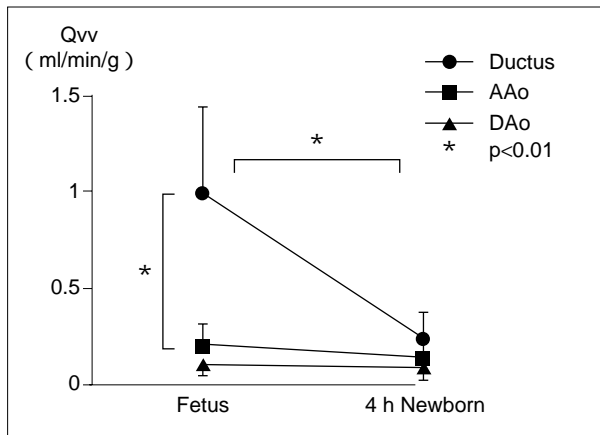


Fig. 3 Microsphere measurements of the vasa vasorum blood flow (Qvv) of the ductus, ascending aorta, and descending aorta were made before (0 h) and 4 h after delivery. Note that ductus vasa vasorum blood flow significantly decreased after birth ($p < 0.01$) and that the vasa vasorum flow to the fetal ductus was 5x the flow to the fetal ascending aorta ($p < 0.01$)⁵⁵.

乏しいこと、また、そもそも vasa vasorum が存在しないほど血管壁が薄く酸素の拡散距離が小さいという構造上の特徴があるためである。また、無酸素状態でなければ PG や NO の産生は維持される。これらが早期産児の動脈管が器質的閉鎖を達成しにくく、動脈管開存を発症しやすい主な理由と考えた^{12, 57}。また、未熟な動脈管は PG への反応性がよく⁵⁸、その血管平滑筋細胞は酸素

に対するカルシウム動態の反応が乏しい⁵⁰こともこの理由となろう。

6. 動脈管における EP receptor subtype 発現の意義

胎児循環で豊富に存在した PG が生後急速に消失する一方、生後には動脈管血管平滑筋の PGE_2 に対する反応性自体も低下することが知られている。この機序の解明に PGE を ligand とする receptor (EP receptor) に関する研究が進んだ³⁴。

EP receptor subtype には、現在 EP1, EP2, EP3, EP4 の 4 種類の存在が確認されている。このうち、ブタやヒツジの動脈管は、胎児期には EP2, EP3, EP4 の 3 種類を発現し、それが生後まもなく EP2 しか発現しなくなる^{59, 60}。EP2 や EP4 は、ligand と結合すると Gs 蛋白を介して adenylate cyclase を活性化し、平滑筋細胞内の cAMP 濃度を上昇させ細胞内 Ca 濃度を減少させる¹⁷。一方、EP3 は Gi 蛋白を介して cAMP の産生を抑制する。しかし私たちは動脈管においては、EP3 刺激は ATP 感受性カリウムチャネルを開かせるシグナル伝達を通して、cAMP の減少を凌駕して血管平滑筋を弛緩させることを発見した (Fig. 4)⁶⁰。つまり、動脈管を弛緩させる EP receptor の種類が、生後まもなく 3 つから 1 つに減少するために、 PGE_2 に対する反応性が低下するものと考えた。

一方、EP4 欠損マウスは生後動脈管開存のために死亡

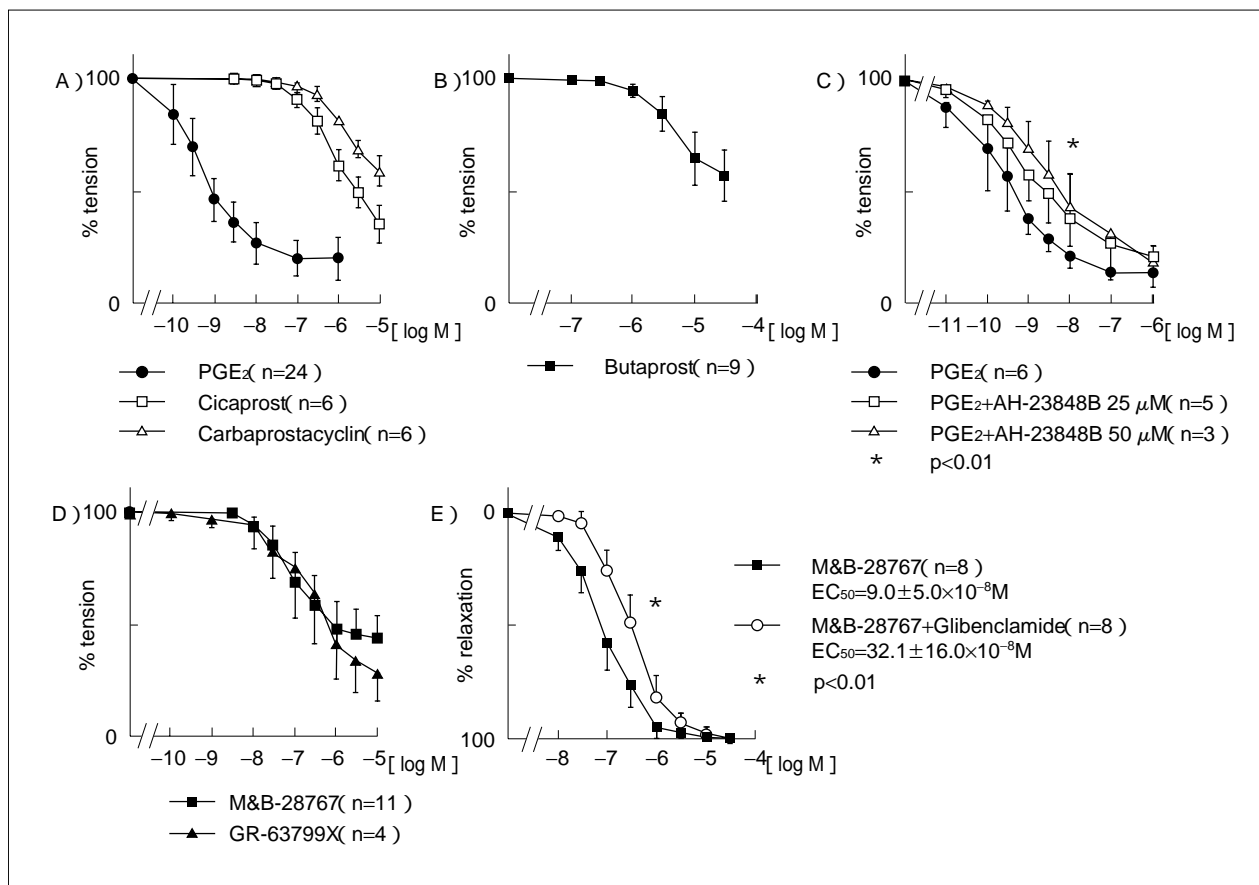


Fig. 4 Vasomotor response of fetal ductus to prostaglandins, prostaglandin analogs, and an ATP-sensitive potassium channel blocker. Ductus rings were precontracted with 30% oxygen, indomethacin, and L-NAME. Responses to PGE₂ (nonselective EP agonist), cicaprost and carbaprostacyclin (PGI₂ analogs), butaprost (EP₂ agonist), M&B-28767 and GR-63799X (EP₃ agonists) were studied; effects of PGE₂ were also tested in the presence of AH-23848B (EP₄ antagonist). PGE₂ and butaprost relaxed the ductus (Fig. 4A, 4B), and AH-23848B inhibited the relaxant effects of PGE₂ (Fig. 4C). In contrast, although EP₃ stimulation decreases cAMP production, both M&B-28767 and GR-63799X caused relaxation (Fig. 4D). The K_{ATP} channel blocker, glibenclamide, significantly inhibited the relaxation caused by M&B-28767 (Fig. 4E). Glibenclamide did not affect relaxation caused by agents that increase cAMP (butaprost, forskolin, and 8-Br-cAMP) (data not shown)⁶⁰.

する^{61,62}). 動脈管を弛緩させるEP receptorの欠如で動脈管開存が発症することは未知の動脈管弛緩の代償機構の存在を示唆しているのかもしれないが、COX1/COX2欠損マウスの場合と同様、この逆説的な現象を完全に説明する理論はまだない。

7. 臨床との関連

超低出生体重児の動脈管開存に対する治療にはCOX阻害薬が用いられる^{9,10}). 現在は症候性の動脈管開存に対してCOX阻害薬を投与するより、生後まもなく予防的に投与する方の利益がうたわれてる⁶³⁻⁶⁵). また、非選択的COX阻害薬にはindomethacinを用いるのが一般的であるが、ibuprofenが腎機能などへの安全性から有用であることが注目されている⁶⁶). ヒトにおいてCOX1とCOX2のどちらの選択的阻害薬が動脈管の閉鎖にとって、より有効なのかは全く不明である。また、超低出

生体重児の動脈管において、どのEP receptorが発現しているのかも不明であり、選択的EP receptor阻害薬の臨床応用の可能性は今のところない。実験的には、PGの作用を抑制することに加え、同時にNOの産生も抑制することの有用性が報告されている^{67,68}).

動脈管依存型先天性心疾患に対してはPGE₁の投与が行われる⁶⁹). PGE₁の動脈管に対する薬理作用は生理的に最も多く産生されるPGE₂とほぼ等しい^{17,58}). 生後の動脈管におけるEP receptorがヒトでもEP₂だけであるなら、選択的EP₂刺激薬を治療薬として実用化すべきであるが、最も選択性のよいbutaprostでもその作用はPGE₂の1000分の1に過ぎない (Fig. 4)⁶⁰). 実用化に足る強力な選択的EP₂刺激薬の出現が待たれる。

8. 最後に

動脈管はごく短い血管でありながら一つの臓器のご

とくさまざまな精巧なメカニズムをもつ。しかし、この総説で引用したメカニズムの説明もまだ真実から程遠いものなのかもしれない。今後さらに薬学的、生化学的、分子生物学的な研究が進むことによって、未熟児の動脈管開存や動脈管依存型先天性心疾患、また先天性心疾患としての動脈管開存に対する治療戦略が見直され、患者の予後が改善することを切に願うものである。

稿を終えるにあたり、ご校閲くださいました旭川医科大学小児科藤枝憲二教授、研究に協力していただきましたF. Mauray先生、C. Roman先生、Y. Q. Chen先生、S. Chemtob教授、C. J. Koch教授、留学中お世話になりました旭川医科大学小児科同門会の先生方、梶野真弓先生、津田尚也先生、林憲一先生に深謝致します。

【参考文献】

- 1) Heymann MA, Rudolph AM: Control of the ductus arteriosus. *Physiol Rev* 1975; 55: 62–78
- 2) Gittenberger-de Groot AC, Strengers JL, Mentink M, et al: Histologic studies on normal and persistent ductus arteriosus in the dog. *J Am Coll Cardiol* 1985; 6: 394–404
- 3) Boudreau N, Rabinovitch M: Developmentally regulated changes in extracellular matrix in endothelial and smooth muscle cells in the ductus arteriosus may be related to intimal proliferation. *Lab Invest* 1991; 64: 187–199
- 4) Clyman RI, Mauray F, Kramer RH: Beta 1 and beta 3 integrins have different roles in the adhesion and migration of vascular smooth muscle cells on extracellular matrix. *Exp Cell Res* 1992; 200: 272–284
- 5) Clyman RI, Goetzman BW, Chen YQ, et al: Changes in endothelial cell and smooth muscle cell integrin expression during closure of the ductus arteriosus: an immunohistochemical comparison of the fetal, preterm newborn, and full-term newborn rhesus monkey ductus. *Pediatr Res* 1996; 40: 198–208
- 6) Slomp J, Gittenberger-de Groot AC, Glukhova MA, et al: Differentiation, dedifferentiation, and apoptosis of smooth muscle cells during the development of the human ductus arteriosus. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 1003–1009
- 7) Clyman RI, Chan CY, Mauray F, et al: Permanent anatomic closure of the ductus arteriosus in newborn baboons: the roles of postnatal constriction, hypoxia, and gestation. *Pediatr Res* 1999; 45: 19–29
- 8) Imamura S, Nishikawa T, Hiratsuka E, et al: Behavior of smooth muscle cells during arterial ductal closure at birth. *J Histochem Cytochem* 2000; 48: 35–44
- 9) Friedman WF, Hirschklau MJ, Printz MP, et al: Pharmacologic closure of patent ductus arteriosus in the premature infant. *N Engl J Med* 1976; 295: 526–529
- 10) Heymann MA, Rudolph AM, Silverman NH: Closure of the ductus arteriosus in premature infants by inhibition of prostaglandin synthesis. *N Engl J Med* 1976; 295: 530–533
- 11) Kajino H, Chen YQ, Chemtob S, et al: Tissue hypoxia inhibits prostaglandin and nitric oxide production and prevents ductus arteriosus reopening. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2000; 279: R278–286
- 12) Kajino H, Chen YQ, Seidner SR, et al: Factors that increase the contractile tone of the ductus arteriosus also regulate its anatomic remodeling. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001; 281: R291–301
- 13) Vane JR, Bakhle YS, Botting RM: Cyclooxygenases 1 and 2. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1998; 38: 97–120
- 14) Coceani F, Olley PM: The response of the ductus arteriosus to prostaglandins. *Can J Physiol Pharmacol* 1973; 51: 220–225
- 15) Clyman RI: Ductus arteriosus: Current theories of prenatal and postnatal regulation. *Semin Perinatol* 1987; 11: 64–71
- 16) Takahashi Y, Roman C, Chemtob S, et al: Cyclooxygenase-2 inhibitors constrict the fetal lamb ductus arteriosus both *in vitro* and *in vivo*. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2000; 278: R1496–1505
- 17) Narumiya S, Sugimoto Y, Ushikubi F: Prostanoid receptors: structures, properties, and functions. *Physiol Rev* 1999; 79: 1193–1226
- 18) Clyman RI, Mauray F, Roman C, et al: Circulating prostaglandin E2 concentrations and patent ductus arteriosus in fetal and neonatal lambs. *J Pediatr* 1980; 97: 455–461
- 19) Coceani F, Huhtanen D, Hamilton NC, et al: Involvement of intramural prostaglandin E2 in prenatal patency of the lamb ductus arteriosus. *Can J Physiol Pharmacol* 1986; 64: 737–744
- 20) Guerguerian AM, Hardy P, Bhattacharya M, et al: Expression of cyclooxygenases in ductus arteriosus of fetal and newborn pigs. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 179: 1618–1626
- 21) Clyman RI, Hardy P, Waleh N, et al: Cyclooxygenase-2 plays a significant role in regulating the tone of the fetal lamb ductus arteriosus. *Am J Physiol* 1999; 276: R913–921
- 22) Coceani F, Ackerley C, Seidlitz E, et al: Function of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 in the ductus arteriosus from foetal lamb: differential development and change by oxygen and endotoxin. *Br J Pharmacol* 2001; 132: 241–251
- 23) Reese J, Paria BC, Brown N, et al: Coordinated regulation of fetal and maternal prostaglandins directs successful birth and postnatal adaptation in the mouse. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 9759–9764
- 24) Clyman RI, Mauray F, Heymann MA, et al: Effect of gestational age on pulmonary metabolism of prostaglandin E1 & E2. *Prostaglandins* 1981; 21: 505–513
- 25) van der Heijden BJ, Carls C, Nancy F, et al: Persistent anuria, neonatal death, and renal microcystic lesions after prenatal exposure to indomethacin. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 171: 617–623
- 26) Hendricks SK, Smith JR, Moore DE, et al: Oligohydramnios associated with prostaglandin synthetase inhibitors in preterm labour. *Br J Obstet Gynaecol* 1990; 97: 312–316
- 27) Momma K, Hagiwara H, Konishi T: Constriction of fetal ductus arteriosus by non-steroidal anti-inflammatory drugs: study of additional 34 drugs. *Prostaglandins* 1984; 28: 527–536
- 28) Moise KJ Jr, Huhta JC, Sharif DS, et al: Indomethacin in the treatment of premature labor. Effects on the fetal ductus arteriosus. *N Engl J Med* 1988; 319: 327–331
- 29) Slater DM, Berger LC, Newton R, et al: Expression of cyclooxygenase types 1 and 2 in human fetal membranes at term. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 172: 77–82
- 30) Sawdy R, Slater D, Fisk N, et al: Use of a cyclooxygenase type-2-selective non-steroidal anti-inflammatory agent to prevent preterm delivery. *Lancet* 1997; 350: 265–266
- 31) Peruzzi L, Gianoglio B, Porcellini MG, et al: Neonatal end-stage renal failure associated with maternal ingestion of cyclooxygenase-type-1 selective inhibitor nimesulide as tocolytic. *Lancet*

- 1999; 354: 1615
- 32 Clyman RI, Chen YQ, Chemtob S, et al: In utero remodeling of the fetal lamb ductus arteriosus: the role of antenatal indomethacin and avascular zone thickness on vasa vasorum proliferation, neointima formation, and cell death. *Circulation* 2001; 103: 1806–1812
 - 33 Loftin CD, Trivedi DB, Tiano HF, et al: Failure of ductus arteriosus closure and remodeling in neonatal mice deficient in cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 1059–1064
 - 34 Smith GC: The pharmacology of the ductus arteriosus. *Pharmacol Rev* 1998; 50: 35–58
 - 35 Coceani F, Kelsey L, Seidlitz E: Occurrence of endothelium-derived relaxing factor-nitric oxide in the lamb ductus arteriosus. *Can J Physiol Pharmacol* 1994; 72: 82–88
 - 36 Fox JJ, Ziegler JW, Ivy DD, et al: Role of nitric oxide and cGMP system in regulation of ductus arteriosus tone in ovine fetus. *Am J Physiol* 1996; 271: H2638–2645
 - 37 Momma K, Toyono M: The role of nitric oxide in dilating the fetal ductus arteriosus in rats. *Pediatr Res* 1999; 46: 311–315
 - 38 Clyman RI, Waleh N, Black SM, et al: Regulation of ductus arteriosus patency by nitric oxide in fetal lambs: the role of gestation, oxygen tension, and vasa vasorum. *Pediatr Res* 1998; 43: 633–644
 - 39 Rairigh RL, Storme L, Parker TA, et al: Role of neuronal nitric oxide synthase in regulation of vascular and ductus arteriosus tone in the ovine fetus. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000; 278: L105–110
 - 40 Mason CA, Chang P, Fallery C, et al: Nitric oxide mediates LC-3-dependent regulation of fibronectin in ductus arteriosus intimal cushion formation. *FASEB J* 1999; 13: 1423–1434
 - 41 Clyman RI, Mauray F, Heymann MA, et al: Influence of increased pulmonary vascular pressures on the closure of the ductus arteriosus in newborn lambs. *Pediatr Res* 1989; 25: 136–142
 - 42 Coceani F, Kelsey L, Seidlitz E, et al: Carbon monoxide formation in the ductus arteriosus in the lamb: implications for the regulation of muscle tone. *Br J Pharmacol* 1997; 120: 599–608
 - 43 Nakanishi T, Gu H, Hagiwara N, et al: Mechanisms of oxygen-induced contraction of ductus arteriosus isolated from the fetal rabbit. *Circ Res* 1993; 72: 1218–1228
 - 44 Coceani F, Kelsey L: Endothelin-1 release from lamb ductus arteriosus: relevance to postnatal closure of the vessel. *Can J Physiol Pharmacol* 1991; 69: 218–221
 - 45 Coceani F, Kelsey L, Seidlitz E: Evidence for an effector role of endothelin in closure of the ductus arteriosus at birth. *Can J Physiol Pharmacol* 1992; 70: 1061–1064
 - 46 Fineman JR, Takahashi Y, Roman C, et al: Endothelin-receptor blockade does not alter closure of the ductus arteriosus. *Am J Physiol* 1998; 275: H1620–1626
 - 47 Tristani-Firouzi M, Reeve HL, Tolarova S, et al: Oxygen-induced constriction of rabbit ductus arteriosus occurs via inhibition of a 4-aminopyridine-, voltage-sensitive potassium channel. *J Clin Invest* 1996; 98: 1959–1965
 - 48 Michelakis E, Rebecky I, Bateson J, et al: Voltage-gated potassium channels in human ductus arteriosus. *Lancet* 2000; 356: 134–137
 - 49 Reeve HL, Tolarova S, Nelson DP, et al: Redox control of oxygen sensing in the rabbit ductus arteriosus. *J Physiol* 2001; 533: 253–261
 - 50 Wu GR, Jing S, Momma K, et al: The effect of vitamin A on contraction of the ductus arteriosus in fetal rat. *Pediatr Res* 2001; 49: 747–754
 - 51 Sakurai H, Imamura S, Furutani Y, et al: Unique expression patterns of myosin heavy chain genes in the ductus arteriosus and uterus of rabbits. *J Vet Med Sci* 1999; 61: 1049–1054
 - 52 Momma K, Toyono M, Miyagawa-Tomita S: Accelerated maturation of fetal ductus arteriosus by maternally administered vitamin A in rats. *Pediatr Res* 1998; 43: 629–632
 - 53 Mason CA, Bigras JL, O'Blenes SB, et al: Gene transfer in utero biologically engineers a patent ductus arteriosus in lambs by arresting fibronectin-dependent neointimal formation. *Nat Med* 1999; 5: 176–182
 - 54 Clyman RI, Seidner SR, Kajino H, et al: VEGF regulates remodeling during permanent anatomic closure of the ductus arteriosus. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2002; 282: R199–206
 - 55 Kajino H, Goldberg S, Roman C, et al: Vasa vasorum hypoperfusion is responsible for medial hypoxia and anatomic remodeling in the newborn lamb ductus arteriosus. *Pediatr Res* 2002; 51: 228–235
 - 56 Gittenberger-de Groot AC, van Ertbruggen I, Moulart AJ, et al: The ductus arteriosus in the preterm infant: histologic and clinical observations. *J Pediatr* 1980; 96: 88–93
 - 57 Weiss H, Cooper B, Brook M, et al: Factors determining reopening of the ductus arteriosus after successful clinical closure with indomethacin. *J Pediatr* 1995; 127: 466–471
 - 58 Clyman RI, Mauray F, Rudolph AM, et al: Age-dependent sensitivity of the lamb ductus arteriosus to indomethacin and prostaglandins. *J Pediatr* 1980; 96: 94–98
 - 59 Bhattacharya M, Asselin P, Hardy P, et al: Developmental changes in prostaglandin E(2) receptor subtypes in porcine ductus arteriosus. Possible contribution in altered responsiveness to prostaglandin E(2). *Circulation* 1999; 100: 1751–1756
 - 60 Bouayad A, Kajino H, Waleh N, et al: Characterization of PGE₂ receptors in fetal and newborn lamb ductus arteriosus. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 280: H2342–2349
 - 61 Nguyen M, Camenisch T, Snouwaert JN, et al: The prostaglandin receptor EP4 triggers remodelling of the cardiovascular system at birth. *Nature* 1997; 390: 78–81
 - 62 Segi E, Sugimoto Y, Yamasaki A, et al: Patent ductus arteriosus and neonatal death in prostaglandin receptor EP4-deficient mice. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 2246: 7–12
 - 63 Mahony L, Carnero V, Brett C, et al: Prophylactic indomethacin therapy for patent ductus arteriosus in very- low-birth-weight infants. *N Engl J Med* 1982; 306: 506–510
 - 64 Clyman RI, Campbell D: Indomethacin therapy for patent ductus arteriosus: when is prophylaxis not prophylactic? *J Pediatr* 1987; 111: 718–722
 - 65 Narayanan M, Cooper B, Weiss H, et al: Prophylactic indomethacin: factors determining permanent ductus arteriosus closure. *J Pediatr* 2000; 136: 330–337
 - 66 Van Overmeire B, Smets K, Lecoutere D, et al: A comparison of ibuprofen and indomethacin for closure of patent ductus arteriosus. *N Engl J Med* 2000; 343: 674–681
 - 67 Seidner SR, Chen YQ, Oprysko PR, et al: Combined prostaglandin and nitric oxide inhibition produces anatomic remodeling and closure of the ductus arteriosus in the premature newborn baboon. *Pediatr Res* 2001; 50: 365–373
 - 68 Takizawa T, Kihara T, Kamata A: Increased constriction of the ductus arteriosus with combined administration of indomethacin and L-NAME in fetal rats. *Biol Neonate* 2001; 50: 64–67
 - 69 Heymann MA, Rudolph AM: Ductus arteriosus dilatation by prostaglandin E1 in infants with pulmonary atresia. *Pediatrics* 1977; 59: 325–329