

令和 3 年 5 月 16 日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K15572

研究課題名(和文) オーフアンG蛋白質共役受容体を介した生体リズム中枢の光環境適応メカニズムの解明

研究課題名(英文) Elucidation of the mechanism of adaptation to light environment in SCN via orphan G protein-coupled receptors.

研究代表者

村井 伊織 (Murai, Iori)

国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター・客員研究員

研究者番号：40792370

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：生物の概日時計で最も重要な外部同調因子は光であるが、脳内で光情報が統合されるプロセスは不明である。本研究では、体内時計の中枢である視交叉上核に着目し、機能未定のオーファンG蛋白質共役受容体を介した概日時計の光環境適応プロセスを解明することを目的とした。視交叉上核での機能が未知であるG蛋白質共役受容体を探索した結果、カルシトニン受容体が視交叉上核に発現し、体温の日内変動を規定する因子となることを新たに見出した。また、Vipr2受容体のmRNAが外側膝状体に強く発現し、網膜から投射を受ける側の外側膝状体におけるVipr2発現量は非投射の側よりも減少した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現代社会では夜間に大量の人工的な光を浴びる機会が多く、それが不眠症や精神疾患、高血圧症などの疾病につながる危険性が指摘されているが、脳内において光情報が統合され、外部環境に適応するプロセスは分かっていない。本研究成果はカルシトニン受容体の概日リズムへの新たな機能やVipr2を介した新たな脳内光情報処理回路の存在を示唆する知見で、概日時計の光環境への適応メカニズムの理解につながることで期待される。

研究成果の概要(英文)：Light is the most important external entrainment factor for the circadian clock in organisms, but the underlying process of integration of light information in the brain is unknown. In this study, we focused on the suprachiasmatic nucleus (SCN), the center of the biological clock, to elucidate the adaptation process of the circadian clock to the light environment via orphan G-protein-coupled receptors. We searched for G protein-coupled receptors whose functions in the suprachiasmatic nucleus are unknown, and found that calcitonin receptors are expressed in the suprachiasmatic nucleus and play a role in the diurnal variation of body temperature. We also found that Vipr2 receptor mRNA was strongly expressed in the lateral geniculate body, and Vipr2 expression in the lateral geniculate body on the side of retinal projection was reduced compared to the non-projecting side.

研究分野：神経科学

キーワード：概日リズム 光環境 視交叉上核 外側膝状体 Vipr2

1. 研究開始当初の背景

生物には概日時計と呼ばれる体内時計機能が備わっている。生物固有の概日リズムは正確に24時間ではないため、体内時計の周期を外部からの24時間周期の環境シグナルに同調させる必要があるが、その中で最も重要なシグナルは光である。しかし、現代社会では夜間に大量の人工的な光を浴びる機会が多く、それが不眠症や精神疾患、高血圧症などの疾病につながる危険性が指摘されている。眼で受容した光の情報は体内時計の中枢器官である脳内の視交叉上核に伝えられ、視交叉上核のニューロン群において体内時計の時刻情報と外界の光情報が統合されることが知られているが、脳内において光情報がどのように統合され、外部環境に適応するのはまだごく一部しか分かっていない。

2. 研究の目的

申請者はこれまでに、生体内において細胞間情報伝達に重要な役割をもつG蛋白質共役型受容体(GPCR)ファミリーに着目し、機能未定のオーファンGPCRを対象とした探索研究を行った。その結果、体内時計の周期調節に関わるGPR176を同定し、中枢時計の光環境応答機構に関与することを見出した。本研究ではこの知見を踏まえ、体内時計の中枢である視交叉上核に着目し、機能未定のオーファンG蛋白質共役受容体を介した光情報統合機構を調査することで、脳内における概日時計の光環境適応プロセスを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) GPR176と協働し、体内時計の光環境応答機能に関与する可能性が高いG蛋白質共役受容体を探索した。視交叉上核における対象分子の発現パターンを明らかにするため、免疫組織化学法を用いて視交叉上核の陽性ニューロンを検出した。加えて、視交叉上核のリズム発振に重要な機能を担う神経ペプチドとされる血管作動性腸管ポリペプチド(VIP)やアルギニンバソプレッシン(AVP)との二重染色を行った。

(2) オーファンG蛋白質共役受容体GPR176と共に哺乳類視交叉上核の時計細胞に発現し、概日リズム発振の中核的な役割を果たすG蛋白質共役受容体であるVIP受容体(Vipr2)に着目し、*in situ* hybridization法を用いてマウス脳内におけるmRNA発現ニューロンを検出した。また、マウスの片側の眼球を摘出し、脳外側膝状体の左右それぞれのVipr2のmRNA発現量をRI *in situ* hybridization法を用いて定量的に検出し比較した。

4. 研究成果

(1) 生体リズムに関与し、機能が未知であるG蛋白質共役受容体の候補を探索した結果、カルシトニン受容体が視交叉上核に発現し、体温の日内変動パターンを規定する新たな因子となることを新たに見出した(図1; Goda *et al.*, Genes Dev 2018)。視交叉上核は形態学的に、網膜の神経節細胞が直接入力する腹外側部と、直接の入力を受けない背内側部の二つに分けられるが、腹外側部の神経細胞にはVIP、背内側部の神経細胞にはAVPが特異的に発現している。このカルシトニン受容体を介した神経連絡網が視交叉上核においてどのように分布しているのかを明らかにするために、マウス脳を用いて免疫組織化学法による解析を行い、VIPおよびAVPとの共局在の程度を調べた。その結果、カルシトニン受

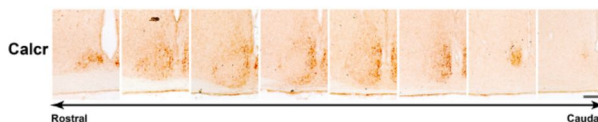


図1. マウス視交叉上核におけるカルシトニン受容体の免疫組織化学的解析。視交叉上核の吻側から尾側にかけて、カルシトニン受容体は主に背内側部に発現している。

容体は視交叉上核の AVP ニューロンの約 65%に発現する一方で、光入力細胞である腹外側部VIPニューロンとは共局在しないことがわかった(図2)。今後、これらの成果に基づきさらなる研究によって、細胞レベルでの温度概日時計連絡機構や、生体レベルにおける外部環境への適応メカニズムの理解につながることを期待される。

(2) *Vipr2* 受容体の脳内発現分布を検索した結果、視交叉上核、嗅球内顆粒細胞層、扁桃体中心核、迷走神経背側核とともに、視床の多数の神経核に *Vipr2* の mRNA が発現することが分かった。視床での分布をさらに詳細に検索すると、視床外側膝状体、視床後外側腹側核、内側膝状体、視床後外側核、視床背内側核、視床腹内側核に発現していた。この中で特に興味深いのは、光情報を伝達する網膜の神経節細胞が終末する外側膝状体に *Vipr2* が強く発現することであった。そこで、網膜からの外側膝状体への光情報の投射がマウスでは片側性であることを利用して、片側の眼球を摘出したマウスの外側膝状体における *Vipr2* 発現量を調べた。その結果、網膜からの投射を受ける側の外側膝状体における *Vipr2* 発現量は、非投射の側の発現量よりも減少した。これは脳内に *Vipr2* を介した新たな光情報処理回路が存在する可能性を示唆する知見である。今後、これらの成果に基づいて網膜から脳に至る視覚神経回路を詳細に解析することによって、概日時計の光環境への適応メカニズムの理解につながる可能性が期待される。

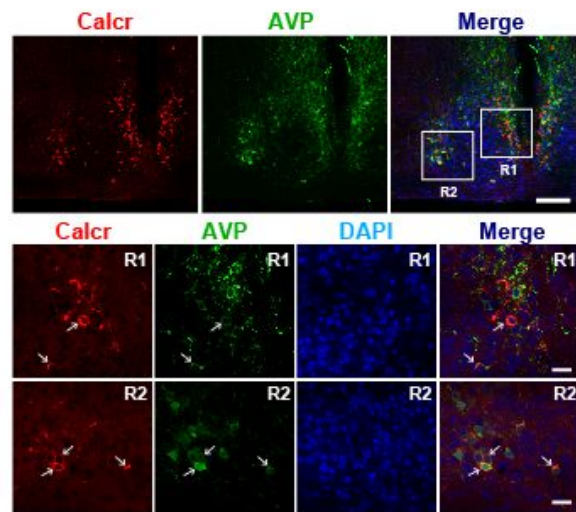


図 2. 視交叉上核におけるカルシトニン受容体および AVP の二重免疫染色像. R1, R2 は白枠で囲んだ部分を拡大している (Goda *et al.*, *Genes Dev* 2018).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Doi Masao, Shimatani Hiroyuki, Atobe Yuta, Murai Iori, Hayashi Hida, Takahashi Yukari, Fustin Jean-Michel, Yamaguchi Yoshiaki, Kiyonari Hiroshi, Koike Nobuya, Yagita Kazuhiro, Lee Choogon, Abe Manabu, Sakimura Kenji, Okamura Hitoshi	4. 巻 10
2. 論文標題 Non-coding cis-element of Period2 is essential for maintaining organismal circadian behaviour and body temperature rhythmicity	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-10532-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Goda Tadahiro, Doi Masao, Umezaki Yujiro, Murai Iori, Shimatani Hiroyuki, Chu Michelle L., Nguyen Victoria H., Okamura Hitoshi, Hamada Fumika N.	4. 巻 32
2. 論文標題 Calcitonin receptors are ancient modulators for rhythms of preferential temperature in insects and body temperature in mammals	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Genes & Development	6. 最初と最後の頁 140 ~ 155
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1101/gad.307884.117	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Tainaka Motomi, Doi Masao, Inoue Yuichi, Murai Iori, Okamura Hitoshi	4. 巻 35
2. 論文標題 Circadian PER2 protein oscillations do not persist in cycloheximide-treated mouse embryonic fibroblasts in culture	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Chronobiology International	6. 最初と最後の頁 132 ~ 136
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/07420528.2017.1316731	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Goto Kaoru, Doi Masao, Wang Tianyu, Kunisue Sumihiro, Murai Iori, Okamura Hitoshi	4. 巻 64
2. 論文標題 G-protein-coupled receptor signaling through Gpr176, Gz, and RGS16 tunes time in the center of the circadian clock.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Endocrine Journal	6. 最初と最後の頁 571-579
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1507/endocrj.EJ17-0130	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 村井伊織、土居雅夫、岡村均
2. 発表標題 Vipr2の視床における発現と網膜入力の影響
3. 学会等名 第25回日本時間生物学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Murai I, Doi M, Okamura H
2. 発表標題 Gpr176 is a Gz-linked orphan GPCR that sets the pace of the circadian clock through counteracting with Vip-Vipr2-Gs signaling.
3. 学会等名 第14回GPCR研究会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------