

令和 6 年 6 月 26 日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2023

課題番号：18K16488

研究課題名(和文)新規Lドーパ受容体の心血管系調節機構とその周術期における病態生理学的解析

研究課題名(英文) Cardio modulative function of L-DOPA receptors in perioperative pathophysiology

研究代表者

古賀 資和 (KOGA, Motokazu)

横浜市立大学・医学研究科・客員研究員

研究者番号：00637233

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)：これまで、我々はカテコラミン前駆物質であるL-DOPAに特異的な生理作用があると考え、検討を続けてきた。そして、肺血管においてはアドレナリン受容体の刺激による肺血管収縮をL-DOPAが無作用量で増強することが明らかになった。それを踏まえ、肺血管におけるL-DOPAの役割を検討した。アドレナリン受容体の応答に加え、セロトニン受容体やアセチルコリン受容体の応答を修飾することが明らかになったが、その特異性や選択性を確認するために遺伝子修飾動物が必要となった。そこでGPR143欠損ラットを作成した。その肺血管を用いた検討により、アドレナリン受容体の応答を部分的に修飾していることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

私たちの発見により、これまで生理活性がないとされていた化合物に生理活性があることや特異的な受容体があることが明らかになった。新しい受容体とそのリガンドの生体内での役割を研究していくことで今まで説明できなかった疾患や生理現象を説明できるきっかけになる可能性があることを示唆していると考え、未知の受容体やシグナル応答が明らかになったと考えるとその学術的意義も大きい。疾病の機序解明による新規治療法の開発などにつながる成果となる可能性を考えると社会的な意義も大きい。

研究成果の概要(英文)：We have reported that L-DOPA, precursor of catecholamine, has specific actions. GPR143 is a candidate of L-DOPA receptor. In our previous report, we found GPR143 deficient mice lacks enhancement of adrenergic signals in blood pressure regulation. Therefore to elucidate the roles of L-DOPA and GPR143, we have investigated in pulmonary artery. In pulmonary artery we found modulation of not only in adrenergic response but also in serotonin and cholinergic response. Due to difficulty to investigate specificity and selectivity of L-DOPA signals, we have developed GPR143 deficient rat and used its pulmonary artery. In pulmonary of GPR143 deficient rat, we found L-dopa's enhancement was attenuated in pulmonary artery. Our findings are reported in 2022 to the Journal of Pharmacological Sciences.

研究分野：麻酔科学

キーワード：GPR143 フェニレフリン セロトニン L-DOPA

### 1. 研究開始当初の背景

我々は、カテコラミン前駆物質である L-DOPA に特異的な応答があると考え、検討を重ねてきた。GPR143 は L-DOPA との相互作用があることが見出された膜受容体であり、この分子生体応答における役割を検証してきた。GPR143 欠損マウスでは、フェニレフリンによる血圧上昇が減弱することが明らかになった。そして、ラット肺血管においても、フェニレフリンの応答が修飾されている可能性が見出されたことから、循環制御における L-DOPA/GPR143 系の役割を検証することとなった。

### 2. 研究の目的

本研究室は長年、L-DOPA に特異的な薬理作用があること、特定の刺激に応じて分泌がなされることを報告してきた。このような他の神経伝達物質に類似の特性を持つものの、その全貌は未解明である。このような発見とその後の研究は、国内外に類を見ないものであり、本研究の学術的独自性、創造性は高い。

今回の研究は脳内での GPR143 の発現分布のパターンがドパミン神経系に類似している点（未発表データ）や脳幹における血圧下降、血管や血圧の制御に対する応答の報告より着想し、L-DOPA/GPR143 が単一臓器にとどまらない生体応答を修飾する可能性を見出し、証明することを目的とする。この研究の成果により全身の生体応答に関する各臓器に共通する制御機構が存在するかを検証し、麻酔科学領域の基盤となる生体侵襲に対する新しい概念や管理方法を提唱することを目的とする。

### 3. 研究の方法

#### (1)

SD ラットのオスに全身麻酔を行い、大量出血により淘汰したのち、心臓と肺を摘出し、顕微鏡下で肺血管を摘出した。血管内皮を除去したのちリング標本を作成した。この血管をマイクロマグナス装置にセットし、各種血管作動薬による血管収縮があらかじめ処置した L-DOPA により修飾されるかを血管張力測定により検討する。

#### (2)

8 週齢の SD ラットにモノクロタリン 60mg/kg を皮下投与することで肺高血圧 / 肺血管障害モデル動物を作成した。このモデル動物に観血的に血圧測定装置を挿入し、心拍量、右心室圧、血圧などを測定した。

#### (3)

SD ラットの受精卵に CRISPR/Cas9 の技術を適用し GPR143 遺伝子の第一エクソン部分を欠損させることで、GPR143 欠損ラットを作成した。作成したラットは繁殖させることで必要な数や適切な週齢まで飼育することが可能なため、野生型の SD ラットを対照として同様の実験を行い、GPR143 の役割を検証することにした。

### 4. 研究成果

#### (1)

GPR143 遺伝子欠損マウスでも認められていた、フェニレフリン誘発応答に対する L-DOPA の修飾作用はラット肺血管でも認められており、それが特異的拮抗薬である DOPA-CHE である程度拮抗されることは、過去の研究課題でも報告してきたが、今回は GPR143 欠損ラットの肺結果を使用した検証も行うことができた。結果、GPR143 欠損ラットにおいては L-DOPA 添加による肺血管収縮の増強作用が見られないことが明らかになった。今回報告することはできなかったが、セロトニン誘発肺血管収縮も L-DOPA の添加により増強されることが明らかになったが、この現象は L-DOPA の拮抗薬や GPR143 欠損ラットによる効果の消失が不十分であった。今後の検討課題である。

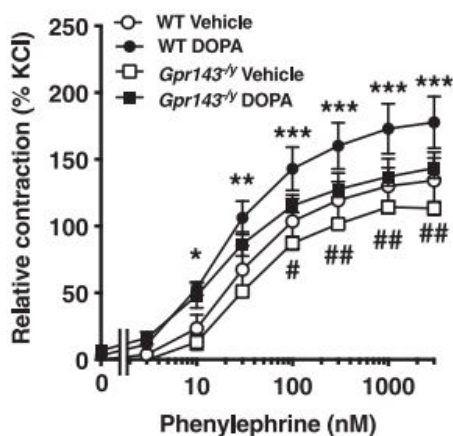
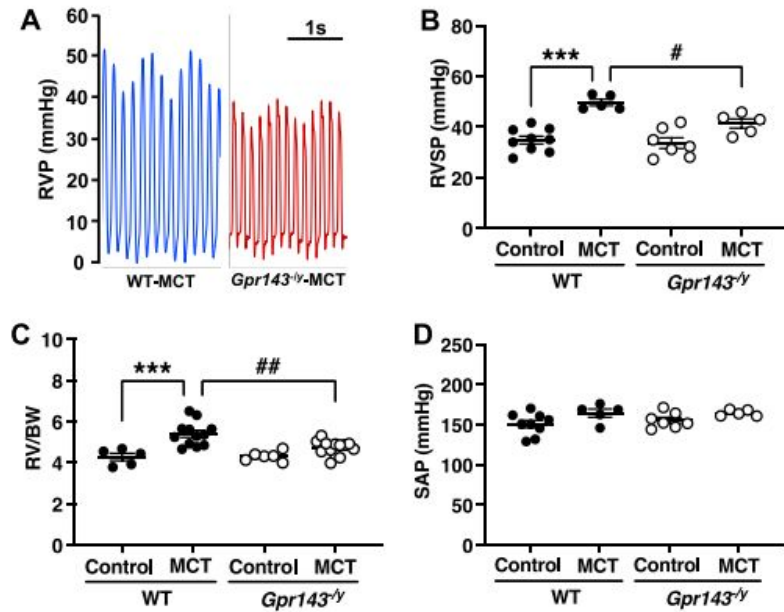


図1 GPR143 欠損ラットと野生型ラットにおける L-DOPA 添加後肺血管収縮の違い。野生型は L-DOPA 添加により から に収縮曲線が変化したが、GPR143 欠損らとでは、 から 程度の変化にとどまり、明確な修飾作用は認められなかった。

(2)

野生型のラットでは図2Aのようにモノクロタリン投与で著名な右心圧の上昇を認めるが、GPR143欠損ラットでは野生型に比べて右心室圧の上昇が軽度であり、モノクロタリン非投与群との間に統計的に有意な右室圧上昇を伴わないことが明らかになった。(図2B)このことの意義については今後の検討課題である。

図2 モノクロタリン誘発による心血管パラメータの変化とGPR143欠損ラットにおける違いA 観血的右室圧 B モノクロタリン処理による変化。遺伝子欠損ラットではモノクロタリン処理による上昇が減弱している。同様の傾向は、右室重量の体重との比率についても同様の傾向にある。(図2C) 体血圧(図2D)はGPR143遺伝子の修飾やモノクロタリン処置に関係なく変化は見られなかった。



(3)

作成されたGPR143欠損ラットは正常に繁殖し、体重などの一般的な性状に野生型との大きな差はみられなかった。遺伝子の欠損の確認はPCR法や免疫組織化学染色により確認した。

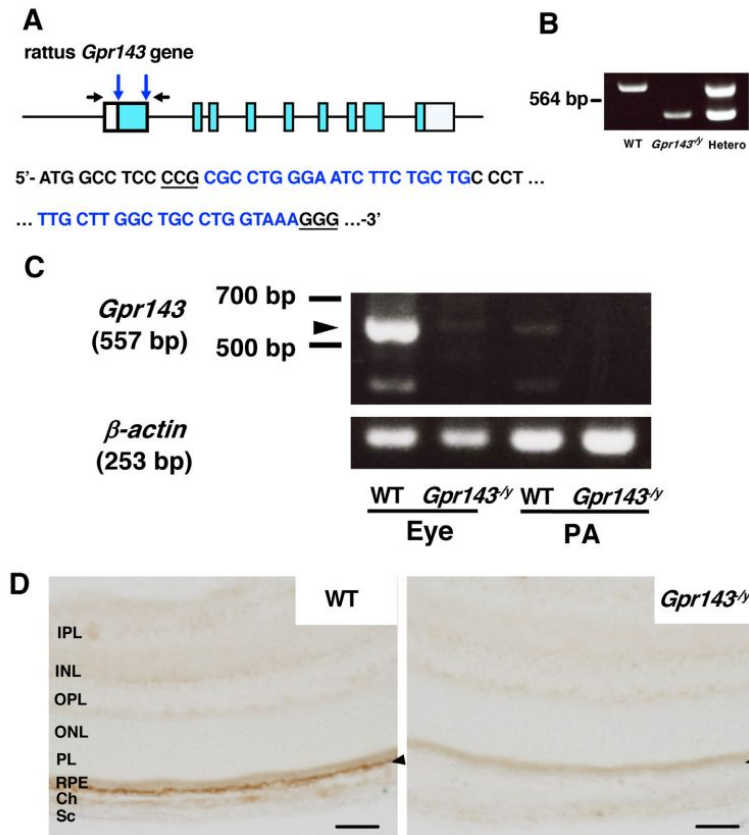


図3 GPR143遺伝子欠損ラットの作成について

図3Aはデザインの模式図で第一エクソン部分を欠損させている。図3Bのように遺伝子欠損ラットのGPR143 mRNAには短縮が見られており、雌のヘテロ型の場合、両方の遺伝子が検出されている。眼球や肺血管などでも同様の所見があることが確認できる(図3C)免疫染色では網膜色素上皮のたんぱくレベルでの違いが確認できている。(図3D)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Nakano Masayuki, Koga Motokazu, Hashimoto Tatsuo, Matsushita Natsuki, Masukawa Daiki, Mizuno Yusuke, Uchimura Hiraku, Niikura Ryo, Miyazaki Tomoyuki, Nakamura Fumio, Zou Suo, Shimizu Takahiro, Saito Motoaki, Tamura Kouichi, Goto Takahisa, Goshima Yoshio	4. 巻 148
2. 論文標題 Right ventricular overloading is attenuated in monocrotaline-induced pulmonary hypertension model rats with a disrupted Gpr143 gene, the gene that encodes the 3,4-l-dihydroxyphenylalanine (l-DOPA) receptor	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Pharmacological Sciences	6. 最初と最後の頁 214 ~ 220
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jphs.2021.11.008	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0件

〔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
---------	---------