

令和 3 年 6 月 25 日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K16375

研究課題名（和文）ドーパミン神経伝達機構におけるドーパ受容体GPR143の関与

研究課題名（英文）Involvement of GPR143 in the regulation of dopamine D2 receptor signaling

研究代表者

笠原 由佳（KASAHARA, Yuka）

横浜市立大学・医学部・助教

研究者番号：50838208

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）：我々は、これまでにドーパ受容体GPR143遺伝子欠損マウスにおいてドーパミンD2受容体作動薬の作用が弱まることを発見し、GPR143がD2受容体を介したドーパミン神経系のシグナル伝達の制御に関与すると考えた。そこで、申請者は、「GPR143はD2受容体とヘテロオリゴマーを形成し、ドーパミン神経伝達を修飾することで、その生理学的機能を制御する」という仮説を立てた。本研究では、遺伝学的、組織化学的、電気生理学、薬理学的手法により、この仮説について検証した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果は、これまで不明であったドーパ-GPR143シグナリングによる神経伝達制御機構の解明に迫るものであり、生物学上非常に有用であると考えられる。本研究により、ドーパが神経修飾物質である可能性が明らかになり、所属研究室にて提唱するドーパ神経伝達物質仮説がより強く裏付けられた。また、得られた新知見がドーパミン伝達障害を伴う神経変性疾患の発症メカニズムの解明に貢献し得るという点においても意義深いものであると考えられる。

研究成果の概要（英文）：GPR143, the protein product of the oa1 gene, possesses L-DOPA binding activity and could function as an L-DOPA receptor. Although GPR143 is broadly expressed in the central nervous system, the mechanisms and functions of GPR143 still remain obscure. Here, we show that GPR143 sensitizes the effects of dopamine D2 receptor modulator. In WT mice, the administration of the dopamine D2 receptor agonist, quinpirole, transiently reduced locomotion. The effect was attenuated in GPR143 deficient mice. We further found that deficiency of GPR143 altered quinpirole-mediated dopamine D2 receptor-dependent activation of serine/threonine protein kinase. Our findings suggest that GPR143 could modulate dopaminergic neurotransmission through sensitizing D2 receptor.

研究分野：神経科学

キーワード：ドーパ ドーパ受容体GPR143 ドーパミンD2受容体 ドーパミン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

所属研究室では、これまでにドーパミン前駆体であるドーパが神経伝達物質である可能性を示し、ドーパ神経伝達物質仮説を提唱してきた (Misu and Goshima, *Tips*, 1993)。さらに、近年、ドーパ受容体である GPR143 が血管平滑筋に発現する 1-アドレナリン受容体と相互作用し、そのシグナル伝達を増幅し、血圧の制御に関わることを明らかにした (Masukawa et al., *JCI Insight*, 2017)。これらの知見を踏まえ、申請者は、中枢神経系においてもドーパが GPR143 を介し、他のモノアミン受容体の機能にも関与するのではないかと考えた。そこで、GPR143 遺伝子欠損 (GPR143-KO) マウスにおいてモノアミン作動性神経の活性を薬理的に操作し、行動表現型を観察することにより、GPR143 と相互作用し得るモノアミン受容体のスクリーニングを行った。この結果、野生型に比べ、GPR143-KO マウスにおいてドーパミン D2 受容体 (D2R) 作動薬 (クインピロール) による運動量の低下が抑制される可能性を見出した。そこで、申請者は、「GPR143 は D2R と相互作用し、ドーパミン神経伝達を修飾することで、その生理学的機能を制御する」という仮説を立てた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、ドーパ受容体 GPR143 とモノアミン受容体との機能的連関を明らかにし、その連関が脳のどの部位で起こり、表現型として現れるかを明らかにすることである。

3. 研究の方法

仮説を検証するため、GPR143 と D2R との相互作用の有無、及び、この相互作用がドーパミンシグナル伝達機構に与える影響についての検討、GPR143 が D2R を媒介した行動表現型に与える影響についての検討を行った。

GPR143 が D2R シグナル伝達機構に与える影響について解明するため、薬理学及び生理学的手法により D2R 下流シグナルの活性化 (GSK3 β のリン酸化) の程度を評価した。観察する脳領域としては、ドーパミン作動性神経の投射が特に多い線条体を選択した。

GPR143-KO マウスにおいて観察された、クインピロールへの薬剤応答性の変化が、線条体にアデノ随伴ウイルスを投与し、GPR143 を再発現させることで抑制されるか検討した。また、D2R を介する行動変化への GPR143 の関与をより詳細に検討するため、D2R 阻害薬であるハロペリドールにより誘起される行動表現型への影響を野生型と GPR143-KO マウスとの間で比較・解析した。

4. 研究成果

ウェスタンブロッティング法により線条体の GSK3 β のリン酸化レベルを評価した結果、定常状態において GPR143 遺伝子の有無による影響は観察されなかった。一方、クインピロール投

与により D2R シグナル伝達系を賦活化した場合、GSK3 β のリン酸化レベルは野生型に比べ、GPR143-KO マウスで減弱した (図 1)。この結果から、GPR143 が D2R を介したドパミンシグナル伝達機構の制御に与ることが示唆された。

GPR143-KO マウスにおいて観察された、クインピロールへの薬剤応答性の変化について例数を追加し、有意性を確認した。定常状態における運動量は、野生型及び GPR143-KO マウスで変化しなかった。クインピロール (0.03mg/kg, i.p.) によって誘起される運動量の低下は、野生型に比べて GPR143-KO マウスで抑制された (図 2 上)。次に、GPR143 を再発現させるため、AAV DJ-CAGGS-GPR143-GFP-WPRE ベクターを作製した。In vitro 及び in vivo レベルで細胞への感染及び GPR143 の発現を確認した後、このウイルスを GPR143-KO マウスの線条体に投与した。この

結果、GPR143 欠損によって生じるクインピロール投与による運動量への影響の変化は、GPR143 の再発現により抑制されることが明らかになった (図 2 下)。また、ハロペリドール (0.5mg/kg, i.p.) によって D2R を阻害した際に生じるカタレプシー (一定の姿勢の保持) の程度は、野生型に比べて PR143-KO マウスで減弱した。以上の結果から、線条体において GPR143 が D2R と関連し、D2R シグナル伝達機構及び D2R を介した行動表現型に与ることが示唆された。

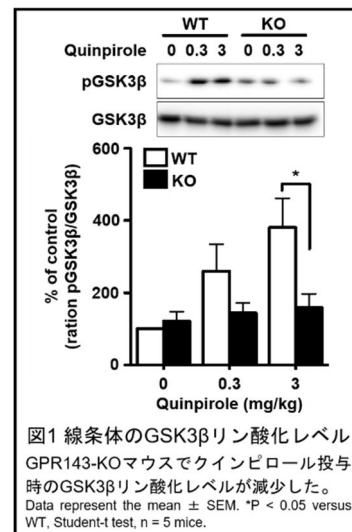


図1 線条体のGSK3 β リン酸化レベル
GPR143-KOマウスでクインピロール投与時のGSK3 β リン酸化レベルが減少した。
Data represent the mean \pm SEM. *P < 0.05 versus WT, Student-t test, n = 5 mice.

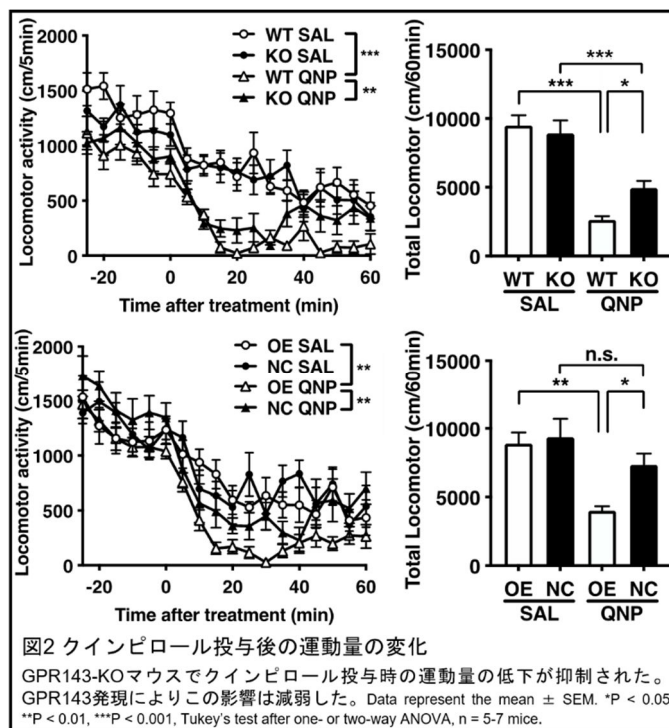


図2 クインピロール投与後の運動量の変化
GPR143-KOマウスでクインピロール投与時の運動量の低下が抑制された。
GPR143発現によりこの影響は減弱した。Data represent the mean \pm SEM. *P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001, Tukey's test after one- or two-way ANOVA, n = 5-7 mice.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2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 Goshima Y, Masukawa D, Kasahara Y, Hashimoto T, Aladeokin AC. | 4. 巻 10 |
| 2. 論文標題 2 l-DOPA and Its Receptor GPR143: Implications for Pathogenesis and Therapy in Parkinson's Disease. | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Front Pharmacol. | 6. 最初と最後の頁 1-9 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fphar.2019.01119. eCollection 2019. | 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 - |
| 1. 著者名 Masukawa Daiki, Nishizawa Daisuke, Kanai Kaori, Kitamura Satoshi, Kasahara Yuka, Hashimoto Tatsuo, Takahagi Ryo, Hasegawa Junko, Nakayama Kyoko, Sato Naomi, Tanioka Fumihiko, Sugimura Haruhiko, Ikeda Kazutaka, Goshima Yoshio | 4. 巻 144 |
| 2. 論文標題 Genetic associations of single nucleotide polymorphisms in the l-DOPA receptor (GPR143) gene with severity of nicotine dependence in Japanese individuals, and attenuation of nicotine reinforcement in Gpr143 gene-deficient mice | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Pharmacological Sciences | 6. 最初と最後の頁 89～93 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jphs.2020.07.003 | 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 Kasahara Yuka, Masukawa Daiki, Nakamura Yoshie, Murata Koshi, Hashimoto Tatsuo, Takizawa Kohtaro, Koga Motokazu, Nakamura Fumio, Fukazawa Yugo, Funakoshi Kengo, Goshima Yoshio | 4. 巻 - |
| 2. 論文標題 Distribution of mRNA for GPR143, a receptor of 3,4-L-dihydroxyphenylalanine, and of immunoreactivities for nicotinic acetylcholine receptors in the nigrostriatal and mesolimbic regions | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Neuroscience Research | 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） 10.1016/j.neures.2020.08.003 | 査読の有無 無 |
| 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 - |

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

| |
|---|
| 1. 発表者名 柴田龍之介、笠原由佳、五嶋良郎 |
| 2. 発表標題 痙攣発作誘導後に生じる海馬の病理的变化におけるGPR143の関与 |
| 3. 学会等名 第93回日本薬理学会年会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 笠原 由佳、五嶋 良郎 |
| 2. 発表標題 Impairment of hippocampal neurogenesis during development in GPR143-KO mouse. |
| 3. 学会等名 第43回日本神経科学大会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 笠原 由佳 |
| 2. 発表標題 熱性けいれんフェノタイプに対するGABAA受容体賦活薬の影響 |
| 3. 学会等名 生体機能と創薬シンポジウム2019 |
| 4. 発表年 2019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 |
|---------|---------|
|---------|---------|