

平成 30 年 6 月 12 日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K21271

研究課題名(和文)肺高血圧症における新規ドーパ受容体GPR143の機能解析

研究課題名(英文)Functional Analysis of GPR143 in Pulmonary Hypertension

研究代表者

古賀 資和 (KOGA, Motokazu)

横浜市立大学・医学部・助教

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)：以前より、私たちの研究室では、ドパミン前駆物質であるL-DOPAには特異的な生理作用があると考え、研究を行ってきた。2017年に増川らによりL-DOPAの受容体候補GPR-143はアドレナリン受容体と相互作用をし、その作用を修飾していることが報告された。そこで私たちは、ラット肺血管の収縮にL-DOPAが関係しているかを調査した。結果、L-DOPAは肺血管のフェニレフリン誘発肺血管収縮を増強することがわかった。そして、この作用は肺高血圧モデル動物において発症早期に相当する時期に消失することがわかった。肺高血圧症の進展や治療法の開発にこの新しいシグナル伝達系が関わっている可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We have been working that L-DOPA, a dopamine precursor has unique physiological activity. In 2017, Masukawa reported that L-DOPA receptor candidate, GPR-143, interact with alpha adrenergic receptor and modulating its action. Therefore, we have investigated at first that L-DOPA has any interaction to vasoconstriction of pulmonary artery. As a result we found that L-DOPA also enhance phenylephrine induced vasoconstriction in pulmonary artery. Moreover, interestingly, this action is attenuated in early stage of monocrotaline-induced pulmonary hypertensive rat model. This findings may yield novel pathological and therapeutic finding in pulmonary hypertension.

研究分野：薬理学 / 麻酔科学

キーワード：肺高血圧症 L-DOPA GPR143 モノクロタリン

1. 研究開始当初の背景

原因不明の進行性疾患である原発性肺高血圧症は、最も対応の困難な周術期リスクの一つであり、有効な治療法は皆無に等しい。
 1 アドレナリン受容体はノルアドレナリンの血管収縮応答を媒介し、高血圧症の病態に密接に関わる。ノルアドレナリン及びドパミン前駆体ドーパ(L-DOPA)は、その特異的受容体 GPR143 が同定され、新しいシグナル伝達系として確立されつつあった。

2. 研究の目的

我々は GPR143 遺伝子欠損マウスの表現型解析を行う中、L-DOPA が 1 アドレナリン受容体機能を正に修飾するとの新しい予備的知見を得た(研究開始時未発表)。本研究の目的は、肺高血圧症・高血圧症においてこれまで報告がなかった L-DOPA/GPR143 シグナル系の寄与とその機構について解明することである。

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ヌス装置にセットし、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。このモデル動物から得られた肺血管を用いて上記と同様の実験を行い L-DOPA の作用がどのように修飾されるかを検証することで病態生理学的意義を検証した。

(3)

上述の方法により摘出した肺血管の血管内皮を取り除かない状態でリング標本を作成し、フェニレフリンによる収縮をアセチルコリン誘導体であるカルバコール(CCh)により弛緩させ、血管張力の変化を測定した。

(4)

上記実験の際得られた肺組織から、mRNA を抽出、定量的 PCR 法により GPR143 の発現量を測定することで、病態に伴う GPR143mRNA の発現変動も合わせて、検証した。

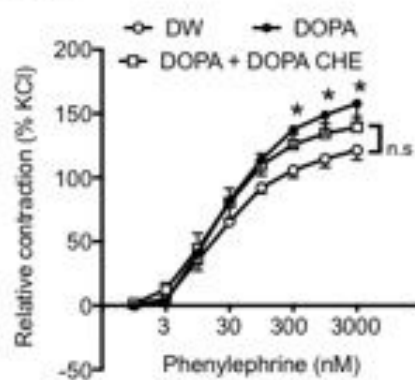
4. 研究成果

(1)

OA1 遺伝子欠損マウスの表現型解析において認められていた、アドレナリン受容体と OA1 の生理学的相互作用は、ラット肺血管においても認められた。フェニレフリン誘発肺血管収縮は、単独では無反応量の L-DOPA の前処置により増強され、その特異的拮抗薬である DOPA-cyclohexyl ester (DOPA-CHE) に

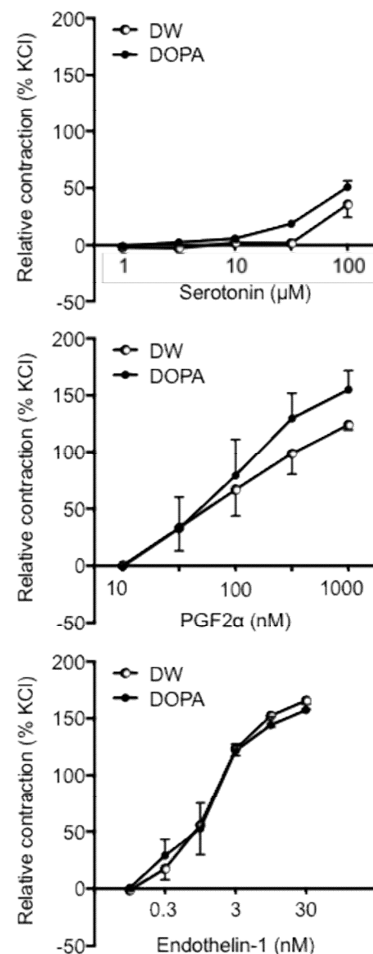
より拮抗されることがわかった(図1)。

図1



このような血管収縮に対する修飾作用は、他の血管収縮薬であるセロトニン、プロスタグランジン F2、エンドセリン-1 による血管収縮応答に対しては認められなかった。(図2)

図2

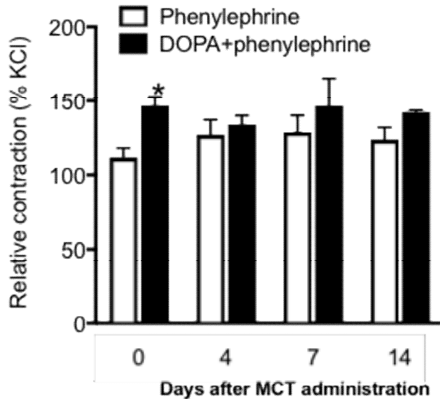


(3)

このような肺血管応答に対する修飾作用を詳細に解析するため、肺高血圧モデル動物として一般的であるモノクロタリン投与ラットモデルを作成した。この肺高血圧モデルの肺血管における、L-DOPA の血管応答に対する修飾作用を検証したところ、モデル動物の病態が確立する以前のモノクロタリン投与

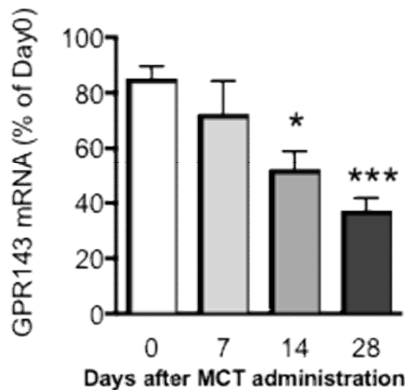
4日目の段階で、すでに L-DOPA による肺血管収縮の修飾作用が消失していることがわ

図3



かった。(図3)このとき、フェニレフリンに対する肺血管収縮は障害されておらず、GPR143のmRNA発現量は有意に低下していることがわかった。(図4)このことは、肺血管

図4

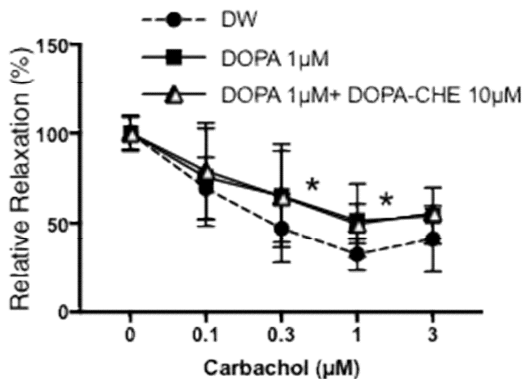


病変の初期にこのシグナル伝達系に何らかの役割があることを示唆するものと考えた。

(3)

そして、予想していなかった成果として、ラット肺血管のアセチルコリン誘発弛緩反応において、L-DOPAはその応答を阻害するがこの応答は、DOPA-CHEにより拮抗され

図5



なかった。(図5)このようにL-DOPAによる生体応答がDOPA-CHEにより拮抗されない現象は、中枢神経系では報告があるが、末梢臓器における報告はない。この現象は、生体内にGPR143とはことなるシグナル伝達系が存在する可能性を示唆する結果と考えている。

この研究において肺血管にL-DOPA-GPR143シグナル伝達系が存在すること、そしてこのシステムが、肺高血圧モデルラットの発症初期の段階で障害されることは新しい発見であり、肺高血圧の病態生理、治療法開発に新たな提案がなされることが示唆される。また、肺血管の弛緩に対するL-DOPAの修飾作用は末梢臓器では初めて認められた編が出会った。これらの解析が新しい生体制御系の発見に繋がると考えている。これらの発見を検証するためには、遺伝子改変ラットの側性などあらたな取り組みが必要であると考えている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0件)

〔学会発表〕(計 1件)

古賀資和他 L-DOPAの肺高血圧モデル肺血管におけるフェニレフリン応答の修飾作用
第136回日本薬理学会関東部会 2017年

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

古賀 資和 (KOGA, Motokazu)

横浜市立大学・医学部・助教

研究者番号：00637233

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：

(4)研究協力者

()