

令和 6 年 6 月 25 日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02673

研究課題名（和文）L-DOPAを生体内活性物質とする中枢神経回路の機能解析

研究課題名（英文）The analysis for the circuits of L-DOPA-containing neurons in the central nervous system

研究代表者

五嶋 良郎（GOSHIMA, Yoshio）

横浜市立大学・医学研究科・客員教授

研究者番号：00153750

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,500,000円

研究成果の概要（和文）：我々は、ドパミン（DA）前駆体、L-ドーパ（DOPA）それ自体が神経伝達物質であるとのDOPA神経伝達物質仮説を提起した。本研究成果は、DOPA受容体の候補として同定したGPR143/OA1（GPR143）が、D2受容体（D2R）とヘテロダイマーを形成し、D2Rを介するシグナルを増強すること、この機構が、生体内において、D2R作動薬、拮抗薬の作用を制御すること、すなわち、D2R機能の新たな修飾機構として生理学的に作動することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々は、それ自体は活性がないと考えられてきたL-ドーパ（DOPA）それ自体が神経伝達物質であるとの作業仮説を提起してきた。DOPAはパーキンソン病（PD）の最も有効な治療薬である。本研究は、DOPAが、DOPA受容体であるGPR143を介して、ドパミンD2受容体（D2R）を生理学的に修飾することを示すものである。またこの事実は、DOPA神経伝達物質仮説をさらに支持するとともに、GPR143が、PDおよび精神神経疾患の新たな創薬ターゲットとなる可能性を示すものである。

研究成果の概要（英文）：We proposed that L-DOPA (DOPA) is by itself a neurotransmitter. We here demonstrated that GPR143/OA1, the receptor of DOPA, when coupled with dopamine D2 receptors (D2R) enhanced D2R-mediated signaling in vitro and in vivo. Quinpirole (QNP), a D2R agonist decreased locomotor activity in mice, and this effect was attenuated in Gpr143 gene-deficient mice. GPR143 interacted with D2R at its 5th transmembrane (TM5) region, and TM5 peptide that interrupted association between GPR143 and D2R mitigated the effect of QNP in vitro and in vivo. DOPA enhanced interaction between GPR143 and D2R and enhanced QNP-induced decrease in cAMP production in cell lines coexpressing D2R and GPR143 but not in cells expressing D2R alone. These findings indicate that GPR143 plays a role in modulating the functions of D2Rs, one of the most important targets for pharmacological agents for neurological and psychiatric disorders.

研究分野：薬理学

キーワード：L-ドーパ GPR143 ドパミン D2受容体 神経伝達物質

1. 研究開始当初の背景

我々は L-3,4-dihydroxyphenylalanine (DOPA)神経伝達物質仮説を提唱、その証左を集積してきた。最近、ヒト眼白子症 ocular albinism-1 の原因遺伝子とされていた G 蛋白質連関型受容体(GPCR)、GPR143/OA1 を、DOPA 受容体として同定した。さらに、新たに小胞性 DOPA 取り込み機構の存在を示唆する知見を得た。本研究により、小胞性 DOPA の取り込み機構の存在が証明され、DOPA の存在・遊離・作用を支える分子機構の全容が明らかとなり、DOPA を神経伝達物質仮説の証明が完結する。さらに、GPR143 がドパミン(DA)D2 受容体 (D2R) と相互作用し、D2R シグナルを修飾することを見出した。さらに、GPR143 欠損マウス、ラットの DOPA 応答を解析する経過において、GPR143 に依存しない DOPA 自体の作用を見出し、新たな DOPA 受容体の存在も明らかになった。研究開始当初においては、DOPA 含有ニューロンからの DOPA 遊離機構、D2R 修飾作用、そしてこの GPR143 非依存性 DOPA 応答の解析を行うことにより、DOPA を生体内活性物質として含む神経回路の生理学的役割を明らかにする事が重要課題となっていた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、(1) DOPA の脱分極性刺激による遊離のメカニズムを明らかにし、さらに、小胞性 DOPA トランスポーター分子の同定をめざして候補分子の探索を行うこと、(2) D2R と GPR143 との機能的連関のメカニズムとその分子機構、生体内における役割を明らかにすること、(3) GPR143 に依存しない DOPA 応答の解析を行うこと、の3つである。

3. 研究の方法

(1) DOPA 遊離の解析、小胞性 DOPA トランスポーターの探索：PC12 培養細胞株において、高カリウム刺激は、DOPA および DA 遊離を誘発する事を見出した。この実験系において、細胞外 Ca²⁺除去の効果、小胞性トランスポーターの機能発現にかかわる分子機構を解析する。小胞性トランスポーター候補分子を選別し、最終候補を特定する。

(2) D2R と GPR143 との機能的連関：DA 受容体 D1-3R および GPR143 を HEK293 細胞に共発現し、それぞれの受容体を介する DA シグナル伝達が、GPR143 および DOPA により修飾を受けるかどうかを解析する。機能的相互作用を示す DA 受容体を特定し、GPR143 との相互作用部位を特定し、この相互作用を阻害するペプチドを合成する。この効果を、in vitro, in vivo で検証し、DA 受容体と GPR143 の相互作用が、GPR143 の修飾効果の発現に必須であるかどうかを検討する。

(3) GPR143 非依存性の DOPA 応答の解析：野生型と GPR143 遺伝子欠損 (GPR143-KO) マウスおよびラットにおいて、DOPA 応答の有無を解析する。

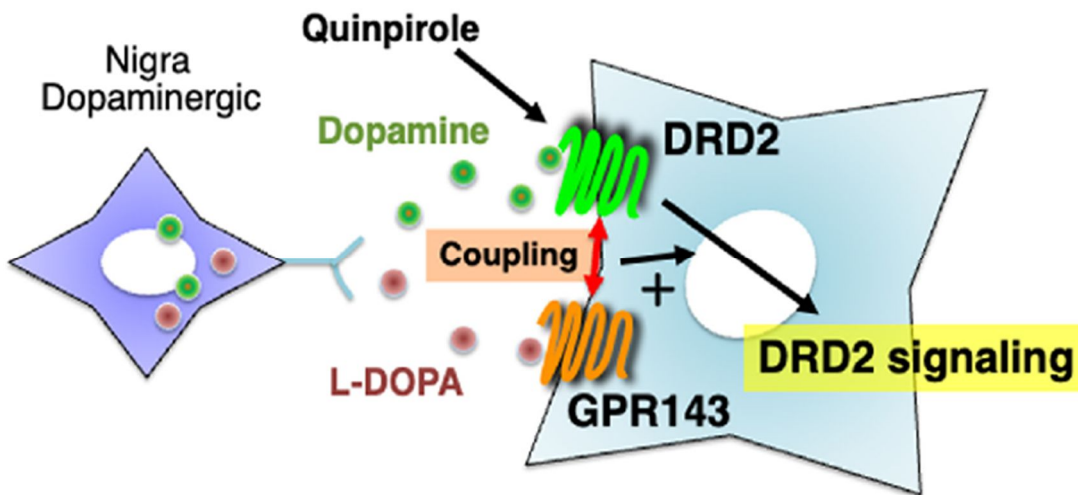
4. 研究成果

(1) DOPA 遊離は DA と同様の小胞性遊離の性格を示す事を見出した (第96回日本薬理学会年会、2022)。

(2) GPR143 は D2R と相互作用することにより、D2R を介する DA シグナル伝達を増強する事を明らかにした(Masukawa et al, 2013; Arai et al, 2014)。GPR143-KO マウスにおいて、D2R 作動薬のクインピロール (QNP)の行動に及ぼす効果(自発運動の抑制)が野生型 (WT) に比べ減弱した。一方、D1R 作動薬 SKF81297 の自発運動亢進作用には、両者に差は認められなかった。GPR143 が DA 受容体を介するシグナル伝達に及ぼす効果を解析するため、HEK293 に GPR143 および DA 受容体を共発現する細胞において、免疫沈降法により、これらの相互作用の有無を検討した。GPR143 は D1R, D2R, D3R いずれとも相互作用を示したが、GPR143 と D2R との相互作用のみが、DOPA 依存性に増強された。GPR143 と類似の細胞内局在を示す GPR37 とのキメラ解析により、GPR143 がその第5膜貫通領域において D2R と相互作用することが明らかになった。この相互作用部位に一致するアミノ酸配列を持つペプチド(TAT-TM5)を合成し、その効果を in vivo, in vivo において解析した。GPR132 による D2R シグナルの増強作用は、TAT-TM5 により抑制され、この抑制効果は、GPR143-KO マウスにおいては観察されなかった (Masukawa et al, 2023)。このような増強効果は、QNP の行動に及ぼす効果以外にも、ハロペリドール誘発性カタレプシーにおいても認められた。またこの行動の表現型の発現にかかわる神経回路の一つであるコリン介在性ニューロンにおける D2R において、電気生理学的にも D2R シグナルが減弱することを明らかにした (Arai et al, 2024)。これらの知見は、DOPA が GPR143 を介して D2R を介するシグナル伝達を増強し、行動の制御に関わることを示す。

(3) GPR143-KO 動物において、DA への変換を介さない DOPA の作用が存在することを明らかにした。この GPR143 非依存性作用に対する DOPA 関連化合物を探索し、特定の構造活性相関を示す事を明らかにした(未発表)。

図1 DOPA は GPR143 を介して DRD2 シグナルを制御する



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 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Arai M, Suzuki E, Kitamura S, Otaki M, Kanai K, Masukawa D, Goshima Y	4. 巻 44
2. 論文標題 Enhancement of Haloperidol-Induced Catalepsy by GPR143, an L-Dopa Receptor, in Striatal Cholinergic Interneurons	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 The Journal of Neuroscience	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） 10.1523/JNEUROSCI.1504-23.2024	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 Masukawa D, Kitamura S, Tajika R, Uchimura H, Arai M, Takada Y, Arisawa T, Otaki M, Kanai K, Kobayashi K, Miyazaki T, Goshima Y	4. 巻 165
2. 論文標題 Coupling between GPR143 and dopamine D2 receptor is required for selective potentiation of dopamine D2 receptor function by L-3,4-dihydroxyphenylalanine in the dorsal striatum	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 J Neurochem	6. 最初と最後の頁 177-195
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/jnc.15789	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 Nakano M, Koga M, Hashimoto T, Matsushita N, Masukawa D, Mizuno Y, Uchimura H, Niikura R, Miyazaki T, Nakamura F, Zou S, Shimizu T, Saito M, Tamura K, Goto T, Goshima Y.	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 J Pharmacol Sci.	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 -
1. 著者名 Kasahara Y, Masukawa D, Kobayashi K, Yamasaki M, Watanabe M, Goshima Y.	4. 巻 40
2. 論文標題 L-DOPA-Induced Neurogenesis in the Hippocampus Is Mediated Through GPR143, a Distinct Mechanism of Dopamine.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Stem Cells.	6. 最初と最後の頁 215-226
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/stmcls/sxab013.	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14件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 増川太輝, 五嶋良郎
2. 発表標題 L-DOPAは線条体間接路におけるGPR143とドパミンD2受容体間相互作用を介して不安様行動を制御する
3. 学会等名 第45回日本神経科学大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 五嶋良郎, 青木令奈, 岡田貴子, 増川太輝
2. 発表標題 脱分極刺激誘発性ドーパ及びドパミン遊離に及ぼすドパミン作動薬の効果
3. 学会等名 第96回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田近伶, 増川太輝, 内村放, 五嶋良郎
2. 発表標題 マウス線条体間接路におけるL-DOPA受容体GPR143はD2Rとの連関を介して不安様行動を制御する
3. 学会等名 第96回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 荒井証美, 増川太輝, 北村慧, 大瀧百々代, 五嶋良郎
2. 発表標題 コリン介在性神経L-DOPA受容体GPR143は, ドパミン D2受容体との機能連関を介してハロペリドールによる錐路様症状を修飾する
3. 学会等名 第96回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 五嶋 良郎
2. 発表標題 L-ドーパ受容体GPR143遺伝子欠損マウスとラットにおける表現型解析
3. 学会等名 先端モデル動物支援プラットフォーム成果発表会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 大瀧百々代、増川太輝、五嶋良郎 他
2. 発表標題 背側線条体に発現するL-DOPA受容体GPR143は、ドーパミン D2 受容体作動薬キンピロール応答を正に制御する
3. 学会等名 第96回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高萩亮，増川太輝，北村慧，金井香央里，笠原由佳，内村放，五嶋良郎
2. 発表標題 ニコチンの効果におけるドーパ受容体GPR143の役割解明．
3. 学会等名 第145回日本薬理学会関東部会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田近伶，増川太輝，内村放，五嶋良郎
2. 発表標題 マウス線条体間接路におけるL-DOPA受容体GPR143は不安様行動を制御する．
3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 荒井 亜美, 増川太輝, 北村 慧, 大瀧百々代, 五嶋良郎
2. 発表標題 L-DOPA受容体GPR143はハロペリドールによる錐体外路様症状に関与する.
3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 内村 放, 金井香央里, 増川太輝, 五嶋良郎
2. 発表標題 L-DOPA receptor, GPR143, is involved in methylphenidate -induced locomotion in mice.
3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 中野雅友樹, 橋本達夫, 古賀資和, 増川太輝, 五嶋良郎他
2. 発表標題 L-DOPA 受容体 (GPR143) による血管平滑筋細胞の遊走と増殖はラットにおけるモノクロタリン誘発性肺高血圧に関与する .
3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 五嶋良郎, 井上美優, 増川太輝, 日浅未来, 表弘志
2. 発表標題 パフィロマイシンおよびプレフェルディンに対する脱分極刺激誘発性ドーパ及びドパミン遊離の異なる感受性 .
3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高萩亮, 増川太輝, 五嶋良郎
2. 発表標題 L-DOPA受容体GPR143は、GPR143とADRA1Bとのヘテロマー形成によりADRA1Bを介するERK応答を増強する。
3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 増川太輝, 五嶋良郎
2. 発表標題 線条体間接路における L-DOPA の生理学的役割解明。
3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 ドーパミンD2受容体・ドーパ受容体相互作用阻害ペプチド	発明者 五嶋 良郎	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-124178	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

<p>横浜市立大学薬理学教室ホームページ http://www-user.yokohama-cu.ac.jp/~pharmac/</p>

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
研究 分 担 者	増川 太輝 (Masukawa Daiki) (10711898)	横浜市立大学・医学部・助教 (22701)	
研究 分 担 者	笠原 由佳 (Kasahara Yuka) (50838208)	九州大学・医学研究院・特任助教 (17102)	

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		
ベルギー	Universit#233; Libre de Bruxelles		