

論文内容要旨

Detailed neuronal distribution of GPR3 and its
co-expression with EF-hand calcium-binding
proteins in the mouse central nervous system

(マウス中枢神経系における GPR3 の詳細な分布と
EF-hand 型カルシウム結合蛋白との共発現)

Brain Research, 2021, in press

主指導教員：丸山 博文教授
(医系科学研究科 脳神経内科学)
副指導教員：酒井 規雄教授
(医系科学研究科 神経薬理学)
副指導教員：森野 豊之准教授
(医系科学研究科 脳神経内科学)

猪川 文朗

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

GPR3 は恒常的 Gs 活性化型 G 蛋白共役型受容体の一つであり、リガンド非存在下に G α s を活性化し細胞内 cAMP を一定レベルに維持するユニークな受容体である。我々のグループでは、GPR3 が GPR6・GPR12 と共にファミリーを形成し、中枢神経系に豊富に発現し、神経細胞において突起伸長や細胞分化、細胞生存に関与することをこれまでに明らかにしてきた。一方、GPR3 はアミロイド β の産生亢進、情動反応、神経因性疼痛、コカイン依存、アポトーシス刺激からの保護など中枢神経系に関連した病態に関連することが知られているが、中枢神経系における GPR3 の詳細な発現分布については GPR3 特異的抗体が不在のため明らかにされていない。これまで我々は、GPR3 ノックアウト/LacZ ノックインマウスを使用した X-gal 染色により、GPR3 プロモーター発現が内側手綱核・海馬・視床・脳神経核で高く、線条体・皮質・小脳・延髄・脳幹・脊髄にも発現する事を報告している。今回我々は同マウスを用いて、GPR3 プロモーター活性化発現部位を β ガラクトシダーゼに対する蛍光基質 (Spider β -gal) により同定することに新たに成功した。さらに、GPR3 発現陽性細胞の神経機能特異的な発現分布が、様々な神経細胞特異的マーカー蛋白抗体との蛍光二重染色により同定が可能になった。

GPR3 プロモーター発現は、既報の GPR3 発現領域に加え、大脳基底核や嗅覚、聴覚、感情・運動機能に関係する様々な脳神経核で観察された。中枢神経系の各部位において蛍光二重染色法を行うことにより、以下のさらに詳細な GPR3 発現部位を同定した。

- 1) 嗅球では、GPR3 は主に糸球体層で発現が観察され、その大部分がカルビンジン (CB) 陽性神経であり、コレシストキニン (CCK) 陽性神経細胞にも一部発現が観察された。一方、カルレチニンや Tyrosine hydroxylase 陽性神経細胞では発現が観察されなかった。したがって、嗅球では GPR3 は External tufted cell での発現が示唆された。
- 2) 大脳皮質では、大脳皮質第 V 層神経細胞に豊富な発現が観察でき、II-IV 層および VI 層にも若干の発現を観察した。皮質体性感覚野では、第 V 層の GPR3 発現陽性神経細胞の多くは CCK や CB 陽性であった。また、その一部は GAD67 やパルブアルブミン (PV) 陽性の抑制性神経細胞であった。運動野の第 V 層では、GPR3 発現細胞の約半数が CTIP2 陽性細胞であり、形態的特徴と併せて皮質錐体細胞での GPR3 発現が示唆された。
- 3) 海馬では、海馬 CA2 の錐体細胞層に GPR3 発現が観察され、概ね CB 陽性神経細胞に発現を認めた。一方で、CA1、CA2、歯状回では PV 陽性あるいは CCK 陽性の抑制性神経細胞に豊富な発現を認めた。
- 4) 視床では、視床外側核のグルタミン酸作動性神経細胞に豊富な GPR3 発現を認め、視床網様核の PV 陽性抑制性神経細胞にも発現が観察された。
- 5) 線条体では、背外側領域の DARRP32 陽性中型有棘細胞に主要な GPR3 発現を認め、PV、ソマトスタチン (SOM)、カルレチニン陽性介在神経細胞では、GPR3 発現はほとんど認めなかった。
- 6) 中脳では、黒質網様部外側部の PV 陽性神経細胞に GPR3 発現を認め、黒質緻密部、腹側被蓋野のドーパミン作動性神経細胞では、GPR3 発現はほとんど認めなかった。
- 7) 淡蒼球内節では、多くの抑制性神経細胞で GPR3 発現を認め、主に PV 陽性神経細胞に発現

を認めたが、SOM 陽性神経細胞にも一部発現を認めた。

- 8) 扁桃体では、主に基底外側核 (BLA) で GPR3 発現を認め、内側核では発現を認めなかった。BLA では、抑制性・興奮性の両神経細胞に発現を認めた。
- 9) 小脳では、小脳深部核の大型神経細胞に強い GPR3 発現を認め、同部位のグルタミン性作動性神経細胞に発現していることが示唆された。顆粒細胞層ではゴルジ細胞・カルレチニン陰性単極性刷毛細胞での発現が示唆された。
- 10) 脊髄では、脊髄前角、中間帯、後角で GPR3 発現を認め、多くがカルレチニン陽性細胞であった。

また、GPR3 は海馬 CA2 のマーカー蛋白である neuronal Ca^{2+} -binding protein 2 (NECAB2) と中枢神経系の様々な部位で高い共発現を認め、さらに、細胞レベルにおいても GPR3 は神経突起先端での NECAB2 との共局在を認めた。

近年、NECAB2 はアデノシン A2A 受容体と相互作用し、Gs-cAMP と MAP kinase 活性を介して受容体機能を修飾することが報告されている。GPR3 も Gs-cAMP と MAP kinase 活性化能を有するため、NECAB2 と相互作用し、中枢神経において神経伝達やアポトーシスなどカルシウムシグナリングを修飾する可能性が示唆された。