

点対称への変身が受容体によるホルモン認識の鍵！

—新規心不全治療薬へ向けた手がかりを提示—

概要

京都大学大学院薬学研究科 小川治夫 准教授、静岡県立大学薬学部 児玉昌美 助教は高輝度放射光施設 SPring-8 を利用した X 線結晶解析^{*1}により、「心房性ナトリウム利尿ペプチド(ANP)の受容体^{*2}NPR-A^{*3}のホルモン認識機構」を明らかにしました。心房から分泌される ANP は血圧や体液量の調節など生命の維持に不可欠な働きを担うホルモン^{*4}で、NPR-A が ANP を認識する機構の解明は医科学的に大きな意味を持ちます。これまで「点対称」に向き合った 2 分子の NPR-A が 1 分子の ANP を結合することは明らかでしたが、ANP のアミノ酸配列には特に規則性は見出せず、「点対称」に配置した 2 分子の NPR-A が対称的ではない ANP をどのように認識するかは未解明でした。研究グループは、NPR-A と ANP の複合体構造を高分解能^{*5}で決定し、結合した ANP が「擬似的に点対称」の形をとることで「点対称」に配置した 2 分子の NPR-A へ認識されることを世界で初めて明らかにし、この疑問を解決しました。心不全のための新規創薬も期待され大変大きな成果です。本研究成果は 2024 年 3 月 4 日に欧州の科学雑誌「*The FEBS Journal*」にオンライン掲載されました。

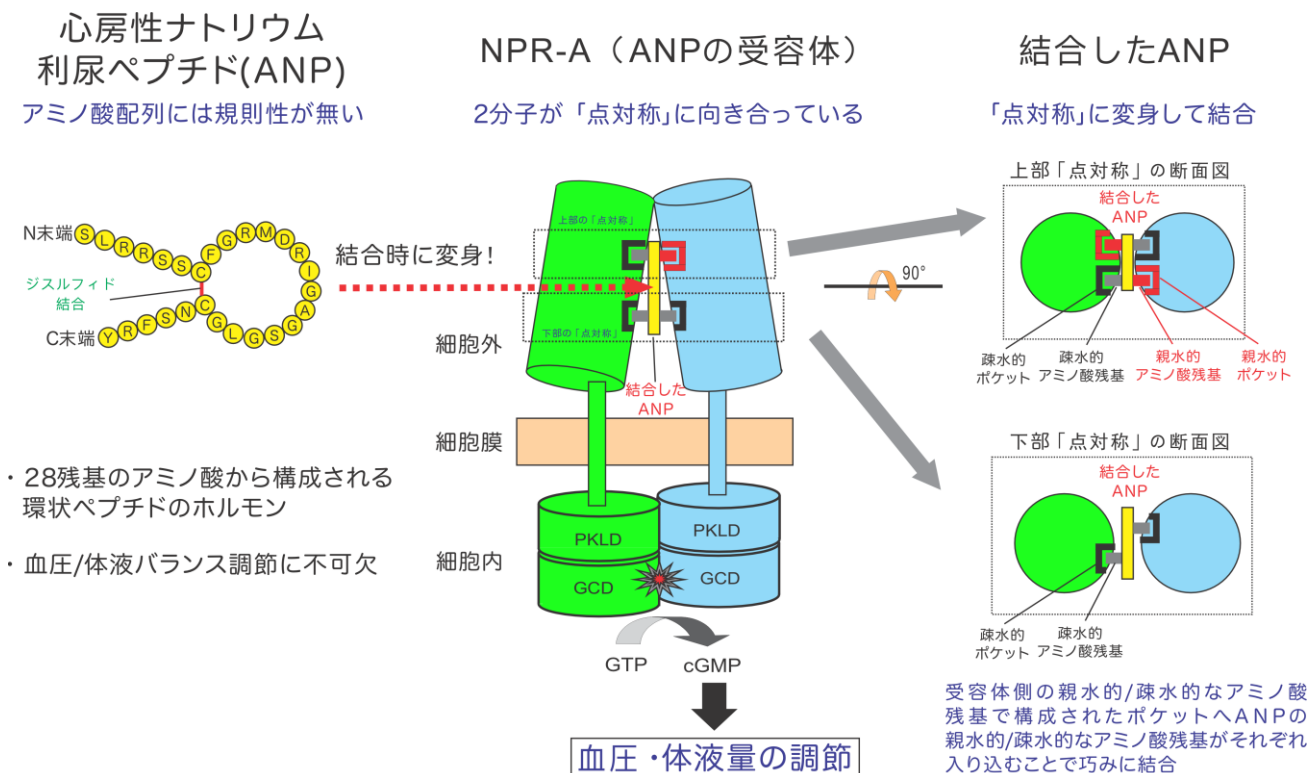


図1 心房性ナトリウム利尿ペプチド(ANP)がその受容体 NPR-A により認識される機構

1. 背景

心房から分泌される ANP は血圧や体液バランスの調節に不可欠なホルモンです。ANP は 28 残基のアミノ酸から構成され、7 番目と 23 番目のシステイン同士がジスルフィド結合を形成し、17 残基のアミノ酸で構成される環状構造を取るペプチドホルモン*6 です (図 1)。心房から放出された ANP は血中を流れ、主として心房から遥かに離れた副腎に存在する A 型ナトリウム利尿ペプチド受容体 (NPR-A, 分子量約 130 kDa の 1 回膜貫通型の受容体) の細胞外のホルモン結合ドメインに結合し、細胞内にその信号を伝え、最終的に血圧や体液バランスの調節へ繋がります。そのため NPR-A が ANP を認識する機構の解明は医科学的に大きな意味を持ちます。私たちはこれまでに NPR-A のホルモン認識機構を解明すべく立体構造解析に取り組んできており、「点対称」に向き合う 2 分子の NPR-A が 1 分子の ANP を結合に伴い回転運動を起こすことが膜内への信号伝達の本質であることを明らかにしてきました(Ogawa et al., *J. Biol. Chem.*, **279**, 28625-31, 2004)。その一方でこの構造は分解能が低かったため、NPR-A の ANP 認識機構については多くの不明点が残されていました。特に、ANP のアミノ酸配列には規則性が皆無にもかかわらず(図 1)、どうやって「点対称」に配置した 2 分子の NPR-A が対称性を持たない ANP を認識するのか? という大きな疑問がありました。

2. 研究手法・成果

より詳細な構造を得るために結晶化条件の改善を行い、高輝度放射光施設SPring-8の強力なX線を用いることで分解能が飛躍的に改善されました。一方で、得られたホルモン周囲の電子密度マップは複雑で、その原子モデルの構築は大変困難でした。そこで、「ANP」だけではなく、「ANPの一部を欠失した欠失変異体」、「ヒトやラット等の種の異なるANP」、さらに「ANPと高い相同性を持つ毒蛇グリーンマンバ由来のDNP」も含めた様々な基質との複合体構造を決定し、そこから得られた結果を巧みに組み合わせることで、この困難を解消することに成功しました。

驚くべきことに、得られた立体構造では、ANP の 17 残基で構成される環状構造部分が「擬似的な点対称」の構造を持っていることが判明しました。この点対称は環状構造の上下の 2 箇所が存在し、上方では 2 つの親水的なアミノ酸残基と疎水的なアミノ酸残基が交互に突き出た点対称的な構造を持ち、それぞれ受容体側の親水的なアミノ酸残基で構成されたポケットと疎水的なアミノ酸残基で構成されたポケットに入り込んでいました(図 1)。下方でも 2 つの疎水的なアミノ酸残基がその関係にあり(図 1)、それぞれ受容体側の疎水的なアミノ酸残基で構成されたポケットに入り込んでいました。即ち、ANP は自身が点対称の立体構造へ変身することで、「点対称」に配置した 2 分子の NPR-A へ巧みに結合していました。実にこれが NPR-A の基質認識機構の本質に他ならず、基質の結合に伴う受容体の大きな構造変化を可能にする原動力であると考えられます。NPR-A に結合した DNP の構造でも、結合した DNP は ANP とほぼ同様の「擬似的な点対称」の構造をとっていました。一方、DNP では ANP には存在しない特徴的なアミノ酸残基が 3 つもあり、これらが NPR-A と強固な水素結合を形成していました。また、その N 末端も ANP とは異なり NPR-A と多くの水素結合を形成していました。さらに DNP 結合状態では NPR-A の一部のループ構造が ANP 結合時に比べて DNP へより引き寄せられた構造をとっていました。以上のことから DNP は ANP に比べ、より強固に結合していることが判明し、これが DNP が ANP に比べてより強力に作用することや、長時間の効能を持つことを説明できると同時に、なぜ DNP が蛇毒として機能するかをも説明できると考えられます。

3. 波及効果、今後の予定

ANP はそれ自身が急性心不全薬として臨床でも広く用いられています。その一方で、血中寿命は約 30 分と短い長寿命の誘導体の開発が期待されています。米国では毒蛇グリーンマンバの DNP が血中で壊れにくいことを利用し、DNP と ANP 等との融合体の作成により長寿命の誘導体の開発を狙った動きもあります。本研究の成果により、NPR-A の作動薬の設計指針として親水的な足と疎水的な足を「点対称」に突き出した化合物を設計すれば良いことが明らかになりました。これらの足が入り込む受容体側のポケットの部位は分かっていることから、薬物の分子設計も可能になります。一方、NPR-A には多数の類縁受容体も存在します。今後、NPR-A のみではなく、類縁の受容体の立体構造も併せて解明されることで、より NPR-A の動作原理に迫ることが期待されます。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は JSPS 科研費 (JP22K19375, JP22570110, JP21K06044)、日本医療研究開発機構 (AMED) 創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業 (JP17am0101080, JP18am0101080, JP19am0101080, JP20am0101080, JP21am0101080)、内藤記念科学振興財団研究助成等の支援を受けて実施されました。

<用語解説>

*1 **X 線結晶解析**：分子が三次元的に規則正しく並んだ結晶に X 線を照射した時に生じる回折像から結晶中の電子分布を計算し、その電子分布に基づき分子中の原子の配置を決定する手法

*2 **受容体**：細胞（膜）に存在し、外来性の物質あるいは物理的刺激を認識して細胞に応答を誘起するタンパク質

*3 **NPR-A**：Natriuretic peptide receptor-A, A 型ナトリウム利尿ペプチド受容体

*4 **ホルモン**：特定の細胞によって生体内外の情報に応じて生産・分泌され、血液等の体液を介してその情報を他の細胞へ伝達する物質

*5 **高分解能**：どのくらい小さなものまで見えるかという能力が高いこと

*6 **ペプチドホルモン**：ホルモンの性格を持ったペプチド

<研究者のコメント>

本研究プロジェクトの開始は約 14 年前になります。さらりと記述した立体構造構築での工夫ですが、本手法を編み出すまでには血の出るような苦しみがありました。それが解析に時間がかかった所以です。解析には何度も挫折しましたが、対称を持たない ANP が「点対称」に変身して NPR-A に認識されるという大変シンプルな結論を得られたのは、研究者冥利に尽きます。本研究成果が急性心不全等に対する新たな治療薬の開発へ繋がることを確信しています。(小川 治夫)

<論文タイトルと著者>

タイトル：Structural insight into hormone recognition by the natriuretic peptide receptor-A (ナトリウム利尿ペプチド受容体 A によるホルモン認識の構造的洞察)

著者：Haruo Ogawa¹⁾, Masami Kodama²⁾

著者(日本語表記)：小川 治夫、児玉 昌美

掲載誌：The FEBS Journal DOI：10.1111/febs.17104