

脂質受容体の G タンパク質選択機構を解明

—副作用のない治療薬開発の創薬基盤を提供—

概要

京都大学大学院 医学研究科 萩原正敏 特任教授、山内萌々乃 同博士課程学生らの研究グループは、岩田 想 同教授、林到炫（イム ドヒョン） 同准教授との共同研究により、G タンパク質共役受容体（GPCR）であるスフィンゴシン-1-リン酸（S1P）受容体 3（S1PR3）と Gq タンパク質複合体構造をクライオ電子顕微鏡を用いた単粒子解析により決定しました。GPCR は重要な創薬標的であり、現在、米国食品医薬品局（FDA）で承認されている薬の約 30%が標的としています。その一方で、意図しないシグナルが伝達され副作用が生じる問題は未だ解決されておらず、GPCR 創薬において最大の課題となっています。安全かつ効果的な創薬を実現するには、選択的シグナル伝達の分子機構の解明が不可欠です。

本研究は、2 種類の生体内の脂質（d18:1 S1P, d16:1 S1P）が結合した S1PR3-Gq 複合体構造をそれぞれ取得し、同じ GPCR が特定の G タンパク質シグナルを伝達するために必要な相互作用を特定しました。この成果は、特定のシグナル経路を意図的に選んで活性化できる薬の設計を促進すると期待されます。

本研究成果は、2025 年 11 月 18 日に、米国科学アカデミー紀要にオンライン掲載されました。

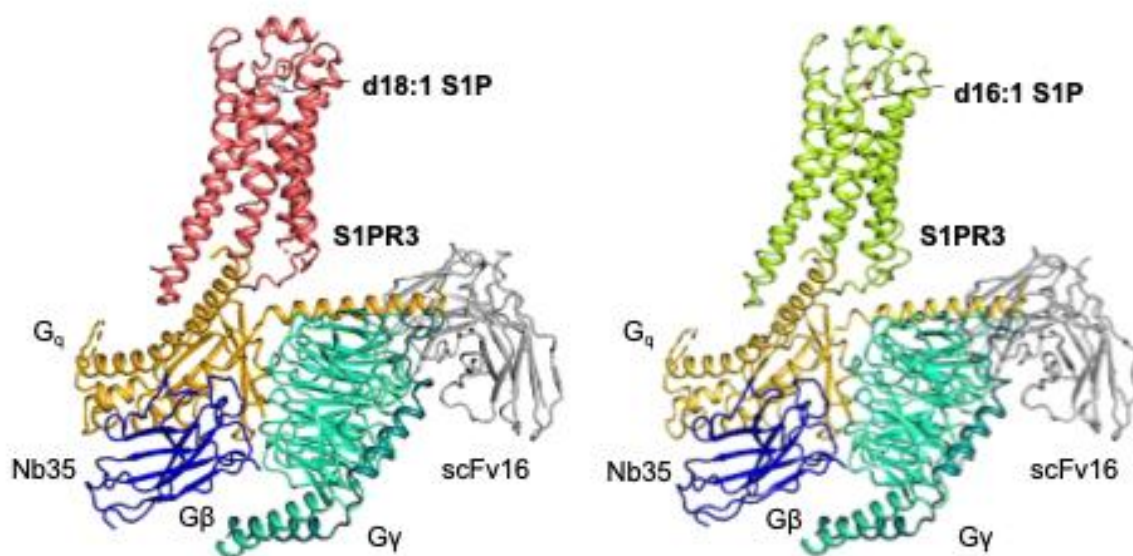


図 1. 本研究で明らかにした 2 種類の S1PR3-Gq 複合体の全体構造

1. 背景

脂質は、エネルギーの貯蔵や体温維持などさまざまな生理機能を果たすことで、私たちの体内で重要な役割を担っています。中でも、生理活性脂質と呼ばれる脂質は、炎症、骨・血管の発達、細胞の分化など幅広い生理機能を調節し、その多くが、細胞膜上の G タンパク質共役受容体 (GPCR)¹⁾ を介して機能します。GPCR はヒトではこれまでに約 800 種類が同定されており、現在、米国食品医薬品局 (FDA) 承認薬の約 30% で標的となっています。その一方で、1 つの GPCR が複数の G タンパク質を活性化するため、意図しないシグナルをも伝達し副作用が生じる問題があり、GPCR の選択的シグナル伝達の分子機構の解明は安全で効果的な創薬に不可欠です。この選択的シグナル伝達の理解には、受容体が異なる 三量体 G タンパク質²⁾ を認識する特異的相互作用の特定が求められています。また近年では、同一の GPCR を介して特定のシグナルのみを選択的に活性化/不活性化する バイアスド・アゴニズム³⁾ という現象が有用ではないかと注目されていますが、このメカニズムについても依然として解明されていません。

スフィンゴシン-1-リン酸 (S1P)⁴⁾ は、最も研究されている生理活性脂質の 1 つで、GPCR である 5 種類の S1P 受容体 (S1PR1-5) を介して免疫・血管系を中心に数多くの重要な生理機能を調節します。とりわけ S1PR3 と Gq を介したシグナル伝達経路は、白血球の回転を引き起こし、炎症反応において重要な役割を担います。本研究では、この S1PR3 を介して d16:1 S1P が、d18:1 S1P と比較して Gq/11 シグナル伝達を選択的に減弱させるバイアスド・アゴニズムに着目しました (Maeda S., et al., *Sci. Adv.* 2021)。この 2 種類の S1P と結合した S1PR3 の Gq タンパク質複合体構造を クライオ電子顕微鏡法 (Cryo-EM)⁵⁾ により取得し比較することで、S1PR3 が異なる S1P を識別する分子機構と G タンパク質選択性を担う特異的相互作用の特定を目指しました。

2. 研究手法・成果

本研究では、クライオ電子顕微鏡 (Cryo-EM) を用いた単粒子解析により、2 種類の S1P (d18:1 S1P, d16:1 S1P) が結合した S1PR3-Gq 複合体の構造の取得に成功しました (図 1)。この 2 種類の S1P は S1PR3-Gq シグナル伝達の強さが異なりますが、得られた複合体構造に顕著な違いはありませんでした。このことから、バイアスド・アゴニズムを引き起こす特有の安定した複合体構造は存在しないことが示唆されました。さらに構造比較と変異導入解析に基づき、Phe119^{3,33} および Arg136^{3,50} が S1P の識別と受容体活性化に重要な役割を果たすことを特定しました (図 2a, b, c)。これらのアミノ酸を Ala に置換した変異体では、d18:1 S1P 刺激ではシグナル伝達が維持されましたが、d16:1 S1P 刺激ではシグナル伝達がほぼ失われました。この結果により、これらのアミノ酸との相互作用は d16:1 S1P 結合時の受容体活性化には不可欠である一方、d18:1 S1P 結合時には必須ではないことが明らかとなり、これらの S1P が異なる受容体活性化機構を介している可能性が見出されました。

また、同一の GPCR が、結合する G タンパク質の種類によって異なる活性型構造をとり、特に GPCR のうちの 細胞内ループ 2 (ICL2)⁶⁾ 領域が G タンパク質を認識する分子基盤の一端を担うことを明らかにしました。既報の S1PR3-Gi 複合体と G タンパク質非結合型の S1PR3 活性型構造、今回明らかにした S1PR3-Gq 複合体の 3 種類を比較した結果、S1PR3 の ICL2 領域はそれぞれ異なる方向へ大きく構造変化していました (図 2d)。特に、Gq 複合体において ICL2 は受容体内側へ深く入り込み、ICL2 上の残基 Met143^{34,50} が Gq タンパク質のポケットに挿入していました。Met143^{34,50} の Val 変異体は、Gq シグナルの活性化を顕著に促進し、このアミノ酸と Gq ポケットとの相互作用の重要性を裏づけています。さらに、既報の S1PR2-G13 複合体を加えた比較により、ICL2 上の 34.53 位置の Tyr^{34,53} の位置が 4 種類全てで側鎖の向きが異なることを発見しました。こ

の Tyr^{34.53} の Ala 変異体は S1PR3-Gq シグナル活性化を顕著に促進しました。これは、既報の S1PR2 において同じく Tyr^{34.53} の Ala 変異体が S1PR2-G13 シグナル活性化を顕著に抑制した結果 (Chen H., et al., *Sci. Adv.* 2022) と対照的であり、この Tyr^{34.53} が S1PR において Gq 結合と G13 結合の識別を担うと考えられます。

3. 波及効果、今後の予定

本研究は、特定のシグナル経路に対して異なる伝達強度を示す 2 種類の脂質が結合した構造を取得し、両者に顕著な違いがないことを明らかにしました。さらに、構造比較と変異解析結果により Phe119^{3.33} と Arg136^{3.50} がシグナル伝達の違いに寄与することを発見しました。Arg136^{3.50} は、脂質受容体に限らず約 95% のクラス A GPCR において保存されており、受容体が活性化する際に必須の構造変化を起こす“活性化モチーフ”の 1 つです。したがって、今回同定されたアミノ酸は、S1PR に限らず他の受容体でもバイアスト・アゴニズムに関与する可能性が高いと考えられ、これらのアミノ酸に着目した構造解析を進めることは、バイアスト・アゴニズムの分子機構のさらなる理解につながると期待されます。

また、受容体による異なる G タンパク質の識別には、ICL2 領域との特異的相互作用が重要であることを明らかにしました。この構造学的知見を活用することで、特定の G タンパク質の結合を選択的に促進する化合物の設計が可能となります。ICL2 は、S1P を含む GPCR 作動薬の主要な結合部位 (オルソステリック部位) とは離れた領域に位置しており、この領域を標的とする化合物は既存の薬剤と干渉せずに併用できる可能性があり、創薬の新たな戦略につながります。これらの構造情報に基づく精密な薬剤設計により、副作用の低減と治療効果の向上を両立させた GPCR 標的治療薬の開発が促進されることを期待します。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は、東北大学、大阪大学、京都工芸繊維大学などとの共同研究により行われました。また、文部科学省/日本学術振興会 科学研究費助成事業 (JP21H05042, JP22K08282, 24K21945, 23K06357, 22KK0099, JP21H04791, JP24K21281)、国立研究開発法人日本医療研究開発機構 AMED (JP23ck0106813, JP23ama121007, JP23ama121001, JP22ama121038, JP22zf0127007)、国立研究開発法人科学技術振興機構 JST (JPMJST2181) など多くの支援を受けています。

<用語解説>

- 1) G タンパク質共役受容体 (GPCR) : 生物の細胞膜に存在する 7 回膜貫通型の膜タンパク質。ヒトでは約 800 種類の遺伝子がコードしており最大のファミリーを構成している。ホルモンや神経伝達物質、脂質など多様な細胞外刺激を受け取り細胞内へとシグナルを伝達する。
- 2) 三量体 G タンパク質 : GPCR の細胞内側に結合し、受容体の活性化により細胞内にシグナルを伝達する。G α , G β , G γ の 3 つのサブユニットから構成される。G α サブユニットの種類 (Gs, Gi/o, Gq/11, G12/13) によって活性化される細胞内経路が異なる。
- 3) バイアスト・アゴニズム : 同じ受容体に作用しても、特定のシグナル伝達経路のみを選択的に活性化または不活性化 (抑制) する現象。副作用を抑えた薬剤設計を可能にすると注目されている。
- 4) スフィンゴシン-1-リン酸 (S1P) : 生体膜を構成するスフィンゴ脂質から代謝され産生されるリゾリン脂質の一種。長い疎水性脂肪鎖とリン酸基をもつ極性頭部から構成される。d18:1 S1P は炭素が 18 個並ぶ構造をもち、生体内で最も豊富な S1P である。d16:1 S1P は炭素が 16 個でより短い構造を持つ。どちらも S1P 受容体に対して作用することで免疫細胞や血管細胞の機能を調節するシグナル分子として働く。

- 5) クライオ電子顕微鏡法 (Cryo-EM; Cryogenic electron microscopy) : 生体試料を急速凍結し、超低温状態で観察する電子顕微鏡手法。電子線を照射することで高分子構造を高解像度で立体的に解析することができる。2017 年にノーベル化学賞が授与された。
- 6) 細胞内ループ 2 (ICL2; Intracellular loop2) : GPCR の細胞内側のループ構造のうちの 1 つで、膜を貫通する 7 本のヘリックス構造のうち 3 番目と 4 番目の間に存在する。

<研究者のコメント>

本研究では、S1P 受容体の構造解析を通じて、シグナル選択性を生み出す分子メカニズムの一端を明らかにできました。この知見が、GPCR を標的とする副作用の少ない安全な治療薬の開発に貢献できれば嬉しく思います。今後も、構造情報を手がかりに生命現象の理解を進めていきたいと思っています。(山内)

<論文タイトルと著者>

タイトル : Structural insights into the G-protein subtype selectivity revealed by human sphingosine-1-phosphate receptor 3-G_q complexes

(ヒトスフィンゴシン-1-リン酸受容体 3-Gq 複合体構造から明らかになった G タンパク質サブタイプ選択性の構造学的知見)

著 者 : Momono Yamauchi, Dohyun Im*, Shintaro Maeda, Tatsuya Ikuta, Masayasu Toyomoto, Hidetsugu Asada, Yukihiro Sugita, Jun-ichi Kishikawa, Takeshi Noda, Takayuki Kato, Asuka Inoue, So Iwata*, and Masatoshi Hagiwara*

山内萌々乃、林到炫*、前田信太郎、生田達也、豊本雅靖、浅田秀基、杉田征彦、岸川淳一、野田岳志、加藤貴之、井上飛鳥、岩田想*、萩原正敏*

掲 載 誌 : *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)*

DOI : 10.1073/pnas.2507421122

*責任著者

< 参考図表 >

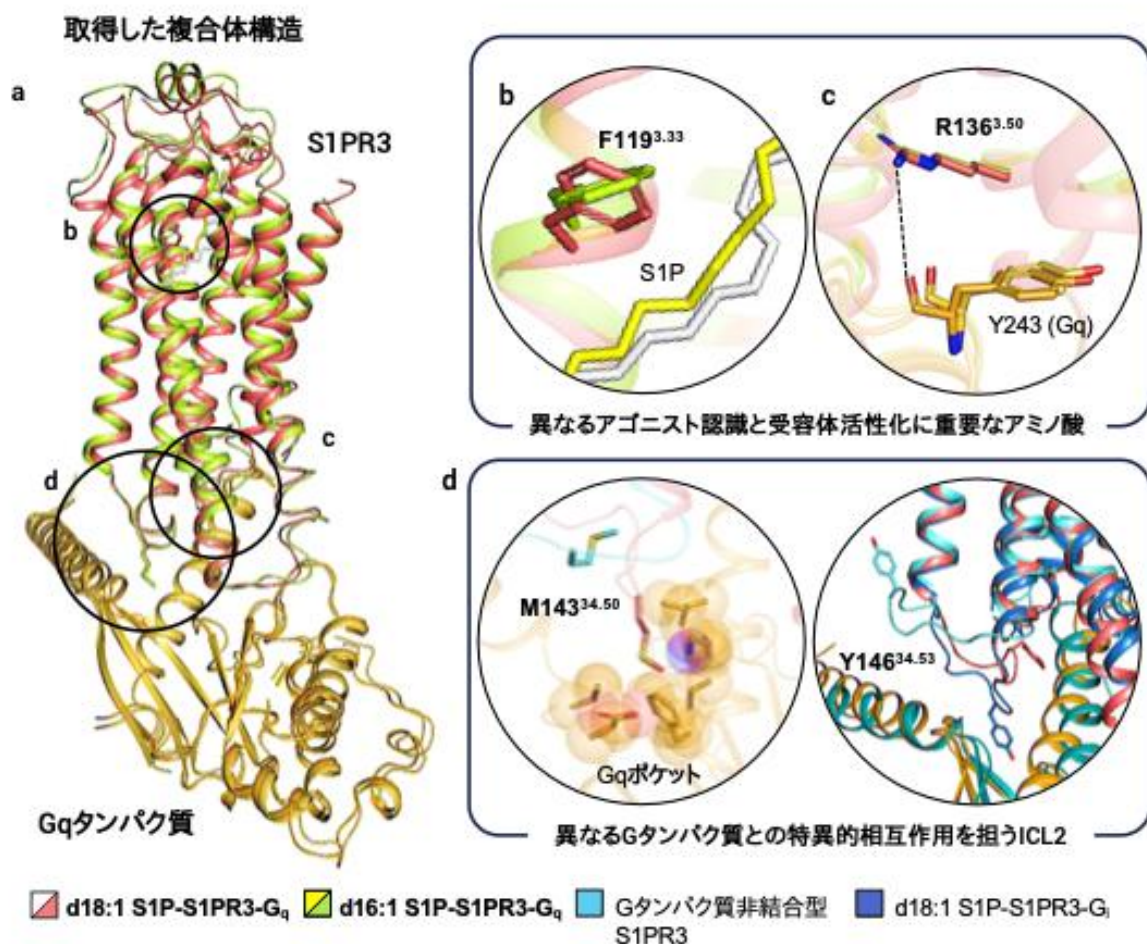


図 2. 本研究で明らかにした特異的相互作用

(a) 本研究で明らかにした 2 種類の S1PR3-Gq 複合体構造を重ね合わせた図。(b, c) 異なる S1P (アゴニスト) 認識および受容体活性化に重要なアミノ酸残基。(d) ICL2 と Gq タンパク質の相互作用。左: M143^{34.50} の側鎖の比較。既報の G タンパク質非結合型 S1PR3 活性化型結晶構造と重ね合わせた図。Gq 複合体構造では Gq が構成するポケットと M143^{34.50} の相互作用が確認された。右: 細胞内ループ 2 (ICL2; Intracellular loop 2) 領域の拡大図。既報の G タンパク質非結合型 S1PR3 活性化型結晶構造、S1PR3-Gi 複合体構造を重ね合わせた図。それぞれ ICL2 の構造が大きく変化し、3 通りの構造を示している。