

分子の立体構造から血圧調節の仕組みを原子レベルで解明

— 高血圧症の新しい治療法の開発へ —

概要

京都大学大学院医学研究科 浅田秀基 特定助教、岩田想 教授らは、血圧の調節に重要なペプチドホルモンであるアンジオテンシンが結合したアンジオテンシンII受容体の立体構造を世界に先駆けて明らかにしました。アンジオテンシンは血圧を調節する作用を持つ生理活性ペプチド（ホルモン）であり、アンジオテンシンII受容体と結合することで血圧を調節することが知られています。そのため、アンジオテンシン、およびその受容体は高血圧症の治療薬の重要な標的となっています。現在、約1,000万人（平成26年度：厚生労働省）の方が高血圧性疾患を罹患しており、その年間医療費は約1兆9,000億円（平成26年度）、高血圧性疾患による死亡数は約6,900人（平成26年度）であり、健康長寿社会の実現にとって非常に重要な疾患と考えられます。本研究の結果は、血圧の調節がどのように行われているかを原子レベルで明らかにすることで、高血圧症に対する理解をより深め、さらに新しい治療法開発への道を開くことが期待されます。

本成果は、2018年7月2日に米国の国際学術誌「Nature Structural & Molecular Biology」に掲載されました。

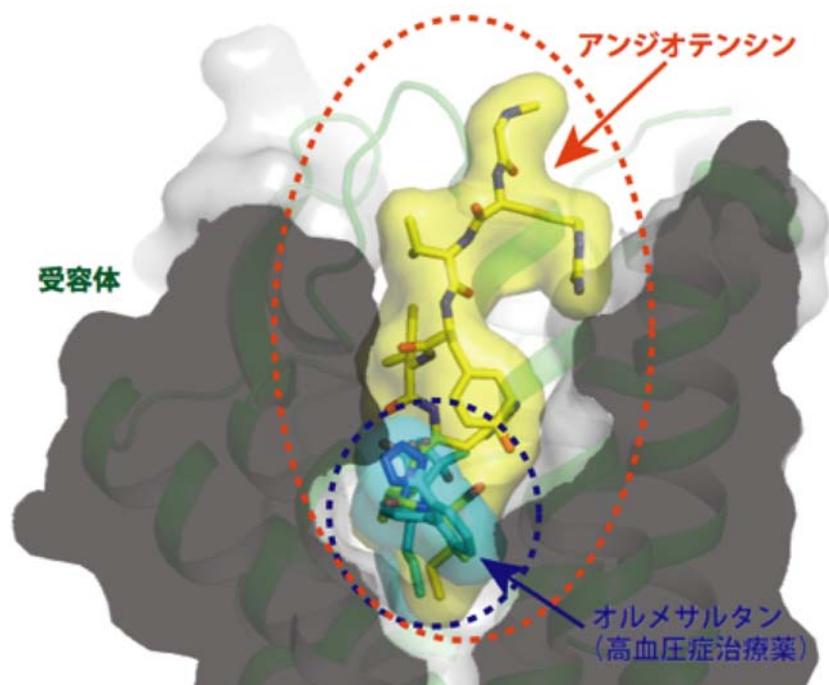


図. 私たちは、アンジオテンシン類似体が結合したアンジオテンシンII受容体（膜タンパク質）の立体構造を明らかにしました。膜タンパク質の構造解析は、そのタンパク質の結晶を作成し、得られた結晶に X 線を照射しデータを取得・解析することでおこないます。明らかになった立体構造からその膜タンパク質の働きや仕組みを読み解きます。

1. 背景

アンジオテンシン II 受容体 (ATR) は、血圧の調節において重要な役割を担う G タンパク質共役受容体 (GPCR) です。ATR には、血圧を上げる 1 型受容体 (AT1R) と血圧を下げる 2 型受容体 (AT2R) の二つの受容体が存在しています。血圧は、これらの二つの受容体が協力し合うことで調節されています (図 1)。この協調を制御しているのが生理活性ペプチドであるアンジオテンシン II (AngII) であり、AngII がどちらの受容体に結合するかによって血圧が上昇するか下降するかが決まります。そのため AngII は高血圧症の治療に対する標的となっており、その結合を阻害するアンジオテンシン受容体拮抗薬 (ARB) が高血圧症の治療薬として広く使用されています。生活習慣病として知られる高血圧症は、塩分摂り過ぎ、肥満、飲酒や運動不足などによって発症しますが、高血圧症が恐ろしいのは脳梗塞、心筋梗塞や動脈硬化など命に直結する疾患の重大な危険因子でもあるところです。

このように ATR は臨床的に極めて重要な役割を担っており、血圧制御機構の解明はこれらの疾患の予防上も必要不可欠であると考えられます。血圧調節機構の解明を目指した研究は多くありますが、構造情報から ATR の機能を解析する試みとして、AT1R に阻害剤が結合した構造 (Zhang et al. 2015, Cell. 161(4), 833-844)、および ARB であるオルメサルタンが結合している構造 (Zhang et al., 2015, J.Biol.Chem. 290, 29127-29139) が明らかになっています。これらは AT1R の不活性型の構造を明らかにしたものです。本研究で私たちは、AT2R に生理活性ペプチドである AngII の類似体 (s-AngII) が結合した活性型の構造を決定することに成功しました。高血圧症は重要な疾患であることから、血圧を調節する仕組みについては様々な視点での研究が世界中で行われています。そのような中で今回、アンジオテンシンが血圧をどのように調節しているのか、その一端を『形』から明らかにしたことは、本研究の重要な結果と考えられます。

2. 研究手法・成果

本研究において私たちは、s-AngII が結合した AT2R の構造を、抗体フラグメントとの複合体を形成させることで結晶化に成功し、その立体構造を原子レベルで解明しました。そのためには受容体の立体構造を特異的に認識する抗体を作製する必要がありました。このような抗体を作ることは一般に難しいことが知られていますが、JST 戦略的創造研究推進事業 ERATO「岩田ヒト膜受容体プロジェクト」(平成 17~22 年度) から開発・改良し続けてきた、膜タンパク質の立体構造を認識する抗体作製法を利用することで、AT2R に対する特異的な抗体を作製することができました (図 2)。この抗体は、(1) AT2R の構造を固定する、(2) 結晶化を促進させる、(3) s-AngII が AT2R に対して結合するのを助ける等、特別な機能を持つ抗体ということも分かりました。また、得られた結晶は、播磨理研の大型放射光施設である SPring-8 の BL32XU で X 線回折実験およびデータ収集を行いました。

得られた立体構造から、s-AngII の C 末端が AT2R のリガンド結合部位の底に配位するように結合していることが分かりました。これは私たちの研究から初めて明らかとなった重要な結果の一つと考えられます。s-AngII が結合した構造と ARB であるオルメサルタンが結合した構造を比較したところ、s-AngII は受容体の広い範囲を使って結合しているのに対し、オルメサルタンは受容体のリガンド結合ポケットのほんの一部しか使っていないことが明らかになりました (図 3)。現在上市されている ARB は全て一つの基本骨格から創られたという経緯から、それらの大きさはオルメサルタンとほぼ同じで、かつ ATR に結合する場所もほぼ同じであると考えられています。そのため、当然、同様の副作用を持ちます。ARB の重大な副作用として、血管浮腫、腎不全、高カリウム血症、浮動性めまいなどが知られています。一般的に拮抗薬は、生理活性物質が受容体へ結合するのを阻害することでその活性化を抑えますが、受容体の活性化は起こさないよう開発されています。

今回の私たちの研究結果から、ARB にはオルメサルタンが結合する位置だけではなく他の候補も考え得ることが分かります。つまり、既存の ARB は AngII のリガンド結合部位のうち、その下部のみしか利用していませんが、その中心付近や上部で結合する ARB も考えられるのではないかとことです。このような視点で薬を開発することで、副作用のない新しい薬が開発できるかもしれません。そのためには、受容体や生理活性物質の実際の『形』を知ることが重要となります。このような結果をもたらした私たちの技術基盤は、膜タンパク質の立体構造を明らかにするために必要な技術開発にも貢献すると考えられ、重要な膜タンパク質の構造決定の一助になることが期待できます。

3. 波及効果、今後の予定

これまでの研究から明らかになった不活性型構造および、私たちの s-AngII が結合した活性型の構造情報を比較することで、原子レベルでの血圧調節機構の解明、および高選択性・低副作用の新規高付加価値薬の開発や合併症による危険性の回避（予防）にも繋がる情報が得られたと考えられます。さらに AT2R は血圧調節だけではなく、虚血性心疾患における心血管保護、脳梗塞時における脳血管保護や帯状疱疹後疼痛に重要な役割を担っており、本研究の結果は、AT2R を標的とした疾患に対してその構造情報を基にリード化合物の探索、いわゆる、構造に基づく創薬（Structure Based Drug design; SBDD）も可能にするものと期待できます。今後は、さらに ATR と AngII の構造から血圧調節機構の全体像を原子レベルで明らかにしたいと考えています。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は、日本学術振興会 (JSRT) の科学研究費助成事業、国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) の創薬等先端技術支援基盤プラットフォームなどの多くの支援を受けています。

< 論文タイトルと著者 >

タイトル：Crystal structure of the human angiotensin II type 2 receptor bound to an angiotensin II analog
(アンジオテンシン類似体が結合したヒトアンジオテンシン II 受容体の結晶構造)

著者：Hidetsugu Asada, Shoichiro Horita, Kunio Hirata, Mitsunori Shiroishi, Yuki Shiimura, Hiroko Iwanari, Takao Hamakubo, Tatsuro Shimamura, Norimichi Nomura, Osamu Kusano-Arai, Tomoko Uemura, Chiyo Suno, Takuya Kobayashi, So Iwata.

掲載誌： DOI : 10.1038/s41594-018-0079-8

<参考図>

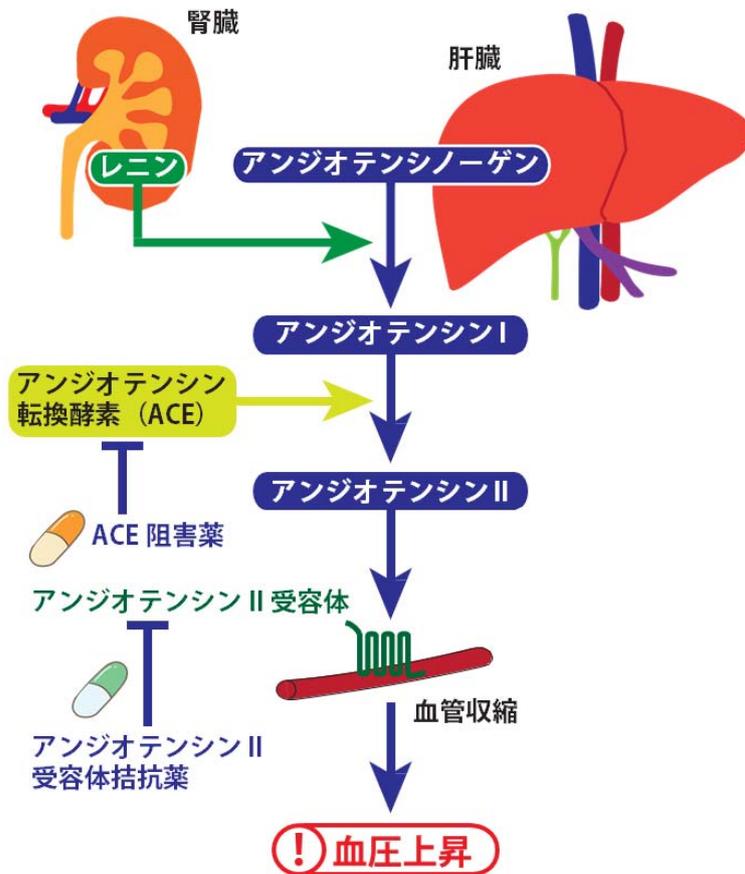


図1 アンジオテシンによる血圧調節の仕組み

(1) 血圧の低下や血液量の減少などの刺激を受けると腎臓でレニンと呼ばれるタンパク質分解酵素が分泌されます。(2) 同じく肝臓から分泌されたタンパク質であるアンジオテシノーゲンの一部をレニンが分解することでアンジオテシンⅠ (AngⅠ) を生じさせます。(3) AngⅠは肺に存在するアンジオテシン変換酵素 (ACE) と呼ばれるタンパク質分解酵素によりC末端の2アミノ酸が切断されることでアンジオテシンⅡ (AngⅡ) が生じます。(4) AngⅡがATRに結合することで血管の緊張が調節され、血圧が調節されます。血圧の調節に中心的な役割を担う生理活性ペプチドであるAngⅡは高血圧症の標的となっており、アンジオテシン受容体拮抗薬 (ARB) として広く高血圧症の治療薬として使用されています。また、AngⅠからAngⅡへの変換を抑えるアンジオテシン変換酵素 (ACE) の阻害薬も高血圧症の治療薬として用いられています。

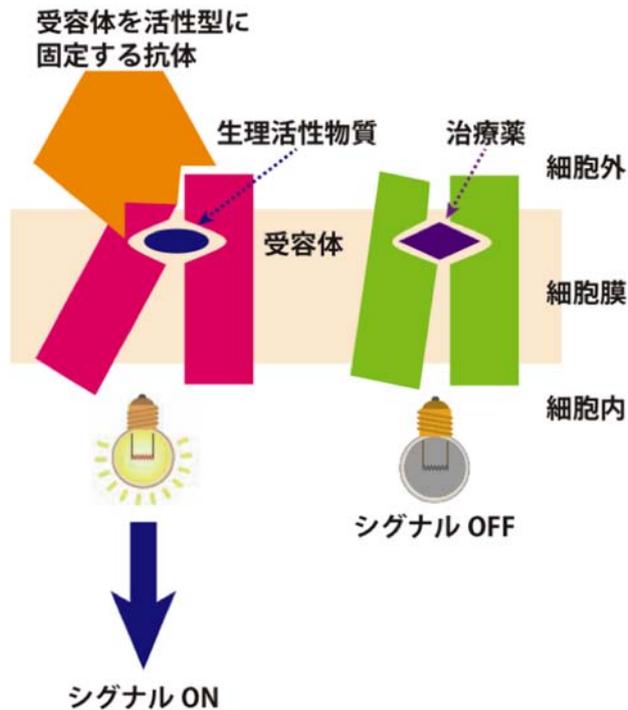


図2 受容体の活性化の模式図と抗体の機能

受容体は生理活性物質が結合すると活性化され、細胞内へシグナルが伝わります（左）。一方、治療薬は受容体に結合することで、生理活性物質の結合を阻害し、シグナルが細胞内へ伝わるのを抑えます（右）。治療薬などが結合した不活性化型の構造は一般的に安定なため結晶になりやすいが、生理活性物質が結合した活性化型の構造は不安定なため結晶になりにくいことが知られています。本研究においても、生理活性ペプチドが結合しただけでは結晶になりませんでした。しかし、私たちが作製した抗体は、受容体を活性型に固定する抗体であり、この抗体を利用することで、はじめて結晶を得ることに成功しました。

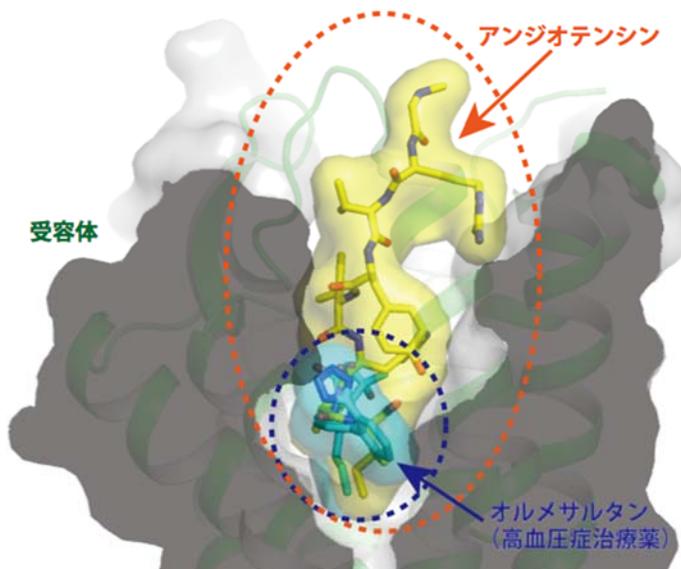


図3 アンジオテンシンと受容体の結合の様子

アンジオテンシン（黄）は受容体の広い範囲で結合しているが、高血圧治療薬であるオルメサルタン（青）と受容体の結合範囲は狭かった。既存の薬は受容体の一部しか利用していないため、より広い範囲を使う薬が開発できたら、今までの薬より良いものができる可能性がある。