

2024年5月29日

国立大学法人東北大学

先天性腎性尿崩症の治療候補薬の性状解析 疾患変異に応じた個別化治療アプローチの重要性

【発表のポイント】

- 指定難病である先天性腎性尿崩症（cNDI）^{（注1）} に対する候補薬である 2 型バソプレシン受容体（V2R）^{（注2）} 作動薬 OPC51803 とその類縁化合物（総称して、OPC5 アナログ）^{（注3）} のシグナル伝達機能を評価しました。
- シグナル伝達活性が低下する疾患変異型 V2R に対し、OPC5 アナログは未変異型 V2R と同等のシグナル伝達を誘導することを明らかにしました。
- ドッキングシミュレーション^{（注4）} から、OPC5 アナログとバソプレシン^{（注5）} のシグナル伝達の差異に関わる構造基盤を推定しました。
- これらの研究成果は、V2R 疾患変異に応じた治療薬の開発の重要性を示しており、今後の cNDI の治療薬開発に貢献すると期待されます。

【概要】

2 型バソプレシン受容体（V2R）は G タンパク質共役型受容体（GPCR）^{（注6）} の一種であり、抗利尿ホルモンのバソプレシンと結合して細胞内のシグナルを伝達します。V2R の機能低下型遺伝子変異は先天性腎性尿崩症（cNDI）の原因となります。現在、cNDI に対する有効な治療法の選択肢は限られています。

東北大学大学院薬学研究科の倉本律輝大学院生、木瀬亮次特任助教、井上飛鳥教授らのグループは、cNDI を引き起こす疾患変異型 V2R に対して複数の OPC5 アナログの有効性を細胞アッセイ及び OPC5 アナログのドッキングシミュレーションによって評価しました。その結果、OPC5 アナログは細胞膜の発現量が低い疾患変異型 V2R において健常人型（野生型）^{（注7）} V2R と同程度まで G タンパク質シグナルが回復することを明らかにしました。また、OPC5 アナログに特有の V2R との相互作用が、このシグナル伝達の差異を生み出していることが推測されました。

本研究で行った変異の種類に応じた治療戦略の選択は今後の創薬展開に貢献することが期待されます。

本研究成果は、2024 年 5 月 15 日付けで科学誌 PLOS ONE に掲載されました。

【詳細な説明】

研究の背景

先天性腎性尿崩症（cNDI）は、水分再吸収障害を特徴とする多尿障害であり、ペプチド性抗利尿ホルモンであるバソプレシンに対する腎臓尿細管細胞の反応性低下に起因しています。cNDIの大半は2型バソプレシン受容体（V2R）の遺伝子変異に由来します。現在の治療戦略は、主に尿量のコントロールによる症状管理に重点を置いており、この疾患治療の利用可能な選択肢は限られています。このため、cNDIの症状を抑える新規治療薬の開発が望まれています。

GPCRは活性化によりGタンパク質^(注8)とβアレスチン^(注9)を介したシグナルを活性化します。V2Rにおいては、Gタンパク質シグナルの活性化は尿量の調節を行うアクアポリン^(注10)による尿の濃縮を促進する一方で、βアレスチンの活性化はV2Rを細胞内に取り込み、Gタンパク質の活性化の効果を抑制します。そのため、Gタンパク質の活性化を誘導する一方で、βアレスチンの活性化を誘導させない薬がこの疾患の治療に有用と考えられています。

cNDI治療薬の候補であるOPC51803（以下、OPC5）は大塚製薬によって開発された化合物であり、V2Rの作動薬として機能します。動物実験レベルではOPC5は経口投与により抗利尿作用を示すことが報告されています。また、OPC5の構造類縁化合物（OPC5と合わせて、以下OPC5アナログと総称）が開発されており、これらもcNDIの治療薬として期待されています（図1）。しかし、これらの化合物の個々の疾患変異型V2Rに対する薬理作用は十分に検証されていませんでした。

今回の取り組み

東北大学大学院薬学研究科の倉本律輝大学院生、木瀬亮次特任助教、井上飛鳥教授らの研究グループは、抗利尿作用を引き起こすOPC5アナログに着目し、疾患変異型V2Rに対するシグナル伝達への影響を評価しました。まず、10種のOPC5アナログのV2Rに対するシグナル伝達を評価しました。その結果、これらのOPC5アナログはバソプレシンと同程度のGタンパク質の活性化を引き起こす一方で、βアレスチンの活性化はほとんど引き起こさないことが分かりました（図2）。

次にcNDI患者から同定された6つの疾患変異型V2Rの特徴を膜発現量とシグナル伝達の観点から調べました。細胞膜発現量を評価した結果、変異の種類によって細胞膜発現量が異なり、多くの疾患変異型で細胞膜発現量が低下することが明らかになりました。シグナル伝達を評価したところ、これらの疾患変異型V2Rは野生型V2Rと比較してバソプレシン処置によるGタンパク質シグナルが大幅に減少していることが分かりました。さらに、これらの疾患変異型に対してOPC5アナログの有用性を評価したところ、膜発現量が低い疾患変異型V2RではOPC5アナログが野生型V2Rと同程度までGタンパク質の活性化

を引き起こすことが分かりました（図3）。

最後に OPC5 アナログがどのようにバソプレシンとのシグナル伝達に違いを生み出しているのか検証するために、OPC5 アナログのドッキングシミュレーションを行いました。その結果、バソプレシンはV2Rの312番目のアミノ酸残基と相互作用する一方で、OPC5 アナログは相互作用しないことが分かりました（図4）。OPC5 アナログが β アレスチンの活性化を誘導しない理由はこの相互作用を生じないためであることが示唆されました。

今後の展開

本研究は OPC5 アナログが β アレスチンの活性化をほとんど誘導せず、Gタンパク質の活性化を誘導することで、一部の膜発現量の低い疾患変異型 V2R の Gタンパク質活性化能を野生型と同程度まで強めることを明らかにしました。今回明らかにしたシグナルの構造基盤および疾患変異型 V2R の理解は、先天性腎性尿崩症への薬の開発に貢献することが期待されます。

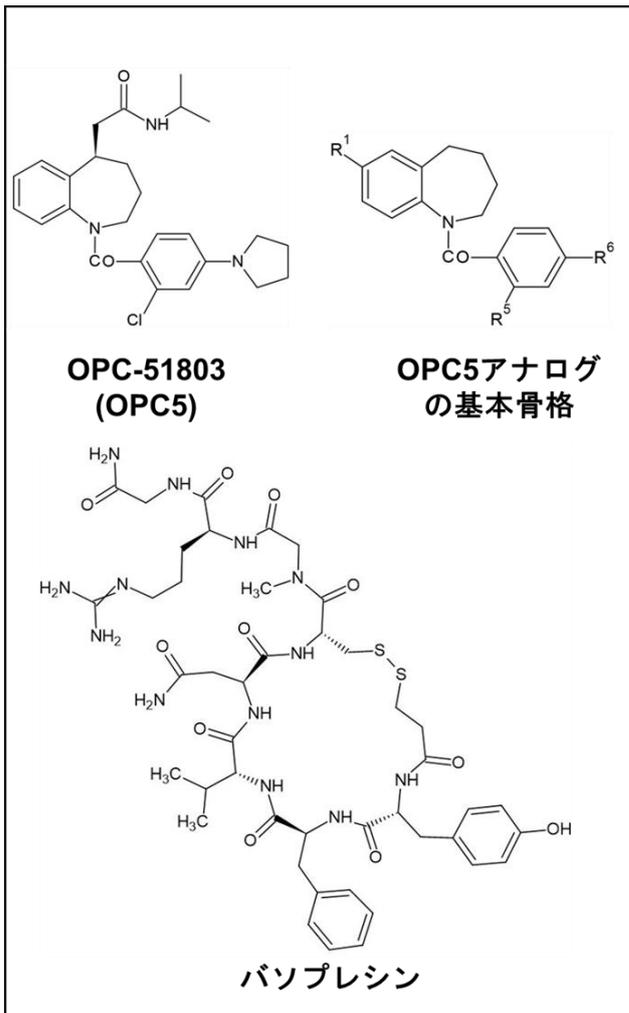


図 1. OPC5 アナログとバソプレシンの構造

OPC5 アナログは R1、R5 及び R6 の位置の官能基を変えることで様々な種類が開発されている。OPC5 アナログはバソプレシンと比較して小さいサイズである。

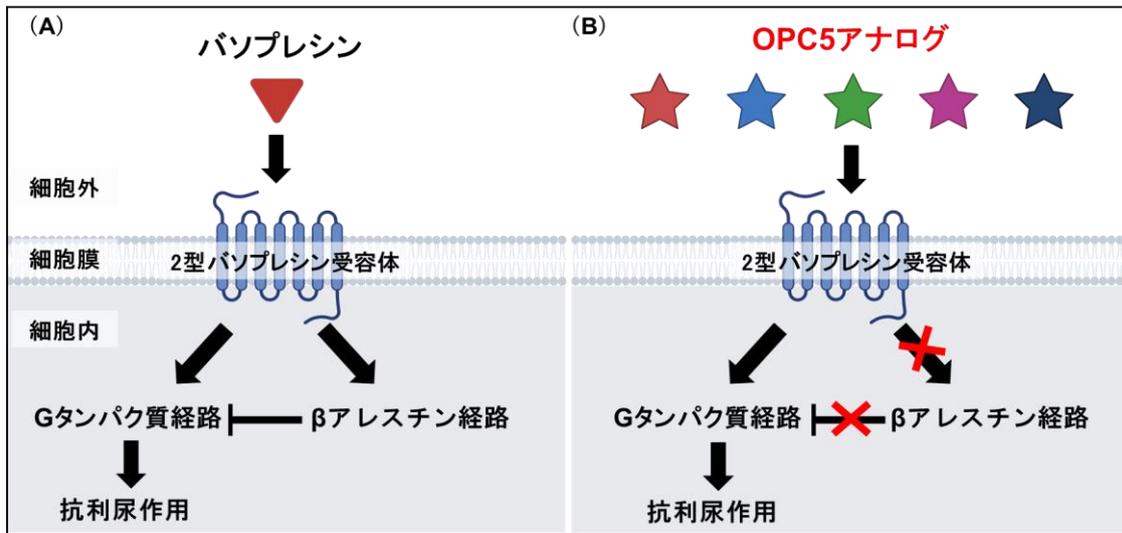


図 2. バソプレシンと OPC5 アナログの下流シグナルの比較

V2R を発現させた細胞に、バソプレシン (A) または 10 種の OPC5 アナログ (B) を個別に処置することで、それぞれの下流シグナルを評価した。バソプレシンで刺激された V2R は G タンパク質と β アレスチンの両経路を活性化させていた一方で、OPC5 アナログは β アレスチンの活性化をほとんど引き起こさなかった。

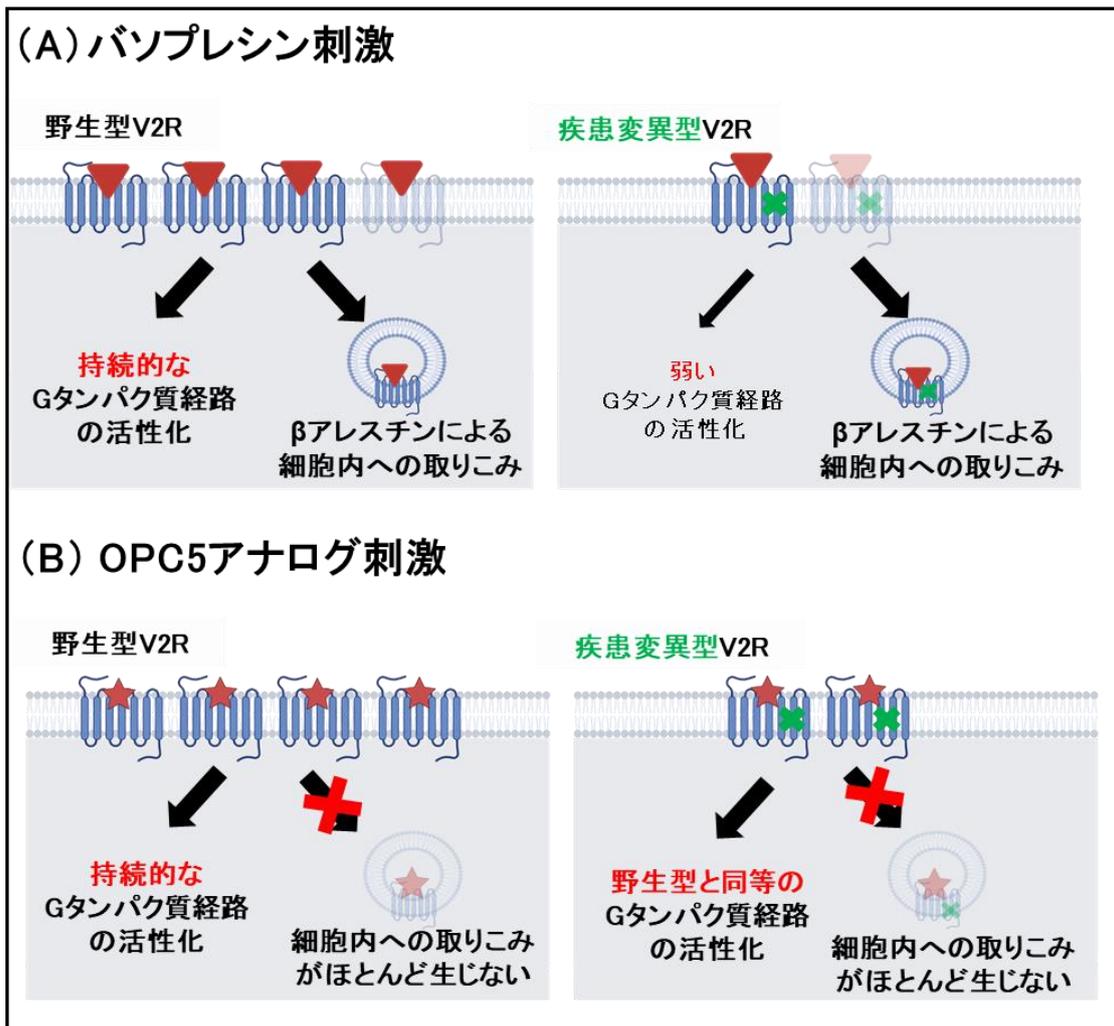


図 3. 疾患変異型 V2R への OPC5 アナログの有用性の評価

(A) バソプレシン刺激は、野生型 V2R と疾患変異型 V2R のいずれにおいても G タンパク質とβアレスチンの両経路を活性化させた。(B) OPC5 アナログ刺激は、βアレスチン経路の活性化が弱く、一部の疾患変異型 V2R では野生型と同等の G タンパク質の活性化を引き起こすことが明らかとなった。

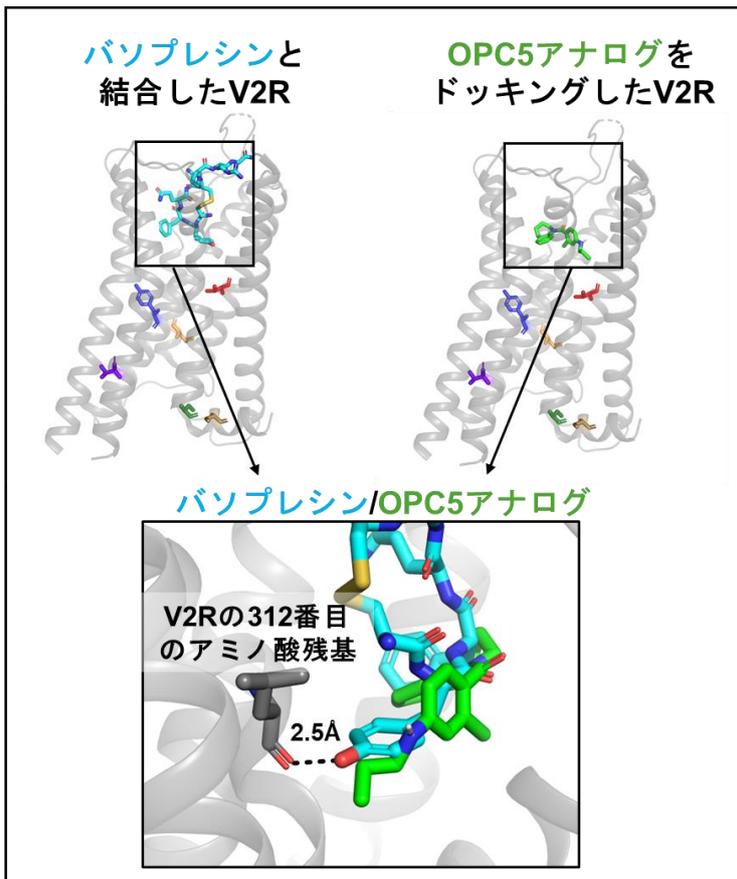


図 4. ドッキングシミュレーションによるバソプレシンと OPC5 アナログの V2R への結合

バソプレシンと OPC5 アナログが V2R の異なるシグナルを誘導するメカニズムを解明するために、OPC5 アナログのドッキングシミュレーションを行った。その結果、バソプレシンは V2R の 312 番目のアミノ酸残基と 2.5 Å^(注11) の距離で相互作用していた一方で、OPC5 アナログはこの相互作用をしないことが示唆された。このアミノ酸残基は GPCR の活性化につながる構造変化に重要な部位に位置していることから、この残基との相互作用の違いがシグナル伝達に違いに関与することが推測された。

【謝辞】

本研究は、「文部科学省科学研究費補助金（課題番号: JP21H04791、JP21H05113、JP21H05037）」、「科学技術振興機構（JST）創発的研究支援事業（課題番号: JPMJFR215T、JPMJMS2023）」、日本医療研究開発機構創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業（JP22ama121038、JP22zf0127007）を始めとする様々な研究費支援を受けて実施されました。

【用語説明】

注1. 先天性腎性尿崩症 (cNDI)

腎臓の V2R やアクアポリンの変異によって、多飲・多尿などの症状を示す指定難病。本研究では、部分型先天性腎性尿崩症を引き起こす V2R 遺伝子（遺伝子シンボル *AVPR2*）の機能低下型変異（V2R タンパク質の 1 アミノ酸残基の置換や欠失）を対象とした。

注2. 2 型バソプレシン受容体 (V2R)

バソプレシンを特異的に認識する GPCR の 1 種。腎臓の近位尿細管細胞に発現しており、バソプレシンに結合すると受容体機能がオンとなり、細胞内の三量体 Gs タンパク質を介して、アデニル酸シクラーゼの酵素活性を増強させ、cAMP の産生を誘導する。

注3. OPC5 アナログ

大塚製薬株式会社によって開発された V2R を活性化させる OPC51803（本研究では OPC5 と略称）とその類縁化合物の総称。cNDI の治療薬の候補として OPC5 はラットにおいて抗利尿作用が確認されている。本研究では 10 種類の OPC5 アナログを用いてシグナル伝達の評価を行った。

注4. ドッキングシミュレーション

コンピューターを用いた手法の一つであり、リガンドがターゲットとなるタンパク質の受容体の結合部位にどのように結合するか予測する技術。本研究では構造が明らかとなっている V2R と G タンパク質の複合体構造を用いて、OPC5 アナログのドッキングシミュレーションを行った。

注5. バソプレシン

抗利尿ホルモンとも呼ばれるペプチドホルモン。腎臓における水の再吸収を促進させることで、体内の水分や塩分の体外への排出を妨げる。

注6. G タンパク質共役型受容体 (GPCR)

細胞膜表面に存在する受容体タンパク質であり、細胞膜を7回貫通する特徴的な構造を持つ。特定のホルモンなどの細胞外の物質と結合することで細胞内に情報伝達を導く。すなわち、細胞外の情報を細胞内へ伝達する際に最も重要な機能を果たす。

注7. 野生型

健常人で最も多く存在する V2R のアミノ酸配列を野生型と呼ぶ。先天性腎性尿崩症患者では、V2R 遺伝子（遺伝子シンボル *AVPR2*）に変異が生じることで、V2R タンパク質のアミノ酸残基に置換や欠失が生じ、野生型 V2R タンパク質とは異なる性質を持つようになる。

注8. G タンパク質

V2R を含めた GPCR に結合し、細胞内にシグナル伝達を行うタンパク質。V2R において G タンパク質が活性化すると下流にシグナルが伝達され、アクアポリンを細胞膜に移行させる働きがあるため、G タンパク質の活性化を誘導させる薬剤が cNDI の治療薬の候補である。

注9. β アレスチン

V2R を含めた GPCR に結合し、GPCR を細胞内に取り込むことで、GPCR のさらなる活性化を抑制するとともに、分解や再利用を誘導する。膜発現量が低い疾患変異型 V2R が細胞内に取り込まれると G タンパク質シグナルの伝達が減弱してしまうため、 β アレスチンを誘導しないことは cNDI の治療薬開発において重要である。

注10. アクアポリン

細胞表面の水分子の移動を制御するタンパク質。本研究に関わるアクアポリンサブタイプ（アクアポリン 2）は主に腎臓の細胞に発現し、G タンパク質の活性化によって細胞膜に移行し、尿量の調節を行う。

注11. Å（オングストローム）

長さの単位であり、 10^{-10} m（メートル）である。原子や分子の大きさなどの非常に小さな長さを表す際に用いられる。

【論文情報】

タイトル：Therapeutic potentials of nonpeptidic V2R agonists for partial cNDI-causing V2R mutants

日本語タイトル：部分型先天性腎性尿崩症に由来する変異型 V2R に対する非ペプチド性 V2R 作動薬の治療可能性

著者：Ritsuki Kuramoto^{1#}, Ryoji Kise^{1#*}, Mayu Kanno^{1#}, Kouki Kawakami¹, Tatsuya Ikuta¹, Noriko Makita², Asuka Inoue^{1*}

1. 東北大学 大学院薬学研究科

2. 東京大学 大学院医学系研究科 内分泌病態学

#共同第一著者

*責任著者：東北大学 大学院薬学研究科 特任助教 木瀬 亮次、同教授（京都大学 大学院薬学研究科 教授 併任） 井上飛鳥

掲載誌：PLOS ONE

DOI：<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0303507>

URL:

<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0303507>

【問い合わせ先】

（研究に関すること）

東北大学大学院薬学研究科

教授 井上飛鳥

TEL: 022-795-6861

Email: iaska@tohoku.ac.jp

（報道に関すること）

東北大学大学院薬学研究科

総務係

TEL: 022-795-6801

Email: ph-som@grp.tohoku.ac.jp