

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 31 日現在

機関番号：32713

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461382

研究課題名(和文) Gタンパク質共役受容体の細胞内・細胞間クロストークと疾患/制御

研究課題名(英文) G protein-coupled receptor: its crosstalk, diseases, and regulation

研究代表者

飯利 太朗 (Iiri, Taroh)

聖マリアンナ医科大学・医学部・教授

研究者番号：90313022

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：Gタンパク質共役受容体の細胞内・細胞間クロストーク/脱感作と制御を検討した。具体的には、1) 臓器保護的Gs共役受容体による臓器障害的Gq/13共役受容体系へのRhoGDIリン酸化を介するクロストーク機構を解明した。2) 受容体に代表されるGs共役受容体の脱感作を解析し、新規NO供与体による脱感作を担うGPCRキナーゼ2のNO化と脱感作の抑制を初めて明らかにし、NO系とGPCR系のクロストークを示した。3) AT1をモデルとする臓器障害シグナルに対して、ARBのdual action、すなわちAT1に対するインバースアゴニスト活性及び脂肪細胞/マクロファージ系に対する抗炎症作用を定量的に解明した。

研究成果の概要(英文)：We have investigated the molecular mechanism of the crosstalk between Gs-coupled receptors and Gq/G13-coupled receptors, focusing on RhoA/RhoGDI function, and have found that RhoGDI phosphorylation by A-kinase serves as the specific inhibitory mechanism of Gq/G11-coupled receptor signaling. We have also investigated the molecular mechanism of desensitization of Gs-coupled receptor, focusing on GPCR kinase 2 (GRK2), and shown that our novel chemicals that induce nitrosylation of GRK2 inhibit GRK2 function and desensitization of α -adrenergic receptor, thus clarifying the signal crosstalk between NO and GPCRs. We have also quantitatively shown that angiotensin receptor blockers (ARBs) show dual actions, i.e., inverse agonist activity to AT1 receptor and anti-inflammation activity against adipocytes/macrophages.

研究分野：内分泌学、分子生物学、内科学、薬理学、GPCRシグナル制御と疾患

キーワード：Gタンパク質共役受容体 GPCR NO nitrosylation 臓器障害と保護 メタボリックシンドローム シグナルクロストーク

1. 研究開始当初の背景

(1) G タンパク質共役受容体 (GPCR) の作用と疾患・制御: GPCR はゲノム最大のファミリーを形成し、約 1000 の存在が知られている。この著しい多様性の一方、GPCR による G タンパク質の活性化やインバースアゴニストや脱感作を含めた不活性化機構は、進化を超えて保存されている。GPCR シグナルの異常は種々の疾患の原因となり、過去の薬剤の約 50% は GPCR 作動薬である。

(2) GPCR 活性化機構の新展開: 最近、個々のアゴニストによる GPCR 活性化機構は、それぞれ GPCR を異なる活性型に維持し、ユニークなシグナルを作動させると考えられつつあり、GPCR 活性化モデルが大きく改変されつつある。

(3) GPCR シグナルのクロストーク: 最近、GPCR の高次調節機構がクローズアップされてきている。その中には、1) GPCR ダイマー形成、2) GPCR 間シグナルクロストーク (臓器障害性 Gq/G13 共役系 (AT1、ET 受容体など) と臓器保護的 Gs 共役系 (β 2、GLP-1 など) クロストークを代表とする)、3) 細胞間クロストーク等が挙げられる。

2. 研究の目的

G タンパク質共役受容体 (GPCR) シグナルの臓器障害/臓器保護における意義を、GPCR シグナルクロストークのもとに解析し、シグナル制御による基づく疾患治療をめざす。具体的には、(1) Gq/G13 共役受容体にクオストークする Gs 共役受容体の臓器保護シグナルの詳細を明らかにし、(2) その脱感作と NO による制御を解明する。(3) AT1 受容体とダイマー形成の臓器障害シグナルにおける意義を検証し、(4) 細胞間シグナルクロストークを検討する。これらを通じて AT1 シグナル抑制の臓器保護作用について検証する。

3. 研究の方法

(1) Gs 共役受容体を介する臓器保護シグナルを Gq/G13 シグナルとのクロストークに焦点をあて、RhoA/RhoGDI のリン酸化による制御を中心に検討する。

(2) Gs 共役受容体の脱感作における受容体キナーゼの役割と NO/Nitrosylation による制御を試み、イメージングする。

(3) AT1 受容体をモデルに、臓器障害シグナルを検証しダイマー形成との相関を検討する。

(4) 脂肪細胞におけるシグナルを解析し、マクロファージとの共培養を行い、メタボリックシンドローム治療における分子標的を解析する。

4. 研究成果

1) Gq/G13 共役受容体と Gs 共役受容体シグ

ナルクロストーク: RhoA および RhoGDI 変異体を用いた検討から、Gs 系による Gq/G13 系の抑制のクロストークポイントとして示唆されてきた RhoA ではなく、RhoGDI の Gs 共役受容体刺激により活性化された A キナーゼによるリン酸化が、RhoA を特異的に抑制する機構であることを検証した。

2) Gs 共役受容体の脱感作機構の解析: 疾患で発見された受容体変異体を複数発見解析し、低分子アゴニストをツールに活性化、シヤペロン効果、脱感作機構を定量的に検討、イメージング解析した。今後の展開が期待される。

3) NO 供与体による脱感作抑制機構の解明: Gs 共役受容体の代表である β アドレナリン受容体の脱感作は、心不全の原因となる。一方、心血管系に保護的に作用する NO の作用の一部はタンパク質の NO 化 (nitrosylation) を介することが最近示唆されつつある。そこで、NO ガスを産生せずに NO 化のみを生じる化合物を用いて、Gs 共役受容体の脱感作を担う GPCR キナーゼ 2 (GRK2) を NO 化が抑制し、その結果 β 受容体の脱感作が抑制されることを初めて明確に明らかにした。さらに、化合物の構造活性相関を検討している。今後の創薬への応用が強く期待される。

4) ARB の dual action の定量解析とメタボリックシンドロームモデルへの応用: ARB の AT1 に対するインバースアゴニスト活性と脂肪細胞に対する抗炎症作用 (PPAR γ アゴニスト活性によると推測される) を定量的に解明した。さらに、マクロファージと脂肪細胞共培養系での検討を行った。また、脂肪細胞における β 受容体シグナルへの NO 化化合物の作用を明らかにした。今後、メタボリックシンドロームの病態の分子メカニズム解明と治療戦略への貢献が期待される。

一方、AT1 受容体のダイマー形成による臓器障害シグナル増強については、AT1 変異体解析の結果から明確な関与の証拠は得られなかった。一方で、臓器障害モデルで AT1 シグナル増強が報告されていることから、AT1 発現自体の増強により臓器障害シグナルの検討を行った。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 8 件)

① Sato J, Makita N and Iiri T. Inverse agonism: the classic concept of GPCRs revisited. Endocr. J. (査読有) online Mar 8, 2016.

https://www.jstage.jst.go.jp/article/endocrj/advpub/0/advpub_EJ16-0084/_pdf

- ② 飯利太朗、槇田紀子. GPCR キナーゼのニトロシル化による制御と創薬戦略. 日本薬理学会雑誌 (総説 invited 査読無) 145: 1-4, 2015.
https://www.jstage.jst.go.jp/article/fpj/145/1/145_10/pdf
- ③ Oishi A, Makita N, Manaka K, Mitani K, Tomita H, and Iiri T. Successful glycaemic control with three times a week degludec injection by medical staff for an elderly hemodialysis patient with type 2 diabetes. (査読有) Online DOI: 10.1007/s13340-015-0220-4, 2015
- ④ Makita N and Iiri T. Biased agonism: a novel paradigm in G protein-coupled receptor signaling observed in acquired hypocalciuric hypercalcemia. *Endocr. J.* (査読有) 61:303-309, 2014.
https://www.jstage.jst.go.jp/article/endocrj/61/4/61_EJ13-0453/_pdf
- ⑤ Manaka K, Makita N, and Iiri T. Erdheim-Chester disease and pituitary involvement: a unique case and the literature. *Endocr. J.* (査読有) 61: 185-194, 2014.
https://www.jstage.jst.go.jp/article/endocrj/61/2/61_EJ13-0419/_pdf
- ⑥ Kojima T, Imai Y, Tsushima K, Uno K, Fujiu K, Iiri T, Nishimatsu H, Suzuki T, Sugiyama H, Asada K, Nakao T, Yamashita H, Hirata Y, and Nagai R. Temporary dual-chamber pacing can stabilize hemodynamics during noncardiac surgery in a patient with left ventricular hypertrophy and outflow obstruction. *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* (査読有) 28: 124-127, 2014. doi: 10.1053/j.jvca.2012.07.010
- ⑦ Makita N, Kabasawa Y, Otani Y, Firman, Sato J, Hashimoto M, Nakaya M, Nishihara H, Nangaku M, Kurose H, Ohwada T, and Iiri T. Attenuated desensitization of β -adrenergic receptor by water-soluble N-nitrosamines that induce S-nitrosylation without NO release. *Circ. Res.* (査読有) 112: 327-334, 2013. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.112.277665
- ⑧ Makita N and Iiri T. Tyrosine kinase inhibitor-induced thyroid disorders: a review and hypothesis. *Thyroid* (査読有) 23:151-159, 2013. doi: 10.1089/thy.2012.0456
- 〔学会発表〕 (計 21 件)
- ① 飯利太朗、槇田紀子. G タンパク質共役受容体: GRK を標的とする制御と創薬戦略. 第 14 回 GPCR 研究会 (特別講演) 日本科学未来館 未来館ホール (東京都・江東区) 5/12-13, 2016
- ② 飯利太朗、槇田紀子. カルシウム感知受容体: まれな内分泌疾患から GPCR の新しいパラダイムへ 第 89 回日本内分泌学会学術総会 (教育講演) 京都国際会議場 (京府・京都市) 4/21-23, 2016
- ③ 飯利太朗、槇田紀子、松本直樹. G タンパク質共役受容体: GPCR キナーゼの制御と創薬戦略. 第 31 回日本 DDS 学会学術集会 (招待講演) 京王プラザホテル (東京都・新宿区) 7/3-5, 2015
- ④ 飯利太朗. G タンパク質共役受容体の新しいパラダイム 第 47 回 MRC (特別講演) 聖マリアンナ医科大学 (神奈川県・川崎市宮前区) 4/2, 2015
- ⑤ 槇田紀子、佐藤潤一郎、黒瀬等、大和田智彦、飯利太朗. β アドレナリン受容体の脱感作を制御する新たなニトロシル化薬剤 ミニシンポジウム: 臨床応用を目指したガス状分子の機構解析 第 88 回日本薬理学会年会 (招待講演) 名古屋国際会議場 (愛知県・名古屋市) 3/18-20, 2015
- ⑥ 飯利太朗、槇田紀子. Regulation of G protein-coupled receptor kinase and desensitization-targeted potential therapeutic approach. シンポジウム: G タンパク質共役型受容体の活性制御にかかわる分子群の新展開 第 87 回日本薬理学会年会 (招待講演) 仙台国際センター (宮城県・仙台市) 3/19-21, 2014
- ⑦ 飯利太朗. G タンパク質共役受容体の新しいパラダイム -Biased signaling and disease- 生活習慣病の病態解明と分子標的探索セミナー (招待講演) 群馬大学生体調節研究所 (群馬県・前橋市) 8/1, 2013
- ⑧ 飯利太朗. G タンパク質共役受容体の新しいパラダイム-糖尿病・高血圧治療戦略における意義 第 56 回日本糖尿病学会年次集会 (招待講演) メルパルク熊本 (熊本県・熊本市) 5/16, 2013
- ⑨ Makita N and Iiri T. Novel human autoantibody working as a biased allosteric modulator caused acquired hypocalciuric hypercalcemia. Gordon Research Conference: Molecular Pharmacology. Pisa, Italy 4/28-5/5, 2013

- ⑩ 榎田紀子, 受容体シグナルとその分子異常を原因とする疾患の解析 日本内分泌学会研究奨励賞受賞講演(招待講演) 仙台国際センター(宮城県・仙台市) 4/25-27, 2013

[図書] (計4件)

- ① 飯利太朗, 性線機能亢進症 南山堂医学辞典 南山堂 1340-1341, 2014
- ② 飯利太朗、榎田紀子, Gタンパク質共役受容体(GPCR) 医学・医療のいまがわかるキーワード 2014 医学のあゆみ(医歯薬出版) 249: 369, 2014
- ③ 榎田紀子、飯利太朗, TKIによる甲状腺機能異常 医学・医療のいまがわかるキーワード 2014 医学のあゆみ(医歯薬出版) 249: 447, 2014
- ④ 飯利太朗、榎田紀子, 特集: GPCR研究の最前線 2016(飯利太朗、榎田紀子編) 医学のあゆみ(医歯薬出版) 巻頭言(256:3347)、バイアスシグナルとカルシウム感受容体(256:393-400)、βアドレナリン受容体の脱感作制御-ニトロシル化のターゲットとしてのGRK2(256:413-420), 2016

[産業財産権]

○出願状況(計 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

○取得状況(計1件)

名称:Gs共役受容体に対する医薬品候補化合物をスクリーニングする方法
発明者:飯利太朗、榎田紀子
権利者:東京大学、飯利太朗、榎田紀子
種類:特願
番号:2011-230569
取得年月日:平成28年2月29日
国内外の別:

[その他]

ホームページ等
http://www.todai-jinnai.com/kenkyu/g_endocrinology/g03_endocrinology

6. 研究組織

(1) 研究代表者

飯利 太朗 (IIRI TAROH)

聖マリアンナ医科大学・医学部・教授
研究者番号: 90313022

(2) 研究分担者

榎田 紀子 (MAKITA NORIKO)
東京大学・医学部附属病院・講師
研究者番号: 60353455

(3) 連携研究者

()

研究者番号: