上海药物所等揭示阿片受体家族与内啡肽系统的分子作用机制

作者：writer 来源：中国科学院

本文原地址：https://www.iikx.com/news/progress/21593.html

本文仅供学习交流之用，版权归原作者所有，请勿用于商业用途！

上海药物所等揭示阿片受体家族与
内啡肽系统的分子作用机制
。内源阿片系统由四个阿片受体成员以及一系列阿片肽组成，广泛分布在中枢神经系统、外周神经系统和免疫系统，调控镇痛、欣快、奖赏、认知、应激等信号通路，是临床用于治疗疼痛、焦虑等疾病的重要靶标。

阿片受体家族共有四个成员，即μOR、δOR、κOR、NOPR，均属于G蛋白偶联受体，主要通过偶联下游Gi蛋白发挥功能。阿片受体不仅会被体内产生的阿片肽激活，而且会被外源的阿片类/非阿片类药物激活，包括吗啡、芬太尼等药物。2022年11月10日，中国科学院上海药物研究所研究员徐华强/副研究员庄友文团队联合研究员谢欣团队、教授王明伟团队，首次报道了吗啡和芬太尼结合人源μOR-
Gi蛋白信号复合体的结构，揭示了两者在结合μ型阿片受体上的关键差异因素（*Cell*）。

靶向μOR的小分子阿片药物广泛用于临床中至重度的急性疼痛，而它们在强效镇痛的同时伴随着耐药、呼吸抑制、成瘾等严重的副作用。为了开发更低毒副作用的镇痛类药物，科研人员将目光聚焦到其他亚型阿片受体的激动剂上，这促进了一些镇痛药物的研发，包括靶向κOR的地佐辛、盐酸喷他佐辛酯、纳布啡癸二酸、氢溴酸依他佐辛等上市药物，靶向δOR的SRI-22138、BMS986187等临床在研药物，靶向NOPR的PPL-138、LY-2940094等临床在研药物（源于药渡数据）。相关研究尽管已有进展，但由于小分子药物较差的选择性和药理活性，却引发了其他副作用——致幻、惊厥、癫痫等，导致其临床进展受到阻碍、甚至被终止。

人体中的阿片肽不仅是强效镇痛药吗啡等外源阿片药物的天然模板，而且在机体自身分泌的浓度下不会导致成瘾、呼吸抑制等副作用。内源性的阿片肽对四种阿片受体具有很高的亲和力、激动活性、高度选择性，这赋予其重要的研发价值。内啡肽是阿片肽众多成员中的一种多肽神经递质，会在身体感到疼痛或者有压力时被释放，有助于减轻疼痛、缓解压力。内啡肽也会在按摩、跑步、游泳等锻炼运动中被释放，通过机体的奖赏信号通路来提升人的幸福感。阿片肽由一系列前体蛋白经过酶解和修饰得到，包括内啡肽、强啡肽、脑啡肽和痛敏肽等。除了内源性的阿片肽以外，阿片受体也会被外源的多肽激活，包括食物中的酪啡肽、青蛙皮肤表面的皮啡肽等。

随着X-射线晶体技术和冷冻电镜技术的发展，近20年间已有超过800个GPCR相关的结构被报道（源于GPCRdb）。阿片受体作为一类重要的药物靶标，该家族的失活和激活结构被相继发表。在之前研究中，较多备受关注的科学问题得以解释，包括阿片受体与小分子拮抗剂/激动剂的结合

模式、钠离子口袋介导的激活机制、μOR的偏向性机制等。然而，内源性阿片肽配体如何选择性识别并激活不同亚型阿片受体的分子机制尚不清楚，阻碍了科学家对阿片肽的认知与合理的设计改造。

1月12日，上海药物研究所徐华强/庄友文团队联合美国北卡罗莱纳大学教堂山分校Bryan L. Roth团队，以长文形式在《细胞》（*Cell*）上，在线发表了题为*Structures of the entire human opioid receptor family*的研究论文。该研究系统地分析和明确了各内源性阿片肽对阿片受体的信号活性，并进一步解析了阿片受体家族四个亚型——μOR、δOR、κOR、NOPR以及各自的选择性阿片肽包括内啡肽、内吗啡肽、强啡肽、皮啡肽和痛敏肽的冷冻电镜复合物结构，同时，结合大量细胞水平的功能实验，揭示了多肽类配体和阿片受体的结合模式，阐述了它们的选择性和保守性机制，为“信使-信箱-效能”模式提供了结构和功能支持。

本研究通过细胞水平的功能实验，较为系统地分析了阿片肽对野生型阿片受体的的信号传导特性。由于内啡肽和脑啡肽对μOR、δOR的激活程度相近，为了系统地阐述选择性差异，研究最终锁定了内啡肽以及选择性更显著的内吗啡肽、强啡肽、痛敏肽和外源的皮啡肽作为研究对象，分别解析了内啡肽-μOR、内吗啡肽-μOR、强啡肽-κOR、痛敏肽-NOPR，皮啡肽-δOR的高分辨率冷冻电镜三维结构，并利用第二信使cAMP的抑制试验、G蛋白和arrestin蛋白的招募实验来分析突变体的特性。

研究发现，所有的阿片肽均是以N端插入的方式进入受体。阿片肽的N端基序YGGF（痛敏肽是FGGF）“信使”结合在阿片受体极为保守的正构结合口袋腔室里，第一个酪氨酸/苯丙氨酸主链上的胺基均与D3.32Q2.60Y7.43基序形成极性网络，该保守腔室对配体的识别和药理活性必不可少，合成的YGGF四肽便可以通过较弱的作用激活四个受体（EC50约10μM）。结构分析发现，阿片受体的胞外端，主要为ECL2/3以及TM2/6/7的胞外端在序列和带电性上均具有差异性，例如κOR和NOPR的ECL2富含带负电的氨基酸，对应的强啡肽和痛敏肽在ECL2处富含带正电的氨基酸。大规模功能突变实验结果表明，阿片受体ECL2/3和TM2/6/7的胞外端序列不保守性和带电差异性共同决定阿片受体对阿片肽的选择性结合。

NOPR是阿片受体家族中最后一个被发现的受体，没有被冠以希腊字母名称。本研究解析的痛敏肽结合NOPR的结构是首个激活形式NOPR的结构，同时，通过结构比对分析发现它遵循阿片受体通用的激活机制。此外，阿片受体对于下游Gi蛋白有着极高的选择性。本研究发现阿片受体的ICL3会形成一个短的α螺旋与Gi形成疏水作用，同时保守的精氨酸与Gi形成静电作用。这可以部分解释Gi结合的GPCR结构均含有完整的ICL3，而与其他亚型G蛋白（Gs，Gq）结合的GPCR结构中往往缺失了ICL3的电子云密度的原因。

综上，科研团队通过解析阿片肽结合的阿片受体结构，系统地阐释了多肽配体的结合模式，揭示了阿片受体中保守的结合口袋以及独特的ECL2/3共同介导阿片肽的作用机制，阐释了阿片受体通用的激活机制以及对下游Gi蛋白的选择性特征。上述研究为探索阿片系统的生物学特性奠定了夯实的结构基础，并为设计新型高效的阿片肽类镇痛药物铺平了道路。

研究工作得到国家自然科学基金、国家重点研发计划、上海市科技重大专项、中科院特别助理研究项目以及美国国立心理健康研究院、美国国立卫生研究院等的支持。美国温安洛研究所科研人员参与研究。

论文链接



图为盛开着罂粟花的大脑，罂粟是阿片类镇痛药的重要来源。罂粟花上有一只青蛙，表示本研究中使用了来自青蛙皮肤表面的皮啡肽。图像右侧是四个被激活的阿片受体的结构被嵌在细胞膜内。来自罂粟中的阿片物质模拟了人体内的阿片肽功能，均通过结合阿片受体来调控人体内镇痛、感知、奖赏等生理活动。本研究报道了整个阿片受体家族结合内源性多肽，以及DOR和青蛙皮肤表面的外源皮啡肽的三维结构。

A

	μOR ± SEM	κOR ± SEM	δOR ± SEM	NOPR ± SEM	sequence
DAMGO	8.11 ± 0.23	N.A.	N.A.	N.A.	YAGFG (D-Ala², NMe-Phe⁴, Ol-Gly⁵)
β-endorphin	6.91 ± 0.10	6.15 ± 0.08	7.19 ± 0.15	5.97 ± 0.21	YGGFMTSEKSQTPLVTLFKNAIIKNAYKKGE
Endomorphin	7.39 ± 0.21	N.A.	N.A.	N.A.	YPWF
Deltorphin	5.28 ± 0.41	N.A.	8.89 ± 0.17	N.A.	YAFEVVG (D-Ala²)
Dynorphin	6.79 ± 0.10	8.87 ±0.08	6.63 ± 0.14	7.08 ± 0.37	YGGFLRRIRPKLK
NFQ	N.A.	N.A.	N.A.	9.42 ± 0.17	FGGFTGARKSARKLANQ

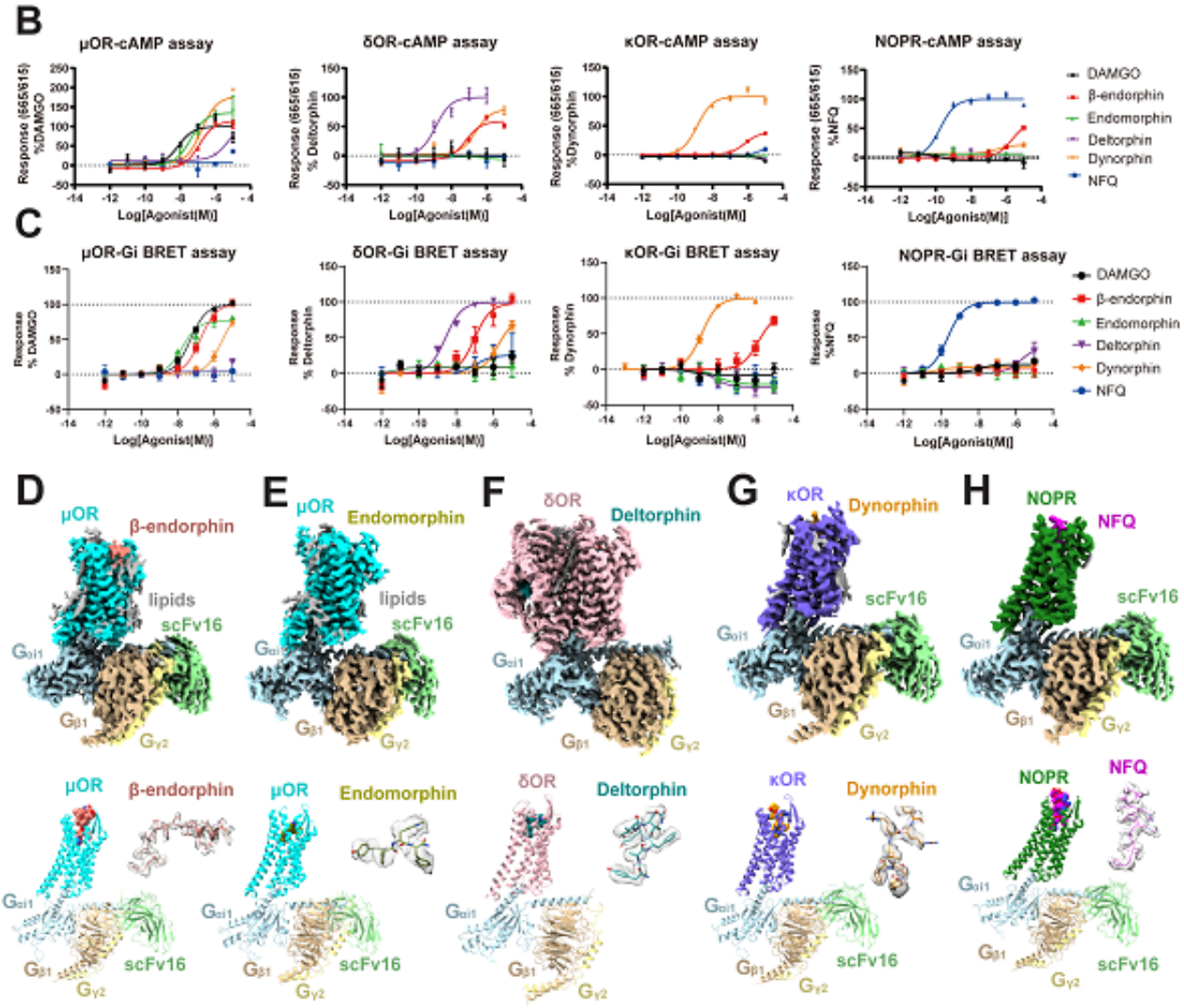


图1.阿片受体结合阿片肽的功能实验和冷冻电镜结构。A、阿片肽诱导阿片受体激活的亲和力，B、cAMP抑制曲线结果，C、Gi招募实验的曲线结果，D-H、阿片受体结合阿片肽的冷冻电镜结构和原子模型。

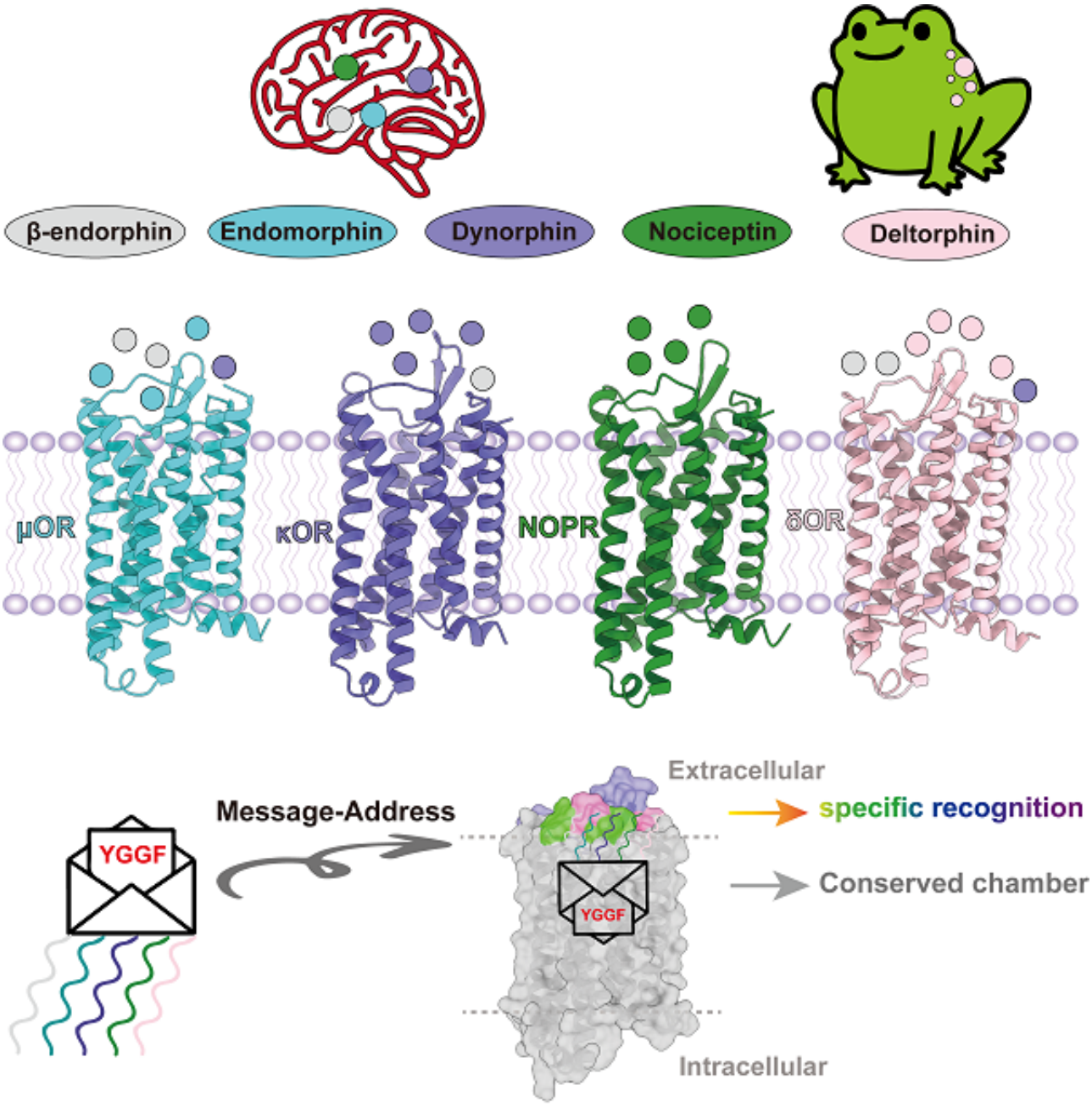


图2.阿片受体和阿片肽的选择以及“ 信使-信箱 ”概念的结构基础。

研究团队单位：上海药物研究所

更多 科学进展 请访问 https://www.iikx.com/news/progress/

本文版权归原作者所有，请勿用于商业用途，爱科学iikx.com转发