科研新发现为开发新型阿片类镇痛药“铺路”

作者：writer 来源：科学网

本文原地址：https://www.iikx.com/news/progress/21634.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！

科研新发现为开发新型阿片类镇痛药“铺路”。



图为一个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。

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中，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，分别为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，也会被外源的阿片类/非阿片类药物激活，包括广为人知的吗啡、芬太尼等药物。在2022年11月10号的Cell期刊上，徐华强研究员/庄友文副研究员团队联合谢欣研究员团队、王明伟教授团队，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。

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，然而它们在强效镇痛的同时也

伴随着耐药、呼吸抑制、成瘾等诸多严重的副作用。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了其它亚型阿片受体的激动剂上，成功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SR I-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）。尽管有了很大的进展，由于小分子药物较差的选择性和药理活性，还是引发了其他副作用：致幻、惊厥、癫痫等，导致它们的临床进展受到了阻碍、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以及激动活性，最重要的是具有高度选择性，这些特性赋予了它们重要的研发价值。近几年随着那句少年只知多巴胺，中年才懂内啡肽网络名言的广为流传，刺激内啡肽生成的励志活动被逐渐推广。内啡肽是阿片肽众多成员中的一种多肽神经递质，它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，在近20年间，已经有超过800个GPCR相关的结构被报道（源于GPCRdb），阿片受体作为举足轻重的一类药物靶标，该家族的失活和激活结构也被相继发表，在之前的研究中，很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，阻碍了科研人员对阿片肽的认知与合理的设计改造。

2023年1月12日，中国科学院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团队合作在国际顶级期刊Cell上以长文形式在线发表了题为Structures of the entire human opioid receptor family的研究论文。该项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和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，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。

爱科学
iikx.com

Cell

CellPress

Article

Structures of the entire human opioid receptor family

Yue Wang,[1,2,8] Youwen Zhuang,[1,8,*] Jeffrey F. DiBerto,[3,8] X. Edward Zhou,[4] Gavin P. Schmitz,[3] Qingning Yuan,[1,5] Manish K. Jain,[3] Weiyi Liu,[1,2] Karsten Melcher,[4] Yi Jiang,[1,6] Bryan L. Roth,[3,*] and H. Eric Xu[1,2,7,9,*]

[1]The CAS Key Laboratory of Receptor Research and the State Key Laboratory of Drug Research, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China

[2]University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

[3]Department of Pharmacology, University of North Carolina at Chapel Hill School of Medicine, Chapel Hill, NC 27599, USA

[4]Department of Structural Biology, Van Andel Research Institute, Grand Rapids, MI 49503, USA

[5]The Shanghai Advanced Electron Microscope Center, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China

[6]Lingang Laboratory, Shanghai 200031, China

[7]School of Life Science and Technology, ShanghaiTech University, Shanghai 201210, China

[8]These authors contributed equally

[9]Lead contact

*Correspondence: zhuangyouwen@simm.ac.cn (Y.Z.), bryan_roth@med.unc.edu (B.L.R.), eric.xu@simm.ac.cn (H.E.X.)

https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.12.026

在本项研究中，研究人员首先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，研究人员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。

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

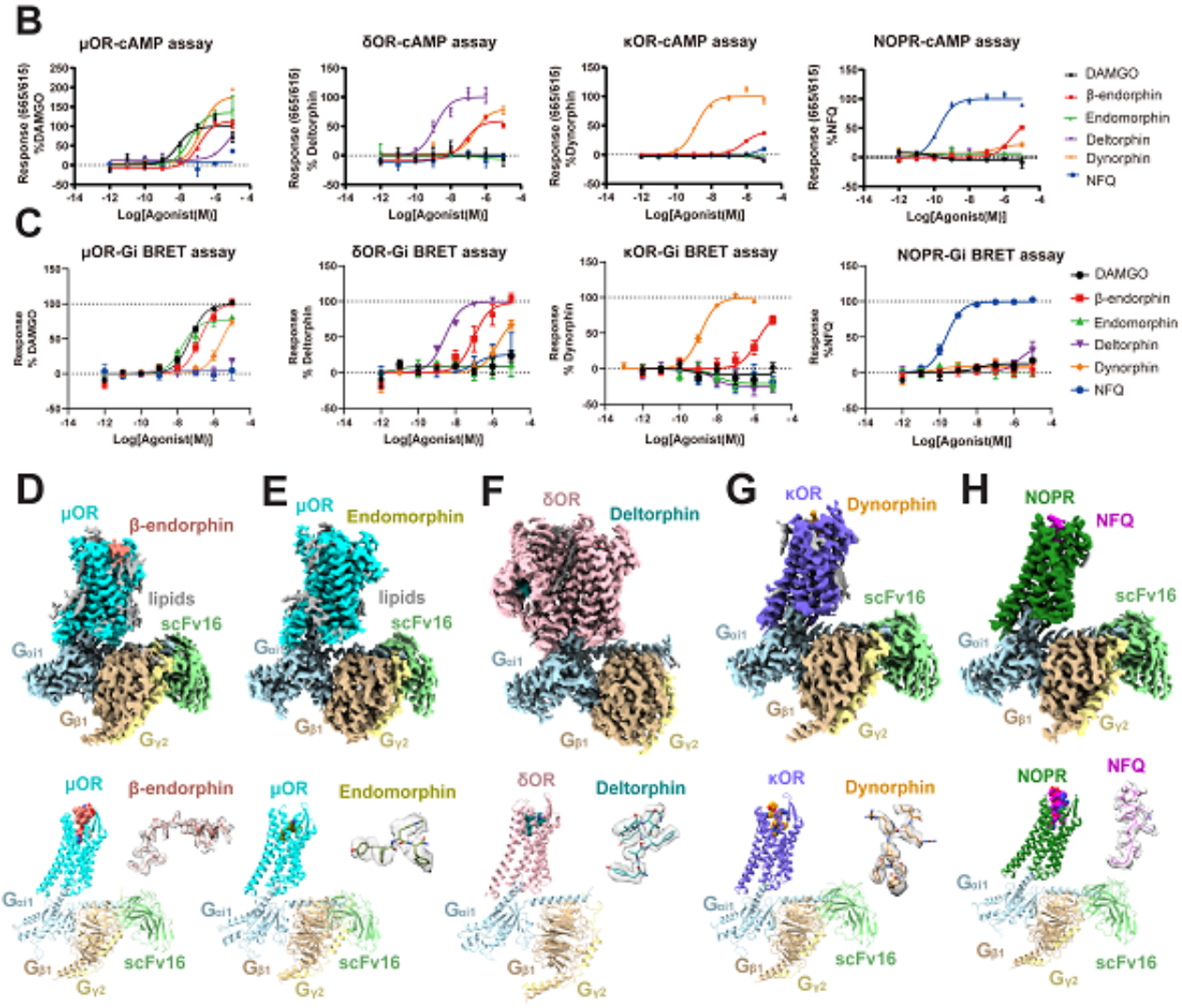


图1. 阿片受体结合阿片肽的功能实验和冷冻电镜结构。A：阿片肽诱导阿片受体激活的亲和力，B：cAMP抑制曲线结果，C：Gi招募实验的曲线结果，D-H：阿片受体结合阿片肽的冷冻电镜结构和原子模型。

研究发现，所有的阿片肽都是以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是必不可少的，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都具有差异性，比如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着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，也是首个激活形式NOPR的结构，通过结构比对分析，不出意外地发现它遵循阿片受体通用的激活机制。除此之外，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。这也可以部分解释Gi结合的GPCR结构都含有完整的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。

综上所述，研究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，阐明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。这些工作为理解阿片系统的生物学特性提供了夯实的结构基础，为设计新型高效的阿片肽类镇痛药物铺平了道路。

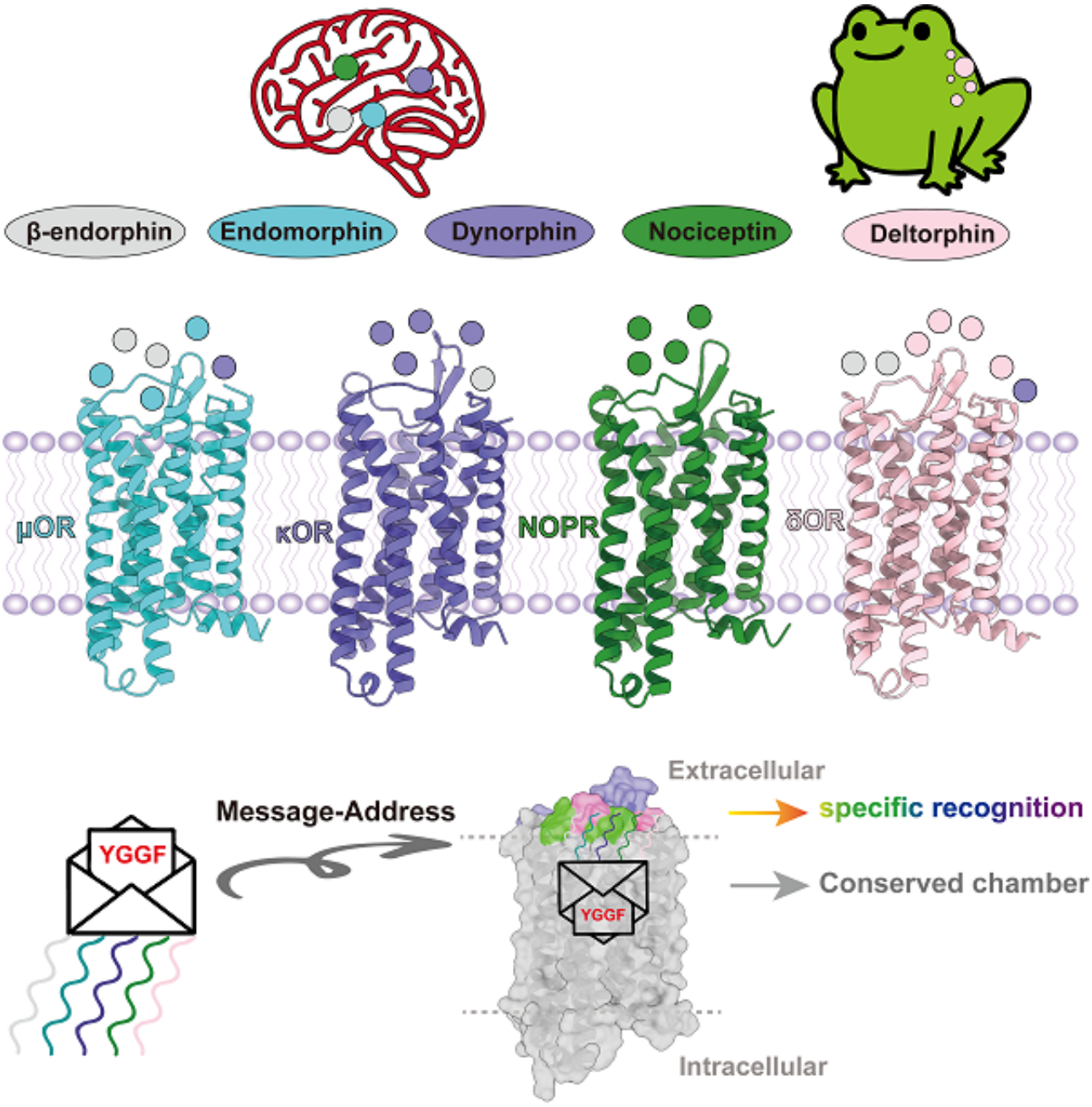


图2. 阿片受体和阿片肽的选择以及信使-信箱概念的结构基础。

本研究冷冻电镜数据在上海药物所高峰电镜中心和上海药物所冷冻电镜平台收集。中国科学院上海药物所博士研究生王悦、副研究员庄友文、北卡罗来纳大学教堂山分校Jeffery F. DiBerto为该论文的共同第一作者。上海药物所徐华强研究员、庄友文副研究员，以及北卡罗来纳大学教堂山分校Bryan L. Roth教授为论文的共同通讯作者。参与本次研究的还有上海药物所硕士毕业生刘卫一、高峰电镜中心执行主任袁青宁，美国温安洛研究所Karsten Melcher教授和X. Edward Zhou博士等。该工作获得了国家自然科学基金委、科技部重点研发计划、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、国立卫生研究院等的项目经费资助。（来源：中国科学院上海药物研究所）

相关论文信息：https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.12.026

作者：徐华强等 来源：《细胞》

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