

【目的】 本研究では、我々が発見した新規 Protein kinase A (PKA) 制御法を用いることで、先天性腎性尿崩症や肥満症などの治療薬開発に難渋している PKA 関連疾患の病態解明と新規治療戦略の提言を目指す。研究代表者は、腎臓集合管において尿濃縮力を調節するバゾプレシン/cAMP/PKA/AQP2 水チャネルシグナル伝達系の研究を行っており、最近 cAMP を介さずに直接的に PKA を活性化し、AQP2 をリン酸化できる低分子化合物 FMP-API-1/27 を発見した。この化合物には、PKA と PKA のアンカー蛋白 (AKAP) との結合を阻害する作用が報告されている。そこで、50 種類以上の AKAP の中から、化合物が標的とする AKAP X を同定し、新規尿濃縮病態の解明を進めた。

【方法】 RNA-Seq やプロテオミクス解析で同定された腎臓に発現する主要な AKAP を HEK293T 細胞に強制発現させ、免疫沈降法を用いて FMP-API-1/27 がどの AKAP - PKA 結合を阻害できるのかを評価した。次に、化合物が標的としていた AKAP X をノックアウトしたマウスを作製し、メタボリックケージを用いて尿浸透圧・尿量・飲水量を測定した。Akap X ノックアウトマウスは尿崩症の表現型を呈していたため V2R agonist : [deamino-Cys1, d-Arg8]-vasopressin (dDAVP) (0.4 μg/kg) を腹腔内投与し多尿の原因を検討した。FMP-API-1/27 の構造類似化合物の中には尿濃縮効果がないが、肥満症の治療標的である褐色脂肪細胞の PKA を強力に活性化する化合物 X があった。マウスを通常食群、高脂肪食 (カロリー比 60%脂質含有) 負荷群、化合物 X 添加 (0.05%) 高脂肪食負荷群に分け 16 週間各食餌・薬剤を負荷し抗肥満作用を検証した。

【結果】 腎臓集合管において AKAP X と AQP2 の局在は一致していた。Akap X ノックアウトマウスを解析したところ尿浸透圧が低下し、尿量・飲水量が増加していた。dDAVP を投与しても Akap X ノックアウトマウスの AQP2 はリン酸化されず、尿浸透圧が上昇しないことから、AKAP X はバゾプレシンシグナルにおいて AQP2 のリン酸化を仲介する最も重要な AKAP であることが明らかとなった。さらに、リード化合物 FMP-API-1/27 の誘導体展開や類似構造を指標とした *in silico* のスクリーニングにより多数の PKA 活性制御薬の開発を進め、尿濃縮薬として有望な化合物の特許を出願した。褐色脂肪培養細胞において PKA 活性化作用を有する化合物 X は、高脂肪食誘発肥満モデルマウスの体重をポジティブコントロールであるミラベグロンと同等に低下させることができた。化合物 X には、褐色脂肪のミトコンドリアを保護する効果があり、ミトコンドリアにおける熱産生作用の改善から抗肥満効果を発揮したと考えられた。AKAP - PKA 結合阻害剤は新しいカテゴリーの PKA 制御剤であり、治療薬のみならず新規病態機構を解明するためのツールとしても有用であることから、様々な分野のシーズ創出に貢献し得る。

AKAP X は尿濃縮機構に必須の分子である

