

IV

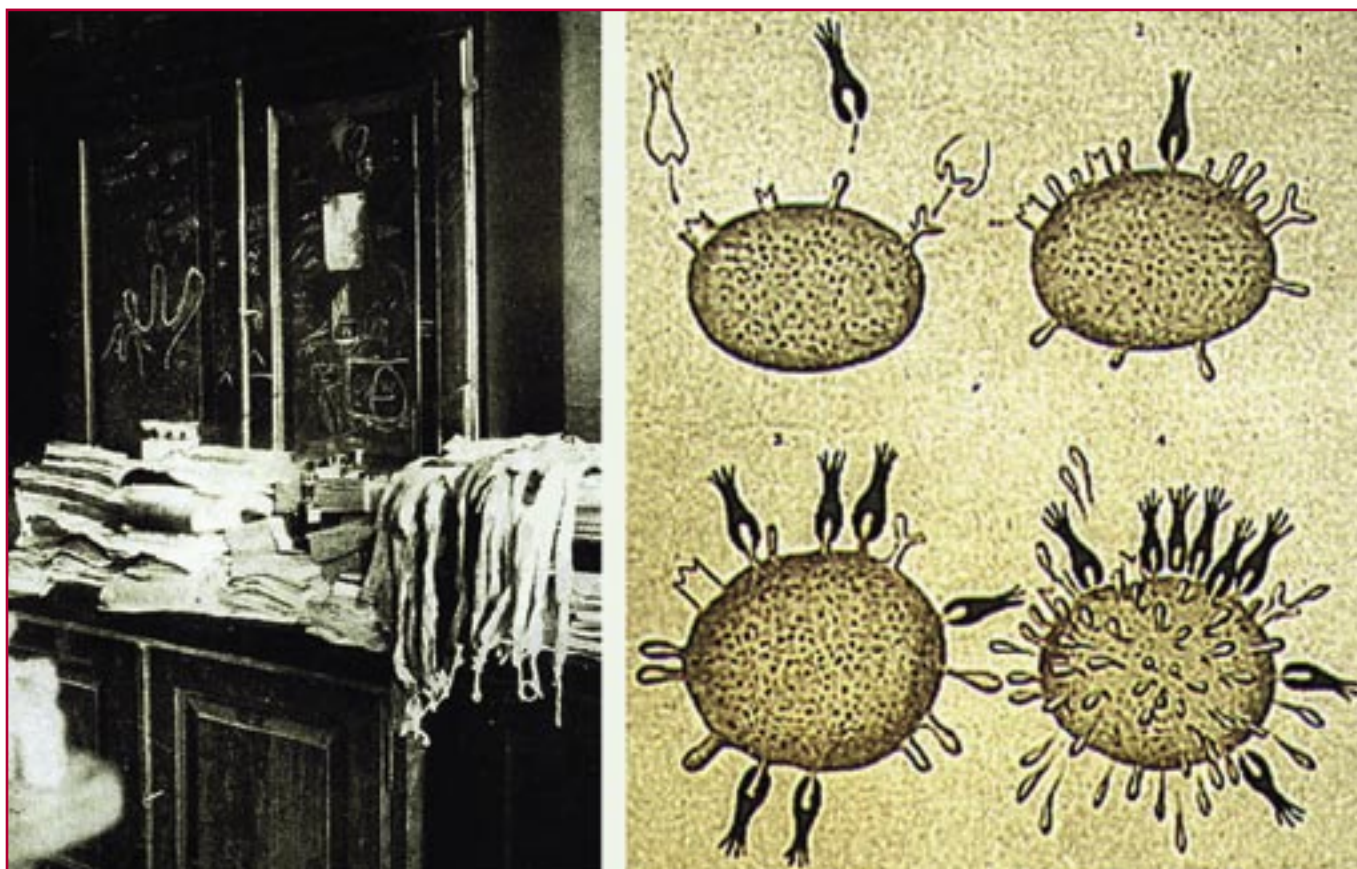
RECEPTORER I HISTORISK OG NUTIDIG BELYSNING

AF PROFESSOR, DR. PHARM.
HANS BRÄUNER-OSBORNE,
INSTITUT FOR MEDICINALKEMI,
FARMACEUTISK FAKULTET,
KØBENHAVNS UNIVERSITET

I 1908 blev Nobel prisen i fysiologi/medicin givet til Paul Ehrlich (1854-1915), der spillede en central rolle for formuleringen af receptorkonceptet – selvom han brugte udtrykket ”side-kæde teori” frem for ordet receptor og primært applicerede teorien inden for området antigen-antistof-interaktioner. Som det fremgår af FIGUR 1, var hans teori, at celler udtrykte ”side-kæder”, som stoffer kunne binde til og dermed føre til fysiologiske respons. Ehrlich fremførte også et berømt citat ”*Corpora non agunt fixata*”, der frit oversat betyder ”Hvis stoffet ikke binder, virker det ikke”. Disse koncepter kulminerede sidst i hans karriere, hvor han jagede en såkaldt ”*magic bullet*” i form af et stof, der specifikt kunne binde til en sygdomsfremkaldende organisme uden at ramme den menneskelige vært. Ehrlich gennemførte dermed den første rationelle kemoterapeutiske lægemiddeludvikling ved systematisk at fremstille analoger af arsenholdige stoffer, som han efterfølgende testede på syfilisbakterien *Treponema pallidum*. Med analog 606 var succesen hjemme, idet han fik markedsført lægemidlet Salvarsan mod syfilis i 1910. Mekanismen for stoffet er dog endnu i dag ukendt, og det er således tvivlsomt, om det virker via en receptor, men konceptet med receptor-ligand-interaktioner og struktur-aktivitets-relationer var blevet født. Det var John Newport Langley (1852-1926) der introducerede termen ”*receptive substans*” i 1905 ud fra sine studier af nikotin og nikotin antagonist kurare på nerve-ender og muskelceller, hvor han konkluderede, at de to stoffer måtte virke på samme ”*receptive substans*”. Samtidigt og uafhængigt af Ehrlich var Langley således pioner inden for definitionen af receptor og receptor-ligand begreberne der i dag er helt grundlæggende for farmakologien.

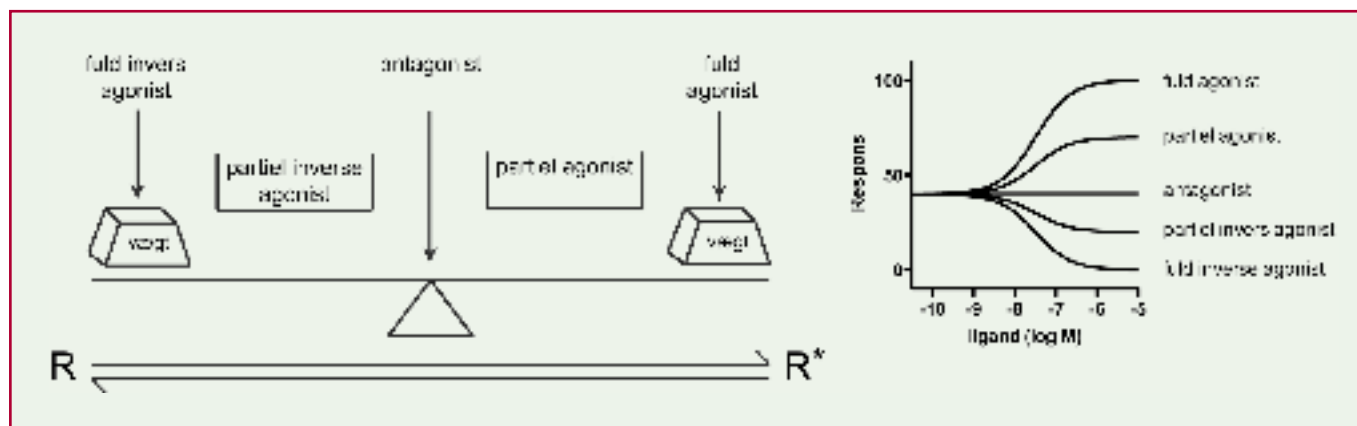
FARMAKOLOGISKE SUBTYPER

Det autonome nervesystem fortsatte med at være det centrale område for receptorforskningen i de følgende årtier. I 1948 observerede Raymond Ahlquist (1914-1983), at stofferne isoproterenol, adrenalin og noradrenalin havde forskellig styrke (potens) rækkefølge for sammentrækning af glatte muskler og hjertemuskler, hvilket han konkluderede skyldtes tilstedeværelsen af to forskellige receptorer med henholdsvis α - og β -respons – dermed var de adrenerge α - og β -receptorer blevet defineret. Observationen



af farmakologiske undergrupper (subtyper) blev efterfølgende udvidet til mange andre receptorer, og efterhånden viste det sig, at de fleste receptorer havde flere subtyper med forskellig farmakologi, hvilket kunne udnyttes til udvikling af selektive lægemiddelstoffer med bedre virkning-bivirkningsprofil. I midt 80'erne begyndte kloningen af arvematerialet for receptorerne, hvilket kulminerede med publiceringen af det humane genom i 2001, hvorved man endeligt kunne kortlægge alle receptorer i mennesker. Man kunne hermed matche de farmakologiske receptorsubtyper med de klonede receptorsubtyper og endda ofte udvide antallet af receptorer i de enkelte familier. Således ved man i dag, at mennesker har hele seks forskellige α -receptorer og tre forskellige β -receptorer. Endvidere har den humane genomsekvens ført til identifikation af hundredvis af receptorer uden kendt endogent aktiverende stof (agonist ofte også kaldet ligand) – såkaldt ”*orphan*” receptorer. Fra at have ligander med kendt farmakologisk effekt, men ukendt receptor har man således fået vendt tingene på hovedet og står i dag med mange kendte receptorer med ukendt ligand.

FIGUR 1.
 Skitser af Paul Ehrlich's ”side-kæder” der var forstadiet til receptorer. Billedet til venstre er et fotografi fra hans laboratorium, hvor en receptor-model er tegnet på tavlen. Figuren til højre er en model af receptorer udtrykt på overfladen af celler, hvoraf nogle har bundet ligander. Genoptrykt fra Winau et al. *Microbes and Infection* 6, 786-789 (2004) med tilladelse fra Elsevier.



FIGUR 2.
 Receptorer antages at være i ligevægt mellem en inaktiv (R) og en aktiv (R^{*}) konformation, som ligander med forskellig *efficacy / intrinsic activity* vil forskubbe mod enten mindre eller større aktivitet som illustreret med vægten til venstre. Til højre ses koncentrations-respons-kurver for ligander med forskellig *efficacy / intrinsic activity* på en konstitutivt aktiveret receptor med forhøjet basal respons.

PARTIELLE AGONISTER

I midten af 50'erne publicerede Everhardus J. Ariëns (1918-2002) og Robert P. Stephenson (1925-2004) studier, hvor de havde undersøgt partielle agonister, som er stoffer, som kun aktiverer receptorer til et lavere niveau end den fulde aktivitet. De udviklede hver især teorier for at forklare observationerne med matematiske modeller og kom dermed frem til termerne "*intrinsic activity*" og "*efficacy*" til at forklare stoffers forskellige evne til at aktivere receptorer (FIGUR 2). De grundlagde hermed fundamentet for at forstå liganders *binding* til receptorer som en uafhængig funktion i forhold til *aktivering* af receptorer. Disse begreber er nærmest universelle i dag og særdeles vigtige i forhold til udvikling af lægemidler, idet man tidligere kun undersøgte stoffers binding til receptorer (hvorved man normalt ikke kan bestemme stoffernes *intrinsic activity / efficacy*), mens man i dag hovedsagligt bruger funktionelle receptorassays, hvor man både bestemmer stoffers potens og maksimale respons. Ariëns var i øvrigt også foregangsmand mht. at afdække stereo-selektivitet af stereoisomere stoffer og var ivrig fortaler for kun at udvikle rene stereoisomere lægemiddelstoffer, altså stoffer med entydigt fastlagt tredimensionel struktur, hvilket i dag er af fundamental betydning for godkendelse af nye lægemidler.

INVERS AGONISME OG KONSTITUTIV AKTIVITET

I 1982 opdagede danskeren Claus Bræstrup og kollegaer en ny struktur-aktivitets relation, idet de fremstillede en række β -carbolin-forbindelser med affinitet for benzodiazepin bindingsstedet på GABA_A receptorer, der i modsætning til benzodiazepinernes (f.eks. Valium og Stesolid) krampestillende effekt førte til krampes. Dette ledte dem til at foreslå, at receptoren var i ligevægt mellem en inaktiv og aktiv form (konformation) som benzodiazepinerne og β -carbolinerne

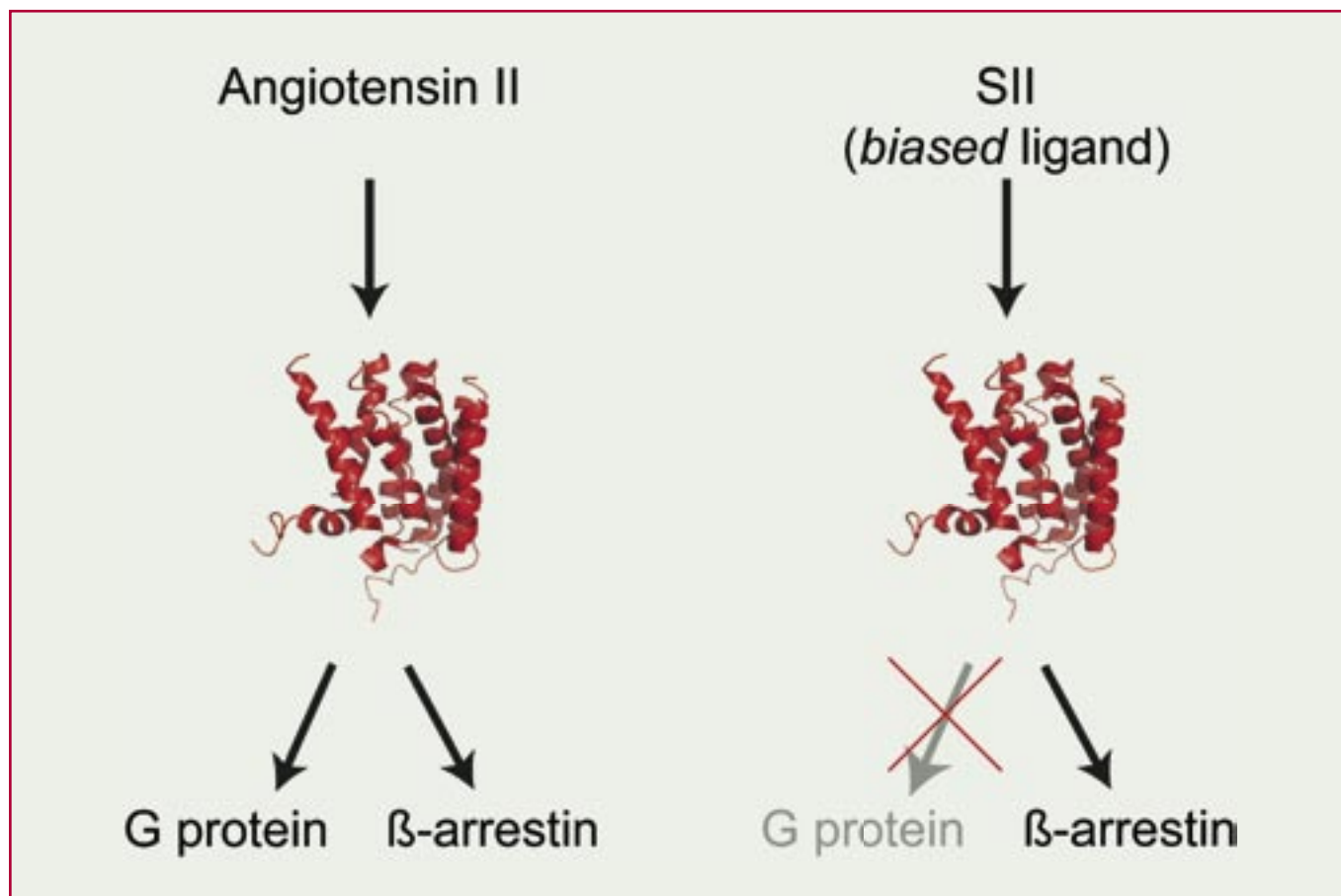
skubbede mod henholdsvis højre og venstre via en såkaldt allosterisk mekanisme. De nye stoffer blev kaldt inverse agonister for at indikere, at de i modsætning til direkte blokerende stoffer (antagonister) har en effekt uden samtidig tilstedeværelse af en agonist (FIGUR 2). Effekten af inverse agonister forudsatte, at receptorerne havde en basal effekt i sig selv, hvilket længe var kontroversielt, indtil Robert J. Lefkowitz og kollegaer i 1990 identificerede mutationer i den adrenerge α_1 -receptor, som gjorde receptoren konstitutiv aktiveret, altså uden tilstedeværelse af agonist. Kort tid efter blev tilsvarende mutationer identificeret i andre receptorer, og man fandt endda eksempler på ikke-muterede receptorer, som var konstitutivt aktiverede *in vivo*. Man identificerede også muterede receptorer i mennesker, som var konstant aktiverede og dermed forårsagede sygdomme såsom cancer. For flere sygdomme forsøger man således at udvikle inverse agonister, der kan hæmme denne uønskede høje receptoraktivitet.

ALLOSTERISKE MODULATORER

Det første lægemiddel af benzodiazepingruppen, chlordiazepoxid, blev opdaget af Leo Sternbach (1908-2005) i 1954 og blev markedsført som bl.a. bedøvelsesmiddel (Librium) i 1960. Initialt mente man, at der eksisterede en decideret benzodiazepinreceptor, og adskillige grupper ledte efter den endogene benzodiazepin uden dog at finde den. Efterfølgende blev det vist, at benzodiazepinerne var allosteriske modulatorer, der ændrede neurotransmitteren GABA's effekt på GABA_A receptoren ved at binde et andet sted end GABA selv. Benzodiazepinerne har således ikke nogen effekt i sig selv, men virker indirekte ved at ændre det endogene neurotransmitters aktivitet. Som beskrevet i forrige afsnit kan stoffer med affinitet for benzodiazepin bindingsstedet på GABA_A receptorer både øge og mindske GABA's effekt, hvilket kaldes henholdsvis positiv og negativ allosterisk modulation. Siden har man identificeret allosteriske modulatorer for en lang række receptorer, og flere af disse er blevet udviklet som lægemidler, idet de potentielt kan have terapeutiske fordele frem for klassiske agonister og antagonister.

PROMISKUØSE RECEPTORER

I 1890 foreslog Hermann Emil Fischer (1852-1919) en "nøgle-og-lås" model for enzyms interaktion med deres substrater, hvilket senere blev overført til receptorer af Ehrlich og Langley. Konceptet var, at ligander skal passe i receptoren som en nøgle i en lås, og dermed underforstået, at der kun ville være én endogen agonist for hver receptor. Dette har langt hen ad vejen vist sig at være korrekt, men i det seneste årti har man identificeret en række receptorer, som er promiskuøse. Dvs. at de aktiveres af en bred vifte af naturlige agonister. Det er interessant, at de fleste af disse promiskuøse receptorer er involveret i opfattelse af fødeindtag, idet de aktiveres af smagsstoffer, sukkerstoffer, fedtstoffer og proteiner/aminosyrer. Disse receptorer er således lokaliseret i bl.a. smagsløgene, tarmen og bugspytkirtlen, hvor de regulerer vores fødeindtag via smagsopfattelsen samt udskillelse af hormoner såsom insulin. Set retrospektivt er det egentligt ikke overraskende, at receptorer er blevet udviklet til at være promiskuøse netop inden for smag og fødeopfattelse, idet kroppen naturligvis skal kunne reagere på mange forskellige former for føde. Hvis hver af disse receptorer kun målte én molekylær fødekomponent, skulle vi have langt flere receptorer, end vi har, for at dække naturens mangfoldighed.

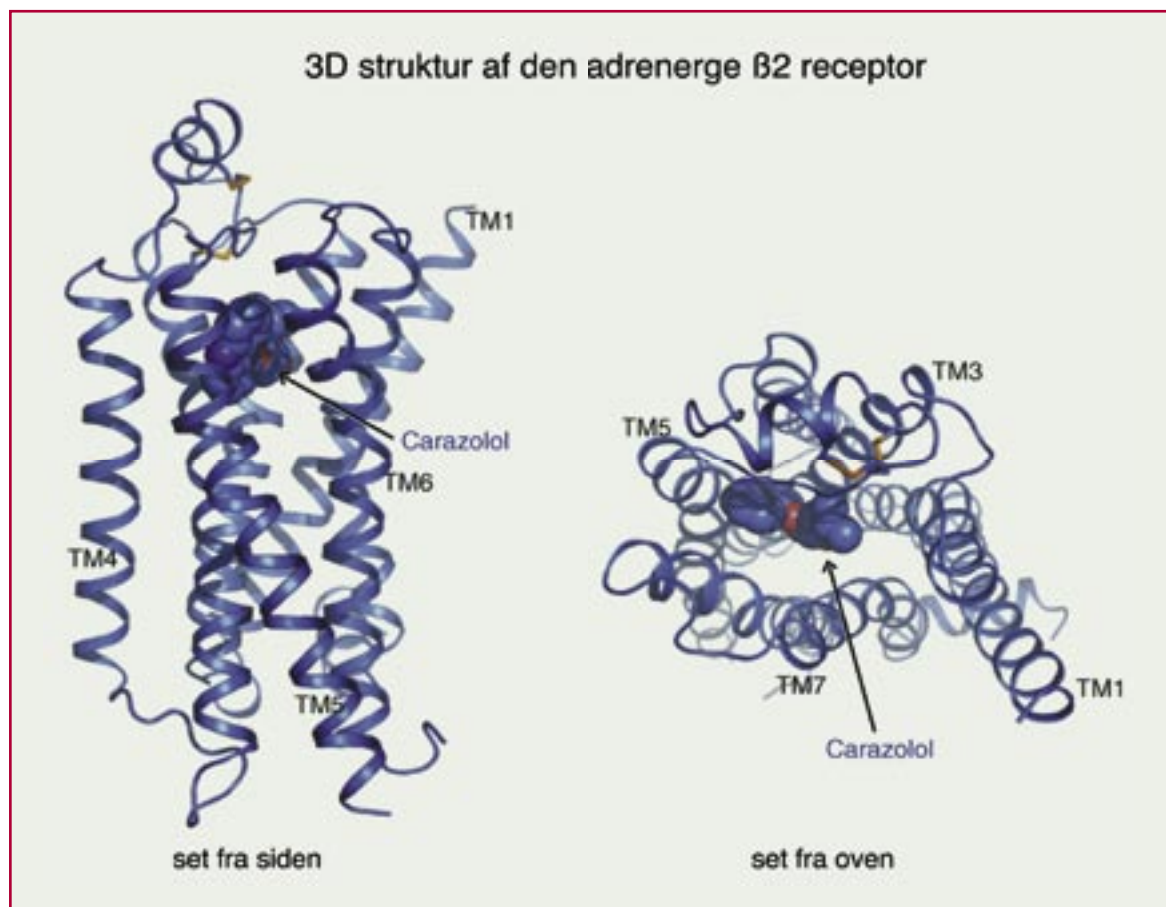


KOMPLEKSE SIGNALVEJE

FIGUR 3.
Mange receptorer kan aktivere flere intracellulære signalveje som illustreret hér for angiotensin receptoren AT_1 : den endogene agonist angiotensin II aktiverer både G protein og β -arrestin signalvejene, mens den kunstige agonist SII, der er en *biased* ligand, kun aktiverer β -arrestin signalvejen. Dette er grundlaget for, at de to agonister giver forskellige fysiologiske respons *in vivo*.

På samme måde som for signalstofferne var den oprindelige opfattelse, at én receptor aktiverer én signalvej indeni cellerne. Dette er også blevet modificeret siden kloningen af receptorerne begyndte i 80'erne. Ved at udtrykke DNA for receptorerne i celler har man kunnet studere signalvejene i stor detalje og fundet, at én receptor sagtens kan koble til flere signalveje. Hvilket signal en given receptor giver i et organ afhænger således af, hvilke proteiner fra de mange forskellige signalveje, som den enkelte celle udtrykker. I de seneste år har man endvidere opdaget, at ligander specifikt kan aktivere eller hæmme enkelte af disse signalveje, hvilket bl.a. Robert J. Lefkowitz har vist for angiotensinreceptoren AT_1 . Den endogene agonist angiotensin II aktiverer således både G protein og β -arrestin signalvejene, mens den kunstige ligand SII kun aktiverer sidstnævnte, hvorfor de to ligander har forskellige fysiologiske effekter (FIGUR 3). Ligander som SII kaldes nu for "*biased*" ligander.

Ovenstående observationer har ført til hypotesen, at der findes mere end én aktiv konformation af receptorer, som hver kan aktivere forskellige signalveje, samt at man i princippet kan udvikle ligander, der specifikt binder til de forskellige receptorkonformationer og dermed aktiverer / hæmmer dem selektivt.



RECEPTORSTRUKTURER

Den seneste revolution indenfor receptorforskningen er en stigende strøm af receptor tredimensionale strukturer frembragt ved røntgenkrystallografi. Initialt løste man "kun" strukturen af dele af receptorerne, f.eks. den ligandbindende del, men i de seneste par år har man i stigende grad også været i stand til at løse strukturen af hele receptorer (FIGUR 4). I flere tilfælde har man opklaret receptorstrukturen sammen med forskellige ligander og dermed fået dyb indsigt i receptor-ligand-interaktioner. Dette har bl.a. ført til afdækning af molekylære mekanismer for receptoraktivering og subtypeselektivitet og dermed skabt et solidt fundament for struktur-baseret lægemiddeldesign. Det er dog stadig kun toppen af isbjerget, vi har set mht. receptorstrukturer, og der er således ingen tvivl om, at vi i det kommende årti kommer til at få indsigt i de molekylære processer bag mange af de principper, der har været diskuteret i denne artikel.

FIGUR 4.

Den tredimensionale (3D) struktur af krystalstrukturen af den inaktive konformation af den adrenerge β_2 receptor sammen med antagonisten carazolol. Dette var den første 3D struktur af en human G protein koblede receptor, der blev løst. Genoptrykt fra Weis og Kobilka. *Current Opinion in Structural Biology* 18, 734-740 (2008) med tilladelse fra Elsevier.