



G protein-koblede reseptorer som mål for legemidler

Signal-bias og 3D-modellering

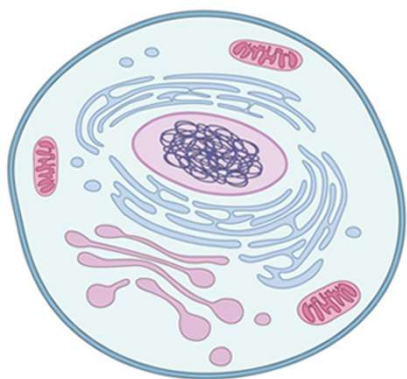
Fredagsforelesning 28. mai 2021

Jon Våbenø

Senter for fag, forskning og utdanning

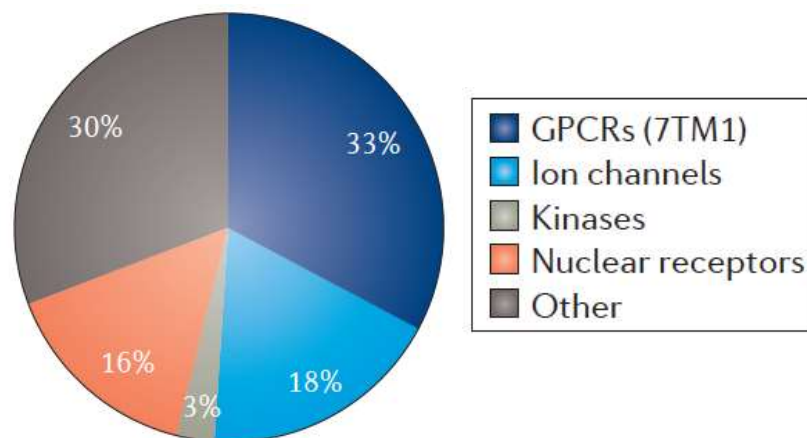
Helgelandssykehuset

Hvordan virker legemidler? Og hva virker de på?



- De aller fleste legemidler virker ved å **binde** til makromolekyler på/i celler, og dermed **modulere** (stimulere/hemme) deres funksjon.
- Disse makromolekylene omtales som **målmolekyler** (*drug targets*), og **ca 95 %** av dem er **proteiner**.

- Tall fra 2017:
 - Ca **670** målmolekyler, og ca **1200** legemidler
 - Ca **1/3** av legemidlene virker på **G protein-koblede reseptorer (GPCRs)**:
 - agonister: **aktiverer** reseptoren
 - antagonister: **blokkerer** reseptoren



Markedsførte småmolekylære legemidler (%) gruppert etter målmolekyl-familie

Eksisterende GPCR-legemidler

475 legemidler i 2017
Virker via 108 (av 398 kjente) GPCRs

AMINERGE RESEPTORER

Serotonin (5-HT)	12 %
Acetylkolin	12 %
Adrenerge	20 %
Dopamin	11 %
Histamin	14 %

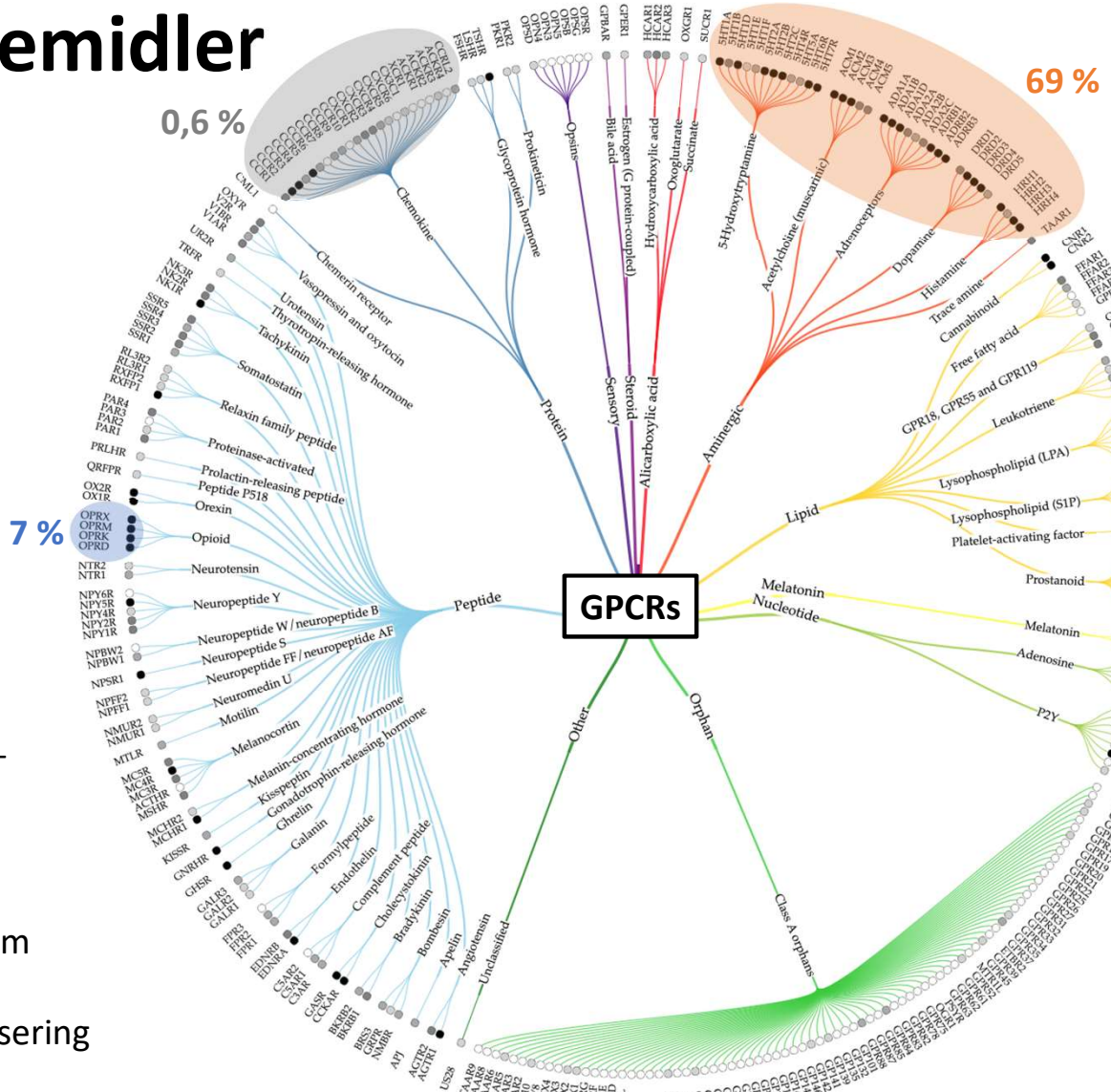
= 69 % av GPCR-legemidlene

OPIOID-RESEPTORER: 7 %

ANDRE: 24 %

Kjemokinreseptorene (23 stk) utgjør en stor underfamilie av GPCRs, men det finnes kun 3 markedsførte legemidler (0,6 %):

- **Mogamulizumab:** CCR4 antistoff; T-celle lymfom
- **Maraviroc:** CCR5 antagonist; HIV-entry
- **Plerixafor:** CXCR4 antagonist; stamcelle-mobilisering



Hauser et al. Nat. Rev. Drug. Disc. 2017, 16, 829-842



<https://doi.org/10.1038/s42003-021-02070-9>

OPEN

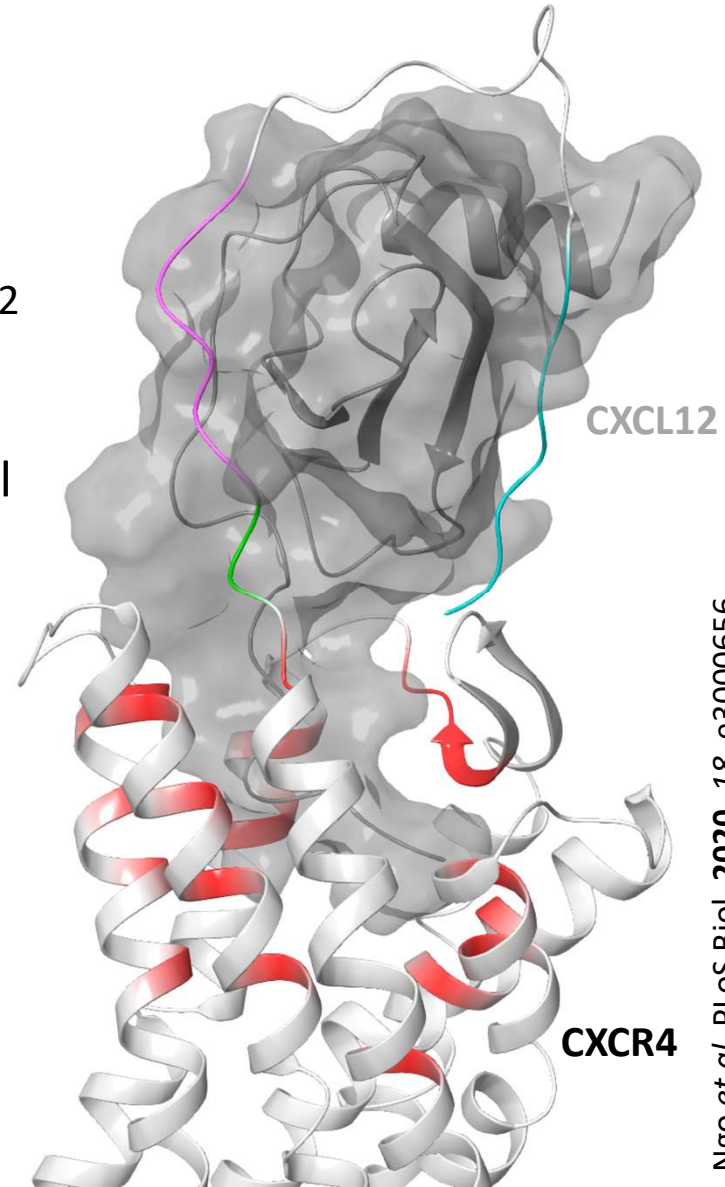
Biased action of the CXCR4-targeting drug plerixafor is essential for its superior hematopoietic stem cell mobilization

Astrid S. Jørgensen ^{1,7}, Viktorija Daugvilaite ^{1,7}, Katia De Filippo ², Christian Berg ^{1,3}, Masa Mavri ^{1,4},
Tau Benned-Jensen ^{1,6}, Goda Juzenaite ², Gertrud Hjortø ¹, Sara Rankin ², Jon Våbenø ^{5,8} ✉ &
Mette M. Rosenkilde ^{1,8} ✉

¹Department of Biomedical Sciences, Faculty of Health and Medical Sciences, The Panum Institute, University of Copenhagen, Copenhagen, Denmark. ²Department of Medicine, National Heart and Lung Institute (NHLI), Imperial College, London, United Kingdom. ³Unit for Infectious Diseases, Department of Medicine, Herlev-Gentofte Hospital, University of Copenhagen, Herlev, Denmark. ⁴Institute of Preclinical Sciences, Veterinary Faculty, University of Ljubljana, Ljubljana, Slovenia. ⁵Helgeland Hospital Trust, Sandnessjøen, Norway. ⁶Lundbeck A/S, Copenhagen, Denmark. ⁷These authors contributed equally: Astrid S. Jørgensen, Viktorija Daugvilaite. ⁸These authors jointly supervised this work: Jon Våbenø, Mette M Rosenkilde. ✉email: jon.vabeno@helgelandssykehuset.no; rosenkilde@sund.ku.dk

Hva er plerixafor (Mozobil®)?

- **Egenskaper:** Selektiv CXCR4 antagonist
 - Blokkerer binding av den endogene kjemokinliganden CXCL12 til kjemokinreseptoren CXCR4
- **Klinisk bruk:** Mobilisering av stamceller fra benmarg til blod ifbm. stamcelle-transplantasjon
 - Interaksjonen mellom CXCL12 og CXCR4 bidrar til å holde stamceller i benmargen.
 - Blokkering av denne interaksjonen med en antagonist (plerixafor) gjør at stamcellene forlater benmargen og «mobiliserer» ut i blodet.
 - De mobiliserte stamcellene høstes fra blod, og kan deretter transplanteres til en annen person (allogen) eller tilbake til samme person (autolog).
 - Aktuelt ved behandling av ulike typer blodkreft: Non-Hodgkins lymfom og multipelt myelom.



Hva er *biased signaling* (signal-bias)?

a) Forenklet modell

- Betrakte reseptoren som en bryter:

Tidligere forståelse: en funksjon



Kun to muligheter:

PÅ

AV

Dagens forståelse: flere funksjoner



Fire muligheter:

PÅ-PÅ

PÅ-AV

AV-PÅ

AV-AV



Åtte muligheter:

PÅ-PÅ-PÅ

PÅ-PÅ-AV

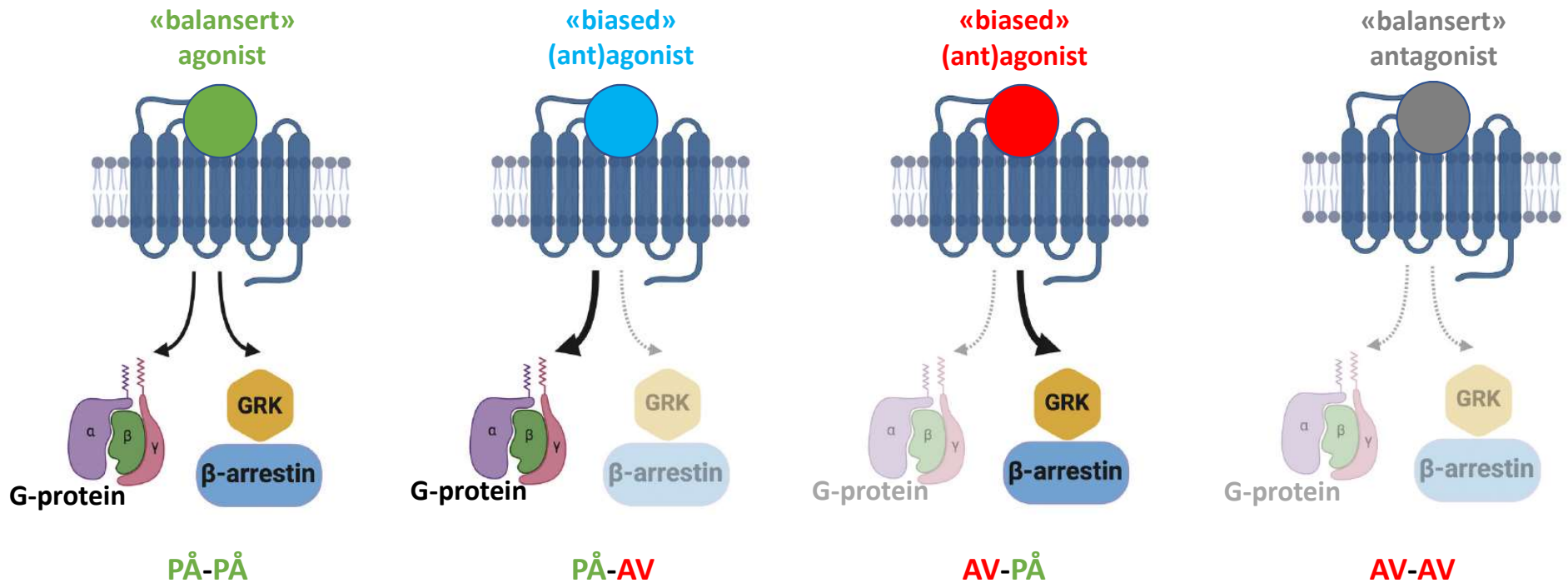
PÅ-AV-AV

AV-AV-PÅ osv.

Hva er *biased signaling* (signal-bias)?

b) Konkret for GPCRs

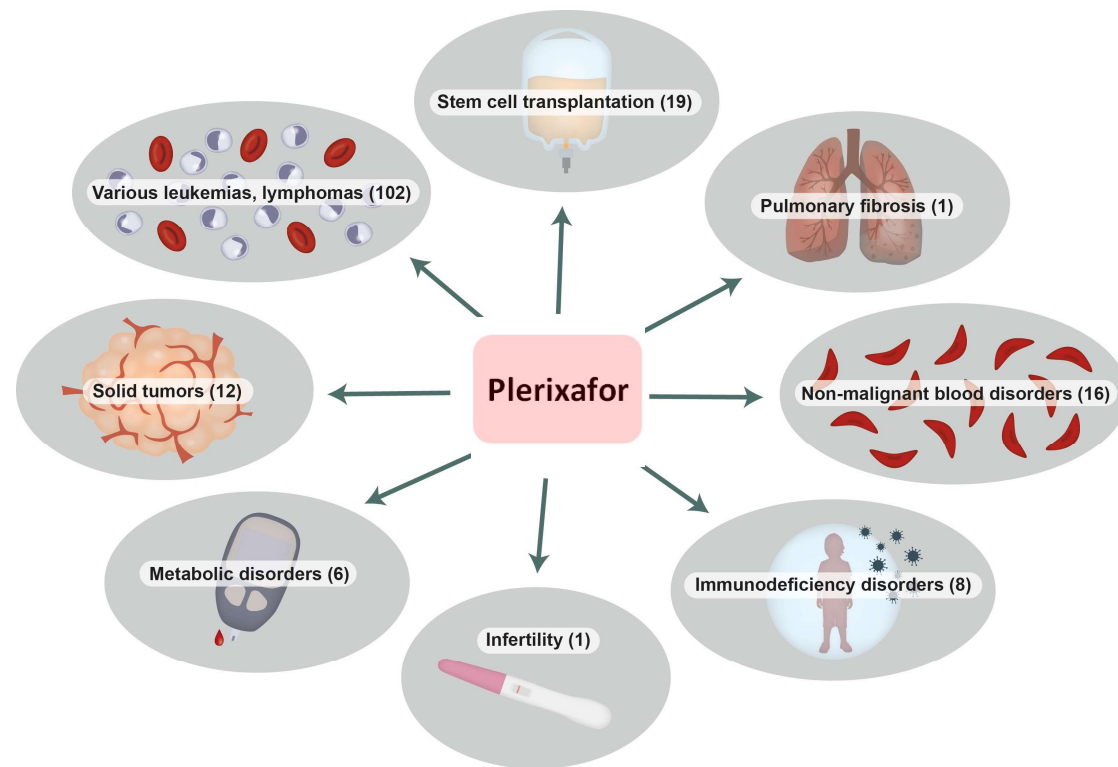
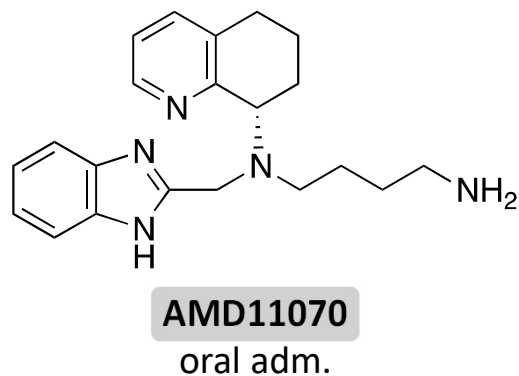
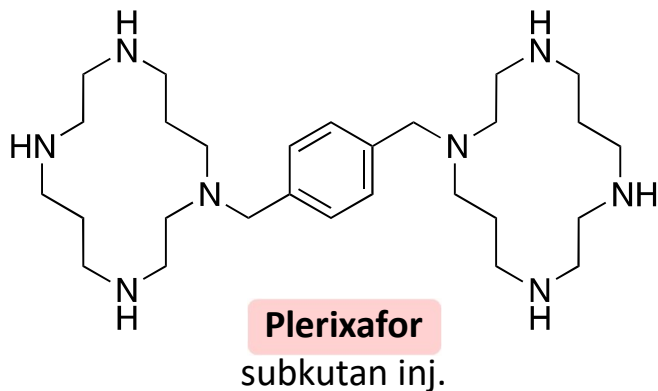
- G-protein aktivering vs. β -arrestin rekruttering



Fokus for artikkelen:

Sammenligning av to CXCR4 antagonistiser

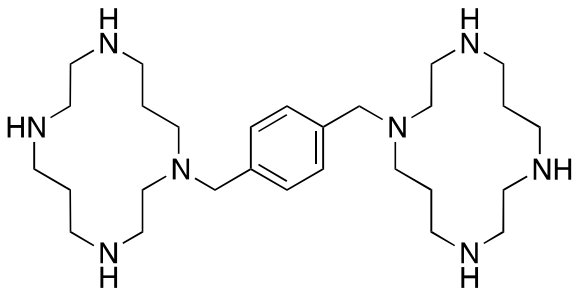
- **Plerixafor** (godkjent legemiddel) og **AMD11070** (eksperimentell forbindelse)



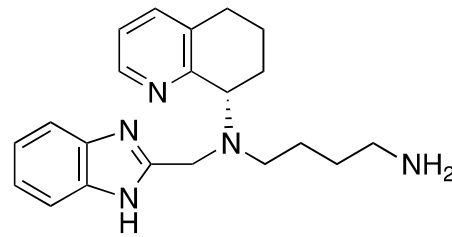
Kliniske studier med plerixafor: 165 stk ([ClinicalTrials.gov](https://clinicaltrials.gov))

Aktivitetsprofiler for de to forbindelsene

a) *In vitro* (cellekultur m.m.)



Plerixafor

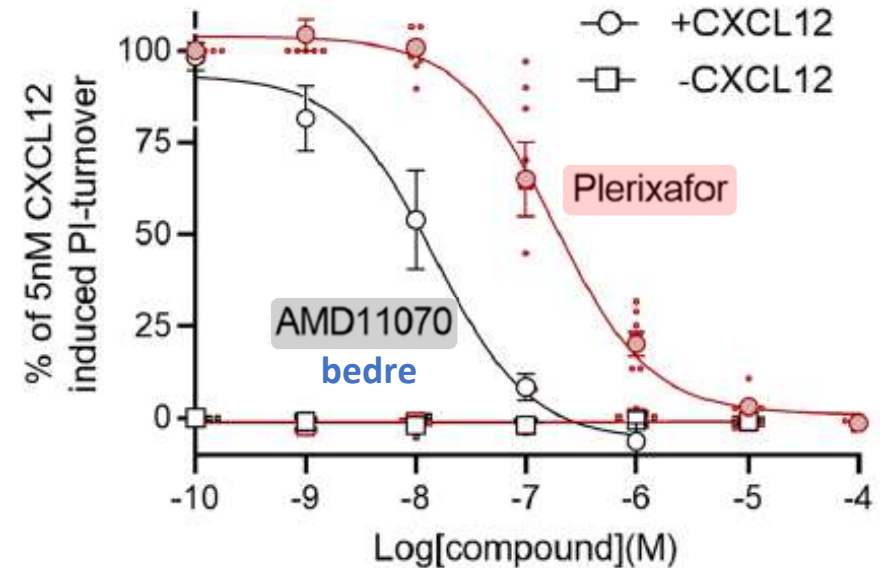


AMD11070

12.5 nM **bedre**
11.9 nM **lik**
78% hemming **bedre**

Affinitet (K_i): 651 nM
Anti-HIV: 11.8 nM
Migrering: 21% hemming

Hemming av G protein-signalering:

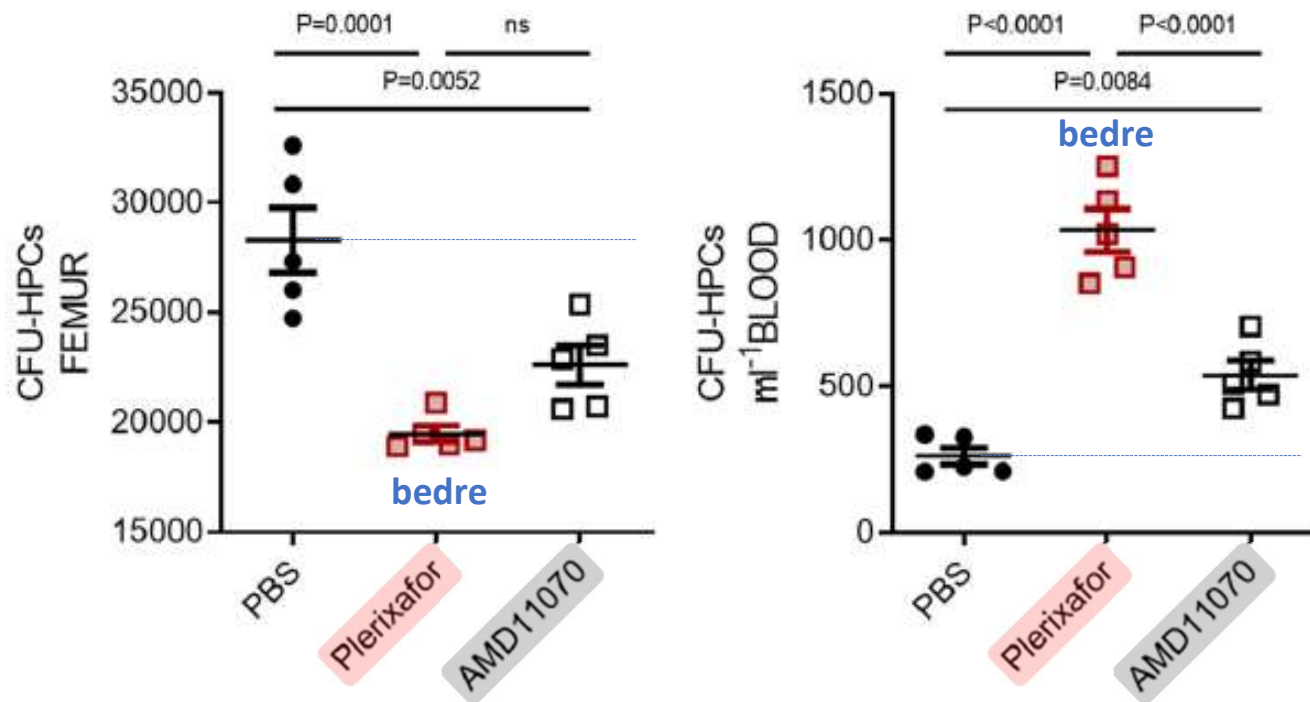


- Konklusjon: AMD11070 er en bedre CXCR4 antagonist enn plerixafor *in vitro*.

Aktivitetsprofiler for de to forbindelsene

b) Stamcelle-mobilisering *in vivo* (i levende organismer)

- Effekt på hematopoetiske progenitor-celler (HPC) fra mus:

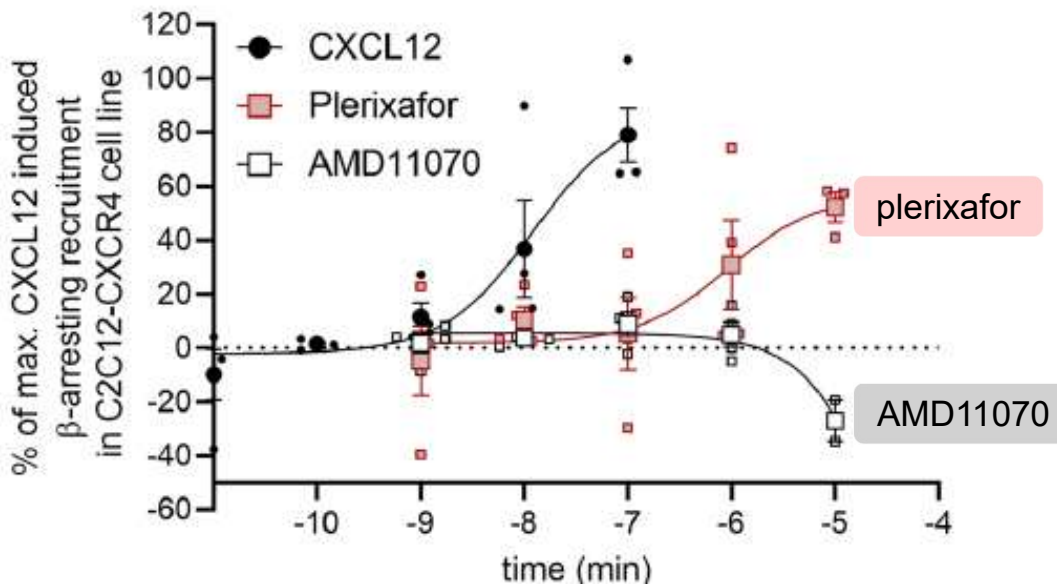


- Konklusjon: Plerixafor er en bedre stamcelle-mobiliserer enn AMD11070 *in vivo*.
- Et tilsynelatende paradoks...

Hvordan kan dette forklares?

a) Ulik effekt på rekruttering av β -arrestin

β -arrestin rekruttering:

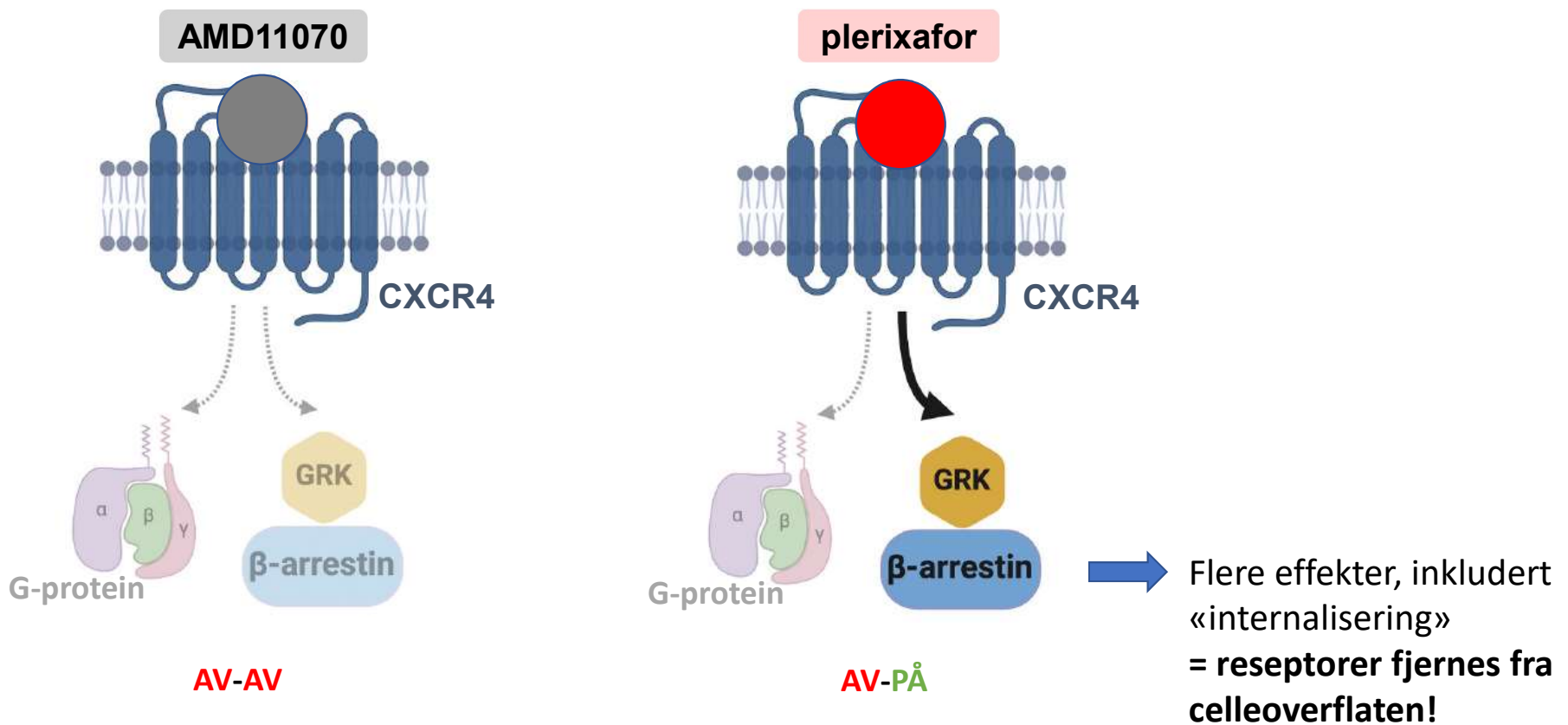


- Plerixafor rekrutterer β -arrestin, og er en partiell agonist for denne signalveien.
- AMD11070 rekrutterer ikke β -arrestin

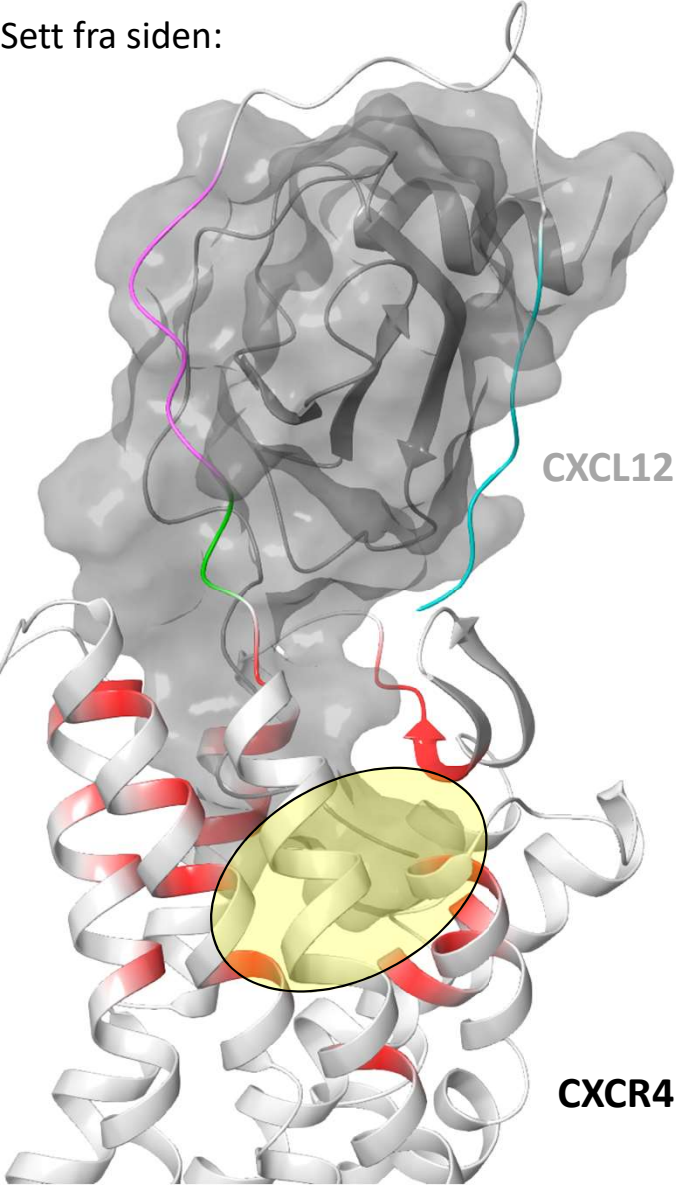
Hvordan kan dette forklares?

b) Signal-bias

- AMD11070 er en «balansert» antagonist, mens plerixafor er «biased»:



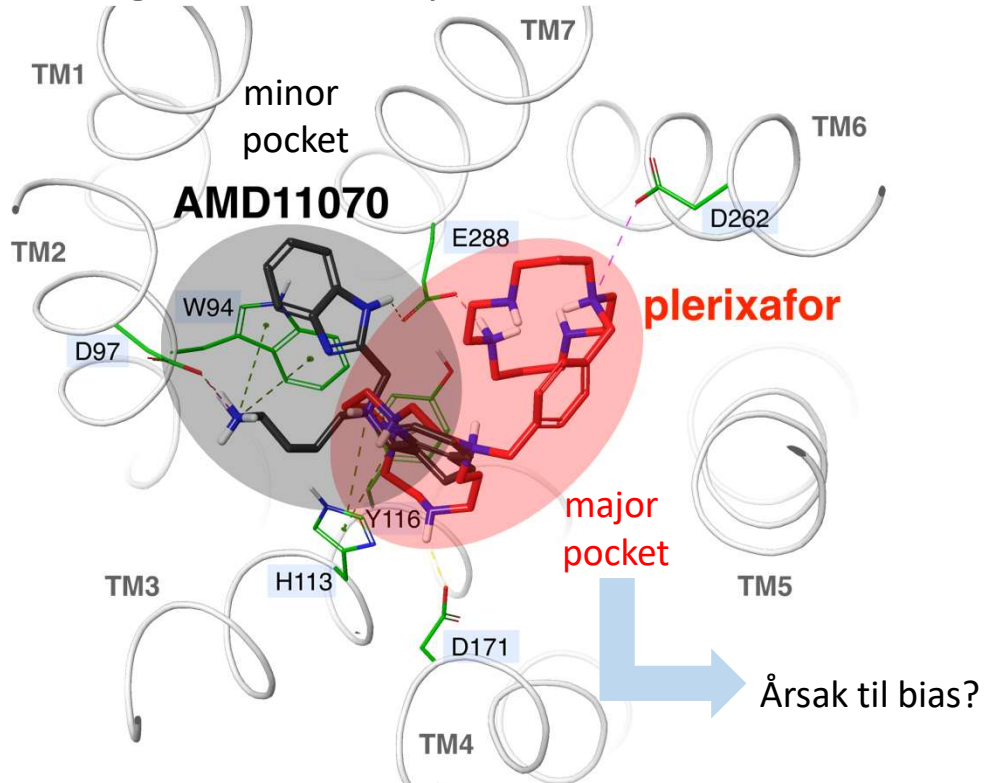
Sett fra siden:



Molekylær forklaring på bias

a) Bindingsmåte i CXCR4

- Genererte 3D-modeller av henholdsvis plerixafor og AMD11070 bundet til CXCR4.
- Fant ulike bindingsmåter i reseptoren – her sett ovenfra:

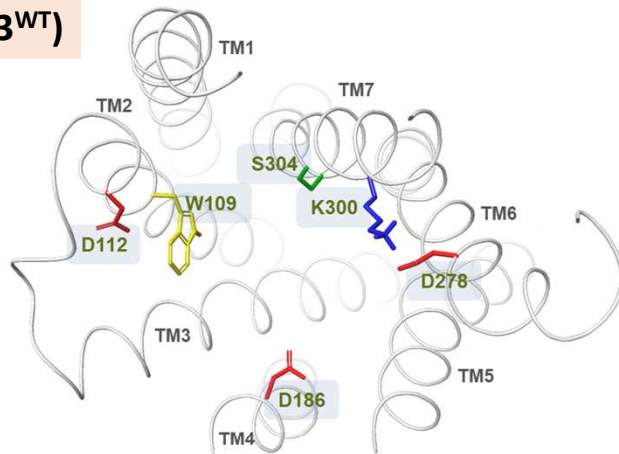


Molekylær forklaring på bias

b) Overførsel av bindingssted fra CXCR4 til CXCR3

- Innførte mutasjoner i CXCR3, slik at bindingslommen ble CXCR4-lignende:

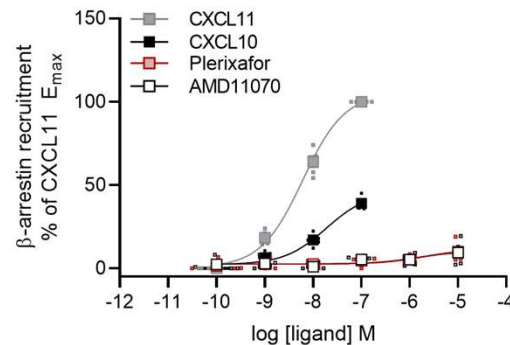
Vanlig CXCR3 (CXCR3^{WT})



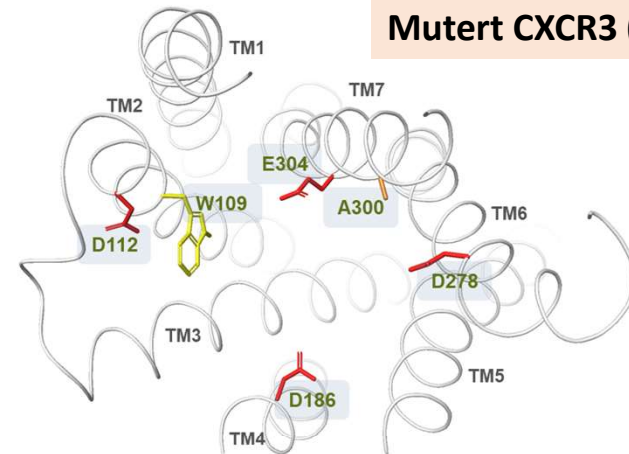
CXCR3^{WT}

β-arrestin rekruttering:
plerixafor: ingen effekt
AMD11070: ingen effekt

Som forventet



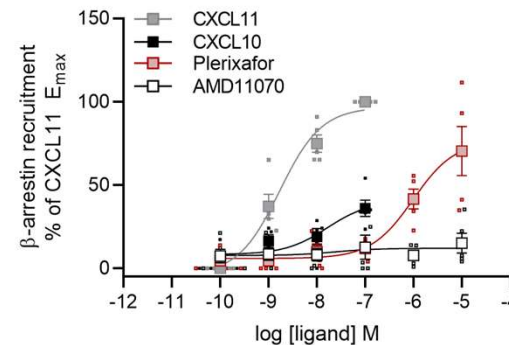
Mutert CXCR3 (CXCR3^{K300A,S304E})



CXCR3^{K300A,S304E}

β-arrestin rekruttering:
plerixafor: agonistisk effekt
AMD11070: ingen effekt

Samme mønster som for CXCR4
Bekrefter sammenhengen mellom bias og bindingssted.

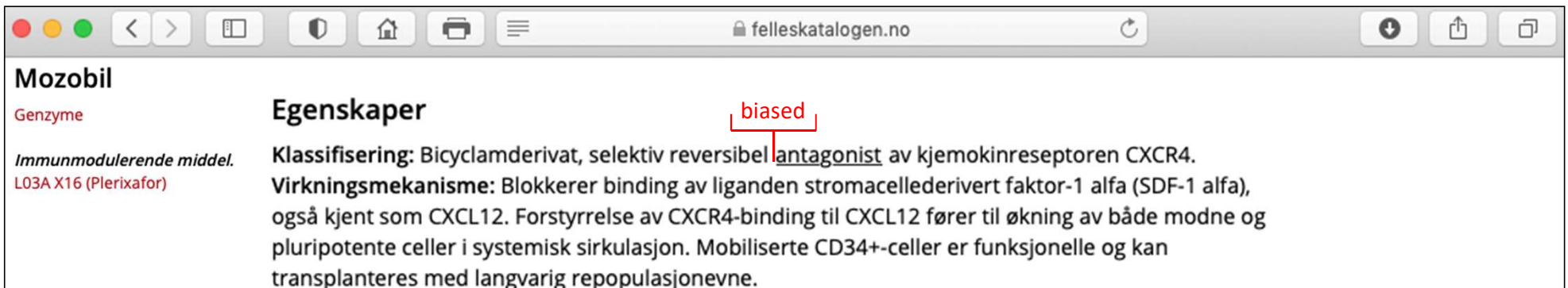


I fremtiden...

- Design av nye legemidler med en spesifikk (balansert/biased) farmakologisk profil?



- Nyansering av de farmakologiske egenskapene til eksisterende legemidler?





Takk til:

Alle medforfattere, spesielt:

Prof. Mette M. Rosenkilde
Astrid S. Jørgensen (PhD-student)
Dr. Viktorija Daugvilaite



Takk for oppmerksomheten!

