

G蛋白偶联受体寡聚化对受体功能影响的研究进展

郭景明 刘莹 安输 郭晓汐 徐天瑞* 杨洋*

(昆明理工大学生命科学与技术学院, 昆明 650500)

摘要 G蛋白偶联受体(G protein-coupled receptor, GPCR)是细胞膜上最大的受体家族,参与感光、嗅觉、行为调节、自主神经和免疫调节等多种生理过程。GPCR能够以寡聚体的形式在信号识别及转导中发挥重要作用。该文综述了GPCR寡聚化的类型以及寡聚化对受体结构与功能、受体内化和相关药理生理学等方面的影响。

关键词 G蛋白偶联受体; 二聚化; 寡聚化; 信号转导; 药理学

Effects of G Protein-Coupled Receptor Oligomerization on Receptor Functions

Guo Jingming, Liu Ying, An Shu, Guo Xiaoxi, Xu Tianrui*, Yang Yang*

(Faculty of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China)

Abstract G protein-coupled receptor (GPCR) represents the largest family of surface membrane receptors involved in photosensitizing, osphresis and behavior regulation, as well as a variety of physiological processes such as the regulations of autonomic nervous and immune system. GPCR plays an important role in signal recognition and transduction in form of oligomers. This review will sum up the research progress of GPCR oligomerization, and the effects of oligomerization on receptor structure, internalization, signal transduction and pharmacological physiology.

Keywords G protein-coupled receptor; dimerization; oligomerization; signal transduction; pharmacology

G蛋白偶联受体(G protein-coupled receptor, GPCR)属于细胞膜上一大类可结合并激活G蛋白活性的受体蛋白质,是细胞表面重要的信号分子作用位点和药物靶标。迄今为止,已经发现了近2 000种GPCR^[1],可被光粒子、激素、氨基酸、多肽、蛋白质等不同配体识别与结合。GPCR与这些配体结合后,激活细胞内的G蛋白,进而影响相应的信号通路,产生特异的生物学效应。GPCR在很多生理状态下以二聚体或更高级的聚合形式发挥功能。本文将综述GPCR寡聚化的形式以及寡聚化对受体结构与功

能、受体内化和相关药理生理学等方面的影响。

1 GPCR的寡聚化

1.1 GPCR的二聚化

GPCR的二聚化包括两种类型,即同二聚化和异二聚化。目前,检测GPCR二聚体的方法主要有免疫共沉淀(co-immunoprecipitation, Co-IP)、蛋白质免疫印迹(Western blot)、生物发光共振能量转移(bioluminescence resonance energy transfer, BRET)和荧光共振能量转移(fluorescence resonance energy

收稿日期: 216-04-21 接受日期: 2016-08-02

国家自然科学基金(批准号: 81473342、U1302225、81460253、81460417、81560455)、云南省高端科技人才基金(批准号: 2012HA008)、云南省基金资助项目(批准号: KKSYSY201326116、KKSYSY201326111、KKSYSY201326121、2014Y090)和昆明理工大学分析测试基金(批准号: 20150671)资助的课题

*通讯作者: Tel: 0871-65911300, E-mail: xtrgfq@hotmail.com; E-mail: 081023042@fudan.edu.cn

Received: April 21, 2016 Accepted: August 2, 2016

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81473342, U1302225, 81460253, 81460417, 81560455), High-End Talent Grant of Yunnan Province (Grant No.2012HA008), Fund Projects in Yunnan Province (Grant No.KKSYSY201326116, KKSYSY201326111 KKSYSY201326121, 2014Y090) and Funds of Kunming University of Science and Technology for Analysis and Testing (Grant No.20150671)

*Corresponding authors: Tel: +86-871-65911300, E-mail: xtrgfq@hotmail.com; E-mail: 081023042@fudan.edu.cn

网络出版时间: 2016-11-15 10:15:07

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20161115.1015.010.html>

transfer, FRET)^[2]等。同源二聚化指两个相同类型的受体之间的相互结合。我们的研究发现, β_2 肾上腺素能受体(β_2 adrenergic receptor, β_2AR)^[3]、食欲肽受体1(orexin receptor 1, OX_1)^[4-5]都会发生同源二聚化, 并影响细胞内相关的信号通路。目前, 还证明的同二聚体有: 促甲状腺素释放激素受体(thyrotropin-releasing hormone receptor, TRHR)、多巴胺 D2受体(dopamine receptor 2, D_2)、组胺受体(histamine receptor, HR)、 $\alpha/\delta/\kappa$ 阿片受体($\alpha/\delta/\kappa$ -opioid receptor, $\alpha\delta\kappa$ -OR)、血管紧张素 I/II受体(angiotensin receptors 1/2, AT1R/AT2R)和生长激素受体(growth hormone receptor, GHR)等^[6-7](表1)。

异二聚化指的是两种不同类型的受体或者相同受体的不同亚型之间的相互结合, 也称为“串扰”(crosstalk)。GPCR能够以异二聚体形式发挥作用。例如, AT1R可与血管舒缓激肽B2受体(bradykinin B2 receptor, B2R)形成异二聚体。AT1R-B2R异源二

聚体不仅调控了AT1R的激活, 还是网格蛋白介导的内吞作用(clathrin-mediated endocytosis)的重要靶点, 并且能通过 β -抑制蛋白(β -arrestin)介导AT1R和B2R的脱敏和隔离^[8]。同时, AT1R-B2R异二聚体能够增强病理条件下如人类妊娠高血压和子痫前期高血压患者的AT1R信号。反之, 缺失B2R基因的小鼠与具有丰富AT1R-B2R异二聚体的小鼠相比, 在受到刺激后的升压反应显著降低^[9]。GPCR的异二聚化并不是简单的蛋白质之间功能复合, 更像是两种蛋白质或者多种蛋白质在功能上的协同。GPCR的异二聚化与单体形式相比, 在与配体的结合、与G蛋白的偶联以及下游信号的转导等方面都存在差异, 这就使配体诱导的GPCR异源二聚体产生新的信号级联反应。

1.2 GPCR的高阶寡聚化

GPCR的同二聚体和异二聚体可在质膜上发生再联合, 形成高阶寡聚物(higher-order oligomers),

表1 GPCR的寡聚体类型及代表性举例

Table 1 GPCR oligomer types and representative examples

受体名称 Receptor	寡聚体类型 Oligomer type	参考文献 Reference
β_2AR	Homodimer	[3]
OX_1	Homodimer	[4-5]
TRHR	Homodimer	[6-7]
D_2	Homodimer	[6-7]
GHR	Homodimer	[6-7]
HR	Homodimer	[6-7]
$\alpha\delta\kappa$ -OR	Homodimer	[6-7]
AT1R/AT2R	Homodimer	[6-7]
AT1R-B2R	Heterodimer	[8]
GBR1-GBR2	Heterodimer	[18]
SSTR5- D_2	Heterodimer	[22]
SSTR1-SSTR5	Heterodimer	[23]
β_2AR - δ -OR	Heterodimer	[23]
β_1AR - α_2AR	Heterodimer	[23]
α_1BR - α_1AR	Heterodimer	[24]
SSTR2A- μ -OR	Heterodimer	[25]
D_2 -A2AR	Heterodimer	[25]
5HT2A-mGluR2	Heterodimer	[29]
EP ₁ - β_2AR	Heterodimer	[30]
T1R1/T1R2-T1R3	Heterodimer	[27]
δ -OR- κ -OR	Heterodimer	[21]
mGluR2 homodimer-5HT2R homodimer	Higher order oligomer	[13]
M3R tetramer	Higher order oligomer	[14]
GABABR eight heterodimers	Higher order oligomer	[15]

又称“受体马赛克(receptor mosaics, RMs)”。例如,在脑组织中, γ -氨基丁酸B型受体(γ -Aminobutyric acid B receptor, GABABR)的异源二聚体可以形成四聚体^[10-11],其中GABABR的一种亚型GBR1的VFT(venus flytrap)结构域对该四聚体形成具有重要作用。在COS-7细胞中,GABAB受体可形成由八个异二聚体共同组成的寡聚体^[12]。另外,促代谢型谷氨酸受体2(metabotropic glutamate receptor 2, mGluR2)同二聚体可以和不具有胞外VFT和CRD(carbohydrate recognition domain)结构域的血清素受体2(serotonin receptor 2)5HT2R同二聚体通过HD(heptahelic domain)区之间的相互作用形成不稳定的异四聚体^[13]。我们研究也发现,毒蕈碱型乙酰胆碱受体M3(muscarinic acetylcholine receptor M3, M3R)在细胞膜上以稳定的二聚体形式存在,其中很大一部分动态交互形成了四聚体^[14](表1)。

GPCR高阶寡聚物的形成在受体增敏和脱敏中起重要作用,除此之外,研究人员对于相互作用的受体、离子通道、转运蛋白及位于质膜上的其他蛋白质所组成的分子网络知之甚少^[15]。事实上,受体被布置成网络,通过质膜上蛋白质-蛋白质之间的相互作用发挥功能,这可能涉及各个相互作用的受体蛋白质精细结构的改变,比如寡聚化可引起受体结构变化,从而更容易受到激动剂(Ag)的作用而激活细胞内信号通路^[9,16-17]。因此,深入研究形成高阶寡聚复合物的受体间的相互作用、受体本身在此过程中发生的变化及其对应的生物学效应,对于充分了解GPCR介导的细胞内信号通路的具体机制有重要意义。

2 GPCR寡聚化对受体行为和结构的影响

二聚化对受体在细胞中的定位和功能发挥具有重要意义。GABA受体有A、B、C三种亚型,其中,GABAB受体属于GPCR家族。GABAB受体有GBR1、GBR2两种亚型。典型的异二聚体GBR1和GBR2必须结合以后才能形成功能性的GABAB受体。而且,体外过表达GBR1时,细胞膜上几乎没有受体,只能在细胞质内检测到未成熟的受体糖蛋白。当同时在细胞中过表达GBR1和GBR2两种受体时,则可检测到GBR1的表达显著增加,证明两受体的相互作用决定了受体蛋白质合成以后的定位和转运^[18]。而GABAB受体在突触前和突触后都存在,GBR1-GBR2二聚化对细胞间通讯、寡聚体的

形成以及装配都有重要作用,在激活偶联的Gai/o蛋白后,G蛋白 α 亚基能够抑制腺苷酸环化酶(adenylate cyclase, AC)活性,从而下调cAMP含量,同时G $\beta\gamma$ 亚基能够调节突触前和突触后的Ca²⁺和K⁺通道(图1)。

受体二聚化还可影响受体和配体的亲和力。在同时过表达 δ -阿片受体(δ -opioid receptor, DOR)和 κ -阿片受体(κ -opioid receptor, KOR)时,两受体的特异激动剂U69593、DPDPE和特异拮抗剂Norbinaltorphimine、TIPP对二聚化的DOR-KOR受体亲和力水平显著降低,反而与非特异拮抗剂纳洛酮和部分激动剂DIP亲和力有明显升高。但在有DOR的特异性激动剂DPDPE存在时,KOR的特异性激动剂U69593与DOR-KOR二聚体的亲和力比单独过表达KOR时的亲和力高^[19-20]。此外,生长抑素受体5(somatostatin receptor 5, SSTR5)和D₂形成的异二聚体,在D₂激动剂quinpirole存在时,该二聚体对SSTR5激动剂SST-14的亲和力可以增加30倍,而D₂拮抗剂sulpiride可以使这种亲和力水平下降80%^[21]。

3 GPCR寡聚化对受体激活和受体内化的影响

寡聚化可影响GPCR的激活。配体对受体的激活可能会同时激活寡聚物中相邻的受体^[22],有些情况下受体二聚化过程可能是受体活化所必需。例如从对氨基酸味觉受体(taste receptor family 1 member, T1R)的研究中发现,只有在T1R1(或T1R2)与T1R3共同表达时才显示对L-氨基酸有味觉反应,证明异二聚化对某些味觉受体功能发挥是必需的^[23](图2)。有些组成异二聚体的受体成员还可以与G蛋白三聚体的不同亚单位相互作用。在阿片类受体共表达试验中,异二聚化使之与Gi解偶联,证明异二聚化改变了GPCR对G蛋白的选择^[24]。此外,当多巴胺受体D₂和D₃形成异二聚体时,激动剂对其有更高的亲和力并促进D₂和D₃介导的信号转导^[7]。

异二聚体也可影响配体介导的GPCR内吞。异二聚体其中一个受体的激活可以明显促进异二聚体中的两个受体发生同时内化。这些受体包括SSTR1(somatostatin receptor 1)和SSTR5、 β 2AR和 δ -OR、 β 1AR(β 1-adrenergic receptor)和 α 2AR(α 2A-adrenergic receptor)^[25]、 α 1BR(α 1B-adrenergic receptor)和 α 1AR(α 1A-adrenergic receptor)^[26]、SSTR2A和 μ -OR以及D₂和腺苷受体(A2AR)^[27]等。对

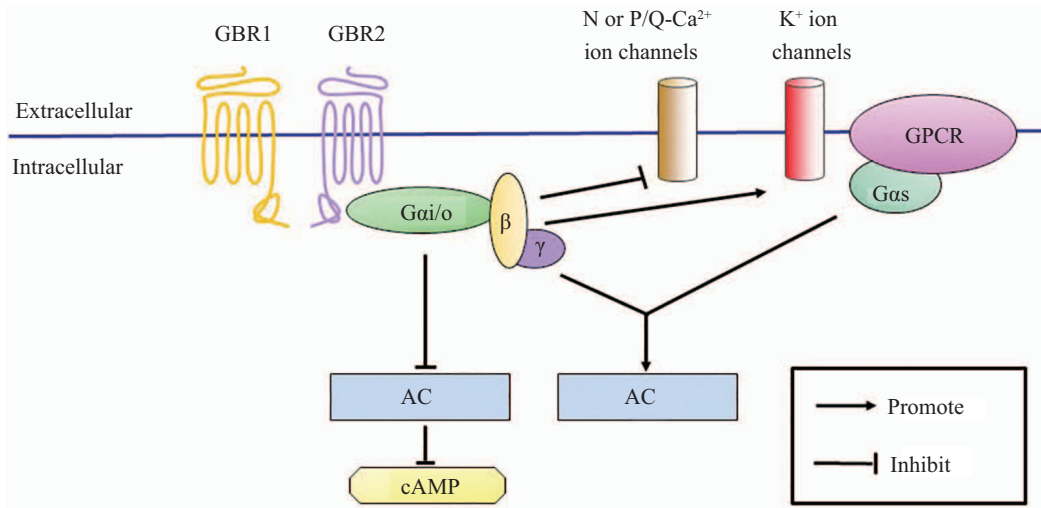


图1 GABAB受体介导的信号通路
Fig.1 GABAB receptor-mediated signaling pathways

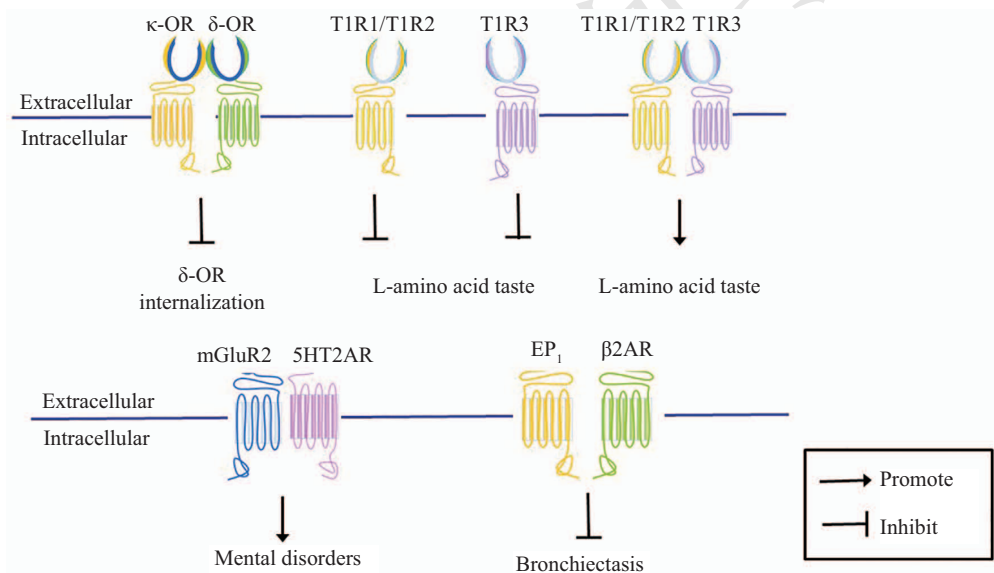


图2 G蛋白偶联受体寡聚化对受体功能的影响
Fig.2 Effects of G protein-coupled receptor oligomerization on receptor functions

于后面两种异二聚体, 在发生共同内化的同时细胞信号的转导也被削弱。反之, 有的二聚体形成则对受体的内吞有阻碍作用。例如, 在共表达实验中, κ -OR可阻止 δ -OR的内化(图2), β 2AR可阻碍由激动剂介导的 β 1AR的内吞, 这种二聚化对受体内化、脱敏的影响还有待阐明。

4 GPCR寡聚化的药理生理学作用

GPCR寡聚化在药理学方面的作用最初是在对 δ -OR、 κ -OR二聚化研究中发现的。受体二聚化改

变了受体和配体的亲和力和这个二聚体的药理学作用如图2中所述。此外, 异二聚体在组织内的构型表达可参与不同的生理过程。例如, 儿茶酚胺对心率的控制受到AT1R- β 2AR异二聚体的调控。此异二聚体可以抑制心肌细胞内 β 2AR的自发性活动。突触后皮质5HT2A-mGluR2异二聚体的失调可能造成精神分裂者精神失常^[28](图2)。有的异二聚体可能在疾病行程中扮演重要角色。气道平滑肌内的前列腺素受体EP₁- β 2AR二聚体可导致 β 2AR偶联Gas的水平降低, 进而降低了 β 2AR的特异激动剂(异丙肾

上腺素)的支气管扩张能力,这可能是哮喘形成的附加机制^[29](图2)。

5 结语

GPCR作为许多药物的作用靶点,其结构功能和相关信号通路的研究得到广泛关注。GPCR的寡聚化对于受体功能发挥有十分重要的作用。例如GPCR的异二聚化可改变受体和配体的亲和力,如果这种现象在受体异二聚化中普遍存在,那么不同的受体异二聚化将影响受体药理学特性。而对于受体二聚化甚至多聚化形成的具体机制和形成寡聚体后对细胞下游信号转导的作用还需要我们进一步的探明。解读它们的药理学特性时带来新的复杂性,可以给药物设计带来新的概念,也可能导致治疗策略的改变。

对特定的GPCR,不同的配体可激活不同的途径,被称为“偏向性配体”^[30]。例如,在巴胺受体^[26]和血清素受体^[31]的研究中发现,不同的激动剂对同一个受体可以介导不同的信号通路,产生不同的效应。这些激动剂被确认为通过影响偏向性配体的构象来实现“功能偏向性”^[32]。所以,如果成功筛选出寡聚体的特异配体或偏向性配体,能够为研发降低副作用的药物提供新的策略,也能为寻找药物的靶点提供一个新思路。FRET、BRET和建立模型^[33]等新兴技术的发明以及与其他技术的联合应用,将为研究GPCR自身结构变化及其与G蛋白之间相互作用的机制提供了有力保障。此外,也可以利用这些技术来辨别正常与疾病时的GPCR结构及其与G蛋白的结合状态,从而服务于新药研发与临床治疗,为疾病的个性化治疗提供必要的的数据支持。

参考文献 (References)

- Hurevich M, Talhami A, Shalev DE, Gilon C. Allosteric inhibition of g-protein coupled receptor oligomerization: Strategies and challenges for drug development. *Curr Top Med Chem* 2014; 14(15): 1842-63.
- Chakraborty H, Chattopadhyay A. Excitements and challenges in GPCR oligomerization: Molecular insight from FRET. *ACS Chem Neurosci* 2015; 6(1): 199-206.
- Xu TR, Baillie GS, Bhari N, Houslay TM, Pitt AM, Adams DR, *et al.* Mutations of beta-arrestin 2 that limit self-association also interfere with interactions with the beta2-adrenoceptor and the ERK1/2 MAPKs: Implications for beta2-adrenoceptor signalling via the ERK1/2 MAPKs. *Biochem J* 2008; 413(1): 51-60.
- Xu TR, Ward RJ, Pediani JD, Milligan G. The orexin OX receptor exists predominantly as a homodimer in the basal state: Potential regulation of receptor organization by both agonist and antagonist ligands. *Biochem J* 2011; 439(1): 171-83.
- Xu TR, Yang Y, Ward R, Gao L, Liu Y. Orexin receptors: Multi-functional therapeutic targets for sleeping disorders, eating disorders, drug addiction, cancers and other physiological disorders. *Cell Signal* 2013; 25(12): 2413-23.
- Ferre S, Franco R. Oligomerization of G-protein-coupled receptors: A reality. *Curr Opin Pharmacol* 2010; 10(1): 1-5.
- Milligan G, Lopez-Gimenez J, Wilson S, Carrillo JJ. Selectivity in the oligomerisation of G protein-coupled receptors. *Semin Cell Dev Biol* 2004; 15(3): 263-8.
- Quitterer U, Abdalla S. Vasopressor meets vasodepressor: the AT1-B2 receptor heterodimer. *Biochem Pharmacol* 2014; 88(3): 284-90.
- Terrillon S, Bouvier M. Roles of G-protein-coupled receptor dimerization. *EMBO Rep* 2004; 5(1): 30-4.
- Maurel D, Comps-Agrar L, Brock C, Rives ML, Bourrier E, Ayoub MA, *et al.* Cell-surface protein-protein interaction analysis with time-resolved FRET and snap-tag technologies: Application to GPCR oligomerization. *Nat Methods* 2008; 5(6): 561-7.
- Comps-Agrar L, Kniazeff J, Norskov-Lauritsen L, Maurel D, Gassmann M, Gregor N, *et al.* The oligomeric state sets GABA(B) receptor signalling efficacy. *EMBO J* 2011; 30(12): 2336-49.
- Calebiro D, Rieken F, Wagner J, Sungkaworn T, Zabel U, Borzi A, *et al.* Single-molecule analysis of fluorescently labeled G-protein-coupled receptors reveals complexes with distinct dynamics and organization. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; 110(2): 743-8.
- Prezeau L, Rives ML, Comps-Agrar L, Maurel D, Kniazeff J, Pin JP. Functional crosstalk between GPCRs: With or without oligomerization. *Curr Opin Pharmacol* 2010; 10(1): 6-13.
- Patowary S, Alvarez-Curto E, Xu TR, Holz JD, Oliver JA, Milligan G, *et al.* The muscarinic M3 acetylcholine receptor exists as two differently sized complexes at the plasma membrane. *Biochem J* 2013; 452(2): 303-12.
- Xia Y, Yu H, Jansen R, Seringhaus M, Baxter S, Greenbaum D, *et al.* Analyzing cellular biochemistry in terms of molecular networks. *Annu Rev Biochem* 2004; 73: 1051-87.
- Moepps B, Fagni L. Mont Sainte-Odile: A sanctuary for GPCRs. Confidence on signal transduction of G-protein-coupled receptors. *EMBO Rep* 2003; 4(3): 237-43.
- Carriba P, Navarro G, Ciruela F, Ferre S, Casado V, Agnati L, *et al.* Detection of heteromerization of more than two proteins by sequential BRET-FRET. *Nat Methods* 2008; 5(8): 727-33.
- Burmakina S, Geng Y, Chen Y, Fan QR. Heterodimeric coiled-coil interactions of human GABAB receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111(19): 6958-63.
- Jordan BA, Devi LA. G-protein-coupled receptor heterodimerization modulates receptor function. *Nature* 1999; 399(6737): 697-700.
- Harland AA, Yeomans L, Griggs NW, Anand JP, Pogozheva ID, Jutkiewicz EM, *et al.* Further optimization and evaluation of bioavailable, mixed-efficacy mu-opioid receptor (MOR) agonists/delta-opioid receptor (DOR) antagonists: Balancing MOR and DOR affinities. *J Med Chem* 2015; 58(22): 8952-69.
- Rocheville M, Lange DC, Kumar U, Patel SC, Patel RC, Patel

- YC. Receptors for dopamine and somatostatin: Formation of hetero-oligomers with enhanced functional activity. *Science* 2000; 288(5463): 154-7.
- 22 Pfeiffer M, Koch T, Schroder H, Laugsch M, Hollt V, Schulz S. Heterodimerization of somatostatin and opioid receptors cross-modulates phosphorylation, internalization, and desensitization. *J Biol Chem* 2002; 277(22): 19762-72.
- 23 Kurihara K. Umami the fifth basic taste: History of studies on receptor mechanisms and role as a food flavor. *Biomed Res Int* 2015; 2015: 189402.
- 24 Charles AC, Mostovskaya N, Asas K, Evans CJ, Dankovich ML, Hales TG. Coexpression of delta-opioid receptors with micro receptors in GH3 cells changes the functional response to micro agonists from inhibitory to excitatory. *Mol Pharmacol* 2003; 63(1): 89-95.
- 25 Stanasila L, Perez JB, Vogel H, Cotecchia S. Oligomerization of the alpha 1a- and alpha 1b-adrenergic receptor subtypes. Potential implications in receptor internalization. *J Biol Chem* 2003; 278(41): 40239-51.
- 26 Mottola DM, Kilts JD, Lewis MM, Connery HS, Walker QD, Jones SR, *et al.* Functional selectivity of dopamine receptor agonists. I. Selective activation of postsynaptic dopamine D2 receptors linked to adenylate cyclase. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 301(3): 1166-78.
- 27 Kamiya T, Yoshioka K, Nakata H. Analysis of various types of single-polypeptide-chain (sc) heterodimeric A(2)AR/D(2)R complexes and their allosteric receptor-receptor interactions. *Biochem Biophys Res Commun* 2015; 456(2): 573-9.
- 28 Sealfon SC, Gonzalez-Maeso J. Receptor pair for schizophrenia. *Pediatr Res* 2008; 64(1): 1.
- 29 McGraw DW, Mihlbachler KA, Schwarb MR, Rahman FF, Small KM, Almoosa KF, *et al.* Airway smooth muscle prostaglandin-EP1 receptors directly modulate beta2-adrenergic receptors within a unique heterodimeric complex. *J Clin Invest* 2006; 116(5): 1400-9.
- 30 Liu Y, Yang Y, Ward R, An S, Guo XX, Li W, *et al.* Biased signalling: the instinctive skill of the cell in the selection of appropriate signalling pathways. *Biochem J* 2015; 470(2): 155-67.
- 31 Wacker D, Wang C, Katritch V, Han GW, Huang XP, Vardy E, *et al.* Structural features for functional selectivity at serotonin receptors. *Science* 2013; 340(6132): 615-9.
- 32 Rajagopal S, Ahn S, Rominger DH, Gowen-Macdonald W, Lam CM, Dewire SM, *et al.* Quantifying ligand bias at seven-transmembrane receptors. *Mol Pharmacol* 2011; 80(3): 367-77.
- 33 Meng XY, Mezei M, Cui M. Computational approaches for modeling GPCR dimerization. *Curr Pharm Biotechnol* 2014; 15(10): 996-1006.