

G蛋白偶联受体的核转位研究进展

林卓超 黄晓玲 余榕捷*

(暨南大学生命科学与技术学院, 生物医药研究院, 广州 510632)

摘要 G蛋白偶联受体(G-protein coupled receptor, GPCR)是细胞表面受体的超家族, 通过响应相应配体来调节多种细胞功能。长期以来认为, GPCR信号传导仅涉及在细胞表面激活受体, 然后与异源三聚体G蛋白和抑制蛋白结合以触发各种细胞内信号级联, 并通过内化或其他方式终止信号传导。从20世纪末至今, 已在细胞核(上或内)中检测到约30种GPCR。研究表明, 定位于细胞核(上或内)的GPCR发挥不同于细胞膜上GPCR的生物学功能, 并且在细胞核(上或内)的GPCR介导的信号转导通路与传统的G蛋白和下游第二信使依赖的信号转导通路有所不同, 而是与一些转录因子密切相关。GPCR是重要的药物靶标, 了解细胞核(上或内)GPCR的生理学功能和病理学意义, 以及解析GPCR核转位运输机制, 都有助于制定成功靶向它们的药物策略。该综述将对GPCR细胞核转位的诱导条件、GPCR核转位机制以及GPCR核转位介导的信号转导通路的最新研究成果进行概述, 为新型靶向细胞核GPCR药物的研究提供参考。

关键词 G蛋白偶联受体(GPCR); 核转位; 信号转导通路

Research Progress in Nuclear Translocation of G Protein-Coupled Receptors

LIN Zhuochao, HUANG Xiaoling, YU Rongjie*

(Institute of Biomedicine, School of Life Science and Technology, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

Abstract GPCR (G-protein coupled receptor) are superfamilies of cell surface receptors that regulate a variety of cellular functions by responding to corresponding ligands. GPCRs signaling was long believed to involve activation of receptor exclusively at the cell surface, followed by its binding to heterotrimeric G-proteins and arrestins to trigger various intracellular signaling cascades, and termination of signaling by internalization or other ways of the receptor. From the end of the twentieth century to the present, about 30 kinds of GPCRs have been detected in the nucleus (upper or inner). Studies have shown that GPCR located in the nucleus (upper or inner) plays a different biological function from GPCR located on the cell membrane, and GPCR-mediated signal transduction pathway in the nucleus (upper or inner) is different from the traditional G protein and downstream second messenger-dependent signal transduction pathway, but closely related to some transcription factors. GPCRs are important drug targets, so understanding the physiological function and pathological significance of nuclear (upper or inner) GPCR and analyzing the transport mechanism of GPCR nuclear translocation to help to develop drug strategies that successfully target them. Here, we will review the induction conditions of GPCR nuclear translocation, the mechanism of GPCR nuclear translocation, and the latest research results of signal transduction pathway mediated by GPCR nuclear translocation, which will provide reference for the research of new targeted nuclear GPCR drugs.

收稿日期: 2019-04-13 接受日期: 2019-06-10

国家自然科学基金(批准号: 31100545、31670848)和广东省自然科学基金(批准号: 2016A030313087)资助的课题

*通讯作者。Tel: 020-85220220, E-mail: rongjie_yu1123@163.com

Received: April 13, 2019 Accepted: June 10, 2019

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31100545, 31670848) and the Natural Science Foundation of Guangdong Province (Grant No.2016A030313087)

*Corresponding author. Tel: +86-20-85220220, E-mail: rongjie_yu1123@163.com

网络出版时间: 2020-01-06 17:06:48 URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20200106.1706.008.html>

Keywords G-protein coupled receptor (GPCR); nuclear translocation; signal transduction pathway

G蛋白偶联受体(G-protein coupled receptor, GPCR), 也称为七跨膜受体, 属于单体七螺旋糖蛋白家族, 可识别广泛的细胞外介质, 包括胺离子、脂质、肽、蛋白质和感觉信号介质(例如, 光和嗅觉刺激分子)等, 并将信号传递到细胞内部^[1]。此前认为, 所有GPCR都通过类似的分子机制起作用, 细胞外配体在细胞膜上与GPCR结合, 导致受体蛋白的构象变化, 从而促进受体与不同类型的异源三聚体G蛋白的结合, 这些G蛋白与 α 和 β/γ 亚基复合物结合, 并附着在质膜的细胞质表面上。配体激活受体与G蛋白的相互作用触发了GTP在 α 亚基上与GDP的交换, 导致G蛋白与受体的解离以及G蛋白、 α 亚基与 β/γ 亚基复合物的解离, 然后释放的G蛋白亚基 α -GTP和游离 β/γ 能够与不同的效应酶和离子通道相互作用, 最终导致相应的生理反应^[1]。从20世纪80年代在GPCR配体的核结合位点取得突破性发现以来, 已有约30个GPCR被发现具有核定位(nuclear location)或核转位(nuclear translocation)的现象(表1)。

目前, 对于GPCR核转位或核定位的机制及其所介导的生物学功能正日益受到关注。研究表明, 细胞核(上或内)的GPCR具有特殊的生物学功能, 参与许多细胞的调节过程, 包括基因转录(增强或抑制)、细胞增殖和参与了具有促内分泌作用的配体(如甲状旁腺激素)调节细胞功能的作用^[1]; 细胞核(上或内)的GPCR也发挥了不同于细胞膜上GPCR所介导的生物学活性^[2]。目前已发现, 细胞核(上或内)的GPCR介导的信号转导通路可以不依赖于传统的G蛋白及第二信使, 而是与某些转录因子密切相关, 体现了其与细胞核内DNA的直接作用。此外, 虽然研究认为, GPCR核转位与核定位信号序列(nuclear location sequence, NLS)、转运蛋白、输入蛋白、分选蛋白和抑制蛋白有关, 并且受小GTP酶的Ras超家族成员的调节; 但每个GPCR的核转位的途径不尽相同, 体现了GPCR个体特异性。

本文对细胞核(上或内)GPCR的(1)核转位诱导条件、(2)核转位机制、(3)介导的信号转导通路进行综述, 并挑选(4)具有代表性的GPCR核转位的例子进行着重介绍, 以期帮助诠释GPCR核转位的生物学功能和病理学意义。

1 核转位诱导条件

自从20世纪末首次报道发现GPCR的核定位至今, 已有约30个GPCR被发现核定位或核转位, 具体整理如表1。

目前发现, 核定位或核转位GPCR的细胞类型主要为: (1)肿瘤细胞、(2)神经细胞、(3)上皮与内皮细胞(表1); 显示定位于细胞核的GPCR与肿瘤细胞增殖分化、神经发生发育及细胞损伤修复密切相关。

在1型甲状旁腺激素受体(parathyroid hormone receptor 1, PTH₁R)的核-细胞质穿梭的研究中发现, 在正常细胞培养条件下, PTH₁R存在于细胞核和细胞质中, 且主要存在于细胞质中; 当细胞在血清饥饿条件下培养时, PTH₁R定位于所有细胞的细胞核, 细胞质定位明显减少^[24]。当血清饥饿随后细胞恢复到正常血清条件时, 观察PTH₁R的核输出, 其中大部分PTH₁R荧光被限制在细胞质中, 这些数据表明, 血清饥饿条件有助于PTH₁R亚细胞定位的调节^[24]。此外, 将人脐静脉内皮细胞EA.hy926细胞系经受氧-葡萄糖剥夺后, 人脐静脉内皮细胞中的白三烯受体1主要分布在细胞核(细胞膜中发现少数), 白三烯受体1的核转位参与氧-葡萄糖剥夺诱导的细胞损伤^[1], 白三烯受体1的核转位还可能参与癌细胞(结肠肿瘤组织和上皮肿瘤细胞)增殖^[28]。核半胱氨酸趋化因子受体4(C-X-C motif chemokine receptor 4, CXCR4)是肾癌细胞生长的正调节因子, CXCR4内核定位信号序列的突变阻止了CXCR4向细胞核的转运同时也抑制了肾癌细胞的增殖、迁移和侵袭, 这表明, CXCR4的核定位可能是肾癌细胞增殖的机制^[29]。由此可见, 细胞氧化应激或细胞凋亡可诱导个别GPCR进入细胞核, 而GPCR的核转位与细胞的存活和增殖密切相关。

2 G蛋白偶联受体核转位的相关机制

当前的众多研究显示, 不同的GPCR可能有不同的核转位途径, GPCR的核转位机制是多种多样的。

2.1 配体依赖的核转位和非配体依赖的核转位

从配体的角度, 可分为配体依赖的核转位和非配体依赖的核转位。

在配体依赖的核转位的相关研究中, GPCR

表1 具有核定位或核转位现象的GPCR
Table 1 The nuclear translocation of GPCR

G蛋白偶联受体 GPCR	细胞和组织 Cells & tissues	核转位机制 Mechanism of nuclear translocation	参考文献 Reference
α_1 -adrenergic receptor (α_1A -, α_1B -AR)	Adult mouse cardiac myocytes	NLS	Wright, <i>et al.</i> , 2012 ^[3]
β -adrenergic receptors	Ventricular cardiomyocytes	G protein signaling proteins, G $\beta\gamma$ subunits	Vaniotis, <i>et al.</i> , 2011 ^[4]
Angiotensin II receptor type 1	Human aortic vascular smooth muscle cells	Agonist independent nuclear localization, NLS	Bkaily, <i>et al.</i> , 2003 ^[5]
Apelin receptor	Human cerebellar and hypothalamic neurons	Agonist independent nuclear localization, NLS	Lee, <i>et al.</i> , 2004 ^[6]
Bradykinin receptor B2	Rat hepatocytes	Agonist independent nuclear localization, NLS	Savard, <i>et al.</i> , 2008 ^[7]
Chemokine receptors- C-C motif chemokine receptor 2 and C-X-C motif Chemokine receptor 4	Prostate and renal cancer cell lines (CXCR4)	Transportin 1-mediated nuclear translocation. CXCR4 contain a NLS	Favre, <i>et al.</i> , 2008 ^[8] ; Hewage, <i>et al.</i> , 2013 ^[9]
Coagulation factor II receptor-like 1	Retinal ganglion neurons	Agonist-induced, sorting nexin 11, importins β 1, α 3 and α 5; NLS	Joyal, <i>et al.</i> , 2014 ^[10]
Cysteinyl leukotriene receptor 1	Human umbilical vein endothelial cells	NLS	Fang, <i>et al.</i> , 2012 ^[11]
Endothelin receptor type A and type B	human ventricular endocardial cells, rat ventricular cardiomyocytes	Putative NLS	Boivin, <i>et al.</i> , 2003; Jacques, <i>et al.</i> , 2005 ^[12-13]
Formyl peptide receptor 2	Lung and gastric cancer cell lines	NLS	Cattaneo, <i>et al.</i> , 2016 ^[14]
Glutamate metabotropic receptor 5	Primary rat striatal neurons	NLS	Sergin, <i>et al.</i> , 2017 ^[15]
GPR158 (a orphan members of the GPCR Family C)	Cultured trabecular meshwork cells	NLS	Patel, <i>et al.</i> , 2013 ^[16]
Frizzled receptor 2	Drosophila muscle cells	Ligand stimulation cleavage at plasma membrane and nucleus translocation by Imp β 11 and Imp α 2	Mosca, <i>et al.</i> , 2010 ^[17]
Lysophosphatidic acid receptor 1	Piglet brain microvascular endothelial cells, PC12, human bronchial epithelial cells	Agonist-independent	Gobeil, <i>et al.</i> , 2003; Waters, <i>et al.</i> , 2006 ^[18-19]
Melanocortin 2 receptor	Human adrenocortical epithelial cell line	Interact with nucleoporin 50 and undergo agonist-induced nuclear translocation	Doufexis, <i>et al.</i> , 2007 ^[20]
Neuropeptide Y receptor	Human endocardial cells	Ca ²⁺ dependent, ligand stimulation	Jacques, <i>et al.</i> , 2006 ^[21]
Oxytocin receptor	Primary mouse osteoblasts and MC3T3.E1 reosteoclastic cells	Agonist-induced nuclear translocation is regulated by transportin 1 and β arrestins	Benedetto, <i>et al.</i> , 2014 ^[22]
Pituitary adenylate cyclase activating peptide (PACAP) receptor 1 (PAC1-R)	Chinese hamster ovary cell with high expression of PAC1-R	Agonist PACAP induced nuclear translocation	Yu, <i>et al.</i> , 2013 ^[23]
Parathyroid hormone/Parathyroid hormone-related peptide receptor	Mouse preosteoblast cell line (MC3T3-E1)	Nucleocytoplasmic shuttling, importins α/β , NLS	Pickard, <i>et al.</i> , 2007 ^[24]
Platelet activating factor receptor	Piglet brain microvascular endothelial cells and human retinal microvascular endothelial cells	Nuclear localization is regulated by Rab11a and Importin5	Marrache, <i>et al.</i> , 2002; Bhosle, <i>et al.</i> , 2016 ^[25-26]
Sphingosine-1-phosphate receptor 1	Human umbilical vein endothelial cells	Agonist-induced translocation	Waters, <i>et al.</i> , 2006 ^[19]
Vasoactive intestinal peptide (VIP) and PACAP receptor 1 (VPAC1-R)	Human breast cancer cell-lines (T47D and MDA-MB-468)	Exogenous agonist (VIP) stimulation increases nuclear localization VPAC1-R but not VPAC2-R	Yu, <i>et al.</i> , 2017 ^[27]

在没有配体刺激诱导的情况下主要定位于细胞膜和细胞质,再加入配体后GPCR逐渐向核膜和细胞核移动。例如,在原代小鼠成骨细胞中,在未使用催产素刺激条件下,催产素受体(oxytocin receptor, OTR)主要出现在质膜和细胞质中,而在加入催产素后观察到催产素受体有出现明显的核定位,OTR逐渐从细胞质移动到核膜和细胞核(但OTR移动到核膜和细胞核需要与 β -抑制蛋白、小GTP酶Rab5、输入蛋白 β 和转运蛋白1的连续相互作用)^[22]。对人胚胎肾细胞293(human embryonic kidney cells 293, HEK 293)或者人脐静脉内皮细胞进行血清饥饿培养,鞘氨醇-1-磷酸受体1主要定位在质膜,在鞘氨醇-1-磷酸刺激后,鞘氨醇-1-磷酸受体1主要分布到核被膜区域,说明配体刺激能够诱导鞘氨醇-1-磷酸受体1移动至细胞核^[30]。

在非配体依赖的核转位的相关研究中,GPCR在没有配体刺激情况下可定位于细胞核,其核定位不依赖于激动剂刺激。具有脂质生物活性的GPCR,如血小板活化因子受体(platelet-activating factor receptor, PtAFR)和溶血磷脂酸受体1(lysophosphatidic acid receptor 1, LPA₁R),其核定位可能不依赖于激动剂刺激^[31]。例如,在原代人视网膜微血管内皮细胞中,PtAFR的核转位不需要外源或内源性配体(血小板活化因子)刺激,抑制内源性和外源性血小板活化因子药理学活性不影响PtAFR的核定位^[25,31]。

2.2 C-端核定位信号介导的核转位和无C-端核定位信号介导的核转位

从C-端核定位信号序列的角度,可分为C-端核定位信号介导的核转位和无C-端核定位信号介导的核转位。

在C-端核定位信号介导核转位的相关研究中,部分GPCR的第八个螺旋和/或第三细胞内环中具有经典核定位信号序列(尽管已发现有些GPCR具有非典型核定位信号)^[6,32]。经典核定位信号序列有两类,具有单个碱性氨基酸残基簇的单分子核定位信号序列和具有由10~12个氨基酸接头分隔的两个碱性氨基酸簇的二分核定位信号序列。这两类核定位信号都可被输入蛋白 α 和输入蛋白 β 识别并结合,输入蛋白是核转录蛋白家族的关键核转运蛋白,在核孔复合物的蛋白质输入中起着重要作用^[33]。GPCR的核输入可以通过Ran-GTP/输入蛋白机制将带有核定位信号的GPCR导向细胞核中^[6,32]。例如,在肾

上腺素能受体 α_1 A-AR(adrenoceptors α_1 A, α_1 A-AR)和肾上腺素能受体 α_1 B-AR(adrenoceptors α_1 B, α_1 B-AR)亚型鉴定了驱动核定位的功能性核定位信号序列,破坏核定位信号序列,这导致 α_1 -AR在培养的成年心肌细胞中的错误定位^[3]。在GPR158、PTH₁R、血管紧张素II受体1型和Apelin受体等的C末端中,也发现了核定位信号序列^[1],且核定位信号序列是核定位或核转位所必需的。

在无C-端核定位信号介导的核转位的相关研究中,GPCR的C末端没有核定位信号序列或将其核定位信号序列突变缺失,也不会改变GPCR定位于细胞核上。例如,在人和啮齿动物表达的溶血磷脂酸受体1的C末端区段内并没有核定位信号序列的存在,但溶血磷脂酸受体1和小窝蛋白-1的共定位在细胞核中^[18]。此外,缓激肽B₂受体的C末端含有核定位信号序列,在HEK 293细胞中,将突变的核定位信号序列添加至缓激肽B₂受体C末端结构域,结果不改变缓激肽B₂受体的细胞核中的分布,说明核定位信号序列不参与缓激肽B₂受体的核定位^[32]。在HEK 293细胞和人绒毛膜滋养层细胞中表达的人促性腺激素释放激素I型受体含有推定的单分子核定位信号序列,但其单分子核定位信号缺失突变体仍然定位于核膜^[34]。

2.3 脂质化与囊泡运输的核转位

翻译后脂质修饰如棕榈酰化、豆蔻酰化和异戊二烯化,在外周膜蛋白中尤为普遍;GPCR、G蛋白、G蛋白偶联效应酶和受体激酶都被发现有脂质化现象,脂质-蛋白质相互作用对这些蛋白质的活性产生相当大的影响^[35]。例如,多巴胺D1受体的棕榈酰化发生在347和351的2个半胱氨酸的羧基尾部,棕榈酰化通过参与选择性内吞途径指导激动剂依赖性多巴胺D1受体内化^[36]。1型大麻素受体在半胱氨酸415处是棕榈酰化的,棕榈酰化利于1型大麻素受体与小窝蛋白1动态相互作用,棕榈酰化控制1型大麻素受体的质膜靶向及其信号传导活性中起关键作用^[37]。研究者认为,脂质化与GPCR在激动剂刺激后选择内吞途径内化进细胞质内密切相关,一些存在核定位或核转位现象的GPCR可以通过特定的内吞途径内化进细胞质内,并在特定的内吞囊泡中与运输蛋白、分选蛋白等相互作用后,进一步入核。VPAC1-R是由垂体腺苷酸环化酶激活多肽(pituitary adenylate cyclase activating peptide, PACAP)和血管

活性肠肽(vasoactive intestinal peptide, VIP)共有的G蛋白偶联受体, VPAC1-R的N末端细胞外结构域中第一个Cys37发生棕榈酰化, 促进了VPAC1-R在小凹蛋白中定位, 从而促进了VIP诱导的VPAC1-R的核转位, 而棕榈酰化抑制剂抑制VPAC1-R核转位同时抑制了核转位介导的抗细胞凋亡活性^[27]。此外, 也有报道具有脂质生物活性的GPCR, 如PtAFR, 其核定位可能不依赖于激动剂刺激, 其亲脂性赋予了受体定位与Ras家族成员Rab和输入蛋白通过囊泡运输将PtAFR运输到细胞核^[25]。

3 细胞核GPCR介导的信号转导通路

位于细胞核(上或内)的GPCR被发现介导了与细胞膜上GPCR或协同增强, 或反向抑制, 或者甚至是完全不同的崭新生物学活性; 发挥了与细胞膜上GPCR不同的、特殊的生理学和病理学功能^[1]。目前, 发现细胞核GPCR介导的信号转导途径主要有两种。

3.1 类传统的GPCR信号转导通路

鉴于目前已确定细胞核内具有与细胞膜上GPCR信号转导所需的系列元件, 包括G蛋白 α 和 $\beta\gamma$ 复合体, 系列传统GPCR作用元件, 如: 环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)、磷脂酶2(phospholipase A₂, PLA2)、磷脂酶C β (phospholipase C β , PLC β 1)、PLC δ 1和G蛋白信号调节因子(regulator of G protein signaling, RGS)等^[38-39], 因此细胞核的GPCR被认为可通过与细胞膜上GPCR类似的传统信号转导通路, 发挥其生物学功能(图1)。例如, 已知细胞核上VPAC1-R可被VIP激活, 可介导细胞核内第二信使cAMP浓度的提升^[40]。

3.2 非传统的信号转导通路

鉴于已发现细胞核GPCR可以直接地、高效地调节细胞核DNA的合成、转录起始、基因表达和组蛋白修饰等与细胞核GPCR核定位一致的事件; 细胞核GPCR被认为可以直接参与结合细胞核内染色体DNA、或转录因子、或染色体骨架, 从而发挥调控靶基因活性的作用。目前解析非传统信号通路具体细节的例子为数不多, 包括: 2010年, Mosca等^[17]在*Nature Neuroscience*报道了在果蝇肌肉细胞中, 细胞膜上的卷曲蛋白2受体被其配体(Wnt蛋白)激活后, 受体的C-端被水解下来, 单独被输入蛋白转运至细胞核内, 从而介导了突触后的发育, 提示GPCR的C-端在细胞核内可能通过直接参与调控特定DNA的

活性, 发挥了非GPCR常规的信号转导作用^[17,31](图2); 又如2014年, *Nature Medicine*上报导了在视网膜神经节细胞的细胞核内的凝血因子II受体1(coagulation factor II receptor-like 1, F2rl1)通过其C末端直接招募转录因子SP1, 从而促发了血管内皮生长因子A(vascular endothelial growth factor A, VEGFA)的表达; 而细胞膜上的F2rl1的常规信号转导结果只是促进血管生成素基因*Ang1*的表达, 并不能激活Vegfa的表达^[10,41](图3)。

新近的研究提示, 细胞核的GPCR或其片段很可能直接参与调控细胞核染色体DNA的活性, 通过发挥类似反式作用因子的生物学活性, 介导非传统的信号转导通路。

4 GPCR核定位的具体个例

4.1 1型甲状旁腺激素和甲状旁腺激素相关肽受体(PTH₁R)

PTH₁R是一类BG蛋白偶联受体, 具有两种不同的配体, 即甲状旁腺激素(parathyroid hormone, PTH)和PTH相关肽(PTH-related peptide, PTHrP), PTH和PTH₁R的典型生理作用是增加骨吸收并通过控制骨重建来维持血清钙水平, PTHrP则参与许多细胞过程, 包括发育、生长和分化以及迁移^[42]。在大鼠组织中1型PTH₁R的核定位研究发现, PTH₁R在大鼠肾脏、肝脏、小肠、子宫和卵巢中广泛分布, 且均在这些组织中发生核转位^[43]。PTH₁R的C-端含有经典的二分核定位信号, 其核定位信号是功能性的, 并且在PTH₁R靶向细胞核中起作用, 输入蛋白 β 和输入蛋白 α 参与协助PTH₁R靶向细胞核^[2]。输入蛋白 α 将含有核定位信号的PTH₁R与输入蛋白 β 连接起来, 后者将复合物停靠在核孔上, 促进PTH₁R进入细胞核; 且基于输入蛋白 β 的特异性敲低, PTH₁R核定位减少, 证明控制PTH₁R核输入的机制是通过其与输入蛋白 α/β 的相互作用^[24]。尽管PTH₁R与输入蛋白之间功能关系的发现是阐明核GPCR定位机制的重要步骤, 但它很可能不是其他GPCR易位至细胞核的唯一机制^[24]。

目前广泛接受采用PTH间歇疗法刺激骨重塑或骨合起来治疗严重骨质疏松症, 这是一个新的治疗方向, 先前并未表明PTH有启动新骨形成的能力, 因此, PTH₁R向细胞核的易位提供了PTH₁R生理学的一个新方面, 并且可以基于PTH₁R的不同给

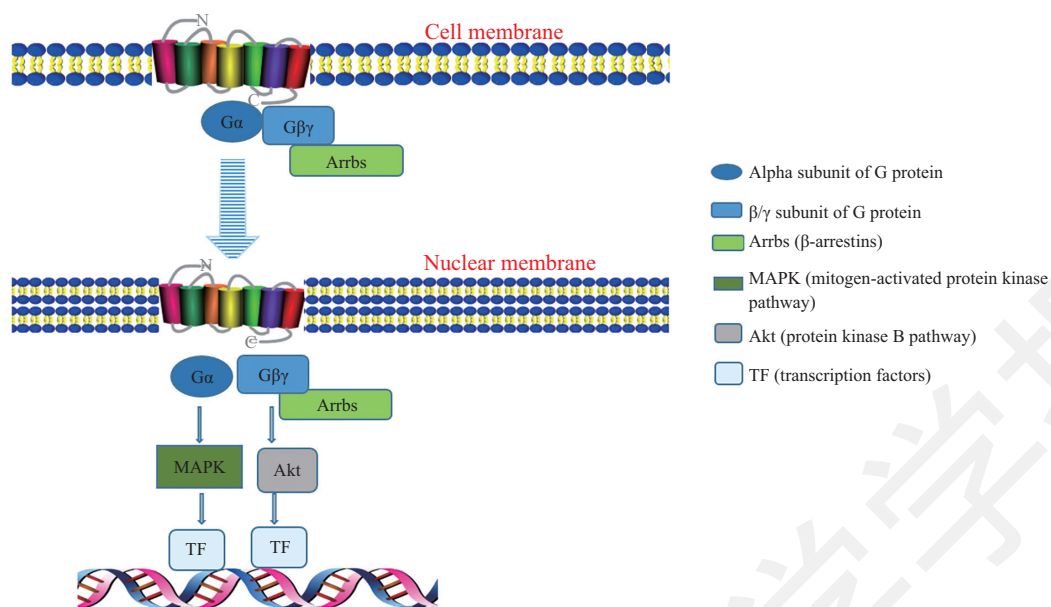


图1 细胞核GPCR介导的类传统信号转导途径(根据参考文献[39]修改)

Fig.1 The traditional like signal transduction pathway mediated by nuclear membrane GPCR (modified from reference [39])

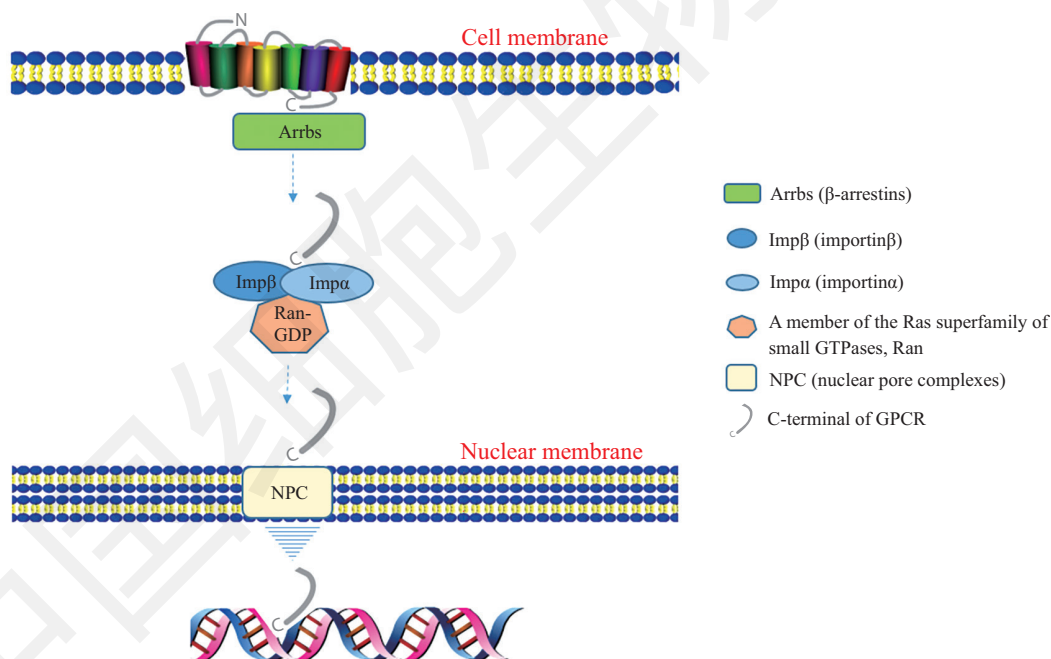


图2 GPCR的C-端在细胞核内可能直接参与调控特定DNA的活性(根据参考文献[31]修改)

Fig.2 The C-terminus of GPCR may be directly involved in the regulation of specific DNA activity in the nucleus (modified from reference [31])

药方式了解PTH对骨代谢的作用^[24,42]。此外,并非所有核GPCR在细胞核内都具有相同的空间分布,但核GPCR在核内的空间定位可能与其发挥的作用有关。PTH_{1R}定位于核质且不与核膜结合,研究者假设其功能与定位于核质的GPCR相似,并且该功能可能涉及

与DNA的直接接触或与其他转录调节机制有关,如溶血磷脂酸受体1(定位于核质)可通过一氧化氮合酶和环氧化酶2等基因参与促炎基因表达的直接调控^[24,42]。

4.2 半胱氨酸趋化因子受体4(CXCR4)

CXCR4此前被认为是一种在质膜上发挥功能

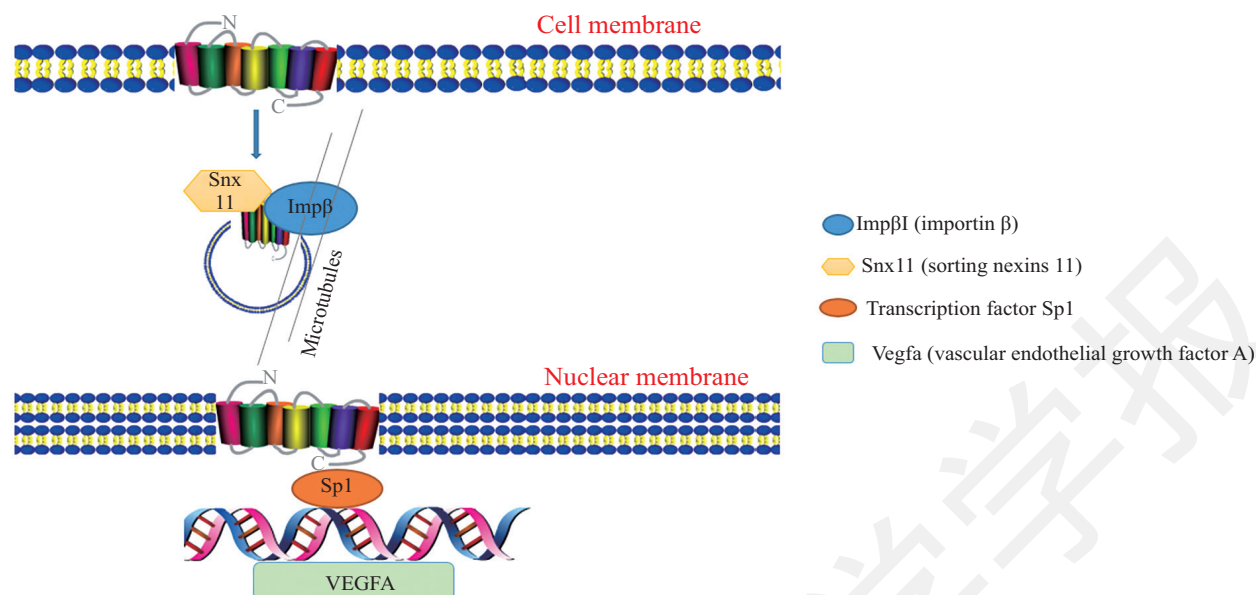


图3 GPCR通过其C末端直接招募转录因子SP1,从而促发了Vegfa的表达(根据参考文献[41]修改)

Fig.3 GPCR directly recruits the transcription factor SP1 through its C-terminus, which promotes the expression of Vegfa (modified from reference [41])

的GPCR,起传递转化和转移信号的作用^[9]。已经证实, CXCR4作为细胞膜受体可易位到细胞核中以促进细胞迁移,在许多肿瘤转移中起重要作用,因此决定了多种类型恶性肿瘤的预后^[29]。在前列腺癌、恶性肝细胞癌、结肠直肠癌、肾细胞癌和鼻咽癌等患者中观察到核CXCR4的表达^[9]。CXCR4中有推定的核定位序列146RPRK149,其序列并不是经典核定位序列,但此类序列也可介导与其他转运受体的直接结合,有助于核定位^[9]。除了核定位信号序列, CXCR4与转运蛋白β1相互作用并结合,促进了CXCR4的核转位^[2,29]。通过siRNA降低转运蛋白β1表达,即使配体刺激, CXCR4也不能在细胞核周围被检测到^[44]。

CXCR4定位于细胞核后所起的功能尚不清楚^[9]。CXCR4的核定位已经在不同类型的癌症中被检测到(在正常组织中CXCR4核定位现象不明显),与细胞质定位的CXCR4相反,它可作为预后生物标记,但在不同类型的肿瘤中,核定位CXCR4的预后预测是不同的,甚至相反^[29]。比如,核CXCR4可能有助于前列腺癌复发,或使得癌细胞转移能力增强;核CXCR4在转移性肾癌中可能促进肿瘤生长和转移^[9,29]。相反地, CXCR4的表达与非小细胞肺癌(non-small-cell lung cancer, NSCLC) I期预后有关, CXCR4在NSCLC I期中由肿瘤细胞表达, CXCR4位于肿瘤

细胞的细胞核和/或细胞质中,相比肿瘤无核CXCR4表达的患者,肿瘤具有核CXCR4的患者的存活持续时间更长^[29]。

4.3 催产素受体(OTR)

OTR是已知在正常细胞和肿瘤细胞中介导催产素作用的膜GPCR^[2]。OTR可以响应催产素刺激使乳腺肌纤维收缩而促进泌乳,以及促进子宫收缩,在成骨细胞中OTR与催产素相互作用直接刺激骨形成^[22]。在成骨细胞中β-抑制蛋白、小GTP酶Rab5、输入蛋白β和转运蛋白的连续相互作用促进了催产素受体进入细胞核^[22]。在人骨肉瘤、乳腺癌和原代人成纤维细胞中不仅在细胞膜上表现出OTR,而且在包括核仁在内的各种核区室中都表现出OTR^[45]。用催产素治疗导致OTR内化,并且所产生的囊泡在细胞核附近积聚,并且一些核周OTR进入细胞核^[45]。仅在骨肉瘤细胞中观察到OTR的组成型内化,而在其他细胞类型中的OTR核定位依赖于与配体结合^[45]。在组成型和配体依赖型细胞中用催产素处理后,细胞核内和细胞核附近的OTR量增加^[45]。

催产素引起的OTR核转位对成骨细胞分化的影响似乎与对激活丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)途径的作用无关,膜GPCR虽然通过传统的磷酸化级联相对快速地发出信号,但OTR可能在核定位后与细胞的转录机制直接相互作用^[22]。

4.4 血小板活化因子受体(PtAFR)

通常血小板活化因子与细胞表面PtAFR相互作用,对血管系统产生具有促炎、促凝血和血管生成作用。血小板活化因子和血小板活化因子样脂质可激活PtAFR, PtAFR的不同功能,一般取决于其定位。PtAFR不仅可以定位于细胞膜上,也可定位于细胞核上,且PtAFR在细胞核中的定位是细胞类型特异性的,这种PtAFR亚细胞定位的细胞类型特异性差异可推断出不同细胞系之间核转运蛋白水平的可能差异^[25]。此外,核PtAFR也不来自与细胞膜,并且内源性和外源性血小板活化因子不影响PtAFR的核定位^[25]。PtAFR的C末端基序、核周Rab11a和输入蛋白5控制PtAFR的核定位^[25]。通过诱变研究功能基序发现, PtAFR的C末端存在一个推定的基序298 NNFRKH 302, 该序列对其核定位是必需的; siRNA诱导的输入蛋白5敲低以及Rab11a(S25N)的显性突变形式的瞬时转染显著降低了PtAFR的核转位^[25]。

核PtAFR传递的功能与细胞膜的PtAFR不同,核PtAFR刺激诱导血管内皮生长因子和内皮一氧化氮合酶表达增加^[26],而细胞表面PtAFR刺激引发炎症细胞因子*IL1B* mRNA表达^[25]。

4.5 溶血磷脂酸受体(LPA₁R)

溶血磷脂酸是参与炎症、免疫、伤口愈合和瘤形成的生物活性分子,其多效作用是通过与细胞表面G蛋白偶联受体的相互作用产生的。在哺乳动物系统中, LPA₁R多出现在各种生理和病理状态(如个体发育、伤口愈合、癌症等)中起调节细胞功能的作用,包括基因表达、细胞增殖和生长、细胞存活和死亡、细胞分泌等^[18]。

在未受刺激的猪脑微血管内皮细胞中,在稳定转染LPA₁R的HTC4大鼠肝细胞瘤细胞中存在核LPA₁R,但在人和啮齿动物LPA₁R的C末端区内并没有推定的核定位信号序列的存在,暗示其他核输入机制可能占优势,可能在受体生物发生和/或内吞作用后发挥作用^[18]。在未刺激的猪脑微血管内皮细胞的富集质膜组分中的免疫共沉淀研究表明, LPA₁R在小窝蛋白1和网格蛋白亚区中被双重分离,而在核组分中LPA₁R主要出现在细胞膜穴样内陷中,但使用有效抑制浓度的细胞膜穴样内陷破坏剂未能修改溶血磷脂酸活动;类似地,通过蔗糖高渗溶液抑制网格蛋白依赖性内吞作用也不影响环氧合酶-2表达,故实验结果不支持通过内吞细胞途径介导的细

胞表面LPA₁R引起的环氧合酶-2炎症基因表达的核转位^[18]。其他研究表明,细胞骨架重排和整联蛋白簇集在调节LPA₁R的组成型核定位^[19]。

4.6 内皮素1受体(ET_AR and ET_BR)

内皮素1主要与两种特异性的质膜G蛋白偶联受体亚型内皮素受体A型和B型(endothelin receptor type A and type B, ET_AR and ET_BR)相互作用起维持基础血管张力与心血管系统稳态的作用,且这两类受体主要在心肌细胞中表达^[12-13]。共聚焦显微镜显示,心室肌细胞中存在ET_AR和ET_BR, ET_AR主要在质膜上,在较小程度上在细胞核上,而ET_BR主要定位于细胞核^[12,46]。研究表明,分离的细胞核含有特异性ET-1结合位点^[12]。在心内膜内皮细胞中, ET_BR在细胞核中的相对密度比在胞质溶胶更高^[46]。ET_BR的第八螺旋碱性氨基酸(KRFK),可作为一个经典核定位序列,大多数含有这种序列的蛋白质通过输入蛋白 α/β 异二聚体从细胞质转运到细胞核。在易位后,核定位序列-输入蛋白复合物解离,输入蛋白返回细胞质,此外, ET_BR不与输入蛋白 β 1形成稳定的复合物^[13]。

内皮素1通过激活在细胞核中存在的受体膜,特别是ET_BR,在核膜信号传导的调节以及核钙转运的调节中发挥重要作用^[46]。在细胞表面, β 肾上腺素能受体和ET_BR可以调节一氧化氮的产生,使其参与心脏功能的调节^[47]。在细胞核膜中, β 肾上腺素能受体和ET_BR可以调节转录,也能调节分离心脏细胞核中的一氧化氮的产生,增强了细胞核中的一氧化氮合酶活性^[47]。

4.7 α_1 -肾上腺素能受体(α_1 -AR)

肾上腺素能受体主要分为 α -肾上腺素能受体和 β -肾上腺素能受体,其中 α 受体分为 α_1 -肾上腺素能受体(α_1 -adrenergic receptor, α_1 -AR)和 α_2 -肾上腺素能受体(未在细胞核中检测出), β 受体分为 β_1 -肾上腺素能受体、 β_2 -肾上腺素能受体(未在细胞核中检测出)和 β_3 -肾上腺素能受体。 α_1 -AR是产后肥大和适应病理应激所必需的,而肾上腺素能 β 受体功能与ET_BR相似,可以调节NO产生,血管张力等^[47-48]。

在心脏细胞中表达的 α_1 -AR有三个亚型(α_1 A-AR、 α_1 B-AR和 α_1 D-AR),然而心肌细胞仅表达 α_1 A-AR和 α_1 B-AR,且 α_1 A-AR和 α_1 B-AR亚型出现在心肌细胞的核膜中(但核膜中不存在 α_1 D-AR)^[3,48]。功能性 α_1 -AR在心肌细胞的核膜上表达,其 α_1 -AR信号传导

伙伴Gαq和磷脂酶Cβ₁仅在核膜中与α₁-AR亚型共定位, 这支持α₁-AR可在成体心肌细胞的细胞核发信号的假设, 表明α₁-AR信号来自细胞核而不是质膜^[48]。虽然α₁-AR不能定位于成年小鼠心肌细胞中的细胞膜穴样内陷, 但α₁-AR信号传导仍然可以通过质膜上的小窝蛋白3间接修饰^[47]。在α_{1A}-AR亚型中含有二分核定位序列, 而在α_{1B}-AR中含有甘氨酸-精氨酸(重复/富含精氨酸)的核定位序列, 两个核定位序列在α_{1A}-AR和α_{1B}-AR亚型各自的羧基尾区; 将α₁-AR羧基尾区的核定位序列突变, 不仅破坏α₁-AR靶向细胞核, α₁-AR似乎都不会重新分布到质膜上^[3]。在α_{1A}-AR和α_{1B}-AR中鉴定了功能性核定位信号序列, 其提供了将α₁-AR靶向成体心肌细胞中的细胞核的机制, 使用这些突变体, 也证明了成人心肌细胞中α₁-AR信号传导需要核定位信号序列^[3]。

在成人心肌细胞的细胞核中可形成α_{1A}-AR和α_{1B}-AR亚型异寡聚体, 即α₁-AR核定位可以驱动受体寡聚体的形成, 这些α₁-AR异寡聚体可能促进细胞外调节蛋白激酶(ERK)的磷酸化, 影响成人心肌细胞α₁-AR信号^[3]。

4.8 β-肾上腺素能受体(β-AR)

β-肾上腺素能受体(β-adrenergic receptors, β-AR)可通过异源三聚体G蛋白发出信号, 激活多种下游效应子并调节心肌细胞中的多种细胞功能, 包括收缩性、代谢和基因表达^[49]。在哺乳动物心肌细胞中, 已经检测到所有三种已知的β-AR类型, β₁-AR、β₂-AR和β₃-AR^[4,49]。但在大鼠和小鼠成年心室肌细胞核膜上仅检测存在β₁-AR和β₃-AR, 没有β₂-AR^[49]。β₁-AR和β₃-AR在核膜上与不同的G蛋白配偶体偶联, β₁-AR刺激Gs蛋白并激活腺苷酸环化酶, β₃-AR介导的转录活性不依赖于腺苷酸环化酶而是与百日咳毒素(PTX)敏感的G蛋白偶联(可能是Gi), 并与核膜受体共定位, 可以在分离的细胞核中启动从头转录^[2]。

对核β-AR的G蛋白介导的信号研究中, 表明Gβγ亚基具有直接的核影响, Gβ₁γ₂二聚体可以直接与组蛋白脱乙酰酶5(histone deacetylase 5, HDAC5)或其他HDAC同种型相互作用改变转录活性^[4]。Gβγ亚基不仅是响应GPCR刺激的信号分子, 同时与许多G蛋白信号调节因子(RGS)蛋白相互作用, 并作为稳定的RGS-Gβ5复合物的一部分起作用, 该复合物定位于胞质溶胶和细胞核。RGS和RGS-Gβ5复合物在细胞核中的确切作用仍然不确定, 但有研究者认为,

这些蛋白质用于将质膜上受体的神经递质信号直接传递到细胞核^[4]。其他Gβ同种型的Gβγ亚基可以与某些转录抑制因子相互作用; 还有另一种Gβγ效应子是位于细胞质中的糖皮质激素受体, 并响应配体结合易位至细胞核, 其中几种靶基因受转录调节; Gβγ亚基作为转录调节因子的这种新作用可能与它们作为GPCR信号传导介质的经典功能无关^[4]。

5 展望

G蛋白偶联受体是重要的药物靶点。近年来, 越来越多报道显示, 功能性G蛋白偶联受体定位于细胞内区室, 包括细胞核、内体和线粒体^[31]。鉴于细胞核(上或内)的GPCR发挥了不同于细胞膜上GPCR所介导的生物学活性, 细胞核定位的GPCR被认为与肿瘤细胞增殖分化、神经发生发展及细胞损伤修复密切相关; 本文主要综述了定位于细胞核(上或内)的GPCR的核转位诱导条件、核转位机制和介导的信号转导通路。对细胞核GPCR的研究不仅有助于了解定位于细胞核(上或内)的GPCR所介导的不同于传统细胞膜上GPCR介导的生理学功能和病理学角色, 而且利于开发新型靶向细胞核GPCR的药物研发。例如, 已有研究显示, 血管活性肠肽受体1(VPAC1-R)的核定位与人乳腺癌细胞的增殖、存活密切相关^[50], 并且VPAC1-R的核定位与人恶性胶质瘤恶性程度成正比^[40]。我们可以尝试通过研发新型靶向细胞核VPAC1-R药物, 干预和阻止VPAC1-R进入细胞核, 或干预和阻断VPAC1-R在细胞核中的信号转导, 实现对相关肿瘤细胞的活性的干预。

参考文献 (References)

- 1 Gobeil F, Fortier A, Zhu T, Bossolasco M, Leduc M, Grandbois M, *et al.* G-protein-coupled receptors signalling at the cell nucleus: an emerging paradigm. *Can J Physiol Pharmacol* 2006; 84(3/4): 287-97.
- 2 Cattaneo F, Parisi M, Fioretti T, Esposito G, Ammendola R. Intracellular signaling cascades triggered by nuclear GPCRs. *J Cell Signal* 2016; doi: 10.4172/2576-1471.1000128.
- 3 Wright CD, Wu SC, Dahl EF, Szazama AJ, O'Connell TD. Nuclear localization drives alpha1-adrenergic receptor oligomerization and signaling in cardiac myocytes. *Cell signal* 2012; 24(3): 794-802.
- 4 Vaniotis G, Allen BG, Hebert TE. Nuclear GPCRs in cardiomyocytes: an insider's view of beta-adrenergic receptor signaling. *AM J Physiol Heart C* 2011; 301(5): H1754-64.
- 5 Bkaily G, Sleiman S, Stephan J, Asselin C, Choufani S, Kamal M, *et al.* Angiotensin II AT1 receptor internalization, translocation

- and *de novo* synthesis modulate cytosolic and nuclear calcium in human vascular smooth muscle cells. *Can J Physiol pharmacol* 2003; 81(3): 274-87.
- 6 Lee DK, Lanca AJ, Cheng R, Nguyen T, Ji XD, Gobeil F, Jr., *et al.* Agonist-independent nuclear localization of the Apelin, angiotensin AT1, and bradykinin B2 receptors. *J Biol Chem* 2004; 279(9): 7901-8.
 - 7 Savard M, Barbaz D, Bélanger S, Müller-Esterl W, Bkaily G, D'Orléans-Juste P, *et al.* Expression of endogenous nuclear bradykinin B2 receptors mediating signaling in immediate early gene activation. *J Cell Physiol* 2008; 216(1): 234-44.
 - 8 Favre N, Camps M, Arod C, Chabert C, Rommel C, Pasquali C. Chemokine receptor CCR2 undergoes transportin1-dependent nuclear translocation. *J Proteomics* 2008; 8(21): 4560-76.
 - 9 Don-Salu-Hewage AS, Chan SY, McAndrews KM, Chetram MA, Dawson MR, Bethea DA, *et al.* Cysteine (C)-x-C receptor 4 undergoes transportin 1-dependent nuclear localization and remains functional at the nucleus of metastatic prostate cancer cells. *PLoS One* 2013; 8(2): e57194.
 - 10 Joyal JS, Nim S, Zhu T, Sitaras N, Rivera JC, Shao Z, *et al.* Subcellular localization of coagulation factor II receptor-like 1 in neurons governs angiogenesis. *Nat med* 2014; 20(10): 1165-73.
 - 11 Fang Sh, Lin Kn, Huang Xq, Lu Yb, Zhang Wp, Wei Eq. Nuclear translocation of cysteinyl leukotriene receptor 1 is involved in oxygen-glucose deprivation-induced damage to endothelial cells. *Acta Pharmacol Sin* 2012; 33: 1511.
 - 12 Boivin B, Chevalier D, Villeneuve LR, Rousseau E, Allen BG. Functional endothelin receptors are present on nuclei in cardiac ventricular myocytes. *J Biol Chem* 2003; 278(31): 29153-63.
 - 13 Merlen C, Farhat N, Luo X, Chatenet D, Tadevosyan A, Villeneuve LR, *et al.* Intracrine endothelin signaling evokes IP3-dependent increases in nucleoplasmic Ca^{2+} in adult cardiac myocytes. *J Mol cell cardiol* 2013; 62: 189-202.
 - 14 Cattaneo F, Parisi M, Fioretti T, Sarnataro D, Esposito G, Ammendola R. Nuclear localization of formyl-peptide receptor 2 in human cancer cells. *Arch Biochem Biophys* 2016; 603: 10-19.
 - 15 Sergin I, Jong YI, Harmon SK, Kumar V, O'Malley KL. Sequences within the C terminus of the metabotropic glutamate receptor 5 (mGluR5) are responsible for inner nuclear membrane localization. *J Biol Chem* 2017; 292(9): 3637-55.
 - 16 Patel N, Itakura T, Gonzalez JM, Jr., Schwartz SG, Fini ME. GPR158, an orphan member of G protein-coupled receptor family c: glucocorticoid-stimulated expression and novel nuclear role. *PLoS One* 2013; 8(2): e57843.
 - 17 Mosca TJ, Schwarz TL. The nuclear import of Frizzled2-C by Importins- β 11 and α 2 promotes postsynaptic development. *Nat Neurosci* 2010; 13: 935.
 - 18 Gobeil F, Jr., Bernier SG, Vazquez-Tello A, Brault S, Beauchamp MH, Quiniou C, *et al.* Modulation of pro-inflammatory gene expression by nuclear lysophosphatidic acid receptor type-1. *J Biol Chem* 2003; 278(40): 38875-83.
 - 19 Waters CM, Saatian B, Moughal NA, Zhao Y, Tigyi G, Natarajan V, *et al.* Integrin signalling regulates the nuclear localization and function of the lysophosphatidic acid receptor-1 (LPA1) in mammalian cells. *Bio J* 2006; 398(1): 55-62.
 - 20 Doufexis M, Storr HL, King PJ, Clark AJL. Interaction of the melanocortin 2 receptor with nucleoporin 50: evidence for a novel pathway between a G-protein-coupled receptor and the nucleus. *FASEB J* 2007; 21(14): 4095-100.
 - 21 Jacques D, Sader S, Perreault C, Abdel-Samad D, Jules F, Provost C. NPY, ET-1, and Ang II nuclear receptors in human endothelial cells. *Can J Physiol Pharmacol* 2006; 84(3/4): 299-307.
 - 22 Di Benedetto A, Sun L, Zamboni CG, Tamma R, Nico B, Calvano CD, *et al.* Osteoblast regulation via ligand-activated nuclear trafficking of the oxytocin receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111(46): 16502-7.
 - 23 Yu R, Zhong J, Li M, Guo X, Zhang H, Chen J. PACAP induces the dimerization of PAC1 on the nucleus associated with the cAMP increase in the nucleus. *Neurosci Lett* 2013; 549: 92-6.
 - 24 Pickard BW, Hodsman AB, Fraher LJ, Watson PH. Type 1 parathyroid hormone receptor (PTH1R) nuclear trafficking: regulation of PTH1R nuclear-cytoplasmic shuttling by importin- α /beta and chromosomal region maintenance 1/exportin 1. *Endocrinol* 2007; 148(5): 2282-9.
 - 25 Bhosle VK, Rivera JC, Zhou TE, Omri S, Sanchez M, Hamel D, *et al.* Nuclear localization of platelet-activating factor receptor controls retinal neovascularization. *Cell Discov* 2016; 2: 16017.
 - 26 Marrache AM, Gobeil F, Bernier SG, Stankova J, Rola-Pleszczynski M, Choufani S, *et al.* Proinflammatory gene induction by platelet-activating factor mediated via its cognate nuclear receptor. *J Immunol* 2002; 169(11): 6474.
 - 27 Yu R, Liu H, Peng X, Cui Y, Song S, Wang L, *et al.* The palmitoylation of the N-terminal extracellular Cys37 mediates the nuclear translocation of VPAC1 contributing to its anti-apoptotic activity. *Oncotarget* 2017; 8(26): 42728-41.
 - 28 Nielsen CK, Campbell JIA, Öhd JF, Mörgelin M, Riesbeck K, Landberg G, *et al.* A novel localization of the G-protein-coupled cysLT1 receptor in the nucleus of colorectal adenocarcinoma cells. *Cancer Res* 2005; 65(3): 732.
 - 29 Xu Z, Li P, Wei D, Wang Z, Bao Y, Sun J, *et al.* NMMHC-IIA-dependent nuclear location of CXCR4 promotes migration and invasion in renal cell carcinoma. *Oncol rep* 2016; 36(5): 2681-88.
 - 30 Estrada R, Wang L, Jala VR, Lee JF, Lin CY, Gray RD, *et al.* Ligand-induced nuclear translocation of SIP(1) receptors mediates Cyr61 and CTGF transcription in endothelial cells. *Histochem Cell Biol* 2009; 131(2): 239-49.
 - 31 Bhosle VK, Rivera JC, Chemtob S. New insights into mechanisms of nuclear translocation of G-protein coupled receptors. *Small GTPases* 2019; 10(4): 254-63.
 - 32 Takano M, Matsuyama S. Intracellular and nuclear bradykinin B2 receptors. *Eur J Pharmacol* 2014; 732: 169-72.
 - 33 Goldfarb DS, Corbett AH, Mason DA, Harreman MT, Adam SA. Importin alpha: a multipurpose nuclear-transport receptor. *Trends Cell Biol* 2004; 14(9): 505-14.
 - 34 Re M, Pampillo M, Savard M, Dubuc C, McArdle CA, Millar RP, *et al.* The human gonadotropin releasing hormone type I receptor is a functional intracellular GPCR expressed on the nuclear membrane. *PLoS One* 2010; 5(7): e11489.
 - 35 Escribá PV, Wedegaertner PB, Goñi FM, Vögler O. Lipid-protein interactions in GPCR-associated signaling. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1768(4): 836-52.
 - 36 Kong MMC, Verma V, O'Dowd BF, George SR. The role of

- palmitoylation in directing dopamine D1 receptor internalization through selective endocytic routes. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 405(3): 445-49.
- 37 Oddi S, Stepniwski TM, Totaro A, Selent J, Scipioni L, Dufresne B, *et al.* Palmitoylation of cysteine 415 of CB1 receptor affects ligand-stimulated internalization and selective interaction with membrane cholesterol and caveolin 1. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol L* 2017; 1862(5): 523-32.
- 38 Huang J, Fisher RA. Chapter 5 nuclear trafficking of regulator of G protein signaling proteins and their roles in the nucleus. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2009; 86: 115-56.
- 39 Vaniotis G, Allen BG, Hébert TE. Nuclear GPCRs in cardiomyocytes: an insider's view of β -adrenergic receptor signaling. *Am J Physiol Heart C* 2011; 301(5): H1754-64.
- 40 Barbarin A, Séité P, Godet J, Bensalma S, Muller JM, Chadéneau C. Atypical nuclear localization of VIP receptors in glioma cell lines and patients. *Biochem Biophys Res Commun* 2014; 454(4): 524-30.
- 41 Joyal JS, Bhosle VK, Chemtob S. Subcellular G-protein coupled receptor signaling hints at greater therapeutic selectivity. *Expert Opin Ther Tar* 2015; 19(6): 717-21.
- 42 Pickard BW, Hodsman AB, Fraher LJ, Watson PH. Type 1 parathyroid hormone receptor (PTH1R) nuclear trafficking: association of PTH1R with importin α 1 and β . *Endocrinol* 2006; 147(7): 3326-32.
- 43 Watson PH, Fraher LJ, Hendy GN, Chung UI, Kisiel M, Natale BV, *et al.* Nuclear localization of the type 1 PTH/PTHrP receptor in rat tissues. *J Bone Miner Res* 2000; 15(6): 1033-44.
- 44 Liu Z, Ma C, Shen J, Wang D, Hao J, Hu Z. SDF1/CXCR4 axis induces apoptosis of human degenerative nucleus pulposus cells via the NF κ B pathway. *Mol Med Rep* 2016; 14(1): 783-9.
- 45 Kinsey CG, Bussolati G, Bosco M, Kimura T, Pizzorno MC, Chernin MI, *et al.* Constitutive and ligand-induced nuclear localization of oxytocin receptor. *J Cell Mol Med* 2007; 11(1): 96-110.
- 46 Jacques D, Descorbeth M, Abdel-Samad D, Provost C, Perreault C, Jules F. The distribution and density of ET-1 and its receptors are different in human right and left ventricular endocardial endothelial cells. *Peptides* 2005; 26(8): 1427-35.
- 47 Vaniotis G, Glazkova I, Merlen C, Smith C, Villeneuve LR, Chatenet D, *et al.* Regulation of cardiac nitric oxide signaling by nuclear beta-adrenergic and endothelin receptors. *J Mol Cell Cardiol* 2013; 62: 58-68.
- 48 Wright CD, Chen Q, Baye NL, Huang Y, Healy CL, Kasinathan S, *et al.* Nuclear α 1-adrenergic receptors signal activated ERK localization to caveolae in adult cardiac myocytes. *Circ Res* 2008; 103(9): 992-1000.
- 49 Vaniotis G, Del Duca D, Trieu P, Rohlicek CV, Hébert TE, Allen BG. Nuclear beta-adrenergic receptors modulate gene expression in adult rat heart. *Cell Signal* 2011; 23(1): 89-98.
- 50 Valdehita A, Bajo AM, Fernandez-Martinez AB, Arenas MI, Vacas E, Valenzuela P, *et al.* Nuclear localization of vasoactive intestinal peptide (VIP) receptors in human breast cancer. *Peptides* 2010; 31(11): 2035-45.