

## • 综述 •

偏向 $\beta$ -抑制蛋白的 GPCR 信号传导机制及药物研究进展

殷琳, 陈熙, 杨秀颖\*, 杜冠华\*

(中国医学科学院、北京协和医学院, 药物研究所药物靶点研究与新药筛选北京市重点实验室, 北京 100050)

**摘要:** G 蛋白偶联受体 (G protein-coupled receptors, GPCR) 是一类存在于细胞膜表面的受体超家族。随着对 GPCR 脱敏调节器  $\beta$ -抑制蛋白 ( $\beta$ -arrestin) 研究的深入, 发现 GPCRs 激活后不仅能通过 G 蛋白依赖途径进行信号的传导, 也能通过非 G 蛋白依赖途径, 即  $\beta$ -抑制蛋白通路来调节受体内吞和脱敏, 甚至启动一波新的信号传导, 由此提出“偏向性传导”的概念, 即配体激活受体后能够选择性激活相应的信号通路, 使信号沿着特定“偏好”的下游通路继续向下传导, 并将与受体结合后能引起偏向性激活的配体称为“偏向性配体”。一般认为, 偏向性的产生是因为配体与受体结合方式存在差别, 包括受体构象的差异、下游信号蛋白结合位点的差异以及信号蛋白自身构象的差异等。本文就偏向  $\beta$ -抑制蛋白的 GPCR 信号传导机制以及偏向  $\beta$ -抑制蛋白通路的配体类药物研究进展做一简要综述。

**关键词:** G 蛋白偶联受体;  $\beta$ -抑制蛋白; 偏向性机制; 偏向性计算方法; 偏向性配体药物

中图分类号: R966 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2019)01-0066-07

## Mechanisms of $\beta$ -arrestin-biased GPCR signal transduction and advances in drug research

YIN Lin, CHEN Xi, YANG Xiu-ying\*, DU Guan-hua\*

(Beijing Key Laboratory of Drug Target Identification and Drug Screening, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

**Abstract:** G protein-coupled receptors (GPCR) are a class of receptor superfamily that exist on the surface of cell membrane. With the intensive studies on the GPCR desensitization regulator— $\beta$ -arrestins, it is found that activated GPCR can not only conduct signal transduction through G protein-dependent pathway, but also mediate *via* non-G protein-dependent pathway. In addition to mediate endocytosis and desensitization,  $\beta$ -arrestins also initiate a new series of signal transduction events. Therefore, the concept of "biased transduction" was put forward: the receptor activated by a specific ligand could selectively activate a specific signaling pathway, leading the signal to be transmitted downstream along a "preferential" pathway. We call the ligand that binds to the receptor and causes biased activation "biased ligand". It is generally believed that the phenomenon of bias results from different binding modes of ligands and receptors, including multiple receptor conformations, diverse sites that downstream signal proteins bind, and signal proteins' own conformations, etc. Here we give a brief review focusing on the mechanisms of  $\beta$ -arrestin-biased GPCR signal transduction and the advances in the drug development on  $\beta$ -arrestin biased ligands.

**Key words:** G protein-coupled receptor;  $\beta$ -arrestin; mechanism of bias; bias calculation method; biased ligand drug

收稿日期: 2018-07-03; 修回日期: 2018-09-24.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81470159, 81770847); 中国医学科学院创新工程重大协同创新项目 (2016-I2M-3-007, 2017-I2M-1-010).

\*通讯作者 Tel: 86-10-63165313, E-mail: lucia@imm.ac.cn;

Tel: 86-10-63165184, E-mail: dugh@imm.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2018-0610

G 蛋白偶联受体 (GPCR) 是一类具有 7 次跨膜螺旋 (7TM) 的膜蛋白超家族, 是迄今为止发现的最大的受体超家族, 广泛参与生殖、生长、发育和感知等多种重要的生命活动<sup>[1]</sup>, 因而在药物研发中备受关注。截至 2017 年, 美国 FDA 批准的所有药物中约有 34% 的药物靶向 GPCR<sup>[2]</sup>。传统的受体-配体作用模式认为, 配体与受体结合后能够平衡作用于下游的多种信号通路。但在毒蕈碱样胆碱受体激动剂的实验研究过程中<sup>[3]</sup>发现, 某些配体可以诱导受体选择性结合特异的 G 蛋白亚基, 使胞内信号偏向众多下游通路中的某一通路传导, 这一现象被称为“信号偏向性”, 并把该类具有功能选择性的配体称为“偏向性配体”。“偏向性激动 (biased agonism)”一词最早由 Jarpe 等<sup>[4]</sup>提出, 用以描述优先激活受体介导的多条下游通路中一条的现象, 这种优先激活某个或某些下游分子而产生不同生理效应的现象还被称为“功能性选择 (functional selectivity)<sup>[5]</sup>”、“信号偏向性 (biased signaling)”等。后续的研究表明, 这种偏向性不仅体现在选择性结合不同的 G 蛋白亚基、发挥截然不同的生理功能, 还体现在选择性偏向 G 蛋白通路或 G 蛋白非依赖的  $\beta$ -抑制蛋白通路中的一种, 继而转化为受体转运和基因转录程序的差异诱导<sup>[6]</sup>, 最终导致完全不同的生物学效应。这种偏向某一条信号通路的靶向 GPCR 的药物设计与优化, 被认为是在最大限度地发挥治疗作用的同时减少不良反应的新策略。

## 1 $\beta$ -抑制蛋白种类及分布

抑制蛋白 (arrestins) 是最初在视觉系统中发现的一类能与 G 蛋白偶联受体激酶 (G protein-coupled receptor kinases, GRKs) 联合作用并触发 GPCR 脱敏的可溶性胞浆蛋白<sup>[7]</sup>, 由 4 种同源蛋白组成, 包括非视觉相关的  $\beta$ -抑制蛋白 1 ( $\beta$ -arrestin 1, 也称 arrestin 2)、 $\beta$ -抑制蛋白 2 ( $\beta$ -arrestin 2, 也称 arrestin 3) 和两个视觉相关的 arrestin 1、arrestin 4 组成蛋白质家族, 约 45 kDa。 $\beta$ -抑制蛋白一般指  $\beta$ -抑制蛋白 1 和  $\beta$ -抑制蛋白 2 两个蛋白。 $\beta$ -抑制蛋白 1 基因位于第 11 号染色体 (Chr. 11 q13),  $\beta$ -抑制蛋白 2 基因位于第 17 号染色体 (Chr. 17 p13), 两种  $\beta$ -抑制蛋白的氨基酸序列同源性可达 80%。 $\beta$ -抑制蛋白从氨基端到羧基端的保守结构元件包括氨基端臂、功能域 II (motif II)、磷酸盐传感器、铰链结构域、门环/极性核心以及羧基端臂的几种蛋白-蛋白相互作用基序<sup>[8]</sup>。位于羧基端的网格蛋白 (clathrin) 和衔接蛋白 2 (adaptor protein 2, AP2) 的结合位点是参与受体内化的结构基础<sup>[9]</sup>。 $\beta$ -抑制蛋白在体内各个组织中广泛表达, 在神经、脾、肺组织中表达水平最高<sup>[10]</sup>。

## 2 $\beta$ -抑制蛋白介导 GPCR 脱敏、支架运输和信号转导

非视觉抑制蛋白可与超过 800 个 GPCRs 相互作用, 另外还能与其他细胞表面受体、网格蛋白、网格蛋白衔接子 AP2 及各种信号传导蛋白相互作用<sup>[11]</sup>。 $\beta$ -抑制蛋白因调控磷酸化的  $\beta$ -肾上腺素受体脱敏而被首次描述<sup>[12]</sup>。两种  $\beta$ -抑制蛋白的体内作用相似, 又相互作用, 广泛参与多种信号过程的调控, 介导在空间和时间上都不同于其在 G 蛋白信号通路中的生物过程。近来研究表明,  $\beta$ -抑制蛋白不仅在 G 蛋白依赖的信号通路中充当 GPCR 脱敏的调节因子, 而且可作为独立的介导受体内吞和信号转导的支架和适配器<sup>[13]</sup>, 它们将内吞蛋白和多种信号分子募集至受体, 使 GPCR 连接至各种途径, 直接或间接调控基因转录, 参与细胞增殖等其他重要的生命活动<sup>[14]</sup>。 $\beta$ -抑制蛋白的结合力相对较弱, 使这种结合更加动态, 其参与信号调节的程度根据受体、激动剂和细胞类型而显著变化。另外有一些受体还依赖于不同  $\beta$ -抑制蛋白间的协同调节作用<sup>[15]</sup>。

最近对 GPCR 的结构、生理和药理学研究深刻地改变了对 GPCR 激活和靶向治疗的观点。研究表明, GPCR 除利用 G 蛋白依赖通路外, 还可通过 G 蛋白非依赖的  $\beta$ -抑制蛋白 ( $\beta$ -arrestin) 通路在细胞内传递信号<sup>[8]</sup>, 并具有偏向性。一般认为 GPCR 介导的  $\beta$ -抑制蛋白转导的信号传导需要 GPCR- $\beta$ -抑制蛋白复合物的形成并将复合物运输至内体<sup>[16]</sup>。一些 GPCRs 还能够以 GPCR-G 蛋白- $\beta$ -抑制蛋白超级聚合体的方式参与信号调节<sup>[17]</sup>。GPCR 可以诱导  $\beta$ -抑制蛋白产生多种构象<sup>[18]</sup>。 $\beta$ -抑制蛋白可与 20 种以上的蛋白激酶结合<sup>[18]</sup>从而介导功能性信号。其中包括: 介导丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPKs)<sup>[19]</sup>、Src 激酶<sup>[20]</sup>及细胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinase, ERK)<sup>[21]</sup>等信号通路; 介导核因子- $\kappa$ B (nuclear factor, NF- $\kappa$ B) 及 Wnts/ $\beta$ -catenin<sup>[22]</sup>等转录调控过程; 调控蛋白酶激活受体 2 (protease activated receptor 2) 介导的趋化作用<sup>[23]</sup>; 调控神经激肽 1 受体 (neurokinin 1 receptor, NK1R) 介导的 P 物质抗凋亡作用<sup>[24]</sup>等。

有趣的是,  $\beta$ -抑制蛋白的不同亚型与 GPCR 结合后同样能够引起不同的生理学效应。研究表明, 虽然  $\beta$ -抑制蛋白 1 和 2 在 N 端都有核定位序列, 但只有  $\beta$ -抑制蛋白 2 在 C 端有一个核输出序列, 从而解释了两者的过表达后在细胞质中均有积聚, 而仅有  $\beta$ -抑制蛋白 1 在细胞核内积累的核质穿梭差异<sup>[25]</sup>。此外,  $\beta$ -抑制蛋白 1 和 2 支架连接不同的信号通路。例如, 在 1 型血管紧张素 II 受体 (AT<sub>1</sub>R) 上观察到,  $\beta$ -抑制蛋白 2 的

siRNA 敲除可导致 ERK 信号减弱; 而  $\beta$ -抑制蛋白 1 的 siRNA 敲除则导致 ERK 信号增强<sup>[26]</sup>。此外,  $\beta$ -抑制蛋白 2 还与可卡因成瘾记忆消除<sup>[27]</sup>、2 型糖尿病胰岛素抵抗<sup>[28]</sup>等紧密相关。

### 3 偏向 $\beta$ -抑制蛋白的 GPCR 信号转导机制

导致 GPCR 信号偏向性传导的分子机制及抑制蛋白依赖性脱敏与信号传导的细微差别尚不清楚。GPCR 激活后其细胞内的结构域磷酸化诱导结构重排, 结合  $\beta$ -抑制蛋白或 G 蛋白。凭借其脱敏/支架功能的独特组合,  $\beta$ -抑制蛋白是 G 蛋白与非 G 蛋白信号之间平衡的关键决定因素。通过 GPCR 上的变构位点调节  $\beta$ -抑制蛋白功能在概念上是相似的。

#### 3.1 多受体构象 (multiple receptor conformations)

**假说** 一般认为, 受体存在多个配体特异性的功能构象, 配体受体结合后调控受体活化状态<sup>[29]</sup>, 诱导受体发生构象变化进而募集不同的下游信号分子, 起始不同的 GPCR 信号转导<sup>[30]</sup>。大量生物、物理和生化研究表明, GPCR 在 G 蛋白依赖和  $\beta$ -抑制蛋白依赖的信号传导之间具有明显不同的构象<sup>[31]</sup>。荧光标记数据表明,  $\beta$ -抑制蛋白配体能诱导生长激素样肽 Ghrelin 和加压素 2 型受体 ( $V_2R$ ) 形成不同的构象<sup>[32]</sup>。另外, 利用化学标记法和 <sup>19</sup>FNMR 对  $\beta$ -抑制蛋白偏向性激动剂卡维地洛的研究发现, 在  $\beta_2AR$  的 Lys 263<sup>6,25</sup> 和 Cys 265<sup>6,27</sup> 的相邻区域存在明显的配体特异性侧链重组, 这可能与偏向的激动剂或功能选择性有关, 并在随后的核磁共振研究中证实了功能不同的配体能够使受体细胞内和/或细胞外区域的局部构象发生重排,  $\beta_2AR$  的 ICL3 (intracellular loop 3) 和 TM7 (transmembrane 7) 对  $\beta$ -抑制蛋白配体的反应采用了独特的构象<sup>[33]</sup>。利用血管紧张素 II 1 型受体的功能偏向性突变体进行分子动力学模拟也表明了 Gq 蛋白偏向和  $\beta$ -抑制蛋白偏向的受体构象之间的差异<sup>[34]</sup>。此外, 利用基于质谱的稳定同位素标记的方法对构象变化及动力学进行研究, 观察到  $\beta_2AR$  存在两种不同的构象重排模式, 一种与经典的激动剂作用模式相一致, 另一种则表现出对特定配体呈现特定的构象重排模式<sup>[35]</sup>。以上实验结果均为激活的受体存在多重构象的假说提供了直接的实验证据。

**3.2 受体磷酸化“条形码 (barcode)”假说** 受体磷酸化作为 GPCR 调控的关键机制, 其不同的磷酸化位点可能是导致偏向性信号传递的机制之一, 并由此提出了受体磷酸化“条形码”假说, 即不同的 GRKs 在给定的受体上磷酸化不同的位点, 诱导受体结合不同的下游分子构象, 进而导致不同的功能后果<sup>[36]</sup>。GRKs 是一类丝氨酸-苏氨酸激酶, 有 7 个异构体: GRK1 和 7 仅

存在于视觉系统; GRK4 主要在生殖道中表达; GRK2、GRK3、GRK5 和 GRK6 在体内普遍表达<sup>[37]</sup>。大量的证据表明, 虽然 GRK 的 7 个异构体的磷酸化靶位点有很大的重叠, 但也有明显的差异:  $\beta_2AR$  的细胞质尾部与 GRK2 和/或 GRK6 的相互作用, 产生不同的磷酸化“条形码”, 表现为不同配体可启动不同的磷酸化模式<sup>[38]</sup>。另有实验证明, 以  $\beta_2AR$  为模型, 利用 MS 技术破译  $\beta_2AR$  上由不同配体 (异丙肾上腺素和卡维地洛) 诱导的和单独 GRKs 磷酸化的“条形码”, 发现这些“条形码”与  $\beta$ -抑制蛋白介导的特定功能结果相关<sup>[39]</sup>: GRK2 的位点 (Ser<sup>355</sup> 和 Ser<sup>356</sup>) 促进  $\beta_2AR$  内化; GRK6 位点 (Thr<sup>360</sup>、Ser<sup>364</sup>、Ser<sup>396</sup>、Ser<sup>401</sup>、Ser<sup>407</sup> 和 Ser<sup>411</sup>) 主要负责  $\beta$ -抑制蛋白介导的 ERK 激活; GRK2 和 GRK6 共同介导受体脱敏<sup>[40]</sup>。因此, 靶向 GRKs 也是寻找  $\beta$ -抑制蛋白偏向性药物的一种策略<sup>[41]</sup>。

#### 3.3 $\beta$ -抑制蛋白构象变化 (conformational changes of $\beta$ -arrestin)

研究发现,  $\beta$ -抑制蛋白的磷酸结合凹面可通过读取不同的磷酸化条形码, 继而转化为特殊的  $\beta$ -抑制蛋白构象, 而这些构象与其功能和信号有明显的偶合作用, 进而导致不同的下游效应<sup>[42]</sup>。此外, 用  $\beta$ -抑制蛋白与磷酸肽构建复合物模拟 C 端尾磷酸化的 V2 加压素受体 (V2 vasopressin receptor, V2Rpp), 通过有限的蛋白质水解和质谱分析, 发现 V2Rpp 结合并激活  $\beta$ -抑制蛋白 1 和 2, 使先前隐蔽的位点 Arg393 ( $\beta$ -抑制蛋白 1) 或 Arg394 ( $\beta$ -抑制蛋白 2) 暴露, 引起 C 末端的释放, 增加了  $\beta$ -抑制蛋白 1 和 2 的残基 371 和 379 之间 clathrin 结合位点的可及性, 导致  $\beta$ -抑制蛋白 1 和 2 与 clathrin 的结合增强<sup>[43]</sup>。另有研究证明, 抑制蛋白和磷酸化激活的受体之间形成高亲和力复合物的机制是一个“两步”过程<sup>[44]</sup>, 涉及两个不同的结合位点, 即磷酸化识别的 N 区域, 以及与激活受体高亲和力结合的 N-C 区域。根据这个模型, 抑制蛋白首先与受体上的磷酸化位点相互作用, 导致负责稳定抑制蛋白非活跃构象的 C 端结构被释放, 然后经历了构象变化, 暴露了参与高亲和力识别的结构元素<sup>[45]</sup>。这些结果提供了  $\beta$ -抑制蛋白从其基础不活跃构象向其生物活性构象转变的直接证据。

总之,  $\beta$ -抑制蛋白偏向的配体与 GPCR 结合并诱导一个特定的受体构象。这种构象被一个或多个特定的 GRKs 识别, 并在受体细胞内 C 末端形成一个独特的磷酸化条形码。随后该条形码被招募的  $\beta$ -抑制蛋白读取, 继而引起  $\beta$ -抑制蛋白的特定构象变化, 最后导致特定蛋白质形成细胞内  $\beta$ -抑制蛋白介导的信号网络 (图 1)。

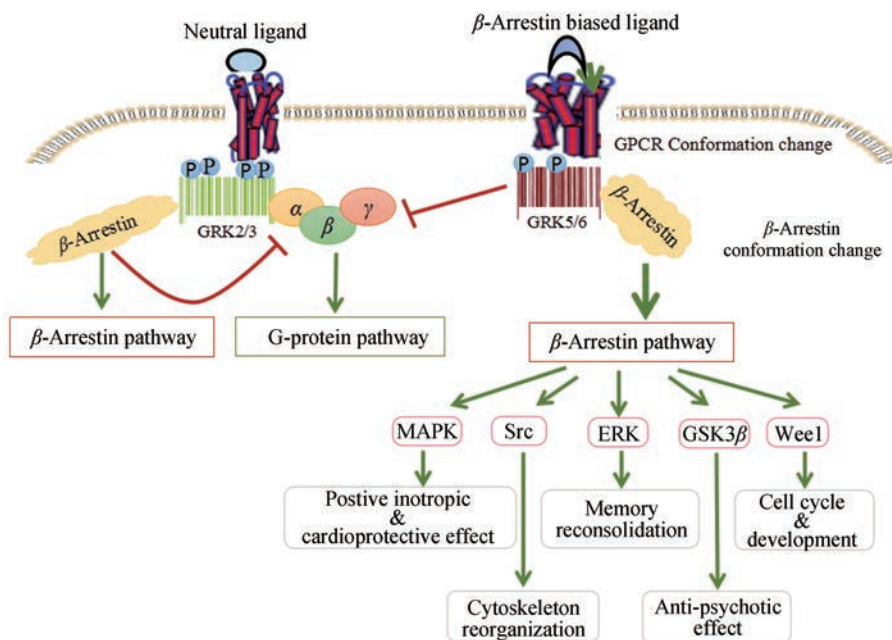


Figure 1 β-Arrestin-biased GPCR signal transduction pathways

#### 4 信号偏向性传导的研究计算方法

鉴于信号偏向性可能带来的药理学研究及新药研发领域的无限潜能, 偏向性信号传导的研究计算方法值得更深入的关注和研究。早在 1983 年 Black 和 Leff<sup>[46]</sup> 就认为, 实验性反应是一系列步骤的产物, 包括激动剂占据受体、激动剂对系统的作用, 以及产生反应的系统对激动剂的处理。并由此提出了 Black/Leff 操作模型, 用以测量激动剂的相对有效性。该模型仅适用于对激动剂激动效能的相对大小的量化, 不能直接用于信号偏向性的计算。

随后 Kenakin<sup>[47]</sup> 以 Black/Leff 操作模型为基础, 提出了用传导系数  $\log(\tau/K_A)$  来计算配体的偏向性。值得注意的是,  $\log(\tau/K_A)$  是系统依赖的, 因此不适用于直接比较配体在两信号途径中的偏向性的大小。为了消除系统差异, 同时比较配体在不同通路中的响应, 研究者们又对  $\log(\tau/K_A)$  值进行了标准化: 即以内源性配体为标准, 得到  $\Delta\log(\tau/K_A) = \log(\tau/K_A)_{\text{药物}} - \log(\tau/K_A)_{\text{标准}}$ 。再利用标准化后的  $\Delta\log(\tau/K_A)$  值, 可以直接比较试验药物在两种信号途径之间的偏向性大小。此外,  $\Delta\Delta\log(\tau/K_A) = \Delta\log(\tau/K_A)_A - \Delta\log(\tau/K_A)_B$  可适用于比较两种配体药物 A 和 B 引起两条信号途径中的一条应答的偏向性大小。需要明确的是, 由于偏向是一个向量, 减法的顺序很重要, 最直观的方法是确定一种药物对另一种药物的反应效率有多高, 以保证  $\Delta\Delta\log(\tau/K_A)$  的正性。

此外, Nivedha 等<sup>[48]</sup> 提出了一种计算配体偏向性的新方法: 假设从 GPCR 胞外区域穿过配体结合位点的残基到 GPCRs 胞内偶联 G-蛋白和 β-抑制蛋白的界面

上残基的能力与配体势及其偶联效能有关, 利用分子动力学 (molecular dynamics, MD) 轨迹分析受体胞外表面的残基与 G 蛋白或 β-抑制蛋白偶联界面上的残基之间的相关运动, 计算每个激动剂-GPCR 复合物到 G-蛋白和 β-抑制蛋白偶联界面的强度之比, 则待测配体偏向值为:  $\beta = PR_{\text{lig}}/PR_{\text{ref}} - 1$  ( $PR_{\text{lig}}$  表示给出的激动剂-受体到 β-抑制蛋白界面与到 G-蛋白偶联界面的强度之比;  $PR_{\text{ref}}$  表示对参考激动剂而言)。那种信号偏向性的计算方法适用于偏向性配体药物的发现, 但其是否真的存在偏向性并能否引起差异性生物学效应, 还要通过实验验证并结合 Kenakin<sup>[47]</sup> 提出的计算模型加以佐证。尽管如此, 该计算方法的优势之处至少包括以下两个方面: ① 从虚拟筛选中快速识别有偏向的激动剂, 实现低成本、高通量的效果; ② 利用功能活性热区的关键氨基酸残基作为靶配体偏向性优化的起点, 实现针对性优化的功能。

#### 5 偏向β-抑制蛋白信号通路的靶向 GPCR 药物研究现状

因为 β-抑制蛋白分布广泛且具有多种功能<sup>[49]</sup>, 配体偏倚提供了组织选择性, 也为 GPCR 配体类药物的临床用药带来了很好的应用前景, 使得细胞功能的调控和疾病的治疗更具有针对性, 因此偏向 β-抑制蛋白信号的配体药物成为研发热点。另外, 也可通过抑制 β-抑制蛋白的作用, 减少其激活带来的不良影响。现有研究表明, 该类配体药物的治疗优势主要表现为对心血管系统的保护作用、中枢神经系统相关疾病的治疗作用以及对炎症的调控作用 (表 1)<sup>[39,50-66]</sup>。

**Table 1**  $\beta$ -Arrestin pathway biased ligand drugs of GPCR

Name	Target	Pathway and feature
S II	AT <sub>1</sub> R (angiotensin II type 1 receptor)	$\beta$ -Arrestin; improves myocardial function and protects myocardium <sup>[50]</sup>
TRV120023	AT <sub>1</sub> R	$\beta$ -Arrestin; inhibits myocardial hypertrophy while maintaining myofilament activity to enhance cardiac contractility <sup>[51]</sup>
TRV120026	AT <sub>1</sub> R	$\beta$ -Arrestin; lowers blood pressure and increases cardiac contractility <sup>[39]</sup>
TRV120027	AT <sub>1</sub> R	$\beta$ -Arrestin; promotes myocardial contraction and improves cardiovascular blood pump <sup>[52]</sup>
Ang-(1-7)	AT <sub>1</sub> R	$\beta$ -Arrestin; reduces cardiac weight, ventricular wall thickness, diastolic pressure and relieves cardiac hypertrophy <sup>[53]</sup>
Aripiprazole	D <sub>2</sub> R (dopamine D2 receptor)	$\beta$ -Arrestin; inhibits elevation of pituitary prolactin induced by dopamine agonists and stabilizes dopamine system <sup>[54]</sup>
UNC9994A (94A)	D <sub>2</sub> R	$\beta$ -Arrestin; simultaneous targets excessive striatum and absent cortical dopamine conduction pathway <sup>[55]</sup>
UNC9975A (75A)	D <sub>2</sub> R	$\beta$ -Arrestin; reduces excessive activity, improves recognition and memory of new things, reduces conditioned avoidance response <sup>[56]</sup>
Carvedilol	$\beta$ AR ( $\beta$ adrenergic receptor)	$\beta$ -Arrestin; completely blocks heart lesion caused by G protein signal <sup>[57]</sup> , protects myocardium <sup>[58]</sup>
Alprenolol	$\beta$ AR	$\beta$ -Arrestin; protects heart (against catecholamine) and increases cardiac contractility <sup>[59]</sup>
ICL1-9	$\beta_2$ -AR	$\beta$ -Arrestin; stimulates cardiac protective signals and myotropic effects <sup>[60]</sup>
JNJ7777120	Histamine H4 receptor	$\beta$ -Arrestin; lessens inflammatory reaction and relieves cough <sup>[61]</sup>
Anticoagulant protease-activated protein C (APC)	PAR1 (protease activated receptor 1)	$\beta$ -Arrestin; induces endothelial barrier protection and prevents permeability and vascular leakage <sup>[62]</sup>
Platelet activating factor	PAFR (platelet activating factor receptor)	$\beta$ -Arrestin; enhances the activity of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) <sup>[63]</sup>
SR121463	V2 arginine-vasopressin (AVP)-receptor	$\beta$ -Arrestin; inhibits the TM6 molecular switch and activates the TM7 H8 domain <sup>[64]</sup>
ApoM <sup>+</sup> HDL-S1P	S1PR <sub>1</sub> (Sphingosine 1-phosphate receptor-1)	$\beta$ -Arrestin; reduces vascular inflammation <sup>[65]</sup>
(D-Trp12,Tyr34)-PTH	PTHr (parathyroid hormone receptor)	$\beta$ -Arrestin; leads to the formation of bone without inducing hypercalcemia <sup>[66]</sup>

然而,基于偏向性理论开发药物面临着若干的挑战,主要表现在体外偏向转化为体内偏向之间的“翻译缺口”,即信号的偏向可以很容易地在不同信号通路分离的实验系统中被观察和量化,而体外鉴定存在偏向性的配体在体内可能不会自动产生期望的、有针对性的偏向性信号<sup>[67]</sup>。此外,偏向性定量分析技术和合适筛选方法的开发等技术性难题也是制约偏向性配体应用于实际药理学研究的重要因素。

## 6 小结与展望

现已明确, $\beta$ -抑制蛋白是细胞内复杂信号网络的一大重要的交叉点,而基于GPCR的G蛋白信号或 $\beta$ -抑制蛋白信号的选择性激活使得有益的生物学效应与无关的毒副作用的分离成为可能。值得注意的是,独特的受体活性状态可以与不同的细胞背景相互作用,继而产生(与体外预测的)完全不同的整体信号,因此迫切需要更为科学和准确的研究方法应用于将体外显示有偏向的信号转换到体内系统的“翻译”计算中,从而利用配体的偏向性“扬长避短”,激动可产生或提高疗效的信号,抑制产生不良反应的信号,以期开发出高疗效、低毒性的新型靶向GPCR药物,相信通过对偏向性配体类药物设计与研究的逐渐深入,会造就一个全

新的靶向GPCR新药研发时代。

## References

- [1] West C, Hanyaloglu AC. Minireview: spatial programming of G protein-coupled receptor activity: decoding signaling in health and disease [J]. *Mol Endocrinol*, 2015, 29: 1095-1106.
- [2] Hauser AS, Attwood MM, Rask-Andersen M, et al. Trends in GPCR drug discovery: new agents, targets and indications [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2017, 16: 829-842.
- [3] Gurwitz D, Haring R, Heldman E, et al. Discrete activation of transduction pathways associated with acetylcholine m1 receptor by several muscarinic ligands [J]. *Eur J Pharmacol*, 1994, 267: 21-31.
- [4] Jarpe MB, Knall C, Mitchell FM, et al. [*D*-Arg<sup>1</sup>, *D*-Phe<sup>5</sup>, *D*-Trp<sup>7,9</sup>, Leu<sup>11</sup>] Substance P acts as a biased agonist toward neuropeptide and chemokine receptors [J]. *J Biol Chem*, 1998, 273: 3097-3104.
- [5] Miller JH, Aagaard PJ, Gibson VA, et al. Binding and functional selectivity of himbacine for cloned and neuronal muscarinic receptors [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1992, 263: 663-667.
- [6] Delgado-Peraza F, Ahn KH, Nogueras-Ortiz C, et al. Mechanisms of biased  $\beta$ -arrestin-mediated signaling downstream from the cannabinoid 1 receptor [J]. *Mol Pharmacol*, 2016, 89:

- 618-629.
- [7] Smith JS, Rajagopal S. The  $\beta$ -arrestins: multifunctional regulators of G protein-coupled receptors [J]. *J Biol Chem*, 2016, 291: 8969-8977.
- [8] Peterson YK, Luttrell LM. The diverse roles of arrestin scaffolds in G protein-coupled receptor signaling [J]. *Pharmacol Rev*, 2017, 69: 256-297.
- [9] Kang DS, Tian X, Benovic JL.  $\beta$ -Arrestins and G protein-coupled receptor trafficking [J]. *Methods Enzymol*, 2013, 521: 91-108.
- [10] Lohse MJ, Hoffmann C. Arrestin interactions with G protein-coupled receptors [J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2014, 219: 15-56.
- [11] Chen Q, Iverson TM, Gurevich VV. Structural basis of arrestin-dependent signal transduction [J]. *Trends Biochem Sci*, 2018, 43: 412-423.
- [12] Lohse MJ, Benovic JL, Codina J, et al.  $\beta$ -Arrestin: a protein that regulates beta-adrenergic receptor function [J]. *Science*, 1990, 248: 1547-1550.
- [13] Liu CH, Gong Z, Liang ZL, et al. Arrestin-biased AT1R agonism induces acute catecholamine secretion through TRPC3 coupling [J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 14335.
- [14] Urs NM, Bido S, Peterson SM, et al. Targeting  $\beta$ -arrestin2 in the treatment of L-DOPA-induced dyskinesia in Parkinson's disease [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112: E2517-E2526.
- [15] Pearce A, Sanders L, Brighton PJ, et al. Reciprocal regulation of  $\beta_2$ -adrenoceptor-activated cAMP response-element binding protein signalling by arrestin2 and arrestin3 [J]. *Cell Signal*, 2017, 38: 182-191.
- [16] Ortiz ZNV, Lenselink EB, IJzerman AP, et al. Intracellular receptor modulation: novel approach to target GPCRs [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2018, 39: 547-559.
- [17] Thomsen ARB, Plouffe B, Cahill TJ, et al. GPCR-G protein- $\beta$ -arrestin super-complex mediates sustained G protein signaling [J]. *Cell*, 2016, 166: 907-919.
- [18] Lee MH, Appleton KM, Strungs EG, et al. The conformational signature of  $\beta$ -arrestin2 predicts its trafficking and signalling functions [J]. *Nature*, 2016, 531: 665-668.
- [19] Rajagopal S, Rajagopal K, Lefkowitz RJ. Teaching old receptors new tricks: biasing seven-transmembrane receptors [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2010, 9: 373-386.
- [20] Luttrell LM, Ferguson SS, Daaka Y, et al.  $\beta$ -Arrestin-dependent formation of  $\beta_2$  adrenergic receptor-*Src* protein kinase complexes [J]. *Science*, 1999, 283: 655-661.
- [21] Luttrell LM, Roudabush FL, Choy EW, et al. Activation and targeting of extracellular signal-regulated kinases by  $\beta$ -arrestin scaffolds [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, 98: 2449-2454.
- [22] Bryja V, Gradl D, Schambony A, et al.  $\beta$ -Arrestin is a necessary component of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling *in vitro* and *in vivo* [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104: 6690-6695.
- [23] Ge L, Ly Y, Hollenberg M, et al. A  $\beta$ -arrestin-dependent scaffold is associated with prolonged MAPK activation in pseudopodia during protease-activated receptor-2-induced chemotaxis [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278: 34418-34426.
- [24] DeFea KA, Vaughn ZD, O'Bryan EM, et al. The proliferative and antiapoptotic effects of substance P are facilitated by formation of a  $\beta$ -arrestin-dependent scaffolding complex [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000, 97: 11086-11091.
- [25] Smith JS, Rajagopal S. The  $\beta$ -arrestins: multifunctional regulators of G protein-coupled receptors [J]. *Biol Chem*, 2016, 291: 8969-8977.
- [26] Ahn S, Wei H, Garrison TR, et al. Reciprocal regulation of angiotensin receptor-activated extracellular signal-regulated kinases by  $\beta$ -arrestins 1 and 2 [J]. *Biol Chem*, 2004, 279: 7807-7811.
- [27] Huang B, Li YX, Cheng DQ, et al.  $\beta$ -Arrestin-biased  $\beta$ -adrenergic signaling promotes extinction learning of cocaine reward memory [J]. *Sci Signal*, 2018. DOI: 10.1126/scisignal.aam5402.
- [28] Luan B, Zhao J, Wu HY, et al. Deficiency of a  $\beta$ -arrestin-2 signal complex contributes to insulin resistance [J]. *Nature*, 2009, 457: 1146-1149.
- [29] Gong H, Zhang S, Ye RDQ. Operational models of allosteric modulation of G protein-coupled receptors [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2016, 51: 1829-1837.
- [30] Costa-Neto CM, Parreiras-E-Silva LT, Bouvier M. A pluridimensional view of biased agonism [J]. *Mol Pharmacol*, 2016, 90: 587-595.
- [31] Park JY, Lee SY, Kim HR, et al. Structural mechanism of GPCR-arrestin interaction: recent breakthroughs [J]. *Arch Pharm Res*, 2016, 39: 293-301.
- [32] Mary S, Fehrentz JA, Damian M, et al. How ligands and signalling proteins affect G-protein-coupled receptors' conformational landscape [J]. *Biochem Soc Trans*, 2013, 41: 144-147.
- [33] Liu JJ, Horst R, Katritch V, et al. Biased signaling pathways in  $\beta_2$ -adrenergic receptor characterized by  $^{19}\text{F}$ -NMR [J]. *Science*, 2012, 335: 1106-1110.
- [34] Cabana J, Holleran B, Leduc R, et al. Identification of distinct conformations of the angiotensin-II type 1 receptor associated with the Gq/11 protein pathway and the  $\beta$ -arrestin pathway using molecular dynamics simulations [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290: 15835-15854.
- [35] Kahsai AW, Rajagopal S, Sun J, et al. Monitoring protein conformational changes and dynamics using stable-isotope labeling and mass spectrometry [J]. *Nat Protoc*, 2014, 9: 1301-1319.
- [36] Gurevich VV, Gurevich EV. Molecular mechanisms of GPCR signaling: a structural perspective [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18: 2519.
- [37] Premont RT, Gainetdinov RR. Physiological roles of G protein-coupled receptor kinases and arrestins [J]. *Annu Rev Physiol*, 2007, 69: 511-534.
- [38] Gurevich EV, Tesmer JJ, Mushegian A, et al. G protein-coupled receptor kinases: more than just kinases and not only for GPCRs

- [J]. *Pharmacol Ther*, 2012, 133: 40-69.
- [39] Nobles KN, Xiao K, Ahn S, et al. Distinct phosphorylation sites on the  $\beta_2$ -adrenergic receptor establish a barcode that encodes differential functions of  $\beta$ -arrestin [J]. *Sci Signal*, 2011, 4: ra51.
- [40] Toth AD, Turu G, Hunyady L, et al. Novel mechanisms of G-protein-coupled receptors functions: AT1 angiotensin receptor acts as a signaling hub and focal point of receptor cross-talk [J]. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2018, 32: 69-82.
- [41] Zimmerman B, Beautrait A, Aguila B, et al. Differential  $\beta$ -arrestin-dependent conformational signaling and cellular responses revealed by angiotensin analogs [J]. *Sci Signal*, 2012, 5: ra33.
- [42] Yang F, Yu X, Liu C, et al. Phospho-selective mechanisms of arrestin conformations and functions revealed by unnatural amino acid incorporation and  $^{19}\text{F}$ -NMR [J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 8202.
- [43] Xiao K, Sun J. Elucidating structural and molecular mechanisms of  $\beta$ -arrestin-biased agonism at GPCRs via MS-based proteomics [J]. *Cell Signal*, 2018, 41: 56-64.
- [44] Shukla AK, Westfield GH, Xiao K, et al. Visualization of arrestin recruitment by a G-protein-coupled receptor [J]. *Nature*, 2014, 512: 218-222.
- [45] Sensoy O, Moreira IS, Morra G. Understanding the differential selectivity of arrestins toward the phosphorylation state of the receptor [J]. *ACS Chem Neurosci*, 2016, 7: 1212-1224.
- [46] Black JW, Leff P. Operational models of pharmacological agonism [J]. *Proc R Soc Lond B Biol Sci*, 1983, 220: 141-162.
- [47] Kenakin T. Measurement of receptor signaling bias [J]. *Curr Protoc Pharmacol*, 2016, 74: 2.15.1-2.15.15.
- [48] Nivedha AK, Tautermann CS, Bhattacharya S, et al. Identifying functional hotspot residues for biased ligand design in G-protein-coupled receptors [J]. *Mol Pharmacol*, 2018, 93: 288-296.
- [49] Whalen EJ, Rajagopal S, Lefkowitz RJ. Therapeutic potential of  $\beta$ -arrestin- and G protein-biased agonists [J]. *Trends Mol Med*, 2011, 17: 126-139.
- [50] Liu Y, Yang Y, Ward R, et al. Biased signalling: the instinctive skill of the cell in the selection of appropriate signalling pathways [J]. *Biochem J*, 2015, 470: 155-167.
- [51] Monasky MM, Taglieri DM, Henze M, et al. The  $\beta$ -arrestin-biased ligand TRV120023 inhibits angiotensin II-induced cardiac hypertrophy while preserving enhanced myofilament response to calcium [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2013, 305: H856-H866.
- [52] Boerrigter G, Soergel DG, Violin JD, et al. TRV120027, a novel  $\beta$ -arrestin biased ligand at the angiotensin II type I receptor, unloads the heart and maintains renal function when added to furosemide in experimental heart failure [J]. *Circ Heart Fail*, 2012, 5: 627-634.
- [53] Teixeira LB, Parreiras-E-Silva LT, Bruder-Nascimento T, et al. Ang-(1-7) is an endogenous  $\beta$ -arrestin-biased agonist of the AT1 receptor with protective action in cardiac hypertrophy [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 11903.
- [54] Chen X, Sassano MF, Zheng L, et al. Structure-functional selectivity relationship studies of  $\beta$ -arrestin-biased dopamine  $\text{D}_2$  receptor agonists [J]. *J Med Chem*, 2012, 55: 7141-7153.
- [55] Urs NM, Gee SM, Pack TF, et al. Distinct cortical and striatal actions of a  $\beta$ -arrestin-biased dopamine  $\text{D}_2$  receptor ligand reveal unique antipsychotic-like properties [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113: E8178-E8186.
- [56] Park SM, Chen M, Schmerberg CM, et al. Effects of  $\beta$ -arrestin-biased dopamine  $\text{D}_2$  receptor ligands on schizophrenia-like behavior in hypoglutamatergic mice [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2016, 41: 704-715.
- [57] Wang J, Hanada K, Staus DP, et al. *Gzi* is required for carvedilol-induced  $\beta_1$  adrenergic receptor  $\beta$ -arrestin biased signaling [J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 1706.
- [58] Teoh JP, Bayoumi AS, Aonuma T, et al.  $\beta$ -Arrestin-biased agonism of  $\beta$ -adrenergic receptor regulates Dicer-mediated microRNA maturation to promote cardioprotective signaling [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2018, 118: 225-236.
- [59] Kim IM, Tilley DG, Chen J, et al.  $\beta$ -Blockers alprenolol and carvedilol stimulate  $\beta$ -arrestin-mediated EGFR transactivation [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105: 14555-14560.
- [60] Carr R, Schilling J, Song J, et al.  $\beta$ -Arrestin-biased signaling through the  $\beta_2$ -adrenergic receptor promotes cardiomyocyte contraction [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113: E4107-E4116.
- [61] Rosethorne EM, Charlton SJ. Agonist-biased signaling at the histamine H4 receptor: JNJ7777120 recruits  $\beta$ -arrestin without activating G proteins [J]. *Mol Pharmacol*, 2011, 79: 749-757.
- [62] Kiseleva EV, Sidorova MV, Gorbacheva LR, et al. Peptide-agonist of protease-activated receptor (PAR 1), similar to activated protein C, promotes proliferation in keratinocytes and wound healing of epithelial layer [J]. *Biomed Khim*, 2014, 60: 702-706.
- [63] Kim YH, Lee SJ, Seo KW, et al. PAF enhances MMP-2 production in rat aortic VSMCs via a  $\beta$ -arrestin2-dependent ERK signaling pathway [J]. *J Lipid Res*, 2013, 54: 2678-2686.
- [64] Izumi Y, Miura K, Iwao H. Therapeutic potential of vasopressin-receptor antagonists in heart failure [J]. *J Pharmacol Sci*, 2014, 124: 1-6.
- [65] Galvani S, Sanson M, Blaho VA, et al. HDL-bound sphingosine 1-phosphate acts as a biased agonist for the endothelial cell receptor S1P1 to limit vascular inflammation [J]. *Sci Signal*, 2015, 8: ra79.
- [66] Bohinc BN, Gesty-Palmer D. Biased agonism at the parathyroid hormone receptor: a demonstration of functional selectivity in bone metabolism [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2012, 12: 856-865.
- [67] Kenakin T. Signaling bias in drug discovery [J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2017, 12: 321-333.