



GPCR 二聚体结构及功能*

李传宝^{1,3)} 黎晨卉²⁾ 薛礼^{1)**}⁽¹⁾ 上海交通大学医学院附属瑞金医院神经外科, 泌乳素诊治中心, 上海 200025;²⁾ 华东理工大学生物工程学院, 上海 200237; ³⁾ 昆明理工大学医学院, 昆明 650500)

摘要 G蛋白偶联受体(G-protein coupled receptor, GPCR)是最广泛表达的膜蛋白家族之一,其可接收胞外信号刺激,通过自身构象变化激活胞内G蛋白等一系列信号通路,参与众多生理调节过程,具有重要的功能,因此其也是重要的药物靶点。GPCR二聚化是调控其功能的重要形式之一,靶向GPCR二聚体开发药物是药物研发的一个新方向。越来越多的研究报道了GPCR二聚化及其结构与功能调控的机制,本文综述了GPCR二聚体结构及功能的研究进展,为了解GPCR二聚体的发现、二聚化方式、功能调控机制,及进一步靶向GPCR二聚体药物开发提供了研究基础。

关键词 G蛋白偶联受体, 二聚体, GPCR二聚体结构, GPCR二聚体功能

中图分类号 Q2, Q6

DOI: 10.16476/j.pibb.2024.0039

G蛋白偶联受体(G-protein coupled receptor, GPCR)是细胞膜上最大的受体超家族,在人类基因组中成员有800多个,与异三聚体G蛋白偶联并介导多种下游信号通路。根据序列同源性及结构特征,GPCR主要可分为5个家族:视紫红质样受体(A族)、分泌素受体(B族)、代谢型谷氨酸样受体(C族)、真菌信息素受体(D族)、卷曲蛋白样受体(F族)。典型的GPCR由特征性的7次跨膜 α 螺旋结构域(7 transmembrane domain, 7TMD)、胞外结构域(exocellular domain, ECD)和胞内结构域(intracellular domain, ICD)组成^[1]。通常ECD结合配体,跨膜结构域通过构象变化将胞外激活信号转导到胞内,ICD通过结合G蛋白等信号分子激活下游信号通路。

GPCR下游主要激活G蛋白信号通路及 β -arrestin信号通路。G蛋白信号通路根据 $G\alpha$ 亚基不同主要分为4类:a. $G_{i/o}$ 通过抑制腺苷酸环化酶(adenylyl cyclase, AC)抑制胞内cAMP的积累,抑制蛋白激酶A(protein kinases A, PKA)活性;b. G_s 通过激活AC促进胞内cAMP积累,激活

PKA;c. $G_{q/11}$ 激活磷脂酶C(phospholipase C, PLC)-钙离子信号通路;d. $G_{12/13}$ 激活Rho-JNK(c-Jun氨基端激酶)信号通路。 β -arrestin主要介导细胞外调节蛋白激酶(extracellular-regulated kinase, ERK)信号的持续激活。

激活GPCR可启动不同的信号通路参与众多生理功能,因此GPCR也是许多重大疾病如癌症、心脏病、哮喘、高血压、偏头痛、炎症反应和多种心理疾病的重要靶点,目前市面上约30%的药物是靶向GPCR的,因此GPCR在新药开发领域具有重要的价值^[2]。

通常GPCR单体即可接受刺激信号激活下游信号。然而,随着研究的深入,研究人员发现,GPCR可以通过与另一个相同的(同源)或不同的(异源)受体蛋白相互作用,形成同源或异源二聚体^[3]。进一步功能研究发现,GPCR二聚化可调控

* 国家自然科学基金(82172605)资助项目。

** 通讯联系人。

Tel: 15317924878, E-mail: royxueli@126.com

收稿日期: 2024-01-29, 接受日期: 2024-05-27

配体的结合、下游信号转导偏向及受体的胞内运输,具有重要的功能。本文将从GPCR二聚体的发现、结构、功能调控和病理生理功能等方面综述研究进展。

1 GPCR二聚体的发现

早期主要是在过表达体系中通过免疫共沉淀(co-immunoprecipitation, Co-IP)、免疫荧光及放射性配体结合实验等方法来研究GPCR二聚化的形成及对受体功能的影响。受限于研究方法的精度缺陷和局限性, GPCR二聚体的研究发展相对缓慢, A族GPCR二聚体是否存在并具有生理功能在学术界一直没有定论。如今随着生物化学及生物物理学方法的不断发展,越来越多的GPCR二聚体被鉴定发现。

1.1 GPCR同源二聚体

GPCR同源二聚体是相同的两个GPCR通过直接相互作用形成的受体复合物,直接相互作用可以是分子间相互作用力或二硫键等共价键。20世纪末, Hebert等^[4]观察到 β_2 肾上腺素受体(β_2 adrenergic receptor, β_2 -AR)跨膜螺旋6(transmembrane helices 6, TM6)来源的多肽能够干扰受体二聚化的形成,进而影响激动剂诱导的AC激活,这提示GPCR二聚体可能具有特定的功能。

1.1.1 C族GPCR同源二聚体

C族GPCR是经典的二聚化受体家族,相比A族GPCR,其单体结构较为复杂,主要体现在其胞外区均有一个结合内源配体的类似“捕虫夹”的结构,称为Venus Flytrap (VFT)结构域。C族GPCR是公认的通过二聚体才能行使正常功能的受体家族,其中代谢型谷氨酸受体(metabotropic glutamate receptor, mGluR)通过VFT之间稳定的二硫键连接形成同源二聚体。

mGluRs是人体内最重要的神经递质受体之一,目前共发现了8种代谢型谷氨酸受体(mGluR1~8),无一例外,这些mGluRs均以同源二聚体的形式行使生理功能^[5]。在过表达细胞体系中,研究人员利用Co-IP、生物发光共振能量转移(bioluminescence resonance energy transfer, BRET)、荧光共振能量转移(fluorescence

resonance energy transfer, FRET)、半胱氨酸交联(Crosslink)等技术发现, mGluR家族中8个成员和钙敏感受体(calcium-sensing receptor, CasR)均可以形成稳定的同源二聚体。而进一步使用X射线晶体学、冷冻电镜等手段验证了mGluRs同源二聚体可以通过胞外VFT的二硫键形成稳定的二聚体^[6-8]。C族GPCR同源二聚体发现得较早,但是随着新手段的运用,受体二聚体之间的相互作用细节越来越清晰,这也进一步加深了对这些受体复合物的理解。

1.1.2 其他家族GPCR同源二聚体

除了组成型二聚化的C族GPCR之外,其他家族GPCR也被不断发现可形成同源二聚体。在过表达细胞系中传统的生物化学和生物物理学方法,如BRET、FRET、Co-IP和Crosslink等技术,仍然是发现GPCR同源二聚体的主要研究方式。

Jastrzebska等^[9]使用Crosslink等方法验证了视紫红质受体(rhodopsin, RHO)的同源二聚化,并尝试用多肽去特异性干预其二聚化水平;Young等^[10]通过BRET检测血管紧张素II 1型受体(angiotensin II type 1 receptor, AT1R)同源二聚体,并进一步确认了其相互作用界面;Parmar等^[11]利用FRET技术验证了 β_2 肾上腺素受体的二聚体;Meral等^[12]也使用FRET等方法,发现 μ 阿片受体(MOR)可以形成同源二聚体。Liu等^[13]利用单分子成像和BRET等手段发现血小板活化因子受体(platelet-activating factor receptor, PAFR)的同源二聚化。

B族GPCR同样可以形成同源二聚体。Harikumar等^[14-15]利用BRET和FRET发现,胰高血糖素样肽1受体(glucagon-like peptide 1 receptor, GLP-1R)可形成同源二聚体。Harikumar等^[16]使用FRET技术发现了促胰液素受体(complexes of secretin, SecR)同源二聚体,且将该二聚体与血管紧张素受体联系起来。Pioszak等^[17]通过BRET等技术发现甲状旁腺激素受体(parathyroid hormone receptor, PTH1R)的同源二聚体。Kraetke等^[18]用FRET发现促肾上腺皮质激素释放因子受体1型(corticotropin-releasing factor receptor type 1, CRF1R)的二聚化。Yu等^[19]使用FRET等技术发现垂体腺苷酸环化酶激活多肽偏好

受体 (pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide preferring receptor, PAC1) 同源二聚体。

除了传统的方法, 一些新方法的运用加快了GPCR二聚体的发现。Liste等^[20]利用时间分辨的FRET (tr-FRET) 发现, 毒蕈碱乙酰胆碱M3受体(M3R)可形成同源二聚体; Marsango等^[21]使用荧光发光光谱 (fluorescence correlation spectroscopy, FCS) 技术, 发现了多巴胺3型受体 (dopamine receptor 3, D3R) 及锥形视蛋白受体 (cone opsins)^[22-23]的同源二聚化。Jin等^[24]使用荧光互相关光谱学技术 (fluorescence cross-correlation spectroscopy, FCCS) 发现趋化因子5型受体 (CC chemokine receptor type 5, CCR5) 可以形成同源二聚体。另外, 结构生物学的发展也逐步揭示了一些GPCR同源二聚体的聚合细节。例如, Yue等^[25]使用结构生物学方法首次展示了apelin受体 (APJ) 二聚体与G蛋白偶联的高分辨率结构。2022年Mezei等^[26]使用分子动力学模拟 (molecular dynamics simulation) 方法验证了促甲

状腺受体 (thyrotropin (TSH) receptor) TSHR可形成同源二聚体。而最近Velazhahan等^[27-28]通过结构解析发现酿酒酵母信息素受体 (*Saccharomyces cerevisiae* pheromone receptor, Ste2) 可以形成同源二聚体, 这也是首次发现D族GPCR可以形成同源二聚体。

BRET、FRET和CrossLink等传统生化及生物物理学方法是探索GPCR二聚体的主要研究方式, 而越来越多的例如FCS、FCCS、分子动力学模拟等新方法在GPCR二聚体领域展现了巨大的潜力 (表1)。

同源二聚体的发现对于全面认识GPCR的信号转导机制具有重大意义, 挑战了传统的GPCR激活模式, 即一个GPCR结合一个配体, 激活一个G蛋白。同时也提出了一系列的问题, 例如, 一个GPCR同源二聚体激活需要结合几个配体? 胞内结构域结合几个G蛋白? 激活下游信号需要两个单体同时处于激活态吗? 下游信号是会增强还是减弱? 为了回答这些问题, 需要进一步研究GPCR同源二聚体的结构功能。

Table 1 GPCR homodimer
表1 GPCR同源二聚体

受体	方法	检测体系	家族	文献
A1R	X-ray晶体学	重组蛋白	A	[29]
CCR5	FCCS	HEK293	A	[24]
RHO	Crosslink	MTT、HEK293	A	[9, 30]
AT1R	BRET	HEK293	A	[10]
β2-AR	FRET、双分子荧光互补	HEK293	A	[11, 31]
D3R	FCS	HEK293	A	[21, 32]
M3R	Crosslink、tr-FRET	COS-7、HEK293	A	[20, 33]
MOR	FRET、分子动力学模拟	HEK293	A	[12]
DOR	Crosslink	CHO	A	[34]
D2R	光亲和标记实验	Sf9	A	[35]
PAFR	Crosslink、FRET	HEK293	A	[13]
APJ	BERT	HEK293	A	[25, 36]
GPR156	BRET	HEK293	A	[37]
CasR	NanoBiT	HEK293	A	[5, 38]
SSTR2	免疫荧光、原位连接	GH3、A7、M2	A	[39]
SSTR5	免疫荧光、原位连接	GH3、A7、M2	A	[39]
TSHR	MD	计算机模拟	A	[26]
GLP-1	等离子体共振测量技术	CHO	B	[14-15]

续表1

受体	方法	检测体系	家族	文献
SecR	BRET	HEK293	B	[16]
PTH1R	BRET	HEK293	B	[17]
CRF1R	FRET	HEK293	B	[18]
PAC1	BRET	HEK293、CHO	B	[19]
mGluR7	FRET、BRET、Crosslink	HEK293	C	[6, 40]
mGluR2	FRET、BRET、Crosslink	HEK293	C	[6]
mGluR3	BRET	HEK293	C	[7]
mGluR4	NanoBiT、Co-IP	HEK293	C	[6]
mGluR5	X-ray	重组蛋白	C	[8]
Ste2	荧光检测色谱分析	酵母	D	[27-28]

1.2 GPCR异源二聚体

相同的GPCR亚基形成同源二聚体，不同的GPCR亚基也可以通过直接相互作用形成二聚体，称为异源二聚体，目前已发现多种GPCR异源二聚体^[41]。

1.2.1 C族GPCR异源二聚体

代谢型γ-氨基丁酸受体（gamma-aminobutyric acid B receptor, GABA_BR），是首个被证实的GPCR异源二聚体，同时也是GPCR异源二聚体的典型代表^[42-43]。GABA_BR作为经典的GPCR，结合内源配体GABA之后激活下游偶联的G蛋白，将突触神经递质信号转化为细胞内信号。GABA_BR异源二聚体由GABA_BR1（GB1）和GABA_BR2（GB2）两个亚基组成，两个亚基具有明确的功能分工，其激动剂结合位点位于GB1亚基，而GB2亚基偶联G蛋白^[44-45]。味觉受体第一家族（taste receptor family 1 member, T1Rs）也属于C族GPCR，其包括T1R1、T1R2和T1R3三个成员。T1R2-T1R3异源二聚体是甜味受体，T1R1-T1R3异源二聚体识别鲜味氨基酸。与GABA_BR类似，味觉受体第一家族的两个异源二聚体也具有配体结合及G蛋白偶联亚基选择性^[46-47]。这些发现为理解C类GPCR激活提供了重要参考，也提出了两个不同GPCR亚基通过直接相互作用协同激活下游信号的模式。

特别值得一提的是，经典的同源二聚体mGluR家族成员之间也可以形成异源二聚体，例如mGluR2-mGluR4和mGluR2-mGluR7异源二聚体^[6, 25, 48]。近期，Meng等^[49]通过纳米抗体标记技术，在脑组织中发现了mGluR2-mGluR4异源二

聚体的内源表达（表2）。这些发现提示，对于特定的GPCR，其可以通过同源二聚体或异源二聚体以两种不同的方式调控受体的组合形式，最终调控信号转导。

1.2.2 其他家族GPCR异源二聚体

5-羟色胺（5-hydroxytryptamine, 5-HT）最早是从血清中发现的一种重要的神经递质，5-HT受体家族包括7个亚科（1~7）至少14种亚型，除了5-羟色胺3型受体（5-HT3R）是配体门控离子通道之外，其余的成员均为A族GPCR^[46]。2008年，González-Maeso等^[50-52]通过FRET、BRET、Co-IP等技术发现5-羟色胺2A受体（5-HT2AR）可与mGluR2形成二聚体。Misganaw等^[53-54]用类似的方法证明5-HT2AR与多巴胺2型受体（dopamine receptor 2, D2R）能够形成异二聚体。Viñals等^[55-56]利用邻位连接技术（proximity ligation assay, PLA）发现，5-HT2AR可与大麻素CB1受体可形成异二聚体。CB1也能与同家族CB2形成异源二聚体^[57]。Song等^[58]发现，β2肾上腺素受体可与五羟色胺2B受体（5-HT2BR）形成异源二聚体，激活β2-AR介导的Gi-Akt信号通路，发挥心脏保护作用。这些发现说明5-HT受体家族可通过异聚化调控谷氨酸、多巴胺、大麻素、肾上腺素等神经递质的信号转导。

其他神经递质受体例如多巴胺受体、阿片受体等也可以形成异源二聚体。Hillion等^[59]在纹状体神经元和HEK293细胞体系中均发现腺苷2a受体（adenosine A2a receptor, A2AR）和D2受体存在共定位且能形成异源二聚体；Rocheville等^[60]在大鼠模型中利用Co-IP等技术发现生长抑素受体5

(somatostatin receptor 5, SSTR5) 与多巴胺 2 型受体结合形成异源二聚体; Harmeier 等^[61] 利用 Co-IP 等技术发现 D2R 能与痕量胺相关受体 (trace amine-associated receptor, TAAR) 形成异源二聚体。阿片受体家族中 MOR、 δ 阿片受体 (DOR) 也能形成异二聚体^[62-63]。Jordan 等^[64] 利用 Co-IP 等技术发现 β 2 肾上腺素受体能分别与 κ 阿片受体 (κ -opioid, KOR) 或 DOR 结合形成异二聚体。而 Sun 等^[65] 在大鼠模型中验证了 MOR-AT1R 异聚体的存在。利用 BRET、FRET 等技术, 食欲素 1 型受体 (orexin receptor 1, OX1R) 被发现可与 KOR^[66], 5-羟色胺 1A 受体 (5-hydroxytryptamine 1A receptor, 5-HT1AR)^[67] 形成异源二聚体。众多的其他 GPCR 例如 APJ、趋化因子受体 (CXCR) 家族, 乃至一些孤儿受体也被报道能形成异源二聚体。Bai 等^[68] 在 HEK293 细胞中发现了神经降压素受体 (neurotensin receptor 1, APJ-NTR1) 异二聚体, 并且证明该二聚体的形成促进细胞的增殖。APJ 还能够和缓激肽受体 1,2 (bradykinin receptor1/2, B1R/B2R) 形成二聚体^[69-70]。Li 等^[71] 通过 FRET、BRET 技术发现了 APJ-KOR 异聚化。Chun 等^[72] 利用 Co-IP、FRET 等技术发现 APJ 能与血管紧张素受体 1 结合形成二聚体。Isik 等^[73] 使用 FRET 技术展示了趋化因子受体家族 CXC 趋化因子 4 型受体 (C-X-C chemokine receptor type 4, CXCR4) 和

CCR5 的异二聚体; Sebastianutto 等^[74] 使用 BRET 和双分子荧光互补 (BiFC) 技术在 HEK293 细胞、原代海马神经元以及小鼠和大鼠模型上发现了 D1-mGluR5 异二聚体。2023 年, Nguyen 等^[75] 使用 Co-IP、NanoBiT 等技术发现了神经激肽受体 (neurokinin receptors, NKs) NK1R 与 NK2R 的异聚体。利用 Co-IP 技术发现孤儿受体 GPR17 能分别与 CXCR2、CXCR4 结合形成异二聚体^[76]。在 FRET 技术的加持下发现 GPR143 能分别与 D2R、D3R 形成异二聚体^[77]。Matsubara 等^[78] 使用 FRET 等技术发现 B 族中前列腺素 E2 受体 (prostaglandin E2 receptor 2, EP2) 和降钙素受体 (calcitonin receptor, CTR) 的异二聚化。Harikumar 等^[79] 使用 BRET 技术验证了 SecR 和 GLP-1R 异二聚体的存在。A 族和 B 族 GPCR 也能形成二聚体, Fillion 等^[80] 使用 BRET 技术发现 AT1R 与前列腺素 F2 α 受体 (prostaglandin F2 α receptor, FR) 可形成异源二聚体。

与同源二聚体的发现类似, 传统生物化学及生物物理学技术依然是 GPCR 异源二聚体发现的重要研究手段, 但是例如 NanoBit、BiFC 和纳米抗体标记技术等新技术也得到了广泛运用。异源二聚体的发现几乎遍布了 GPCR 的大家族, 预示着受体异聚化是细胞整合胞外信号的一种普遍方式 (表 2)。

Table 2 Heterodimers of GPCR
表2 GPCR异源二聚体

受体1	受体2	方法	体系	家族	文献
TAAR1	D2R	Co-IP	HEK293	A	[61]
AT1R	CB1	Co-IP、FRET	HEK293	A	[81]
SSTR2	SSTR5	免疫荧光、原位连接	GH3、A7、M2	A	[39]
CB1	CB2	PLA、BRET	HEK293	A	[57]
5-HT2AR	D2R	FRET、BRET、Co-IP	HEK293	A	[53, 82-83]
D1R	D2R	FRET	HEK293T	A	[84]
NTR1	D2R	BRET	HEK293T、HT22	A	[83]
β 2-AR	5-HT2BR	FRET、Co-IP	小鼠模型	A	[58]
5-HT2AR	CB1	PLA	小鼠模型	A	[56, 85]
CXCR4	CCR5	FRET	HEK293T	A	[73]
SSTR5	D2R	Co-IP	大鼠模型	A	[60, 86]
β 2-AR	DOR	Co-IP	HEK293	A	[64]
β 2-AR	KOR	Co-IP	HEK293	A	[64]

续表2

受体1	受体2	方法	体系	家族	文献
AT1R	AT2R	BRET	HEK293	A	[87]
α 1AR	CXCR2	免疫荧光	HEK293	A	[88]
AT1R	β 2-AR	BRET	HEK 293T、COS-7	A	[89]
DOR	MOR	Co-IP	HEK293、Neuro2A、CHO	A	[62-63]
A2AR	D2R	免疫荧光	HEK293、纹状体细胞	A	[59]
GPR143	D2R	FRET	HEK293	A	[77]
GPR143	D3R	FRET	HEK293	A	[77]
KOR	DOR	Co-IP	CHO	A	[64]
NK1R	NK2R	Co-IP、NanoBiT	HEK293	A	[75]
GPR17	CXCR2	MD、Co-IP	HEK293	A	[76]
GPR17	CXCR4	MD、Co-IP	HEK293	A	[76]
APJ	NTR1	FRET、BRET、Co-IP	HEK293	A	[68]
APJ	B1R	BRET、FRET	HEK293	A	[69]
APJ	B2R	BRET、FRET、PLA、Co-IP	HEK293	A	[70]
APJ	KOR	FRET、BRET	HEK293	A	[71]
APJ	AT1R	Co-IP、FRET	HEK293	A	[72]
OX1R	KOR	BRET、FRET	HEK293	A	[66]
5-HT1AR	OX1R	BRET、FRET	HEK293	A	[67]
AT1R	FP	BRET	HEK293	A/B	[80]
CTR	EP2	FRET	HEK293	B	[78]
SecR	GLP-1R	BRET	CHO	B	[79]
GB1	GB2	BRET	重组蛋白	C	[90]
mGluR2	mGluR7	FRET、BRET、Crosslink	HEK293	C	[6]
mGluR1	mGluR5	FRET	HEK293	C	[48]
mGluR2	mGluR8	FRET	HEK293	C	[48]
mGluR2	mGluR4	FRET	HEK293	C	[48]
mGluR3	mGluR4	FRET	HEK293	C	[48]
mGluR7	mGluR8	FRET	HEK293	C	[48]
5-HT2AR	mGluR2	FRET、BRET、Co-IP	HEK293	A/C	[52, 91]
D1R	mGluR5	BRET、BiFC	HEK293	A/C	[74]

综上所述，包括组成型二聚化的C族GPCR在内，各GPCR家族中均发现了多个同源二聚体和异源二聚体，只有D族GPCR中仅Ste2可以形成同源二聚体，这说明GPCR二聚化是广泛存在的。现有研究发现，异源二聚化一般发生在同一家族内部，不同GPCR家族成员之间的异源二聚化仅有个别例子，包括D1R-mGluR5、5-HT2AR-mGluR2和

AT1R-FR异源二聚体等。这提示GPCR不同家族成员间也可能具有广泛的异源二聚化，但仍需深入研究。我们发现有些GPCR可以形成4种及以上的异源二聚体，例如D2R、KOR、AT1R、APJ和 β 2AR等。这可能是由于研究的偏向性所致，也可能暗示着细胞膜上存在“中枢受体”更容易与其他GPCR相互作用（图1）。

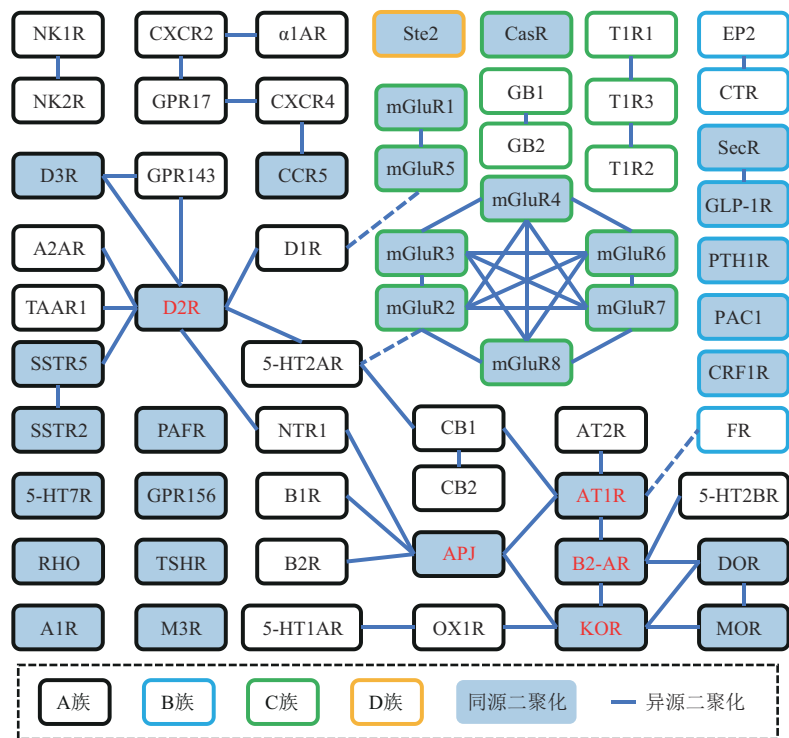


Fig. 1 GPCR dimer
图1 GPCR二聚体

GPCR二聚化存在于4个家族。黑色框线为A族GPCR。AT1R: 血管紧张素1型受体; AT2R: 血管紧张素2型受体; 5-HT2AR: 5-羟色胺2A受体; 5-HT2BR: 5-羟色胺2B受体; PAFR: 血小板活化因子受体; NTR1: 神经降压素受体; β 2-AR: β 2肾上腺素受体; CXCR2: CXC趋化因子2受体; CXCR4: CXC趋化因子4受体; SSTR5: 生长抑素受体5; SSTR2: 生长抑素受体2; CCR5: 趋化因子受体5; CB1: 大麻素CB1受体; CB2: 大麻素CB2受体; α 1AR: 去甲肾上腺素受体 α 1; A2AR: 腺苷2a受体; GPR143: 孤儿受体143; GPR17: 孤儿受体17; MOR: μ 阿片受体; DOR: δ 阿片受体; KOR: κ 阿片受体; NK1R: 神经激肽1受体; NK2R: 神经激肽2受体; APJ: apelin受体; D1R: 多巴胺1型受体; D2R: 多巴胺2型受体; D3R: 多巴胺3型受体; B1R: 缓激肽受体1; B2R: 缓激肽受体2; TAAR1: 痕量胺相关受体; A1R: 腺苷受体A1; M3R: 毒蕈碱乙酰胆碱M3受体; RHO: 视紫红质受体; TSHR: 促甲状腺激素受体; OX1R: 食欲素1型受体; 5-HT7: 5-羟色胺7受体。蓝色框线为B族GPCR。SecR: 促胰液素受体; GLP-1R: 胰高血糖素样肽1受体; EP2: 前列腺素E2受体; CTR: 降钙素受体; PAC1: 垂体腺苷酸环化酶激活多肽1型受体; CRF1R: 肾上腺皮质激素释放因子受体1型; PTH1R: 甲状旁腺激素受体; FR: 前列腺素F2 α 受体。绿色框线为C族GPCR。GB1: γ -氨基丁酸B型受体亚基1; GB2: γ -氨基丁酸B型受体亚基2; mGluR1~8: 代谢型谷氨酸受体1~8; T1R1: 甜味受体1; T1R2: 甜味受体2; T1R3: 甜味受体3。黄色框线为D族GPCR。Ste2: 酿酒酵母信息素受体。蓝色填充表示该GPCR可形成同源二聚体, 两个GPCR之间的连线表示异源二聚化。红色字体标识了异聚化网络的中枢受体(可与4种及以上GPCR异聚化), 虚线标识不同GPCR家族间的异二聚化。

2 GPCR二聚体结构的研究

20世纪90年代, 为了更好地研究GPCR 激活的分子机制, 人们开始探索GPCR 三维分子结构。1995年, Unger等^[92]率先通过低温电子显微镜观察到了牛视紫红质受体的7次跨膜螺旋结构。2000年, Palczewski等^[93]成功解析了牛视紫红质受体

的结构, 展示了解析精度为2.8Å的晶体结构, 从此拉开了GPCR结构解析的序幕。之前对GPCR二聚体的研究大多是利用BRET、FRET和Co-IP等生物化学及生物物理学方法开展的, 并没有明确的结果可以说明GPCR如何相互作用形成二聚体。解析GPCR二聚体的结构是解决这一问题的关键, 但由于GPCR二聚体的结构复杂, 难以获得稳定的样

品,传统结构生物学方法难以解析GPCR二聚体的结构。近年来随着冷冻电镜的深入运用,结构生物学家才开始系统揭示GPCR二聚化的结构基础。

2.1 基于三维结构解析的GPCR二聚体结构研究

C族GPCR中CasR和mGluRs是经典的同源二聚体受体家族。由于C族GPCR的复杂性,一开始无法解析受体全长的三维结构。Sullivan等^[94]发现,GB1和GB2的C端卷曲螺旋结构域相互作用,与GABA_BR异二聚化有关。通过对多个受体胞外结构域的晶体学研究,人们发现VFT区的二硫键是稳定了受体二聚化的关键之一,包括CasR、mGluR5及mGluR1^[95-97]。

最新的基于冷冻电镜的结构学研究不仅清晰地展示了mGluR2、mGluR5同源二聚体及GABA_BR异源二聚体完整的结构,还通过比较受体激活和静息状态下的结构,发现了这些受体跨膜结构域的TM6相互作用是二聚体激活的标志之一,也证明了受体二聚体跨膜结构域的重排是受体激活过程的关键步骤^[6-8, 40]。而对GABA_BR异源二聚体的结构解析发现,变构激活剂GS39783结合位点不是常规的跨膜结构域内部,而是位于两个亚基HD区的相互作用界面上^[98]。2021年Du等^[40]解析并比较了mGluR2同源二聚体、mGluR 7同源二聚体与mGluR2-mGluR7异二聚体的结构差异,这是首次为mGluR异源二聚体研究提供精细结构信息,为进一步了解mGluRs异源二聚化与功能的关系奠定了基础。

GPCR下游主要激活G蛋白和 β -arrestin介导的信号通路,诺奖得主Brian Kobilka率先解析了 β 2-AR与G蛋白及 β -arrestin结合的三维结构,首次直观展示了GPCR与下游信号分子的结合方式^[99]。Shen等^[90, 100]解析了异源二聚体GABA_BR与G蛋白复合物的高分辨率结构,首次展示了异源二聚体GPCR偶联G蛋白的构象。GPCR二聚体复合物的结构揭示了很多重要的信息,例如mGluR2、mGluR5等结构的解析说明了一个GPCR同源二聚体一次只能结合一个G蛋白的结构基础。而2023年Velazhahan等^[27-28]解析酿酒酵母Ste2同源二聚体结构时发现,一个二聚体可同时结合两个G蛋

白,颠覆了之前的广泛认知。GPCR二聚体三维结构的解析一方面为进一步研究二聚体聚合模式与功能的关系奠定了基础,另一方面也直观地展示了GPCR与下游G蛋白等信号分子的作用细节,从结构学角度揭示了GPCR二聚化对下游信号转导的调控机制。

2.2 GPCR二聚体结构动态变化的研究

结构生物学研究可以清晰直观地展示GPCR二聚体的相互作用界面及与G蛋白的结合位点。但是由于结构学研究需要大量稳定构象的蛋白质来获得足够的结构信息,在一定程度上只能静态展示GPCR的结构,GPCR的二聚化方式在激活过程中的动态变化还需要结合其他研究方法来阐明。

Crosslink及基于计算的分子动力学模拟的方法可以很好地弥补结构学研究方面的不足,通过诱导捕捉或计算机模拟分析的方法研究GPCR二聚体激活态向非激活态转换的中间态,从而动态展示GPCR二聚体在激活过程中的构象变化。GPCR二聚体亚基之间的相互作用主要取决于相互作用界面的构象变化,因此发现并鉴定相互作用界面是理解二聚体结构功能的基础。Jin等^[24]利用Crosslink发现CCR5趋化因子受体的同源二聚体界面是TM5。Glukhova等^[29]发现腺苷受体A1(adenosine 1 receptor, A1R)的同源二聚体界面是TM4-TM5。受体的界面也是多样的,例如5-HT2BR可以通过TM4与mGluR2的TM4^[50-51],与D2R的TM1或TM3^[53-54],与CB1的TM5或TM6相互作用形成三种异源二聚体^[55-56]。基于这些相互作用界面设计的多肽可以特异性抑制二聚体形成而不影响单体的表达和功能^[101]。获得GPCR二聚体活性和非活性状态的高分辨率结构至关重要,将实验数据与计算模型相结合将增强我们对GPCR二聚化的理解。GPCR二聚体结构动态变化及其亚基间相互作用方式也决定着二聚体的下游信号转导功能^[95]。

总之,GPCR二聚体的三维结构及其动态变化与其功能有着密切的联系,这为结构生物学、计算模拟和药物发现的交叉领域提供了一个重要的研究方向。了解GPCR二聚体的三维结构和动态变化之间的复杂关系对于揭示受体功能的复杂性,以及针

对各种生理过程和疾病设计有针对性的治疗干预措施至关重要。

3 GPCR二聚体的功能研究

GPCR是重要的膜感受器,其主要功能就是将胞外信号转导到胞内。然而这个信号转导的效率、强度及通路选择性受到多个因素的影响,包括配体的结合、细胞膜表面受体的表达水平、受体的胞内运输、受体偶联信号分子的偏向性等。

GPCR二聚化影响配体的结合。1996年,研究人员使用两种不同的拮抗剂(Nemonapride和Spiperone)发现,D2R二聚体能够选择性地结合新的配体说明D2R二聚化可影响配体结合^[35]。GB1或GB2单独表达不能结合激动剂,而在共表达GB1和GB2的细胞中,可观察到激动剂亲和力显著增加,说明GABA_BR需要两个亚基才能正常结合激动剂^[102]。SSTR5-D2R的异二聚化会显著改变配体结合特性,在D2R选择性激动剂存在的情况下,与D2R共表达的SSTR5对其激动剂表现出更高的亲和力。相反,D2R拮抗剂能够抑制选择性激动剂与SSTR5的结合^[60]。更多研究表明,GPCR异源二聚体可以改变受体与配体的结合特性,比如MOR-DOR、DOR-KOR、GABA_BR等^[42, 103]。这些研究说明GPCR二聚化可以通过调控配体结合来控制受体功能。

GPCR二聚化影响受体膜定位及运输。Jin等^[24]发现CCR5的二聚化是受体靶向质膜及膜定位的必要条件。另有研究发现, β 2-AR能分别与KOR和DOR结合形成异二聚体,并影响受体的运输及内化^[64]。GPR143与D2R或D3R异二聚化可延迟D2R或D3R向质膜的运输从而负向调节D2R与D3R活性^[77]。这些例子说明GPCR二聚化可以影响受体的运输和细胞定位,从而直接影响受体激活强度。

二聚化影响GPCR的内化。GPCR脱敏和内化主要由 β -arrestin介导^[104]。AT1R激活能招募 β -arrestin,而AT2R激活后不会招募 β -arrestin,AT1R-AT2R二聚体激活后可以招募 β -arrestin但并不

会内化,因为AT2R-AT1R二聚化会抑制 β -arrestin介导的AT1R脱敏内化^[87, 105];Porrello等^[106-107]也证明AT2R的激活抑制AT1R内化,这种相互作用可能在AT2R对AT1R功能的拮抗过程中发挥作用。去甲肾上腺素刺激去甲肾上腺素受体 α 1A(α 1A receptor, α 1AR)时对 β -arrestin2招募较弱,而去甲肾上腺素作用于 α 1AR-CXCR2异二聚体时能稳定募集 β -arrestin2^[88-89]。有研究表明,与 β 2-AR单体相比,与AT1R异聚化的 β 2-AR对 β -arrestin招募增强^[89]。PAFR可同源二聚化形成低聚物,增加G蛋白活性,并显著降低 β -arrestin募集和配体诱导的内化^[13]。综上所述,GPCR二聚化可能影响 β -arrestin的招募,进而影响GPCR内化调控失敏过程。

GPCR二聚化介导信号通路偏向性。CXCR4-CXCR7趋化因子受体异二聚体能减少CXCR4的G_i信号,而增加 β -arrestin介导的ERK1/2、p38 MAPK和应激激活蛋白激酶(stress-activated protein kinase, SAPK)级联激活^[108]。APJ与B1R形成二聚体时,会降低G_i通路的激活并促进G_q的信号转导^[69]。DOR-MOR异聚体在激活后会增加 β -arrestin介导的ERK1/2持续磷酸化,与MOR同源二聚表现出的短暂ERK1/2磷酸化相反^[4, 62]。当D2R与痕量胺相关受体(trace amine-associated receptor, TAAR1)形成异二聚体时,TAAR1介导cAMP信号转导减少,而 β -arrestin2信号增强,同时减少了GSK3 β 激活^[61]。研究结果显示,GPCR可以通过二聚化改变对下游G蛋白和 β -arrestin信号通路之间或者不同G蛋白信号通路之间的选择性,说明可通过调控GPCR二聚化方式及水平来精准控制下游信号通路的选择性激活。

综上所述,GPCR可以通过同源二聚化和异源二聚化调控受体的细胞定位与运输、受体的内化失敏、下游信号通路选择性激活及配体结合,从而从多维度调控GPCR的功能(图2),这也为靶向GPCR二聚体开发新药调控受体功能提供了理论基础和新思路。

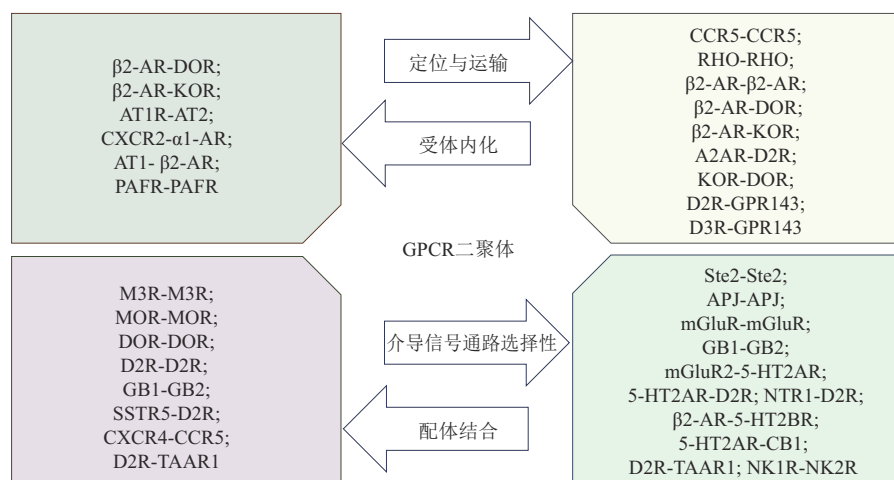


Fig. 2 Main functions mediated by GPCR dimer

图2 GPCR二聚体介导的主要功能

图中描述了一些GPCR二聚体介导的功能，主要分为4个方面。GPCR二聚体介导受体定位与运输：CCR5^[24]；RHO^[9]^[30]；β2-AR^[11, 31]；β2-AR-DOR^[64]；β2-AR-KOR^[64]；A2AR-D2R^[59, 109]；KOR-DOR^[63]；D2R-GPR143，D3R-GPR143^[77]。GPCR二聚体介导受体内化：β2-AR-DOR^[64]；β2-AR-KOR^[64]；AT1-AT2^[87, 107]；CXCR2-α1AR^[88]；AT1-β2-AR^[89]；PAFR^[13]。GPCR二聚体介导信号通路选择性：Ste2^[27-28]；APJ^[25, 36]；mGluR2^[6]；mGluR3^[7]；mGluR4^[6]；mGluR5^[8]；mGluR7^[6, 40]；GABABR1-GABABR2^[90, 102]；mGluR2-5-HT2AR^[52, 91]；5-HT2AR-D2R^[53, 82-83]；NTR1-D2R^[83]；β2-AR-5-HT2BR^[58]；5-HT2AR-CB1^[56, 85]；mGluR2-mGluR7^[6, 40]；D2R-TAAR1^[61]；NK1R-NK2R^[75]。GPCR二聚体介导配体结合：M3R^[20, 33]；MOR^[12]；DOR^[34]；D2R^[35]；GABABR1-GABABR2^[90, 102]；SSTR5-D2R^[60, 86]；CXCR4-CCR5^[73]；D2R-TAAR1^[61]。

4 GPCR二聚体的病理生理功能研究进展

GPCR二聚化是调控其功能的重要形式，之前的研究主要集中在细胞系水平而鲜有在体的研究，因而GPCR二聚体是否在生理病理条件下存在还有一定争议。因此GPCR二聚体在生理状态下或疾病模型中功能的研究虽然非常困难，但具有重要意义。GPCR是帕金森病（Parkinson's disease, PD）、精神疾病、癌症、阿尔茨海默病等众多疾病的重要治疗靶点。近年来在生理病理模型中对GPCR二聚体的功能已有大量探索性研究。

PD是中老年人常见的神经系统退行性疾病。PD的重要发病机制之一是多巴胺神经元进行性退变。多巴胺受体激动剂左旋多巴（L-DOPA）是治疗PD的重要药物，在灵长类动物实验中表明，长期使用左旋多巴会引起运动障碍、神经元毒性等不良反应^[110]。类腺苷A2受体能与D2R形成二聚体^[59]，A2AR拮抗剂与左旋多巴合用时能显著降低上述运动障碍、神经元毒性等不良反应^[109]。Błasiak等^[84]利用可抑制与D1R异源二聚化的D2R基因突变，发现D1R-D2R异源二聚体与D2R单独

激活的Ca²⁺水平有显著差异，提出该二聚体可能为AD提供新的药物靶点^[111]。

GPCR二聚体在其他神经系统疾病治疗中也发挥着重要作用。地佐环平（MK-081）诱导的小鼠被用作评价精神分裂症的药理模型。D2R拮抗剂氟哌啶醇能够抑制MK-081诱导的精神病症行为，是抗精神病药的代。5-HT2AR与D2R能够形成异二聚体。比较野生型和5-HT2AR敲除小鼠发现：在野生型小鼠中，用氟哌啶醇预处理的动物，MK-081诱导精神病症行为的作用基本消除；而在5-HT2AR敲除小鼠中，氟哌啶醇作用显著降低^[82]，说明5-HT2AR可能通过与D2R的二聚化增强了氟哌啶醇对精神病症行为的抑制作用。Kwan等^[112]通过实验发现，5-HT2AR-GluR2二聚体调控了致幻剂和抗精神病药的作用，在联合使用GluR2激动剂和5-HT2AR抑制剂时，可以增强5-HT2A阻断的抗运动障碍和抗精神病作用。D2R和神经降压素受体1（NTR1）与神经精神疾病有关，NTR1-D3R二聚体在成瘾相关的脑区高表达^[32]。NTR1还能与D2R形成二聚体，NTR1-D2R二聚体形成会改变信号通路偏向性来影响精神类疾病的治疗^[83]。CB1R与5-HT2AR形成二聚体后表现出相互拮抗作用，

Mato 等^[56]通过敲除CB1R发现CB1R-5-HT2AR异源二聚体会影响靶向5-HT2AR的精神疾病药物的治疗效果。

在疼痛的缓解和治疗方面, GPCR二聚体表现出巨大的潜力。Eluxadoline是一种具有MOR激动剂和DOR拮抗剂活性的化合物, 在临床II期和III期试验中被证明可缓解腹泻患者的腹痛^[113]。另有研究发现, MOR-DOR异二聚体^[114]、MOR同源二聚体^[34]、KOR-DOR异二聚体^[115]在镇痛、药物耐受及成瘾方面起着重要的作用, 是控制神经元疼痛的潜在治疗靶点。

在GPCR二聚体药理学功能研究方面, 还有一些关于GPCR二聚体的探索性研究, 例如CB1大麻素受体的上调发生在活跃的肝星状细胞中, 并介导肝纤维化^[116], 用CB1拮抗剂治疗可显著减少肝纤维化。AT1在活化的肝星状细胞内表达, 同样有促纤维化作用, AT1拮抗剂也可减少肝纤维化^[117-118]。而研究发现, 肝纤维化过程中活化的肝星状细胞内AT1-CB1异二聚体显著上调^[81], 该二聚体可能调控肝纤维化过程, 是潜在的治疗肝纤维化的靶点。另一个例子是B2R, B2R被报道可与许多GPCR发生异二聚化, 例如AT1R、KOR、APJ和D2R等, B2R异二聚体在调节血压、细胞增殖和中性粒细胞

与内皮细胞的黏附中发挥重要作用^[119]。

许多发现揭示了GPCR二聚化在生理与药理学模型中的功能, 并展示了GPCR二聚体在相关疾病治疗方面的巨大潜力(表3)。然而这些研究也存在一些问题, 例如: 对GPCR二聚体在体功能的研究还不太直接和充分, 通过两个受体的激动剂连用来判断GPCR异源二聚体的生理功能, 或者通过敲除异源二聚体的其中一个亚基从而推测异源二聚化另一个受体亚基功能的调控作用。这些研究由于没有特异性调控GPCR二聚化水平的手段, 因此只能在一定程度上推测GPCR二聚体的在体生理功能。需要通过对GPCR二聚体结构的进一步深入解析, 开发出特异性调控GPCR二聚化程度而不改变单体功能的手段。

现已有研究报道激动剂等药物可调节GPCR二聚体的水平, 例如NTR1的二聚化水平就受到受体激活状态的调控^[120]。因此可以设计用于选择性靶向GPCR二聚体的肽配体、开发针对GPCR二聚体的单克隆抗体和纳米抗体、寻找特异性的小分子破坏或稳定GPCR二聚化。这些工具的开发将推进对GPCR二聚体的生理病理功能的研究, 为靶向GPCR二聚体开发药物, 治疗相关疾病奠定基础。

Table 3 Pathophysiological functions of GPCR dimer
表3 GPCR二聚体的病理生理功能

受体1	受体2	模型	病理生理学功能
RHO	RHO	牛蛙杆外节膜	杆状光感受器的单光子检测 ^[30]
AT1	AT1	小鼠肾脏	调节心血管和肾脏稳态 ^[121]
KOR	DOR	小鼠脊髓	介导镇痛、耐受及成瘾机制 ^[115]
DOR	MOR	小鼠结肠	介导疼痛信号传导 ^[113-114]
AT1	CB1	大鼠肝脏	抑制肝纤维化 ^[81]
A2AR	D2R	大鼠纹状体	介导多巴胺神经元退变 ^[59, 110]
D2R	D3R	人脑	介导成瘾相关的信号传导 ^[32]
5-HT2AR	D2R	小鼠纹状体	影响神经系统信号传导 ^[53, 82]
5-HT2AR	mGluR2	人脑(精神分裂症模型)	致幻特异性信号和行为反应 ^[50, 52]
D1R	D2R	细胞模型	影响钙离子释放进而介导精神分裂症的发生 ^[84, 111]
SSTR5	D2R	非小细胞肺癌, 前列腺癌	介导肿瘤细胞的增殖 ^[86]

5 展 望

从X射线晶体学、Crosslink、Co-IP到FRET、BRET、SRET、基于纳米抗体的内源检测等技术的应用, 每次方法学的发展都会给GPCR二聚体领域带来新的发现。例如2008年Carriba等^[122]将

BRET和FRET结合在一起开发了一种称为顺序BRET-FRET(SRET)的方法, 并以此鉴定了活细胞中大麻素CB1、多巴胺2型和腺苷A2A受体的多聚复合物。2021年, Asher等^[123]突破性地活细胞内运用FRET技术验证了mGluR二聚体内激动剂诱导的结构动力学。2022年, Meng等^[49]开发了

基于纳米抗体的传感器揭示了大脑中高比例的 mGluR 异二聚体。

这些年来, GPCR 二聚体领域的研究获得了长足的进展, GPCR 二聚化这一理念也逐步深入人心。一方面, 越来越多的证据表明 GPCR 可以形成二聚体, 有一些有意思的发现: a. 多种 A 族 GPCR 被证明可以形成二聚体, 即便其单体即可行使功能的, 说明二聚化可能是调控 A 族 GPCR 信号转导的重要方式之一; b. 通常被认为是形成同源二聚体的 mGluR 家族成员可以形成家族内异源二聚体, 并且可以在脑中检测, 这个发现证明 mGluRs 的 8 个不同亚基通过同源二聚化和异源二聚化两种形式, 从受体层面就开始了对谷氨酸信号的整合进而影响下游信号通路转导; c. 不同族的 GPCR 可以形成异源二聚体, 例如 C 族受体 mGluR2 可以与 5HT_{2a} 形成异源二聚体, 调控致幻剂和抗精神病药的作用, 这说明不同的外界刺激 (例如不同的激动剂) 所介导的信号系统也会在受体层面就开始整合, 最终影响细胞信号。

另一方面, 目前关于 GPCR 二聚体的研究还存在一些亟待解决的问题: a. 目前发现的 GPCR 二聚体大多数是在体外过表达体系中发现的, 大多数的 GPCR 二聚体在生理条件下是否存在还没有确切的证据; b. A 族 GPCR 二聚化主要通过 7 次跨膜 α 螺旋结构域相互作用介导, 并没有稳定的化学键, 因此 GPCR 二聚体是否在体内稳定存在、是否具备生理功能还没有得到广泛证实; c. GPCR 二聚体对于下游信号的偏向性以及信号调控的分子机制还不清楚; d. 缺乏特异性控制 GPCR 二聚化而不影响单体功能的手段, 严重制约了对 GPCR 二聚体功能的研究。相信随着研究手段的革新及研究层次的深入, 我们对 GPCR 二聚体的理解会越来越透彻。

近年来 GPCR 结构研究的巨大突破为了解 GPCR 的配体识别、受体激活、变构调节和二聚化的分子机制提供了基础。由于 GPCR 二聚体具有有限的组织分布或仅在某些病理条件下于特定组织中上调, 因此其可能是优于 GPCR 单体的药物靶点。目前基于 GPCR 常规药物结合位点的开发逐渐饱和, 利用已经解析的受体三维结构, 结合计算机器模拟药物结合及虚拟筛选手段, 开发靶向 GPCR 二聚体的药物可能是未来的一个重要方向。希望未来随着对 GPCR 二聚体的研究进一步深入, 在二聚体结构、功能调控和生理药理作用等方面取得重大突

破, 最终开发出靶向 GPCR 二聚体的药物让患者受益。

参 考 文 献

- [1] Lagerström M C, Schiöth H B. Structural diversity of G protein-coupled receptors and significance for drug discovery. *Nat Rev Drug Discov*, 2008, **7**(4): 339-357
- [2] Lappano R, Maggiolini M. G protein-coupled receptors: novel targets for drug discovery in cancer. *Nat Rev Drug Discov*, 2011, **10**(1): 47-60
- [3] Chakrabarti S, Liu N J, Gintzler A R. Formation of mu-/kappa-opioid receptor heterodimer is sex-dependent and mediates female-specific opioid analgesia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, **107**(46): 20115-20119
- [4] Hebert T E, Moffett S, Morello J P, *et al*. A peptide derived from a beta2-adrenergic receptor transmembrane domain inhibits both receptor dimerization and activation. *J Biol Chem*, 1996, **271**(27): 16384-16392
- [5] Hannan F M, Kallay E, Chang W, *et al*. The calcium-sensing receptor in physiology and in calcitropic and noncalcitropic diseases. *Nat Rev Endocrinol*, 2018, **15**(1): 33-51
- [6] Lin S, Han S, Cai X, *et al*. Structures of G_i-bound metabotropic glutamate receptors mGlu2 and mGlu4. *Nature*, 2021, **594**(7864): 583-588
- [7] Fang W, Yang F, Xu C, *et al*. Structural basis of the activation of metabotropic glutamate receptor 3. *Cell Res*, 2022, **32**(7): 695-698
- [8] Koehl A, Hu H, Feng D, *et al*. Structural insights into the activation of metabotropic glutamate receptors. *Nature*, 2019, **566**(7742): 79-84
- [9] Jastrzebska B, Chen Y, Orban T, *et al*. Disruption of rhodopsin dimerization with synthetic peptides targeting an interaction interface. *J Biol Chem*, 2015, **290**(42): 25728-25744
- [10] Young B M, Nguyen E, Chedrawe M A J, *et al*. Differential contribution of transmembrane domains IV, V, VI, and VII to human angiotensin II type 1 receptor homomer formation. *J Biol Chem*, 2017, **292**(8): 3341-3350
- [11] Parmar V K, Grinde E, Mazurkiewicz J E, *et al*. Beta(2)-adrenergic receptor homodimers: role of transmembrane domain 1 and helix 8 in dimerization and cell surface expression. *Biochim Biophys Acta Biomembr*, 2017, **1859**(9 PtA): 1445-1455
- [12] Meral D, Provasi D, Prada-Gracia D, *et al*. Molecular details of dimerization kinetics reveal negligible populations of transient μ -opioid receptor homodimers at physiological concentrations. *Sci Rep*, 2018, **8**(1): 7705
- [13] Liu J, Tang H, Xu C, *et al*. Biased signaling due to oligomerization of the G protein-coupled platelet-activating factor receptor. *Nat Commun*, 2022, **13**(1): 6365
- [14] Li P, Zhang J, Jia Y, *et al*. Novel mono-PEGylated dimeric GLP-1 conjugate with enhanced receptor activation and prolonged anti-diabetes efficacies. *Life Sci*, 2020, **254**: 117752

- [15] Harikumar K G, Wootten D, Pinon D I, *et al.* Glucagon-like peptide-1 receptor dimerization differentially regulates agonist signaling but does not affect small molecule allosterity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, **109**(45): 18607-18612
- [16] Harikumar K G, Augustine M L, Lee L T O, *et al.* Structure and function of cross-class complexes of G protein-coupled secretin and angiotensin 1a receptors. *J Biol Chem*, 2016, **291**(33): 17332-17344
- [17] Pioszak A A, Harikumar K G, Parker N R, *et al.* Dimeric arrangement of the parathyroid hormone receptor and a structural mechanism for ligand-induced dissociation. *J Biol Chem*, 2010, **285**(16): 12435-12444
- [18] Kraetke O, Wiesner B, Eichhorst J, *et al.* Dimerization of corticotropin-releasing factor receptor type 1 is not coupled to ligand binding. *J Recept Signal Transduct Res*, 2005, **25**(4/5/6): 251-276
- [19] Yu R, Cui Z, Li M, *et al.* Dimer-dependent intrinsic/basal activity of the class B G protein-coupled receptor PAC1 promotes cellular anti-apoptotic activity through Wnt/ β -catenin pathways that are associated with dimer endocytosis. *PLoS One*, 2014, **9**(11): e113913
- [20] Liste M J V, Caltabiano G, Ward R J, *et al.* The molecular basis of oligomeric organization of the human M3 muscarinic acetylcholine receptor. *Mol Pharmacol*, 2015, **87**(6): 936-953
- [21] Marsango S, Caltabiano G, Pou C, *et al.* Analysis of human dopamine D3 receptor quaternary structure. *J Biol Chem*, 2015, **290**(24): 15146-15162
- [22] Jastrzebska B, Comar W D, Kaliszewski M J, *et al.* A G protein-coupled receptor dimerization interface in human cone opsins. *Biochemistry*, 2017, **56**(1): 61-72
- [23] Zhang T, Cao L H, Kumar S, *et al.* Dimerization of visual pigments *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, **113**(32): 9093-9098
- [24] Jin J, Momboisse F, Boncompain G, *et al.* CCR5 adopts three homodimeric conformations that control cell surface delivery. *Sci Signal*, 2018, **11**(529): eaal2869
- [25] Yue Y, Liu L, Wu L J, *et al.* Structural insight into apelin receptor-G protein stoichiometry. *Nat Struct Mol Biol*, 2022, **29**(7): 688-697
- [26] Mezei M, Latif R, Davies T F. Modeling TSH receptor dimerization at the transmembrane domain. *Endocrinology*, 2022, **163**(12): bqac168
- [27] Velazhahan V, Ma N, Pándy-Szekeres G, *et al.* Structure of the class D GPCR Ste2 dimer coupled to two G proteins. *Nature*, 2021, **589**(7840): 148-153
- [28] Velazhahan V, Ma N, Vaidehi N, *et al.* Activation mechanism of the class D fungal GPCR dimer Ste2. *Nature*, 2022, **603**(7902): 743-748
- [29] Glukhova A, Thal D M, Nguyen A T, *et al.* Structure of the adenosine A1 receptor reveals the basis for subtype selectivity. *Cell*, 2017, **168**(5): 867-877.e13
- [30] Hayashi F, Saito N, Tanimoto Y, *et al.* Raftophilic rhodopsin-clusters offer stochastic platforms for G protein signalling in retinal discs. *Commun Biol*, 2019, **2**: 209
- [31] Kwon Y, Kim D H, Jeong M G, *et al.* Dimerization of β_2 -adrenergic receptor is responsible for the constitutive activity subjected to inverse agonism. *Cell Chem Biol*, 2022, **29**(10): 1532-1540.e5
- [32] Carli M, Kolachalam S, Aringhieri S, *et al.* Dopamine D2 receptors dimers: how can we pharmacologically target them?. *Curr Neuropharmacol*, 2018, **16**(2): 222-230
- [33] Hu J, Thor D, Zhou Y, *et al.* Structural aspects of M₃ muscarinic acetylcholine receptor dimer formation and activation. *FASEB J*, 2012, **26**(2): 604-616
- [34] Cvejic S, Devi L A. Dimerization of the delta opioid receptor: implication for a role in receptor internalization. *J Biol Chem*, 1997, **272**(43): 26959-26964
- [35] Ng G Y, O'Dowd B F, Lee S P, *et al.* Dopamine D2 receptor dimers and receptor-blocking peptides. *Biochem Biophys Res Commun*, 1996, **227**(1): 200-204
- [36] Yeganeh-Hajahmadi M, Moosavi-Saeed Y, Rostamzadeh F. Apelin receptor dimerization and oligomerization. *Curr Mol Pharmacol*, 2024, **17**(1): e180823219999
- [37] Shin J, Park J, Jeong J, *et al.* Constitutive activation mechanism of a class C GPCR. *Nat Struct Mol Biol*, 2024, **31**(4): 678-687
- [38] Chen X, Wang L, Cui Q, *et al.* Structural insights into the activation of human calcium-sensing receptor. *Elife*, 2021, **10**: e68578
- [39] He F, Wu C G, Gao Y, *et al.* Allosteric modulation and G-protein selectivity of the Ca²⁺-sensing receptor. *Nature*, 2024, **626**(8001): 1141-1148
- [40] Du J, Wang D, Fan H, *et al.* Structures of human mGlu2 and mGlu7 homo- and heterodimers. *Nature*, 2021, **594**(7864): 589-593
- [41] Devi L A. Heterodimerization of G-protein-coupled receptors: pharmacology, signaling and trafficking. *Trends Pharmacol Sci*, 2001, **22**(10): 532-537
- [42] Kaupmann K, Malitschek B, Schuler V, *et al.* GABAB-receptor subtypes assemble into functional heteromeric complexes. *Nature*, 1998, **396**(6712): 683-687
- [43] White J H, Wise A, Main M J, *et al.* Heterodimerization is required for the formation of a functional GABA(B) receptor. *Nature*, 1998, **396**(6712): 679-682
- [44] Robbins M J, Calver A R, Filippov A K, *et al.* GABA(B₂) is essential for g-protein coupling of the GABA(B) receptor heterodimer. *J Neurosci*, 2001, **21**(20): 8043-8052
- [45] Galvez T, Parmentier M L, Joly C, *et al.* Mutagenesis and modeling of the GABAB receptor extracellular domain support a Venus Flytrap mechanism for ligand binding. *J Biol Chem*, 1999, **274**(19): 13362-13369
- [46] Adayev T, Ranasinghe B, Banerjee P. Transmembrane signaling in the brain by serotonin, a key regulator of physiology and emotion. *Biosci Rep*, 2005, **25**(5): 363-385
- [47] Prezeau L, Rives M L, Comps-Agrar L, *et al.* Functional crosstalk between GPCRs: with or without oligomerization. *Curr Opin Pharmacol*, 2010, **10**(1): 6-13
- [48] Doumazane E, Scholler P, Zwier J M, *et al.* A new approach to analyze cell surface protein complexes reveals specific heterodimeric metabotropic glutamate receptors. *FASEB J*, 2011,

- 25(1): 66-77
- [49] Meng J, Xu C, Lafon P A, *et al.* Nanobody-based sensors reveal a high proportion of mGlu heterodimers in the brain. *Nat Chem Biol*, 2022, **18**(8): 894-903
- [50] González-Maeso J, Ang R L, Yuen T, *et al.* Identification of a serotonin/glutamate receptor complex implicated in psychosis. *Nature*, 2008, **452**(7183): 93-97
- [51] Moreno J L, Muguruza C, Umali A, *et al.* Identification of three residues essential for 5-hydroxytryptamine 2A-metabotropic glutamate 2 (5-HT_{2A}-mGlu₂) receptor heteromerization and its psychoactive behavioral function. *J Biol Chem*, 2012, **287**(53): 44301-44319
- [52] Fribourg M, Moreno J L, Holloway T, *et al.* Decoding the signaling of a GPCR heteromeric complex reveals a unifying mechanism of action of antipsychotic drugs. *Cell*, 2011, **147**(5): 1011-1023
- [53] Albizu L, Holloway T, González-Maeso J, *et al.* Functional crosstalk and heteromerization of serotonin 5-HT_{2A} and dopamine D₂ receptors. *Neuropharmacology*, 2011, **61**(4): 770-777
- [54] Misganaw D. Heteromerization of dopaminergic receptors in the brain: pharmacological implications. *Pharmacol Res*, 2021, **170**: 105600
- [55] Viñals X, Moreno E, Lanfumey L, *et al.* Cognitive impairment induced by Delta9-tetrahydrocannabinol occurs through heteromers between cannabinoid CB1 and serotonin 5-HT_{2A} receptors. *PLoS Biol*, 2015, **13**(7): e1002194
- [56] Mato S, Aso E, Castro E, *et al.* CB1 knockout mice display impaired functionality of 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A/C} receptors. *J Neurochem*, 2007, **103**(5): 2111-2120
- [57] Callén L, Moreno E, Barroso-Chinea P, *et al.* Cannabinoid receptors CB1 and CB2 form functional heteromers in brain. *J Biol Chem*, 2012, **287**(25): 20851-20865
- [58] Song Y, Xu C, Liu J, *et al.* Heterodimerization with 5-HT_{2B}R is indispensable for β_2 AR-mediated cardioprotection. *Circ Res*, 2021, **128**(2): 262-277
- [59] Hillion J, Canals M, Torvinen M, *et al.* Coaggregation, cointernalization, and codesensitization of adenosine A_{2A} receptors and dopamine D₂ receptors. *J Biol Chem*, 2002, **277**(20): 18091-18097
- [60] Rocheville M, Lange D C, Kumar U, *et al.* Receptors for dopamine and somatostatin: formation of hetero-oligomers with enhanced functional activity. *Science*, 2000, **288**(5463): 154-157
- [61] Harmeier A, Obermueller S, Meyer C A, *et al.* Trace amine-associated receptor 1 activation silences GSK3 β signaling of TAAR1 and D₂R heteromers. *Eur Neuropsychopharmacol*, 2015, **25**(11): 2049-2061
- [62] Rozenfeld R, Devi L A. Receptor heterodimerization leads to a switch in signaling: beta-arrestin2-mediated ERK activation by mu-delta opioid receptor heterodimers. *FASEB J*, 2007, **21**(10): 2455-2465
- [63] Chen X, Yuan Y, Chen Y, *et al.* Biased activation mechanism induced by GPCR heterodimerization: observations from μ OR/ δ OR dimers. *J Chem Inf Model*, 2022, **62**(22): 5581-5600
- [64] Jordan B A, Trapaidze N, Gomes I, *et al.* Oligomerization of opioid receptors with beta 2-adrenergic receptors: a role in trafficking and mitogen-activated protein kinase activation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98**(1): 343-348
- [65] Sun G C, Wong T Y, Chen H H, *et al.* Angiotensin II inhibits DDAH1-nNOS signaling via AT₁R and μ OR dimerization to modulate blood pressure control in the central nervous system. *Clin Sci*, 2019, **133**(23): 2401-2413
- [66] Chen J, Zhang R, Chen X, *et al.* Heterodimerization of human orexin receptor 1 and kappa opioid receptor promotes protein kinase A/cAMP-response element binding protein signaling via a Gas-mediated mechanism. *Cell Signal*, 2015, **27**(7): 1426-1438
- [67] Zhang R, Li D, Mao H, *et al.* Disruption of 5-hydroxytryptamine 1A receptor and orexin receptor 1 heterodimer formation affects novel G protein-dependent signaling pathways and has antidepressant effects *in vivo*. *Transl Psychiatry*, 2022, **12**(1): 122
- [68] Bai B, Cai X, Jiang Y, *et al.* Heterodimerization of apelin receptor and neurotensin receptor 1 induces phosphorylation of ERK(1/2) and cell proliferation via G α_q -mediated mechanism. *J Cell Mol Med*, 2014, **18**(10): 2071-2081
- [69] Bai B, Liu L, Zhang N, *et al.* Heterodimerization of human apelin and bradykinin 1 receptors: novel signal transduction characteristics. *Cell Signal*, 2014, **26**(7): 1549-1559
- [70] Ji B, Shang L, Wang C, *et al.* Roles for heterodimerization of APJ and B₂R in promoting cell proliferation via ERK1/2-eNOS signaling pathway. *Cell Signal*, 2020, **73**: 109671
- [71] Li Y, Chen J, Bai B, *et al.* Heterodimerization of human apelin and kappa opioid receptors: roles in signal transduction. *Cell Signal*, 2012, **24**(5): 991-1001
- [72] Chun H J, Ali Z A, Kojima Y, *et al.* Apelin signaling antagonizes Ang II effects in mouse models of atherosclerosis. *J Clin Invest*, 2008, **118**(10): 3343-3354
- [73] Isik N, Hereld D, Jin T. Fluorescence resonance energy transfer imaging reveals that chemokine-binding modulates heterodimers of CXCR4 and CCR5 receptors. *PLoS One*, 2008, **3**(10): e3424
- [74] Sebastianutto I, Goyet E, Andreoli L, *et al.* D₁-mGlu₅ heteromers mediate noncanonical dopamine signaling in Parkinson's disease. *J Clin Invest*, 2020, **130**(3): 1168-1184
- [75] Nguyen L P, Cho M, Nguyen T U, *et al.* Neurokinin-2 receptor negatively modulates substance P responses by forming complex with Neurokinin-1 receptor. *Cell Biosci*, 2023, **13**(1): 212
- [76] Daniele S, Saporiti S, Capaldi S, *et al.* Functional heterodimerization between the G protein-coupled receptor GPR17 and the chemokine receptors 2 and 4: new evidence. *Int J Mol Sci*, 2022, **24**(1): 261
- [77] Bueschbell B, Manga P, Penner E, *et al.* Evidence for protein-protein interaction between dopamine receptors and the G protein-coupled receptor 143. *Int J Mol Sci*, 2021, **22**(15): 8328
- [78] Matsubara S, Shiraishi A, Sakai T, *et al.* Heterodimerization of the prostaglandin E₂ receptor EP₂ and the calcitonin receptor CTR. *PLoS One*, 2017, **12**(11): e0187711

- [79] Harikumar K G, Lau S, Sexton P M, *et al.* Coexpressed class B G protein-coupled secretin and GLP-1 receptors self- and cross-associate: impact on pancreatic islets. *Endocrinology*, 2017, **158**(6): 1685-1700
- [80] Fillion D, Devost D, Sleno R, *et al.* Asymmetric recruitment of β -Arrestin1/2 by the angiotensin II type I and prostaglandin F2 α receptor dimer. *Front Endocrinol*, 2019, **10**: 162
- [81] Rozenfeld R, Gupta A, Gagnidze K, *et al.* AT1R-CB1R heteromerization reveals a new mechanism for the pathogenic properties of angiotensin II. *EMBO J*, 2011, **30**(12): 2350-2363
- [82] 高欢, 谭博, 杜广营, 等. 5-HT_{2A}R 异源二聚体功能研究进展. *中国药理学通报*, 2023, **39**(7): 1201-1205
Gao H, Tan B, Du G Y, *et al.* *Chin Pharmacol Bull*, 2023, **39**(7): 1201-1205
- [83] Plach M, Schäfer T, Borroto-Escuela D O, *et al.* Differential allosteric modulation within dopamine D2R - neurotensin NTS1R and D2R - serotonin 5-HT_{2A}R receptor complexes gives bias to intracellular calcium signalling. *Sci Rep*, 2019, **9**: 16312
- [84] Błasiak E, Łukasiewicz S, Szafran-Pilch K, *et al.* Genetic variants of dopamine D2 receptor impact heterodimerization with dopamine D1 receptor. *Pharmacol Rep*, 2017, **69**(2): 235-241
- [85] Darmani N A, Janoyan J J, Kumar N, *et al.* Behaviorally active doses of the CB1 receptor antagonist SR 141716A increase brain serotonin and dopamine levels and turnover. *Pharmacol Biochem Behav*, 2003, **75**(4): 777-787
- [86] Arvigo M, Gatto F, Ruscica M, *et al.* Somatostatin and dopamine receptor interaction in prostate and lung cancer cell lines. *J Endocrinol*, 2010, **207**(3): 309-317
- [87] Turu G, Szidonya L, Gáborik Z, *et al.* Differential beta-arrestin binding of AT1 and AT2 angiotensin receptors. *FEBS Lett*, 2006, **580**(1): 41-45
- [88] Mustafa S, See H B, Seeber R M, *et al.* Identification and profiling of novel α 1A-adrenoceptor-CXC chemokine receptor 2 heteromer. *J Biol Chem*, 2012, **287**(16): 12952-12965
- [89] Tóth A D, Gyombolai P, Szalai B, *et al.* Angiotensin type 1A receptor regulates β -arrestin binding of the β_2 -adrenergic receptor via heterodimerization. *Mol Cell Endocrinol*, 2017, **442**: 113-124
- [90] Mao C, Shen C, Li C, *et al.* Cryo-EM structures of inactive and active GABA_B receptor. *Cell Res*, 2020, **30**(7): 564-573
- [91] Delille H K, Mezler M, Marek G J. The two faces of the pharmacological interaction of mGlu2 and 5-HT_{2A}-relevance of receptor hetero complexes and interaction through functional brain pathways. *Neuropharmacology*, 2013, **70**: 296-305
- [92] Unger V M, Schertler G F. Low resolution structure of bovine rhodopsin determined by electron cryo-microscopy. *Biophys J*, 1995, **68**: 1776-1786
- [93] Palczewski K, Kumasaka T, Hori T, *et al.* Crystal structure of rhodopsin: a G protein-coupled receptor. *Science*, 2000, **289**(5480): 739-745
- [94] Sullivan R, Chateaufneuf A, Coulombe N, *et al.* Coexpression of full-length gamma-aminobutyric acid(B) (GABA(B)) receptors with truncated receptors and metabotropic glutamate receptor 4 supports the GABA(B) heterodimer as the functional receptor. *J Pharmacol Exp Ther*, 2000, **293**(2): 460-467
- [95] Zhang Z, Sun S, Quinn S J, *et al.* The extracellular calcium-sensing receptor dimerizes through multiple types of intermolecular interactions. *J Biol Chem*, 2001, **276**(7): 5316-5322
- [96] Romano C, Yang W L, O'Malley K L. Metabotropic glutamate receptor 5 is a disulfide-linked dimer. *J Biol Chem*, 1996, **271**(45): 28612-28616
- [97] Kunishima N, Shimada Y, Tsuji Y, *et al.* Structural basis of glutamate recognition by a dimeric metabotropic glutamate receptor. *Nature*, 2000, **407**(6807): 971-977
- [98] Shaye H, Ishchenko A, Lam J H, *et al.* Structural basis of the activation of a metabotropic GABA receptor. *Nature*, 2020, **584**(7820): 298-303
- [99] Bokoch M P, Zou Y, Rasmussen S G F, *et al.* Ligand-specific regulation of the extracellular surface of a G-protein-coupled receptor. *Nature*, 2010, **463**(7277): 108-112
- [100] Shen C, Mao C, Xu C, *et al.* Structural basis of GABA_B receptor-G_i protein coupling. *Nature*, 2021, **594**(7864): 594-598
- [101] Farooq Z, Howell L A, McCormick P J. Probing GPCR dimerization using peptides. *Front Endocrinol*, 2022, **13**: 843770
- [102] Jones K A, Borowsky B, Tamm J A, *et al.* GABA(B) receptors function as a heteromeric assembly of the subunits GABA(B)R1 and GABA(B)R2. *Nature*, 1998, **396**(6712): 674-679
- [103] Gomes I, Ayoub M A, Fujita W, *et al.* G protein-coupled receptor heteromers. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2016, **56**: 403-425
- [104] Ferguson S S, Downey W E, Colapietro A M, *et al.* Role of beta-arrestin in mediating agonist-promoted G protein-coupled receptor internalization. *Science*, 1996, **271**(5247): 363-366
- [105] Stanasila L, Abuin L, Dey J, *et al.* Different internalization properties of the α 1a- and α 1b-adrenergic receptor subtypes: the potential role of receptor interaction with beta-arrestins and AP50. *Mol Pharmacol*, 2008, **74**(3): 562-573
- [106] Porrello E R, Pflieger K D G, Seeber R M, *et al.* Heteromerization of angiotensin receptors changes trafficking and arrestin recruitment profiles. *Cell Signal*, 2011, **23**(11): 1767-1776
- [107] Porrello E R, Delbridge L M D, Thomas W G. The angiotensin II type 2 (AT2) receptor: an enigmatic seven transmembrane receptor. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2009, **14**(3): 958-972
- [108] Daniel S K, Seo Y D, Pillarisetty V G. The CXCL12-CXCR4/CXCR7 axis as a mechanism of immune resistance in gastrointestinal malignancies. *Semin Cancer Biol*, 2020, **65**: 176-188
- [109] Pinna A, Wardas J, Simola N, *et al.* New therapies for the treatment of Parkinson's disease: adenosine A2A receptor antagonists. *Life Sci*, 2005, **77**(26): 3259-3267
- [110] LeWitt P A. Levodopa therapy for Parkinson's disease: pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Mov Disord*, 2015, **30**(1): 64-72
- [111] 张从芬, 彭代银, 李庆林, 等. G 蛋白偶联受体二聚化研究进展. *中国药理学通报*, 2006, **22**(7): 774-779
Zhang C F, Peng D Y, Li Q L, *et al.* *Chin Pharmacol Bull*, 2006,

- 22(7): 774-779
- [112] Kwan C, Frouni I, Nuara S G, *et al.* Combined 5-HT_{2A} and mGlu₂ modulation for the treatment of dyskinesia and psychosis in Parkinson's disease. *Neuropharmacology*, 2021, **186**: 108465
- [113] Dove L S, Lembo A, Randall C W, *et al.* Eluxadoline benefits patients with irritable bowel syndrome with diarrhea in a phase 2 study. *Gastroenterology*, 2013, **145**(2): 329-338.e1
- [114] Gottesman-Katz L, Latorre R, Vanner S, *et al.* Targeting G protein-coupled receptors for the treatment of chronic pain in the digestive system. *Gut*, 2021, **70**(5): 970-981
- [115] Gomes I, Gupta A, Filipovska J, *et al.* A role for heterodimerization of mu and delta opiate receptors in enhancing morphine analgesia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, **101**(14): 5135-5139
- [116] Teixeira-Clerc F, Julien B, Grenard P, *et al.* CB1 cannabinoid receptor antagonism: a new strategy for the treatment of liver fibrosis. *Nat Med*, 2006, **12**(6): 671-676
- [117] Wei H S, Lu H M, Li D G, *et al.* The regulatory role of AT₁ receptor on activated HSCs in hepatic fibrogenesis: effects of RAS inhibitors on hepatic fibrosis induced by CCl₄. *World J Gastroenterol*, 2000, **6**(6): 824-828
- [118] Bataller R, Sancho-Bru P, Ginès P, *et al.* Activated human hepatic stellate cells express the renin-angiotensin system and synthesize angiotensin II. *Gastroenterology*, 2003, **125**(1): 117-125
- [119] Shen J K, Zhang H T. Function and structure of bradykinin receptor 2 for drug discovery. *Acta Pharmacol Sin*, 2023, **44**(3): 489-498
- [120] Dijkman P M, Castell O K, Goddard A D, *et al.* Dynamic tuneable G protein-coupled receptor monomer-dimer populations. *Nat Commun*, 2018, **9**(1): 1710
- [121] Takezako T, Unal H, Karnik S S, *et al.* Current topics in angiotensin II type 1 receptor research: focus on inverse agonism, receptor dimerization and biased agonism. *Pharmacol Res*, 2017, **123**: 40-50
- [122] Carriba P, Navarro G, Ciruela F, *et al.* Detection of heteromerization of more than two proteins by sequential BRET-FRET. *Nat Methods*, 2008, **5**(8): 727-733
- [123] Asher W B, Geggier P, Holsey M D, *et al.* Single-molecule FRET imaging of GPCR dimers in living cells. *Nat Methods*, 2021, **18**(4): 397-405

Structure and Function of GPCR Dimer^{*}

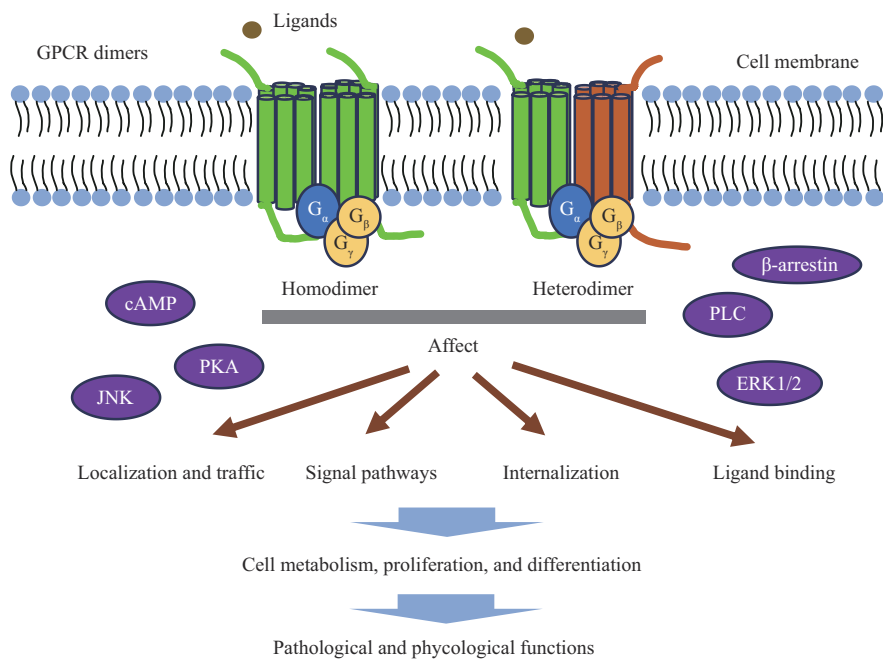
LI Chuan-Bao^{1,3)}, LI Chen-Hui²⁾, XUE Li^{1)**}

¹⁾Department of Neurosurgery, Center of Pituitary Tumor, Ruijin Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China;

²⁾School of Biotechnology, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China;

³⁾Medical School, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China)

Graphical abstract



Abstract G-protein coupled receptors (GPCRs) are an essential family of proteins on the cell membrane, widely distributed in various types of tissues and cells. Typical GPCRs are composed of characteristic 7 transmembrane α -helix domains, extracellular domain and intracellular domain. They play a key role in transmitting information inside and outside cells. These receptors can sense and respond to a variety of external signals, including odor molecules, hormones, neurotransmitters, chemokines, and so on, thereby regulating the physiological functions and metabolic activities of cells. When external signal molecules bind, these receptors undergo conformational changes, thereby activating signal transduction pathways inside cells. The most common downstream signal pathway is the activation of G proteins, but it may also activate the β -arrestin signaling pathway. This series of signal transduction processes ultimately regulates physiological processes such as cell metabolism, proliferation,

^{*} This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China (82172605).

^{**} Corresponding author.

Tel: 86-15317924878, E-mail: royxueli@126.com

Received: January 29, 2024 Accepted: May 27, 2024

and differentiation, and also plays an important role in the occurrence and development of diseases. Due to its importance in regulating cell functions and participating in the development of diseases, GPCRs have become important targets in the field of drug research and development. The mechanism of action of many drugs is achieved by intervening in the GPCR signaling pathway. As important form of function regulating, dimerization has attracted widespread attention in the research of GPCR field. In the early days, the formation of GPCR dimerization and its effect on receptor function were mainly studied by immunoprecipitation, immunofluorescence and radioligand binding experiments in overexpression systems. Nowadays, with the continuous development of biochemical and biophysical methods, more and more GPCR dimers have been identified. GPCR dimer refers to the process in which two GPCR subunits bind to each other to form a complex. The same GPCR subunits form homodimers, and different GPCR subunits form heterodimers through direct interaction. Dimerization changes the activity, affinity, internalization, localization and transport, and signal transduction characteristics of GPCR, thereby producing more complex and delicate regulation of cellular physiological processes. In recent years, the research on GPCR dimers has been continuously deepened, revealing its important role in a variety of physiological and pathological processes. In general, the structure of GPCR dimers is complex and diverse, and its formation and stability are affected by many factors, including the specificity of receptor interaction interface, the conformational changes of receptor, and the regulation of intracellular and extracellular environment. By understanding the mechanism of GPCR dimerization, we can better understand the behavior of these receptors in signal transduction and provide new ideas and opportunities for the development of novel drug targets. More and more studies have reported the dimerization of GPCR and its structure and function regulation mechanism. This article reviews the research progress on the structure and function of GPCR dimers, and summarizes some research methods and technologies, which provide a basis for understanding the discovery of GPCR dimers, dimerization methods, structure and function regulation mechanisms, and further targeting GPCR dimers. It provides a research basis for the development of polymer drugs.

Key words G protein-coupled receptor, dimer, structure of GPCR dimer, function of GPCR dimer

DOI: 10.16476/j.pibb.2024.0039