

G 蛋白偶联受体脱敏 内吞和复敏调控机制进展*

李 胜¹▲ 综述 白 波²△ 陈 京²△ 审校

(¹ 曲阜师范大学, 曲阜 273165; ² 济宁医学院神经生物学研究所, 济宁 272067)

摘 要 G 蛋白偶联受体是哺乳动物细胞表面最大的膜受体家族, 目前人类研发的药物中, 近一半的药物都直接或间接的作用于 G 蛋白偶联受体信号通路。脱敏、内吞以及复敏是 G 蛋白偶联受体在时间和空间方面调控信号传导的关键, 网格蛋白、衔接蛋白等在受体内吞过程中发挥着重要作用。本文简要阐述了 G 蛋白偶联受体的信号转导通路和激动剂的过刺激所导致的受体脱敏、内吞的负反馈调控机制, 以及受体复敏的再循环途径, 并探讨了网格蛋白抑制剂在临床中的药理作用, 从而为相关疾病的治疗提供理论依据。

关键词 G 蛋白偶联受体; 信号转导; 脱敏; 内吞; 复敏; 网格蛋白

中图分类号: Q51 **文献标识码**: A **文章编号**: 1000-9760(2016)04-123-06

Regulatory mechanisms of G protein coupled receptor about desensitization, endocytosis and resensitization

LI Sheng¹, BAI Bo², CHEN Jing²

(¹ Qufu Normal University, Qufu 273165, China; ² Institute of Neurobiology, Jining Medical University, Jining 272067, China)

Abstract: G protein coupled receptor (GPCR) is one of the biggest mammal cell surface membrane receptor family, in the research and development of human medicine, nearly half of drugs have direct or indirect effects on GPCR signaling pathways. Desensitization, endocytosis and the resensitization are the key processes of GPCR regulation of signal transduction in terms of time and space. Both clathrin and AP2 play important roles in the process of endocytosis. In this paper we aimed to describe the signal transduction pathway of GPCR, summarize the negative feedback regulation of desensitization and endocytosis caused by continuous stimulation of agonist. Recycling pathway of receptor resensitization and discuss the pharmacological function of clathrin inhibitors in clinical practice so as to provide theoretical basis for the pathogenesis of related diseases.

Keywords: G protein-coupled receptor; signal transduction; desensitization; endocytosis; resensitization; clathrin

在生物界进化进程中 G 蛋白偶联受体 (G protein-coupled receptors, GPCRs) 家族不断丰富和发展, 在原始的单细胞酵母中仅存在 3 种 G 蛋白偶联受体, 而人类 G 蛋白偶联受体超家族则拥有 800 ~ 1000 多名成员, 到目前为止已明确知道其配体及功能的就有 370 多种。目前人类已确认的药物

作用靶标中, GPCR 家族占据了绝大多数^[1]。本文将对 G 蛋白偶联受体的脱敏、内吞和复敏调控机制近几年的研究进展作一综述。

1 GPCRs 的信号转导方式

GPCR 经典的信号转导方式是通过受体与配体结合, 引发与受体偶联的 G 蛋白的 α 和 $\beta\gamma$ 亚基分离, 进而引起下游信号通路的改变^[2]。但当配体持续刺激受体时, GPCR 将启动负反馈调节机制, 即引发受体的脱敏内吞, 使质膜上受体的数量减少, 导致信号转导减弱^[3]。最近研究发现, 偏向性配体/受体在 GPCRs 的信号转导中也发挥着重要作用, 偏向性配体即为不同配体与同一受体结合

* [基金项目] 国家自然科学基金项目 (3097108; 31271243; 81070961); 山东省自然科学基金项目 (ZR2011CM027; 2012 GSF 11806); 山东省高校科技计划项目 (JY 2015KJ004)

△ [通信作者] 白波, E-mail: bbai@mail.jnmc.edu.cn
陈京, E-mail: chenjnmc@163.com

▲ 李胜, 曲阜师范大学 2014 级研究生

可引发依赖 G 蛋白的信号转导途径,也可引发非依赖 G 蛋白(β -arrestin 途径)的信号转导途径,即不同配体可导致受体偏向性引发不同的下游信号通路。同样,不同受体被同一配体刺激而偏向性引发不同的信号通路,该种受体被称为偏向性受体^[4-5]。偏向性配体可特定偏向性引发下游信号通路,增加药物疗效,减少了药物的副作用,从而为新药的研发提供了新的方向。

GPCRs 无论在生理条件下还是在相关临床药物的刺激下,它们的活动受到高度地调节^[6-7]。在调节中一个关键的因素是控制细胞表面受体的数量和功能,而对受体数量和功能进行调节的主要是受体的内吞、复敏和循环^[8]。内吞作用是通过胞膜的变形凹陷将胞外大分子或胞膜蛋白(受体蛋白、运输蛋白)等物质转运至胞内,内吞作用最初是在 1964 年 Roth 等在观察研究埃及伊蚊的卵子摄入卵黄蛋白的超微结构时首次发现。当卵黄物质开始沉积到卵子胞膜上时,局部胞膜收缩凹陷成包被小窝,之后被转运至胞内。而对 G 蛋白偶联受体内吞的研究报道最初是在对蛙红细胞和星形细胞瘤细胞的内源性 β_2 肾上腺素受体(β_2 -adren-ergic receptor, β_2 AR)的研究实验中被发现。Chuang 等通过放射性配体结合技术检测发现,当异丙肾上腺素刺激蛙红细胞将引起胞浆内可溶性 β_2 ARs 的数量升高。随后的研究表明 β_2 AR 进入胞内是由网格蛋白所介导,当激动剂持续刺激 GPCR 时,GRK 将磷酸化 GPCR,磷酸化后的 GPCR 与 β -arrestion 的亲和力提高, β -arrestion 将迅速与受体结合,从而引起 G 蛋白偶联受体的脱敏,脱敏后的受体在网格蛋白、发动蛋白、衔接蛋白(AP2)的联合作用下凹陷成网格蛋白包被小体,进而引发受体的内吞,这是经典的 G 蛋白偶联受体的内吞途径。除了网格蛋白介导的内吞途径,还有非依赖网格蛋白的内吞途径^[9],如细胞窖(caveolae)内吞方式,其内吞需要小窝蛋白(caveolin)的参与^[10]。 β -抑制蛋白(β -arrestins)是 GPCR 信号转导中重要的负调控因子,包含 β -arrestin1 与 β -arrestin2 2 种亚型。 β -arrestins 在 GPCR 的脱敏、内吞、复敏过程中具有重要作用^[11],以 GPCR 与 β -arrestins 的相互作用将受体分为 2 类:A 类和 B 类。A 类受体主要与 β -arrestin2 结合,形成的复合物不稳定,在受体被内吞的初期就快速再循环回到细胞膜上。B 类受体与 β -arrestin1 和 β -arrestin2 同等结合,形成稳

定的复合物,在受体内吞后慢速循环回到细胞膜上,受体的再循环复敏需要 Rab 的参与。激动剂的持续刺激导致受体的内吞,内吞导致细胞膜表面受体数量的下调,从而导致转导的信号减弱,这种作用方式可使细胞免受激动剂的持续刺激对细胞的影响,同时又可对 GPCR 有效利用。G 蛋白偶联受体的激动剂种类多种多样^[12],有离子、生物胺、脂类、胆汁酸、信号肽等类型,不同的激动剂将作用于不同种类的 G 蛋白偶联受体,并将选择不同的信号传导或内吞途径;配体和受体的多样性意味着药物的作用靶点的广泛性,因此,深入研究网格蛋白介导的 GPCR 的脱敏、内吞以及复敏的作用机制对于新药的研发,具有重要意义。

2 GPCRs 的脱敏机制

G 蛋白偶联受体激酶(G-protein-coupled receptors kinases, GRKs)由羧基端、氨基端和中心催化区组成。GPKs 通过两种途径参与 GPCR 的信号转导,一种是依赖 G 蛋白途径,需要 GRK2 与 GRK3 的参与;另一种是不依赖 G 蛋白途径,需要 GRK5 与 GRK6 的参与。当激动剂持续刺激 GPCR 时,GRK2/3 将磷酸化 GPCR 的第 3 个胞内环或者羧基端的丝/苏氨酸残基,被磷酸化的 GPCR 与 β -arrestins 的亲和力提高, β -arrestins 随即与之结合导致 GPCR 与 G 蛋白解耦联,即发生脱敏。GRK2/3 导致受体的下调与 GRK5/6 介导 ERK 信号途径具有竞争作用,使受体在脱敏和信号转导中维持相对平衡。然而 GRKs 在受体脱敏内吞中并非必不可少,GRKs 磷酸化 GPCR 使 β -arrestins 与受体的亲和力提高,但当 β -arrestins 过表达时,即使在缺失 GPKs 的情况下,受体也会发生脱敏。

3 GPCRs 内吞相关蛋白概述及其内吞机制

内吞导致受体在质膜数量上的下调,使 GPCR 介导的信号转导通路信号减弱,对信号转导具有明显的负调控作用。GPCR 的内吞有两种途径,依赖网格蛋白和非依赖网格蛋白介导的内吞途径,其中网格蛋白介导的内吞途径是 GPCR 内吞的最主要的经典内吞途径。

3.1 网格蛋白

1976 年 Pearse 等用聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)研究内吞时出现的包被小窝的外壳成分时,将在 180 ~ 190kD 大小的条带处的蛋白命

名为网格蛋白。网格蛋白是一种纤维蛋白,由 3 条重链(分子量 190kDa)和 3 条轻链(分子量 35 ~ 40kDa)组成,多个网格蛋白聚合组成五边形或者六边形的网格状结构,即网格蛋白小体(CCPs),在受体内吞过程中 CCPs 发挥核心作用^[13]。

3.2 衔接蛋白(AP2)

AP2 为异源四聚体,由 α 、 $\beta 2$ 、 $\mu 2$ 、 $\sigma 2$ 4 个亚单位组成,其功能作用见表 1。其中 α 、 $\beta 2$ 亚基的 C 末端为耳状物的结构域,与网格蛋白相连; $\mu 2$ 、 $\sigma 2$ 亚基与被转运的受体和磷酸肌醇相连。

表 1 AP2 亚基的种类与功能

亚单位	分子量/kDa	功能
α	100	磷酸肌醇结合位点,信号识别与定位
$\beta 2$	105	招募网格蛋白,信号识别与定位
$\mu 2$	50	含有 Yxx Φ 基序,可特异性结合被转运受体
$\sigma 2$	20	稳定自身结构

3.3 发动蛋白以及其他相关辅助因子

发动蛋白(Dynamin)属于 GTPase 蛋白家族,具有 GTP 酶活性。Koenig 等研究发现其在内吞过程中的作用是将质膜上包被小体的颈部横溢下来,使其与胞膜分离,该过程所需的能量是由其 N 端 GTP 酶活性中心水解 GTP 所获得。Amphiphysin 是一种弯曲敏感性蛋白,具有招募发动蛋白并引起发动蛋白多聚化的功能,继而形成环带状构造。AP-180 和 Calm 具有网格蛋白与质膜的衔接作用,能够促进网格蛋白的组装,AP-180 主要分布在神经末梢,Calm 分布在非神经组织中。

3.4 内吞机制

当激动剂持续刺激 G 蛋白偶联受体时,导致受体与 G 蛋白解耦联。若在与 G 蛋白解耦联后激动剂再次刺激受体,则不能引起下游信号的转导,即受体发生了脱敏反应。脱敏是受体内吞的先导信号,其所引发的内吞作用可分为被转运受体的识别、网格蛋白的招募、包被小体(图 1)的形成、脱壳 4 个过程:1)被转运受体的识别,受体脱敏后,衔接蛋白激酶 1(AAK1)被激活,AAK1 将磷酸化 AP2 结构中的 $\mu 2$ 亚基,使之与 PIP2 识别并牢固结合。结合导致 AP2 与被转运受体的结合位点(Yxx Φ 序列)被充分暴露出来,该序列参与识别受体的含酪氨酸的位点。研究表明,磷酸肌醇二磷酸(PIP2)在被转运体的识别以及在信号转导中发挥重要作用,

受体与 AP2 结合后磷脂酰肌醇磷酸激酶(PIPK)被激活,从而使 PIP2 在待转运受体周围的局部浓度升高,增加了膜结合位点,有利于被转运体的识别。2)网格蛋白的招募,AP2 是被转运体和网格蛋白连接的桥梁,AP2 的 $\mu 2$ 亚基上的 Yxx Φ 序列特异性识别被转运受体, β 亚基上含有 L Φ x Φ D/E 序列负责招募网格蛋白。Eps15 与 Epsin 辅助因子拥有许多 AP2 的结合位点,有利于 AP2 在被转运体周围的聚集,从而加速了网格蛋白的招募。3)包被小体的形成,由 AP2 招募的网格蛋白所组成的包被小体凹陷后,发动蛋白被招募到凹陷囊泡颈部的位置,发动蛋白多聚体在颈部形成了环带状构造,最终导致其与质膜分离。AP180 是一种在神经组织中特异表达的蛋白质,具有蛋白组装的活性,在网格蛋白包被小体形成时对其大小以及均匀程度进行调控。4)脱壳,包被小体的脱壳过程中有两个关键位点,一是网格蛋白与衔接蛋白结合位点,二是衔接蛋白与 PIP2 结合位点。网格蛋白包被小体被发动蛋白以及辅助蛋白剪切脱离质膜后,周期蛋白 G 相关激酶(GAK)招募 ATP 酶和热激同源蛋白 70(Hsc70)介导包被小体的脱壳,Hsc70 的作用机制为破坏网格蛋白与衔接蛋白之间的结合位点,导致两者解离。

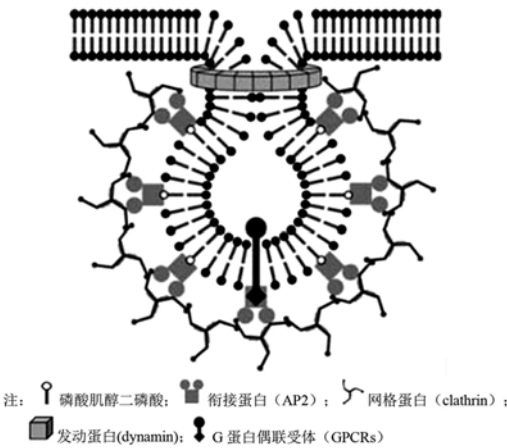


图 1 网格蛋白介导的 GPCRs 的内吞途径^[14]

4 GPCRs 的再循环复敏机制

内吞导致受体数量下调,信号转导功能减弱,这种工作方式可以使细胞免受激动剂的持续刺激对细胞的影响。进入胞质的包被小体有 2 个不同的去路:一种途径是再循环回到胞质表面复敏,如 $\beta 2AR$ 受体、Apelin 受体等;另一种途径是受体与

溶酶体结合导致降解,如 δ 阿片受体,此途径导致受体长时间下调, δ 阿片受体的脱敏内吞是导致机体对阿片类药物出现耐药性以及成瘾的主要因素。GPCRs 具有两种内吞方式:一种是依赖 GRK 磷酸化的内吞,通过该途径内吞的受体再循环到胞质表面;一种是非依赖 GRK 磷酸化的内吞,通过该途径内吞的受体将被转运至溶酶体进行降解。

复敏需要 Rab GTPases(小 G 蛋白家族)的参与^[15](图 2)。在网格蛋白包被小体脱离质膜的初

期 Rab5 立即与其结合,引导其进入早期内体,不同的 Rab 将介导受体的不同去路。Rab7 介导 GPCRs 的降解,Rab4、Rab11 介导受体的再循环,其中 A 类受体主要是 Rab4 介导受体的“快”循环路线,直接从早期内体循环到质膜上,而 B 类受体主要是 Rab11 介导的“慢”循环路线。再循环回到质膜上的 GPCRs 在磷酸酯酶的作用下脱磷酸,即发生了同源复敏。

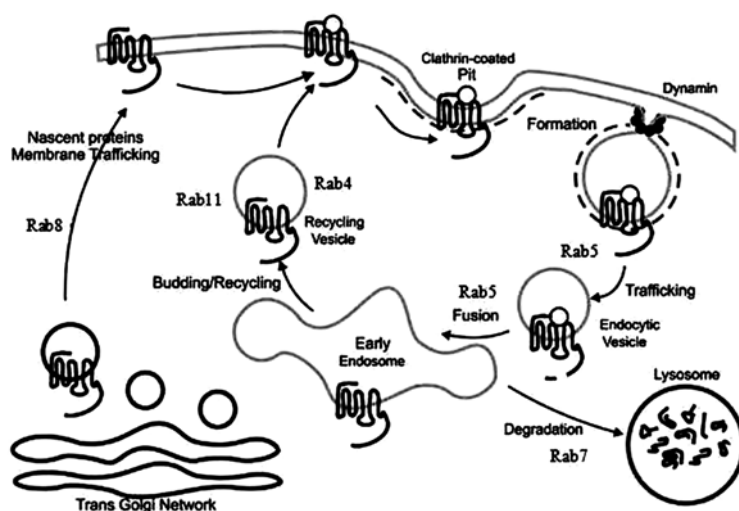


图 2 Rab GTPases 在网格蛋白介导的 GPCRs 内吞中的作用

5 网格蛋白介导的内吞途径抑制剂在研发广谱抗病毒药物中的应用

病毒感染所引发的疾病对人类健康造成重大威胁,抗生素的滥用不断导致新的耐药菌株的出现。网格蛋白所介导的内吞途径是大多数病毒进入宿主胞内的主要途径,抑制该途径中的任何一个环节都可阻止病毒的入侵。其中对该途径的研究主要集中在发动蛋白和网格蛋白抑制剂类药物的研发上,通过切断病毒侵入胞内的途径,可以在感染机体的初期将病原体隔离在胞外,病毒易发生变异产生耐药性,这就避免了抗生素的滥用所导致的耐药菌株的出现。

5.1 网格蛋白抑制剂

Von Kleist 等^[16]同样采用高通量的方法筛选出网格蛋白抑制剂 pitstop1 和 pitstop2,其作用机理是通过特异性的抑制网格蛋白的末端结构域与其他辅助蛋白的相互作用,使网格蛋白包被外壳不能进行组装。网格蛋白抑制剂的使用一定程度上降低了病毒的突变,抑制了病毒对机体的入侵,但细

胞内许多生理反应都是依赖网格蛋白介导的内吞途径(如 G 蛋白偶联受体的内吞,人体生长因子的内吞以及神经突触囊泡的内吞),网格蛋白抑制剂将会抑制该途径从而扰乱机体的正常生理功能,故此类药物尚在研究的初级阶段,相关副作用较多。

5.2 网格蛋白靶向变构剂及其它药物治疗

网格蛋白的靶向变构调节剂与传统的激动剂和拮抗剂相比较,在受体的靶向识别方面具有明显的优势。网格蛋白变构剂直接靶向作用于网格蛋白,使其发生变构,阻止网格蛋白正常功能的发挥。高渗蔗糖(0.4M)可以促使胞质内游离的网格蛋白组装成笼形,降低胞内游离状态的网格蛋白,从而一定程度上对内吞途径具有一定的抑制作用。

6 展望

偏向性配体/受体的发现极大丰富了 GPCRs 的信号转导通路,不同的配体刺激同一受体引发不同的信号通路^[17]。APJ 受体(血管紧张素受体 AT1 相关受体蛋白)是 O' Dowd 等在 1993 年发现的一种

G 蛋白偶联受体, apelin 是其天然配体, apelin 作用于 APJ 受体对心肌肥厚具有双重作用, 一是通过激活 G α i 蛋白信号途径对心肌细胞具有保护作用, 二是通过激活 G 蛋白非依赖途径 (β -arrestins 途径) 导致心肌细胞肥大。与大多数 GPCRs 相同, APJ 受体的羧基端具有与 β -arrestins 途径相关的磷酸化位点, 通过质谱筛查以及实验检测到羧基端的第 348 丝氨酸位点为 apelin-13 的磷酸化位点, 通过突变该位点可阻断 β -arrestins 途径, 但对 G 蛋白依赖的信号转导途径没有影响, APJ-348 突变体表现出了偏向性受体的特性, 为疾病的治疗提供了新的药物靶点^[18-19]。GPCRs 的信号转导通路中, 偏向性配体/受体通过什么机制, 来调节受体的脱敏、内吞、复敏作用, 对于新药研发具有重要意义。

G 蛋白偶联受体 (GPCRs) 通过信号转导、脱敏、内吞、复敏 3 者相互协调发挥作用, 这种作用方式可使细胞免受激动剂的持续刺激对细胞的影响, 同时又可对 GPCRs 有效利用。GPCRs 在哺乳动物中具有较多的数量和广泛的种类, 在机体中发挥了不可替代的作用, 偏向性受体/配体的发现可以特定的引起一种信号通路的级联反应, 而其它信号通路不参与应答, 这种工作方式大大减少了药物的毒副作用。随着直接特异性作用于 GPCRs 信号通路的药物研发越来越多, 因此, 深入探究 GPCRs 信号转导和内吞、复敏机制也越来越重要, 从而为药物的研发提供夯实的理论基础。

参考文献:

- [1] Rankovic Z, Brust T F, Bohn L M. Biased agonism: An emerging paradigm in GPCR drug discovery [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2016, 26 (2): 241-250. DOI: 10. 1016/j. bmcl. 2015. 12. 024.
- [2] Tsvetanova N G, Irannejad R, Von Zastrow M. G protein-coupled receptor (GPCR) signaling via heterotrimeric G proteins from endosomes [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290 (11): 6689-6696. DOI: 10. 1074/jbc. R114. 617951.
- [3] Clayton C C, Donthamsetti P, Lambert N A, et al. Mutation of three residues in the third intracellular loop of the dopamine D2 receptor creates an internalization-defective receptor [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289 (48): 33663-33675. DOI: 10. 1074/jbc. M114. 605378.
- [4] Shonberg J, Lopez L, Scammells P J, et al. Biased agonism at G Protein-Coupled receptors: the promise and the Challenges-A medicinal chemistry perspective [J]. *Med Res Rev*, 2014, 34 (6): 1286-1330. DOI: 10. 1002/med. 21318.
- [5] Thompson G L, Lane J R, Courdat T, et al. Biased agonism of endogenous opioid peptides at the μ -Opioid receptor [J]. *Mol Pharmacol*, 2015, 88 (2): 335-346. DOI: 10. 1124/mol. 115. 098848.
- [6] 陈京, 姜云璐. GPCRs 二聚体: 功能和药理作用展望 [J]. *济宁医学院学报*, 2015, 38 (1): 1-7, 25. DOI: 10. 3969/j. issn. 1000-9760. 2015. 01. 001.
- [7] 路海, 姜云璐, 陈京, 等. 食欲素研究现状及展望 [J]. *济宁医学院学报*, 2015, 38 (5): 339-343. DOI: 10. 3969/j. issn. 1000-9760. 2015. 05. 011.
- [8] Chilmonec Z, Bojarski A J, Sylte I. Ligand-directed trafficking of receptor stimulus [J]. *Pharmacological Reports*, 2014, 66 (6): 1011-1021. DOI: 10. 1016/j. pharep. 2014. 06. 006.
- [9] Wan M, Zhang W, Tian Y, et al. Unraveling a molecular determinant for Clathrin Independent internalization of the M2 muscarinic acetylcholine receptor [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 11408. DOI: 10. 1038/srep11408.
- [10] Guo S H, Zhang X H, Zheng M, et al. Selectivity of commonly used inhibitors of clathrin-mediated and caveolae-dependent endocytosis of G protein-coupled receptors [J]. *Biochimica et Biophysica Acta-Biomembranes*, 2015, 1848 (10, A): 2101-2110. DOI: 10. 1016/j. bbamem. 2015. 05. 024.
- [11] Kang D S, Tian X F, Benovic J L. Role of beta-arrestins and arrestin domain-containing proteins in G protein-coupled receptor trafficking [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2014, 27: 63-71. DOI: 10. 1016/j. ceb. 2013. 11. 005.
- [12] 王鑫, 陈京, 白波. 胆囊收缩素及受体调节食欲研究进展 [J]. *济宁医学院学报*, 2015, 38 (4): 278-280, 285. DOI: 10. 3969/j. issn. 1000-9760. 2015. 04. 015.
- [13] Chen X, Zheng C, Qian J, et al. Involvement of β -arrestin-2 and clathrin in agonist-mediated internalization of the human cannabinoid CB2 receptor [J]. *Curr Mol Pharmacol*, 2014, 7 (1): 67-80. DOI: 10. 2174/1874467207666140714115824.
- [14] Jz R. Focusing on clathrin-mediated endocytosis [J]. *Biochem J*, 2008, 412 (3): 415-423. DOI: 10. 1042/BJ20080474.
- [15] Jensen D D, Halls M L, Murphy J E, et al. Endothelin-converting enzyme 1 and beta-arrestins exert spatiotemporal control of substance P-induced inflammatory signals [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289 (29): 20283-20294. DOI: 10. 1074/jbc. M114. 578179.

(下转第 132 页)

- and Endothelial-Mesenchymal transition [J]. J Am Coll Cardiol, 2014, 63 (24) : 2734-2741. DOI: 10. 1016/j. jacc. 2014. 02. 572.
- [13] Yancy C W, Jessup M, Bozkurt B, et al. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure; executive summary a report of the American college of cardiology foundation/American heart association task force on practice guidelines [J]. Circulation, 2013, 128 (16) : 1810-1852. DOI: 10. 1161/CIR. 0b013e31829e8807.
- [14] Cleland J G, Tendera M, Adamus J, et al. The perindopril in elderly People with chronic heart failure (PEP-CHF) study [J]. Eur Heart J, 2006, 27 (19) : 2338-2345. DOI: 10. 1093/eurheartj/ehl250.
- [15] Massie B M, Carson P E, McMurray J J, et al. Investigators, I. P. , irbesartan in patients with heart failure and preserved ejection fraction [J]. N Engl J Med, 2008, 359 (23) : 2456-2467. DOI: 10. 1056/NEJMoa0805450.
- [16] Yusuf S, Pfeffer M A, Swedberg K, et al. Effects of candesartan in patients with chronic heart failure and preserved left-ventricular ejection fraction; the CHARM-Preserved Trial [J]. Lancet, 2003, 362 (9386) : 777-781. DOI: 10. 1016/S0140-6736 (03) 14285-7.
- [17] Pitt B, Pfeffer M, Assmann S F, et al. Spironolactone for heart failure with preserved ejection fraction [J]. N Engl J Med, 2014, 370 (15) : 1383-1392. DOI: 10. 1056/NEJMoa1313731.
- [18] Solomon S D, Zile M, Pieske B, et al. The angiotensin receptor neprilysin inhibitor LCZ696 in heart failure with preserved ejection fraction; a phase 2 double-blind randomised controlled trial [J]. Lancet, 2012, 380 (9851) : 1387-1395. DOI: 10. 1016/S0140-6736 (12) 61227-6.
- [19] Jacobshagen C. Late Sodium current and Calcium overload--pathogenesis and adequate treatment [J]. Dtsch Med Wochenschr, 2013, 138 (16) : 842-847. DOI: 10. 1055/s-0033-1343117.
- [20] Maier L S, Layug B, Karwowska-Prokopczuk E, et al. RAnoLazIne for the treatment of diastolic heart failure in patients with preserved ejection fraction; the RALI-DHF proof-of-concept study [J]. JACC Heart Fail, 2013, 1 (期缺失) : 115-122. DOI: 10. 1016/j. jchf. 2012. 12. 002.
- [21] Faria A P, Modolo R, Moreno B V, et al. Effects of PDE type 5 inhibitors on left ventricular diastolic dysfunction in resistant hypertension [J]. Arq Bras Cardiol, 2015, 104 (1) : 85-89. DOI: 10. 5935/abc. 20140159.
- [22] Redfield M M, Chen H H, Borlaug B A, et al. Effect of phosphodiesterase-5 inhibition on exercise capacity and clinical status in heart failure with preserved ejection fraction; a randomized clinical trial [J]. JAMA, 2013, 309 (12) : 1268-1277. DOI: 10. 1001/jama. 2013. 2024.
- [23] Wang Y C, Yu C C, Chiu F C, et al. Soluble ST2 as a biomarker for detecting stable heart failure with a normal ejection fraction in hypertensive patients [J]. J Card Fail, 2013, 19 (3) : 163-168. DOI: 10. 1016/j. cardfail. 2013. 01. 010.
- [24] Bayraktar A, Canpolat U, Demiri E, et al. New insights into the mechanisms of diastolic dysfunction in patients with type 2 diabetes [J]. Scand Cardiovasc J, 2015, 49 (3) : 142-148. DOI: 10. 3109/14017431. 2015. 1039571.
- [25] Zouein F A, Bras L E, Da Costa D V, et al. Heart failure with preserved ejection fraction; emerging drug strategies [J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2013, 62 (1) : 13-21. DOI: 10. 1097/FJC. 0b013e31829a4e61.
- [26] Komajda M, Lam C S. Heart failure with preserved ejection fraction; a clinical dilemma [J]. Eur Heart J, 2014, 35 (16) : 1022. DOI: 10. 1093/eurheartj/ehu067.

(收稿日期 2016-03-17)

(上接第 127 页)

- [16] Von Kleist L, Stahlschmidt W, Bulut H, et al. Role of the clathrin terminal domain in regulating coated pit dynamics revealed by small molecule inhibition [J]. Cell, 2011, 146 (3) : 471-484. DOI: 10. 1016/j. cell. 2011. 06. 025.
- [17] Shukla A K, Singh G, Ghosh E. Emerging structural insights into biased GPCR signaling [J]. Trends Biochem Sci, 2014, 39 (12) : 594-602. DOI: 10. 1016/j. tibs. 2014. 10. 001.
- [18] Chen X Y, Bai B, Tian Y J, et al. Identification of serine 348 on the apelin receptor as a novel regulatory phosphorylation site in apelin-13-induced G protein-independent biased signaling [J]. J Biol Chem, 2014, 289 (45) : 31173-31187. DOI: 10. 1074/jbc. M114. 574020.
- [19] Crunkhorn S. G protein-coupled receptors: Illuminating orphan GPCRs [J]. Nat Rev Drug Discov, 2016, 15 (1) : 15. DOI: 10. 1038/nrd. 2015. 32.

(收稿日期 2016-02-09)