

---

# 研究揭示激活态多巴胺受体D1R和D2R配体选择性和G蛋白选择性的机理

作者：writer 来源：中国科学院

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/12725.html>

*本文仅供学习交流之用，版权归原作者所有，请勿用于商业用途！*

单胺类神经递质是广泛分布在人体内的一类化学信号分子，包括多巴胺（dopamine, DA）、肾上腺素（adrenaline）和五羟色胺（serotonin, 5-HT）等，这些信号分子共同调控人体内包括情绪及记忆在内的多种生理功能并维持机体内环境稳态。多巴胺作为人体内一种重要的单胺类神经递质，通过多巴胺能神经系统，对中枢神经系统（CNS）和外周神经系统（PNS）的功能进行调控。多巴胺能信号主要由人体中一类被称为多巴胺受体（dopamine receptors, DRs）的G蛋白偶联受体（G protein-coupled receptor, GPCR）介导，包括D1R到D5R五个受体成员。按照偶联下游G蛋白种类的不同，这些受体可进一步分为D1类受体和D2类受体，其中，D1类受体包含D1R和D5R，主要与激活型G蛋白Gs偶联，刺激下游第二信使环状单磷酸腺苷（cAMP）的生成；包括D2R、D3R和D4R在内的D2类受体主要与抑制性G蛋白Gi/o偶联，抑制cAMP形成。在五种DRs中，D1R和D2R是CNS中表达最丰富的受体，主要分布在基底神经节和前额叶皮层中。D1R和D2R介导的多巴胺能信号对奖赏、认知、运动协调和神经内分泌功能等在内的高级脑部功能具有重要意义，其发生异常与一些神经精神疾病密切相关，包括阿尔兹海默症（Alzheimer's disease, AD）、帕金森氏病（Parkinson's disease, PD）、精神分裂症、认知障碍、注意力缺陷多动症（Attention deficit hyperactivity disorder, ADHD）以及药物成瘾和滥用等。作为多巴胺受体家族的代表成员，D1R和D2R是治疗PD及精神分裂症的热门药物靶点。

D1R选择性激动剂长期以来被认为是治疗PD的有效方法，但目前上市的D1R激动剂药物大多是D2样受体的选择性激动剂。已开发的D1R选择性激动剂由于受到代谢快（儿茶酚结构特征）及无法透过血脑屏障等缺陷的影响，尚无通过临床研究用于神经精神类疾病治疗；在治疗精神分裂症中，尽管可以通过目前的药物作用D2样受体以有效治疗正面症状，但它们在减轻负面症状和认知缺陷方面效率低下，而D1R选择性激动剂则可作为精神类疾病患者提高认知的潜在治疗途径。此外，D1R激动剂还被普遍认为是治疗ADHD和药物成瘾的有效治疗方法。通过对D1R和D2R受体进行结构药理学研究并揭示其配体选择性的分子机制，对理解配体结合特性、受体激活和设计更高效的多巴胺受体靶向抗神经精神疾病类药物具有重要的科学意义和临床应用价值。

目前，尽管已有一些多巴胺受体亚型的结构获得解析，包括D2R、D3R和D4R与拮抗剂结合复合物的晶体结构以及D2R（突变型）与激动剂复合物的低分辨率冷冻电镜结构，然而，对于D1类受体，尤其是D1R，自D1R基因被发现及克隆近30年来，其受体结构仍处于未知状态，这限制了学界对D1R配体识别和受体激活机制的理解，成为制约基于结构的靶向D1R受体药物研发的重要科学问题。

---

针对上述难题，中国科学院上海药物研究所研究员徐华强课题组联合美国匹兹堡大学教授张诚课题组、浙江大学医学院与浙江省良渚实验室教授张岩课题组、北卡罗来纳大学教堂山分校教授Brian L. Roth课题组等，应用冷冻电镜技术（Cryogenic electron microscopy, Cryo-EM）首次解析了帕金森病治疗药物apomorphine（DRs泛激动剂）、D1R/D5R选择性全激动剂SKF81297以及G蛋白信号偏好性D1R/D5R选择性部分激动剂SKF83959激活下D1R与下游Gs蛋白复合物的高分辨率冷冻电镜结构，分辨率为2.9埃-3.0埃。此外，研究人员还解析了帕金森病治疗药物bromocriptine激活下D2R（野生型）与Gi复合物2.8埃分辨率的冷冻电镜结构（图1）。这些结构数据结合功能实验结论揭示了D1R和D2R配体结合口袋的拓扑结构特性、潜在的受体激活机制、配体激动剂选择性识别并激活D1R和D2R的分子机制、D1R的G蛋白偏好性激活决定因素以及D1R和D2R在G蛋白选择性差异上的结构基础等。

上述研究成果为以D1R和D2R为药物靶点的选择性激动剂药物的设计和开发，以及G蛋白信号偏好性D1R靶向药物设计提供了重要的结构基础和理论依据。相关研究成果以Structural insights into the human dopamine D1R and D2R receptor signaling complexes为题，于2月11日在线发表在Cell上。这是继2月5日发表在Molecule Cell

上关于D3R的工作之后徐华强课题组和张岩课题组等在大多巴胺能系统方向进行结构和功能系列研究的又一重要研究进展，进一步加深了学界对该系统的认识。

研究发现，D1R在结构上表现为经典的七次跨膜螺旋结构，其中，配体正性结合位点位于受体胞外端，由胞外loop及跨膜螺旋部分组成；Gs蛋白偶联界面位于受体胞内端，由近胞内端结构域组成。SKF81297、SKF83959及apomorphine均属于D1R的儿茶酚胺类激动剂，在与D1R的结合上，三种激动剂与受体上结合口袋的相互作用模式类似，其中，最典型的是配体上的氨基与D1033.32之间形成离子相互作用，这个作用位点在所有单胺类受体上极其保守。在结合模式上，三种激动剂的儿茶酚结构朝向TM5，但整体构象存在细微差别，这种细微差别导致不同配体在激活效力及信号通路偏好性的差异。研究人员对比D1R与SKF81297、SKF83959的结构细节发现，虽然SKF83959比SKF81297仅多了两个甲基，但受到SKF83959结构上azepine环上额外的甲基与D1R上疏水氨基酸F3137.35、W3217.43空间位阻效应影响，相比于SKF81297，SKF83959更接近TM5并限制了TM5向跨膜区中心内移，使SKF83959表现出比SKF81297更弱的激活效力，这与salmeterol部分激活2AR的原理相似。此外，SKF83959作为D1R的G蛋白偏好性激动剂的机制长期以来未得到解释，通过结构比对和

arrestin募集实验分析，研究人员发现，与SKF83959上azepine环内额外的甲基相互作用的D1R TM5上的氨基酸残基F2886.51、F2896.52以及TM7上的V3177.39在SKF83959的G蛋白偏好性活性上发挥重要作用，为设计更安全的G蛋白偏好性D1R激动剂提供了结构基础和理论依据。

研究人员对比D1R与非选择性激动剂apomorphine的结构发现，apomorphine的结合比SKF化合物更远离D1R的胞外loop 2（ECL2）。进一步比较D1R和D2R的结构，研究人员发现，D1R和D2R的ECL2在拓扑结构上存在明显差别，D2R的ECL2上的“CIIA”基序相比于D1R的“CDSS”基序更靠近正构结合位点中心，若SKF化合物和apomorphine以类似的模式结合到D2R，D2R的ECL2（尤其是氨基酸残基I184）将与SKF化合物而不是apomorphine发生空间位阻效应。比较D2R-bromocriptine的结构发现，bromocriptine远离D2R ECL2区域，避免了与之发生位阻效应，这些结果表明ECL2在D1R和D2R的配体选择性上发挥重要调控作用。Bromocriptine在对D1R的结合力上比D2R大概低50倍。通过D1R和D2R的结构比对发现，D1R的配体结合口袋更狭窄，相比于D2R，D1R的TM6近胞外端往跨膜中心内移5.5埃并与bromocriptine发生一定程度空间位阻，D1R上的非保守的带正电氨基酸K81在能量上不利于与bromocriptine的结合，这些因素共同决定了bromocriptine对D2R具有更高的亲和力（图2）。

---

虽然D1R与D2R分属于同一GPCR家族，然而在进化树分析上D1R与 2AR更接近。与之对应的是，在结构上，D1R和 2AR表现出高度的相似性，尤其是在跨膜区TM5-7、保守的P5.50I3.40F6.44基序及DR3.50Y基序上，这些发现预示D1R和 2AR具有相似的激活机制。同为单胺类受体，D1R和 2AR表现出对不同单胺类神经递质的选择性。该研究发现，将D1R TM7上的V317突变成 2AR对应的氨基酸残基天冬酰胺（N），能够提高D1R对 2AR选择性神经递质肾上腺素及其衍生物异丙肾上腺素的结合效力，表明V317.39在决定D1R对多巴胺而非其他单胺类神经递质的选择性上具有重要意义。

在下游G蛋白偶联上，D1R主要偶联Gs，D2R主要偶联Gi，研究人员同时对两者偶联下游G蛋白选择性的机制进行了探索。结果表明，激活态下D1R和D2R的近胞内端结构的构象差异直接引起各自在偶联下游G蛋白的不同（图3），这些差异体现在以下三个方面：（1）相比于D2R，D1R TM6的近胞内端外移了8.4埃以容纳Gs上 5螺旋C末端庞大的氨基酸侧链；D2R近胞内端区域形成的凹腔不足以容纳Gs的C末端复杂的氨基酸侧链并与之发生空间位阻，但可容纳Gi的C末端较为简单的氨基酸侧链，从而导致D1R和D2R对不同G蛋白的选择性；（2）相比于D2R，D1R的TM5较长，往胞内区更多延伸了2.5个 螺旋并于Gs的Ras结构域形成进一步的相互作用；（3）相比于D2R，D1R的ICL2多了1个 螺旋，使之与Gs的Ras结构域形成更强的疏水相互作用网络。这些因素表明，TM6和 5螺旋等的构象决定D1R和D2R对Gs/Gi的选择性，这和徐华强团队在2018年报道的Rhodopsin-Gi结构通过分子动力学模拟揭示的Gs/Gi选择性机制相符合。

综上，研究人员通过解析选择性D1R激动剂、非选择性多巴胺受体激动剂激活下D1R-Gs和D2R-Gi复合物的结构，结合功能试验数据，阐释了D1R和D2R在配体选择性和G蛋白选择性识别上的机制等重要的生物学问题，为开发以D1R和D2R为靶标的选择性药物、更安全的抗神经精神疾病类药物提供了重要的结构和理论基础。

2月11日的同期Cell

上，来自四川大学的邵振华团队和北京大学的孙金鹏团队以“背靠背”形式发表了题为Ligand recognition and allosteric regulation of DRD1-Gs signaling complexes

的研究论文，该研究报道了D1R与不同激动剂配体以及D1R与变构调节剂的结构，揭示了D1R的激动剂配体、变构调节剂的结合特性和潜在的变构调节机制。其中，针对D1R与内源性配体dopamine、正性变构调节剂的结合及调节机制这一问题，徐华强课题组联合张岩课题组、Bryan L. Roth课题组等也开展了进一步的研究，相关成果已以预印本形式在线发表在BioRxiv网站上（<https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.02.07.430101v1>）。

冷冻电镜数据的收集工作在上海药物所冷冻电镜平台和浙江大学冷冻电镜中心完成。上海药物所2020届博士毕业生庄友文、上海药物所博士生徐沛雨、浙江大学基础医学院博士后毛春友、美国匹兹堡大学博士后Lei Wang、北卡罗来纳大学教堂山分校Brian. Krumm、美国温安洛研究所X. Edward. Zhou为论文的共同第一作者，徐华强、张诚、张岩、Bryan L. Roth为论文的共同通讯作者。上海药物所为该研究的第一完成单位。研究工作得到上海市市级科技重大专项、科学技术部重点研发计划、中科院战略性先导科技专项、国家自然科学基金委、浙江省自然科学基金委、美国国立卫生研究院等的资助，获得中科院院士、上海药物所研究员蒋华良和美国温安洛研究所教授Karsten Melcher的帮助。

[论文链接](#)

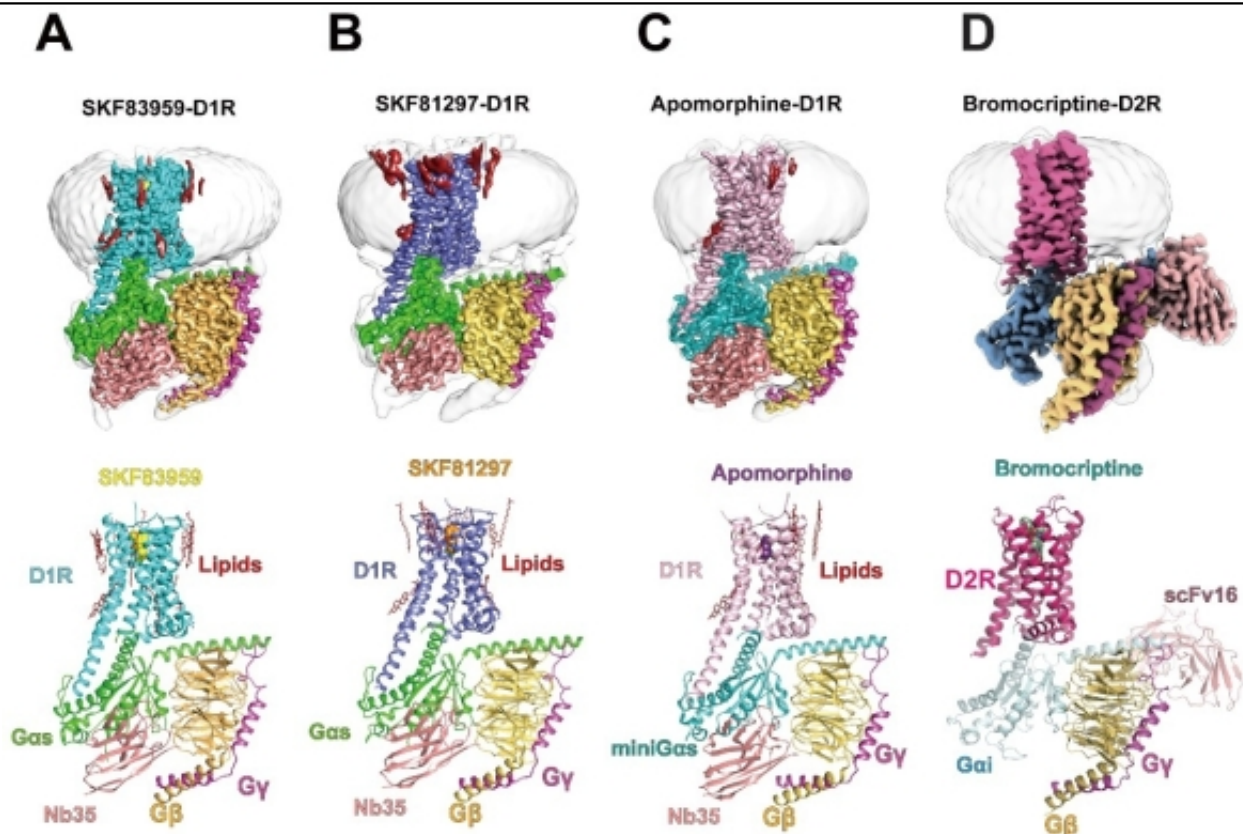


图1.D1R-Gs和D2R-Gi复合物结构

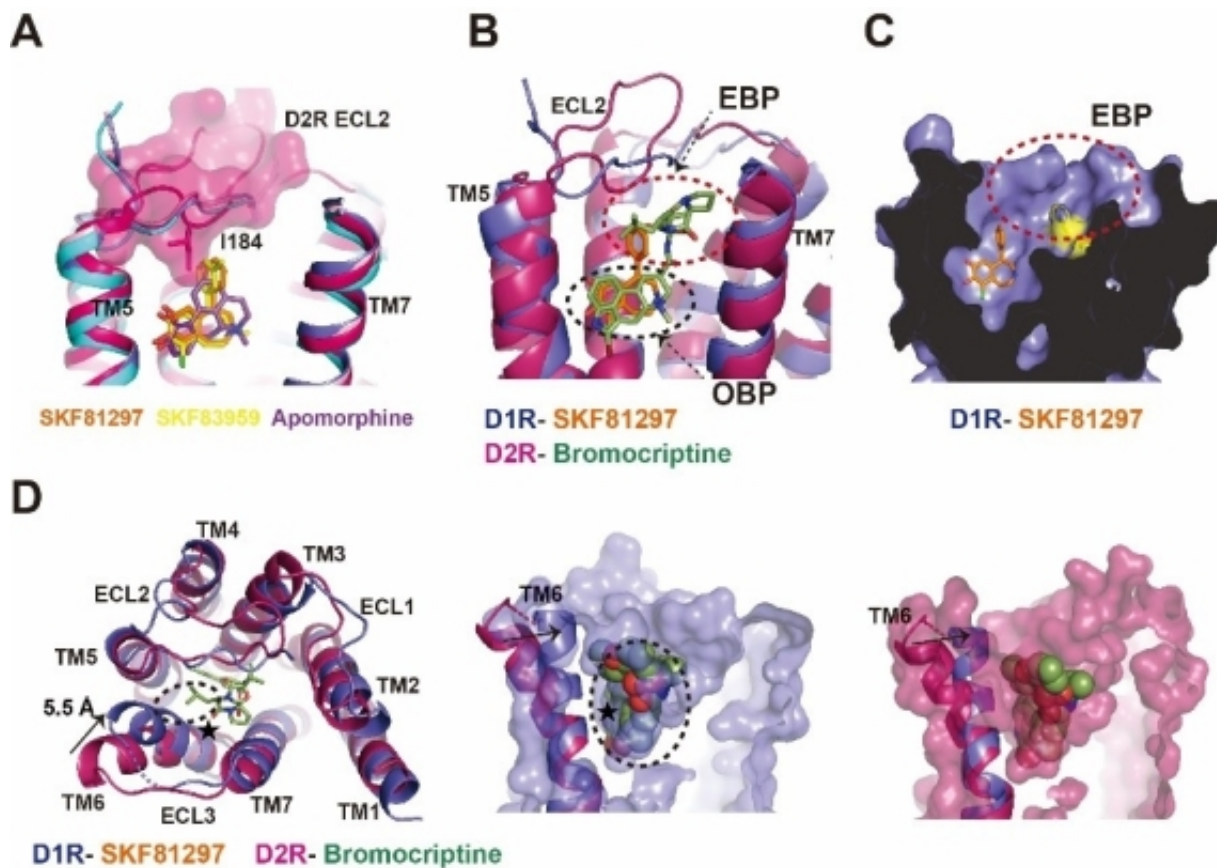


图2.D1R和D2R配体结合特性的比较

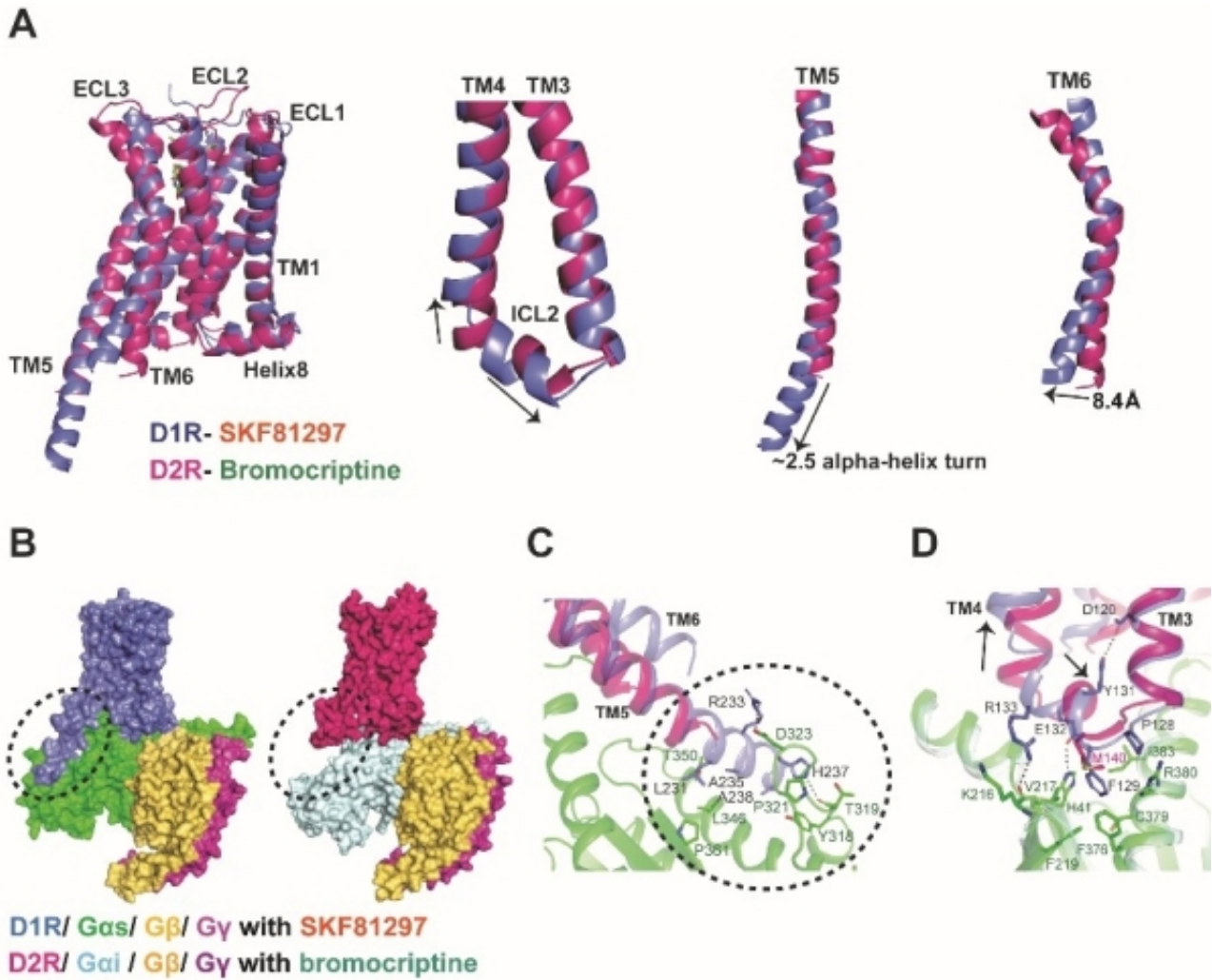


图3.D1R和D2R在G蛋白偶联上的差异比较

研究团队单位：上海药物研究所

更多 科学进展 请访问 <https://www.iikx.com/news/progress/>

本文版权归原作者所有，请勿用于商业用途，[爱科学iikx.com](http://www.iikx.com)转发