G蛋白偶联受体的信号通路多样性及药物开发

杨照, 肖鹏, 于晓, 孙金鹏*

山东大学基础医学院, 济南 250012

* 联系人, E-mail: sunjinpeng@sdu.edu.cn

收稿日期: 2018-9-19; 接受日期: 2018-10-16; 网络版发表日期: 2018-11-07

G蛋白偶联受体(G protein-coupled receptor, GPCR)是人类基因组编码的最大膜蛋白家族, 包含视紫红质样受体、分泌素受体、谷氨酸类受体、黏附类受体和Frizzled/Taste2受体等5个大类共800多个受体成员^[1-5]. GPCR受体家族的概念是由杜克大学的Lefkowitz教授和斯坦福大学的Kobilka在1986年首次提出. Lefkowitz与Kobilka等人^[6,7]在克隆 β 肾上腺素受体后, 将其序列与视紫红质进行比较, 发现二者具有相似的7次跨膜拓扑结构, 他们随即提出所有7次跨膜受体都可能具有偶联G蛋白能力的假说. 目前认为, GPCR的共同结构特点是具有保守的7次跨膜 α 螺旋, 通过3个胞内环和3个胞外环相连, 其N-末端和C-末端分别在细胞外和细胞内. 细胞膜表面的GPCR可以感受胞外信号刺激, 包括激素、神经递质、脂肪酸、离子和光等, 进而激活细胞内的信号通路, 引发细胞响应, 行使多种生理功能^[8-17]. GPCR几乎参与人体内目前已知的所有生理活动, 是重要的药物靶点, 目前约有33%的临床药物直接作用于GPCR^[18]. 正是因为GPCR在药物开发和药理研究中的重要性, 相关研究一直是药理学和医学的研究热点. 关于GPCR的研究已经获得10次诺贝尔奖, 最近的一次由Lefkowitz教授和Kobilka教授于2012年共同获得^[19-21].

顾名思义, GPCR主要通过偶联异三聚体的G蛋白行使功能^[22]. 结合配体后, 处于激活态的GPCR可以催

化G α 亚基上结合的二磷酸鸟苷(Guanosine diphosphate, GDP)向三磷酸鸟苷(Guanosine triphosphate, GTP)的置换, 促使G蛋白的激活和G α 亚基与G $\beta\gamma$ 亚基的解离. 不同的G α 亚基(G α_s , G $\alpha_{i/o}$, G $\alpha_{q/11}$, G $\alpha_{12/13}$)介导特异性的胞内第二信使(如cAMP和磷脂酰肌醇等)的生成, 引发不同的细胞信号通路^[23]. 激活态GPCR的胞内环和C-末端的部分氨基酸可以被细胞内的激酶磷酸化, 这些激酶包括第二信使依赖性激酶(如PKA(protein kinase A)和PKC(protein kinase C)等)和第二信使非依赖性激酶, 后者主要由GPCR激酶家族(GRKs)构成^[24]. GRK介导的受体磷酸化可以促使 β -arrestin的招募, 而受体与 β -arrestin的结合对其与G蛋白的偶联形成空间阻碍, 造成受体脱敏(desensitization), β -arrestin同时可以结合网格蛋白clathrin等多种内吞相关蛋白, 引发受体内吞(Internalization), 从而形成一种GPCR信号通路的负反馈调节机制^[15,25]. 过去20年的研究发现, β -arrestin除了可以扮演G蛋白信号终结者的角色之外, 其自身也可以通过构象变化结合下游效应分子, 如SRC(sparse representation-based classifier), ERK(extracellular regulated protein kinases), PDE(Phosphodiesterase), DGK(Diacylglycerol kinase)和TRPC3(transient receptor potential canonical 3)等, 引发特异性的信号通路^[9-11,14,17,26-28]. 因此 β -arrestin作为信号分子, 除了调控G蛋白信号通路之外, 还可以独立介导非G蛋白依赖

引用格式: 杨照, 肖鹏, 于晓, 等. G蛋白偶联受体的信号通路多样性及药物开发. 中国科学: 生命科学, 2018, 48: 1238-1244

Yang Z, Xiao P, Yu X, et al. Signaling diversity of G protein-coupled receptors and corresponding drug development. Sci Sin Vitae, 2018, 48: 1238-1244, doi: 10.1360/N052018-00160

性的信号通路,在GPCR信号转导系统中起关键作用。

传统意义上用来解释GPCR激活机制的是“二态模型”,即认为受体存在激活态和非激活态,二者保持动态平衡,在此模型中,同一受体的多种激动剂具有相似的效能,可以将受体稳定在激活构象。目前市场上的临床药物也主要基于此理念进行开发,因此靶向GPCR的药物经常以受体的激动剂和拮抗剂来进行区分。但这种药物靶向的简单性与GPCR具有多种功能的特性存在着巨大的鸿沟,因此往往产生疗效不佳或者副作用突出等问题。1999年,杜克大学Lefkowitz教授研究组^[29]发现Arrestin除了具有介导受体内吞和脱敏的功能外,还具有GPCR下游独立信号的转导功能,如激活SRC等信号分子。Lefkowitz研究组^[30]继而在2007年提出可以利用G蛋白或者Arrestin两种GPCR下游不同的信号通路发展药物,这种利用GPCR偏向性配体来增进药物疗效的理念,成为近10年来GPCR药物研发的热点。然而,最近研究发现,GPCR的功能不仅仅区分为G蛋白依赖性和Arrestin依赖性两种,而是存在着更精细的指导规则,并可被药物开发所利用。综上所述,从20世纪60年代以来,GPCR的药物开发经历了从单一靶向(激动剂vs拮抗剂)到两种功能的偏向性(G蛋白vs Arrestin),再到应用多种功能的机制更精确的发展药物的阶段(图1A)。随着时间的进展,药物开发的理念在不停革新。本文将结合本实验室最新的研究进展,从GPCR研究最前沿的功能多样性的信号转导机制进行切入,并对其在药物开发方向的应用进行展望。

1 G蛋白和Arrestin介导的偏向性信号通路及药物应用

传统观念认为GPCR的配体平衡性作用于受体下游的所有信号通路,包括多种G蛋白介导的信号传导途径和 β -arrestin介导的信号通路。应用化学标记和质谱分析的方法, Lefkowitz课题组^[32,33]发现 β 肾上腺素受体的不同配体引起受体多种不同的构型,因此提出受体的多态可塑性这一概念。按照“受体多态可塑性”理论,某些配体可以使受体稳定在特异性的活性构象状态,从而选择性地激活下游某条或某些信号通路。这种偏向性配体可以特异性地激活G蛋白介导的或者 β -arrestin介导的信号通路,相较于传统的“平衡型配体”,呈现出更强的靶向性,对于新型药物的开发具有

指导意义^[34]。例如,传统的临床药物吗啡通过激活 μ 型鸦片受体(μ -opioid receptor, MOR)起到镇痛作用,但是同时会产生呼吸抑制、便秘和药物耐受性等副作用,限制了其应用。已有研究表明, MOR的G蛋白信号通路调控其药效作用,而 β -arrestin信号通路则与诸多的副作用相关,因此特异性激活MOR下游G蛋白信号通路的偏向性配体相对于平衡型配体具有更高的成药潜力,成为目前研究的热点,现在已有TRV130和PZM21等MOR的G蛋白偏向性配体进入临床阶段^[35,36]。除了MOR之外,目前在其他许多GPCR的研究中也发现了偏向性信号通路,这些研究为应用G蛋白或者Arrestin偏向性配体开发药物奠定了理论基础。例如,中国科学院上海生命科学研究院的裴钢教授课题组^[37,38]和上海药物研究所的谢欣教授课题组^[39]先后发现CXCR4 (C-X-C chemokine receptor type 4), GPR84(G-protein coupled receptor 84), D2R等受体的偏向性信号通路指导下游不同的功能。本课题组^[4,13,14]最近的研究发现胆囊收缩素受体(cholecystokinin type1 receptor, CCK1R)和听觉相关受体VLGR1(Very large G protein-coupled receptor 1)的偏向性信号通路可以作为治疗糖尿病或者Usher综合征的潜在开发靶点。

人的CCK1R在外周组织如胃肠、胰腺和胆囊中广泛分布,在中枢神经系统中亦有表达。我们应用药理学和细胞生物学的多种实验方法,在小鼠(*Mus musculus*)离体胰岛和MIN6细胞系中对CCK1R的信号通路进行了研究,结果表明胰岛 β 细胞中的CCK1R被内源性配体CCK-8s激活后,通过Gs, Gq和 β -arrestin1行使不同的生理功能: CCK1R的Gq-PLC-IP3信号通路促进低糖状态下的胰岛素分泌,而Gs-cAMP-PKA/Epac信号通路则特异性地调控高糖状态下的胰岛素分泌, β -arrestin-1则通过激活ERK1/2-p90RSK-Bad信号通路抑制细胞凋亡,同时可以与Gs-cAMP通路相互作用调节胰岛素分泌^[14]。这些研究结果提示Gs和 β -arrestin-1偏向性的CCK1R配体将对血糖的调控和糖尿病的治疗具有更积极的作用。

不仅Arrestin介导的GPCR信号通路可以作为改善病理过程的治疗靶点, G蛋白介导的GPCR偏向性信号通路也可作为药物开发的潜在靶点。VLGR1是人类GPCR家族中最大的成员,其全长有6000多个氨基酸,与很多突变和听力障碍的Usher综合征相关^[4]。我们的研究发现, VLGR1-y6236fx1的疾病相关突变会导致组

图1 药物靶向的简单性与GPCR功能多样性

A: 针对GPCR的药物开发经历了从单一靶向到G蛋白和Arrestin两种功能的偏向性,再到应用GPCR功能多样性发展精准靶向药物的阶段; B: 五羟色胺受体2B的不同的激动剂引发多样性的信号通路(引自[31])

成性Gi信号途径的激活,因此促进听毛细胞的凋亡,可能是导致Usher综合征的原因^[13].因此如果选择性地抑制VLGR1的Gi偏向性信号通路,而不影响受体其他的信号转导功能,有可能开发出治疗Usher综合征的新的药物.

除以上研究结果外,我们还发现 β 肾上腺素受体可以通过 β -arrestin-1信号通路激活ERK,从而可以在短时间内促进学习记忆以及对胰岛稳态有重要的调控作用,为哮喘类药物福莫特罗等的应用奠定了新的基础^[10,28].

2 GPCR受体磷酸化笛子模型与GPCR功能多样性

GPCR激活后,其功能不仅仅简单地地区分为G蛋白依赖和Arrestin依赖,而是有更精确的调控机制.以五羟色胺受体2B为例,不同的激动剂激活该受体可以引发多种多样的信号通路变化(图1B)^[31].另外,Lefkowitz教授在2012年进行诺贝尔奖获奖报告时,引用其2010年发表在PNAS上的工作,指出同一受体通过Arrestin即可指导数百种不同的潜在功能^[26].然而,目前对GPCR如何精确指导多种功能的理论尚不完善,因此很难针对性开发精准靶向GPCR的治疗药物.

本课题组在最近的研究中,从GPCR启动Arrestin

的偏向性途径入手,在国际上首次提出,GPCR因与Arrestin的不同作用模式,理论上可以产生上千种不同的构型,为其行使多种功能提供了可能性.我们发现因GPCR具有与Arrestin不同的作用模式如同手指操纵笛子的音孔一样是受到精确调控的,因此创新性地命名这一模型为受体与Arrestin相互作用并指导其功能的“笛子模型”.这一模型为“GPCR超家族如何通过有限下游效应器产生多种多样的功能”这一难题提供了部分的理论阐释.

为研究受体与Arrestin作用的精确模式,本课题组与中国科学院生物物理所王江云教授实验室合作,创新性地发展了一种非天然氨基酸整合技术,可以特异地观察Arrestin与磷酸化受体作用模式的¹⁹F-NMR探针(二氟代酪氨酸, F2Y)(图2A).应用这种创新性技术,本研究发现,在GPCR下游信号转导分子Arrestin的N端有10个磷酸根结合区,可以行使GPCR磷酸化编码的阅读器功能.即使GPCR的磷酸化位点的一级序列不同,但如果其作用于相同的Arrestin磷酸根结合区,即可形成独特的磷酸化编码,从而产生特异性的Arrestin构型,选择性地指导Arrestin功能^[8,15].我们依据这些实验现象提出了受体磷酸化的“笛子模型”,即将Arrestin的10个磷酸根结合区类比为10个笛孔,受体的磷酸化C末端如同手指一般作用在笛孔之上,不同的作用模式产生特异的“音调”,指导Arrestin不同的生理

图 2 应用非天然氨基酸整合技术解析GPCR-arrestin作用模式

A: 非天然氨基酸整合技术和¹⁹F-NMR探针, 并因其结构设计的特异性可以非常灵敏地感受羟基基团附近的电荷变化; B: Arrestin识别受体磷酸化编码的笼子模型

功能。例如，磷酸化的受体如果结合Arrestin的编码为1-4-6-7，即可通过Arrestin来招募Clathrin，从而导致受体内吞；而磷酸化的受体如果结合Arrestin的编码为1-5，则通过Arrestin激活SRC，从而特异性地促进细胞的定向迁移。Arrestin有10个磷酸根结合区，理论上可形成的磷酸化编码组合为 $2^{10}-1=1023$ 种。因此我们预测受体通过磷酸化编码可介导产生超过1000种特异的Arrestin构型，是其行使多种功能的分子基础(图2B)。笛子模型为靶向GPCR的偏向性途径来开发药物提供了理论指导，拓宽了靶向GPCR进行药物设计的可选择策略。例如，我们设计和筛选可以直接作用于Arrestin的Aptamer(具有很多磷酸基团)，来模拟受体的磷酸化编码，从而启动Arrestin的偏向性功能，实现有效的药物干预。

延续这一工作, 我们还发现笛子模型中的磷酸根结合区5(笛子音符5), 可以通过两条不同的别构调控路径来选择性的指导Arrestin上的两个富含脯氨酸结构域的特异性构型, 从而特异性地与具有SH3功能域的下游蛋白进行偶联, 并别构激活部分具有SH3功能域的激酶的活力, 这一工作最近在Nat Chem Biol发表^[40]. 该研究成果不仅建立了700多个GPCR与下游近300个具有SH3功能域信号蛋白的偶联机制, 还提出了Arrestin激活下游蛋白的别构激活机制, 为更好地理解GPCR功能

多样性并开发精准靶向药物奠定了理论基础.

3 GPCR的区域性信号转导是GPCR功能多样性的原因

GPCR在静息状态和激活状态，可以分布在细胞膜、高尔基体、内吞体等不同的亚细胞结构上，并可特异性地激活其附近的G蛋白信号分子，从而进行区域性信号转导、介导独特的生理功能^[41-46]。我们最近在对血管紧张素受体AT1R和孤儿受体GPCR64的研究中发现，Arrestin介导的GPCR功能也具有显著的区域性信号转导特性，因此通过受体的亚细胞结构定位分析，可以更精准地开发靶向GPCR的药物。

TRV027是一种偏向性激活AT1R下游Arrestin信号途径的配体,对心脏功能具有一定的保护作用,然而其并未通过二期临床测试.我们怀疑其可能对肾上腺素这一导致心衰的重要因子有促进分泌的作用,因此检验了其在肾上腺中对肾上腺素分泌的作用.我们的研究发现,TRV027可选择性地促进AT1R, β -Arrestin-1, PLC γ 和TRPC3形成区域性信号转导复合物,从而促进肾上腺素分泌,增加心衰的风险^[9].而AT1R与 β -Arrestin-2和ERK在内吞体上形成的区域性信号复合体促进心肌细胞的抗凋亡活性,对心脏具有保护功能.因

此, 开发促进AT1R/ β -Arrestin-2/ERK在内吞体上形成区域性复合体的配体, 避免AT1R/ β -Arrestin-1/PLC γ /TRPC3在细胞膜上的区域性信号复合体的形成, 或许可以克服TRV027的副作用, 成为更好的治疗心脏病的药物。

不仅如此, 我们还在另一项研究中发现, β -Arrestin-1介导GPR64, Gq和氯离子通道CFTR(cystic fibrosis transmembrane regulator)在顶膜上形成区域性信号转导复合体, 从而调节输出小管酸碱平衡和溶液的重吸收, 在精子成熟的过程中起到重要的作用^[11]。在 β -arrestin-1的敲除小鼠中, GPR64与CFTR定位异常, 其在顶膜上的区域性信号转导遭到破坏, 导致输出小管酸碱平衡失调和溶液的重吸收障碍。靶向GPR64和CFTR开发特定的药物, 或可改善特定条件下的男性不育, 同时也有望发展出人工干预男性避孕过程的新方法。以

上研究结果表明, GPCR区域性信号转导是GPCR功能多样性的重要基础之一, 并可针对性发展更精确的靶向GPCR的药物。

4 总结

GPCR是最大的跨膜蛋白家族及重要的药物靶点, GPCR在不同的配体作用下具有功能多样性的特质, 而靶向GPCR开发药物也经历了从单一靶向, 到G蛋白和Arrestin偏向性, 再到应用多种功能开发精确靶向药物的理念革新过程。在可以期待的未来, 我们希望能和国内以及国际上的同行一起, 阐明GPCR功能多样性的指导规律, 研究不同GPCR在多种疾病过程中的作用机制, 发展更精准的靶向GPCR的药物, 为改善人类健康做出贡献。

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: 339–357
- 2 Dong J H, Chen X, Cui M, et al. Beta2-adrenergic receptor and astrocyte glucose metabolism. *J Mol Neurosci*, 2012, 48: 456–463
- 3 Sun J, Zhang D, Wang Y, et al. The role of G protein-coupled receptors in cochlear planar cell polarity. *Int J Biochem Cell Biol*, 2016, 77: 220–225
- 4 Sun J P, Li R, Ren H Z, et al. The very large G protein coupled receptor (VLgr1) in hair cells. *J Mol Neurosci*, 2013, 50: 204–214
- 5 Xiao P, Yang L, Zhang C, et al. Discovery of GPCR superfamily and elucidation its working mechanisms and structures, to decode 2012 Nobel Prize in Chemistry. *Prog Biochem Biophys*, 2012, 39: 1050–1060
- 6 Kobilka B K, Dixon R A F, Frielle T, et al. cDNA for the human beta 2-adrenergic receptor: a protein with multiple membrane-spanning domains and encoded by a gene whose chromosomal location is shared with that of the receptor for platelet-derived growth factor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987, 84: 46–50
- 7 Dixon R A F, Kobilka B K, Strader D J, et al. Cloning of the gene and cDNA for mammalian β -adrenergic receptor and homology with rhodopsin. *Nature*, 1986, 321: 75–79
- 8 Yang F, Yu X, Liu C, et al. Phospho-selective mechanisms of arrestin conformations and functions revealed by unnatural amino acid incorporation and ¹⁹F-NMR. *Nat Commun*, 2015, 6: 8202
- 9 Liu C H, Gong Z, Liang Z L, et al. Arrestin-biased AT1R agonism induces acute catecholamine secretion through TRPC3 coupling. *Nat Commun*, 2015, 8: 14335
- 10 Dong J H, Wang Y J, Cui M, et al. Adaptive activation of a stress response pathway improves learning and memory through Gs and β -arrestin-1-regulated lactate metabolism. *Biol Psychiatry*, 2017, 81: 654–670
- 11 Zhang D L, Sun Y J, Ma M L, et al. Gq activity- and β -arrestin-1 scaffolding-mediated ADGRG2/CFTR coupling are required for male fertility. *Elife*, 2018, 7: e33432
- 12 Li T, Yu B, Liu Z, et al. Homocysteine directly interacts and activates the angiotensin II type I receptor to aggravate vascular injury. *Nat Commun*, 2018, 9: 11
- 13 Hu Q X, Dong J H, Du H B, et al. Constitutive G α_i coupling activity of very large G protein-coupled receptor 1 (VLGR1) and its regulation by PDZD7 protein. *J Biol Chem*, 2014, 289: 24215–24225
- 14 Ning S, Zheng W, Su J, et al. Different downstream signalling of CCK₁ receptors regulates distinct functions of CCK in pancreatic beta cells. *Br J*

- Pharmacol*, 2015, 172: 5050–5067
- 15 Yang Z, Yang F, Zhang D, et al. Phosphorylation of G protein-coupled receptors: from the barcode hypothesis to the flute model. *Mol Pharmacol*, 2017, 92: 201–210
- 16 Wang X J, Zhang D L, Xu Z G, et al. Understanding CELSRs-cadherin EGF LAG seven-pass G-type receptors. *J Neurochem*, 2014, 131: 699–711
- 17 Liu H D, Wang W, Xu Z, et al. FFA4 receptor (GPR120): a hot target for the development of anti-diabetic therapies. *Eur J Pharmacol*, 2015, 763: 160–168
- 18 Santos R, Ursu O, Gaulton A, et al. A comprehensive map of molecular drug targets. *Nat Rev Drug Discov*, 2017, 16: 19–34
- 19 李慧, 郑文帅, 龚正, 等. 从医生到杰出科学家. *山东大学学报医学版*, 2012, 50: 1–9
- 20 李慧, 孙金鹏. 生命中的两次召唤. *山东大学学报医学版*, 2012, 50: 10–11
- 21 孙金鹏. 化学奖-膜受体蛋白的马拉松. *科学FANS*, 2012, 12: 13–14
- 22 Oldham W M, Hamm H E. Heterotrimeric G protein activation by G-protein-coupled receptors. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, 9: 60–71
- 23 Rosenbaum D M, Rasmussen S G F, Kobilka B K. The structure and function of G-protein-coupled receptors. *Nature*, 2009, 459: 356–363
- 24 Smith J S, Lefkowitz R J, Rajagopal S. Biased signalling: from simple switches to allosteric microprocessors. *Nat Rev Drug Discov*, 2018, 17: 243–260
- 25 Lefkowitz R J. G protein-coupled receptors. III. New roles for receptor kinases and beta-arrestins in receptor signaling and desensitization. *J Biol Chem*, 1998, 273: 18667–18680
- 26 Xiao K, Sun J, Kim J, et al. Global phosphorylation analysis of β -arrestin-mediated signaling downstream of a seven transmembrane receptor (7TMR). *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 15299–15304
- 27 Reiter E, Ahn S, Shukla A K, et al. Molecular mechanism of β -arrestin-biased agonism at seven-transmembrane receptors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2012, 52: 179–197
- 28 Wang H M, Dong J H, Li Q, et al. A stress response pathway in mice upregulates somatostatin level and transcription in pancreatic delta cells through Gs and β -arrestin 1. *Diabetologia*, 2014, 57: 1899–1910
- 29 Luttrell L M, Ferguson S S G, Daaka Y, et al. β -Arrestin-Dependent Formation of β_2 Adrenergic Receptor-Src Protein Kinase Complexes. *Science*, 1999, 283: 655–661
- 30 Wisler J W, DeWire S M, Whalen E J, et al. A unique mechanism of beta-blocker action: Carvedilol stimulates beta-arrestin signaling. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 16657–16662
- 31 Roth B L, Irwin J J, Shoichet B K. Discovery of new GPCR ligands to illuminate new biology. *Nat Chem Biol*, 2017, 13: 1143–1151
- 32 Kahsai A W, Rajagopal S, Sun J, et al. Monitoring protein conformational changes and dynamics using stable-isotope labeling and mass spectrometry. *Nat Protoc*, 2014, 9: 1301–1319
- 33 Kahsai A W, Xiao K, Rajagopal S, et al. Multiple ligand-specific conformations of the β_2 -Adrenergic Receptor. *Nat Chem Biol*, 2011, 7: 692–700
- 34 Wisler J W, Xiao K, Thomsen A R B, et al. Recent developments in biased agonism. *Curr Opin Cell Biol*, 2014, 27: 18–24
- 35 Schmid C L, Kennedy N M, Ross N C, et al. Bias factor and therapeutic window correlate to predict safer opioid analgesics. *Cell*, 2017, 171: 1165–1175.e13
- 36 Manglik A, Lin H, Aryal D K, et al. Structure-based discovery of opioid analgesics with reduced side effects. *Nature*, 2016, 537: 185–190
- 37 Sun Y, Cheng Z, Ma L, et al. β -Arrestin2 Is Critically Involved in CXCR4-mediated Chemotaxis, and This Is Mediated by Its Enhancement of p38 MAPK Activation. *J Biol Chem*, 2002, 277: 49212–49219
- 38 Lu J, Li X, Wang Q, et al. Dopamine D2 receptor and β -arrestin 2 mediate Amyloid- β elevation induced by anti-parkinson's disease drugs, levodopa and priribedil, in neuronal cells. *PLoS One*. 2017, 12: e0173240
- 39 Zhang Q, Yang H, Li J, et al. Discovery and characterization of a novel small-molecule agonist for medium-chain free fatty acid receptor G protein-coupled receptor 84. *J Pharmacol Exp Therapeutics*, 2016, 357: 337–344
- 40 Yang F, Xiao P, Qu C X, et al. Allosteric mechanisms underlie GPCR signaling to SH3-domain proteins through arrestin. *Nat Chem Biol*, 2018, 14: 876–886
- 41 Thomsen A R B, Plouffe B, Cahill T J, et al. GPCR-G protein- β -arrestin super-complex mediates sustained G protein signaling. *Cell*, 2016, 166: 907–919
- 42 Cahill T J, Thomsen A R B, Tarrasch J T, et al. Distinct conformations of GPCR- β -arrestin complexes mediate desensitization, signaling, and

- endocytosis. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2017, 114: 2562–2567
- 43 Irannejad R, Pessino V, Mika D, et al. Functional selectivity of GPCR-directed drug action through location bias. [Nat Chem Biol](#), 2017, 13: 799–806
- 44 Eichel K, Jullié D, von Zastrow M. β -Arrestin drives MAP kinase signalling from clathrin-coated structures after GPCR dissociation. [Nat Cell Biol](#), 2016, 18: 303–310
- 45 Irannejad R, Tomshine J C, Tomshine J R, et al. Conformational biosensors reveal GPCR signalling from endosomes. [Nature](#), 2013, 495: 534–538
- 46 Jensen D D, Lieu T M, Halls M L, et al. Neurokinin 1 receptor signaling in endosomes mediates sustained nociception and is a viable therapeutic target for prolonged pain relief. [Sci Transl Med](#), 2017, 9: eaal3447