

DOI: 10.13376/j.cblls/2020106

文章编号: 1004-0374(2020)08-0845-10

GPCR在类风湿关节炎中的作用机制研究进展

于凤至^{1,2}, 孙朋^{1,2*}

(1 华东师范大学体育与健康学院, 上海 200241; 2 华东师范大学
“青少年健康评价与运动干预”教育部重点实验室, 上海 200241)

摘要: 类风湿关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 是一种以滑膜炎为特征的自身免疫性疾病, 伴有异常免疫反应。G 蛋白偶联受体 (G protein coupled receptor, GPCR) 是人体最大的跨膜受体家族, 介导 RA 的发生发展过程, 其相关信号通路在 RA 炎症和免疫应答过程中发挥重要作用。研究发现, GPCR/AC/cAMP 相关通路, 如 β 2-ARs/AC/cAMP、EP2/4/AC/cAMP 和 CXCR/AC/cAMP 等信号通路, 以及相关调节蛋白, 如 GRK 和 β -arrestins 等, 可能参与 RA 的淋巴细胞功能异常、血管生成及关节破坏等病理过程。由此, β 2-ARs 等受体以及 GRK 等调节蛋白可能作为 RA 的潜在治疗靶标。现通过简要阐述 GPCR 相关通路及其调节蛋白的特点, 以期加深对 GPCR 参与 RA 调控的认识, 为类风湿关节炎药物的开发提供新的思路。

关键词: G 蛋白偶联受体; 类风湿关节炎; 调节蛋白

中图分类号: Q51; R593.22 **文献标志码:** A

Research progress on the mechanism of GPCR in rheumatoid arthritis

YU Feng-Zhi^{1,2}, SUN Peng^{1,2*}

(1 College of Physical Education and Health, East China Normal University, Shanghai 200241, China;
2 Key Laboratory of Adolescent Health Assessment and Exercise Intervention, Ministry of Education,
East China Normal University, Shanghai 200241, China)

Abstract: Rheumatoid arthritis (RA) is an autoimmune disease characterized by synovitis with abnormal immune response. As the largest transmembrane receptor family, G protein coupled receptor (GPCR) mediates the occurrence and development of RA, and its related signaling pathway plays a key role in RA inflammation and immune response. Previous studies have shown that GPCR/AC/cAMP pathways, including β 2-ARs/AC/cAMP, EP2/4/AC/cAMP and CXCR/AC/cAMP, as well as regulatory proteins, including GRK and β -arrestins, can participate in pathological processes such as lymphocyte dysfunction, angiogenesis and joint destruction in RA. Therefore, the GPCR and regulatory proteins may serve as potential therapeutic targets for RA. This review systematically described the characteristics of GPCR related pathways and their regulatory proteins, in order to deepen the understanding of GPCR involved in RA regulation and provide new ideas for the development of rheumatoid arthritis drugs.

Key words: G protein-coupled receptor; rheumatoid arthritis; regulatory protein

类风湿关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 是一种慢性炎症性疾病, 其特征是滑膜和关节组织中炎性白细胞和自身抗体 (类风湿因子和抗瓜氨酸蛋白抗体) 的积累, 其病理特征为疼痛、肿胀和滑膜关节破坏并最终导致关节功能障碍^[1]。近年来, RA 的适应性免疫反应一直是研究的重点。异常炎症和免疫反应可引起相关炎性细胞因子、生长因子和基质

金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP) 的过度分泌, 导致滑膜炎和关节退化, 病程初期表现为某些关节受累, 后期可发展为全身性的关节畸形^[2]。

收稿日期: 2020-04-17; 修回日期: 2020-05-23

基金项目: 国家社会科学基金项目 (BLA170225)

*通信作者: E-mail: psun@tyxx.ecnu.edu.cn

目前,全世界大约有1%的人口患有RA,且女性高于男性^[3]。

G蛋白偶联受体(G protein coupled receptor, GPCR)也称七次跨膜螺旋受体,包括游离胞外的N端和游离胞内的C端,属于人体最大的跨膜蛋白家族。人类基因组编码超过800个GPCR,其结构和功能多样化,涉及多种生理功能调控和病理发展进程^[4]。研究发现,多个GPCR,如 β 2-肾上腺素能受体(adrenergic receptors β 2, β 2-ARs)、前列腺素E2(prostaglandin E2, PGE2)受体、趋化因子受体(chemokine receptors, CXCRs)和腺苷受体(adenosine receptors, ARs)等,可通过介导跨膜信号转导响应细胞外刺激,参与RA病理和生理进程^[5]。本文通过对现有研究进行综述,从RA炎症和免疫反应着手,探讨GPCR对RA的影响,为改善骨健康提供新的思路。

1 GPCR的生理功能

1.1 结构与功能

GPCR作为哺乳动物最大的跨膜蛋白超家族,为七跨膜(7TM)拓扑结构,其编码基因占人类基因组的2%以上^[6]。GPCR可响应多种细胞外刺激,如离子、氨基酸、神经递质和趋化因子等。根据其氨基酸序列不同,分为5个主要家族和众多亚家族,在神经、内分泌和免疫等系统中均发挥重要作用^[7]。同时,GPCR信号转导还受到许多调节分子如G蛋白偶联受体激酶(G-protein coupled receptor kinase, GRK)和抑制蛋白(β -arrestin)的调节^[8]。2017年,研究发现,GPCR对多种化学调节剂具有亲和力,可作为重要的药物靶点,目前已上市的以GPCR为靶点的药物占所有人类蛋白质药物靶标的12%,约占现代药物的34%^[9-10]。

1.2 信号通路

不同GPCR可识别不同的配体,并通过GDP-GTP转换诱导G蛋白活化,转导细胞外信号^[11]。异三聚体G蛋白,作为GPCR信号转导中的关键介体,由 α 、 β 和 γ 亚基组成^[12]。根据亚基的序列和功能,G蛋白可进一步分为4个不同的亚家族:Gai、Gas、G12/13和Gaq/11^[13]。与Gas偶联的GPCR激活腺苷酸环化酶(adenylate cyclase, AC),并引起细胞cAMP的增加;而与Gai偶联的GPCR会抑制AC,降低cAMP水平。Gaq激活后可诱导磷脂酶C(phospholipases C, PLC)将磷脂酰肌醇二磷酸(phosphatidylinositol diphosphate, PIP₂)转化为三磷酸肌醇(inositol triphosphate,

IP₃),而IP₃可促进Ca²⁺的释放^[14]。GPCR胞质部分具有高度动态的胞内裂隙,可容纳信号伴侣,其中包括异三聚体G蛋白、GRK和 β -arrestin在内的胞内蛋白可与GPCR结合,启动胞内信号级联反应^[15-16]。GRK的蛋白质稳定性调节是反馈调节的通用机制。 β -arrestin是一类小蛋白质家族,是G蛋白信号转导终止和GPCR介导的阻滞剂信号转导所必需的^[17-18]。 β -arrestin通过GRK的磷酸化激活GPCR,使G蛋白信号转导终止。 β -arrestin的募集和激活需要GPCR磷酸化,其使G蛋白与受体分离并触发受体内化,引发 β -arrestin介导的信号级联反应^[19]。

2 RA的发病机制及GPCR在RA中的作用

2.1 RA的发病机制

RA是以滑膜增生和骨侵蚀为主要特征的自身免疫性疾病,其临床病理过程主要表现为三个方面:(1)关节局部炎症细胞浸润引发慢性炎症;(2)关节滑膜细胞浸润生长导致滑膜增厚;(3)骨侵蚀和软骨组织受损^[20]。炎性细胞在关节组织中的积累是RA的一个标志性特征,但这种积累被认为主要是炎症组织中的细胞募集,而不是局部白细胞增殖的结果。人类白细胞抗原(HLA)-DRB1基因中的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)与遗传性RA密切相关,该基因可能会改变T细胞库的选择和抗原呈递^[21]。RA患者的B细胞库也受到限制,早期B细胞耐受检查的缺陷已被证实,但对其机制仍缺乏研究^[22]。

研究发现,RA患者关节腔滑膜中存在免疫细胞(例如T细胞、B细胞和巨噬细胞)浸润^[23]。辅助性T细胞可分泌促炎细胞因子,诱导滑膜内巨噬细胞分泌TNF- α 、IL-6和IL-1等细胞因子,促进滑膜细胞增殖(滑膜成纤维细胞具有浸润生长和增生的特点,异常增殖时导致滑膜增厚,进而侵蚀关节软骨导致关节畸形)^[24]。辅助性T细胞如Th1和Th2细胞,可分泌免疫抑制性细胞因子如IFN- γ 、IL-4,抑制T细胞和其他免疫细胞的活性^[25]。在TNF- α 、IL-1、IL-6等的作用下,最终促进滑膜内破骨细胞的生成及活性,造成软骨的过度侵蚀,诱发RA(图1)。

2.2 GPCR对RA的影响

GPCR作为骨骼系统中一类多样性细胞膜受体,可响应激素、炎症因子和剪切应力等外部信号,调节关节炎及软骨重建,参与风湿病的病理过程^[26]。如腺苷及其受体的激动剂,被广泛用于治疗自身免

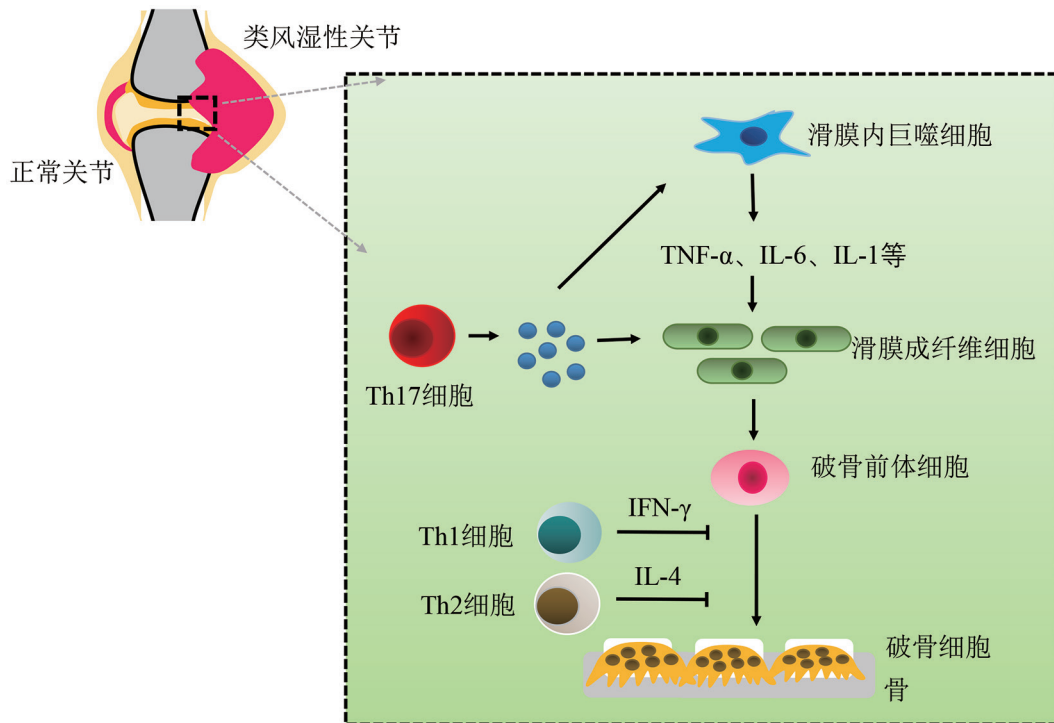


图1 RA形成过程

疫性炎症和类风湿关节炎等疾病^[27]。实验研究发现,多种 GPCR 受体,如腺苷、趋化因子、激肽 B2、补体因子和蛋白酶激活受体等,广泛分布在关节腔滑膜上。不同的信号分子或配体与 GPCR 结合可调节 G 蛋白的活性,并激活下游相关通路,促进或抑制 RA 的发生^[26]。具体机制包括: Gas 和 Gai 影响 AC 活化以调节细胞内 cAMP 水平; Gαq 可激活 PLC, 增加细胞内 Ca²⁺ 浓度; β-arrestin/GRK 途径可激活下游丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 和磷脂酰肌醇-3 激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/ 蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB; 即 Akt) 等信号通路,对 RA 的滑膜增生和骨侵蚀产生直接或间接的影响 (表 1)。

3 GPCR相关信号转导通路在RA中的作用

GPCR 与其配体结合后被激活,并介导经典的 AC/cAMP/PKA 信号通路,引发一系列生理和病理反应,在大多数细胞功能调节中均发挥重要作用^[42]。不同的 GPCR,如 β2-ARs、PGE2 受体、CXCRs 和腺苷受体,介导的下游通路在 RA 炎症和免疫反应中发挥不同的生理效应 (图 2)。

3.1 β2-ARs信号转导通路

β2-ARs 是最早发现的 G 蛋白偶联受体,可作

为交感神经系统与免疫系统之间的重要纽带,主要表达于骨骼肌、心肌,以及 T 细胞、B 细胞和 NK 细胞等外周血淋巴细胞^[43]。β2-ARs 和 Gas 的相互作用形成了 GPCR 激活三元复合模型的基础。β2-ARs 在靶细胞上的表达受到配体的动态调节^[44]。β2-ARs 与配体结合后可启动 β2-ARs/AC/cAMP 跨膜信号,调节细胞功能。

β2-ARs 具有时间依赖性和免疫调节作用,在人和啮齿类动物的先天免疫和适应性免疫细胞中均有表达^[44]。与健康受试者相比,RA 患者单核细胞、B 细胞和 CD8⁺ 细胞等外周血单核细胞 (peripheral blood mononuclear cell, PBMC) 和滑膜液淋巴细胞中 β2-ARs 的表达水平较低,交感神经对 RA 免疫反应的影响减弱^[45]。研究发现,在胶原诱导性关节炎 (collagen-induced arthritis, CIA) 小鼠模型中,去甲肾上腺素 (norepinephrine, NE) 通过激活 β2-ARs/PKA 信号通路抑制 Th17 细胞的分化^[46]。在人体研究中,RA 患者 PBMC 对体外 NE 给药的治疗反应较差,而 β2-ARs 的激动剂特布他林可促进 RA 患者滑膜细胞 cAMP 的产生并抑制 TNF-α 的生成,抑制 RA 炎症进程^[47]。动物模型中,佐剂性关节炎 (adjuvant arthritis, AA) 大鼠的脾细胞和引流淋巴结 (draining lymph nodes, DLNs) 细胞中 PKA 磷酸化的 β2-ARs

表1 相关GPCR调控RA功能一览表

GPCR	功能与作用	研究模型	作者/年份
A1	下调TNF- α 等RA相关炎症因子的表达	小鼠	Shakya等, 2019 ^[27]
A2A	下调IL-1、TNF- α 和IL-6等RA相关炎症因子的表达	小鼠	Pal等, 2019 ^[28]
A3	下调TNF- α 和NF- κ B等炎症因子的表达	小鼠	Storme等, 2018 ^[29]
GPR56	促进RA患者MMPs活性	人	Tseng等, 2018 ^[30]
CCR1	下调RA炎症状态	小鼠	Saeki等, 2003 ^[31]
CCR2	促进嗜中性粒细胞渗透作用, 促进RA发生	人	Taylor等, 2019 ^[32]
CXCR3	促进关节炎因子的表达	小鼠	Bakheet等, 2020 ^[33]
CXCR4	促进关节淋巴细胞蓄积	人和大鼠	Tamamura等, 2007 ^[34]
CCR5	促进关节滑膜淋巴新生	人	Scholten等, 2012 ^[35]
CCR7	促进类风湿关节炎关节炎和Th17介导的破骨细胞形成	人	Van Raemdonck等, 2020 ^[36]
EP2	促进单核细胞表达, 增强炎症反应	人	Peng等, 2019 ^[37]
EP4	促进M2型巨噬细胞极化, 加重RA进程	小鼠	Yang等, 2019 ^[38]
GPR91	促进巨噬细胞活化, 加重RA进程	小鼠	Littlewood-Evans等, 2016 ^[39]
GPR43	抑制RA相关细胞因子、趋化因子、氧化应激标记物和炎症信号的表达	人	Zhang等, 2020 ^[40]
GPR39	改善滑膜炎、血管侵袭和关节细胞外基质的酶降解	人	Jing等, 2019 ^[41]

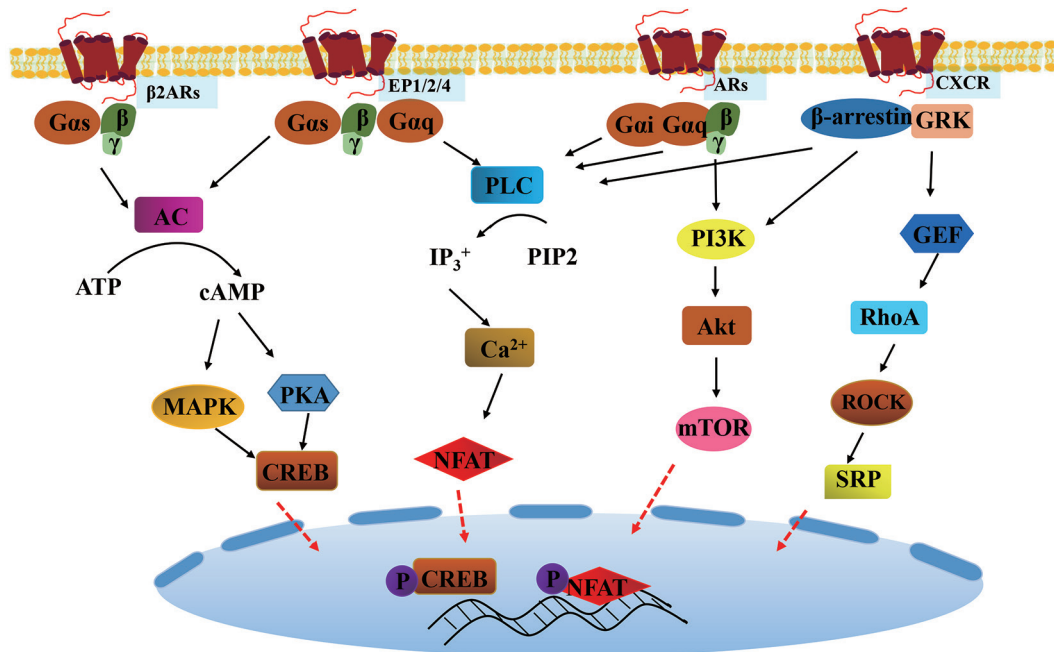


图2 RA相关GPCR信号转导通路

(p β 2-AR_{PKA}) 减少, 而 p β 2-AR_{PKA} 可减弱与气体的耦合作用, 增强与 Gai 的偶联^[48]。Zhao 等^[49] 研究发现, CIA 和 AA 大鼠肠系膜淋巴结 (mesenteric nodes, MLNs) 淋巴细胞中 β 2-ARs 的表达明显降低, CIA 大鼠滑膜细胞和肠系膜淋巴结淋巴细胞 (mesenteric lymph node lymphocytes, MLNLs) 中 cAMP 水平显著低于

正常大鼠。综上所述, β 2-ARs 信号转导通路可能与 RA 患者中淋巴细胞功能异常有关。

3.2 PGE2受体转导通路

PGE2 受体为 PKA 的有效激动剂, 也是相关细胞因子和蛋白酶的诱导剂。PGE2 可通过 4 种不同的前列腺素 (E-prostanoids, EPs) 受体发挥其生物活

性作用, 即 EP1、EP2、EP3 和 EP4, 均属于 GPCR 超家族成员^[50]。PGE2 与 EP2/4 结合可激活 AC, 进一步活化 Gas 并启动下游信号通路 cAMP/PKA/cAMP 响应元件结合蛋白 (cyclic-AMP response binding protein, CREB)。PGE2 与 EP1 结合, 激活 Gαq 并启动 PLC/IP₃/Ca²⁺/活化 T 细胞核因子 (nuclear factor of activated T-cell, NFAT)^[51]。

近年研究发现, PGE2 可能参与 RA 发病进程, 非甾体类抗炎药物, 即 PGE2 合成抑制剂, 对 RA 有良好的治疗效果^[52]。T 细胞抗原呈递细胞 (antigen-presenting cell, APC) 共培养系统中, PGE2 可诱导 IL-23 和 IL-1β 的生成, 进而促进 IL-17 的产生, 并可通过 cAMP 和 EP2/EP4 通路增强 Th17 细胞的分化能力^[53]。PGE2 与 EP4 结合可增加 NF-κB 配体受体激活剂 (receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand, RANKL) 的活性, 促进破骨细胞的形成; PGE2 还可通过抑制巨噬细胞集落刺激因子 (macrophage colony-stimulating factor, M-CSF) 在滑膜成纤维细胞 (synovial fibroblast, FLS) 中的表达, 抑制破骨细胞的形成^[54]。类风湿滑膜中产生的 PGE2 通过 EP4 负向调节滑膜异常生长和破骨细胞活性的发展, 且 EP4 特异性激动剂对滑膜组织来源的炎性细胞活性有明显的抑制作用, 并呈剂量依赖性^[55]。FLS 中 PGE2 与 EP2/EP4 结合激活 Rap1, GTPase Rap1 可调控多种细胞功能。PGE2 还可促进 TNF-α 诱导的 RA 患者 FLS 中 IL-6 mRNA 的表达^[56]。动物研究发现, PGE2 可促进 AA 大鼠 FLS 增殖, 提高膜 EP4 受体蛋白水平, 引发关节继发性炎症反应^[57]。GRK2 介导的 PGE2/EP4/cAMP/CREB 信号转导异常可导致 CIA 小鼠巨噬细胞极化失衡^[38]。研究发现, EP2 和 (或) EP4 可能抑制 TNF-α 和 IL-6 的生物合成, 且 AA 大鼠滑膜组织中 EP2 和 EP4 的表达显著降低, 提示 PGE2 可通过激活 EP2 和 EP4 受体相关通路介导 RA 进程, 对 EPs 信号通路进行修饰可能成为 RA 的一种新的治疗策略^[58]。

3.3 CXCRs 信号转导通路

CXCRs 属于 GPCR 家族成员, 可特异性结合趋化因子 (chemokine)。根据 N 端保守半胱氨酸残基的数量和排列, 趋化因子可分为 4 个亚家族: CXC (α-趋化因子)、CC (β-趋化因子)、XC (δ-趋化因子, 通常称为 C 亚家族) 和 CX3C (γ-趋化因子)^[59]。CXC 与其受体 CXCRs 结合, 激活鸟嘌呤核苷酸交换因子 (guanine nucleotide exchange factors, GEFs) Ras 同源基因家族的 RhoA, 从而活化 RhoA 激酶 (Rho-

associated coiled-coil-forming kinase, ROCK) 和血清反应因子 (serum response factor, SRF), 调控细胞骨架重排和细胞增殖等多种细胞进程^[60]。CXCRs 也可激活 Rho GTPases/Akt/雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 信号通路, 诱导肌动蛋白骨架重排, 进而抑制细胞凋亡。CXCRs 信号转导途径还可通过激活 PLC 和 MAPK 促进 Ca²⁺ 的存储^[61]。

研究发现, CXC 和 CXCRs 参与了 RA 和其他自身免疫性疾病的细胞迁移、血管生成和白细胞募集等过程^[62]。CCL3、CCL4、CCL5、CCL20、CX3CL1、CXCL13、CXCL9、CXCL10 和 CXCL16 在 RA 滑膜炎中高表达, 其中 CXCL16 可作为 RA 中 T 细胞的有效趋化因子^[63]。CCR2 直接参与 RA 中嗜中性粒细胞的渗透, 在 RA 和抗原诱发性关节炎 (antigen induced arthritis, AIA) 早期患者的嗜中性粒细胞中高表达^[64]; 沉默 CCR5 基因的表达, 可通过抑制 MAPK 信号通路降低炎症反应, 抑制生存能力, 促进 RA 模型大鼠滑膜细胞凋亡^[65]; CCL21 可诱导人微血管内皮细胞 (human microvascular endothelial cell, HMVEC) 在 RA 关节内迁移, 还可激活 PI3K/细胞外信号调节激酶 (extra-cellular signal regulated kinase, ERK)/c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK) 通路, 抑制 HMVEC 趋化和成管^[66]。实验发现, 中和 CCL21 或 CCR7 可降低 RA 患者滑膜液治疗引起的单核细胞趋化; 此外, CCL21 处理以 CCR7 依赖的方式促进单核细胞的趋化活性, 并上调 IL-6 和 IL-23 的转录水平^[67]。组成型趋化因子 CXCL12 及其受体 CXCR5 促进 T 淋巴细胞关节蓄积, 参与关节炎所致的滑膜淋巴新生^[68]。在 RA 患者 FLS 中, CXCL16 及其受体的表达量明显升高; 而重组 CXCL16 在体外促进了 RA 患者 FLS 的增殖, 且抗 CXCL16 治疗可减轻 RA 患者的炎症和骨损伤^[69]。研究发现, CXCL10/CXCR3 介导了 RA 患者或 RA 动物模型中 FLS 的侵袭^[70]。因此, CXCRs 信号转导通路可能参与 RA 进程中血管的生成, 促进 RA 炎症的发生。

3.4 腺苷/腺苷受体信号转导通路

腺苷被认为是组织功能的能量调节剂, 可激活 4 类 ARs: A1、A2A、A2B 和 A3。A2A 与 Gas 蛋白偶联, 可激活下游 cAMP/PKA/CREB 通路, 下调炎症前细胞因子水平, 保护关节免受损伤^[71]。A2A 激动剂可抑制 RA 患者 LPS 诱导的 TNF-α 和 IL-1β 释放, 增加 IL-6 的释放^[72]。此外, A2A 可以 PKA

依赖性抑制核转录因子 κ B (nuclear factor kappa B, NF- κ B) 核移位, 从而抑制破骨细胞分化并调节骨转换, 表明腺苷可以缓解 RA 引起的骨破坏^[73]。A3 通过激活 Gai 和 G α q 活化下游第二信使, 并启动 PLC/IP₃/Ca²⁺/NFAT 下游信号通路, 促进 Ca²⁺ 释放, 通过 G β γ 启动 PI3K/Akt/mTOR 下游信号通路, 促进细胞增殖^[74]。

研究发现, A1 和 A2B 与 RA 炎症过程无关, 而 A2A 和 A3 的高表达与人滑膜细胞炎症状态的下调密切相关^[75]。与健康受试者相比, RA 患者的淋巴细胞中 A2A 和 A3 表达上调, 抑制了 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 等炎性细胞因子的释放。此外, A2A 和 A3 活化还抑制 MMP-1 和 MMP-3 的表达^[76]。A3 在 RA 患者和 AA 大鼠的滑膜、PBMCs 和 DLNs 组织中高表达^[77]。IB-MECA (高度特异性 A3 激动剂) 可促进 A3 对 PI3K/NF- κ B 信号通路的抑制, 减少 TNF- α 和巨噬细胞炎性蛋白-1 α (macrophage inflammatory protein-1 α , MIP-1 α) 的产生, 从而抑制 CIA 和 AA 发生, 导致 AA 大鼠临床和病理评分均降低^[78]。因此, A2A 和 A3 可作为 RA 和其他自身免疫性疾病的生物学标志物与潜在治疗靶标。

4 GPCR信号通路相关调节蛋白在RA中的作用

GRK 磷酸化后可与 β -arrestin 结合引发 GPCR 的脱敏过程并促进受体内化, 减弱 GPCR 相关信号^[79]。研究表明, GRK 和 β -arrestins 参与 G 蛋白偶联信号通路的调节, 且在炎症和免疫反应过程中发挥重要作用。

4.1 RA中GRK表达异常

GRK 在 GPCR 内化、脱敏、去磷酸化和循环利用中起着关键作用^[80]。GRK 表达影响 GPCR 信号转导。GRK 可分为 7 个亚型 (GRK1~GRK7), 均具有相似的结构, 包括一个 N 末端结构域、一个催化结构域和一个 C 末端结构域。GRK 分为 3 个亚家族: 视紫红质激酶亚家族 (GRK1 和 7)、 β -ARs 激酶亚家族 (GRK2 和 3) 以及 GRK4 亚家族 (GRK4、5 和 6)^[81]。

在 RA 淋巴细胞中, GRK 活性显著下降, GRK2 和 GRK6 表达量降低, 而 GRK5 蛋白水平无明显变化。CIA 和 AA 大鼠 MLNs 中 GRK2 的表达降低, 引起继发性炎症反应和淋巴细胞增殖^[49]。GRK 可通过磷酸化 β 2-ARs 不同的丝氨酸位点来调节 β 2-ARs 的功能, $p\beta$ 2-AR_{GRK} 水平在 AA 中有所升高^[48]。研究发现, RA 模型中 GRK2 的减少仅限于免疫细

胞 (CD4⁺ T 细胞和 CD45RA⁺ B 细胞), 在心脏或垂体中并未观察到。而在 AA 大鼠脾细胞和 MLNs 细胞中, GRK2、GRK3 和 GRK6 的表达均显著降低^[82]。另有研究发现, AA 大鼠模型中 CP-25 可下调 GRK2 激活的内皮细胞 CXCR4-ERK1/2 相关信号通路, 具有抗血管生成的作用^[83]。因此, 与 RA 相关的免疫器官内 GRK 的特异性下调可能导致 GPCR 促炎受体的持续活化和细胞代谢缺陷, 促进 RA 进程。

4.2 RA中 β -arrestin表达增加

哺乳动物中存在 4 种 β -arrestin 亚型, 它们具有超过 50% 的氨基酸保守性, 且在基础状态下具有相似结构。arrestin-1 (也称为视觉或视杆抑制蛋白) 和 arrestin-4 (圆锥抑制蛋白) 主要在感光细胞中表达, 而 arrestin-2 和 -3 (也称为 β -arrestin-1 和 -2) 广泛存在于组织细胞中^[84]。 β -arrestin 属于胞质蛋白, 在 GPCR 脱敏和内化过程中发挥重要作用。当激动剂激活位于 GPCR 内环或 C 末端的丝氨酸和苏氨酸残基上的 GRK 时, β -arrestin 与质膜上的 GPCR 结合, β -arrestin/GRK/磷酸化的 GPCR 复合物引发 GPCR 信号转导终止, 即 GPCR 的脱敏^[85]。存在于细胞内的 β -arrestin 复合物阻碍了受体的再敏化, 复合物的异常形成可能在 GPCR 相关疾病中发挥重要作用^[86]。 β -arrestin 还可充当多功能支架蛋白/衔接蛋白调节其他细胞信号通路, 如 β 2-衔接蛋白和网格蛋白可被募集到质膜 β -arrestin 复合物中, 引发内吞过程^[87]。

β -arrestin 是炎症反应的关键因子。研究发现, 在 AA 大鼠的脾细胞中, β -arrestin-1 表达增加^[88]。在 CIA 和 AA 大鼠 MLNs 以及 CIA 小鼠 FLS 中, β -arrestin-1、2 的表达均增加, 促进了关节炎进程^[89-90]。CIA 大鼠滑膜细胞中 β -arrestin 的表达上调, 并在缓解期恢复到基线水平^[90]。 β -arrestin-1 促进 RA 小鼠模型 FLS 中 TNF- α 和 IL-6 的产生, β -arrestin-2 在 IL-1 β 刺激的 FLS 中表达明显增加, 且其表达与 FLS 增殖呈正相关^[91-92]。磷酸二酯酶-4 与 β -阿瑞斯汀在 β -ARs 位点的相互作用可诱导受体与 Gas 蛋白解离, 转而活化 Gai 相关通路, 随后激活 RA 滑膜细胞中的 ERK1/2 信号通路, 促进 RA 进程^[93]。综上所述, β -arrestin 介导的 GPCR 脱敏和内化是影响 RA 病理进程的重要因素。

5 小结与展望

炎症和自身免疫反应过程是 RA 的主要病因, GPCR 可响应不同外部刺激并介导细胞内信号级联

反应, 调节 RA 进程。 β 2-ARs 信号转导通路与 RA 中淋巴细胞功能异常有关, PGE2 信号转导通路与 RA 滑膜炎和关节破坏相关, CXCRs 信号转导通路参与 RA 进程中血管的生成, 腺苷受体信号转导通路参与 RA 炎症进程, GPCR 信号通路的调节蛋白 GRK 和 β -arrestin 的异常表达可能介导 RA 的发生。明确 GPCR 在 RA 中的信号转导机制, 对发现 RA 潜在诊断性生物标志物和治疗靶点具有重要意义。目前, 通过 GPCR 信号调控 RA 的相关研究相对较少, 其在 RA 自身免疫中的具体信号机制尚不明确。GPCR 对骨和关节是否具有核心枢纽的功能, 以及不同 GPCR 信号调控 RA 的潜在机制仍需进一步探究和补充。

[参 考 文 献]

- [1] Toquet S, Nguyen Y, Sabbagh A, et al. Severe apoptotic enteropathy caused by methotrexate treatment for rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine*, 2016, 83: 217-9
- [2] Wei Y, Sun X, Hua M, et al. Inhibitory effect of a novel antirheumatic drug T-614 on the IL-6-induced RANKL/OPG, IL-17, and MMP-3 expression in synovial fibroblasts from rheumatoid arthritis patients. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 214683
- [3] Volkov M, van Schie KA, van der Woude D. Autoantibodies and B cells: the ABC of rheumatoid arthritis pathophysiology. *Immunol Rev*, 2019, 294: 148-63
- [4] Vecchio EA, White PJ, May LT. The adenosine A2B G protein-coupled receptor: recent advances and therapeutic implications. *Pharmacol Ther*, 2019, 198: 20-33
- [5] Katritch V, Cherezov V, Stevens RC. Structure-function of the G protein-coupled receptor superfamily. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2013, 53: 531-56
- [6] Syrovatkina V, Alegre KO, Dey R, et al. Regulation, signaling, and physiological functions of G-proteins. *J Mol Biol*, 2016, 428: 3850-68
- [7] Chini B, Parenti M, Poyner DR, et al. G-protein-coupled receptors: from structural insights to functional mechanisms. *Biochem Soc Trans*, 2013, 41: 135-6
- [8] Gurevich VV, Gurevich EV. GPCR signaling regulation: the role of GRKs and arrestins. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 125
- [9] Santos R, Ursu O, Gaulton A, et al. A comprehensive map of molecular drug targets. *Nat Rev Drug Discov*, 2017, 16: 19-34
- [10] Hauser AS, Attwood MM, Rask-Andersen M, et al. Trends in GPCR drug discovery: new agents, targets and indications. *Nat Rev Drug Discov*, 2017, 16: 829-42
- [11] Zhao Q, Wu BL. Ice breaking in GPCR structural biology. *Acta Pharmacol Sin*, 2012, 33: 324-34
- [12] Schiöth HB, Fredriksson R. The GRAFS classification system of G-protein coupled receptors in comparative perspective. *Gen Comp Endocrinol*, 2005, 142: 94-101
- [13] Luo J, Sun P, Siwko S, et al. The role of GPCRs in bone diseases and dysfunctions. *Bone Res*, 2019, 7: 19
- [14] Litosch I. Decoding G α q signaling. *Life Sci*, 2016, 152: 99-106
- [15] Gobeil FJ, Vazquez-Tello A, Marrache AM, et al. Nuclear prostaglandin signaling system: biogenesis and actions via heptahelical receptors. *Can J Physiol Pharmacol*, 2003, 81: 196-204
- [16] Lefkowitz RJ. The superfamily of heptahelical receptors. *Nat Cell Biol*, 2000, 2: E133-6
- [17] Lefkowitz RJ, Shenoy SK. Transduction of receptor signals by β -arrestins. *Science*, 2005, 308: 512-7
- [18] Kohout TA, Lin FS, Perry SJ, et al. β -arrestin 1 and 2 differentially regulate heptahelical receptor signaling and trafficking. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 1601-6
- [19] Gurevich VV, Gurevich EV. Structural determinants of arrestin functions. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2013, 118: 57-92
- [20] 李渊博, 许鹏. 高迁移率族蛋白1 (HMGB1)与类风湿性关节炎发病的关系. *细胞与分子免疫学杂志*, 2016, 32: 1128-32
- [21] Nevius E, Gomes AC, Pereira JP. Inflammatory cell migration in rheumatoid arthritis: a comprehensive review. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2016, 51: 59-78
- [22] Cotzomi E, Stathopoulos P, Lee CS, et al. Early B cell tolerance defects in neuromyelitis optica favour anti-AQP4 autoantibody production. *Brain*, 2019, 142: 1598-615
- [23] Sokolove J, Johnson DS, Lahey LJ, et al. Rheumatoid factor as a potentiator of anti-citrullinated protein antibody-mediated inflammation in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatol*, 2014, 66: 813-21
- [24] Azizi G, Jadidi-Niaragh F, Mirshafiey A. Th17 cells in immunopathogenesis and treatment of rheumatoid arthritis. *Int J Rheum Dis*, 2013, 16: 243-53
- [25] Yang Y, Zhang X, Xu M, et al. Quercetin attenuates collagen-induced arthritis by restoration of Th17/Treg balance and activation of heme oxygenase 1-mediated anti-inflammatory effect. *Int Immunopharmacol*, 2018, 54: 153-62
- [26] Neumann E, Khawaja K, Muller-Ladner U. G protein-coupled receptors in rheumatology. *Nat Rev Rheumatol*, 2014, 10: 429-36
- [27] Shakya AK, Naik RR, Almasri IM, et al. Role and function of adenosine and its receptors in inflammation, neuroinflammation, IBS, autoimmune inflammatory disorders, rheumatoid arthritis and psoriasis. *Curr Pharm Des*, 2019, 25: 2875-91
- [28] Pal Y, Bandyopadhyay N, Pal RS, et al. Perspective and potential of A2A and A3 adenosine receptors as therapeutic targets for the treatment of rheumatoid arthritis. *Curr Pharm Des*, 2019, 25: 2859-74
- [29] Storme J, Cannaeert A, Van Craenenbroeck K, et al. Molecular dissection of the human A3 adenosine receptor coupling with β -arrestin 2. *Biochem Pharmacol*, 2018, 148: 298-307
- [30] Tseng WY, Jan WY, Yang TY, et al. High levels of soluble GPR56/ADGRG1 are associated with positive rheumatoid

- factor and elevated tumor necrosis factor in patients with rheumatoid arthritis. *J Microbiol Immunol Infect*, 2018, 51: 485-91
- [31] Saeki T, Naya A. CCR1 chemokine receptor antagonist. *Curr Pharm Des*, 2003, 9: 1201-8
- [32] Taylor BC, Lee CT, Amaro RE. Structural basis for ligand modulation of the CCR2 conformational landscape. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116: 8131-6
- [33] Bakheet SA, Alrwashed BS, Ansari MA, et al. CXCR3 antagonist AMG487 inhibits glucocorticoid-induced tumor necrosis factor-receptor-related protein and inflammatory mediators in CD45 expressing cells in collagen-induced arthritis mouse model. *Int Immunopharmacol*, 2020, 84: 106494
- [34] Tamamura H, Tsutsumi H, Masuno H, et al. Development of low molecular weight CXCR4 antagonists by exploratory structural tuning of cyclic tetra- and pentapeptide-scaffolds towards the treatment of HIV infection, cancer metastasis and rheumatoid arthritis. *Curr Med Chem*, 2007, 14: 93-102
- [35] Scholten DJ, Canals M, Maussang D, et al. Pharmacological modulation of chemokine receptor function. *Br J Pharmacol*, 2012, 165: 1617-43
- [36] Van Raemdonck K, Umar S, Palasiewicz K, et al. CCL21/CCR7 signaling in macrophages promotes joint inflammation and Th17-mediated osteoclast formation in rheumatoid arthritis. *Cell Mol Life Sci*, 2020, 77: 1387-99
- [37] Peng A, Lu X, Huang J, et al. Rheumatoid arthritis synovial fibroblasts promote TREM-1 expression in monocytes via COX-2/PGE2 pathway. *Arthritis Res Ther*, 2019, 21: 169
- [38] Yang X, Li S, Zhao Y, et al. GRK2 mediated abnormal transduction of PGE2-EP4-cAMP-CREB signaling induces the imbalance of macrophages polarization in collagen-induced arthritis mice. *Cells*, 2019, 8: 1596
- [39] Littlewood-Evans A, Sarret S, Apfel V, et al. GPR91 senses extracellular succinate released from inflammatory macrophages and exacerbates rheumatoid arthritis. *J Exp Med*, 2016, 213: 1655-62
- [40] Zhang C, Chang J, Wu W, et al. Activation of GPR43 suppresses TNF- α -induced inflammatory response in human fibroblast-like synoviocytes. *Arch Biochem Biophys*, 2020, 684: 108297
- [41] Jing W, Sun W, Zhang N, et al. The protective effects of the GPR39 agonist TC-G 1008 against TNF- α -induced inflammation in human fibroblast-like synoviocytes (FLSs). *Eur J Pharmacol*, 2019, 865: 172663
- [42] Vasudevan NT. cAMP assays in GPCR drug discovery. *Methods Cell Biol*, 2017, 142: 51-7
- [43] Cherezov V, Rosenbaum DM, Hanson MA, et al. High-resolution crystal structure of an engineered human β 2-adrenergic G protein-coupled receptor. *Science*, 2007, 318: 1258-65
- [44] Wu L, Tai Y, Hu S, et al. Bidirectional role of β 2-adrenergic receptor in autoimmune diseases. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 1313
- [45] De Angelis E, Pecoraro M, Rusciano MR, et al. Cross-talk between neurohormonal pathways and the immune system in heart failure: a review of the literature. *Int J Mol Sci*, 2019, 20: 1698
- [46] Liu Y, Rui XX, Shi H, et al. Norepinephrine inhibits Th17 cells via β 2-adrenergic receptor (β 2-AR) signaling in a mouse model of rheumatoid arthritis. *Med Sci Monit*, 2018, 24: 1196-204
- [47] Wahle M, Neumann RP, Moritz F, et al. β 2-adrenergic receptors mediate the differential effects of catecholamines on cytokine production of PBMC. *J Interferon Cytokine Res*, 2005, 25: 384-94
- [48] Lorton D, Bellinger DL, Schaller JA, et al. Altered sympathetic-to-immune cell signaling via β 2-adrenergic receptors in adjuvant arthritis. *Clin Dev Immunol*, 2013, 2013: 764395
- [49] Zhao W, Tong T, Wang L, et al. Chicken type II collagen induced immune tolerance of mesenteric lymph node lymphocytes by enhancing β 2-adrenergic receptor desensitization in rats with collagen-induced arthritis. *Int Immunopharmacol*, 2011, 11: 12-8
- [50] Hoxha M. A systematic review on the role of eicosanoid pathways in rheumatoid arthritis. *Adv Med Sci*, 2018, 63: 22-9
- [51] Tong D, Liu Q, Wang LA, et al. The roles of the COX2/PGE2/EP axis in therapeutic resistance. *Cancer Metastasis Rev*, 2018, 37: 355-68
- [52] Xing Q, Fu L, Yu Z, et al. Efficacy and safety of integrated traditional chinese medicine and western medicine on the treatment of rheumatoid arthritis: a meta-analysis. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2020, 2020: 4348709
- [53] Boniface K, Bak-Jensen KS, Li Y, et al. Prostaglandin E2 regulates Th17 cell differentiation and function through cyclic AMP and EP2/EP4 receptor signaling. *J Exp Med*, 2009, 206: 535-48
- [54] Lotz EM, Lohmann CH, Boyan BD, et al. Bisphosphonates inhibit surface mediated osteogenesis. *J Biomed Mater Res A*, 2020, DOI:10.1002/jbm.a.36944
- [55] Wei J, Ouyang X, Tang Y, et al. ER-stressed MSC displayed more effective immunomodulation in RA CD4⁺CXCR5⁺ICOS⁺ follicular helper-like T cells through higher PGE2 binding with EP2/EP4. *Mod Rheumatol*, 2019, 30: 509-16
- [56] Kunisch E, Jansen A, Kojima F, et al. Prostaglandin E2 differentially modulates proinflammatory/prodestructive effects of TNF- α on synovial fibroblasts via specific E prostanoid receptors/cAMP. *J Immunol*, 2009, 183: 1328-36
- [57] Jia XY, Chang Y, Wei F, et al. CP-25 reverses prostaglandin E4 receptor desensitization-induced fibroblast-like synoviocyte dysfunction via the G protein-coupled receptor kinase 2 in autoimmune arthritis. *Acta Pharmacol Sin*, 2019, 40: 1029-39
- [58] Xu HM, Wei W, Jia XY, et al. Effects and mechanisms of total glucosides of peony on adjuvant arthritis in rats. *J Ethnopharmacol*, 2007, 109: 442-8
- [59] de Munnik SM, Smit MJ, Leurs R, et al. Modulation of cellular signaling by herpesvirus-encoded G protein-coupled receptors. *Front Pharmacol*, 2015, 6: 40

- [60] Cotton M, Claing A. G protein-coupled receptors stimulation and the control of cell migration. *Cell Signal*, 2009, 21: 1045-53
- [61] D'Oronzo S, Coleman R, Brown J, et al. Metastatic bone disease: pathogenesis and therapeutic options: up-date on bone metastasis management. *J Bone Oncol*, 2019, 15: 004
- [62] Szekanecz Z, Koch AE. Successes and failures of chemokine-pathway targeting in rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol*, 2016, 12: 5-13
- [63] Filer A, Raza K, Salmon M, et al. The role of chemokines in leucocyte-stromal interactions in rheumatoid arthritis. *Front Biosci*, 2008, 13: 2674-85
- [64] Talbot J, Bianchini FJ, Nascimento DC, et al. CCR2 expression in neutrophils plays a critical role in their migration into the joints in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatol*, 2015, 67: 1751-9
- [65] Lan YY, Wang YQ, Liu Y. CCR5 silencing reduces inflammatory response, inhibits viability, and promotes apoptosis of synovial cells in rat models of rheumatoid arthritis through the MAPK signaling pathway. *J Cell Physiol*, 2019, 234: 18748-62
- [66] Pickens SR, Chamberlain ND, Volin MV, et al. Role of the CCL21 and CCR7 pathways in rheumatoid arthritis angiogenesis. *Arthritis Rheum*, 2012, 64: 2471-81
- [67] McHugh J. CCL21-CCR7 axis in RA: linking inflammation and bone erosion. *Nat Rev Rheumatol*, 2019, 15: 576
- [68] Cao G, Chi S, Wang X, et al. CD4⁺CXCR5⁺PD-1⁺ T follicular helper cells play a pivotal role in the development of rheumatoid arthritis. *Med Sci Monit*, 2019, 25: 3032-40
- [69] Zhang X, Zhao JX, Sun L, et al. Expression of CXCL16/CXCR6 in fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis and its role in synoviocyte proliferation. *Beijing Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, 2017, 49: 663-8
- [70] Laragione T, Brenner M, Sherry B, et al. CXCL10 and its receptor CXCR3 regulate synovial fibroblast invasion in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 2011, 63: 3274-83
- [71] Ohta A, Sitkovsky M. Role of G-protein-coupled adenosine receptors in downregulation of inflammation and protection from tissue damage. *Nature*, 2001, 414: 916-20
- [72] Vincenzi F, Padovan M, Targa M, et al. A_{2A} adenosine receptors are differentially modulated by pharmacological treatments in rheumatoid arthritis patients and their stimulation ameliorates adjuvant-induced arthritis in rats. *PLoS One*, 2013, 8: e54195
- [73] Mediero A, Perez-Aso M, Cronstein BN. Activation of adenosine A_{2A} receptor reduces osteoclast formation via PKA- and ERK1/2-mediated suppression of NFκB nuclear translocation. *Br J Pharmacol*, 2013, 169: 1372-88
- [74] Borea PA, Varani K, Vincenzi F, et al. The A₃ adenosine receptor: history and perspectives. *Pharmacol Rev*, 2015, 67: 74-102
- [75] Varani K, Vincenzi F, Tosi A, et al. Expression and functional role of adenosine receptors in regulating inflammatory responses in human synoviocytes. *Br J Pharmacol*, 2010, 160: 101-15
- [76] Ravani A, Vincenzi F, Bortoluzzi A, et al. Role and function of A_{2A} and A₃ adenosine receptors in patients with ankylosing spondylitis, psoriatic arthritis and rheumatoid arthritis. *Int J Mol Sci*, 2017, 18: 697
- [77] Ju M, Liu B, He H, et al. MicroRNA-27a alleviates LPS-induced acute lung injury in mice via inhibiting inflammation and apoptosis through modulating TLR4/MyD88/NF-κB pathway. *Cell Cycle*, 2018, 17: 2001-18
- [78] Meng PZ, Liu J, Hu PS, et al. Protective effect of dexmedetomidine on endotoxin-induced acute lung injury in rats. *Med Sci Monit*, 2018, 24: 4869-75
- [79] Gurevich VV, Gurevich EV. Biased GPCR signaling: possible mechanisms and inherent limitations. *Pharmacol Ther*, 2020, 211: 107540
- [80] Shukla AK, Manglik A, Kruse AC, et al. Structure of active β-arrestin-1 bound to a G-protein-coupled receptor phosphopeptide. *Nature*, 2013, 497: 137-41
- [81] Penela P, Ribas C, Mayor FJ. Mechanisms of regulation of the expression and function of G protein-coupled receptor kinases. *Cell Signal*, 2003, 15: 973-81
- [82] Lombardi MS, Kavelaars A, Cobelens PM, et al. Adjuvant arthritis induces down-regulation of G protein-coupled receptor kinases in the immune system. *J Immunol*, 2001, 166: 1635-40
- [83] Zhang M, Gao M, Chen J, et al. CP-25 exerts anti-angiogenic effects on a rat model of adjuvant-induced arthritis by promoting GRK2-induced downregulation of CXCR4-ERK1/2 signaling in endothelial cells. *Mol Med Rep*, 2019, 20: 4831-42
- [84] Jean-Charles PY, Kaur S, Shenoy SK. G protein-coupled receptor signaling through β-arrestin-dependent mechanisms. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2017, 70: 142-58
- [85] Ranjan R, Dwivedi H, Baidya M, et al. Novel structural insights into GPCR-β-arrestin interaction and signaling. *Trends Cell Biol*, 2017, 27: 851-62
- [86] Oakley RH, Laporte SA, Holt JA, et al. Molecular determinants underlying the formation of stable intracellular G protein-coupled receptor-β-arrestin complexes after receptor endocytosis. *J Biol Chem*, 2001, 276: 19452-60
- [87] Lefkowitz RJ, Whalen EJ. β-arrestins: traffic cops of cell signaling. *Curr Opin Cell Biol*, 2004, 16: 162-8
- [88] Fan H. β-Arrestins 1 and 2 are critical regulators of inflammation. *Innate Immun*, 2014, 20: 451-60
- [89] Li P, Cook JA, Gilkeson GS, et al. Increased expression of β-arrestin 1 and 2 in murine models of rheumatoid arthritis: isoform specific regulation of inflammation. *Mol Immunol*, 2011, 49: 64-74
- [90] Wang QT, Zhang LL, Wu HX, et al. The expression change of β-arrestins in fibroblast-like synoviocytes from rats with collagen-induced arthritis and the effect of total glucosides of paeony. *J Ethnopharmacol*, 2011, 133: 511-6
- [91] Li J, Wei B, Guo A, et al. Deficiency of β-arrestin1 ameliorates collagen-induced arthritis with impaired TH17 cell differentiation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 7395-400
- [92] Wu HX, Chen JY, Wang QT, et al. Expression and function of β-arrestin 2 stimulated by IL-1β in human

- fibroblast-like synoviocytes and the effect of paeoniflorin. *Int Immunopharmacol*, 2012, 12: 701-6
- [93] Jenei-Lanzl Z, Zwingersberg J, Lowin T, et al. Proinflammatory receptor switch from $G_{\alpha s}$ to $G_{\alpha i}$ signaling by β -arrestin-mediated PDE4 recruitment in mixed RA synovial cells. *Brain Behav Immun*, 2015, 50: 266-74