

应用分子药理学

Practical Molecular Pharmacology

(第2版)

王晓良 主编



中国协和医科大学出版社

应用分子药理学

(第2版)

主 编 王晓良

副主编 陈乃宏 陈晓光 胡卓伟

李 燕 邵荣光 朱海波

编 者 (以姓氏笔画为序)

马 昂	王文杰	王贵彬	王晓良	方莲花	申竹芳
史会杰	刘 明	吕晓希	孙 华	孙 岚	孙 巍
朱海波	杜冠华	花 芳	李玉环	李 瑾	李聪然
李 燕	邵荣光	张 丹	张均田	张建军	张晓伟
张 雯	张德昌	宋俊科	陈乃宏	陈晓光	陈 博
环 奕	金 晶	武玉洁	苑玉和	杨信怡	胡卓伟
阎 雨	黄林章	盛 莉	蒋建东	彭 英	游雪甫
薛妮娜					



中国协和医科大学出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

应用分子药理学 / 王晓良主编. —北京: 中国协和医科大学出版社, 2015. 9
ISBN 978-7-5679-0411-8

I. ①分… II. ①王… III. ①分子-药理学 IV. ①R966

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 180583 号

应用分子药理学 (第 2 版)

主 编: 王晓良
责任编辑: 许进力

出版发行: 中国协和医科大学出版社
(北京东单三条九号 邮编 100730 电话 65260378)

网 址: www.pumcp.com
经 销: 新华书店总店北京发行所
印 刷: 北京佳艺恒彩印刷有限公司

开 本: 889×1194 1/16 开
印 张: 37.25
字 数: 960 千字
版 次: 2015 年 9 月第 2 版 2015 年 9 月第 1 次印刷
印 数: 1—2000
定 价: 120.00 元

ISBN 978-7-5679-0411-8

(凡购本书, 如有缺页、倒页、脱页及其他质量问题, 由本社发行部调换)

序

随着人类基因组学的重大突破和生物学相关领域的飞速发展，药理学学科也经历了多个革命性的重大发展阶段，从 20 世纪早期和中期的整体到器官水平为主的药理学，到后期的分子药理学；进入 21 世纪后，治疗重大疾病的药物全新作用机制和药靶不断涌现，药理学研究正由单一机制、单一靶点向多机制多靶点转移。网络药理学、系统生物学、生物信息学和人源化动物的药理学评价等，都大大促进了药理学，特别是分子药理学的发展，使基因、蛋白表达及核受体水平的调节成为可能。生命科学的发展提高了人们对生命现象和疾病发生机制的认识，而分子药理学，则有助于发现预防、治疗这些疾病药物的方法和手段。特别是近年来“转化医学”概念的提出和应用，大大加速了基础研究成果服务于临床实践的步伐，而药理学是介于基础与临床之间的学科是转化医学的重要桥梁，分子药理学则代表了更高层次的转化。值得一提的是，目前方兴未艾的“精准医疗”在精准定位的基础上，更寄希望于在分子水平上发挥药理学的巨大威力。因此，分子药理学即是一门与时俱进的基础学科，又是一门与临床疾病和新药研发密切相关的应用学科。

“国家科技重大专项”中的“药物创新专项”经过十一五和十二五，已取得多项重大成果，我国研发的新靶点药物、抗体药物、ADC 抗体偶联药物、免疫检查点的肿瘤免疫治疗药、表观遗传治疗药物都已取得令人鼓舞的进展。我国的药理学科已经进入到以分子靶点，基因调控和信号通路等为基础的药理毒理评价和开发阶段。面对未来十三五国家发展战略，继续加强药理学基础研究，研制重大产品、满足重大需求、解决重点临床需要，促进应用开发和产业化，最大限度地造福患者，造福社会，是药学工作者的重大责任。本书的再版和发行顺应了国家十三五发展战略，对药学高级人才培养，理论与实际应用结合将发挥较重要的作用。

《应用分子药理学》作为北京协和医学院研究生药理学课程的主要教材，十年来发挥了重要作用，因学科发展需要和实际工作的与时俱进，此次再版增加了十个章节，使内容更加系统、完整，与常见疑难疾病的病理生理和药物的作用机制联系更加紧密，不仅有益教学，对临床工作者和药物研究人员也是一本重要的参考书。

本书编写人员以中国医学科学院药物研究所，医药生物技术研究所以及基础医学研究所的中青年药理学科科研、教学骨干为主，他们也是我国药理学科科研和新药开发的有生力量，在长期的科研、教学活动中积累了丰富的经验。中国医学科学院药物研究所多年来一直是我国最重要的药理学科科研基地和高级人才培养基地之一，也是我国创新药物开发的最重要基地之一。在此，祝贺该书的再版发行，感谢各位编写人员将他们的知识和经验分享给广大读者。



前 言

《应用分子药理学》出版已经十年了，在过去的十年中，该书在北京协和医学院研究生教学中发挥了重要作用。十年来，生命科学的各个领域，以及医药科技领域取得了巨大的进展，《应用分子药理学》第一版已不适应当前的研究生教学和作为临床、科研人员的参考书，因此决定再版。

新版《应用分子药理学》从第一版的共十四个章节增加到二十四章，使内容更加完整、系统；包含了分子药理学的总论，如受体、离子通道、信号转导系统的分子水平调控等；以及神经、精神系统药物，神经退行性疾病药物，心脑血管药物，调血脂药物，糖尿病等代谢性疾病药物，抗炎免疫、抗肿瘤、抗菌、抗病毒药物的分子药理学。特别值得指出的是，根据临床需求和目前医药市场的需求和未来发展，这一版中加进了抗组织纤维化药物，生物技术药物，即主要为抗体药物的设计、药理学作用及机制的新的内容。同时这一版也对有些内容进行了删减，如去掉了生殖激素类药物一章，将单独 P450 一章合并为药物代谢酶与转运蛋白调控及分子机制等。

此书不同于基础和临床药理学教科书，以突出临床上重大疾病的分子药理学为主，而非面面俱到；特别是突出了近年来与生命科学进展相关的药理学新理论、新靶点、新方法和新进展，因而本书的目标是有益于培养具有较高理论水平，了解国内外进展，可从事独立研究的实用型药理学人才。

本书虽主要为北京协和医学院研究生教学而编写，也希望对临床医学、药学工作者和从事新药研究开发的人员有所帮助。

王晓良

2015 年 6 月

目 录

第一章 受体药理学总论	(1)
第一节 概述	(1)
第二节 受体分类	(2)
第三节 受体与配体的相互作用	(3)
第四节 受体的作用机制	(6)
第五节 受体药理常用的研究方法	(7)
第六节 细胞内信使系统与药物研究	(9)
第七节 蛋白激酶	(15)
第八节 细胞内信使系统药物的研制开发	(17)
第二章 G 蛋白和信息转导系统的分子机制	(25)
第一节 概述	(25)
第二节 G 蛋白和 G 蛋白偶联受体	(28)
第三节 信号传导体系之间的相互调节	(40)
第三章 离子通道药物分子药理学	(43)
第一节 概述	(43)
第二节 离子通道的多样性与功能	(47)
第三节 离子通道的生理学与药理学调节机制	(64)
第四节 常用离子通道药物的分子药理学	(67)
第五节 离子通道药物研究的方向	(71)
第四章 认知功能分子药理学	(74)
第一节 概述	(74)
第二节 脑内信使和学习记忆信号转导途径脑内信使	(76)
第三节 认知功能与神经递质	(78)
第四节 认知功能与突触可塑性	(81)
第五节 认知功能与神经发生	(91)
第六节 认知功能与表观遗传学	(95)
第七节 对现有认知改善药的评价及今后研究展望	(103)
第五章 阿尔茨海默病的发病机制和药物研究进展	(108)
第一节 概述	(108)
第二节 阿尔茨海默病的发病机制	(109)
第三节 阿尔茨海默病治疗药物的研究进展	(123)
第六章 帕金森病的发病机制与治疗	(133)
第一节 概述	(133)

第二节	帕金森病发病的遗传因素与环境因素	(134)
第三节	DA 能神经元的死亡机制	(136)
第四节	帕金森病的治疗	(142)
第七章	镇静催眠与精神药物的分子药理学	(148)
第一节	概述	(148)
第二节	镇静催眠药最新研究进展和镇静催眠药作用新靶点	(149)
第三节	精神病的发病机制、最新研究进展和抗精神病药物作用新靶点	(151)
第四节	焦虑/抑郁障碍的发病机制、最新研究进展和抗抑郁/焦虑药物作用新靶点	(153)
第八章	神经炎症、自由基与神经系统疾患相关的药物作用机制	(160)
第一节	概述	(160)
第二节	神经炎症及自由基调控功能的相关通路以及分子机制	(164)
第三节	与神经炎症和自由基相关的疾病	(167)
第四节	针对神经炎症和自由基的治疗药物研究进展	(170)
第九章	调节心脏组织重构和心肌再生治疗慢性心血管疾病	(175)
第一节	概述	(175)
第二节	心血管药成功研发和应用是现代医药科学进步的标志	(178)
第三节	心血管组织异常重构是慢性心血管疾病的核心病理改变	(182)
第四节	心血管组织再生与心肌再生治疗	(188)
第十章	血管及血压调节的分子机制及药物应用	(193)
第一节	概述	(193)
第二节	神经-体液-代谢失调介导血管功能异常参与高血压发病	(197)
第三节	血管病变参与高血压发病的分子调控机制	(203)
第四节	调节血管功能改善高血压的药物靶点	(212)
第十一章	缺血再灌注性损伤的分子机制	(220)
第一节	概述	(220)
第二节	缺血再灌注损伤的临床表现	(221)
第三节	缺血性损伤的分子机制	(225)
第四节	缺血再灌注损伤的分子机制	(230)
第五节	缺血再灌注损伤的继发反应	(234)
第六节	缺血再灌注损伤与缺血性预适应	(239)
第七节	缺血再灌注与缺血后适应	(241)
第八节	防治缺血再灌注性损伤的药物	(242)
第九节	抗脑缺血药物的研发	(247)
第十二章	调血脂抗动脉粥样硬化药物分子药理机制	(253)
第一节	概述	(253)
第二节	常用调血脂药物分子药理机制	(255)
第三节	新型调血脂药物分子药理机制研究进展	(261)
第四节	抗动脉粥样硬化疾病的新药靶	(272)

第十三章	药物代谢酶与转运蛋白的调控及分子机制	(284)
第一节	概述	(284)
第二节	药物代谢酶和转运蛋白的调控	(300)
第三节	药物代谢酶和转运蛋白与新药研究	(306)
第十四章	糖尿病及并发症分子药理学	(310)
第一节	概述	(310)
第二节	糖尿病及其并发症的疾病模式研究	(311)
第三节	胰岛素和胰岛素信号通路	(318)
第四节	糖尿病治疗的药物及其药理作用	(321)
第五节	糖尿病及其并发症治疗的新靶点	(325)
第十五章	慢性肝病的分子机制与治疗	(331)
第一节	概述	(331)
第二节	慢性病毒性肝炎	(333)
第三节	药物性肝损伤	(338)
第四节	自身免疫性肝炎	(342)
第五节	酒精性脂肪性肝炎	(343)
第六节	非酒精性脂肪性肝病	(346)
第十六章	代谢相关疾病的分子机制及治疗学进展	(351)
第一节	概述	(351)
第二节	炎症, 连接肥胖与代谢性疾病的关键环节	(353)
第三节	参与代谢性疾病调节的分子、细胞机制	(361)
第四节	肿瘤中的代谢障碍	(371)
第十七章	炎症介质和抗炎药物	(383)
第一节	概述	(383)
第二节	炎症介质及其作用机制	(384)
第三节	抗炎药物的分类及作用机制	(404)
第十八章	组织纤维化的分子免疫机制	(416)
第一节	概述	(416)
第二节	机体免疫与组织纤维化	(419)
第三节	细胞外基质与组织纤维化	(427)
第四节	参与组织纤维化调节的分子免疫机制	(433)
第五节	抑制或逆转组织纤维化的新途径	(438)
第十九章	抗癌药物的靶点及作用机制	(444)
第一节	概述	(444)
第二节	抗癌药物发展策略	(445)
第三节	抗癌药物发展的新方向	(454)
第二十章	抗菌药物的分子药理学	(464)
第一节	概述	(464)

第二节 抗菌药物的分子作用机制	(466)
第三节 细菌耐药分子机制	(479)
第四节 新型抗菌药物研发	(486)
第二十一章 抗病毒药物	(492)
第一节 概述	(492)
第二节 临床上应用的抗病毒药物及其作用机制	(494)
第三节 抗病毒药物的发展策略	(506)
第二十二章 生物技术药物	(510)
第一节 概述	(510)
第二节 肿瘤疫苗	(519)
第三节 细胞外囊泡	(523)
第四节 细胞穿膜肽与订书肽	(528)
第五节 基因及细胞治疗	(535)
第二十三章 抗体药物与作用机制	(544)
第一节 概述	(544)
第二节 单克隆抗体技术	(554)
第三节 抗肿瘤抗体治疗	(557)
第四节 抗体药物研究发展趋势	(560)
第二十四章 合理设计改善单克隆抗体的药学和药理学性质	(565)
第一节 概述	(565)
第二节 抗体合理设计方法	(566)
第三节 抗体合理设计实例——通过提高抗胃泌素抗体 TA4 的亲合力以改善 其中和活性	(576)
索引	(582)

第一章 受体药理学总论

目前临床应用的大多数药物通过与器官、组织、细胞上特定的结合位点（即靶点）发挥作用，影响和改变人体的功能，产生药理效应。目前已经发现的药物作用靶点主要涉及基因位点、受体、酶、离子通道、核酸等，有 500 多个。现有药物中，以受体为作用靶点的药物超过 50%，是最主要和最重要的作用靶点。药理学中的受体是指位于细胞能够直接特异地介导细胞内和细胞间化学信号传导的大分子。受体不仅能够识别特异信号分子，通过识别结合后，还能够引发细胞膜通透性或细胞活性发生改变，触发后续的生理或药理效应。因此深入研究受体的结构特点、作用机制及功能对于创新药物的研究具有重要意义。

第一节 概 述

一、受体的定义

受体（receptor）是一类特殊蛋白质分子，它能特异性识别配体并与之结合，产生各种生理效应。受体在细胞生物学中是一个很泛的概念，指任何能够同激素、神经递质、药物或细胞内的信号分子结合并能引起细胞功能变化的生物大分子。受体在药理学中是指糖蛋白或脂蛋白构成的生物大分子，存在于细胞膜、胞质或细胞核内，可以识别并特异地与有生物活性的化学信号物质（配体）结合，它能把识别和接受的信号正确无误地放大并传递到细胞内部，从而激活或启动一系列生物化学反应，最后导致该信号物质特定的生物效应。每一种细胞都有其独特的受体和信号转导系统，细胞对信号的反应不仅取决于其受体的特异性，而且与细胞的固有特征有关。相同的信号可产生不同的效应，不同信号也产生相同的效应，而细胞持续处于信号分子刺激下的时候，细胞通过多种途径使受体钝化，产生适应。因此深入研究受体的功能对于创新药物的研究具有重要的意义。

二、受体的功能

通常受体具有两个功能。

（一）识别并结合配体的功能

配体，是指一些特殊的信号物质，除了与受体结合外本身并无其他功能，它不能参加代谢产生有用产物，也不直接诱导任何细胞活性，更无酶的特点，它唯一的功能就是通知细胞在环境中存在一种特殊信号或刺激因素。同一配体可能有两种或两种以上的不同受体，同一配体与不同类型受体结合会产生不同的细胞反应。

（二）传导信号

把识别和接受的信号准确无误地放大并传递到细胞内部，启动一系列胞内生化反应，最后导致特定的细胞反应，使得胞间信号转换为胞内信号。

三、受体与配体的结合特点

(一) 特异性

这种特异性是由受体和配体的特异的空间结构决定的,通过受体与配体反应基团的定位和分子构象的相互契合来实现。特异性除了可以理解为一种受体仅能与一种配体结合之外,还可以表现为在同一细胞或不同类型的细胞中,同一配体可能有两种或两种以上的不同受体;同一配体与不同类型受体结合会产生不同的细胞反应。特异性是受体与配体结合的最基本特点,保证了信号传导的正确性。

(二) 高度的亲和力

受体与相应的配体具有高度的亲和性。比如血液中激素的浓度很低,约为 10^{-10} mol/L,但足以同其受体结合,发挥正常的生理作用,这说明受体对激素的亲和力很强。

(三) 饱和性

由于细胞表面或胞质的受体的数目是有限的,因此其能结合的配体量也是有限的,因此受体具有饱和性,在药物的作用上反映为最大效应。当药物达到一定浓度后,其效应不会随其浓度增加而继续增加。

(四) 可逆性

受体与配体多数通过离子键、氢键和范德华力结合,所形成的复合物可以解离,也可被另一种特异性配体所置换,表现出受体和配体结合的可逆性。

第二节 受体分类

研究受体,首先需要对其进行分类。目前学术界对受体划分方法尚不统一,本书中根据受体在细胞中的亚细胞定位将受体分为膜受体、胞内受体,具体如下。

一、细胞膜受体

膜受体即存在于细胞膜上的受体,根据其结构特点和功能又分为不同类别。

(一) G 蛋白偶联受体

G 蛋白偶联受体 (G Protein-Coupled Receptor, GPCR) 是一大类膜蛋白受体的统称。这类受体的共同点是其结构中都有七个跨膜 α 螺旋,且其肽链的 C 端和连接第 5 个和第 6 个跨膜螺旋的胞内环上都有 G 蛋白 (鸟苷酸结合蛋白) 的结合位点。目前为止,研究显示 G 蛋白偶联受体只见于真核生物之中,而且参与了很多细胞信号转导过程。在这些过程中, G 蛋白偶联受体能结合细胞周围环境中的化学物质并激活细胞内的一系列信号通路,最终引起细胞状态的改变。与 G 蛋白偶联受体结合的配体包括气味、信息素 (费洛蒙)、激素、神经递质、趋化因子等等。这些受体可以是小分子的糖类、脂质、多肽,也可以是蛋白质等生物大分子。

(二) 离子通道受体

离子通道受体在结构上的共同特征为:均由数个亚基组成,每个亚基都有细胞外、细胞内和跨膜等 3 种结构域,每个亚基一般有 4 个跨膜区段,其中的某些部分组成了离子通道。当受体与激动剂结合后,导致离子通道开放,促进细胞内、外离子的快速流动,产生去极化或超极化。因此,这类受体也称为“配体门控离子通道受体”。根据离子通道的性质,又被进一步区分为阳离子通道受体

和阴离子通道受体,这与各亚单位靠近通道入口处的氨基酸残基所带电荷密切相关。阳离子通道(如N-胆碱受体- Na^+ 通道)入口处的氨基酸多带负电荷,反之,阴离子通道(GABA受体- Cl^-)则多带正电荷。

(三) 酪氨酸激酶受体

迄今所发现的大多数生长因子的受体都含有酪氨酸激酶的肽链序列。所以,这类受体统称酪氨酸激酶受体(receptor tyrosine kinases)。这些受体具有非常相似的结构:细胞外的一段糖基化肽链,是与配体结合的部位;中间是单一的疏水性的跨膜区;然后是具有酪氨酸激酶活性的膜内区。受体酪氨酸激酶通过与各种生长因子或激素结合,调节细胞的基本功能,如细胞周期、细胞代谢、细胞存活及增殖和分化等过程,因此受体酪氨酸激酶在药物的研发中是重要的靶点。

(四) 细胞因子受体

细胞因子受体(cytokine receptor)家族包括有:白介素(interleukins)、促红细胞生成素(erythropoietin)、粒-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte macrophage colony stimulating factor)、粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony stimulating factor)、催乳素(prolactin)以及生长激素(growth hormone)等受体。这类受体由两个亚基(α 和 β)组成,在生理状态下可与细胞因子形成亲和力结合, α 亚基与细胞因子结合的选择性以及低亲和力结合有关, β 亚基与信号转导以及高亲和力结合有关。在两种亚基的细胞外部分为有4个半胱氨酸残基的区段在N末端,而Trp-ser-x-trp-ser结构则位于跨膜区段外延部分:在细胞内部分,各种受体的氨基酸序列则无相似之处, α 亚基有一短的细胞内区段,富含脯氨酸及丝氨酸残基,两个亚基均有单一的跨膜区。总之,所有细胞因子受体均由 α 和 β 亚基组成,在细胞内区段并未发现有酶的活性。

二、细胞核受体

核受体家族主要包括固醇类激素受体、视黄素受体、甲状腺素受体以及过氧化酶增殖体激活受体(peroxisome proliferator-activated receptors, PPARs)。当甾体激素、视黄酸、维生素A、维生素D、甲状腺素等进入细胞后,与核受体结合,形成复合物,在细胞核中产生作用。这类受体家族具有共同的结构特征,都具有6个相同的结构区。

PPARs有三种亚型,它们是不同基因表达的产物,可分为PPAR α , PPAR γ 和PPAR δ , PPARs拥有一个与其他核受体家族成员相同的区域结构。各类亚型的DNA结合区域(DBD)的序列比较,表明它们有相当高的保守性。然而,配体结合区域(LBD)在各种亚型中则有极低水平的保守性。在LBD内,某些保守氨基酸对于受体信号转导起重要作用,而位于配体结合腔的氨基酸残基上有很重要的序列变异。事实表明,每个受体亚型都有药理学区别。在各种亚型中,受体的N-端区域只有很低的序列同源性,在总体上缺少明显特征。最近的数据表明,正是由于N-端区域的不同,才导致了各受体亚型的生物功能差异。此外,PPARs N-端区域受有丝分裂原激活蛋白激酶(MAPK)的作用而发生磷酸化作用,将影响到受体的转录活性及可能的配体结合。

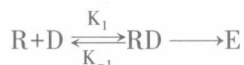
第三节 受体与配体的相互作用

具有结构特异性的配基,在很小剂量时即可产生生物效应,这是由于配基与体内特异性受体形成复合物的结果。关于药物与受体相互作用可能产生的作用方式,曾有不少学者提出多种学说。

一、占领学说(occupation theory)

Clark最早提出占领学说,认为药物作用的强度与药物占领受体的数量成正比。受体学说可用下

面最简单的方式表达:



式中, R 代表受体; D 代表药物分子; RD 代表药物受体复合物; E 代表药理效应; k_1 及 k_{-1} 分别为结合和解离速度常数。根据 Clark 的理论可以推出, 被占领的受体数量决定于受体周围的药物浓度及单位面积, 或单位容积内的受体总数 (R_t)。当被占领受体数增加时, 药物作用也随之增强, 当受体被完全占领时, 则可达到最大药理作用。

$$E = \frac{E_m [D]}{K_d + [D]}$$

式中 $[D]$ 为药物浓度; K_d 为平衡时的解离常数; E 代表药理效应; E_m 代表最大药理效应。这一方程与大家所熟悉的酶与底物关系的经典 Michaelis-Menten 式相同。

$$V = \frac{V_m [S]}{K_m + [S]}$$

式中 V 代表反应速率; V_m 为最大反应速率; $[S]$ 代表底物浓度; $[K_m]$ 代表酶-底物复合物的解离常数。图 1-1 和图 1-2 分别代表药物-受体相互作用所产生的效应 E 对药物浓度 $[D]$ 的关系, 以及酶反应速率 V 对底物浓度 $[S]$ 的关系。

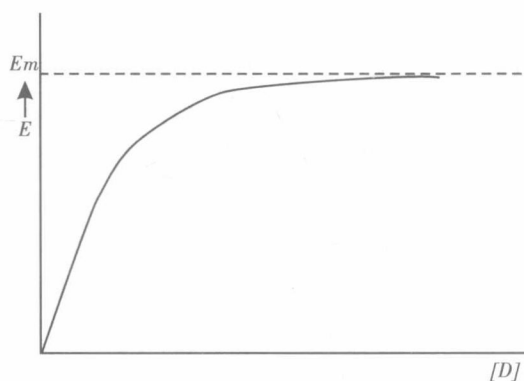


图 1-1 药物-受体相互作用所产生的效应 (E) 与药物浓度的关系

按照占领学说, 反应的大小应取决于被占领的受体数量, 由于激动剂对受体的亲和力不完全相同, 因而要使受体达到同等程度的占领就需要不同的剂量才能出现相同的反应。可是不同的激动剂作用于相同的受体部位却明显地产生程度不等的最大效应。同样, 与同一受体部位具有相等亲和力的不同配基, 如果所用浓度相同, 按照占领学说, 产生的效应也应相同。但实际情况是有的相同, 有的却不同, 并表现拮抗作用。

$$E_D = \alpha [DR] = \frac{\alpha (R_t)}{1 + (K_d/[D])}$$

式中 E_D 为药物产生的效应; α 决定药物与受体结合时产生效应大小的性质, 取值范围可从 0 ~

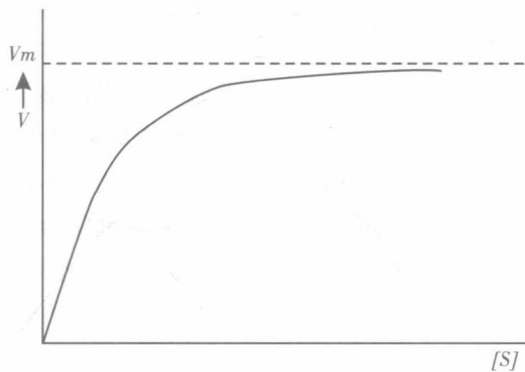


图 1-2 酶反应速率 (V) 与底物浓度 ($[S]$) 的关系

1, 如 $\alpha=1$, 则药物为完全激动剂, $\alpha<1$ 时, 药物为部分激动剂, $\alpha=0$ 时为拮抗剂。阻断剂虽然也能占领受体, 并可具有强的亲和力, 但由于其缺乏内在活性而不产生生物效应, 完全激动剂不仅亲和力高而且具有高的内在活性, 因而产生生物效应, 如以生物效应与药物浓度的对数作图, 可得 S 型曲线, 如一组药物的曲线有相同高度, 则认为具有相等的内在活性。药物亲和力越大, 则产生等效应所需要的药物浓度越低, 即 K_d 值越小, 反之亲和力越小, K_d 值越大。

占领学说已经说明了一些问题, 又经 Ariens 和 Stephenson 修改, 但仍然不能令人满意地解释为什么药物的作用类型有所不同, 不能从分子水平用化学结构来阐明药物的作用机制, 而且用数学分析证明, 药物作用不能用简单的受体占领学说来说明。

二、速率学说 (rate theory)

Croxatto 和 Huidobro 认为药物的效应只表明在与受体接触的一瞬间, 在此基础上, Paton 提出速率学说。他认为药物作用并不与受体被占领数成正比, 而是与单位时间内药物与受体接触次数成正比, 药物作用仅仅是药物分子与受体间的结合速率及解离速率的函数, 而与形成药物受体复合物无关。每次结合为生物效应构成一个刺激“量子”, 对激动剂来说, 即结合速率与解离速率。此学说也不能解释多种现象, 如有的激动剂具有形成受体复合物较易, 但有不解离的特性。另外, 速率学说与占领学说一样, 都不能解释在分子水平上发生的现象, 进一步说明为什么一个药物是激动剂, 而另一个结构相似的药物却是拮抗剂。

三、诱导契合学说 (induced fit theory)

Koshland 对酶与底物、半抗原与抗体、药物与受体间的相互作用提出了诱导契合学说。他根据底物与酶、药物与受体蛋白相互作用可产生明显的构象干扰的事实来解释药物的作用方式, 认为药物与受体蛋白结合时, 可使蛋白质三级结构产生可逆的改变, 并形容成“锁与钥”的关系, 这种变构作用可产生生物效应。以后 Koshland 又调整了他的学说, 可以解释协同效应, 即一个配基分子如与一个受体蛋白结合, 可诱导其中一个亚基发生构象变化, 这一亚基的构象变化可影响其他亚基的稳定性, 使其余亚基更易与配基结合。

四、两态模型 (two-state model)

Changeux 与 Karlin 分别于 1967 年提出受体的两态模型, 即受体可存在活性状态 R^* 与非活性状

态 R 两种不同的构象,两者均可与药物结合,而 R^* 与 R 之间也可以互相转化。一个激动剂主要与 R^* 结合,使平衡向成 AR^* 转移,一个阻断剂主要与 R 结合,使平衡向 AR 方向转移。部分激动剂则与 R^* 和 R 均可结合,视其与 R^* 与 R 的亲合力比例而决定。

还有一种固定的两态模型,这个学说是根据一些实验结果提出来的,因一些受体与激动剂结合后,激动剂容易被取代而阻断剂不易被取代;反之,如受体与阻断剂结合后,则激动剂不易被取代,而阻断剂容易被取代,从而提出固定的两态模型:即受体存在两种不同状态,互相不能转化,彼此独立存在,一种状态易与激动剂结合,而另一种状态易与阻断剂结合,并分别产生激动作用和阻断作用,部分激动剂则可与此两种状态的受体结合,从而产生部分激动剂生物效应。

五、常用作图法

被占领的受体与配基间的关系,可以在不同坐标系内用图解法表示,主要作图法有 5 种。

(一) 直接作图法

$[RL]$ 为已结合的配基的浓度, $[L]$ 为游离配基的浓度。以 $[RL]$ 对 $[L]$ 作图,因为此种作图法过于简单,能说明的问题有限,故多同时将这些数据进一步处理后,得到 Scatchard 和 Hill 图,以更说明问题。

(二) 半对数作图

以 $\log [L]$ 为横坐标,以 $[RL]$ 为纵坐标作图。在坐标系中,所得到的是一条 S 型曲线,该曲线与最大结合量半量水平相对的一点在横坐标的投影,即为 $\log K_d$ 。

(三) 双倒数作图法

以 $1/[L]$ 为横坐标, $1/[RL]$ 为纵坐标作图。在该坐标系内,曲线的斜率为 $K_d/B_{\max}$, 其在横坐标的截距为 $-1/K_d$, 在纵坐标的截距为 $1/B_{\max}$ 。

(四) 以 $[RL]$ 为纵坐标, $[L]$ 为横坐标作图

这是目前为止在受体研究中应用最广泛的作图法之一。通过 Scatchard 图,可以达到 3 种信息:①所得曲线在横坐标截距,为最大结合容量;②曲线的斜率为 $-1/K_d$;③曲线的形状能够反映是单一亲和力的受体(直线)还是两种以上亲和力的受体(曲线)。

(五) Hill 作图法

以 $\log ([RL]/[RL]_{\max} - [RL])$ 为纵坐标,以 $\log [L]$ 为横坐标作图。在该坐标系中 Clark 方程呈直线,直线的斜率即 Hill 系数 (n_H)。 n_H 是一个很有价值的指标,它可反映受体与配基结合作用中协同性的程度,当 $n_H = 1.0$ 时,表示不存在协同;大于 1.0 时,为正协同;而当小于 1.0 时,则或者为负协同,或者表示存在不同亲和力的结合部位。

第四节 受体的作用机制

一、受体的磷酸化

很多膜受体在与相应配基结合后,往往发生受体的磷酸化。其中酪氨酸蛋白激酶 (TPK) 通过使底物蛋白中酪氨酸磷酸化而起作用是近年来研究得最多和最深入的。

具有酪氨酸蛋白激酶活性的生长因子受体 (RTK) 是一类重要的受体,他们在调节细胞的生长和分化中起重要作用。其特点是当配基与受体结合后,受体自身的酪氨酸残基被磷酸化,而这些磷

酸化的酪氨酸残基为胞质内信号分子提供高度选择性结合位点。当配基结合后，可引起受体胞外结构的构象变化，形成受体二聚体。二聚体形成后可激活自身的酪氨酸激酶的活性，相互磷酸化对方的酪氨酸残基。还有一种情况是配基结合后，可引起二硫键联结的四聚体的构象改变，即可引起自身磷酸化或其他蛋白的酪氨酸残基磷酸化。

二、受体介导的内吞作用

受体介导的内吞作用是指配体与膜受体相结合，随即引发细胞膜的内陷，形成的囊泡将配体裹入并输入到细胞内的过程。因此，它是一种专一性很强的内吞作用，能使细胞选择性地摄入大量的专一性配体。如动物细胞摄取胆固醇的过程就是通过受体介导的内吞作用实现的。细胞摄取胆固醇是进行膜的生物合成所必需的，胆固醇与载脂蛋白结合以脂蛋白复合物形式运输。低密度脂蛋白是一种大的球形颗粒，直径约22nm，每一个低密度脂蛋白含有一个由大约1500个胆固醇分子组成的核心，其周围被含有单一蛋白质的脂质双层包围。当动物细胞需要胆固醇进行生物合成时，产生的低密度脂蛋白受体蛋白插入脂膜中，并迁移至被膜窝区，与被膜窝区相结合。随后被膜窝脱落而形成被膜囊泡。因此，结合于低密度脂蛋白受体的低密度脂蛋白颗粒迅速实现内部化而完成内吞作用。其后，被膜囊泡迅速失去其被膜，并与其他囊泡形成较大的被称为内吞小体的囊泡，并依次与初级溶酶体融合形成次级溶酶体。以低密度脂蛋白形式存在的胆固醇在溶酶体中水解成游离的胆固醇，用于新的生物膜合成。

三、膜脂类代谢作用

由于膜表面受体是与膜的脂质双层相互作用的，膜脂类特别是磷脂代谢的变化，在受体调节中起很重要的作用。近年来的研究表明，在激动剂长期作用下，某些受体的失敏与磷脂酶A₂ (PLA₂)的激活密切相关。PLA₂的底物是磷脂酰胆碱(PC)，PC在PLA₂催化下可生成花生四烯酸(AA)和溶血磷脂酰胆碱。这一作用一方面改变了膜的流动性，为受体内吞创造了条件。另一方面其产物AA又是合成前列腺素和白三烯等生物活性物质的底物，后二者对受体也有一定的调节作用。应用PLA₂的抑制剂，可有效地防止某些受体的下行调节。

第五节 受体药理常用的研究方法

一、受体的放射性配基结合分析

受体的放射性配基结合分析(radioligand binding assay of receptors, RBA)简称为受体放射分析(radioassay of receptors)，它是应用放射性核素标记配基与特异受体相结合，研究受体的亲和力和受体的数量，以及研究受体亚型的常用方法。受体放射性配基结合分析的基本原理和放射免疫相似。放射性标记配基(激动剂或拮抗剂)和组织、细胞，或含有受体的制剂一起温育，使受体和配基充分结合，形成受体-配基复合物，终止反应后，用过滤或离心的方法除去未被结合的标记物，测定滤膜或沉淀物中的放射性，即可计算出和配基结合的受体的量。

二、荧光共振能量转移技术

(一) 技术基本原理

荧光能量共振转移(fluorescence resonance energy transfer, FRET)是指距离很近的两个荧光分子间产生的一种能量转移现象。当供体荧光分子的发射光谱与受体荧光分子的吸收光谱重叠，并且两

个分子的距离在 10nm 范围以内时,当供体分子吸收一定频率的光子后被激发到更高的电子能态,在该电子回到基态前,通过偶极子相互作用,实现了能量向邻近的受体分子转移(即发生能量共振转移)就会发生一种非放射性的能量转移,即 FRET 现象,使得供体的荧光强度比它单独存在时要低得多(荧光猝灭),而受体发射的荧光却大大增强(敏化荧光)。

(二) FRET 技术的应用

1. 检测酶活性变化

蛋白质磷酸化是细胞信号转导过程中的重要标志,研究其中的酶活性是研究信号通路的一个重要方面。以往酶活性测定主要是利用放射性以及免疫化学发光等方法,但前提都是要破碎细胞,用细胞提取物测定酶活性,还无法做到活细胞内定时、定量、定位地观测酶活性变化。而利用 FRET 方法就可以很好地解决这个问题:如 Zhang 等人利用 FRET 原理设计了一种新的探针(一种融合蛋白)。新探针包含一个对已知蛋白激酶特异性的底物结构域,一个与磷酸化底物结构域相结合的磷酸化识别结构域。这个探针蛋白的两端是 GFP 的衍生物 CFP 与 YFP,利用 FRET 原理工作。当底物结构域被磷酸化后,分子内部就会发生磷酸化识别结构域与其结合而引起的内部折叠,两个荧光蛋白相互靠近就会发生能量迁移。如果磷酸酶进行作用将其去磷酸化,分子就会发生可逆性的变化。由此可见,利用 FRET 方法可以很好地观察活细胞内酶活性变化,并且能做到定时、定量、定位,是一种非常有效的研究手段。

2. 受体激活效应在细胞膜上的横向扩散

膜蛋白的研究一直都是信号通路研究中的重点和难点。当细胞膜局部受外界刺激后,相应受体被激活然后向细胞内传导信号,可是在这之前是否会有细胞膜上的横向效应呢?近来 Peter 等人在 *Science* 杂志上报道细胞膜局部受刺激后,膜受体活化效应可迅速扩展到整个细胞膜。他们将膜受体 EGFR (epidermal growth factor receptor) 与 GFP 融合,抗活化后的 EGFR 抗体用 Cy3 染料标记,刺激因子 EGF (epidermal growth factor) 用 Cy5 染料标记,这样可以很明显地观察到 EGF 在细胞膜上的局部分布。当 EGF 作用细胞后,EGFR 活化并与其抗体结合,于是 GFP 与 Cy3 染料充分接近发生 FRET,利用此方法可以很明显地观测到细胞膜局部受刺激后,受体活化效应迅速扩散到整个细胞膜。

3. 膜蛋白的定位修饰

膜蛋白定位于细胞膜上不同的区域中,如脂质筏(lipid rafts)和小窝(caveolae),小窝包含着丰富胆固醇、鞘磷脂和信号蛋白。利用 FRET 技术可研究膜蛋白在膜上的定位。用 GFP 的突变体 CFP (cyan fluorescent protein) 和 YFP (yellow fluorescent protein) 来标记各种酰基化修饰的敏感序列,结果发现产生的 FRET 信号非常强,说明 FRET 技术能够对膜蛋白在细胞膜上进行标记定位。

4. 细胞膜受体之间相互作用

外界刺激因素向细胞内的信号传递一般认为通过其在胞膜上的受体,当配体与受体结合后,引起受体构象变化或化学修饰,介导信号传递。应用 FRET 技术发现二聚体的受体间可发生相互作用,而且当两受体的配体都存在时才出现 FRET,说明两受体被激活时才发生相互作用。

三、离体器官生物检定

在医学与生物学迅猛发展的今天,一些经典的药理学中常用的方法仍是受体药理学研究中不可替代的方法与手段。它可以用来观察药物直接作用于靶器官并测定其生物活性,方法快速、简单又可定量。往往由于不同的离体器官含有不同的受体亚型,因此离体器官生物鉴定法也是鉴别亚型受体的很好的方法,如豚鼠回肠对吗啡类药物反应敏感,而小鼠输精管对脑啡肽作用特别敏感,豚鼠回肠含有 μ 受体,而小鼠输精管富含 δ 受体。因此在含有已知受体的离体器官标本,研究药物作用