

# 心血管药理学

第二版



苏定冯 主编  
缪朝玉

P-10  
Mig



科学出版社  
www.sciencep.com

# 心血管药理学

第二版

苏定冯 缪朝玉 主编

科学出版社

北京

## 内 容 简 介

本书不仅包含了心血管药理学领域近 20 年来的重要发明、发现和进展，也展现了作者本人的研究成果和经验体会。这些内容对从事心血管疾病工作的临床医生和研究人员更新及完善心血管药理学知识有参考价值，对相关领域的研究生进行科研选题和启发创新性思维也会有所帮助。

本书主要作为从事心血管系统疾病和药物等方面工作的研究人员和医务人员的参考书，也可以用做相关专业的研究生教材。

### 图书在版编目(CIP)数据

---

心血管药理学 / 苏定冯, 缪朝玉主编. —2 版. —北京: 科学出版社, 2010

ISBN 978-7-03-026553-1

I. ①心… II. ①苏… ②缪… III. ①心脏血管疾病—药物—药理学  
IV. ①R972

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 016278 号

---

策划编辑: 沈红芬 吴茵杰 / 责任编辑: 王 红 / 责任校对: 刘小梅  
责任印制: 刘士平 / 封面设计: 黄 超

**科学出版社** 出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

**中国科学院印刷厂** 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

\*

2001 年 10 月第 一 版 开本: 787×1092 1/16

2010 年 2 月第 二 版 印张: 30 插页: 1

2010 年 2 月第二次印刷 字数: 709 000

印数: 4001—6 000

**定价: 120.00 元**

(如有印装质量问题, 我社负责调换〈科印〉)

## 《心血管药理学》（第二版）编写人员

主 编 苏定冯 缪朝玉

编 者 （按姓氏汉语拼音排序）

陈 红 韩启德 何 明 李 玲

李 瑶 李冬洁 李学军 李元建

林作伦 刘 霞 罗 丹 罗健东

缪朝玉 芮耀诚 沈甫明 苏定冯

陶 霞 王 娟 徐 炎 徐添颖

张婧婕 张秀花 张幼怡 周小明

# 第一版序言

## ——兼谈科研选题创新问题

我国心血管药理学近年发展迅速，从事心血管药理学的专业人员与研究生人数均居药理学各专业之首。历年投稿与发表的心血管药理学论文，据《中国药理学与毒理学杂志》统计，也为药理学各专业之冠，但是研究水平与论文质量还有待提高<sup>[1]</sup>。这一现状要求我们从基础做起，特别要重视研究生的培养教育。为打好研究生的专业基础，教材建设是首要的。第二军医大学苏定冯教授有鉴于此，特组织国内专家编写了这本可供研究生用的心血管药理学教材。这对我国研究生教育与心血管药理学的发展是一个重要的贡献与促进。

综观本书内容，首先反映出心血管药理学研究生的专业需要，不少章节的内容是其他心血管药理学参考书上所没有的，如实验设计和科研成果的表达、高血压动物模型与高血压药研究方法、血压和心率的频谱分析、血压波动性等章。为适应研究生开阔思路的需要，本书有许多心血管药理学研究前沿的新颖专题，如高血压的基因治疗、心血管疾病的一氧化氮合酶基因治疗、基因芯片在心血管研究中的应用、跨膜信息传递系统的分子机制、细胞凋亡与心血管疾病、嘌呤与嘧啶受体的心血管药理、同型半胱氨酸与心血管疾病、一氧化氮、糜酶及其抑制剂、心肌缺血预适应等章。这些内容不仅对研究生了解最新的研究动向有帮助，而且对研究生的科研选题也有启发。本书的其他章节内容属于心血管药理学经典内容，近年也有许多新进展，对加强研究生的基础理论与启发研究生创新思维均有帮助。尤其重要的是本书的作者大都是我国从事心血管药理学或相关学科研究有成就、指导研究生有经验的专家，其中有著名的院士与资深的教授，也有具有丰富实践经验与学术有成的中青年博士专家。本书内容不仅反映出国内外的最新进展，也包涵有作者自己的研究成果与经验体会。从本书内容看，本书不仅是心血管药理学研究生的好教材，对心血管生理学与病理生理学以及心血管病临床研究生也是很好的参考书。而且由于本书选题涵盖面广、内容分量适中、简明扼要，也是一本高质量的心血管药理学参考书，对心血管病的临床医师充实与更新心血管药物药理知识也有参考价值。

本书主编苏定冯教授嘱我在此序言中谈谈科研选题创新问题，我们在这方面经验不多，倒有些教训，愿以己管见引起国内药学界对科研选题如何创新问题的重视与讨论。科学研究的灵魂是创新，创新必须有新思路。国外期刊对新的学术思路很重视。《Cardiovascular Research》从2001年起增辟了“新思路”（a growth of ideas）专栏。该杂志在为开辟这一专栏写的评论中很形象而又深刻地描写了科学工作者的时弊<sup>[2]</sup>：“独腿”瘸行，迷恋实验技术，挖洞自理，目光短浅而无远见卓识，缺乏历史意识，废弃祖先。正是“不识庐山真面目，只缘身在此山中”。但是“独腿”不能捷足先登，故提出应发挥“另一腿”的作用：要开阔视野，充分了解心血管医学的发展史，用今日的知识透视过去，认识新思路与引向

新发现是如何产生的。定出有新意的课题，两条腿并用，然后“提腿射门”！

提高研究工作的创新性，要从研究的选题思路开始。科研选题要新颖，起点要高。这就要求我们及时了解国际与国内研究的现状与前沿，密切追踪本专业的文献，特别注意吸取新思路与新概念，沿着新观点与新思路提出假设，我概括为顺向外展（unidirectional extrapolation）。例如，我们注意到 Ignarro 等确定一氧化氮（NO）是阴茎勃起的神经递质的新理论<sup>[3]</sup>，同时我们发现人参皂苷及其成分 Rgl 能促进血管内皮细胞合成 NO，由此推论人参皂苷可能通过促进 NO 的合成来舒张阴茎海绵体。离体实验结果证实了这一假设<sup>[4]</sup>，为人参的壮阳作用提供了理论解释。随后多个实验室证实了这一结果，而且发现多种中草药植物成分有促进 NO 的合成/释放的作用。

由于学科之间的理论关联与交叉性日益密切，要创新也要注意从其他有关的生命科学文献中找出新观点与新理论。例如细胞凋亡（apoptosis）也称为程序性细胞死亡的新概念来源于病理学。首先发现细胞凋亡的形态学不同于细胞死亡。随后发现它在器官发育与某些病理过程中有重要作用，成为近年生物医学研究的热门课题。我国旅美心血管药理学家岳天立与马新亮等把细胞凋亡有内源性促进因素存在这一新理论外展到心血管药理学，发现用小分子合成物 SB203580 来抑制促进细胞凋亡的 p38 丝裂原（mitogen）激活的蛋白激酶（p38 MAK），可以抑制心血管的细胞凋亡，进而减轻有细胞凋亡参与的心肌缺血再灌注损伤，使细胞凋亡成为开发研究心血管药的新靶点<sup>[5,6]</sup>。由上可见沿着首创性新观点顺其方向外展选题可以创新，起点越高，创新的成果越大。

另一使研究工作有首创性的选题思路暂名之为逆向外展（reverse extrapolation），即以一定线索为依据，对传统的理论观点提出疑问，向相反的方向推论，结果可能有开创新领域的新发现。1998 年诺贝尔奖获得者之一 Furchgott 发现内皮依赖性舒张因子（EDRF）的经历可视为逆向外展的例子。20 世纪 80 年代以前，只知道乙酰胆碱（ACh）作用于血管平滑肌的 M 受体引起血管收缩，但是 Furchgott 发现 ACh 有时舒张血管。他设想 ACh 可能促使血管内皮细胞生成一种舒张因子，在制备离体血管时，如果损伤了内皮细胞，ACh 只表现出作用于平滑肌引起血管收缩。他巧妙地设计了用血管“三明治”等方法证实血管内皮细胞产生舒张因子的假设，随后的研究证明 EDRF 主要是 NO<sup>[7]</sup>。这一首创性发现，从心血管药理学开始，带动了整个医学与生命科学的发展。Vanhoutte 等在 EDRF 的启发下，根据一些观察，从 EDRF 再逆向推论提出血管内皮细胞也生成内皮收缩因子（EDCF）。这符合中医阴阳并存的理论。1988 年，日本药理学家 Masaki 与其研究生 Yanagisawa 等从血管内皮细胞提取了有强大收缩血管作用的内皮素（endothelin）<sup>[8]</sup>，证实了 Vanhoutte 的逆向推论。仅仅十几年时间，现已克隆出内皮素的 AB 两型受体，且已有将内皮素受体拮抗剂 bosentan 试用于临床治疗高血压、肺动脉高压与心力衰竭等病症，并取得初步阳性结果<sup>[9]</sup>。

逆向外展对科研首创性的重要性还可以从心肌缺血再灌注损伤与心肌缺血预适应的例子得到证明。20 世纪 70 年代发现心肌较长时间缺血造成一定损伤后再灌注供血时，不但不能减轻损伤，反而加重损伤。这种意外的损伤称为心肌缺血再灌注损伤，成为 20 世纪 70 年代及以后的心血管研究热点之一。1986 年，Murry 等用逆向思维试验心肌对缺血的耐受性问题，发现当心肌短时间（5 分钟）反复缺血后再灌注时，能减轻随后较长时间缺血造成的心肌梗死，提出心肌缺血预适应保护心肌损伤的新理论，即短时缺血可建立心肌

对缺血性损伤的耐受性<sup>[10]</sup>，成为近年心血管以及相关研究的另一热点。我们从 20 世纪 70 年代末研究心肌缺血再灌注损伤的药物保护作用，也曾发现人参皂苷与血管紧张素转化酶抑制剂对心脑的此种损伤有保护作用<sup>[11,12]</sup>。为建立此模型，也曾经观察到缺血 15~20 分钟后再灌注不加缺血性损伤。但未试验短时多次缺血结果如何，主要是缺乏心脏对缺血能否建立耐受性问题的思路，这决非设备条件限制，因为研究心肌缺血再灌注损伤与研究心肌缺血预适应保护作用所需的设备条件完全一样，差别只是缺血时间长短不同。因此我们未能有更大的创新，原因在于没有逆向外展的思路；缺乏对生命规律的联想与类比思维，即生命有其脆弱性，例如大量病菌可致命，长时间缺血可使心肌死亡；但是生命有适应力才能生存，正如小量病菌可以刺激机体产生抗体与免疫力，短时间多次缺血可以使心肌产生耐缺血能力，甚至耐受其他损伤的能力。

提高创新能力不仅要有好的选题思路，还要有活跃的科学思维能力。在研究进行中，遇到意外的结果时，要跳出原有的设计与假设，重新思考。壮阳药伟哥（viagra；西那非尔，sildenafil）的发现是很有启发性的。西那非尔是甲基哌嗪衍生物，是磷酸二酯酶（PDE）抑制剂。原先作为抗心肌缺血药研究，动物实验效果不佳。后来了解到它抑制的 PDE 是第 5 亚型（PDE5），主要分布于阴茎海绵体，认识到 NO 为阴茎勃起的神经介质<sup>[3]</sup>，而 NO 是通过激活鸟苷酸环化酶产生 cGMP 舒张阴茎海绵体，使阴茎勃起的；而 PDE5 是使阴茎局部的 cGMP 失活，抑制阴茎勃起。西那非尔选择性抑制此酶，正可以保护 cGMP 免于失活，促进阴茎勃起。辉瑞制药厂随即改变西那非尔的研究方向，终于研制出壮阳药伟哥<sup>[13]</sup>。

最后，简单谈谈对心血管药理学科研选题方向的想法。人的基因图谱已经完成，这一划时代的进展为解决与人类遗传有关的肿瘤、心血管病等的病因以及研制新药、发展基因治疗等提供了极大的推动力<sup>[14]</sup>。心血管基因药理学无疑是 21 世纪发展的大方向之一<sup>[15,16]</sup>。用细胞与分子生物学方法及电脑技术形成的生物信息学（bioinformatics）研究心血管系统的基因多态型（例如已有不少报道血管紧张素转化酶的多态型）与心血管发病学和药物疗效的关系有重要的理论与应用意义。研究心血管生理与药理学的信号转导对阐明药物作用机制与开发新药也极为重要。生命过程是极为复杂奥妙的，近年心血管药物的重大发展例如血管紧张素转化酶抑制剂、血管紧张素 II 受体拮抗剂、内皮素受体拮抗剂等，与正在临床观察治疗充血性心力衰竭的血管肽酶抑制剂 omapatrilat<sup>[17]</sup>，以及细胞凋亡、心肌缺血预适应等，正在作为开发心血管药物的新途径，无一不是受到对心血管的生理过程了解的启发。引起人们注意的具有强大心血管作用与潜在的药用价值的肾上腺髓质素（adrenomedullin）<sup>[18]</sup>与硬骨鱼紧张肽 II（urotensin II）均为参与生理与病理过程的活性物质。注意，研究发现内源性活性物质的心血管药理学应是本学科研究的另一主攻方向。中草药是我国的宝库，中草药研究也是我国的传统优势。洋地黄类是世界上第一个研究应用成功的治疗心力衰竭的植物药，也是我国心血管药理学前辈吕富华教授开创的心血管药理学的主要研究成果。近几十年我国心血管药理学研究的主要成就在中草药，近年中草药的应用与研究日益引起国际上的重视，Katzung 主编的世界药理学权威教科书之一——《Basic and Clinical Pharmacology》2001 年出版的第 8 版，新增加了一章植物药草药与营养补助品的药理，重点介绍了人参、银杏叶、大蒜等的心血管药理作用<sup>[19]</sup>。美国国家卫生研究院（NIH）1998 年成立了辅助药品与备选医药学国家中心（National Center for

Complementary and Alternative Medicine, NCCAM)。研究经费由 1998 年的 1950 万美元, 增加到 2000 年的 6830 万美元, 2 年增加了 3 倍多, 今年预计将增加到 1 亿美元<sup>[20]</sup>。我们应当坚持中草药方面的选题, 加倍努力, 用生命科学的新观点、新理论与中医经验理论结合, 用基因图谱、蛋白质图谱及细胞分子生物学、色谱学等新技术研究, 将微观与宏观研究相结合, 把细胞分子生物学与离体、整体实验方法联成一体, 分工协作进行研究, 以期取得突破性新成果。

陈 修

2001 年 3 月 16 日

### 参 考 文 献

- [1] 陈维洲. 我国心血管药理事业的新近进展. 见: 金正均等主编. 药理学进展. 北京: 科学出版社, 1999. 6~30
- [2] Weber KT. Uncover, discover and the growth of ideas. *Cardiovas Res*, 2000, 48: 361
- [3] Ignarro LJ. Nitric oxide as the physiological mediator of penile erection. *J Natl Institute Health*, 1992, 4: 59
- [4] Chen X, Lee TJ. Ginsenosides induce NO-mediated relaxation of the corpus cavernosum of the rabbit. *FASEB J*, 1993, 7, A4446, 全文见 *Brit J Pharmacol*, 1995, 115: 15
- [5] Ma XL, Kumar S, Gao F, et al. Inhibition of p38 mitogen-activated protein kinase decreases cardiomyocyte apoptosis and improves cardiac function after myocardial ischemia and reperfusion. *Circulation*, 1999, 99: 1685~1691
- [6] Yue TL, Ohlstein EH, Ruffolo RR, et al. Apoptosis: a potential target for discovering novel therapies for cardiovascular diseases. *Curr Opin Chem Biol*, 1999, 3: 474~480
- [7] Furchgott RF. The discovery of endothelium-dependent relaxation. *Circulation* 1993, 87 (Suppl V): V3
- [8] Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*, 1988, 332: 411
- [9] Benigni A, Remuzzi G. Endothelin antagonists. *Lancet*, 1999, 353: 133
- [10] Murry CE, Jennings RB, Reimer KA, et al. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*, 1986, 74: 1124
- [11] Fang YX, Shen N, Chen X. Beneficial changes in prostacyclin and thromboxane A<sub>2</sub> by ginsenosides in myocardial infarction and reperfusion injury of dogs. *Acta Pharmacologica Sinica*, 1986, 7: 226~230
- [12] Li K, Chen X. Protective effect of captopril and enalapril on myocardial ischemia and reperfusion damage of rat. *J Mol Cell Cardiol*, 1987, 19: 909~915
- [13] Boolell M, Allen MJ, Ballard SA, et al. Sildenafil: an oral active type 5 cyclic GMP-specific phosphodiesterase inhibitor for the treatment of penile erectile dysfunction. *Int J Impot Res*, 1996, 8: 47
- [14] Durham NP, Hall AS. Genes and the heart: a quest for new therapeutic strategies. *Yeast*, 2000, 17: 16
- [15] March R. Pharmacogenomics: the genomics of drug response. *Mol Med Today*, 1999, 5: 195
- [16] Rubin EM, Tall A. Perspective for vascular genomics. *Nature*, 2000, 407: 265
- [17] McClean DR, Ikram H, H Garlick A, et al. The clinical, cardiac, renal, arterial and neurohor-



- monal effects of omapatrilat, a vasopeptidase inhibitor, in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol*, 2000, 36: 479
- [18] Nishikimi T, Nagata S, Sasaki T, et al. The active molecular form of plasma adrenomedullin is extracted in the pulmonary circulation in patients with mitral stenosis; possible role of adrenomedullin in pulmonary hypertension. *Clin Sci*, 2001, 100: 61
- [19] Katzung BG. *Basic and Clinical Pharmacology*. 8th ed. New York: Lange Medical Books, 2001, 1088~1103
- [20] NCCAM, Five year strategy. 见 <http://nccam.nih.gov/nccam/strategic/>

# 前 言

第一版《心血管药理学》于2001年出版，至今已有八年。当时，由于研究生教学缺乏相应的教材，本书的出版填补了这个空白，满足了心血管药理学高层次人才培养的需要。国内的许多大学，凡设有心血管药理学这门课程的，多以本书为教材。此外，作为参考书，也很受中青年医生和从事心血管疾病研究的专业人士的欢迎。本书最大的优点是特色鲜明，许多内容是在其他教科书或参考书中看不到的。交流中，我们听到了许多赞许和表扬。然而，八年过去，心血管药理学研究有了很大的发展，本书的再版迫在眉睫。

《心血管药理学》第二版在以下几方面作了调整：一是彻底删除了本科教材里含有的内容，如抗高血压药、抗心律失常药、抗慢性心功能不全药等，使之更高级、更前沿。二是减少了一些公共的、非心血管药理学特有的内容，如跨膜信息传递等，使之更专业。三是把本书从教材的属性转变为专著，在内容和编排上均有所变更，可供从事心血管系统疾病、心血管系统药物等方面研究的人员和医务工作者参考。同时，本书仍然适合作为研究生的教材，适用的范围更广、发挥的作用更大。书名没有变，虽然我们也曾考虑过用《心血管药理学前沿》或《高级心血管药理学》。“前沿”和“高级”(advanced)虽然没有用于书名，但在本书的内容里却有充分的体现。陈修教授曾为本书的第一版作序。该序言写得很好，我们全文保留，不再求新的序言。

《心血管药理学》第二版得到以下基金资助：①国家“973”计划项目(2009CB521900)；②国家杰出青年科学基金(30525045)；③国家自然科学基金重点项目(30730106)；④国家重大新药创制科技重大专项(2009ZX09303-002)。

张偌瑜讲师、刘冲讲师为本书校稿付出了辛勤的劳动，在此一并表示感谢。

苏定冯 缪朝玉

2009年12月28日于上海

# 目 录

第一章	肾上腺素受体 .....	1
第二章	心血管系统离子通道药理学 .....	20
第三章	高血压动物模型 .....	39
第四章	动物血压测量 .....	50
第五章	抗高血压药物研究 .....	63
第六章	高血压的基因治疗研究 .....	76
第七章	动脉压力感受性反射与心血管疾病 .....	101
第八章	血压波动性与高血压的防治 .....	111
第九章	一氧化氮的信号转导通路 .....	121
第十章	腺苷受体 .....	143
第十一章	心肌缺血预适应 .....	155
第十二章	细胞凋亡与心血管疾病 .....	169
第十三章	5-羟色胺的心血管药理 .....	182
第十四章	高同型半胱氨酸血症与心血管疾病 .....	200
第十五章	心血管疾病与糖代谢紊乱 .....	215
第十六章	治疗缺血性脑血管病药 .....	233
第十七章	氧化应激与抗氧化剂 .....	249
第十八章	肾素-血管紧张素系统的新靶标 ACE2 及其新药发现 .....	273
第十九章	糜酶及其抑制剂 .....	281
第二十章	炎症与心血管疾病 .....	295
第二十一章	心血管疾病与遗传 .....	318
第二十二章	基因芯片技术在心血管研究中的应用 .....	356
第二十三章	蛋白质组学在心血管研究中的应用 .....	397
第二十四章	RNA 干扰以及 miRNA 技术在心血管研究中的应用 .....	409
第二十五章	多靶点药物治疗与多靶点药物研究进展 .....	432
第二十六章	科研创新、科研选题和设计 .....	447
第二十七章	科研成果的表达 .....	458

彩图

# 第一章

---

## 肾上腺素受体

肾上腺素受体(adrenergic receptors)是一类膜表面糖蛋白,属于G蛋白偶联受体。它的内源性激动剂为去甲肾上腺素(norepinephrine, NE)和肾上腺素(epinephrine, Epi),分别由交感神经末梢及肾上腺髓质释放。肾上腺素受体通过识别并选择性地与儿茶酚胺类物质特异性结合,引起胞内信号转导通路的激活,从而引起一系列生物反应。交感-儿茶酚胺系统对维持心脏生理功能及血压稳态具有非常重要的作用。此外,这些受体及与其相连的胞内效应器的改变还可以导致心血管疾病的发生,如高血压、心绞痛、心律失常、心力衰竭等。

在所有与G蛋白偶联的膜表面受体中,肾上腺素受体是目前相对了解最清楚的一种,因而它又可作为研究G蛋白偶联受体家族的一个理想模型。本章主要从肾上腺素受体的进化、分型、构效关系、调节、各亚型之间的交互作用及其在心血管系统的分布与功能等几个方面作一简要介绍。

### 第一节 肾上腺素受体的进化与历史

#### 一、肾上腺素受体的生物进化

随着物种的起源与进化,肾上腺素受体有一个从无到有、从少到多、从简单到复杂的进化趋势。肾上腺素受体在生物进化过程中最先出现的是 $\beta$ 肾上腺素受体,此后才出现 $\alpha$ 肾上腺素受体。不同物种的比较研究表明,原生动物和原核生物中根本没有肾上腺素受体,真菌中如酵母菌也没有肾上腺素受体表达。到腔肠动物门开始表达肾上腺素受体。Awad EW 和 Anctil M 发现,海洋三色紫罗兰 *Renilla koellikeri* 细胞膜标本中存在着与腺苷酸环化酶相偶联的 $\beta_1$ 、 $\beta_2$ 肾上腺素受体样物质,其腺苷酸环化酶可被多种 $\beta$ 肾上腺素受体激动剂激活。现已清楚,交感神经、血循环中的儿茶酚胺类物质及肾上腺素受体激动剂可通过激活 $\beta$ 肾上腺素受体而加快心律、增强心肌收缩力及自动节律性等。可见, $\beta$ 肾

上腺素受体的早期发生对于生物更好地适应外界环境起着重要的作用。 $\alpha_1$  肾上腺素受体和  $\alpha_2$  肾上腺素受体较  $\beta$  肾上腺素受体出现得晚, 在头索类动物分化以后才广泛分布于各种更高级的物种中。事实上,  $\alpha_1$  肾上腺素受体和  $\alpha_2$  肾上腺素受体的出现, 是对  $\beta$  肾上腺素受体的补充, 有助于中枢神经系统及血循环中儿茶酚胺类物质对机体的进一步精细调节。北京大学药理学研究室曾对大鼠心脏、血管组织中的  $\alpha_1$  肾上腺素受体三种亚型作了一系列的研究。以大鼠心脏中的三种  $\alpha_1$  肾上腺素受体亚型与  $\beta$  肾上腺素受体的交互作用为例,  $\alpha_1$  肾上腺素受体的激动能抑制  $\beta$  肾上腺素受体介导的正性变力效应, 而且不同亚型受体的调节方向不同。这充分证实  $\alpha_1$  肾上腺素受体与  $\beta$  肾上腺素受体相互作用, 共同参与对机体的调节。肾上腺素受体亚型的多样化分化是伴随着大脑神经系统的发育而进行的, 这提示肾上腺素受体各亚型的进一步分化很有可能是对高级神经系统的精细调节功能不断趋于完善的一种适应。

## 二、肾上腺素受体的研究历史<sup>[1]</sup>

肾上腺素受体作为一个古老的受体已有 100 多年的研究历史。David B Bylund 曾总结为四个阶段: 生物化学时代(biochemical era, 1901~1960)、生理学时代(physiological era, 1961~1984)、药理学时代(pharmacological era, 1976~1993)和分子生物学时代(molecular era, 1987~ )。每个时代都有新的实验技术的应用, 从而带来对肾上腺素受体的新认识。

### (一) 生物化学时代(1901~1960)

这个时期主要是分离出了一系列化学小分子, 如内源性肾上腺素受体的配体肾上腺素、去甲肾上腺素和信号分子环磷酸腺苷(cAMP)等。1901 年 Abel 首次在肾上腺髓质中分离出了肾上腺素, 这也是第一个分离出来的激素。但是在此期间, 最重要的贡献之一是 1948 年 Ahlquist 提出的肾上腺素受体分为  $\alpha$  和  $\beta$  两型的概念。他观察到子宫、瞳孔和心脏等对儿茶酚胺的不同反应, 首次报道了异丙基肾上腺素可以引起平滑肌舒张, 去甲肾上腺素可以引起平滑肌收缩。根据这些现象, 他提出这些儿茶酚胺可以作用于两种不同的受体, 并命名为  $\alpha$  和  $\beta$  肾上腺素受体。因此, 在此阶段对受体的分类是依据受体的药理特性和介导的功能来定义的。这一概念为后来两个时代的研究奠定了非常重要的基础。

### (二) 生理学时代(1961~1984)

这个时期的研究主要集中在利用离体组织实验, 观察肾上腺素受体的生理功能。根据  $\beta$  肾上腺素受体激动剂异丙基肾上腺素的分子结构, 1964 年 Black 和他的合作者们成功地合成了  $\beta$  肾上腺素受体拮抗剂——普萘洛尔, 成为第一个应用于临床的肾上腺素受体拮抗剂。他们利用离体心脏灌流装置(langendorff)观察到豚鼠心脏不依赖于心率的异丙基肾上腺素引起的收缩效应。随后, 根据对一系列激动剂的不同反应性, Lands 等将  $\beta$  肾上腺素受体进一步分为  $\beta_1$  和  $\beta_2$  两种亚型。但是, 显然这两种亚型受体还不能解释所有生理效应。到了 20 世纪 80 年代早期, Arch 等报道在大鼠棕色脂肪组织存在一种非  $\beta_1$  又非  $\beta_2$  的  $\beta$  肾上腺素受体, 提出了非经典  $\beta$  肾上腺素受体亚型的概念。至于  $\alpha$  肾上腺素受体的分

型,最初是根据他们的解剖位置, Langer 将其分为神经突触后 1 亚型和神经突触前 2 亚型。

### (三) 药理学时代(1976~1993)

这个时期最为重要的新技术是受体的放射配体结合试验(radioligand binding assay)。在 20 世纪 70 年代中期, Snyder 和 Lefkowitz 等学者先后应用放射性核素氘和碘标记的肾上腺素受体配体,成功地检测了火鸡红细胞和大鼠、猴脑的  $\beta$  肾上腺素受体,大鼠脑和子宫的  $\alpha$  肾上腺素受体。特别是负压过滤技术的应用,使放射配体结合实验成为肾上腺素受体和其他 G 蛋白偶联受体研究中非常简便和有效的实验手段。这个实验技术使评价受体与药物的亲和性、检测受体的表达数量和亚细胞定位以及观察在某些特定条件下受体的调节和特性变化等都成为了可能。由于放射配体结合实验的应用能够准确测定受体与配体的亲和性,根据与配体亲和性的差别,肾上腺素受体被进一步分为不同亚型。 $\beta$  肾上腺素受体被分为  $\beta_1$  和  $\beta_2$  两种亚型, $\alpha$  肾上腺素受体被分为  $\alpha_1$  和  $\alpha_2$  两种亚型。到了 20 世纪 80 年代中期,根据在放射配体结合实验中  $\alpha$  肾上腺素受体显示的对拮抗剂 WB 4101、CEC、酚妥拉明等不同的亲和性,进一步被分为  $\alpha_{1A}$  和  $\alpha_{1B}$ 。尽管这项技术最初是用于检测组织和细胞的粗质膜的受体,随着技术的发展和使用范围的拓宽,已经广泛应用于完整细胞、组织切片,甚至整体动物。

### (四) 分子生物学时代(1987~ )

20 世纪 80 年代中期,分子生物学技术的应用给受体研究带来了迅猛发展。通过克隆各种肾上腺素受体亚型,进一步证实了受体亚型的存在,也证实和发展了药理学的受体亚型分类方案。经过多个实验室的努力,最终确定了肾上腺素受体的分型和亚型,即分为  $\beta$ 、 $\alpha_1$  和  $\alpha_2$  三型;每一型又分为至少三种亚型,每一种亚型都得到了基因克隆和染色体定位。基因的突变技术和转基因鼠技术,使我们对受体的药理学性质和生物学功能有了更好的理解。

近年来,人们对生命科学的研究策略发生了变化,高通量手段的发展也使人们能够实现多个数据,甚至是海量数据的同时采集,使我们能够去探究受体之间的交互作用,揭示受体后信号转导的复杂调控网络,尝试用复杂系统的理论去阐述生命现象。对肾上腺素受体的研究和认识究竟应该总结为什么时代,现在下结论还为时过早,也许是遗传学时代,也许是组学时代,也许是系统学时代。随着科学的发展,时间将会告诉我们。

## 第二节 肾上腺素受体的分型

目前认为受体的分型有三条标准:①受体对特异性配体(包括拮抗剂和激动剂)的亲和性;②受体激动后的信号转导途径和生物学效应;③受体的基因结构和在染色体上的定位。根据以上标准,肾上腺素受体可分为  $\alpha_1$ 、 $\alpha_2$  和  $\beta$  三型,它们的主要药理与信号转导特征如表 1-1 所示。各型受体还可分为至少三种亚型。

表 1-1  $\alpha_1$ 、 $\alpha_2$  与  $\beta$  肾上腺素受体的药理与信号转导特征

	激动剂特征		拮抗剂特征		信号转导特征		
	亲和性序列	选择性激动剂	亲和性序列	选择性拮抗剂	G 蛋白	G 蛋白偶联的酶	第二信使
$\alpha_1$ -AR	Epi = NE $\geq$ PE > Iso	PE, 甲氧明	Praz $\gg$ Yoh	BE2254	$G_q/11$	PLC	DAG $\uparrow$
		西拉唑啉		Praz			IP <sub>3</sub> $\uparrow$
$\alpha_2$ -AR	Epi > NE $\geq$ PE > Iso	BHT933, UK14304	Yoh $\gg$ Praz	Yoh, Rauw	Gi	AC	cAMP $\downarrow$
		BHT920		咪唑克生			
$\beta$ -AR	Iso > Epi; NE > PE	Iso		普萘洛尔	Gs	AC	cAMP $\uparrow$
				阿普洛尔			

注: AR. 肾上腺素受体; Epi. 肾上腺素; NE. 去甲肾上腺素; PE. 去氧肾上腺素; Iso. 异丙基肾上腺素; Praz. 哌唑嗪; Yoh. 育亨宾; Rauw. 异育亨宾碱; PLC. 磷脂酶 C; AC. 腺苷酸环化酶; DAG. 二酰基甘油; IP<sub>3</sub>. 三磷酸肌醇; cAMP. 环磷酸腺苷。

## 一、 $\alpha_1$ 肾上腺素受体亚型

自 20 世纪 70 年代末就不断有学者发现, 不同组织中的  $\alpha_1$ -AR 在药理特性上有所不同。最初的结果大多是在  $\alpha_1$ -AR 激动剂对血管平滑肌收缩反应实验中得到的, 发现  $\alpha_1$ -AR 与同一激动剂的亲和性不同。还有研究显示,  $\alpha_1$ -AR 激动剂中的咪唑类药物和苯乙醇胺类药物所激动的  $\alpha_1$ -AR 不同, 且在快速减敏中没有交叉。但由于激动剂实验结果往往受到受体储备、内在活性、相对效率与微环境等诸多因素的影响, 难以得出肯定的结论。Morrow 与 Greese 等<sup>[2]</sup>于 1986 年用 <sup>3</sup>H-哌唑嗪作为放射性配体, 显示拮抗剂 WB 4101 和酚妥拉明与大鼠大脑皮质中的  $\alpha_1$ -AR 有高、低亲和性两种结合位点, 并假设它们为  $\alpha_1$ -AR 的两种亚型, 分别称之为  $\alpha_{1A}$  与  $\alpha_{1B}$ 。1987 年 Han 等<sup>[3,4]</sup>除进一步显示这两种结合位点对其他几种  $\alpha_1$ -AR 拮抗剂(包括可逆与不可逆拮抗剂)的结合有选择性外, 还证明它们在信号转导和生物学效应上存在显著的差别, 从而全面证实了  $\alpha_{1A}$  与  $\alpha_{1B}$  两种  $\alpha_1$ -AR 亚型的存在。

此后各国学者相继证实了这些发现, 并进一步发现一些选择性作用于  $\alpha_{1A}$  与  $\alpha_{1B}$  亚型的拮抗剂与激动剂。概括起来,  $\alpha_{1A}$  与  $\alpha_{1B}$  的药理特性及信号转导特征主要存在三方面的差别。①与氯乙基可乐定(chlorethylclonidine, CEC)的反应: 尽管  $\alpha_{1A}$ -AR 与  $\alpha_{1B}$ -AR 均能与 CEC 结合, 亲和性也无显著差别, 但仅  $\alpha_{1B}$ -AR 可与 CEC 发生烷化反应从而被不可逆阻断; ②与选择性拮抗剂和激动剂的亲和性: 与拮抗剂 WB 4101、酚妥拉明、benoxathian、5-methyl-urapidil(5-MU)、(+)-niguldipine 等和激动剂甲氧明、部分激动剂 oxymetazoline 等的亲和性  $\alpha_{1A}$ -AR 均显著高于  $\alpha_{1B}$ -AR, 仅 spiperon 的亲和性为  $\alpha_{1B}$ -AR 高于  $\alpha_{1A}$ -AR; ③细胞内信号转导机制:  $\alpha_{1A}$ -AR 激动后引起的生物学效应依赖于细胞外  $Ca^{2+}$  的存在, 而  $\alpha_{1B}$ -AR 至少效应的启动并不依赖细胞外  $Ca^{2+}$  的进入。虽然两种亚型受体激动时都引起肌醇磷脂的水解, 但生成磷酸肌醇的种类、生成途径与时相等都有明显差别。这些

现象提示,  $\alpha_{1B}$ -AR 激动后细胞内游离  $Ca^{2+}$  增高的机制与传统认识一致, 即通过 G 蛋白与磷脂酶 C(phospholipase C, PLC) 激活, 产生三磷酸肌醇(inositol triphosphate,  $IP_3$ ) 增加, 继而动员细胞内储存  $Ca^{2+}$  释放, 而  $\alpha_{1A}$ -AR 激动时可能通过 G 蛋白激活后直接引起  $Ca^{2+}$  通道的改变而使细胞外  $Ca^{2+}$  进入细胞<sup>[5]</sup>。

直到 1988 年, 从仓鼠输精管平滑肌细胞 DDT<sub>1</sub>MF-2 中克隆出  $\alpha_{1B}$ -AR 基因, 并定位于第 5 对染色体上, 推断出其氨基酸序列由 515 个氨基酸残基组成。1990 年, 又从牛脑组织中得到一种新的  $\alpha_1$ -AR cDNA 克隆, 位于第 8 对染色体, 编码 446 个氨基酸, 其跨膜区氨基酸序列有 72% 与  $\alpha_{1B}$ -AR 相同。该受体在 COS7 细胞表达后, 与 WB4101、酚妥拉明和羟甲唑啉等的亲和性显著高于  $\alpha_{1B}$ -AR, 而与  $\alpha_{1A}$ -AR 相近, 但却又能被 CEC 不可逆性阻断, 因而既不同于  $\alpha_{1A}$ -AR, 又不同于  $\alpha_{1B}$ -AR, 被称为  $\alpha_{1C}$ -AR。1991 年 Lomasney 在大鼠脑中克隆到一种新的  $\alpha_1$ -AR cDNA, 位于第 20 对染色体上, 编码 560 个氨基酸, 其中跨膜区氨基酸序列有 73% 与  $\alpha_{1B}$ -AR 相同, 其 mRNA 的组织分布与  $\alpha_{1A}$ -AR 相似, 经在哺乳动物细胞中表达后, 其与 WB4101 和酚妥拉明有较高的亲和性, 因而宣称克隆到了  $\alpha_{1A}$ -AR。Perez 等于同年也从大鼠的大脑海马回中克隆到一种  $\alpha_1$ -AR 的 cDNA, 它的碱基序列与 Lomasney 报道的克隆只差两个碱基对, 但该受体在 COS7 细胞表达后, 与 WB4101 及 5-MU 的亲和性虽略高于  $\alpha_{1B}$ -AR, 却显著低于  $\alpha_{1A}$ -AR 和已克隆的  $\alpha_{1C}$ -AR, 尤其是对 (+)niguldipine 的亲和性甚至比  $\alpha_{1B}$ -AR 还低, 而且可部分地被 CEC 不可逆阻断, 因而他们认为这是第四种  $\alpha_1$ -AR 亚型, 称之为  $\alpha_{1D}$ -AR。1989 年 Lomasney 等<sup>[28]</sup>撰文同意 Perez 等的观点, 承认他们克隆到的  $\alpha_1$ -AR 并非  $\alpha_{1A}$  亚型, 而为第四种亚型; 同时他们认为该受体与  $\alpha_{1A}$ -AR 有不少相同之处, 故建议称之为  $\alpha_{1A/D}$ -AR。随后, 人、大鼠和犬的  $\alpha_{1B}$ -AR, 人和大鼠的  $\alpha_{1C}$ -AR 以及人的  $\alpha_{1D}$ -AR 也相继得到克隆。大鼠的  $\alpha_{1C}$ -AR cDNA 于 1993 年被克隆, 与牛的  $\alpha_{1C}$ -AR 呈 93% 同源性, 其药理特性及在大鼠组织的分布均与药理学分类中的  $\alpha_{1A}$  亚型相似。

在上述工作的基础上, 1995 年国际药理联合会受体命名与药物分类委员会作出最后决定, 将  $\alpha_1$  肾上腺素受体分成  $\alpha_{1A}$ 、 $\alpha_{1B}$  与  $\alpha_{1D}$  三种亚型。以前命名的  $\alpha_{1C}$  亚型被取消, 包括其克隆也被称作  $\alpha_{1A}$  克隆。 $\alpha_1$  肾上腺素受体亚型的确立对新型  $\alpha_1$  肾上腺素受体拮抗剂的研制与应用具有重大意义<sup>[6]</sup>。药理学研究提示, 可能存在  $\alpha_{1L}$  亚型, 其对哌唑嗪亲和性较低, 但后来的研究提示它可能为  $\alpha_{1A}$  的一种特殊构象。因此, 有学者提出了“一种基因, 两个受体”的理论<sup>[7]</sup>。

关于  $\alpha_1$  肾上腺素受体三种亚型在分子结构、基因染色体定位以及药理学特性方面的差别可归纳为表 1-2。

表 1-2  $\alpha_1$  肾上腺素受体亚型的基因定位及药理学特征

	$\alpha_{1A}$	$\alpha_{1B}$	$\alpha_{1D}$
氨基酸残基数	h466 r466	h519 r515	h572 r561 m562
基因染色体定位(人)	8	5	20
亲和性序列			
激动剂			



续表

	$\alpha_{1A}$	$\alpha_{1B}$	$\alpha_{1D}$
去甲肾上腺素( $\mu\text{mol/L}$ )	1.2~2.8	10	0.012
肾上腺素( $\mu\text{mol/L}$ )	0.3	6	0.016
去氧肾上腺素( $\mu\text{mol/L}$ )	1.7~3.8	N	0.13
选择性激动剂			
羟甲唑啉( $\mu\text{mol/L}$ )	0.3	N	1.7
A61603 ( $\mu\text{mol/L}$ )	0.006~0.03	N	2.6
拮抗剂			
哌唑嗪	++++	++++	++++
酚妥拉明	+++	+++	+++
选择性拮抗剂			
WB4101	++++	+	+++
5-methyl-urapidil	++++	+	++
SNAP	++++	+	+
Rec152739	++++	+	+
RS17053	++++	+	+
KMD3213	++++	+	++
BM Y7378	+	+	++++
SK F105854	+	+	+++
氯乙基可乐定敏感性	+	++++	+++

注：h. 人；r. 大鼠；m. 小鼠；上表中+至++++用以表示同一种药物对三种亚型亲和性的差别，并不代表实际亲和性，也不用以比较不同药物对同一种亚型的亲和性。激动剂亲和性为 EC50 值。N. 没有数据。参考 The IUPHAR Committee on Receptor Nomenclature and Drug Classification 出版的《The IUPHAR Compendium of Receptor Characterization and Classification 2000》。

## 二、 $\alpha_2$ 肾上腺素受体亚型

根据对选择性拮抗剂的亲和性及组织分布特异性，可将  $\alpha_2$ -AR 分成  $\alpha_{2A}$ 、 $\alpha_{2B}$  和  $\alpha_{2C}$  三种亚型，其基因定位和药理学特征如表 1-3。

表 1-3  $\alpha_2$  肾上腺素受体亚型的基因定位和药理学特征

	$\alpha_{2A}$ <sup>a</sup>	$\alpha_{2B}$	$\alpha_{2C}$
氨基酸残基数	H, r, m450	h450 r453 m455	h461 r458 m458
基因染色体定位(人)	10q23-q25	2	4
亲和性序列		Epi>NE	
激动剂 <sup>b</sup>	$\alpha$ -甲基去甲肾上腺素 可乐定、溴莫尼定 右旋美托咪啶	$\alpha$ -甲基去甲肾上腺素 可乐定、溴莫尼定 右旋美托咪啶	$\alpha$ -甲基去甲肾上腺素 可乐定、溴莫尼定 右旋美托咪啶
选择性激动剂 <sup>c</sup>	羟甲唑啉		

续表

	$\alpha_{2A}$ <sup>a</sup>	$\alpha_{2B}$	$\alpha_{2C}$
拮抗剂 <sup>b</sup>	萝芙素 育享宾	萝芙素 育享宾	萝芙素 育享宾
选择性拮抗剂 <sup>c</sup>	BRL44408 BRL 48962	哌唑嗪 咪洛克生	哌唑嗪 ARC239

注：h. 人；r. 大鼠；m. 小鼠。选择性拮抗剂亲和性(括号中的数字)以 $-\log K_i$ 值来表示。a. 大鼠、小鼠和牛的 $\alpha_2$ 肾上腺素受体与Yoh、Rauw和oxymetazoline的亲性和较人的 $\alpha_2$ 肾上腺素受体低约20倍。b. 相对于 $\alpha_1$ 肾上腺素受体的选择性激动剂或拮抗剂。c.  $\alpha_2$ 肾上腺素受体亚型的选择性激动剂或拮抗剂。参考The IUPHAR Committee on Receptor Nomenclature and Drug Classification出版的《The IUPHAR Compendium of Receptor Characterization and Classification 2000》。

采用分子生物学技术最先分别从人的血小板、基因库和肾克隆到三种 $\alpha_2$ 肾上腺素受体，其基因分别定位于第10对、第2对和第4对染色体上，故称作 $\alpha_2-C_{10}$ 、 $\alpha_2-C_2$ 和 $\alpha_2-C_4$ 。它们分别含450、450与461个氨基酸，也由七个跨膜单位组成。与 $\alpha_2$ 肾上腺素受体结构上的主要差别是第三胞内环更大，而羧基末端较短。三种亚型受体跨膜单位的氨基酸序列有75%相同。 $\alpha_2-C_{10}$ 的药理特性及分布与 $\alpha_{2A}$ 完全相符；多数意见认为， $\alpha_2-C_2$ 、 $\alpha_2-C_4$ 与 $\alpha_{2B}$ 、 $\alpha_{2C}$ 间的关系为 $\alpha_2-C_1$ 与 $\alpha_{2B}$ 对应， $\alpha_2-C_4$ 与 $\alpha_{2C}$ 对应。后来又分别克隆到猪和大鼠的 $\alpha_2-C_{10}$ 、大鼠的 $\alpha_2-C_2$ 以及大鼠的 $\alpha_2-C_4$ <sup>[8]</sup>，Michel等和Simonneaux等分别报道，大鼠颌下腺与牛松果体中的 $\alpha_2$ 肾上腺素受体不同于上述各种 $\alpha_2$ 肾上腺素受体亚型，建议称为 $\alpha_{2D}$ 亚型，但至今尚未得到公认。

### 三、 $\beta$ 肾上腺素受体亚型

早在20世纪60年代中后期，就已确定 $\beta$ 肾上腺素受体包含 $\beta_1$ 与 $\beta_2$ 两种亚型，二者与内源性激动剂的亲和性分别为 $NE \geq Epi$ 和 $Epi > NE$ 。它们对某些拮抗剂的亲和性也有差别，目前对 $\beta_1$ 肾上腺素受体和 $\beta_2$ 选择性最强的拮抗剂分别为CGP20712A和ICI118551，它们对两种亚型 $K_d$ 值的差别达数百到近千倍。20世纪80年代中期，Lefkowitz实验室先后克隆出地仓鼠和人的 $\beta_2$ 肾上腺素受体cDNA，它们位于第5对染色体，所编码的 $\beta_2$ 肾上腺素受体分别含有418与413个氨基酸，两者同源性达87%，在跨膜区与胞内环的氨基酸序列分别有95%和93%相同。1987年该实验室从人胎盘cDNA文库分离到 $\beta_1$ 肾上腺素受体基因，其编码含477个氨基酸，与人 $\beta_2$ 肾上腺素受体仅有54%的同源性，即使在跨膜区也仅有71%的同源性。 $\beta_1$ 肾上腺素受体与 $\beta_2$ 的拓扑结构总体上与 $\alpha_1$ 肾上腺素受体相似<sup>[9]</sup>。

$\beta_3$ 肾上腺素受体最早发现于啮齿类动物的脂肪组织，其发现主要基于 $\beta$ 肾上腺素受体激动剂介导的脂肪分解作用不能被传统的 $\beta$ 肾上腺素受体拮抗剂所阻断。1989年Emorine等克隆到人 $\beta_3$ 肾上腺素受体克隆，编码含402个氨基酸，序列与人的 $\beta_1$ 肾上腺素受体与 $\beta_2$ 分别仅有50.7%与45.5%的同源性，位于第8对染色体。在分别转染 $\beta_1$ 肾上腺素受体、 $\beta_2$ 肾上腺素受体与 $\beta_3$ 肾上腺素受体cDNA的CHO细胞中进行研究，发现 $\beta_3$ 肾上腺素受体的药理特性与 $\beta_1$ 或 $\beta_2$ 肾上腺素受体有很大差别，主要表现在：①与经典的 $\beta$ 肾上腺

腺素受体拮抗剂如  $\beta_1$  肾上腺素受体选择性拮抗剂 CGP20714A 及  $\beta_2$  肾上腺素受体选择性拮抗剂 ICI118551 的亲性和都极低；②与  $\beta$  肾上腺素受体拮抗剂结合的立体异构特异性差；③与激动剂的亲性和由强至弱依次为 BRL37344 > NE > Epi  $\geq$  普瑞特罗 (prenaterol,  $\beta_1$  肾上腺素受体选择性激动剂) 与沙丁胺醇 (salbutamol,  $\beta_2$  肾上腺素受体选择性激动剂)，其中与 BRL37344 的亲性和甚至高于异丙基肾上腺素 (isoproterenol, Iso)；④ $\beta_1$  肾上腺素受体和  $\beta_2$  肾上腺素受体的拮抗剂吲哚洛尔 (pindolol)、CGP12177 与氧烯洛尔 (oxprenolol) 等对  $\beta_3$  肾上腺素受体反而起激动剂效应。 $\beta_3$  肾上腺素受体主要分布于脂肪细胞，激动时引起脂肪分解。在目前已发现的选择性  $\beta_3$  肾上腺素受体激动剂中，CGP12177 和布新洛尔 (bucindolol) 的亲性和最高；BRL37344、LY79771、ICI201651 和 SR58611A 刺激环磷酸腺苷 (cyclic adenosine monophosphate, cAMP) 生成的作用较强；CL316243 的选择性最高。较理想的选择性  $\beta_3$  肾上腺素受体拮抗剂为 SR59230A，特异性  $\beta_3$  肾上腺素受体放射配体为  $^3\text{H-SB206606}$ 。 $\beta_3$  肾上腺素受体的分子结构和基因特征与  $\beta_1$  肾上腺素受体和  $\beta_2$  肾上腺素受体存在显著差异：①人的  $\beta_3$  肾上腺素受体基因有内含子，而  $\beta_1$  肾上腺素受体和  $\beta_2$  肾上腺素受体则无；② $\beta_3$  肾上腺素受体的羧基末端缺少蛋白激酶 A (cAMP-dependent protein kinase, PKA) 和 2 型 G 蛋白偶联受体激酶 (G protein-coupled receptor kinase 2, GRK2) 的磷酸化位点；③啮齿类动物  $\beta_3$  肾上腺素受体在白色和棕色脂肪组织中的表达及对特定  $\beta_3$  肾上腺素受体选择性激动剂的敏感性与人的  $\beta_3$  肾上腺素受体存在明显的种属差异，而  $\beta_1$  肾上腺素受体和  $\beta_2$  肾上腺素受体不存在种属差异。此外发现， $\beta_1$ -AR 和  $\beta_3$ -AR 在心肌的表达水平上可相互抑制，在慢性心力衰竭心肌中尤为明显。在心力衰竭时， $\beta_1$ -AR 明显下调，而  $\beta_3$ -AR 在心室肌的表达可增加 2~3 倍。当长期给予心肌 NE 刺激诱导  $\beta_1$ -AR 和  $\beta_2$ -AR 下调的同时， $\beta_3$ -AR 的表达却可发生上调 (表 1-4)。

表 1-4  $\beta$  肾上腺素受体亚型的基因定位和药理学特征

	$\beta_1$	$\beta_2$	$\beta_3$
氨基酸残基数	h477; r, m466	h413; r, m418	h408; r, m400
基因染色体定位(人)	10q24—q26	5q31—q32	8p11—p12
亲和性序列	Iso > NE > Epi	Iso > Epi > NE	Iso = NE > Epi
选择性激动剂	地诺帕明 扎莫特罗 <sup>a,b</sup> T0509 <sup>a,b</sup>	特布他林 沙丁胺醇 丙卡特罗 非诺特罗 苯甲磺喘宁 沙美特罗	CGP12177 <sup>c</sup> CL316243 <sup>d</sup> BRL37344 <sup>d</sup>
选择性拮抗剂	CGP20712A(8.5~9.3) 倍他洛尔(8.5) 阿替洛尔(7.6) 比索洛尔(8.1~8.8)	ICI118551(8.3~9.2)	SR59230A(7.5~8.8) 布洛洛尔 <sup>c</sup> (6.9~7.3)

注：h. 人；r. 大鼠；m. 小鼠；Iso. 异丙基肾上腺素；NE. 去甲肾上腺素；Epi. 肾上腺素；药物亲和性(括号中的数字)以  $-\log K_i$  或  $-\log K_B$  值来表示；a. 选择性相对于  $\beta_2$  肾上腺素受体而言；b. 在一些组织为部分激动剂；c. 为  $\beta_1$  肾上腺素受体和  $\beta_2$  肾上腺素受体的高亲和性拮抗剂；d. 啮齿类动物  $\beta_3$  肾上腺素受体的内在活性较人的  $\beta_3$  肾上腺素受体高；参考 The IUPHAR Committee on Receptor Nomenclature and Drug Classification 出版的《The IUPHAR Compendium of Receptor Characterization and Classification 2000》。

20 多年前就有学者提出,除  $\beta_1$  肾上腺素受体和  $\beta_2$  肾上腺素受体之外,包括人在内的多种动物心脏上还存在着另一种  $\beta$  肾上腺素受体。该观点基于非常规激动剂(-)Pindolol、(-)CGP12177 和(-)cyanopindolol 等在采用远高于拮抗心脏  $\beta_1$  肾上腺素受体和  $\beta_2$  肾上腺素受体所需剂量时,表现出显著的心脏激动效应,但至今尚未克隆到这种  $\beta$  肾上腺素受体的基因。对它的研究仅限于药理学水平,因此其命名也很不统一,包括非典型  $\beta$  肾上腺素受体(atypical  $\beta$ -adrenergic receptor)、第三种心脏激动  $\beta$  肾上腺素受体(the third stimulatory adrenergic receptor)、第四种心脏  $\beta$  肾上腺素受体(the fourth cardiac adrenergic receptor)等。Kaumann 等<sup>[10]</sup> 建议将这种在药理学上已证实存在的受体称为  $\beta_3$  肾上腺素受体或“可能存在的”的  $\beta_4$  肾上腺素受体(putative  $\beta_4$  adrenergic receptor)。但近年来,有人提出所谓的  $\beta_4$  亚型实际是  $\beta_1$  亚型的一种立体变构体。

### 第三节 肾上腺素受体结构与功能的关系

肾上腺素受体属于典型的 G 蛋白偶联膜表面受体,由七个跨膜段(每 20~28 个连续的疏水氨基酸构成  $\alpha$  螺旋,形成一个跨膜段)、三个细胞外环、三个细胞内环以及细胞外氨基末端和细胞内羧基末端组成。

#### 一、细胞外区域的功能

所有肾上腺素受体亚型在细胞外氨基末端都含有若干糖基化位点。与其相连的糖起什么作用至今不明,但至少可以肯定,它们与配体的结合特性无关。细胞外环的某些半胱氨酸可通过二硫键来稳定配体结合袋(ligand-binding pocket)。例如  $\beta_2$  肾上腺素受体中第一细胞外环第 106 位及第二细胞外环第 184 位、第 190 位与第 191 位都为半胱氨酸,用其他氨基酸取代其中任一半胱氨酸都会使受体-配体结合能力降低<sup>[64]</sup>。

#### 二、跨膜区域的功能

现有的研究表明,肾上腺素受体跨膜区域与配体结合有关,证据有:①采用放射性光亲和性探针与  $\beta_2$  肾上腺素受体或  $\alpha_2$  肾上腺素受体共价结合,然后酶解肾上腺素受体,显示探针与肾上腺素受体共价结合的部位均在跨膜区域;②删除  $\beta_2$  肾上腺素受体的亲水性细胞外环或细胞内环各区域片段,对其与配体的结合并无影响,但当删除疏水性跨膜区域的氨基酸片段时,则与配体结合的能力明显降低。若改换  $\beta_2$  肾上腺素受体第一、二、三或七跨膜区中若干高度保守氨基酸中的任意一个,与配体结合的特性也会发生明显改变;③对一系列  $\beta_1$ - $\beta_2$ 、 $\beta_2$ - $\alpha_2$  或  $\beta_2$ - $\alpha_{1B}$  等嵌合受体药理特性的研究表明,第六和第七跨膜区域对决定拮抗剂结合特性起关键作用,而所有一至六跨膜区域结构都与激动剂结合特性有关。例如当依次将  $\beta_2$  肾上腺素受体的前 2 个、前 4 个和前 5 个跨膜区域的氨基酸序列换成  $\alpha_2$  肾上腺素受体相应区域的氨基酸序列时, $\beta_2$  肾上腺素受体与其激动剂的亲和性依次减弱,而与此同时与  $\alpha_2$  肾上腺素受体激动剂的亲和性依次增高,但是所有这些嵌合受体与  $\beta_2$  肾上腺素受体拮抗剂的亲和性并无改变,且完全不能与  $\alpha_2$  肾上腺素受体的拮抗剂结

合。如果在调换前 4 个跨膜区域结构的同时,将  $\beta_2$  肾上腺素受体第七个跨膜区及细胞内羧基末端换成  $\alpha_2$  肾上腺素受体的结构,则该嵌合受体与拮抗剂结合的特性完全由  $\beta_2$  肾上腺素受体变成了  $\alpha_2$  肾上腺素受体。

### 三、细胞内区域的功能

上述  $\beta_2$  肾上腺素受体嵌合体尽管在与配体结合特性上表现为  $\alpha_2$  肾上腺素受体的特性,但当  $\alpha_2$  肾上腺素受体部分激动剂 P-aminoclonidine(PAC)作用于该受体时却表现出典型的  $\beta_2$  肾上腺素受体效应,即腺苷酸环化酶(adenylate cyclase, AC)活性增高,而不是  $\alpha_2$  肾上腺素受体激动时产生的 AC 活性降低。这提示,尽管配体结合特性由跨膜区决定,但决定受体激动后与 G 蛋白偶联的结构则存在于细胞内区域。Cotecchia 等用  $\alpha_{1B}$  肾上腺素受体的第三细胞内环取代  $\beta_2$  肾上腺素受体的第三细胞内环,结果显示配基结合特征仍保持  $\beta_2$  肾上腺素受体特性,但  $\beta_2$  肾上腺素受体激动剂不再引起 AC 的激活,而是产生典型的  $\alpha_1$  肾上腺素受体效应,即 PLC 的激活与肌醇磷脂的水解,这说明第三细胞内环是肾上腺素受体与 G 蛋白偶联进而引发信号转导的部位。如果分别将  $\alpha_{1B}$  肾上腺素受体的第三细胞内环各部位(包括氨基段、中间段与羧基段)以及细胞内羧基末端的氨基酸序列换成  $\beta_2$  肾上腺素受体的氨基酸序列,则除第三细胞内环外,其余突变受体与 PLC 的偶联都显著减弱,说明第三细胞内环中间段和羧基端与 G 蛋白偶联有关。此外,细胞内羧基末端的近端也参与肾上腺素受体与 G 蛋白和非 G 蛋白的偶联。

### 四、肾上腺素受体的晶体结构

自从 2002 年确定了第一个 G 蛋白偶联受体——视紫质的晶体结构后,直到 2007 年才确定了  $\beta_2$  肾上腺素受体的晶体结构<sup>[11,12]</sup>。对于 G 蛋白偶联受体大家族,  $\beta_2$  肾上腺素受体仅是第二个被解析出晶体结构的受体。由于天然丰度低,内在柔性大,并且在去垢剂中不稳定,肾上腺素的晶体结构分析比较困难。美国斯坦福大学的科学家通过重组  $\beta_2$  肾上腺素受体的方法,使受体蛋白的晶体结构相对稳定。一种方法是通过加入反向激动剂并用 Fab 结合第三个胞内环来稳定结构,在脂质环境中得到受体晶体。通过高亮显微结晶成像得到衍射数据,并且解析度达到  $3.4\text{\AA}/3.7\text{\AA}$ 。 $\beta_2$  肾上腺素受体跨膜区的胞内段和连接环得到了很好的解析,但未能观测到受体的胞外区。与视紫质晶体结构不同的是  $\beta_2$  肾上腺素受体的第三跨膜区和第六跨膜区胞内端的相互作用较弱,其中含有一个保守的 E/DRY 序列。这种结构上的差异可能与  $\beta_2$  肾上腺素受体较高的基础活性和结构不稳定性相关,也是造成我们难以得到非视紫质 G 蛋白偶联受体晶体结构的原因。另一种方法是将人  $\beta_2$  肾上腺素受体与 T4 溶菌酶重组,其融合蛋白晶体的解析度达到  $2.4\text{\AA}$ 。重组受体与反向激动剂哌唑洛尔结合,提供了一种结合配体的 G 蛋白偶联受体的高度解析成像。第二胞外环在配体结合区域的上方形成一对相邻的二硫键和一个短螺旋片段,这种结构可以掌控配体结合位点的开放。尽管哌唑洛尔在  $\beta_2$  肾上腺素受体上的结合部位与视黄醇在视紫质中的结合部位相似,但它们在配体结合位点及其他区域仍然存在结构上的差异。因此,视紫质并不是研究 G 蛋白偶联受体这个庞大家族的模板。人  $\beta_2$  肾上腺素受体晶体结构的确

定实现了 G 蛋白偶联受体研究领域盼望已久的突破。

## 第四节 心血管系统肾上腺素受体亚型及生理意义

$\alpha_1$  肾上腺素受体、 $\alpha_2$  肾上腺素受体和  $\beta$  肾上腺素受体在心血管系统生理、病理及药理学上均有重要意义。尽管它们的内源性激动剂相同，但在心血管系统中的分布各异，且它们通过各自偶联的 G 蛋白信号转导系统介导不同的生理效应，同时受体亚型之间还存在着复杂的交互作用，因而使得交感-儿茶酚胺系统对心血管功能的调控更为精细和准确。

### 一、 $\alpha_1$ 肾上腺素受体在心血管系统的分布与功能<sup>[13~23]</sup>

#### (一) 心脏

大多数哺乳动物，包括大鼠、仓鼠、豚鼠、猫、兔、羊、犬、猴和人等，心脏中均存在相当数量的  $\alpha_1$  肾上腺素受体，其中以大鼠心脏中的  $\alpha_1$  肾上腺素受体密度最高，超出其他种属 5 倍以上，而人的心脏  $\alpha_1$  肾上腺素受体密度最低。目前已证实， $\alpha_1$  肾上腺素受体的三种亚型在心脏中均有表达，但表达水平不尽相同，不同种属间亦存在明显差异，如人的心脏  $\alpha_{1A}$  肾上腺素受体 mRNA 的表达量最高，而大鼠为  $\alpha_{1B}$  肾上腺素受体，大鼠心脏  $\alpha_{1B}$  肾上腺素受体的蛋白密度最高。本实验室采用放射配体竞争抑制实验的方法证实，大鼠心脏中  $\alpha_{1A}$ 、 $\alpha_{1B}$  与  $\alpha_{1D}$  三种亚型约各占 25%、45% 和 30%。采用 RNA 酶保护与液相杂交方法测得的三种亚型 mRNA 的表达水平也与上述结果基本吻合。

心脏  $\alpha_1$  肾上腺素受体激动后通过其信号转导通路介导心肌正性变力效应。它与  $G_{q/11}$  偶联而激活 PLC，PLC 又激活磷酸肌醇信号系统，产生  $IP_3$  和二酰甘油 (diacylglycerol, DAG)，DAG 继而激活 PKC。 $IP_3$  通过激活肌浆网上的  $IP_3$  受体使细胞内储存  $Ca^{2+}$  释放，从而引起心肌的收缩。PKC 可增强收缩成分对  $Ca^{2+}$  的敏感性而增强心肌正性变力效应。此外，心脏  $\alpha_1$  肾上腺素受体激动还会引起其他一些细胞内效应，如 L 型  $Ca^{2+}$  通道、延迟整流  $K^+$  通道和乙酰胆碱激活的  $K^+$  通道 ( $I_{K-ACh}$ ) 的变化以及  $Na^+/H^+$  交换体和  $Na^+-K^+-ATP$  酶的激活等。 $\alpha_{1A}$  与  $\alpha_{1B}$  介导大鼠心肌正性变力效应的作用相似，而  $\alpha_{1D}$  几乎不发挥作用。生理情况下内源性激动剂 NE 和 Epi 主要通过  $\beta$  肾上腺素受体介导心肌正性变力效应，然而当  $\beta$  肾上腺素受体的效应减弱时 (如充血性心力衰竭或应用  $\beta$  肾上腺素受体拮抗剂时)， $\alpha_1$  肾上腺素受体的作用则相应增加。 $\alpha_1$  肾上腺素受体与  $\beta$  肾上腺素受体在介导心肌正性变力效应中还存在着交互作用。

当  $\alpha_1$  肾上腺素受体持续激动时可引起心肌细胞蛋白质合成增加，诱发心肌肥厚，其中大鼠以  $\alpha_{1A}$  亚型效率最高， $\alpha_{1D}$  亚型几乎不参与。除  $G_{q/11}$  外，其他一些细胞内信号转导分子及其相互间的作用亦参与了这一分子机制，主要包括小 G 蛋白 ras 和 rho、MAPK 家族中的 p38 以及 calcineurin 等。由于 calcineurin 尚在其他一些引发心肌肥厚的机制中起重要作用，故它在  $\alpha_1$  肾上腺素受体介导心肌肥厚效应中的作用受到了相当的关注，值得深入研究。

## (二) 血管

$\alpha_1$  肾上腺素受体是参与血管功能活动最重要的肾上腺素受体,几乎所有的血管平滑肌都有  $\alpha_1$  肾上腺素受体分布。笔者所在研究室多年来的研究表明,  $\alpha_{1A}$ 、 $\alpha_{1B}$  和  $\alpha_{1D}$  三种亚型在哺乳动物血管中均有分布,但不同血管分布的  $\alpha_1$  肾上腺素受体亚型各异,其中大鼠的功能性  $\alpha_1$  肾上腺素受体在主动脉、肺动脉和肠系膜动脉主要属  $\alpha_{1D}$  亚型,在肾动脉属  $\alpha_{1A}$  亚型,在尾动脉和门静脉属  $\alpha_{1A}$  与  $\alpha_{1B}$  亚型。在大鼠后肢和肠系膜恒流灌注模型中确定这两个部位阻力血管床的  $\alpha_1$  肾上腺素受体均属  $\alpha_{1A}$  亚型。这种亚型分布上的差异性具有重要的生理意义,如在应激条件下,由于不同血管对内源性激动剂 NE 和 Epi 的缩血管反应呈现较大差别,使血液供应得以重新分配,以适应机体需要。

血管  $\alpha_1$  肾上腺素受体激动时通过  $G_{q/11}$ -PLC 信号转导通路介导平滑肌收缩效应,从而影响血管张力,参与血压调节。本研究室在大鼠后肢恒流灌注模型研究中发现,大鼠后肢阻力血管  $\alpha_{1A}$  肾上腺素受体激动时信号转导具有钙依赖特征,细胞内游离  $Ca^{2+}$  增加约 90% 来源于细胞外  $Ca^{2+}$  通过双氢吡啶敏感的电压依赖性钙通道的内流,而此内流又在很大程度上依赖于细胞内储存  $Ca^{2+}$  的动员;另 10% 直接来源于细胞内  $Ca^{2+}$  池的释放。酪氨酸激酶(tyrosine kinases)也参与  $\alpha_{1A}$  肾上腺素受体介导的血管平滑肌收缩。进一步将  $\alpha_{1A}$  肾上腺素受体、 $\alpha_{1B}$  肾上腺素受体与  $\alpha_{1D}$  肾上腺素受体的全长 cDNA 分别转染到人胚肾(human embryo kidney, HEK)293 细胞上,并克隆到稳定表达单一亚型  $\alpha_1$  肾上腺素受体的细胞株,比较在同一细胞环境下三种亚型激动时细胞内游离  $Ca^{2+}$  信号的差别,结果显示三种亚型激动时都同时引起细胞外  $Ca^{2+}$  内流与细胞内释放,三者都在一定程度上依赖于细胞内  $Ca^{2+}$  释放来启动,但  $\alpha_{1A}$  肾上腺素受体与其他两种亚型相比,其信号更加依赖于细胞内  $Ca^{2+}$  的释放。

## 二、 $\alpha_2$ 肾上腺素受体在心血管系统的分布与功能

### (一) 心脏

心肌细胞是否有  $\alpha_2$  肾上腺素受体蛋白表达,目前尚缺少证据。有研究报道,采用 RNA 酶保护或 RT-PCR 检测到人的心脏组织中有  $\alpha_2$  肾上腺素受体 mRNA 的表达,但表达量甚少,至于是否来自心肌细胞更无直接证据。关于心脏  $\alpha_2$  肾上腺素受体的功能研究主要集中在突触前膜对去甲肾上腺素释放的抑制作用,但该作用由何种亚型介导目前尚不清楚。

### (二) 血管

最初认为  $\alpha_2$  肾上腺素受体仅存在于阻力血管平滑肌而不存在于大血管,理由是在完整器官灌流条件下能显示突触后  $\alpha_2$  肾上腺素受体增加灌流压的效应,而在离体血管标本则测不到  $\alpha_2$  肾上腺素受体介导的缩血管效应。随着放射配体结合分析技术的应用,发现不仅在微血管,而且大多数大血管中都存在  $\alpha_2$  肾上腺素受体。但由于放射配体结合实验都采用完整血管或血管床来进行,所测到的受体不一定来自平滑肌细胞,它们可以仅来自

交感神经末梢和血管内皮细胞。因此,功能学方法仍是评定血管平滑肌  $\alpha_2$  肾上腺素受体的最可靠方法。

现在证实除阻力血管外,不少大血管平滑肌中确实存在功能性  $\alpha_2$  肾上腺素受体,包括大鼠尾动脉、猫脑动脉、犬与人的桡动脉和股静脉、犬的肠系膜静脉、豚鼠的肾静脉,以及犬、兔与人的大隐静脉等。 $\alpha_2$  肾上腺素受体的功能效应除在阻力血管特别明显外,还有以下两个特征:①静脉较动脉明显;②皮下血管较深部血管明显。上述血管分布特征提示  $\alpha_2$  肾上腺素受体在较低温度、缺氧、酸性环境代谢产物蓄积等条件下,较易显示功能效应。上述假设现在已得到越来越多实验证据的支持。此外,血管平滑肌  $\alpha_2$  肾上腺素受体的功能效应在某些血管活性物质,如血管紧张素 II、内皮素等存在时得到显著增强,这也是  $\alpha_2$  肾上腺素受体的功能效应往往在整体条件下表现明显,而在离体实验中不易发现的原因之一。总之,血管平滑肌上  $\alpha_2$  肾上腺素受体的密度较低。在胚胎或幼年期,血管平滑肌  $\alpha_2$  肾上腺素受体的表达水平较高,但在发育过程中,受体数量明显减少,在非阻力动脉中减少得更为明显。当受体密度低于一定限度时,则不易发挥功能效应;即使在那些具有功能效应的血管, $\alpha_2$  肾上腺素受体也并没有受体储备,因此在任何进一步减少受体表达或影响受体-效应偶联效率的情况下, $\alpha_2$  肾上腺素受体的效应就会大大减弱或者完全消失。

### 三、 $\beta$ 肾上腺素受体在心血管系统的分布与功能

#### (一) 心脏

$\beta$  肾上腺素受体是参与心脏功能活动最重要的肾上腺素受体。 $\beta_1$  肾上腺素受体和  $\beta_2$  肾上腺素受体共存于心肌组织中,其中  $\beta_1$  肾上腺素受体遍布于整个心脏, $\beta_2$  肾上腺素受体则主要存在于心室和心房,并在浦肯野纤维和窦房结有较高比例的分布,其中在窦房结的密度比右心房高出 2.5 倍之多,这决定了  $\beta_2$  肾上腺素受体更多地参与心率和心律的调节。心房中  $\beta_1$  肾上腺素受体和  $\beta_2$  肾上腺素受体的分布比例为 60%~70%:40%~30%,而在心室为 70%~80%:30%~20%。

$\beta_1$  肾上腺素受体在介导心脏功能中占主导地位,激动后可引起正性变力、变时和增加舒张作用。心脏  $\beta_1$  肾上腺素受体激动后与  $G_s$  蛋白偶联,通过激活细胞膜上的 AC,促进胞浆内的 ATP 转化为 cAMP,使细胞内 cAMP 水平升高。后者作为胞内第二信使激活 PKA,而 PKA 通过磷酸化胞膜 L 型  $Ca^{2+}$  通道,增加收缩期心肌细胞的  $Ca^{2+}$  内流和肌浆网的  $Ca^{2+}$  释放,使心肌收缩力增强;而舒张期 PKA 可磷酸化 phospholamban、troponin 等,其中 phospholamban 使肌浆网  $Ca^{2+}$ -ATP 酶的活性增加,提高舒张期肌浆网对  $Ca^{2+}$  的摄取,而 troponin I 降低 troponin C 对  $Ca^{2+}$  的亲合力,进一步加速了心肌的舒张。近年来的研究表明, $G_s$  蛋白本身也可直接调节 L 型  $Ca^{2+}$  通道和  $Na^+$  通道的通透性。

以往一直认为,心脏  $\beta_2$  肾上腺素受体与  $\beta_1$  肾上腺素受体同样是与  $G_s$  蛋白偶联的,通过  $G_s$ -AC-cAMP 信号途径介导心肌正性变力效应,甚至认为  $\beta_2$  肾上腺素受体是  $\beta_1$  肾上腺素受体的一个功能储备系统。20 世纪 90 年代 Xiao 等研究发现,虽然  $\beta_1$  与  $\beta_2$  肾上腺素



受体均能增强 L 型  $\text{Ca}^{2+}$  电流 ( $I_{\text{Ca}}$ )、细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  瞬变 ( $\text{Ca}_i$ ) 和细胞收缩强度, 但二者介导的心肌舒张效应却不同; 进一步研究发现,  $\beta_2$  肾上腺素受体激动剂不能引起胞内收缩肌蛋白或调节蛋白 phospholamban、troponin I、C 蛋白和糖原磷酸酶激酶的磷酸化。这些研究均提示,  $\beta_2$  肾上腺素受体并非作为  $\beta_1$  肾上腺素受体的功能储备, 而是具有独立的功。在此基础上, 他们首先报道  $\beta_2$  肾上腺素受体同时与  $G_s$  和  $G_i$  蛋白相偶联,  $G_i$  通路对  $G_s$  通路信号向细胞内的转导发挥屏蔽作用, 提示了功能性 cAMP 局域化和由  $\beta_2$  肾上腺素受体偶联  $G_i$  信号转导通路的存在。Lefkowitz 等在 HEK293 细胞上发现,  $\beta_2$  肾上腺素受体持续激动时通过经典途径, 即  $G_s$ -AC-cAMP 引起 PKA 激活, 而  $\beta_2$  肾上腺素受体在 PKA 的作用下, 一方面受体本身发生减敏, 使该信号转导途径基本关闭, 另一方面与  $G_i$  蛋白的偶联效率却大大提高, 而  $G_i$  的激活使  $G_s$  介导的 cAMP 产生进一步减少, 以致完全关闭, 同时通过  $G_{\beta\gamma}$ -Src-Sos-Ras 信号途径使 MAPK 激活。这表明在一定条件下,  $\beta_2$  肾上腺素受体不同信号转导途径之间可以发生切换。研究发现, 心脏上的  $\beta_2$  肾上腺素受体除与经典的  $G_s$  偶联外, 也可与  $G_i$  偶联, 激活心肌细胞内磷脂酶 A<sub>2</sub> 增强心肌收缩力; 经  $G_i$ /磷脂酰肌醇 3 激酶/Akt 途径增加心肌存活以及出生后早期的心肌增殖; 经  $G_{\beta\gamma}$ -Src-Sos-Ras 信号途径激活细胞外信号调节激酶, 参与调节细胞生长与肥厚; 以及经 Caspase 途径调控细胞凋亡等。 $\beta_2$ -AR 信号通路还可不与 G 蛋白偶联, 而通过  $\beta$ -arrestin 偶联进行二级信号转导, 它与经典的 G 蛋白偶联共同介导细胞外信号调节激酶不同时相的激活机制。尽管对这种非 G 蛋白偶联的信号转导机制的生物学意义目前尚不清楚, 但对经典的 G 蛋白偶联信号转导机制学说是—种挑战<sup>[14~20]</sup>。

$\beta_3$  肾上腺素受体主要存在于哺乳动物的脂肪组织和胃肠道, 激动后能引起脂肪细胞的脂解、产热和胃肠道平滑肌的松弛作用。在心脏,  $\beta_3$  肾上腺素受体可介导负性肌力作用。 $\beta_3$  肾上腺素受体的负性变力作用能够被百日咳毒素 (pertussis toxin, PTX) 和一氧化氮 (nitric oxide, NO) 的非特异性阻断剂甲基蓝以及—氧化氮合酶 (nitric oxide synthase, NOS) 的抑制剂 L-NAAM 和 L-NAME 阻断, NOS 的底物 L-精氨酸可逆转阻断剂的作用, 表明  $\beta_3$  肾上腺素受体的信号通路是通过  $G_i$ -NO-cGMP 通路转导的。在心力衰竭的心脏,  $\beta_3$  肾上腺素受体的负性变力效应更为明显。

## (二) 血管

几乎所有的血管平滑肌都有  $\beta$  肾上腺素受体分布, 激动时引起血管舒张。传统认为分布于血管平滑肌的  $\beta$  肾上腺素受体均属  $\beta_2$  肾上腺素受体, 但离体血管实验显示, 尽管  $\beta$  肾上腺素受体激动剂的舒血管效应在大多数血管主要由  $\beta_2$  肾上腺素受体介导, 但还包括小部分由  $\beta_1$  肾上腺素受体介导的效应。在有些血管, 如冠状动脉和脑动脉, 舒血管效应主要由  $\beta_1$  肾上腺素受体介导, 仅很小部分由  $\beta_2$  肾上腺素受体介导。在个别血管, 如人类大隐静脉和豚鼠肺动脉, 甚至所有的舒血管效应都是由  $\beta_1$  肾上腺素受体介导的。至今尚未发现有  $\beta_3$  肾上腺素受体分布于血管。

由于绝大多数血管同时含有  $\alpha_1$  肾上腺素受体与  $\beta$  肾上腺素受体, 由交感神经末梢释放的 NE 及由肾上腺髓质释放并存在于血浆中的 Epi 通过  $\alpha_1$  肾上腺素受体引起血管收缩而通过  $\beta$  肾上腺素受体引起血管舒张, 因此交感—儿茶酚胺活性增高时引起的总效应取决于血管中  $\alpha_1$  肾上腺素受体与  $\beta$  肾上腺素受体的分布情况。大多数血管以  $\alpha_1$  肾上腺素受体

占主导地位，因而呈缩血管效应。只有在冠状动脉与骨骼血管，由于 $\beta$ 肾上腺素受体密度显著高于 $\alpha_1$ 肾上腺素受体而引起舒血管效应。

## 第五节 肾上腺素受体与高血压

### 一、 $\alpha_1$ 肾上腺素受体在血压调节中的作用

由于药理学研究方法的局限性，确定在整体血压调节中究竟何种 $\alpha_1$ 肾上腺素受体亚型发挥主导作用，目前仍较为困难。笔者在整体大鼠同时测定后肢血管床灌注压和全身动脉压，由于已知前者中的功能 $\alpha_1$ 肾上腺素受体属于 $\alpha_{1A}$ 亚型，因而以此为对照，通过比较多种 $\alpha_1$ 肾上腺素受体选择性拮抗剂在两者中作用的强弱，来确定参与全身动脉压调节的 $\alpha_1$ 肾上腺素受体亚型是否与后肢血管床的功能性 $\alpha_1$ 肾上腺素受体亚型一致。笔者的实验结果提示两者相同，参与全身动脉压调节的 $\alpha_1$ 肾上腺素受体很可能也属于 $\alpha_{1A}$ 亚型<sup>[13]</sup>。近年来利用各种基因工程小鼠进行研究，对 $\alpha_1$ 肾上腺素受体亚型在血压调节以及原发性高血压的发病机制中的作用有了新的认识。Tanoue等<sup>[21,22]</sup>对 $\alpha_{1D}$ 肾上腺素受体基因缺失( $\alpha_{1D}$ 肾上腺素受体<sup>-/-</sup>)小鼠给予盐负荷和次全肾切除诱导高血压发生，结果发现其血压升高明显受到抑制，同时伴有低血浆儿茶酚胺水平，提示 $\alpha_{1D}$ 肾上腺素受体可能在盐负荷诱导高血压的发病中具有重要作用。相比之下， $\alpha_{1B}$ 肾上腺素受体基因敲除小鼠在给予盐负荷后其血压明显升高，甚至高于野生型小鼠的血压升高。但在 $\alpha_{1B}/\alpha_{1D}$ 肾上腺素受体双敲除小鼠，NE灌注并不能诱导血压升高，这就提示 $\alpha_{1B}$ 及 $\alpha_{1D}$ 肾上腺素受体均参与血压的调节， $\alpha_{1D}$ 肾上腺素受体的功能性缺失具有抗高血压作用。近来研究还显示，血管紧张素II可促进血管 $\alpha_1$ 肾上腺素受体的表达，尤其是 $\alpha_{1D}$ 肾上腺素受体的表达， $\alpha_{1D}$ 肾上腺素受体可能参与血管紧张素II的促高血压作用。

临床上， $\alpha_1$ 肾上腺素受体拮抗剂常用来治疗一些伴有平滑肌收缩增加的疾病，如高血压及良性前列腺增生症。然而，心脏 $\alpha_1$ 肾上腺素受体本身也参与心肌肥厚、预处理保护、抗凋亡等生理和病理过程，甚至心肌收缩等作用<sup>[24]</sup>。因此， $\alpha_1$ 肾上腺素受体拮抗剂长期应用可能对心脏具有不利的影响。在抗高血压和降脂治疗预防心肌梗死试验(ALL-HAT)中，与利尿剂氯噻酮相比，采用 $\alpha_1$ 肾上腺素受体拮抗剂多沙唑嗪治疗的高血压患者心力衰竭的发生率增加了两倍，使得该临床试验提前终止。相似的是，在扩血管药治疗心力衰竭研究(V-HeFT)中，与其他血管扩张剂相比，哌唑嗪并不能改善患者的预后，反而有增加死亡率的趋势。这些不良影响是由于 $\alpha_1$ 肾上腺素受体本身被阻断，还是由于多沙唑嗪及哌唑嗪的非特异性药物作用所致，尚有争论。但最近，O'Connell等<sup>[25]</sup>对 $\alpha_{1A}$ 肾上腺素受体及 $\alpha_{1B}$ 肾上腺素受体双敲除小鼠研究表明，双敲除小鼠的心肌细胞对氧化应激及 $\beta$ 肾上腺素受体刺激诱导的凋亡比野生型小鼠心肌细胞更严重。而在主动脉缩窄两周后，对比野生型小鼠，双敲除小鼠的存活率只有野生型的60%，存活下来的双敲除小鼠其射血分数显著低于野生型，而心肌间质纤维化程度和心肌细胞凋亡均也较野生型小鼠严重，同时伴有心肌 $\beta$ 肾上腺素受体的减敏，提示 $\alpha_1$ 肾上腺素受体在致心脏肥厚的病理性因素存在条件下可能有对心脏的适应性和保护性作用。这也许能解释上述大型临床实验中

所观察到的  $\alpha_1$  肾上腺素受体拮抗剂治疗后的不良作用。值得一提的是, 对于那些常规降压治疗未能控制血压的高血压患者, 多沙唑嗪缓释剂(extended-release doxazosin gastrointestinal therapeutic system, GITS)可作为一种比较有效的联合药物, 3631 例患者经过 4 周治疗(4~8mg/d), 39% 的患者血压可降至 140/90 mmHg 以下, 在 16 周时, 有 61% 的患者有良好降压效应, 总的不良反应发生率为 3%, 显示多沙唑嗪缓释剂与其他降压药物联合应用具有良好的耐受性<sup>[26]</sup>。

## 二、 $\alpha_2$ 肾上腺素受体的分布与高血压

$\alpha_2$  肾上腺素受体参与多种生理过程, 如神经递质的释放、血压的维持、血小板积聚、胰岛素的分泌、脂肪分解、认知与记忆等。 $\alpha_2$  肾上腺素受体三种亚型在大脑、肾脏、心脏交感神经以及血管(如血管平滑肌细胞及内皮细胞)均有分布。在血管系统, 三种亚型的分布在不同的种属以及血管有所差别, 对血压的调节作用也有所不同<sup>[27]</sup>。在大脑的血管控制中枢,  $\alpha_{2A}$  肾上腺素受体是主要的亚型, 其激动可降低交感活性而使血压下降及血浆 NE 水平降低。此外, 近来研究发现, 与 WKY 大鼠相比, SHR 中枢  $\alpha_{2A}$  肾上腺素受体表达是下调的( $\alpha_{1A}$  肾上腺素受体则上调), 其与收缩压呈显著的负相关关系<sup>[28]</sup>; 在大鼠左侧星状神经节,  $\alpha_{2A}$  肾上腺素受体表达的下降可导致  $\alpha_2$  肾上腺素受体介导的突触前负反馈机制受损, 从而有助于心肌组织内神经末梢 NE 的释放而促进心肌肥厚<sup>[29]</sup>。中枢  $\alpha_{2B}$  肾上腺素受体可促进盐敏感型高血压的形成, 而外周  $\alpha_{2B}$  肾上腺素受体主要分布在小动脉及静脉, 参与维持血管张力,  $\alpha_{2B}$  受体激动可促进钠储留及血管收缩, 此效应似乎强于  $\alpha_{2A}$  肾上腺素受体及  $\alpha_{2C}$  肾上腺素受体<sup>[30]</sup>。因此,  $\alpha_2$  肾上腺素受体激动剂引起血压升高反应可能主要是  $\alpha_{2B}$  肾上腺素受体介导的。对基因敲除小鼠模型的研究进一步证实,  $\alpha_{2A}$  肾上腺素受体是心血管中枢反应的主要参与者。 $\alpha_{2B}$  肾上腺素受体与盐负荷诱导的高血压形成有关。但  $\alpha_{2C}$  肾上腺素受体在介导中枢血压调节中的作用目前尚不清楚。尽管单纯缺失  $\alpha_{2C}$  肾上腺素受体对基本心功能并无显著的影响, 但当与  $\alpha_{2A}$  肾上腺素受体联合缺陷时, 小鼠则表现出显著的心肌肥厚, 血浆 NE 水平升高以及心功能下降, 类似于长期交感神经激动所引起的病理改变。

## 三、 $\beta$ 肾上腺素受体与高血压

在原发性高血压心脏中,  $\beta_2$  - AR 同样具有重要的功能<sup>[13]</sup>。我们先前比较了中年(48 周)与青年(10 周)大鼠心脏  $\beta$  - AR 及其亚型的改变。发现中年大鼠心脏  $\beta$  - AR 总量约较青年大鼠心脏减少 28%( $P < 0.01$ ),  $\beta_1$  - AR 与  $\beta_2$  - AR 数量减少的程度相同; 而且中年大鼠心脏  $\beta$  - AR 及其两种亚型各自所介导的正性变力效应也都明显减弱; 尤其令人注意的是,  $\beta_1$  - AR 与  $\beta_2$  - AR 各自在介导激动剂正性变力效应中的相对贡献在两种年龄大鼠心脏中有明显差别, 在青年大鼠以  $\beta_1$  为主, 而在中年大鼠中,  $\beta_1$  - AR 与  $\beta_2$  - AR 的作用相等。由于在这两种年龄大鼠心脏中  $\beta_1$  - AR 与  $\beta_2$  - AR 的数量约各占一半, 可见在青年大鼠心脏,  $\beta_2$  - AR 介导正性变力效应的效率低于  $\beta_1$  - AR, 而到中年时, 心脏  $\beta_2$  - AR 介导正性变力效应的效率明显增高, 达到与  $\beta_1$  - AR 相同的水平。随后, 我们观察了 48 周

龄 SHR 心脏  $\beta$ -AR 及其亚型的改变, 结果显示中年 SHR 心脏  $\beta$ -AR 密度较同龄 Wistar 大鼠增高 27%, 且  $\beta_1$ -AR 与  $\beta_2$ -AR 的增高程度相同; 而  $\beta$ -AR 及其两种亚型所介导的正性变力效应并没有发生显著改变。由此可见, 在中年 SHR 心脏中,  $\beta_1$ -AR 与  $\beta_2$ -AR 在介导正性变力效应中的作用也是相同的。Donckier 等<sup>[32]</sup>报道, 在正常犬  $\beta_3$ -AR 激动剂 SR58611 可使主动脉平均压产生剂量依赖性地降低, 同时伴有压力反射增强, 表现为心率增加了 70%。对比高血压犬, 这种降压效应更为明显, 且可同时伴有心肌收缩力与脂肪分解效应的增强。

无疑, 近年来各种  $\beta$ -AR 基因敲除小鼠模型的相继建立, 对  $\beta$ -AR 在发育、心血管及代谢系统的调节以及一些病理过程中的作用将会有更进一步的认识。 $\beta_1$ -AR 基因敲除小鼠在胚胎期死亡率显著增加, 但有品系依赖性。然而, 存活下来的小鼠(占 10%~30%)心脏结构通常正常, 其静息心率、血压及心搏量也都是正常的。相比之下, 缺乏  $\beta_2$ -AR 或  $\beta_3$ -AR 的小鼠仍能存活并生育, 而且静息心率和血压也是正常的。 $\beta_3$ -AR 基因敲除小鼠可同时伴有体脂的增加, 尤其在雌性小鼠。当给予 Iso 处理后,  $\beta_1$ -AR、 $\beta_2$ -AR 及  $\beta_1\beta_2$ -AR 基因联合敲除小鼠的血压变化可分别达 80%、70%及 30%。进一步研究提示,  $\beta_1$ -AR 主要介导对小鼠大、中动脉的肾上腺素能血管舒张作用, 而  $\beta_2$ -AR 则主要介导小动脉的血管舒张作用<sup>[33,34]</sup>。

到目前为止,  $\beta$ 肾上腺素受体拮抗剂用于高血压、冠心病及慢性心力衰竭已取得了巨大的成功。但无论是  $\beta_1$ 肾上腺素受体选择性, 还是非选择性拮抗剂, 多数  $\beta$ 肾上腺素受体拮抗剂均无内在拟交感活性, 它们对血脂及血糖的影响是其长期治疗过程中所必须注意的。近年来, 具有同时阻断  $\beta$ 肾上腺素受体与  $\alpha_1$ 肾上腺素受体的药物如拉贝洛尔(labetalol)、卡维地洛也用于高血压的治疗, 后者还同时具有抗氧化作用。奈比洛尔(nebivolol)作为一种新型的高选择性  $\beta_1$ 肾上腺素受体拮抗剂, 不具有内在拟交感神经活性, 长期治疗对血脂、血糖水平无影响<sup>[35]</sup>。用于原发性高血压治疗时, 其谷/峰比值可达 0.9。新的研究发现, 奈比洛尔引起的大鼠胸主动脉环血管舒张反应除了对  $\beta_1$ 肾上腺素受体的拮抗作用外, 还来源于对  $\alpha_1$ 肾上腺素受体的抑制以及  $\beta_3$ 肾上腺素受体的激活<sup>[36]</sup>。随机对照临床研究显示, 与安慰剂比较, 对于轻中度高血压病患者, 5 mg 每日一次治疗即可显著降低血压, 改善心室重构, 且不良反应较少, 其疗效与血管紧张素 II 受体拮抗剂替米沙坦相似<sup>[37]</sup>。用于慢性心力衰竭患者的治疗也可降低前、后负荷, 增加心肌收缩力, 显著改善患者的预后。临床上, 内皮功能障碍是多种疾病所共有的特征, 奈比洛尔还可刺激血管内皮产生 NO 而发挥血管舒张反应<sup>[38]</sup>, 它可能更适用于那些同时伴有内皮功能障碍的患者。奈比洛尔有望成为高血压病及慢性心力衰竭治疗的理想药物。

(张幼怡 韩启德)

## 参 考 文 献

- [1] Perez DM. The adrenergic receptors in the 21<sup>st</sup> century. In: Bylund DB. Adrenergic receptor: historical presentives from the 20<sup>th</sup> century. Totowa New Jersey: Humana press. 2005, 3~21
- [2] Morrow AL, Creese I. Characterization of  $\alpha_1$ -adrenergic receptor subtypes in rat brain: a reevaluation of <sup>3</sup>H-WB 4101 and <sup>3</sup>H-prazosin binding. Mol Pharmacol, 1986, 29: 321

- [3] Han C, Abel PW, Minneman KP.  $\alpha$ -Adrenoceptor subtypes linked to different mechanisms for increasing intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  in smooth muscle. *Nature*, 1987, 329: 333
- [4] Han C, Abel PW, Minneman KP. Heterogeneity of  $\alpha$ -adrenergic receptors revealed by chloroethylclonidine. *Mol Pharmacol*, 1987, 32: 505
- [5] Minneman KP, Han C, Abel PW. Comparison of  $\alpha$ -adrenergic receptor subtypes distinguished by chloroethylclonidine and WB 4101. *Mol Pharmacol*, 1988, 33: 509
- [6] Zhong H, Kenneth P, Minneman.  $\alpha$ -Adrenoceptor subtypes. *Eur J Pharmacol*, 1999, 375: 261
- [7] Morishima S, Suzuki F, Yamamoto H, et al. Identification of  $\alpha_{11}$  adrenoceptor: past, present and future. The 15<sup>th</sup> World Congress of Pharmacology—Pharmacology of Adrenoceptors Satellite Meeting. July 7~9, 2006, Beijing, China
- [8] Bylund DB, Blaxall HS, Iversen LJ. Pharmacological characteristics of  $\alpha_2$ -adrenergic receptors: comparison of pharmacologically defined subtypes with subtypes identified by molecular cloning. *Mol Pharmacol*, 1992, 42: 1
- [9] Lefkowitz RJ, Cotecchia S, Samama P. Constitutive activity of receptors coupled to guanine nucleotide regulatory proteins. *TiPS*, 1993, 14: 303
- [10] Sarsero D, Molenaar P, Kaumann AJ. Validity of (–) [<sup>3</sup>H]-CGP12177A as a radioligand for the putative  $\beta_1$ -adrenoceptor in rat arttium. *Br J pharmacol*, 1998, 123: 371
- [11] Rasmussen SGF, Choi HJ, Rosenbaum DM, et al. Crystal structure of the human  $\beta_2$  adrenergic G-protein-coupled receptor. *Nature*, 2007, 450: 383~388
- [12] Cherezov V, Rosenbaum DM, Hanson MA. High-resolution crystal structure of an engineered human  $\beta_2$ -adrenergic G protein-coupled receptor. *Science*, 2007, 318: 1258~1265
- [13] 韩启德.  $\alpha$  肾上腺素受体 3 种亚型在心血管共存的生理与病理生理意义. *北京医科大学学报*, 1999, 31: 97
- [14] Xiao RP, Avdonin P, Zhou YY. Coupling of  $\beta_2$ -adrenoceptor to Gi proteins and its physiological relevance in murine myocytes. *Cir Res*, 1999, 84: 43
- [15] Wenzel-Seifert K, Seifert R. Molecular analysis of  $\beta_2$ -adrenoceptor coupling to Gs-, Gi-, and Gq-proteins. *Mol Pharmacol*, 2000, 58: 954
- [16] Daaka Y, Luttrell LM, Lefkowitz RJ. Switching of the coupling of the  $\beta_2$ -adrenergic receptor to different G proteins by protein kinase A. *Nature*, 1997, 390: 88
- [17] Ait-Mamar B, Caillieret M, Rucker-Martin C, et al. The cytosolic phospholipase A2 pathway, a safeguard of  $\beta_2$ -adrenergic cardiac effects in rat. *J Biol Chem*, 2005, 280: 18881~18890
- [18] Zhu W, Zeng X, Zheng M, et al. The enigma of  $\beta_2$ -adrenergic receptor Gi signalling in the heart: the good, the bad, and the ugly. *Circ Res*, 2005, 97: 507~509
- [19] Singh K, Xiao L, Remondino A, et al. Adrenergic regulation of cardiac myocyte apoptosis. *J Cell Physiol*, 2001, 189: 257~265
- [20] Shenoy SK, Drake MT, Nelson CD, et al.  $\beta$ -Arrestin-dependent, G protein-independent ERK1/2 activation by the  $\beta_2$  adrenergic receptor. *J Biol Chem*, 2006, 281: 1261~1273
- [21] Tanoue A, Koba M, Miyawaki S, et al. Role of the  $\alpha_{1D}$ -adrenergic receptor in the development of salt-induced hypertension. *Hypertension*, 2002, 40: 101~106
- [22] Hosoda C, Koshimizu TA, Tanoue A, et al. Two  $\alpha$ -adrenergic receptor subtypes regulating the vasopressor response have differential roles in blood pressure regulation. *Mol Pharmacol*, 2005, 67: 912~922
- [23] Villalobos-Molina R, Ibarra M. Increased expression and function of vascular  $\alpha_D$ -adrenoceptors may mediate

- the prohypertensive effects of angiotensin II. *Mol Interv*, 2005, 5: 340~342
- [24] Davis BR, Cutler JA, Furberg CD, et al. Relationship of antihypertensive treatment regimens and change in blood pressure to risk for heart failure in hypertensive patients randomly assigned to doxazosin or chlorthalidone; further analyses from the Antihypertensive and Lipid-Lowering treatment to prevent Heart Attack Trial. *Ann Intern Med*, 2002, 137: 313~320
- [25] O'Connell TD, Swigart PM, Rodrigo MC, et al.  $\alpha_1$ -Adrenergic receptors prevent a maladaptive cardiac response to pressure overload. *J Clin Invest*, 2006, 116: 1005~1015
- [26] de Alvaro F, Hernandez-Presa MA, ASOCIA Study. Effect of doxazosin gastrointestinal therapeutic system on patients with uncontrolled hypertension: the ASOCIA Study. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2006, 47: 271~276
- [27] Kanagy NL.  $\alpha_2$ -Adrenergic receptor signalling in hypertension. *Clin Sci (Lond)*, 2005, 109: 431~437
- [28] Reja V, Goodchild AK, Pilowsky PM. Catecholamine-related gene expression correlates with blood pressures in SHR. *Hypertension*, 2002, 40: 342~347
- [29] Zugck C, Lossnitzer D, Backs J, et al. Increased cardiac norepinephrine release in spontaneously hypertensive rats: role of presynaptic  $\alpha_A$  adrenoceptors. *J Hypertens*, 2003, 21: 1363~1369
- [30] Feldman J, Bousquet P. Role of central  $\alpha_B$ -adrenergic receptors in blood pressure control and hypertension. *J Hypertens*, 2003, 21: 871~872
- [31] Ekaterina K, Conrado J, Ivana I, et al. Central  $\alpha_B$ -adrenergic receptor antisense in plasmid vector prolongs reversal of salt-dependent hypertension. *J Hypertension*, 2003, 21: 961~967
- [32] Donckier JE, Massart PE, Van Mechelen H, et al. Cardiovascular effects of  $\beta_3$ -adrenoceptor stimulation in perinephritic hypertension. *Eur J Clin Invest*, 2001, 31: 681~689
- [33] Chruscinski A, Brede ME, Meinel L, et al. Differential distribution of  $\beta$ -adrenergic receptor subtypes in blood vessels of knockout mice lacking  $\beta_1$ - or  $\beta_2$ -adrenergic receptor. *Mol Pharmacol*, 2001, 60: 955~962
- [34] Chruscinski AJ, Rohrer DK, Schauble E, et al. Targeted disruption of the  $\beta_2$ -adrenergic receptor gene. *J Biol Chem*, 1999, 274: 16694~16700
- [35] Hollenberg NK. The role of beta-blockers as a cornerstone of cardiovascular therapy. *Am J Hypertens*, 2005, 18: 165S~168S
- [36] Rozec B, Quang TT, Noireaud J, et al. Mixed  $\beta_3$ -adrenoceptor agonist and  $\alpha$ -adrenoceptor antagonist properties of nebivolol in rat thoracic aorta. *Br J Pharmacol*, 2006, 147: 699~706
- [37] Fountoulaki K, Dimopoulos V, Giannakoulis J, et al. Left ventricular mass and mechanics in mild-to-moderate hypertension: effect of nebivolol versus telmisartan. *Am J Hypertens*, 2005, 18: 171~177
- [38] Kuroedov A, Cosentino F, Luscher TF. Pharmacological mechanisms of clinically favorable properties of a selective  $\beta_1$ -adrenoceptor antagonist, nebivolol. *Cardiovasc Drug Rev*, 2004, 22: 155~168