

大麻素受体 2 型与疼痛的关系

厦门大学附属中山医院麻醉科 (厦门 361000) 张 威 马保新

【关键词】大麻素受体; 免疫细胞; 镇痛机制

【中图分类号】R741.02 【文献标识码】A 【文章编号】1002-2600(2021)05-0125-02

目前公认的经典大麻素受体至少有 CB1 和 CB2 两种。CB1 参与了中枢神经系统的镇痛机制, 却也介导了大麻素的精神副作用^[1], 主要在中枢神经系统神经元中表达。CB2 主要表达于外周免疫细胞上^[2]。CB2 作为 CB1 的另外一种镇痛选择, 在组织或者神经损伤后表达上调, 能够产生明显的镇痛作用而不会引起精神副作用, 但是 CB2 的组织分布细胞亚型以及介导的镇痛机制仍然是具有争议的。这将直接影响其临床应用前景, 作者将对以上相关问题进行系统的分析和综述。

1 CB2 的分子信号通路

CB1 和 CB2 在 1990 年和 1993 年先后被发现并克隆, 均是具有七次跨膜结构的 G 蛋白偶联受体, 偶联了异源三聚体 G 蛋白, 而结合配体后能够激活 G 蛋白的 α 亚基 (通过 GTP 置换 GDP) 并使其分离, 进而影响下游信号通路。

CB2 活化后可以抑制腺苷酸环化酶 (AC), 进而降低细胞内第二信使环磷酸腺苷 (cAMP) 的水平, 间接抑制蛋白激酶 A (PKA) 的活性, 抑制 PKA 信号通路^[3], 而细胞内 cAMP 水平的降低可能是 CB2 活化后最主要的下游效应。另外, CB2 激动剂也能通过增加细胞膜丝裂原活化蛋白激酶磷酸酶-1 (MKP-1)、丝裂原活化蛋白激酶磷酸酶-3 (MKP-3) 的表达, 增强促分裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 活化 (如 P38 和 P42/44), 引起转录因子 (如 Keox-24, 一种调节基因靶向表达的转录因子) 磷酸化, 调节磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K)、神经酰胺的产生和基因转录^[4], MAPK 活化后反过来又可以抑制细胞外信号调节激酶 ERK1/2 信号通路, 显著减少肿瘤坏死因子 (TNF- α) 的表达^[5], 可能由此产生镇痛作用。但是, G 蛋白下游的具体分子机制还不清楚。

Ca²⁺ 作为第二信使, 在细胞内通路发挥重要的作用。den Boon 等^[6]发现 CB2 在啮齿类动物大脑皮层前额叶具有细胞内的亚定位, 并且利用 CB2 选择性激动剂可以引起三磷酸肌醇 (IP3) 受体依赖的 Ca²⁺ 活化氯离子通道的开放以及神经元兴奋性的降低。细胞内显微注射 CB2 选择性激动剂可以快速剂量依赖性地提高细胞内 Ca²⁺ 浓度, 这种改变具有 CB2 依赖性, 可以被 CB2 选择性拮抗剂 AM630 所阻断。全身用药激活 CB2 之后可以通过阻断 Cav3.2 亚型 T 型 Ca²⁺ 通道, 进而抑制炎性痛以及神经病理性痛^[7]。不过, CB2 活化之后细胞内 Ca²⁺ 水平是升高还是降低结果却是矛盾的。现在还不清楚这种矛盾的产生是否与激动剂种类以及实验操作等因素有关。需要进一步的研究以确定 CB2 细胞内信号通路及如何发挥功能。

以上为目前研究最透彻及最被接受的作用通路, 尚未明确且还在研究中的还有核因子- κ B (NF- κ B) 通路。

2 CB2 的组织分布

CB2 广泛存在于免疫组织中^[2]。在特殊免疫细胞类型中, CB2 表达水平最高的是巨噬细胞、CD4⁺T、CD8⁺T、B 细胞、NK 细胞、单核细胞和多形核细胞。事实上, 在所有和免疫反应相关的外周免疫组织和结构中, 都存在 CB2 受体。CB2 的镇痛作用也和外周机制密切相关, 而且没有 CB1 介导的快速耐受性。

研究显示, CB2 可以在鼠脑不同区域中表达。应用 RT-PCR 技术以及蛋白印记技术发现了 CB2 在鼠和雪貂小脑中的表达^[8]。抗体直接拮抗的实验显示 CB2 可以在鼠的小脑颗粒层、普肯野纤维和白质层中表达。Gong 也报道了通过 RT-PCR 和免疫组化法在鼠脑干的许多核团中发现 CB2 的存在^[9]。目前普遍认为, CB2 同样广泛分布在中枢神经系统中, 主要在普通健康者体内的小胶质细胞上^[10]。作者认为, CB2 广泛表达于中枢小胶质细胞及星形胶质细胞上, 关于 CB2 在中枢神经系统的亚细胞定位仍然需要继续研究。

3 CB2 的镇痛机制

3.1 CB2 激动剂的药理作用: 给予 CB2 选择性激动剂 AM1241 可以通过 CB2 的活化在多种疼痛模型产生镇痛作用, 并可以被 CB2 选择性拮抗剂 AM630 或者 SR144528 所阻断, CB1 特异性拮抗剂则无效, 而且这种抗伤害性感受作用在 CB2 基因敲除鼠中是缺失的^[11]。所以, 作者认为, CB2 可能在疼痛的发生、发展中发挥重要作用。

CB2 选择性激动剂可以产生有效的抑制炎性痛作用。在 Ke 等^[12]研究中进一步发现, 在体外实验中, CB2 选择性激动剂 HU308, 预处理巨噬细胞可以直接抑制 NLRP3 炎性表达和 IL-1 β 的释放, 减弱炎症反应, 而在 CB2 基因敲除小鼠的巨噬细胞中, NLRP3 炎性表达反而增强。另外, 在野生型小鼠的活体实验中, HU308 同样可以抑制小鼠的结肠炎症以及巨噬细胞 NLRP3 炎性活化。所以, CB2 激动剂可以通过激活炎性组织中的 CB2, 抑制炎性域蛋白 NLRP3 的活化和 IL-1 β 的释放, 进而减轻组织炎症及炎性痛。

CB2 激动剂可以在啮齿类动物疼痛模型中减轻多种神经病理性痛。如 CB2 选择性激动剂 AM1241、JWH-133、GW405833 可以减轻脊神经结扎、链脲霉素糖尿病模型导致的神经病理性痛^[13], 该镇痛作用可以被 CB2 选择性拮抗剂 AM630 所阻断。在多种骨癌痛模型中, 蛋白印迹法显示 CB2 被表达, AM1241 可以阻断骨癌痛热痛觉过敏以及机械

痛觉过敏, 这种镇痛作用可以通过鞘内注射或者全身用药被 CB2 选择性拮抗剂 SR144528 阻断, 却不能被 CB1 选择性拮抗剂 AM251 阻断^[14]。这进一步验证了作者的推测, CB2 可能是这些疼痛治疗中的一个关键节点。

3.2 CB2 镇痛机制: 在炎性痛中, 外周组织损伤之后, 炎性细胞聚集到损伤部位引起一系列炎性介质的释放, 从而敏化初级传入神经元引起疼痛。CB2 广泛存在于免疫组织细胞中, 小胶质细胞就是中枢神经系统的主要免疫细胞和巨噬细胞。小胶质细胞的活化和细胞因子的释放在慢性痛的维持中扮演重要角色。外周产生伤害性刺激时, 小胶质细胞会迅速活化, 并积聚在外周神经损伤点、背根神经节、脊髓, 甚至脊髓上神经元。活化后的小胶质细胞可以引起中枢炎性介质的释放, 如 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 等, 而正是这些炎性介质引起并维持了中枢敏化和慢性疼痛^[15]。突触前神经胶质细胞的活化及释放的促炎性细胞因子可以通过增加突触后膜 NMDA 受体的活性增强和维持中枢敏化^[16]。例如 TNF- α 主要由脊髓束小胶质细胞产生, 它可以通过增强来自于突触前末梢的谷氨酸盐释放以及增加突触后膜 NMDA 受体的活性而促进中枢敏化。因此, CB2 被激活可能通过明显抑制小胶质细胞的活化以及 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、NO 等炎性因子的释放, 从而阻断 NMDA 受体介导的中枢敏化并产生镇痛作用^[5]。den Boon 等^[6-7] 也认为, 全身或者局部注射 CB2 选择性激动剂可以通过抑制敏化外周伤害性感受器的炎性介质释放降低炎症反应或者介导 Cav3.2 亚型 T 型 Ca²⁺ 通道降低神经元活化, 抑制炎性痛。

此外, 其他镇痛机制也有提议。比如 μ 阿片受体可能也参与了 CB2 活化后的镇痛作用。还有人提出上调五羟色胺 2A 受体表达、增强血清素五羟色胺 2A 受体与多巴胺 D2 受体的相互作用也可能参与镇痛作用。作者认为以上不同机制并不是孤立存在或者互相矛盾的, 他们可能在一些疼痛模型中共同参与了镇痛作用。

4 小结

CB2 在中枢神经系统主要存在于小胶质细胞上, 甚至表达于神经元中。在啮齿类动物的各种疼痛模型中, CB2 受体活化可以大幅度抑制促炎细胞因子的产生, 降低神经元的过度活化及疼痛, 并且没有 CB1 类似的精神副作用。对于炎性痛及各种慢性痛患者, 作者认为 CB2 选择性激动剂可能会是一个有效的治疗手段, 但 CB2 的具体作用机制、细胞定位、分子信号通路、甚至激动剂和拮抗剂的结构设计^[17] 等, 都需要我们进一步的探讨, 以确定此靶点的临床治疗潜能。

参考文献

[1] Monory K, Blaudzun H, Massa F, et al. Genetic dissection of behavioural and autonomic effects of Δ^9 -tetrahydrocannabinol in mice [J]. PLoS Biol, 2007, 5 (10): e269.
 [2] Munro S, Thomas K L, Abu-Shaar M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids [J]. Nature, 1993, 365 (6441): 61-65.
 [3] Salazar A I, Carozzo A, Correa F, et al. Evidence for CB2 re-

ceptor involvement in LPS-induced reduction of cAMP intracellular levels in uterine explants from pregnant mice: pathophysiological implications [J]. Mol Hum Reprod, 2017, 23 (7): 500-508.
 [4] Herrera B, Carracedo A, Diez-Zaera M, et al. p38 MAPK is involved in CB2 receptor-induced apoptosis of human leukaemia cells [J]. FEBS Lett, 2005, 579 (22): 5084-5088.
 [5] Romero-Sandoval E A, Horvath R, Landry R P, et al. Cannabinoid receptor type 2 activation induces a microglial anti-inflammatory phenotype and reduces migration via MKP induction and ERK dephosphorylation [J]. Mol Pain, 2009, 5: 25.
 [6] den Boon F S, Chameau P, Schaafsma-Zhao Q, et al. Excitability of prefrontal cortical pyramidal neurons is modulated by activation of intracellular type-2 cannabinoid receptors [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2012, 109 (9): 3534-3539.
 [7] Berger N D, Gadotti V M, Petrov R R. NMP-7 inhibits chronic inflammatory and neuropathic pain via block of Cav3.2 T-type calcium channels and activation of CB2 receptors [J]. Mol Pain, 2014, 10: 77.
 [8] Van Sickle M D, Duncan M, Kingsley P J, et al. Identification and functional characterization of brainstem cannabinoid CB2 receptors [J]. Science, 2005, 310 (5746): 329-332.
 [9] Gong J P, Onaivi E S, Ishiguro H, et al. Cannabinoid CB2 receptors: immunohistochemical localization in rat brain [J]. Brain Res, 2006, 1071 (1): 10-23.
 [10] Maresz K, Carrier E J, Ponomarev E D, et al. Modulation of the cannabinoid CB2 receptor in microglial cells in response to inflammatory stimuli [J]. J Neurochem, 2005, 95 (2): 437-445.
 [11] Ibrahim M M, Rude M L, Stagg N J, et al. CB2 cannabinoid receptor mediation of antinociception [J]. Pain, 2006, 122 (1-2): 36-42.
 [12] Ke P, Shao B Z, Xu Z Q, et al. Activation of Cannabinoid Receptor 2 Ameliorates DSS-Induced Colitis through inhibiting NLRP3 inflammasome in Macrophages [J]. PloS One, 2016, 11 (9): e0155076.
 [13] Bujalska-Zadrozny M, de Cordé A, Pawlik K. Influence of nitric oxide synthase or cyclooxygenase inhibitors on cannabinoids activity in streptozotocin-induced neuropathy [J]. Pharmacol Rep, 2015, 67 (2): 209-216.
 [14] Ji D X, Liang Z Y, Liu G X, et al. Bufalin attenuates cancer-induced pain and bone destruction in a model of bone cancer [J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2017, 390 (12): 1211-1219.
 [15] Watkins L R, Milligan E D, Maier S F. Glial proinflammatory cytokines mediate exaggerated pain states: implications for clinical pain [J]. Adv Exp Med Biol, 2003, 521: 1-21.
 [16] Gao Y J, Ji R R. Chemokines, neuronal-glial interactions, and central processing of neuropathic pain [J]. Pharmacol Ther, 2010, 126 (1): 56-68.
 [17] Li X T, Hua T, Vemuri K, et al. Crystal structure of the human cannabinoid receptor CB2 [J]. Cell, 2019, 176 (3): 459-467.