

• 综 述 •

大麻二酚神经保护作用机制研究进展

殷 莎, 唐双奇, 陆 阳*

上海交通大学医学院, 上海 200025

摘 要: 大麻 *Cannabis sativa* 是一种古老的具有药用开发利用价值的栽培植物。大麻素是大麻中特有的萜类次生代谢产物, 具有复杂的生物活性, 目前已分离得到 70 多种大麻素, 其中主要活性成分为四氢大麻酚 (THC) 和大麻二酚 (CBD)。THC 与 CBD 均具有神经保护作用。THC 因具有强致幻性其应用受限, CBD 无成瘾性且具有抗痉挛、抗风湿关节炎及抗焦虑作用。近年来, CBD 的神经保护作用及其机制成为研究热点, 对 CBD 神经保护作用的研究进展进行综述。

关键词: 大麻二酚; 大麻素受体; 5HT_{1A} 受体; 腺苷受体; 神经保护

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2014)03-0432-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.03.024

Research progress on mechanism of neuroprotective effects of cannabidiol

YIN Sha, TANG Shuang-qi, LU Yang

School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200025, China

Key words: cannabidiol; cannabinoid receptor; 5-HT_{1A} receptor; adenosine receptors; neuroprotection

大麻 *Cannabis sativa* Linn. 是大麻科 (Cannabinaceae) 大麻属 *Cannabis* Linn. 一年生草本植物, 其成熟的雌株花、叶及茎制品称 Marijuana。大麻药用的记录可追溯至公元前 2727 年。目前从植物大麻干物质及新鲜大麻叶中分离出的大麻素 (cannabinoids, CBs) 已有 70 多种, 主要包括四氢大麻酚 (tetrahydrocannabinol, THC)、大麻二酚 (cannabidiol, CBD)、大麻酚 (cannabinol, CBN) 及大麻萜酚 (cannabichromene, CBC) 等, 其中 THC 及 CBD 量最高^[1]。THC 是大麻中最重要的活性物质, 具有神经保护作用, 并可用于治疗癌症引起的呕吐。THC 具有致幻作用, 因此大麻在各国被禁止种植。20 世纪 40 年代从大麻中分离得到 CBD, 体内实验发现 CBD 不但能拮抗 THC 激动大麻素 I 型受体 (CB₁R) 所引发的精神活性^[2], 而且具有抗惊厥、镇静催眠、抗焦虑、抗精神病、抗炎及神经保护作用^[3]。临床前及临床研究表明, CBD 药动学性质良好, 注射后能迅速透过血脑屏障 (blood-brain

barrier, BBB), 脑神经保护作用显著^[4]。CBD 能够通过多途径发挥神经保护作用 (图 1), 本文将对 CBD 神经保护作用及其机制的研究进展进行综述。

1 抗氧化应激损伤

氧化应激 (oxidative stress, OS) 是自由基介导的活性作用, 是导致细胞衰老和损伤的重要因素。CBD 在机体内能够通过多种方式应对氧化应激损伤, 保护神经细胞。

CBD (3 mg/kg, ip) 可显著抑制 6-羟基多巴胺损伤大鼠黑质纹状体多巴胺能神经元引起的 Cu, Zn-超氧化物歧化酶表达水平降低, 同时逆转 6-羟基多巴胺引发的神经元多巴胺耗竭^[5]。

通过观察 CBD 对线粒体复合物 II 抑制剂 3-硝基丙酸 (3-NP) 引起的大鼠纹状体神经元损伤的影响, 发现 CBD (5 mg/kg, ip) 能够完全抑制 3-NP 引起的纹状体 γ -氨基丁酸 (GABA)、P 物质 (substance P)、神经元特异性烯醇化酶 (neuronal-specific enolase, NSE) 及超氧化物歧化酶-2 (SOD-2)

收稿日期: 2013-10-30

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30873057, 81171245); 上海市科委基础重点项目 (11JC1406600)

作者简介: 殷 莎 (1988—), 女, 研究生, 研究方向为化学生物学。E-mail: deanbengchenzhi@126.com

*通信作者 陆 阳 (1955—), 男, 博士生导师, 研究方向为化学生物学。E-mail: luyangssmu@163.com

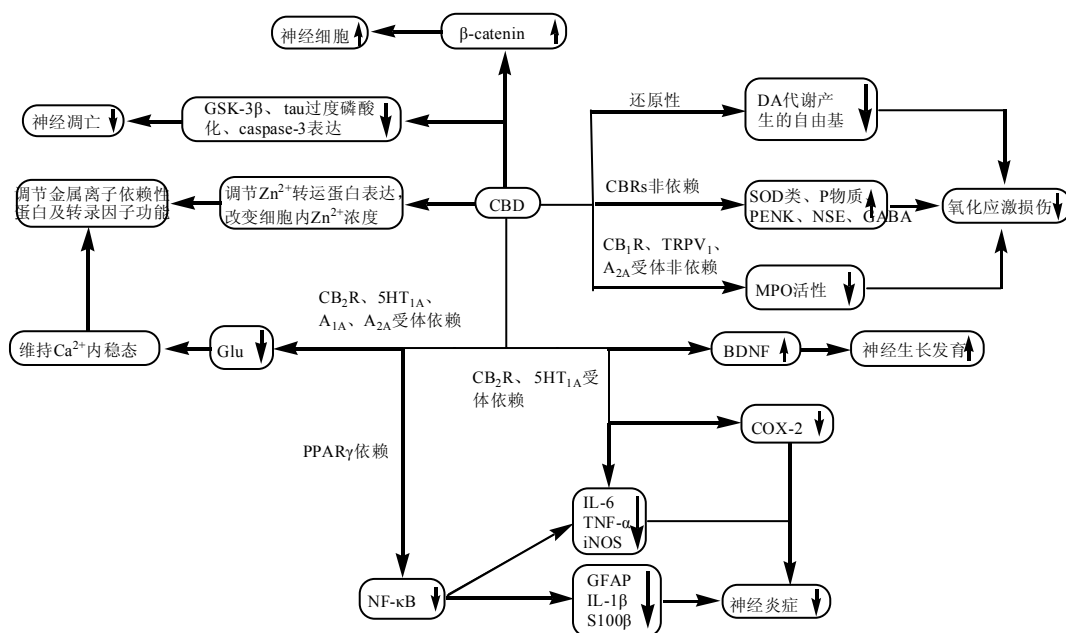


图1 CBD神经保护作用机制
Fig. 1 Mechanism of neuroprotection of CBD

mRNA 水平降低；部分抑制 SOD-1 及脑啡肽原 (proenkephalin, PENK) mRNA 水平降低^[6]。CB₁R 拮抗剂 SR141716、TRPV₁ 受体拮抗剂 capsazepine 及腺苷 A_{2A} 受体拮抗剂 MSX-3 均不影响 CBD 对纹状体神经元的保护作用，提示 CBD 对 3-NP 毒性的抑制作用并非通过 CB₁R、TRPV₁ 受体及腺苷 A_{2A} 受体介导。通过观察 CBD 对线粒体呼吸链复合物 I 抑制剂 1-甲基-4-苯基吡啶鎓 (MPP⁺) 损伤小鼠中脑多巴胺能神经细胞存活率的影响，发现神经细胞与 CBD (10 μmol/L)、MPP⁺ (10 μmol/L) 共同孵育 48 h 后，CBD+MPP⁺ 组神经细胞数 (117%) 显著高于 MPP⁺ 组，但神经突长度无明显差异，提示 CBD 在该损伤模型中的作用可能与清除自由基有关，而不影响神经细胞生长发育^[7]。

CBD (3 mg/kg, ip) 能逆转缺血再灌注引起的小鼠脑血流量降低及其对中性粒细胞髓过氧化物酶 (myeloperoxidase, MPO) 活性的影响，CBD 的作用不受大麻素受体 (cannabinoid receptors, CBRs) 拮抗剂 SR 141716 或 AM 630 的影响，表明 CBD 的作用可能与 CBRs 无关^[8]。

CBD 对新生小猪脑缺氧缺血 (hypoxic-ischemic, HI) 损伤模型的神经保护机制研究发现，HI 损伤 30 min 后，给予 CBD (1 mg/kg, iv)，6 h 后给药组相对于空白组大脑皮层谷胱甘肽/肌氨酸比值升高、蛋白羰基化程度降低、谷氨酸/N-乙酰天

冬氨酸比值降低、皮层神经元存活率升高，提示皮层受氧化应激及兴奋性氨基酸损伤程度减小。大麻素 II 型受体 (CB₂R) 拮抗剂 AM 630 或 5HT_{1A} 受体拮抗剂 WAY 100635 能够拮抗 CBD 的神经保护作用，生物荧光共振能转移研究显示 CB₂R 与 5HT_{1A} 受体在 HEK-293T 细胞中能够形成异聚体，表明上述作用与 CB₂R 和 5HT_{1A} 受体密切相关^[9]。

Sativex[®] 是首个大麻处方药，用于治疗多发性硬化症引起的痉挛。Sativex[®] 能显著减少额颞痴呆、震颤麻痹及低运动性神经元疾病混合模型小鼠 (PK^{-/-}/Tau^{VLW}) 神经元内，在边缘系统多巴胺代谢过程中产生的与单胺氧化酶 (monoamine oxidase, MAO) 有关的自由基，并提高边缘系统还原态/氧化态谷胱甘肽比例及大脑皮层线粒体呼吸链复合物 IV 水平^[10]。

氧化应激是重要的神经损伤因子。在不同动物或细胞模型中，CBD 可通过 CB₂R 或 5HT_{1A} 等受体，降低 (提高) 细胞内多种 (抗) 氧化酶的量，从而增强神经细胞清除活性氧自由基 (reactive oxygen species, ROS) 能力，提高细胞存活率。由于 CBD 本身具有强还原性^[11]，也可直接清除 ROS。

2 抑制炎症细胞因子释放

细胞因子 (cytokine, CK) 是体内调节细胞反应的蛋白质，由多种细胞分泌产生，既是机体应激反应的需要，又是应激组织损伤发生和发展的病理

基础。目前普遍认为多种炎性细胞因子与神经退行性疾病及脑卒中的发生及恶化密切相关,而CBD能够抑制体内多种炎症细胞因子的释放,保护神经细胞。

新生大鼠脑 HI 损伤 10 min 后给予 CBD (1 mg/kg, sc), 7 d 后发现给药组大鼠脑部肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 水平明显低于空白组,并与假损伤组无显著性差异; CBD 能明显改善 HI 损伤大鼠行为学功能,提示 CBD 通过抑制 TNF- α 释放,对 HI 损伤新生大鼠发挥长效神经保护作用^[12]。

CBD 能够抑制小鼠小胶质细胞 (BV2 细胞) 中脂多糖 (LPS) 诱导的 NO 生成 (IC_{50} 250 nmol/L), 该抑制作用对 CBRs 拮抗剂不敏感,提示该抑制作用与 CBRs 激活无关。在体实验发现, β 淀粉样蛋白 ($A\beta$, 2 μ mol/L) 损伤小鼠亚慢性给予 CBD (20 mg/kg, ip) 3 周后,能显著抑制 $A\beta$ 引起的大脑皮层白细胞介素-6 (IL-6) 水平升高,改善动物认知功能。该实验条件下, CBD 对 $A\beta$ 引起的 TNF- α 表达升高并无抑制作用^[13]。

大鼠星形胶质细胞与 $A\beta$ (1 μ g/mL) 和 CBD ($1 \times 10^{-9} \sim 1 \times 10^{-7}$ mol/L) 共同孵育 3 h 后,星形胶质细胞溶解产物中 p50 和 p65 表达降低;孵育 24 h 后,能够浓度依赖性抑制诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS)、胶质纤维酸性蛋白 (glial fibrillary acidic protein, GFAP)、IL-1 β 、TNF- α 和 S100 β 等炎症因子表达,过氧化物酶体增殖物活化受体 α (PPAR α) 拮抗剂 MK 886 不能拮抗该抑制作用,但可被 PPAR γ 拮抗剂 GW 9662 拮抗^[14],提示 CBD 可能通过 PPAR γ 抑制细胞核因子- κ B (NF- κ B) 表达,从而减少 iNOS、TNF- α 、SB100 β 等炎症因子基因转录,发挥抗炎作用。对新生小猪急性 HI 损伤 15 min 后给予 CBD (0.1 mg/kg, iv), 给药后 6 h, HI 损伤引起的脑脊液 (cerebrospinal fluid, CSF) 中神经元特异性烯醇化酶 (NSE) 和 S100 β 水平升高,脑组织中 TNF- α 阳性细胞量增高均被抑制^[15]。

研究 CBD 对新生小鼠脑片 HI 损伤的保护作用机制发现, CBD (100 μ mol/L) 能够通过减少谷氨酸盐释放,降低 IL-6、TNF- α 、环氧合酶-2 (COX-2) 及 iNOS 水平,从而减弱 HI 对脑片的急性损伤。CB $_2$ R 拮抗剂 AM 630 及腺苷 A $_{2A}$ 受体拮抗剂 SCH 58261 均能够逆转 CBD 的保护作用;腺苷 A $_{1A}$ 受体拮抗剂 DPCPX 只能拮抗 CBD 抑制谷氨酸盐释放的

作用,而 CB $_1$ R 拮抗剂 SR 141716 对 CBD 的作用无任何影响,表明 CB $_2$ R 及 A $_{2A}$ 受体在 CBD 保护新生小鼠脑片免受 HI 损伤过程中发挥重要作用,而非通过 CB $_1$ R 发挥抗炎作用^[16]。

研究表明, CBD 的神经保护作用可能与甘氨酸受体有关。通过全细胞膜片钳技术观察 CBD 与 α_1 及 $\alpha_1\beta$ 甘氨酸受体的相互作用,发现低浓度 CBD 对甘氨酸受体具有别构调节作用 [EC_{50} : α_1 = (12.3 $\pm$ 3.8) μ mol/L, $\alpha_1\beta$ = (18.1 $\pm$ 6.2) μ mol/L], 而高浓度 CBD 能够直接激活甘氨酸受体 [EC_{50} : α_1 = (132 $\pm$ 12.3) μ mol/L, $\alpha_1\beta$ = (144.3 $\pm$ 22.7) μ mol/L], 由于脊髓背角抑制性突触传导主要与甘氨酸有关,提示甘氨酸受体参与 CBD 介导的抗炎作用^[17]。

3 维持金属离子内稳态

金属离子是构成生物分子和维持正常生理活动的重要物质,能够通过转录因子或蛋白质的相互作用,调节基因表达或直接参与细胞内信号转导。

研究 CBD (10 μ mol/L) 对 BV-2 细胞内与氧化应激、谷胱甘肽缺失及炎症相关基因表达的关系,发现 CBD 能上调金属硫蛋白 2 (metallothionein 2, Mt2)、N-myc 下游调节基因 1、基质金属蛋白酶 23、锌转运蛋白 ZnT1/Slc30a1 及 Zip4/Slc39a4 相关基因表达;下调锌转运蛋白 Zip10/Slc39a10 及锌指蛋白 472 相关基因表达,表明 CBD 可能通过影响与 Zn $^{2+}$ 内稳态有关的基因表达,调节细胞内锌离子浓度,发挥自由基清除及抗炎作用^[18]。

海马神经元影像学研究发现, CBD (1 μ mol/L) 能够根据细胞兴奋性双向调节 Ca $^{2+}$ 浓度。当 K $^{+}$ /Ca $^{2+}$ 在正常生理水平时, CBD 引起细胞内 Ca $^{2+}$ 微弱升高;当细胞处于高兴奋条件 (高 K $^{+}$ 溶液或暴露于 K $^{+}$ 通道阻断剂 4AP) 时, CBD 能够降低细胞内 Ca $^{2+}$ 浓度并防止 Ca $^{2+}$ 波动。细胞质-线粒体双重钙离子影像实验显示, CBD 用于维持细胞 Ca $^{2+}$ 浓度内稳态的 Ca $^{2+}$ 主要源于线粒体,而非内质网。进一步以不同线粒体毒素处理 SH-SY5Y 细胞,发现 CBD 能减弱线粒体解偶联剂 FCCP 对神经细胞的毒性作用 (存活率 53%), 但对过氧化氢 (存活率 16%) 或 ATP 合酶抑制剂寡霉素 (存活率 15%) 诱导的细胞死亡抑制作用较弱。上述实验结果提示在线粒体功能紊乱或 Ca $^{2+}$ 浓度失调等病理条件下, CBD 能够通过维持 Ca $^{2+}$ 内稳态抑制神经细胞凋亡信号^[19]。

Zn $^{2+}$ 、Ca $^{2+}$ 不但与生物体细胞膜电位调节有关,

而且能够直接与蛋白质或转录因子结合,介导细胞内信号转导或调控基因转录。近期研究表明,CBD通过维持神经细胞 Zn^{2+} 、 Ca^{2+} 内稳态,上调保护性蛋白质及抗炎细胞因子表达,抑制凋亡信号。

4 提高脑源性神经营养因子表达

神经营养因子(neurotrophin, NT)是由神经所支配的组织和星形胶质细胞产生的具有支持神经元生长、发育和功能完整性的蛋白质分子。

CBD (15、30、60 mg/kg, ip)能够预防 *D*-苯丙胺(*D*-AMPH, 2 mg/kg, ip)引起的海马及纹状体损伤,30 mg/kg CBD能够上调脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)的表达,30或60 mg/kg CBD能够抑制前额皮质羧基化合物形成,但CBD对*D*-AMPH引起的多动症无预防或逆转作用。上述数据提示CBD抑制氧化物形成及提高BDNF表达的作用具有脑区特异性及剂量依赖性^[20]。

5 促进神经细胞增殖,抑制凋亡信号

半胱天冬酶(caspase)是一类在进化上非常保守的蛋白酶,在凋亡过程及炎症发生过程中发挥重要作用,CBD ($10^{-7} \sim 10^{-4}$ mol/L)能够预防 $A\beta$ (1 μ g/mL)引起的PC12细胞凋亡,该保护作用与减少caspase-3产生,抑制DNA断裂及降低细胞内钙离子浓度有关^[21]。另一项研究发现CBD ($10^{-7} \sim 10^{-5}$ mol/L)能够浓度依赖性预防 $A\beta$ (1 μ g/mL)引起的PC12细胞糖原合成酶激酶-3(GSK-3 β)过度磷酸化, β -链蛋白(β -catenin)表达降低及tau蛋白过度磷酸化,从而促进神经细胞增殖,抑制 $A\beta$ 引起的PC12细胞凋亡,该结果可为临床治疗阿尔茨海默病提供新的途径^[22]。

6 结语

CBD神经保护作用的药效学研究已比较彻底,但其机制研究进展缓慢。目前普遍认为CBD的神经保护作用主要与其自由基清除及抑制炎症因子释放有关。因为CBD能够通过多途径发挥神经保护作用,且药动学性质良好,使其近年来成为人们研究神经退行性疾病机制及治疗药物的工具药。

参考文献

[1] 陈璇,杨明,郭鸿彦.大麻植物中大麻素成分研究进展[J].植物学报,2011,46(2):197-205.
[2] Roser P, Vollenweider F X, Kawohl W. Potential antipsychotic properties of central cannabinoid (CB1) receptor antagonists [J]. *World J Biol Psychiatry*, 2010,

11(2 Pt 2): 208-219.

- [3] Fagherazzi E V, Garcia V A, Maurmann N, *et al*. Memory-rescuing effects of cannabidiol in an animal model of cognitive impairment relevant to neurodegenerative disorders [J]. *Psychopharmacology*, 2012, 219(4): 1133-1140.
[4] Iuvone T, Esposito G, De Filippis D, *et al*. Cannabidiol: a promising drug for neurodegenerative disorders? [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2009, 15(1): 65-75.
[5] Garcia-Arencibia M, Gonzalez S, de Lago E, *et al*. Evaluation of the neuroprotective effect of cannabinoids in a rat model of Parkinson's disease: importance of antioxidant and cannabinoid receptor-independent properties [J]. *Brain Res*, 2007, 1134(1): 162-170.
[6] Sagredo O, Ramos J A, Decio A, *et al*. Cannabidiol reduced the striatal atrophy caused 3-nitropropionic acid *in vivo* by mechanisms independent of the activation of cannabinoid, vanilloid TRPV1 and adenosine A2A receptors [J]. *Eur J Neurosci*, 2007, 26(4): 843-851.
[7] Moldzio R, Pacher T, Krewenka C, *et al*. Effects of cannabinoids Delta (9)-tetrahydrocannabinol, Delta (9)-tetrahydrocannabinolic acid and cannabidiol in MPP⁺ affected murine mesencephalic cultures [J]. *Phytomedicine*, 2012, 19(8/9): 819-824.
[8] Hayakawa K, Mishima K, Nozako M, *et al*. Delayed treatment with cannabidiol has a cerebroprotective action via a cannabinoid receptor-independent myeloperoxidase-inhibiting mechanism [J]. *J Neurochem*, 2007, 102(5): 1488-1496.
[9] Pazos M R, Mohammed N, Lafuente H, *et al*. Mechanisms of cannabidiol neuroprotection in hypoxic-ischemic newborn pigs: role of 5HT(1)A and CB2 receptors [J]. *Neuropharmacology*, 2013, 71: 282-291.
[10] Casarejos M J, Perucho J, Gomez A, *et al*. Natural cannabinoids improve dopamine neurotransmission and tau and amyloid pathology in a mouse model of tauopathy [J]. *J Alzheimers Dis*, 2013, 35(3): 525-539.
[11] Hampson A J, Grimaldi M, Axelrod J, Wink D. Cannabidiol and (-) Delta 9-tetrahydrocannabinol are neuroprotective antioxidants [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 8268-8273.
[12] Pazos M R, Cinquina V, Gomez A, *et al*. Cannabidiol administration after hypoxia-ischemia to newborn rats reduces long-term brain injury and restores neurobehavioral function [J]. *Neuropharmacology*, 2012, 63(5): 776-783.
[13] Martin-Moreno A M, Reigada D, Ramirez B G, *et al*. Cannabidiol and other cannabinoids reduce microglial activation *in vitro* and *in vivo*: Relevance to Alzheimer's

- disease [J]. *Mol Pharmacol*, 2011, 79(6): 964-973.
- [14] Esposito G, Scuderi C, Valenza M, *et al.* Cannabidiol reduces A β -induced neuroinflammation and promotes hippocampal neurogenesis through PPAR γ involvement [J]. *PLoS One*, 2011, 6(12): e28668.
- [15] Lafuente H, Alvarez F J, Pazos M R, *et al.* Cannabidiol reduces brain damage and improves functional recovery after acute hypoxia-ischemia in newborn pigs [J]. *Pediatr Res*, 2011, 70(3): 272-277.
- [16] Castillo A, Tolon M R, Fernandez-Ruiz J, *et al.* The neuroprotective effect of cannabidiol in an in vitro model of newborn hypoxic-ischemic brain damage in mice is mediated by CB (2) and adenosine receptors [J]. *Neurobiol Dis*, 2010, 37(2): 434-440.
- [17] Ahrens J, Demir R, Leuwer M, *et al.* The nonpsychotropic cannabinoid cannabidiol modulates and directly activates alpha-1 and alpha-1-Beta glycine receptor function [J]. *Pharmacology*, 2009, 83(4): 217-222.
- [18] Juknat A, Rimmerman N, Levy R, *et al.* Cannabidiol affects the expression of genes involved in zinc homeostasis in BV-2 microglial cells [J]. *Neurochem Int*, 2012, 61(6): 923-930.
- [19] Ryan D, Drysdale A J, Lafourcade C, *et al.* Cannabidiol targets mitochondria to regulate intracellular Ca²⁺ levels [J]. *J Neurosci*, 2009, 29(7): 2053-2063.
- [20] Valvassori S S, Elias G, de Souza B, *et al.* Effects of cannabidiol on amphetamine-induced oxidative stress generation in an animal model of mania [J]. *J Psychopharmacol*, 2011, 25(2): 274-280.
- [21] Iuvone T, Esposito G, Esposito R, *et al.* Neuroprotective effect of cannabidiol, a non-psychoactive component from *Cannabis sativa*, on beta-amyloid-induced toxicity in PC12 cells [J]. *J Neurochem*, 2004, 89(1): 134-141.
- [22] Esposito G, De Filippis D, Carnuccio R, *et al.* The marijuana component cannabidiol inhibits beta-amyloid-induced tau protein hyperphosphorylation through Wnt/beta-catenin pathway rescue in PC12 cells [J]. *J Mol Med*, 2006, 84(3): 253-258.