

# 一个潜在治疗肝纤维化的药靶:大麻素受体

王旭 沈旭

肝纤维化及其终极阶段肝硬化是一个世界性的重大公共卫生难题。多种因素可以诱发肝纤维化,包括病毒、乙醇、自身免疫性疾病、慢性胆道阻滞、代谢紊乱、基因缺陷以及组织缺氧等。在西方国家最主要的原因包括长期乙醇消耗、丙型肝炎和非乙醇性脂肪肝,在我国则以乙型肝炎为主要原因。目前的肝纤维化治疗局限于有害因素的清除,不仅能阻止肝纤维化进程而且能使其逆转;然而并非总能去除肝损伤的起因,因此有必要开展肝特异的抗纤维化研究<sup>[1]</sup>。尽管目前尚无有效的抗肝纤维化治疗措施,但是近来基于肝纤维化发生机制的研究表明,大麻素受体在肝纤维化的发生发展中起非常重要的作用<sup>[2]</sup>。

## 大麻素受体

大麻(marijuana)作为药物使用已经有 2 000 余年历史,后又有学者从大麻中提炼出活性成分,在人体内也发现有相同作用的化合物,称之为内源性大麻素。内源性大麻素通过特异性大麻素受体 1 (cannabinoid receptor 1, CB<sub>1</sub>) 和大麻素受体 2 (cannabinoid receptor 2, CB<sub>2</sub>) 发挥作用。CB<sub>1</sub> 和 CB<sub>2</sub> 都是视紫红质样家族的 7 次跨膜受体,其配体结合部位是 7 个跨膜螺旋相互作用形成的中央核心。大麻素受体与 G 蛋白的 G<sub>i/o</sub> 家族(G<sub>1,2</sub>和 G<sub>3</sub>,及 G<sub>0</sub>和 G<sub>2</sub>)通过蛋白质的胞内环相关联,其中 CB<sub>1</sub> 受体主要分布于神经系统中,而 CB<sub>2</sub> 受体分布于免疫组织。CB<sub>1</sub> 和 CB<sub>2</sub> 受体通过 G 抑制腺苷酸环化酶,进而激活下游的 p42/p44 MAPK 通路,现有研究结果表明 CB<sub>1</sub> 受体还可以通过离子通道转导信号。除此之外, CB<sub>1</sub> 和 CB<sub>2</sub> 受体也影响其他信号传导通路。大麻素受体激动剂的分子激动机制是改变大麻素受体第 3 和第 4 胞内环,使相关联的 G 蛋白激活<sup>[3]</sup>。

## 肝纤维化过程中大麻素受体的作用

临床研究表明丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)患者吸食大麻会加重肝纤维化。经肝脏活检确定的 270 例患者,利用多元分析发现 6 个因素独立地与肝纤维化进展率具有相关性:每日使用大麻、Metavir 活动度 A2 或更高、感染时年龄超过 40 岁、HCV 基因型为 3、乙醇过度摄取及脂肪变性。其中,每日使用大麻也是 1 个纤维化快速进展的独立预警因素;并且每日使用大麻者也可被预见会发生严重肝纤维化,同时不依赖于 Metavir 活动度、过量乙醇摄取、肝脏活检年龄、脂肪变性和烟草使用等因素。所以每日吸食大麻与慢性丙型肝炎纤维化进程显著相关<sup>[4]</sup>。

Teixeira-Clerc 等<sup>[5]</sup>报道 CB<sub>1</sub> 受体在纤维生成细胞,如肝硬化患者的肝脏星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)和 CCl<sub>4</sub> 诱导的肝纤维化小鼠的 HSC 中过量表达。在 3 种肝纤维化增加的小鼠模型中,基因缺失或药理学阻断 CB<sub>1</sub> 受体能减弱肝纤维化程度。阻断 CB<sub>1</sub> 受体具有抗肝纤维化作用,可能由于其降低了已经激活的 HSC 增生并增加其凋亡,同时导致 TGF- $\beta$  1 因子的减少。另一项研究表明 CB<sub>2</sub> 受体在肝纤维化中的作用与 CB<sub>1</sub> 受体相反。在多病因的肝纤维化患者肝脏活检中, CB<sub>2</sub> 受体主要在纤维隔内部及边缘上平滑肌抗体阳性的非实质细胞中表达;正常人肝脏中未检测到 CB<sub>2</sub> 受体。体外培养的成纤维细胞和激活的 HSC 中能检测到 CB<sub>2</sub> 受体。CB<sub>2</sub> 受体激活诱发了可能的抗肝纤维化效应,即 HSC 生长抑制和凋亡。生长抑制涉及环氧化酶-2, 凋亡源于氧化应激。CB<sub>2</sub> 基因缺失小鼠与野生型小鼠相比,在用 CCl<sub>4</sub> 诱导后发生了更为严重的肝纤维化。该研究强调了 CB<sub>2</sub> 受体在慢性肝损伤中的抗肝纤维化作用,提示 CB<sub>2</sub> 受体的特异性激动剂有可能成为抗肝纤维化药物<sup>[6]</sup>。

前述研究表明,激活 CB<sub>1</sub> 受体能够促进肝纤维化作用而激活 CB<sub>2</sub> 受体则起抗肝纤维化作用,但在应对能同时激活 CB<sub>1</sub> 和 CB<sub>2</sub> 受体的配体时,促肝纤

作者单位:中国科学院上海药物研究所,上海 201203

通讯作者:沈旭, E-mail: xshen@mail.shnc.ac.cn

维化的 CB<sub>1</sub> 通路反应占主要地位。但是高浓度的内源性大麻素花生四烯酸乙醇胺 (anandamide) 或 2-甘油磷脂 (2-arachidonoylglycerol, 2-AG) 在体外能抑制肝纤维化产生而无促肝纤维化作用,说明这种抑制肝纤维化作用并非通过 CB<sub>2</sub> 受体途径。内源性大麻素 anandamide 是一种脂质调节物,在严重肝炎和肝硬化患者血浆中 anandamide 浓度显著升高。病理生理浓度范围内的 anandamide 可以诱导肝癌细胞系 Hep G<sub>2</sub> 和原代肝细胞凋亡,表明 anandamide 水平升高与肝细胞损伤可能存在联系。anandamide 介导 HSC 的死亡呈坏死特征,活性氧自由基 (reactive oxygen species, ROS) 生成,胞内钙增加。虽然 HSC 表达 CB<sub>1</sub>、CB<sub>2</sub> 和香草酸受体 1,但特定的受体阻断剂无法阻断细胞死亡。anandamide 引起 HSC 坏死,是由于膜胆固醇和随后增加的胞内钙和 ROS 导致抗增殖效应和选择性杀伤 HSC 而非肝细胞<sup>[7,8]</sup>。这种选择性杀伤作用可能是由于肝细胞内的脂肪酰水分解酶和还原型谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 的含量要高于 HSC<sup>[9]</sup>。

### 大麻素受体与肝硬化并发症

以内源性大麻素系统作为治疗肝纤维化的药物靶点,其优势不仅在于影响疾病发展的进程,而且还可以改善肝硬化的并发症,如门脉高压和心血管症状以及肝性脑病的发生。

肝硬化晚期发生门脉高压、肠系膜动脉充血和体循环低压,并导致低循环血量和腹水的发生,其结果是患者病死率上升。目前对这种病变的治疗措施还是不成功的。针对大麻素受体的研究则为此提供了新思路。内源性大麻素可作用于外周的 CB<sub>1</sub> 受体引起血管舒张。肝硬化大鼠在接受 CB<sub>1</sub> 受体拮抗剂注射后,其体循环低压的症状得到改善,显著地增加了动脉压力和外周阻力。肝硬化大鼠血细胞悬液或单核细胞经提取后注射给正常鼠,可降低接受鼠的动脉压,原因是肝硬化大鼠的单核细胞受激活产生 anandamide,而该物质在实验性肝硬化模型中引起了动脉低压<sup>[10]</sup>。

肝硬化患者常同时伴有内毒血症,而血管 CB<sub>1</sub> 受体的激活可能导致内毒素引起的低血压。有研究显示胆汁性肝硬化的大鼠表现出低血压,在使用 CB<sub>1</sub> 受体拮抗剂 SR141716A 后大鼠血压升高。CCl<sub>4</sub> 引起的肝硬化大鼠血压也被 SR141716A 所反转。将肝硬化的大鼠或患者单核细胞注射给正常大鼠,可降低正常大鼠受 SR141716A 作用而产生的高血压,

并提高 anandamide 水平。与非肝硬化对照相比,硬化的人类肝脏中分离出的血管内皮细胞内 CB<sub>1</sub> 受体升高 3 倍。这些研究结果提示 anandamide 和血管 CB<sub>1</sub> 受体参与晚期肝硬化的血管舒张状态<sup>[11]</sup>。

在胆道结扎引起的硬化模型中,anandamide 增加了肝硬化大鼠肠系膜血管直径和血流及心输出量,并引起肝硬化大鼠动脉压力反应显著改变;AM251 (CB<sub>1</sub>拮抗剂)可能使肝硬化大鼠动脉压和体循环血管阻力升高,缩小肠系膜动脉,降低肠系膜上动脉血流的同时改变心输出量;capsazepine (VR<sub>1</sub>拮抗剂)降低肝硬化大鼠心输出量,减小肠系膜动脉直径与血流,并且增加体循环血管阻力,而对照组大鼠则无此效应;但是 AM630 (CB<sub>2</sub>拮抗剂)在任何组都没有影响任一心血管参数。上述结果说明,内源性大麻素可能以 CB<sub>1</sub> 和 VR<sub>1</sub> 介导机制参与肝硬化时高动力循环和肠系膜充血过程<sup>[12]</sup>。

肝硬化心肌症现象是指肝硬化时心肌收缩性正常,但对刺激呈低反应性,该病因仍然未明。有报道肝硬化 SD 大鼠中心室乳头肌的收缩性与大麻素受体之间的关系。CB<sub>1</sub>拮抗剂 AM251 能提高肝硬化心肌对异丙肾上腺素刺激的反应性。anandamide 重摄取的阻断剂可提高肝硬化心肌的松弛,该效应能被 AM251 和百日咳毒素完全阻断。这些结果表明,在肝纤维化心肌症时由 G 蛋白-CB<sub>1</sub>受体通路介导的局部内源性大麻素参与了致病作用<sup>[13]</sup>。

内源性大麻素在中枢神经系统中作为神经递质和神经调质,有神经保护作用。肝性脑病是一种因肝脏疾病导致解毒功能下降而引发的神经精神综合征。在由硫化乙酰胺引起暴发性肝衰竭的小鼠模型中,小鼠脑中内源性大麻素 2-AG 升高。注射 2-AG 或 SR141716A 后,发病小鼠神经学机能、行为和认知功能均得到改善。CB<sub>2</sub>受体选择性激动剂 HU308 也能升高小鼠神经学机能。2-AG 能被 CB<sub>2</sub>受体特异拮抗剂 SR144526A 阻断,但 CB<sub>1</sub>激动剂则无活性。因此内源性大麻素在肝性脑病发生中起重要作用,CB<sub>2</sub>受体特异的激动剂或 CB<sub>1</sub>特异的拮抗剂可能会有治疗肝性脑病的作用<sup>[14]</sup>。

此外,研究显示 CB<sub>1</sub>受体激活与肥胖症和脂肪肝的发生具有相关性<sup>[15]</sup>。最近一项临床研究发现使用 CB<sub>1</sub>受体拮抗剂治疗肥胖症,患者血浆中乙二腈升高,leptin 水平降低。这些内分泌改变可能有助于 CB<sub>1</sub>被阻断后的抗肝纤维化作用,因为 leptin 刺激肝纤维化,而乙二腈则有相反作用<sup>[16]</sup>。因此 CB<sub>1</sub>

阻断也能减少肝硬化的代谢危险因素。

## 展 望

综上所述,基于内源性大麻素系统抗肝纤维化的研究取得了重要进展,使用 CB<sub>1</sub> 受体选择性拮抗剂或 CB<sub>2</sub> 受体选择性激动剂都可能延缓肝纤维化的进程并改善肝硬化的心血管和神经症状。受体拮抗策略往往是研究者和制药公司的首选。但由于目前缺乏不能穿越血脑脊液屏障的 CB<sub>1</sub> 拮抗剂,因此在使用时可能产生对神经系统的不良反应,例如有报道在使用利莫那班时患者有抑郁症发生的情况,所以开发不能穿越血脑屏障的 CB<sub>1</sub> 选择性拮抗剂具有很好的临床应用前景。

## 参 考 文 献

1. Lotersztajn S, Julien B, Teixeira-Clerc F, et al. Hepatic fibrosis: molecular mechanisms and drug targets. Annual review of pharmacology and toxicology, 2005, 45: 605 ~ 628
2. Pacher P, Batkai S, Kunos G. The endocannabinoid system as an emerging target of pharmacotherapy. Pharmacol Rev, 2006, 58: 389 ~ 462
3. di Marzo V, Bifulco M, de Petrocellis L. The endocannabinoid system and its therapeutic exploitation. Nature Rev, 2004; 3: 771 ~ 784
4. Hezode C, Roudot-Thoraval F, Nguyen S, et al. Daily cannabis smoking as a risk factor for progression of fibrosis in chronic hepatitis C. Hepatology, 2005, 42: 63 ~ 71
5. Teixeira-Clerc F, Julien B, Grenard P, et al. CB<sub>1</sub> cannabinoid receptor antagonism, a new strategy for the treatment of liver fibrosis. Nature Med, 2006, 12: 671 ~ 676
6. Julien B, Grenard P, Teixeira-Clerc F, et al. Antifibrogenic role of the cannabinoid receptor CB<sub>2</sub> in the liver. Gastroenterology, 2005, 128: 742 ~ 755

7. Biswas KK, Sarker KP, Abeyama K, et al. Membrane cholesterol but not putative receptors mediates anandamide-induced hepatocyte apoptosis. Hepatology, 2003, 38: 1167 ~ 1177
8. Siegmund SV, Uchinami H, Osawa Y, et al. Anandamide induces necrosis in primary hepatic stellate cells. Hepatology, 2005, 41: 1085 ~ 1095
9. Siegmund SV, Seki E, Osawa Y, et al. Fatty acid amide hydrolase determines anandamide-induced cell death in the liver. J Biol Chem, 2006, 281: 10431 ~ 10438
10. Ros J, Claria J, Tor Figueras J, et al. Endogenous cannabinoids, a new system involved in the homeostasis of arterial pressure in experimental cirrhosis in the rat. Gastroenterology, 2002, 122: 85 ~ 93
11. Batkai S, Jarai Z, Wagner JA, et al. Endocannabinoids acting at vascular CB<sub>1</sub> receptors mediate the vasodilated state in advanced liver cirrhosis. Nature Med, 2001, 7: 827 ~ 832
12. Moezi L, Gaskari SA, Liu H, et al. Anandamide mediates hyperdynamic circulation in cirrhotic rats via CB<sub>1</sub> and VR<sub>1</sub> receptors. Brit J Pharmacol, 2006, 149: 898 ~ 908
13. Gaskari SA, Liu H, Moezi L, et al. Role of endocannabinoids in the pathogenesis of cirrhotic cardiomyopathy in bile duct ligated rats. Brit J Pharmacol, 2005, 146: 315 ~ 323
14. Avraham Y, Israeli E, Gabbay E, et al. Endocannabinoids affect neurological and cognitive function in thioacetamide induced hepatic encephalopathy in mice. Neurobiol Dis, 2006, 21: 237 ~ 245
15. Oser Hyiaman D, DePetrillo M, Pacher P, et al. Endocannabinoid activation at hepatic CB<sub>1</sub> receptors stimulates fatty acid synthesis and contributes to diet-induced obesity. J Clin Invest, 2005, 115: 1298 ~ 1305
16. Despres JP, Gblay A, Sjostrom L. Effects of rimonabant on metabolic risk factors in overweight patients with dyslipidemia. New Engl J Med, 2005, 353: 2121 ~ 2134

(收稿日期: 2007-04-30)

(上接第 89 页)

15. Vanlandschoot P, Van Houtte F, Roobrouck A, et al. LPS-binding protein and CD14-dependent attachment of hepatitis B surface antigen to monocytes is determined by the phospholipid moiety of the particles. J Gen Virol, 2002, 83: 2279 ~ 2289
16. Finberg RW, Kurt-Jones EA. CD14: chaperone or matchmaker? Immunity, 2006, 24: 127 ~ 129

17. Jochum C, Voth R, Rossol S, et al. Immunosuppressive function of hepatitis B antigens in vitro: role of endoribonuclease V as one potential trans inactivator for cytokines in macrophages and human hepatoma cells. J Virol, 1990, 64: 1956 ~ 1963
18. Takeda K, Akira S. TLR signaling pathways. Semin Immunol, 2004, 16: 3 ~ 9

(收稿日期: 2008-03-27)