

网络出版时间: 2022-10-28 11:23 知网出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1086.R.20221027.1257.006.html>

# 致幻剂激活 5-HT<sub>2A</sub> R 产生致幻作用的信号通路研究进展

朱慧丽<sup>1,2</sup>, 周培岚<sup>2</sup>, 傅风华<sup>1</sup>, 苏瑞斌<sup>2</sup>

(1. 烟台大学药学院, 山东 烟台 264005;

2. 军事科学院军事医学研究院毒物药物研究所, 抗毒药物与毒理学国家重点实验室, 北京 100850)

doi: 10.12360/CPB202108103

文献标志码: A 文章编号: 1001-1978(2022)11-1607-06

中国图书分类号: R341; R392.11; R964; R971.4

**摘要:** 经典血清素能致幻剂(又称致幻剂)是一种强大的精神活性物质可以强烈改变人的知觉、情绪和认知。目前普遍认为致幻剂发挥致幻作用的主要靶点为 5-HT<sub>2A</sub> 受体(5-hydroxytryptamine 2A Receptor, 5-HT<sub>2A</sub> R)。研究发现, 5-HT<sub>2A</sub> R 作为 G 蛋白偶联受体除了偶联经典的 G $\alpha_{q/11}$ -PLC $\beta$  信号通路外, 还可偶联 G $\alpha_{i/o}$ 、G $\alpha_{12/13}$  和  $\beta$ -arrestin2 等信号通路。但是, 与致幻作用相关的受体后信号通路尚无定论。该文总结了近年来致幻剂激活 5-HT<sub>2A</sub> R 后产生致幻作用的信号通路研究进展, 为阐明幻觉产生的分子机制及发现新的药物靶点提供依据。

**关键词:** 致幻剂; G 蛋白偶联受体; 5-HT<sub>2A</sub> 受体; 信号转导; 偏向性; G 蛋白;  $\beta$ -arrestin2

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



致幻剂是一类天然或人工合成的精神活性物质, 能够影响人的中枢神经系统, 可以强烈改变人的知觉、情绪和认知, 使人产生错觉、幻觉以及情感改变, 甚至导致自我歪曲、妄想症发作和精神思维分裂<sup>[1]</sup>。根据化学结构, 致幻剂广义上可以分为两大类: 吲哚烷胺类[如赛洛西宾、麦角酰二乙胺(lysergic acid diethylamide, LSD)]和苯烷胺类[如麦司卡林、2, 5-二甲氧基-4-甲基苯丙胺(2, 5-dimethoxy-4-methylamphetamine, DOM), 2, 5-二甲氧基-4-碘苯丙胺(2, 5-dimethoxy-4-iodoamphetamine, DOI)]<sup>[2]</sup>。虽然致幻剂激活的受体众多, 但是目前普遍认为致幻剂主要通过激活或部分激活 5-HT<sub>2A</sub> R 产生致幻作用<sup>[3-4]</sup>。一些非致幻化合物, 如麦角乙脲(lisuride, LIS)和麦角胺(ergotamine, ERG)与强效致幻剂 LSD 结构非常相似, 它们与 5-HT<sub>2A</sub> R 有较强的亲和力, 并能

进一步激活受体<sup>[4]</sup>, 但是这些药物或化合物在临床使用时并未引起幻觉, 在啮齿类动物也未观察到致幻剂所引起的标志性反应——甩头反应(head twitch response, HTR); 它们对小鼠的基因转录图谱、电生理、受体后信号转导与经典致幻剂有不同的影响。此外, 美国加州大学戴维斯分校的研究者们对致幻剂进行结构改造, 得到了同样可以激活 5-HT<sub>2A</sub> R 的非致幻类似物。并且此类类似物对药物成瘾、抑郁症和其他精神疾病都具有较好的治疗作用<sup>[5]</sup>。为什么只有特定的 5-HT<sub>2A</sub> R 激动剂引起致幻作用? 以及哪些信号通路介导了致幻作用? 这些尚无定论。本文综述了致幻剂激活 5-HT<sub>2A</sub> R 后相关致幻通路的研究进展, 为早日揭开致幻作用的神秘面纱提供参考。

## 1 致幻剂概述

致幻剂使用历史悠久, 在许多早期文明中, 自然界中的致幻物质对哲学、宗教思想的形成和发展起着重要的作用<sup>[1]</sup>。致幻剂因能使人的意识发生深刻地变化, 可作为神经、精神科学研究的工具。在科研和医疗领域, 也表现出巨大的应用潜力, 最初作为一种实验工具(拟精神病药物), 用于制造精神分裂症模型; 也曾作为抑郁症、创伤后应激障碍和物质使用障碍等精神疾病的治疗药物; 在自身免疫性疾病、抗炎、镇痛、阿尔茨海默病、厌食症等方面也具有积极的作用<sup>[6]</sup>。目前, 致幻剂辅助心理疗法显示出巨大的医疗前景。令研究者们振奋的是, 与传统抗抑郁药物(单胺氧化酶抑制剂、三环类抗抑郁药、选择性五羟色胺再摄取抑制剂)相比, 致幻剂能产生很强的神经可塑性, 这可能是它快速且持久的抗抑郁作用机制<sup>[7]</sup>。致幻剂一次给药治疗效果可持续十数天甚至数十天以上, 进一步提高了患者的用药依从性和安全性<sup>[8]</sup>。不足之处是在临床试验中, 致幻剂因其强大的心理效应, 需要在特定的医疗场所和专业的心理治疗师的支持和监督下进行, 严重制约了其应用和发展。

近年来致幻剂作为新型毒品以不同的形式如“邮票”(主要成分是 LSD)频繁出现在社会中, 使我国一些认识不足的青少年深受蒙骗, 纷纷涉足。目前, 由于知识传播的迅速、材料的易得和法律的滞后, 新型毒品的管理难度进一步加大, 不法分子对违禁药物的分子结构稍微做一些改变或修饰, 就可以产生效果相当或者作用更强的新毒品, 以便于逃避法律的监管<sup>[9]</sup>。对毒品进行管理和司法打击常常呈现“道高一尺, 魔高一丈”的较量, 迫切需要合适的方法对药品和毒品进行判定。因此了解致幻剂的致幻机制显得至关重要, 为趋利避害更好的运用此类化合物提供理论依据。

目前致幻剂的研究方法较为局限。现阶段幻觉还无法

收稿日期: 2022-07-11 修回日期: 2022-09-25

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(No.81773709)

作者简介: 朱慧丽(1990-), 女, 硕士生, 研究方向: 神经精神药理学, E-mail: a123zhuzhujy@163.com;

苏瑞斌(1973-), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向: 神经精神药理学, 通信作者, E-mail: ruibinsu@126.com

用生物学指标进行量化,也无法用标准化的语言进行描述。研究致幻剂对人体的致幻效应最常用的方法就是进行调查问卷,如《心理状态问卷》、《致幻剂评定表》、《意识状态变化评定表》等<sup>[10]</sup>。随着技术的进步一些成像方法也运用其中,例如正电子发射型计算机断层显像、功能磁共振成像。致幻剂对人的影响复杂、多变,很难确定具体的致幻动物模型;实验动物无法像人类那样填写调查问卷,也不可能用语言去描述,只能依靠动物的一些行为来预测人类特定的神经心理效应。目前,用于临床前研究的实验动物模型主要有药物辨别、HTR、前脉冲抑制、行为模式实验等<sup>[1]</sup>。人体和实验动物均证实致幻剂发挥致幻作用的主要靶点为 5-HT<sub>2A</sub>R。对受体下游信号通路的进一步研究将有助于寻找新的靶标或生物标志物。对致幻作用的治疗和检测都有重要意义。

## 2 致幻剂的致幻靶点—5-HT<sub>2A</sub>R

5-HT<sub>2A</sub>R 属于 A 型(视紫红质样受体)家族的 G 蛋白偶联受体(G protein-coupled receptors, GPCRs)。最初 5-HT<sub>2A</sub>R 因可介导各种类型平滑肌的收缩,不可逆拮抗剂“Dibenzyl-line”能阻断这一作用,Gaddum 和 Picarelli 称其为 D 受体,后来 Peroutka 和 Snyder 根据与特定放射性配体的亲和力大小将其归为 5-HT<sub>2</sub> 受体。目前根据遗传同源性和一级结构特点,5-HT<sub>2</sub> 受体包括 5-HT<sub>2A</sub>R 与 5-HT<sub>2B</sub>R、5-HT<sub>2C</sub>R 三个亚型,同源性达 50%。5-HT<sub>2A</sub>R 基因位于人类染色体 13q14-q21 上,人类、大鼠、小鼠的 5-HT<sub>2A</sub>R 包含 471 个氨基酸<sup>[11]</sup>。

5-HT<sub>2A</sub>R 在外周和中枢神经系统广泛分布,在外周主要分布于胃肠道、心血管系统等。在中枢神经系统主要分布于新皮质、内嗅皮质、杏仁核、屏状核以及下丘脑;在海马、尾状核、壳核、伏隔核次之;而在丘脑、脑干、脊髓和小脑分布较少。5-HT<sub>2A</sub>R 主要富集于大脑前额叶皮质第 V 层锥体神经元的顶端树突,目前认为该区域的 5-HT<sub>2A</sub>R 与致幻密切相关<sup>[11]</sup>。5-HT<sub>2A</sub>R 的内源性配体为 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT),对各种生理功能起着重要作用。5-HT 对认知、感觉加工等的影响与激活中枢神经系统 5-HT<sub>2A</sub>R 密切相关。许多抗抑郁药、抗焦虑药和非典型抗精神病药物等通过作用于 5-HT<sub>2A</sub>R 而发挥作用。5-HT<sub>2A</sub>R 的激活除产生幻觉外,对病理状态下中枢系统的调节也是近年来人们关注的重点。

## 3 致幻剂激活 5-HT<sub>2A</sub>R 后的信号通路

过去 20 多年来,人们越来越认识到,GPCRs 除存在经典的激活 (“R\*”)和失活 (“R”)态外,一些化合物可以稳定不同的受体构象,从而优先激活特定的信号转导通路,这种现象被称为功能选择性或偏向性。5-HT<sub>2A</sub>R 是偏向性研究最早的受体之一<sup>[11]</sup>。近期发表在《细胞》杂志上的一项研究成果更进一步肯定了此认识。加州大学戴维斯分校的研究人员开发出一种名为“PsychLight”的新型荧光传感器,这种基因编码的荧光传感器可以预测结构相似的 5-HT<sub>2A</sub>R 配体的致幻行为,当 PsychLight 与 5-HT 或致幻配体结合时,会稳定其特定构象,导致荧光增强。非致幻配体也可以与 PsychLight 结合,但会形成不同的荧光图谱<sup>[12]</sup>。近年来国内外对 5-HT<sub>2A</sub>R 后信号通路进行了大量的研究,发现其可与多种 G

蛋白和  $\beta$ -arrestins 结合,如  $G\alpha_{q/11}$ 、 $G\alpha_{i/o}$  和  $G\alpha_{12/13}$ 、 $\beta$ -arrestin2; 从而进行不同途径的信号转导。虽然这些激活的信号通路的分子细节和药理作用还不清楚,但对进一步阐明致幻作用的信号通路具有重要的提示作用。

**3.1  $G\alpha_{q/11}$ -PLC $\beta$  信号通路** 最典型的 5-HT<sub>2A</sub>R 后信号通路为  $G\alpha_{q/11}$ -PLC $\beta$  信号通路。5-HT<sub>2A</sub>R 与  $G\alpha_{q/11}$  偶联,使磷酸肌醇(phosphoinositide, PI) 特异性磷脂酶 C $\beta$ (phospholipase C $\beta$ , PLC $\beta$ ) 活化,在 PLC $\beta$  的催化作用下促使细胞膜上的磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸在 sn-3 位置水解,产生肌醇-1,4,5-三磷酸(inositol-1,4,5-triphosphate, IP<sub>3</sub>) 和二酰基甘油(diacylglycerol, DAG)。IP<sub>3</sub> 使细胞内钙库的 Ca<sup>2+</sup> 释放,激活钙/钙调蛋白依赖性激酶 II(calcium/calmodulin dependent kinase II, CaMKII)。DAG 与膜结合并激活蛋白激酶 C(protein kinase C, PKC),PKC 途径可磷酸化胞外信号调节激酶 1/2(extracellular signal-regulated kinase, ERK) 和转录因子环腺苷酸反应元件结合蛋白(the transcription factor cyclic AMP response element-binding protein, CREB) 等,以调节基因表达<sup>[11,13]</sup>。

长期以来,人们认为  $G\alpha_q$ -PLC $\beta$ -PI 级联反应与致幻作用最相关,但这一假设存在诸多矛盾。在常用于评价致幻剂的 HTR 模型上,基因敲除 5-HT<sub>2A</sub>R 或者使用 5-HT<sub>2A</sub>R 拮抗剂均可阻断致幻剂全身给药诱导的小鼠 HTR; 使用遗传策略恢复小鼠皮质锥体神经元上 5-HT<sub>2A</sub>R 的表达,可以挽救致幻剂诱导的 HTR<sup>[4]</sup>。5-HT<sub>2A</sub>R 激动剂局部注射到内侧前额叶皮质可诱导大鼠产生 HTR。因此,5-HT<sub>2A</sub>R 在啮齿类动物大脑前额叶皮质中的激活是致幻剂诱导 HTR 的必要条件。但 5-HT<sub>2A</sub>R 下游信号分子  $G\alpha_q$  的基因敲除后,与野生型(wild-type, WT) 小鼠相比,DOI 诱导的 HTR 总次数仅降低了 35%~40%<sup>[14]</sup>。 $G\alpha_{11}$  蛋白与  $G\alpha_q$  在结构和功能上非常相似,在细胞内信号级联反应中可相互替代。由于  $G\alpha_{11}$  在大脑各个区域的表达量均明显低于  $G\alpha_q$ 。即使存在  $G\alpha_{11}$  的代偿, $G\alpha_q$  基因敲除后 DOI 诱导的 HTR 降低不到 50%,不排除其他信号通路参与了 DOI 诱导的 HTR。非致幻剂 LIS 激活 5-HT<sub>2A</sub>R 后也能与  $G\alpha_q$  偶联,Banerjee 等<sup>[13]</sup> 发现 DOI 激活  $G\alpha_q$  信号通路的程度较 LIS 明显增强,在表达人/大鼠 5-HT<sub>2A</sub>R-EGFP 的 HEK293 细胞和新生 Sprague-Dawley 大鼠原代皮层神经元中,与非致幻剂 LIS 相比,DOI 剂量依赖性的增加 PLC $\beta$ 、PKC、ERK、CaMKII、CREB 的磷酸化,并且胞内 IP<sub>3</sub> 和 DAG 的水平也较高。以上文献资料提示  $G\alpha_q$  信号通路并不是致幻剂激活 5-HT<sub>2A</sub>R 产生致幻效应的特异性通路,但仍然是致幻效应完整显现所必需的信号通路。

PLC $\beta$  为  $G\alpha_{q/11}$  与 5-HT<sub>2A</sub>R 解偶联后的第一激活酶,其抑制剂 U73122 可完全阻断 LSD 和 LIS 诱导的即刻早期基因 c-fos, U73122 也能抑制 LSD 诱导的早期生长反应因子 1(early growth response factor 1, *egr-1*) 和早期生长反应因子 2(early growth response factor 2, *egr-2*) 的转录<sup>[4]</sup>。进一步说明经典的  $G\alpha_{q/11}$ -PLC $\beta$  信号通路不是致幻剂特异性激活信号通路。

5-HT<sub>2A</sub>R 激活后 PI 水解与幻觉产生的相关性也存在疑问。在人类和啮齿类动物中, LSD 类致幻剂与 5-HT<sub>2A</sub>R 的亲

和力与它们的致幻效能有很强的相关性。但是,Roth等<sup>[15]</sup>发现LSD类致幻剂与5-HT<sub>2A</sub>R亲和力的高低与受体后激活PI水解的效能之间没有明显的相关性。并且在稳定表达大鼠5-HT<sub>2A</sub>R的PC12细胞,LSD与5-HT、DOM相比,在激活PI水解方面虽然效价强度高,但效能较低<sup>[16]</sup>。此外,Rabin等<sup>[16]</sup>注意到,在药物辨别试验中,一些致幻剂在药物替代中的效能与它们激活PI水解的效能之间缺乏相关性。他们认为PI水解可能不是参与药物辨别试验中替代效应的关键信号通路;致幻剂激活5-HT<sub>2A</sub>R产生超过阈值水平的PI水解可能只是引起致幻作用的几个必要因素之一,并不是唯一的关键因素<sup>[16]</sup>。

一般认为,Gα<sub>q/11</sub>激活PLC<sub>β</sub>后水解PIP<sub>2</sub>产生IP<sub>3</sub>,引起胞内Ca<sup>2+</sup>动员。在新生大鼠皮质原代培养的I型星形胶质细胞5-HT<sub>2A</sub>R拮抗剂凯坦色林或4-(4-氟苯甲酰基)-1-(4-苯基丁基)哌啶草酸酯能够抑制5-HT诱发的[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>升高<sup>[17]</sup>。百日咳毒素(pertussis toxin,PTX)预处理后,对5-HT引起的Ca<sup>2+</sup>动员没有明显影响,说明Gα<sub>i</sub>、Gα<sub>o</sub>、Gα<sub>t</sub>不介导此通路。PLC抑制剂U73122和新霉素可阻断5-HT诱导的[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>升高<sup>[17-18]</sup>,IP<sub>3</sub>受体拮抗剂肝素单独给药可抑制5-HT诱导的[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>升高<sup>[17]</sup>。此外,有研究结果表明Gα<sub>q</sub>信号途径可能不是Ca<sup>2+</sup>动员的唯一决定因素。Cussac等人<sup>[19]</sup>在稳定表达人5-HT<sub>2A</sub>R的CHO细胞,通过<sup>[35S]</sup>GTP-γS检测5-HT<sub>2A</sub>R激动剂对Gα<sub>q/11</sub>蛋白的激活,应用荧光探针(Fluo-3)检测胞内[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>的变化,比较激动剂的EC<sub>50</sub>值,发现内源性配体5-HT和5-羧基色胺(5-carboxytryptamine,5-CT)作用后诱导的Ca<sup>2+</sup>释放强于对Gα<sub>q/11</sub>蛋白激活,效价强度前者为后者的20至50倍;1-(3-氯苯基)哌嗪[1-(3-chlorophenyl)piperazine,mCPP]和DOI对Ca<sup>2+</sup>释放与Gα<sub>q/11</sub>蛋白激活的效价强度相当,前者为后者的2至3倍;而LSD激活Gα<sub>q/11</sub>蛋白比诱导Ca<sup>2+</sup>释放的效价强度高20倍;非致幻剂LIS对两种途径均表现出部分激动剂的特性,对Gα<sub>q/11</sub>激活的选择性更高,是Ca<sup>2+</sup>释放的1000倍以上。(见Tab 1)

在新生大鼠的皮质星形胶质细胞,加入5-HT(10 μmol·L<sup>-1</sup>)后引起细胞内钙库的Ca<sup>2+</sup>大量释放,与5-HT<sub>2A</sub>R下游IP<sub>3</sub>激活密切相关,[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>升高进一步引起胞外钙离子

内流<sup>[17-18]</sup>。但Ca<sup>2+</sup>动员引发的细胞外Ca<sup>2+</sup>内流的机制目前存在一定的分歧,Jalonen等<sup>[18]</sup>认为钙库释放后进一步激活了胞膜上的蜂毒敏感的小电导Ca<sup>2+</sup>激活K<sup>+</sup>通道,随后L型Ca<sup>2+</sup>通道被激活(仅当细胞外液有Ca<sup>2+</sup>存在时被激活,可被L型Ca<sup>2+</sup>通道阻滞剂尼莫地平 and 硝苯地平抑制),引起了外钙内流。Hagberg等<sup>[17]</sup>则认为,5-HT引起的外钙内流不是L、N或T型电压调控钙通道开放的结果,而是与耗竭型Ca<sup>2+</sup>通道有关。5-HT、DOM、DOI、LSD等激活5-HT<sub>2A</sub>R后剂量依赖性的增加细胞内[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>水平,目前胞内[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>的增加和胞外Ca<sup>2+</sup>的内流都是在离体状态下检测的结果。尽管不同激动剂激活Gα<sub>q/11</sub>和升高[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>的效能与其致幻效能之间没有相关性<sup>[19]</sup>,但Cussac等<sup>[19]</sup>认为[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>水平的上调对致幻阈值可能很重要。

**3.2 Gα<sub>i/o</sub>介导的信号通路** 配体作用于5-HT<sub>2A</sub>R后,还可能激活PTX敏感的Gα<sub>i/o</sub>信号通路。研究表明,致幻剂和非致幻剂在此通路上有诸多差异。大多数信号通路最终通过调控基因表达以响应细胞外刺激。致幻剂LSD和非致幻剂LIS对小鼠中枢神经系统c-fos、egr-1和egr-2等基因转录的影响不同。除海马外,在不同大脑区域嗅球、前额叶皮质、扣带回皮质、躯体感觉皮质、梨状皮质、海马、丘脑和小脑,LSD和LIS都能激活c-fos。LSD能够增加皮质和嗅球egr-1和egr-2的转录水平,而在丘脑和小脑等脑区没有作用。LIS对所有脑区egr-1和egr-2的转录水平都没有影响。PTX预处理可显著降低LSD诱导的egr-1和egr-2增加。这提示egr-1和egr-2的基因应答具有致幻剂作用特异性,并且这一变化与Gα<sub>i/o</sub>信号传导有关<sup>[4]</sup>。在HEK293细胞中,定量磷蛋白组学发现致幻和非致幻剂激动5-HT<sub>2A</sub>R后诱导不同模式的蛋白磷酸化。PTX预处理可抑制致幻剂DOI和LSD诱导的ERK1/2磷酸化,而不影响非致幻剂LIS和ERG诱导的反应<sup>[20]</sup>。结合致幻剂和非致幻剂对基因转录水平的影响,提示Gα<sub>i/o</sub>偶联的信号通路可能是区分致幻与非致幻的重要通路。

5-HT<sub>2A</sub>R激活后,不仅引起Gα<sub>q</sub>-PLC<sub>β</sub>-PI级联反应,还可激活磷脂酶A<sub>2</sub>(phospholipase A<sub>2</sub>,PLA<sub>2</sub>),该酶优先水解在sn-2位上含有磷脂的花生四烯酸,从而生成游离花生四

Tab 1 Stimulation of [<sup>35</sup>S] GTPγS binding to G<sub>q/11</sub> proteins and stimulation of Ca<sup>2+</sup> release by agonists at h5-HT<sub>2A</sub> receptor<sup>[19]</sup>

	5-HT <sub>2A</sub> R					
	G <sub>q/11</sub>		Calcium		ΔpEC <sub>50</sub>	pK <sub>i</sub>
	pEC <sub>50</sub>	E <sub>max</sub> / %	pEC <sub>50</sub>	E <sub>max</sub> / %		
5-HT	7.53 ± 0.06	108.7 ± 6.4	9.24 ± 0.11	103.6 ± 6.7	-1.71	7.18 ± 0.04
5-CT	6.21 ± 0.21	100.3 ± 12.4	7.41 ± 0.26	84.9 ± 3.4	-1.20	6.21 ± 0.07
mCPP	6.79 ± 0.04	54.4 ± 1.3	7.28 ± 0.21	71.6 ± 10.5	-0.49	7.39 ± 0.05
DOI	8.29 ± 0.13	93.6 ± 3.9	8.62 ± 0.25	81.3 ± 6.1	-0.33	8.04 ± 0.05
LSD	8.74 ± 0.04	71.2 ± 2.0	7.47 ± 0.06	84.6 ± 9.5	+1.27	9.49 ± 0.03
Lisuride	8.26 ± 0.14	40.7 ± 5.3	5.13 ± 0.34	48.6 ± 8.0	+3.13	9.26 ± 0.06

Data (pEC<sub>50</sub> and E<sub>max</sub>) are expressed as mean ± S. E. M. of at least three independent experiments performed in duplicate (G<sub>q/11</sub> activation) or triplicate determinations (Ca<sup>2+</sup> mobilization). Agonist efficacy is expressed relative to that of a saturating concentration of 5-HT. Ligands are classed following their increasing differences of pEC<sub>50</sub> between the two assays.

烯酸(arachidonic acid, AA)和溶血磷脂。多个细胞系和小鼠胚胎的海马切片证实 PLA<sub>2</sub> 途径独立于 PLC 信号转导途径<sup>[21-22]</sup>。进一步研究发现 PLA<sub>2</sub> 信号转导途径比 PI 转换级联更为复杂,在 NIH3T3 细胞中涉及多个 G 蛋白,Kurrasch-Orbaugh 等对 PLA<sub>2</sub>-AA 信号通路进行了详细的探究,他们发现 G $\alpha_{i/o}$  信号通路和 G $\alpha_{12/13}$  信号通路一起共同介导了 AA 释放。G $\alpha_{i/o}$  信号通路激活后,G $\alpha_{i/o}$  和 G $\beta\gamma$  三聚体解离,G $\beta\gamma$  独自启动 Ras-Raf-MEK-ERK 信号级联,ERK1/2 磷酸化后激活 PLA<sub>2</sub>,生成游离 AA。G $\alpha_{12/13}$  信号通路激活后,主要通过 Rho 信号级联反应激活 p38 MAPK,p38 MAPK 进一步激活 PLA<sub>2</sub><sup>[23]</sup>。但是,G $\alpha_{12/13}$  信号通路与致幻相关研究较少。

尽管 PLA<sub>2</sub> 这一通路的意义尚未被详细研究,但 Qu 等人<sup>[24]</sup>通过定量放射自显影来测量静脉注射放射性标记的花生四烯酸酯([<sup>3</sup>H]AA)的脑掺入,对 PLA<sub>2</sub> 的激活进行成像观察。发现给大鼠 2.5 mg·kg<sup>-1</sup> DOI 可显著增加神经元 [<sup>3</sup>H]AA 的纳入,尤其是在新皮质 [<sup>3</sup>H]标记的 AA 掺入大量增加,并且 5-HT<sub>2A</sub>R 密度越高的区域增加越多。不同激动剂作用于 5-HT<sub>2A</sub>R 后,激活 PLC 和 PLA<sub>2</sub> 通路的程度有所不同。Berg 团队首次证明<sup>[21]</sup>,在 CHO 细胞表达 5-HT<sub>2A</sub>R 后,不同激动剂对具体信号转导途径激活的相对效率有所不同:与 5-HT 相比,激动剂 3-三氟甲基苯基哌嗪优先激活 PLC-IP 途径,而 LSD 则显示出对 PLA<sub>2</sub>-AA 途径的偏好。在 NIH3T3 细胞中表达大鼠 5-HT<sub>2A</sub>R 后,LSD、DOB、二甲-4-羟色胺和 5-MeO-DMT 激活 AA 和 PI 水解通路的 EC<sub>50</sub> 值不同<sup>[22]</sup>。在这项研究中,大部分致幻类化合物诱导 AA 释放的效价强度都比刺激 PI 水解的高。例如,在二甲-4-羟色胺激活 AA 释放的效价强度是刺激 PI 水解的近 30 倍。这些研究结果提示,花生四烯酸的产生与致幻作用可能有更明显的相关性。

**3.3  $\beta$ -arrestin 介导的信号通路**  $\beta$ -arrestins 是一种细胞内支架蛋白,可以抑制或促进 GPCR 信号的传递。 $\beta$ -arrestins 在 GPCR 被 G 蛋白偶联受体激酶磷酸化后募集至受体上,作为脚手架蛋白触发网格蛋白介导受体内化。 $\beta$ -arrestins 还可能通过阻止受体与 G 蛋白偶联从而抑制信号转导,成为 GPCR 的负调控因子。对于某些 GPCR, $\beta$ -arrestin 还以 G 蛋白非依赖的方式激活 MAPK、Src 蛋白酪氨酸激酶、磷脂酰肌醇 3 激酶(phosphoinositide 3-kinase,PI3-K)和蛋白激酶 B(Akt)等多种信号转导途径。

在体外, $\beta$ -arrestin1 和  $\beta$ -arrestin2 都能与编码大鼠 5-HT<sub>2A</sub>R 第三胞内环的融合蛋白相互作用。在 HEK293 细胞,共转染小鼠 5-HT<sub>2A</sub>R(HA-5-HT<sub>2A</sub>R)和  $\beta$ -arrestin2( $\beta$ arr2-GFP)后,5-HT 能够诱导  $\beta$ -arrestin2 向质膜易位。同样在 HEK293 细胞,给予 5-HT 后,发现二者存在相互作用。在体内, $\beta$ -arrestin1 和  $\beta$ -arrestin2 与 5-HT<sub>2A</sub>R 共定位于大鼠前额叶皮质锥体神经元,在一些细胞内囊泡中  $\beta$ -arrestin1 和 5-HT<sub>2A</sub>R 也存在一些共定位。5-HT 的前体 5-羟色氨酸(5-hydroxytryptophan,5-HTP)作用于小鼠后,额叶皮质的 5-HT<sub>2A</sub>R 与  $\beta$ -arrestin2 也存在相互作用<sup>[25]</sup>。但是, $\beta$ -arrestins 与 5-HT<sub>2A</sub>R 的作用因激动剂而异,在小鼠胚胎成纤维细胞,5-HT 诱导 5-HT<sub>2A</sub>R 的内化是  $\beta$ -arrestin 依赖性的,而 DOI 诱导的

5-HT<sub>2A</sub>R 内化是非  $\beta$ -arrestin 依赖性的<sup>[26]</sup>。

在评估激动剂导向的信号通路时,不同的激动剂  $\beta$ -arrestins 的作用也不同。在小鼠胚胎成纤维细胞,5-HT 可以通过  $\beta$ -arrestin 和 G $\alpha_q$ -PLC 两条途径促进 ERK1/2 磷酸化,而 DOI 只通过 G $\alpha_q$ -PLC 途径促进 ERK1/2 磷酸化<sup>[26]</sup>。这种差异在体内也进行了评估,5-HTP 和 DOI 作用于 WT 小鼠后,都可诱导额叶皮质 ERK1/2 磷酸化;在  $\beta$ -arrestin2 敲除后,5-HTP 诱导的 ERK1/2 磷酸化程度大大降低,DOI 诱导的磷酸化不受影响,这与体外的研究结果一致。表明内源性配体 5-HT 激活 5-HT<sub>2A</sub>R 引起 ERK1/2 磷酸化是  $\beta$ -arrestin2 依赖性的,而 DOI 是非依赖性的<sup>[26]</sup>。这些差异也反映在动物行为上,给予 5-HT 的前体 5-HTP,可诱导 WT 小鼠产生 HTR,在  $\beta$ -arrestin2 敲除小鼠上则不引起 HTR,DOI 无论在 WT 还是  $\beta$ -arrestin2 敲除小鼠都引起 HTR。表明 5-HT 引起的 HTR 是  $\beta$ -arrestin2 信号通路依赖性的,而 DOI 诱导的 HTR 是  $\beta$ -arrestin2 非依赖性的。进一步研究发现,5-HT 可能通过激活  $\beta$ -arrestin2-PI3-K-Src-Akt 信号通路产生 HTR<sup>[25]</sup>,DOI 则不激活此通路。此外,同一实验室的研究者们还发现,非典型抗精神病药物氯氮平作用于小鼠后,通过激活 5-HT<sub>2A</sub>R 下游  $\beta$ -arrestin2 非依赖的 Akt 途径而诱导抗精神病样的行为反应<sup>[27]</sup>。

以上结果提示 5-HT<sub>2A</sub>R 与  $\beta$ -arrestin2 的相互作用对响应内源性 5-HT 功能起重要作用,下游的 Akt 在 5-HT、DOI 和氯氮平三类化合物中所起的作用各异,对致幻机制的探究具有重要的指导意义,需要进一步阐明其具体作用。

**3.4 PLD 信号通路** N<sub>pxxY</sub> 是一种特殊的保守序列,存在于包括 5-HT<sub>2A</sub>R 在内的许多视紫红质样 GPCRs 的 TM7 和羧基端结构域之间,被认为是 ADP-核糖基化因子(ADP-ribosylation factor,ARF)介导的信号决定簇。5-HT<sub>2A</sub>R 可以通过独立于 G $\alpha_{q/11}$  信号通路、ARF 依赖的方式激活磷脂酶 D(Phospholipase D,PLD)。免疫共沉淀试验和 ARF 阴性突变都表明,ARF1 在 PLD 通路中发挥关键作用。进一步研究表明,TM7 中的 N376P<sub>xxY</sub> 结构域对 ARF 依赖的 PLD 信号转导和与 ARF1 的相互作用是必需的。此外,ARF1 通过 GTP 依赖性与 5-HT<sub>2A</sub>R 的羧基端相互作用,参与了这一机制<sup>[11,28]</sup>。

#### 4 结语与展望

尽管致幻剂激活的受体众多,现在越来越多的数据支持致幻剂的致幻作用是由 5-HT<sub>2A</sub>R 介导的,可能有其他受体也参与其中,从而形成了复杂的调控网络。据目前的研究结果来看,5-HT<sub>2A</sub>R 后信号通路的复杂程度一点也不亚于致幻剂激活的受体。除了较为经典的 G $\alpha_{q/11}$ 、G $\alpha_{i/o}$  和 G $\alpha_{12/13}$ 、 $\beta$ -arrestin2 通路,还有众多蛋白及蛋白激酶参与调控<sup>[11]</sup>。目前评价幻觉的动物模型有限,大量的研究仅依靠分子水平的差异去寻找致幻信号通路,是远远不够的。再加上检测指标的缺乏更加大了致幻剂研究的难度。

为了更好的确定 5-HT<sub>2A</sub>R 激活后的致幻信号通路,在其他致幻模型上还需要进一步的验证。体内和体外实验相结合,致幻剂与非致幻剂相对照,对 5-HT<sub>2A</sub>R 下游信号通路的认识会越来越明朗,尤其是动物行为学的支持。目前的研究

进展也提供了重要的数据基础和理论依据。对致幻机制的阐明、药物靶标的发现和生物标志物的确立具有重要的指导意义。

#### 参考文献:

- [1] Nichols DE. Psychedelics [J]. *Pharmacol Rev* 2016 **68**(2): 264 – 355.
- [2] Halberstadt A L. Recent advances in the neuropsychopharmacology of serotonergic hallucinogens [J]. *Behav Brain Res* 2015 **277**: 99 – 120.
- [3] Kraehenmann R ,Pokorny D ,Vollenweider L ,et al. Dreamlike effects of LSD on waking imagery in humans depend on serotonin 2A receptor activation [J]. *Psychopharmacology ( Berl)* ,2017 , **234**( 13) : 2031 – 46.
- [4] González-Maeso J ,Weisstaub N V ,Zhou M ,et al. Hallucinogens recruit specific cortical 5-HT( 2A) receptor-mediated signaling pathways to affect behavior [J]. *Neuron* ,2007 ,**53**( 3) : 439 – 52.
- [5] Cameron L P ,Tombari R J ,Lu J ,et al. A non-hallucinogenic psychedelic analogue with therapeutic potential [J]. *Nature* ,2021 , **589**( 7842) : 474 – 9.
- [6] Inserra A ,De Gregorio D ,Gobbi G. Psychedelics in psychiatry: Neuroplastic ,immunomodulatory ,and neurotransmitter mechanisms [J]. *Pharmacol Rev* 2021 **73**( 1) : 202 – 77.
- [7] 王惠芹 ,王真真 ,林美婷 等. 抑郁症发病与神经营养因子异常研究进展 [J]. *中国药理学通报* 2020 **36**( 10) : 1333 – 7.
- [7] Wang H Q ,Wang Z Z ,Lin M Y ,et al. Advance in neurotrophin abnormality on pathogenesis of depression [J]. *ChinPharmacol Bull* 2020 **36**( 10) : 1333 – 7.
- [8] Shao L X ,Liao C ,Gregg I ,et al. Psilocybin induces rapid and persistent growth of dendritic spines in frontal cortex *in vivo* [J]. *Neuron* 2021 **109**( 16) : 2535 – 44. e4.
- [9] 成 娟. 新型毒品犯罪防控对策研究 [D]. 成都: 西南民族大学 2020.
- [9] Cheng J. Research on the countermeasures of new drug crimes [D]. Chengdu: Southwest Minzu Univ 2020.
- [10] 孙毅 ,苏瑞斌. 致幻剂的药理作用及其机制研究进展 [J]. *中国药理学与毒理学杂志* 2021 **35**( 4) : 241 – 50.
- [10] Sun Y ,Su R B. Research progress in function and mechanism of psychedelics [J]. *Chin J Pharmacol Toxicol* 2021 **35**( 4) : 241 – 50.
- [11] Barnes N M ,Ahern G P ,Becamel C ,et al. International union of basic and clinical pharmacology. CX. Classification of receptors for 5-hydroxytryptamine; pharmacology and function [J]. *Pharmacol Rev* ,2021 **73**( 1) : 310 – 520.
- [12] Dong C ,Ly C ,Dunlap L E ,et al. Psychedelic-inspired drug discovery using an engineered biosensor [J]. *Cell* 2021 **184**( 10) : 2779 – 92. e18.
- [13] Banerjee A A ,Vaidya V A. Differential signaling signatures evoked by DOI versus lisuride stimulation of the 5-HT<sub>2A</sub> receptor [J]. *Biochem Biophys Res Commun* 2020 **531**( 4) : 609 – 14.
- [14] Garcia E E ,Smith R L ,Sanders-Bush E. Role of G( q) protein in behavioral effects of the hallucinogenic drug 1-( 2 ,5-dimethoxy-4-iodophenyl) -2-aminopropane [J]. *Neuropharmacology* ,2007 ,**52**( 8) : 1671 – 77.
- [15] Roth B L ,Choudhary M S ,Khan N ,et al. High-affinity agonist binding is not sufficient for agonist efficacy at 5-hydroxytryptamine 2A receptors: Evidence in favor of a modified ternary complex model [J]. *Pharmacol Exp Ther* ,1997 **280**( 2) : 576 – 83.
- [16] Rabin R A ,Regina M ,Doat M ,et al. 5-HT<sub>2A</sub> receptor-stimulated phosphoinositide hydrolysis in the stimulus effects of hallucinogens [J]. *Pharmacol Biochem Behav* 2002 **72**( 1 – 2) : 29 – 37.
- [17] Hagberg G B ,Blomstrand F ,Nilsson M ,et al. Stimulation of 5-HT<sub>2A</sub> receptors on astrocytes in primary culture opens voltage-independent Ca<sup>2+</sup> channels [J]. *Neurochem Int* ,1998 **32**( 2) : 153 – 62.
- [18] Jalonen T O ,Margraf R R ,Wielt D B ,et al. Serotonin induces inward potassium and calcium currents in rat cortical astrocytes [J]. *Brain Res* ,1997 **758**( 1 – 2) : 69 – 82.
- [19] Cussac D ,Boutet-Robinet E ,Ailhaud M C ,et al. Agonist-directed trafficking of signalling at serotonin 5-HT<sub>2A</sub> ,5-HT<sub>2B</sub> and 5-HT<sub>2C</sub>-VSV receptors mediated G<sub>q/11</sub> activation and calcium mobilisation in CHO cells [J]. *Eur J Pharmacol* 2008 **594**( 1 – 3) : 32 – 8.
- [20] Karaki S ,Becamel C ,Murat S ,et al. Quantitative phosphoproteomics unravels biased phosphorylation of serotonin 2A receptor at Ser280 by hallucinogenic versus nonhallucinogenic agonists [J]. *Mol Cell Proteomics* 2014 **13**( 5) : 1273 – 85.
- [21] Berg K A ,Maayani S ,Goldfarb J ,et al. Effector pathway-dependent relative efficacy at serotonin type 2A and 2C receptors: Evidence for agonist-directed trafficking of receptor stimulus [J]. *Mol Pharmacol* ,1998 **54**( 1) : 94 – 104.
- [22] Kurrasch-Orbaugh D M ,Watts V J ,Barker E L ,et al. Serotonin 5-hydroxytryptamine 2A receptor-coupled phospholipase C and phospholipase A2 signaling pathways have different receptor reserves [J]. *Pharmacol Exp Ther* 2003 **304**( 1) : 229 – 37.
- [23] Kurrasch-Orbaugh D M ,Parrish J C ,Watts V J ,et al. A complex signaling cascade links the serotonin 2A receptor to phospholipase A2 activation: The involvement of MAP kinases [J]. *Neurochem* , 2003 **86**( 4) : 980 – 91.
- [24] Qu Y ,Chang L ,Klaff J ,et al. Imaging brain phospholipase A2 activation in awake rats in response to the 5-HT<sub>2A/2C</sub> agonist ( + / -) 2 ,5-dimethoxy-4-iodophenyl-2-aminopropane ( DOI) [J]. *Neuropsychopharmacology* 2003 **28**( 2) : 244 – 52.
- [25] Schmid C L ,Bohn L M. Serotonin ,but not N-methyltryptamines , activates the serotonin 2A receptor via a β-arrestin2/Src/Akt signaling complex *in vivo* [J]. *Neurosci* 2010 **30**( 40) : 13513 – 24.
- [26] Schmid C L ,Raehal K M ,Bohn L M. Agonist-directed signaling of the serotonin 2A receptor depends on beta-arrestin-2 interactions *in vivo* [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008 **105**( 3) : 1079 – 84.
- [27] Schmid C L ,Streicher J M ,Meltzer H Y ,et al. Clozapine acts as an agonist at serotonin 2A receptors to counter MK-801-induced behaviors through a βarrestin2-independent activation of Akt [J]. *Neuropsychopharmacology* 2014 **39**( 8) : 1902 – 13.
- [28] López-Giménez J F ,González-Maeso J. Hallucinogens and serotonin 5-HT<sub>2A</sub> receptor-mediated signaling pathways [J]. *Curr Top Behav Neurosci* 2018 **36**: 45 – 73.

## 改善肺动脉高压中肺血管重构治疗策略的研究进展

盖祥云<sup>1,2</sup>, 赵恩麒<sup>1,2</sup>, 何彦峰<sup>1,2</sup>, 李占强<sup>3</sup>, 赵悦孚<sup>1,2</sup>, 王金宇<sup>1,2</sup>, 李丰润<sup>1,2</sup>

(1. 青海民族大学药学院, 2. 青海省青藏高原植物化学重点实验室, 青海 西宁 810007;

3. 青海大学高原医学研究中心, 青海 西宁 810001)

doi: 10.12360/CPB202111026

文献标志码: A 文章编号: 1001 - 1978(2022) 11 - 1612 - 05

中国图书分类号: R322.121; R322.74; R544.05; R543.205

**摘要:** 肺动脉高压(pulmonary hypertension, PH)是一种慢性、进行性、高死亡率的疾病。各类PH具有相同特征:肺动脉内皮细胞和平滑肌细胞的过度增殖、抗凋亡和炎症导致的肺小血管的渐进性增厚,引发肺血管的重构和肺血管阻力增加,最终导致右心室肥厚、心衰、死亡。目前治疗PH的药物(L型钙通道阻滞剂、磷酸二酯酶5抑制剂、鸟苷酸环化酶激活剂、内皮素受体拮抗剂、合成前列腺素及其类似物)主要通过松弛肺血管降低肺动脉压,不能根本治愈患者。因此,研发有效改善甚至逆转肺血管重构的药物,是治疗PH的关键。近年来,围绕肺血管重构开展的研究主要有:新的小分子化合物的合成;成熟药物的改造;联合用药及剂型改造等;基于中医“肺胀”等理论,对中药制剂以及中药复方的药效评价;中药单体的研究;新靶点的研究。

**关键词:** 肺动脉高压; 肺血管重构; 肺动脉平滑肌细胞增殖; 化学药物; 中药制剂及复方; 中药单体; 靶点

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



肺动脉高压(pulmonary hypertension, PH)是一种以不可逆的肺血管重构(pulmonary vascular remodeling, PVR)和肺动脉平滑肌细胞(pulmonary artery smooth muscle cells, PAMCs)功能障碍为特征的肺血管疾病,以肺血管阻力进行性升高为主要特征,最终导致右心衰竭和过早死亡<sup>[1]</sup>。现有的治疗药物主要是通过影响一氧化氮、内皮素和前列腺素通路调节血管张力的介质失衡,改善肺血管收缩,提高患者生活质量、延缓疾病进展<sup>[2]</sup>,但是除了肺移植外,对PH仍无根本治愈方法<sup>[3]</sup>。除了肺血管收缩,血管细胞异常增殖和凋亡抵抗导致的PVR,也是肺血管阻力升高及右心衰竭的重要原因<sup>[2]</sup>。因此,目前的研究重点是阐明PVR的分子机制,找到新的药物作用靶点,研发能够有效逆转PVR的药物。

本文着眼于PH发生发展过程中关键的病理机制,肺血管重构,就近年来药物改善PVR的相关研究做一综述。全文共分为4个主要部分:PH与PVR;化学药物改善PVR研究进展;中药改善PVR研究进展;新靶点发现。

### 1 肺动脉高压与肺血管重构

PH可能源于特发性或遗传性病因,但也可能由某些药

收稿日期: 2022 - 06 - 03 修回日期: 2022 - 09 - 09

基金项目: 青海省应用基础研究项目(No 2020-ZJ-703); 2019年中国科学院西部之光项目; 青海省“昆仑英才·高端创新创业人才”专项; 国家自然科学基金资助项目(No 81860768)

作者简介: 盖祥云(1984 -), 女, 博士, 副教授, 硕士生导师, 研究方向: 高原病防治药物, 通信作者, E-mail: gaixiangyun1011@163.com

## Advances in signaling pathway of 5-HT<sub>2A</sub> receptor activation induced by psychedelics

ZHU Hui-hi<sup>1,2</sup>, ZHOU Pei-lan<sup>2</sup>, FU Feng-hua<sup>1</sup>, SU Rui-bin<sup>2</sup>

(1. School of Pharmacy, Yantai University, Yantai Shandong 264005, China; 2. State Key Laboratory of Toxicology and Medical Countermeasures, Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China)

**Abstract:** Classic serotonergic hallucinogens (also known as psychedelics) are powerful psychoactive substances that can induce profound alterations of human consciousness, emotion, and cognition. It is generally believed that the main target of psychedelics for their hallucinogenic effect is 5-hydroxytryptamine 2A receptor (5-HT<sub>2A</sub>R). As the G protein-coupled receptor 5-HT<sub>2A</sub>R can couple G<sub>α<sub>i/o</sub></sub>, G<sub>α<sub>12/13</sub></sub> and β-arrestin2 signaling pathways in addition to the classical G<sub>α<sub>q/11</sub></sub>-PLC<sub>β</sub> signaling pathway. How-

ever, the post-receptor signaling pathways involved in hallucinogenic effects have not been demonstrated. This paper summarizes the recent research progress on the signaling pathway of hallucinogenic effects after 5-HT<sub>2A</sub>R activation, and also demonstrates the molecular mechanism of hallucinations for discovering new drug targets.

**Key words:** psychedelics; G protein-coupled receptor; 5-HT<sub>2A</sub> receptor; signal transduction; signal bias; G protein; β-arrestin 2