

内源性神经保护因子花生四烯酰多巴胺的研究进展

张丽 张振涛

【中图分类号】 R741.05 【文献标识码】 A

【文章编号】 1007-0478(2020)04-0549-03

【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2020.04.034

哺乳动物体内存在内源性大麻素系统,该系统包括内源性大麻素、大麻素受体以及合成、运输和降解它们的酶。花生四烯酰多巴胺(N-arachidonoyldopamine, NADA)是一种重要的内源性大麻素,在抗氧化、抗炎、免疫调节、抗兴奋毒性和调节突触可塑性等方面发挥着重要的神经保护作用,可作为神经退行性疾病治疗的新靶点。本研究就目前有关 NADA、NADA 受体及其病理生理功能进行综述,以期为中心神经系统疾病的治疗提供新的思路。

1 花生四烯酰多巴胺(N-arachidonoyldopamine, NADA)概述

内源性大麻素作为内源性脂质介质,能结合和激活大麻素受体,在多种生理和病理过程中具有重要作用^[1],如伤害感受、食欲调节、脂质代谢、胃肠运动、心血管功能、运动调节、情绪和记忆等。目前发现的内源性大麻素主要有 N-花生四烯乙醇胺(Anandamide, AEA)、2-花生四烯酰甘油(2-arachidonoylglycerol, 2-AG)、N-花生四烯酰多巴胺(N-arachidonoyldopamine, NADA)、2-花生四烯酰甘油醚(2-arachidonoylglycerylether, 2-AGE)和 O-花生四烯乙醇胺(O-arachidonylethanolamine, OAE)。AEA 和 2-AG 是研究最多的两种内源性大麻素,而 NADA 是一种新型的内源性大麻素,关于它的研究受到了越来越多的关注。

1.1 NADA 的分布与代谢

NADA 是花生四烯酸和多巴胺的衍生物,是哺乳动物神经组织中重要的内源性大麻类物质,主要分布在纹状体、海马、小脑、丘脑、中脑和背根神经节等部位^[2]。有研究发现小鼠纹状体中 NADA 的水平为 0.54~0.94 pg/mg,而在大鼠黑质致密部中的水平为 1.4~3.8 pmol/g^[3]。色谱分析发现人的血浆及大脑剖检标本中 NADA 水平极低^[4-5]。

现有研究表明,NADA 的合成途径主要有 2 条:(1)N-花生四烯酰酪氨酸在酪氨酸羟化酶和 L-氨基酸脱羧酶的作用下生成^[6];(2)由花生四烯酸与多巴胺在脂肪酸酰胺水解酶的介导下脱水缩合形成,其中多巴胺水平和脂肪酸酰胺水解酶是该反应的限速条件和限速酶^[7]。NADA 的分解途径主要有 3 条:(1)经儿茶酚-O-甲基转移酶介导其转化为 O-甲基衍生物;(2)经脂肪酸酰胺水解酶分解成多巴胺和花生四烯酸;(3)经细胞色素 P450 途径将 NADA 代谢为 ω 羟基化代谢物^[8]。

1.2 NADA 的受体和信号通路

1.2.1 大麻素 1 型受体(Cannabinoid receptor type 1, CB1)

作者单位:430060 武汉大学人民医院神经内科[张丽 张振涛(通信作者)]

大麻素受体被激活后引起细胞内信号转导,进而调控细胞的基本功能。NADA 是 CB1 受体的内源性激动剂,有研究发现 CB1 与 NADA 的亲和力($K_i = 800$ nM)强于其和 AEA 的亲和力($K_i = 250$ nM)^[2]。CB1 受体主要在中枢神经系统表达,分布于杏仁核、嗅球、下丘脑核群、基底核、海马和小脑。从细胞水平来看主要表达于神经元的突触前膜,且在 γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)能神经元上的表达高于谷氨酸能神经元^[9]。内源性大麻素在机体需要时从突触后释放,以逆行信使的方式作用于突触前膜的 CB1 受体,抑制钙离子内流到突触前膜,阻断囊泡的融合,从而影响神经递质如 GABA、谷氨酸、去甲肾上腺素、多巴胺和 5-羟色胺的释放^[10]。NADA 作为内源性大麻素的一员,可能具有相同的作用机制,NADA 与中脑腹侧被盖区、纹状体、梨状皮层的多巴胺能神经元上的 CB1 受体结合,通过谷氨酸和 GABA 能神经元来调控多巴胺能神经元的兴奋和抑制^[11]。

1.2.2 瞬时受体电位香草酸亚型 1 受体(TRPV1 受体)

瞬时受体电位香草酸亚型 1(Transient receptor potential vanilloid 1, TRPV1)是 1 个配体门控非选择性阳离子通道,可以被各种外源性及内源性的物理及化学刺激所激活,在已知的内源性大麻素中 NADA 是 TRPV1 最强的活化剂,因此 NADA 可能是 TRPV1 主要的内源性配体^[6,12-13]。此外,多种有害的损伤刺激都可激活 TRPV1,包括过热、低 pH 值和辣椒素等^[12]。TRPV1 在周围神经系统中高表达,特别是三叉神经、背根神经节以及迷走神经的结状神经节等表达水平较高^[14]。TRPV1 在周围神经系统的功能是感知有害刺激,最终导致神经肽如降钙素基因相关肽(CGRP)和 P 物质的释放,引起疼痛和神经炎症反应^[15]。TRPV1 在中枢神经系统中也有表达,包括脊髓、纹状体、海马、小脑和杏仁核,其分布与 NADA 的表达部位有重叠。NADA 激活 TRPV1 后可诱导非选择性阳离子通道的开放、诱导钙内流、细胞膜去极化、谷氨酸释放和细胞死亡等生理及病理过程^[16]。此外,NADA 还通过结合大麻素受体和 TRPV1 受体来调节神经元稳态^[7]。

2 NADA 的功能

2.1 NADA 的抗氧化作用

在急性脑损伤和神经退行性疾病中神经系统存在毒性代谢产物如活性氧、活性氮的聚集。如果未及时清除,则会导致蛋白质、核酸及细胞膜脂质的损伤,继而诱导细胞死亡。近年来在神经退行性疾病如阿尔茨海默病、帕金森病和肌萎缩侧索硬化中均发现有神经组织的氧化损伤^[17]。在过氧化

氢诱导的氧化应激模型中 NADA 剂量依赖性 (0.1~10 μM) 地保护小脑颗粒神经元,降低了小脑颗粒神经元中的过氧化物水平,其神经保护作用不依赖于 CB1 与 TRPV1 受体^[18]。另外,有研究发现 NADA 在神经前体细胞中也表现出剂量依赖性神经保护特性,该作用也不依赖于 CB1 与 TRPV1 受体^[19]。这些研究表明 NADA 的抗氧化作用不依赖于受体信号通路,可能仅与它自身的化学结构有关。NADA 的化学结构中含有儿茶酚基团,具有显著的抗氧化性质。最新一项研究表明,NADA 可通过其抗氧化的性质来改善缺氧导致的神经行为缺陷^[20]。

2.2 NADA 的抗炎作用

神经炎症在神经损伤中发挥重要作用,特别是胶质细胞活化并释放促炎因子、活性氧和前列腺素,参与脑损伤过程。内源性大麻素可能通过调节神经炎症和神经元损伤过程中神经和免疫系统之间通讯的细胞网络,在中枢神经系统、免疫控制和神经保护中发挥重要作用。有研究表明 NADA 具有抗炎作用,其主要作用机制是减少小胶质细胞中前列腺素 E 合成酶的合成和 PGE 2 的释放^[21]。NADA 通过激活 p38 MAPK 通路来稳定 COX-2 mRNA 水平,该作用主要取决于其结构中的多巴胺部分而非 CB1 和 TRPV1 激活^[22],但也有研究表明 NADA 可减少中性粒细胞与活化内皮细胞的结合,其抗炎作用依赖于 CB1 受体的激活,而 TRPV1 受体的激活则抵消了 NADA 的抗炎作用^[23]。

2.3 NADA 的免疫调节作用

内源性大麻素具有免疫调节活性,而 T 细胞的活化在中枢神经系统疾病发病中起重要作用。有研究表明 NADA 是 T 细胞活化的有效抑制剂,可特异性地抑制 T 细胞中的 IL-2 和 TNF- α 基因转录水平,并通过抑制 p65/RelA 的磷酸化使核因子- κB (NF- κB)信号传导途径受阻^[24-25]。NF- κB 是细胞内重要的核转录因子,它参与机体的炎症反应、免疫应答,具有调节细胞凋亡、应激反应等功能。同时,NADA 也抑制活化 T 细胞核因子的磷酸化及转录活性,T 细胞核因子具有调节小胶质细胞表型的功能,在小胶质细胞的促炎反应中起重要作用^[25]。此外,NADA 还可以通过抑制肥大细胞的脱颗粒和 TNF- α 的释放来调节免疫^[26]。

2.4 NADA 的抗兴奋毒性作用

在急性或慢性神经损伤中兴奋性毒性是主要的细胞毒性事件之一,其原因主要是谷氨酸稳态受到破坏,谷氨酸等兴奋性神经递质在细胞外水平过高会过度激活谷氨酸受体,主要是 NMDA 受体,导致钙离子内流而引起细胞死亡。此外,胶质细胞过度激活也会引起相应的损害作用。大麻素激动剂能够恢复谷氨酸稳态平衡,在 NMDA 诱导的兴奋性神经元损伤后外源性应用 NADA 可保护齿状回颗粒细胞并抑制小胶质细胞激活。其中 NADA 介导的神经保护作用是由 CB1 受体介导的^[27]。CB1 受体拮抗剂 AM251 能够阻断低水平 NADA 的神经保护作用,而不能阻断高水平 NADA 介导的神经保护作用,其原因可能是高水平的 NADA 抑制了 AEA 和 2-AG 分解代谢酶^[2,28],导致 AEA 或 2-AG 水平升高,这两者可能间接地调节 NADA 介导的神经保护作用。此外,有研究发现 NADA 的神经保护作用随着水平的增高

反而逐渐减弱,可能是因为低 NADA 水平仅激活保护作用的 CB1 受体,而较高的 NADA 水平则同时激活 CB1 受体和 TRPV1 受体^[28]。

2.5 NADA 调节突触可塑性

有研究表明 NADA 可以通过激活 TRPV1 或 CB1 受体来对多巴胺神经元发挥相反的作用,主要表现为 TRPV1 受体被激活后可增加谷氨酸能神经元向多巴胺能神经元的传递,而 CB1 受体激活后可减少谷氨酸能神经元向多巴胺能神经元的传递,同时也减少 GABA 能传递^[11]。CB1 受体位于膜表面,NADA 可与之直接结合调节递质释放,而 TRPV1 受体是细胞内受体,NADA 需在大麻素膜转运蛋白的作用下转入细胞内,再与其相互作用后调节递质的释放。当 NADA 转运障碍时会选择性地作用于 CB1 受体,因此大麻素膜转运体调节 NADA 对 TRPV1 或 CB1 激活的选择性^[11]。

2.6 NADA 在缺氧下的保护作用

缺氧诱导因子-1 α (Hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α) 是一种转录因子,在细胞适应缺氧和缺血中发挥关键作用,缺氧预处理可通过激活 HIF-1 α 在缺血模型中起到神经保护作用^[29]。正常情况下 HIF-1 α 上的脯氨酸残基被脯氨酰羟化酶羟基化,使其能被泛素连接酶识别并被泛素化,之后再被蛋白酶体降解;但在缺氧条件下 NADA 可通过调节 SI-AH2 的活性来抑制脯氨酰羟化酶,从而稳定 HIF-1 α 水平。NADA 结构中多巴胺部分在诱导的 HIF-1 α 稳定作用中起重要作用,而非依赖于 CB1 和 TRPV1 激活^[30]。此外,NADA 还可增强血管内皮细胞的血管生成,促进促红细胞生成素、血管内皮生长因子 A 和血红素加氧酶 1 等神经保护基因的表达^[30]。

3 结束语与展望

本研究总结了 NADA 的分布代谢、信号通路及其功能,重点描述了 NADA 在神经系统中发挥抗氧化、抗炎、调节免疫、抗兴奋毒性、调节突触可塑性及耐缺氧等神经保护作用,给中枢神经系统的相关病例如阿尔茨海默、帕金森病等提供了治疗的新思路。然而 NADA 的生理作用及作用机制上仍有许多未明之处,对其进行更深入的研究将为神经系统疾病的治疗提供更多的理论依据和临床指导。

参 考 文 献

- [1] Lu HC, Mackie K. An introduction to the endogenous cannabinoid system[J]. Biol Psychiatry, 2016, 79(7): 516-525.
- [2] Bisogno T, Melck D, Bobrov MYu, et al. N-acyl-dopamines: novel synthetic CB(1) cannabinoid-receptor ligands and inhibitors of anandamide inactivation with cannabimimetic activity in vitro and in vivo[J]. Biochem J, 2000, 5(Pt): 3817-3824.
- [3] Ji D, Jang CG, Lee S. A sensitive and accurate quantitative method to determine N-arachidonoyldopamine and N-oleoyldopamine in the mouse striatum using column-switching LC-MS-MS; use of a surrogate matrix to quantify endogenous compounds[J]. Anal Bioanal Chem, 2014, 406(18): 4491-4499.
- [4] Balvers MG, Verhoeckx KC, Witkamp RF. Development and

- validation of a quantitative method for the determination of 12 endocannabinoids and related compounds in human plasma using liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2009, 877(14/15): 1583-1590.
- [5] Thomas A, Hopfgartner G, Giroud C, et al. Quantitative and qualitative profiling of endocannabinoids in human plasma using a triple quadrupole linear ion trap mass spectrometer with liquid chromatography[J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2009, 23(5): 629-638.
 - [6] Huang SM, Bisogno T, Trevisani M, et al. An endogenous capsaicin-like substance with high potency at recombinant and native vanilloid VR1 receptors[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(12): 8400-8405.
 - [7] Hu SS, Bradshaw HB, Benton VM, et al. The biosynthesis of N-arachidonoyl dopamine(NADA), a putative endocannabinoid and endovanilloid, via conjugation of arachidonic acid with dopamine[J]. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 2009, 81(4): 291-301.
 - [8] Rimmerman N, Bradshaw HB, Basnet A, et al. Microsomal omega-hydroxylated metabolites of N-arachidonoyl dopamine are active at recombinant human TRPV1 receptors[J]. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, 2009, 88(1/2): 10-17.
 - [9] Puighermanal E, Marsicano G, Busquets-Garcia A, et al. Cannabinoid modulation of hippocampal long-term memory is mediated by mTOR signaling[J]. *Nat Neurosci*, 2009, 12(9): 1152-1158.
 - [10] Fernandez-Ruiz J, Garcia C, Sagredo O, et al. The endocannabinoid system as a target for the treatment of neuronal damage[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2010, 14(4): 387-404.
 - [11] Marinelli S, Di Marzo V, Florenzano F, et al. N-arachidonoyl-dopamine tunes synaptic transmission onto dopaminergic neurons by activating both cannabinoid and vanilloid receptors[J]. *Neuropsychopharmacology*, 2007, 32(2): 298-308.
 - [12] Stelt MD, Di marzo V. endovanilloids, putative endogenous ligands of transient receptor potential vanilloid 1 channels[J]. *Eur J Biochem*, 2004, 271(10): 1827-1834.
 - [13] Mogg AJ, Mill CE, Folly EA, et al. Altered pharmacology of native rodent spinal cord TRPV1 after phosphorylation[J]. *Br J Pharmacol*, 2013, 168(4): 1015-1029.
 - [14] Cavanaugh DJ, Chesler AT, Braz JM, et al. Restriction of transient receptor potential vanilloid-1 to the peptidergic subset of primary afferent neurons follows its developmental downregulation in nonpeptidergic neurons[J]. *J Neurosci*, 2011, 31(28): 10119-10127.
 - [15] Schumacher MA. Transient receptor potential channels in pain and inflammation: therapeutic opportunities[J]. *Pain Pract*, 2010, 10(3): 185-200.
 - [16] Szallasi A, Cortright DN, Blum CA, et al. The vanilloid receptor TRPV1: 10 years from Channel cloning to antagonist proof-of-concept[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2007, 6(5): 357-372.
 - [17] Islam MT. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction-linked neurodegenerative disorders[J]. *Neurol Res*, 2017, 39(1): 73-82.
 - [18] Bobrov MY, Lizhin AA, Andrianova EL, et al. Antioxidant and neuroprotective properties of N-arachidonoyldopamine[J]. *Neurosci Lett*, 2008, 431(1): 6-11.
 - [19] Novosadova EV, Arsenyeva EL, Manuilova ES, et al. Neuroprotective properties of endocannabinoids N-Arachidonoyl dopamine and N-Docosahexaenoyl dopamine examined in neuronal precursors derived from human pluripotent stem cells[J]. *Biochemistry (Mosc)*, 2017, 82(11): 1367-1372.
 - [20] Sukhanova IA, Sebestsova EA, Khukhareva DD, et al. Early-life N-arachidonoyl-dopamine exposure increases antioxidant capacity of the brain tissues and reduces functional deficits after neonatal hypoxia in rats[J]. *Int J Dev Neurosci*, 2019, 18: 787-818.
 - [21] Navarrete CM, Fiebich BL, De Vinuesa A, et al. Opposite effects of anandamide and N-arachidonoyl dopamine in the regulation of prostaglandin E and 8-iso-PGF formation in primary glial cells[J]. *J Neurochem*, 2009, 109(2): 452-464.
 - [22] Carmen-M N, Pérez M, De Vinuesa A, et al. Endogenous N-acyl-dopamines induce COX-2 expression in brain endothelial cells by stabilizing mRNA through a p38 dependent pathway[J]. *Biochem Pharmacol*, 2010, 79(12): 1805-1814.
 - [23] Wilhelmsen K, Khakpour S, Tran A, et al. The endocannabinoid/endovanilloid N-arachidonoyl dopamine(NADA) and synthetic cannabinoid WIN55,212-2 abate the inflammatory activation of human endothelial cells[J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(19): 13079-13100.
 - [24] Sancho R, Macho A, De La Vega L, et al. Immunosuppressive activity of endovanilloids; N-arachidonoyl-dopamine inhibits activation of the NF-kappa B, NFAT, and activator protein 1 signaling pathways[J]. *J Immunol*, 2004, 172(4): 2341-2351.
 - [25] Nagamoto-Combs K, Combs CK. Microglial phenotype is regulated by activity of the transcription factor, NFAT(nuclear factor of activated T cells)[J]. *J Neurosci*, 2010, 30(28): 9641-9646.
 - [26] Yoo JM, Park ES, Kim MR, et al. Inhibitory effect of N-Acyl dopamines on IgE-mediated allergic response in RBL-2H3 cells[J]. *Lipids*, 2013, 48(4): 383-393.
 - [27] Grabiec U, Koch M, Kallendrusch S, et al. The endocannabinoid N-arachidonoyldopamine (NADA) exerts neuroprotective effects after excitotoxic neuronal damage via cannabinoid receptor 1 (CB(1))[J]. *Neuropharmacology*, 2012, 62(4): 1797-1807.
 - [28] Bjorklund E, Noren E, Nilsson J, et al. Inhibition of monoacylglycerol lipase by troglitazone, N-arachidonoyl dopamine and the irreversible inhibitor JZL184: comparison of two different assays[J]. *Br J Pharmacol*, 2010, 161(7): 1512-1526.
 - [29] Speer RE, Karuppagounder SS, Basso M, et al. Hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylases as targets for neuroprotection by "antioxidant" metal chelators: From ferroptosis to stroke[J]. *Free Radic Biol Med*, 2013, 62: 6226-6236.
 - [30] Soler-Torronteras R, Lara-Chica M, Garcia V, et al. Hypoximimetic activity of N-acyl-dopamines. N-arachidonoyl-dopamine stabilizes HIF-1alpha protein through a SIAH2-dependent pathway[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1843(11): 2730-2743.