

# 花生四烯乙醇胺的研究进展\*

刘为敏 段恩奎\*\*

(中国科学院动物研究所生殖生物学国家重点实验室, 北京 100080)

**摘要** 花生四烯乙醇胺 (arachidonylethanolamide, anandamide, ANA) 是近年来确定的大麻素受体的内源性配基, 它主要分布在中枢神经系统、免疫系统及子宫等部位, 具有大麻的主要活性成分—— $\Delta^9$ -四氢大麻酚 ( $\Delta^9$ -THC) 的药理功能. ANA 有两种受体, 即脑型受体 (CB1) 和脾型受体 (CB2), 它们都是与 GTP 偶联的跨膜受体, 是 ANA 发挥作用的主要途径. 脂肪酸酰胺水解酶 (fatty acid amide hydrolase, FAAH) 是 ANA 特异性极高的水解酶, 它可以迅速调节 ANA 在体内的含量, 从而发挥特异的生理作用.

**关键词** 花生四烯乙醇胺, 大麻素受体, 信号转导

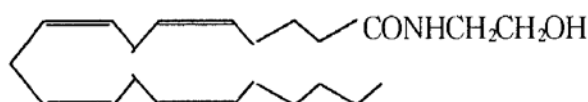
**学科分类号** Q492.1, Q516

在 19 世纪初期, 有几个西方国家的医生就已开始探索用印度大麻来治疗一些病症, 如: 痛性痉挛、偏头痛、抽搐、神经痛、恶心、腹泻、哮喘及厌食等. 由于当时对大麻难以提纯, 所以对大麻活性成分的研究进展缓慢. 直到 19 世纪 40 年代, 英国的 Todd 和美国的 Adams 分别分离出对神经具有非常弱作用的成分——大麻素酚 (cannabinol) 及无活性的大麻素二酚 (cannabidiol), 至此对大麻的研究才算真正开始. 1964 年由 Gaoni 分离出了大麻的活性成分—— $\Delta^9$ -四氢大麻酚 ( $\Delta^9$ -THC). 1992 年才发现体内存在一种与  $\Delta^9$ -THC 的作用类似的物质, 这就是花生四烯乙醇胺 (anandamide, ANA)<sup>[1]</sup>, ananda 来源于梵语, 即赐福 (bliss) 的意思. ANA 具有广泛的生理作用及潜在的临床应用价值, 它不仅可以调节中枢神经系统的传递速度、影响人的记忆功能, 而且在下丘脑、免疫系统及生殖系统中都发挥重要的生理功能.

本文主要从 ANA 的组织分布、作用机理、生理功能及其介导的信号转导等多方面的近期研究进展作一综述.

## 1 ANA 的组织分布与代谢途径

ANA 是花生四烯酸的衍生物, 其结构为



ANA 在组织中分布广泛, 目前主要用高压液相色谱 (high pressure liquid chromatography, HPLC)、气相色谱 (gas chromatography, GS) 及

与质谱 (mass spectrometry, MS) 相结合等方法来检测组织中 ANA 的含量. 至目前为止所检测的组织中, 大鼠、猪、牛脑组织中 ANA 的最高含量为 29 pmol/g 湿组织, 而人脑组织中最高含量为 148 pmol/g 湿组织, 小鼠子宫中 ANA 的最高含量为 20 nmol/g 湿组织. 另外在大鼠肾、皮肤、脾脏、血浆中及人心脏、乳房癌 PC-12 细胞中也分别检测到了 ANA 的存在<sup>[2]</sup>.

从结构上看, ANA 属于长链脂类物质, 在体内可以被脂肪酸酰胺水解酶 (fatty acid amide hydrolase, FAAH) 迅速水解成花生四烯酸和乙醇胺, 因此在神经系统中存在的时间极短, 目前 ANA 被认为是一种神经递质. 另外脂氧化酶和环氧化酶-2 也可以分解 ANA. 在人肥大细胞 (human mast cells, HMC-1) 中, 5-脂氧化酶氧化 ANA 所生成的产物可以抑制 FAAH 基因的表达, 而环氧化酶没有这种功能<sup>[3]</sup>. ANA 的生物合成有两种途径, 体内含有 ANA 的前体——花生四烯磷脂酰乙醇胺 (N-arachidonylethanolamide, NArPE), 可以在磷脂酶 D 的作用下水解生成 ANA; 另一种途径为: 高浓度的花生四烯酸和乙醇胺在 ANA 合成酶的作用下直接合成 ANA, 这种途径不依赖 ATP 和辅酶 A, 后来对这种酶的组织分布、最适 pH 值及最适温度等特性进行研究, 发现 ANA 合成酶与 FAAH 是同一种酶, 但在小鼠子宫中可能为不同的酶<sup>[4]</sup>.

\* 国家重点基础研究专项 (G1999055903)、中国科学院“百人计划”和计划生育生殖生物学国家重点实验室资助项目.

\*\* 通讯联系人.

Tel: 010-62631831, E-mail: duane@panda.ioz.ac.cn

收稿日期: 2000-04-03, 接受日期: 2000-06-07

## 2 ANA 作用的分子机理

ANA 有两种膜受体, 即脑型受体 (CB1-R) 和脾型受体 (CB2-R). CB1-R 主要分布于神经系统中, 是介导 ANA 生理作用的主要受体, 也是目前研究的热点, 而 CB2-R 主要分布在外周免疫系统中, 对它的功能了解较少. 两种受体均为跨膜蛋白, 且与  $G_{(i/o)}$  蛋白相偶联, 两受体之间有 44% 的同源性<sup>[2]</sup>. ANA 一方面可激活受体, 介导细胞内的信号转导; 另一方面, ANA 可以直接使细胞膜脂变得紊乱, 影响细胞的生理功能. 也有人提出, 细胞膜上可能存在 ANA 的第三种受体 CBn<sup>[5]</sup>, 但目前尚无直接的证据. 另外 ANA 对自身有一种反馈调节作用, CB1-R 被 ANA 激活后, 可以诱发一氧化氮合酶 (NO synthase, NOS) 的活性, 进而引起细胞内 NO 水平的升高, NO 又可以激活 ANA 的载体蛋白, 把 ANA 从细胞外转运到细胞内, 然后在 FAAH、环氧化酶及脂氧化酶的作用下分解<sup>[6]</sup>.

## 3 ANA 的生理作用

目前对 ANA 的研究主要集中在药理活性、结构与活性的关系 (structure-activity relations, SAR) 方面, 而对它的生理作用相对研究较少, 这可能是由于 ANA 在体内被快速降解的原故. 目前体内研究多数是用较稳定的 ANA 类似物-甲基花生四烯乙醇胺 (methanandamide) 作为研究工具, 而 CB1-R 的选择性拮抗剂——SR141716A 的出现为研究 ANA 的作用途径提供了方便, 但令人遗憾的是, 关于 ANA 在某一生理过程中的含量及所涉及酶的活性和表达仍然知之甚少.

### 3.1 对中枢神经系统的作用

ANA 可以抑制突触前  $Ca^{2+}$  通道, 影响神经递质的释放, 进而影响神经的功能. ANA 还可下调腺苷酸环化酶 (adenylate cyclase, ACCase) 的活性, 降低神经传递速度、影响神经递质的合成和神经元的可塑性<sup>[7]</sup>. 在丘脑、海马、脑皮质、纹状体、黑质及小脑中都含有高浓度的 CB1-R 受体、ANA 和 FAAH, 由此推测 ANA 在这些部位可能起重要作用. ANA 可以抑制大鼠纹状体电刺激引起的多巴胺的释放, 抑制黑质纹状体多巴胺的合成<sup>[8]</sup>, 并且通过影响多巴胺能和  $\gamma$ -氨基丁酸 ( $\gamma$ -aminobutyric acid, GABA) 能的传递, 使大鼠的运动能力受到抑制, 在苍白球上, ANA 可以增强

GABA<sub>A</sub> 介导的僵直作用, 而 SR141716A 不能抑制这种作用<sup>[4]</sup>.

ANA 对学习和记忆功能也有影响, 这也可能是经常吸大麻的人记忆力减退的原因之一, 而 SR141716A 可提高啮齿类动物的记忆功能<sup>[9]</sup>, 这些效应可能是由于妨碍了乙酰胆碱的释放所引起的. 人工合成的 ANA 类似物 WIN55, 212-2 可以抑制乙酰胆碱的释放, 而 SR141716A 可以减弱 WIN55, 212-2 的作用. 另外, ANA 还可以由 CB1-R 介导进而激活海马神经元焦点粘着激酶 (focal adhesion kinase, FAK), 这表明 ANA 对突触可塑性有一定影响<sup>[4]</sup>.

### 3.2 对下丘脑的作用

下丘脑中, ANA 的受体数量较少, 但 ANA 可以激活 *c-fos* 基因的表达, 同时还可以调控垂体激素的分泌. 如: ANA 经脑室注射后, 可以引起促肾上腺皮质激素释放激素的释放及促肾上腺皮质激素的分泌; 另外通过与下丘脑上的受体作用后, 还可以抑制促乳素、LH、FSH、及生长激素的释放<sup>[10]</sup>.

### 3.3 对免疫系统作用

ANA 与 CB1-R、CB2-R 受体结合后, 通过抑制 cAMP 的形成或激活促分裂原活化蛋白激酶 (mitogen activated protein kinase, MAPK) 和磷脂酶 A<sub>2</sub> (phospholipase A<sub>2</sub>, PLA<sub>2</sub>), 可以在不同的免疫细胞、感觉纤维及血细胞之间起化学信号作用. 在炎症反应中,  $Ca^{2+}$  流和 IgE 受体交联可以激活嗜碱性粒细胞和肥大细胞, 使其产生 N-棕榈酰乙醇胺、ANA 及组胺、5-羟色胺和白三烯<sup>[11]</sup>. 后者具有血管通透性和趋化性作用. 棕榈酰乙醇胺是嗜碱性粒细胞和肥大细胞的内分泌物, 它可以抑制这些细胞的去颗粒化, 所以在体内起抗炎症介质的作用. ANA 可以对抗上述作用, 同时诱导嗜碱性粒细胞、肥大细胞及巨噬细胞形成白三烯和前列腺素-E<sub>2</sub> (prostaglandin-E<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub>), 这两种物质可削弱免疫细胞的功能<sup>[12]</sup>. 另外, ANA 可以分别通过激活结构型 NO 合酶及抑制诱导型 NO 合酶来调节巨噬细胞 NO 的含量, 以及通过抑制淋巴细胞的增殖直接下调免疫功能, ANA 还可以抑制巨噬细胞产生 IL-4、IL-6、IL-8、TNF- $\alpha$  及干扰素- $\gamma$ <sup>[13]</sup>.

### 3.4 对生殖系统的作用

在雌性生殖方面, 目前以小鼠研究的较多, 与其他组织相比, 小鼠围着床期子宫 ANA 含量最高, 并且具有合成和分解 ANA 的能力. 在着床点

ANA 含量较低,而在非着床点含量较高.小鼠胚胎从 2-细胞至胚泡均含有 CB1 和 CB2 受体,体外实验表明,低浓度的 ANA (7 nmol/L) 可以抑制 2-细胞胚胎向胚泡的转化,但可以增强第四天 (D4) 胚泡的粘附性、促进滋养层细胞的分化和扩展,这说明 ANA 在介导胚泡的粘附和侵入方面可能有重要的功能<sup>[14]</sup>. 子宫中的 ANA 随妊娠天数不同而发生变化,妊娠 D1~ D4 含量较低, D5~ D8 含量较高,这与体外实验时低浓度的 ANA 促进 D4 胚泡的黏附和促进滋养层细胞的分化,从而有利于胚泡植入的结果相一致; D5 子宫 ANA 含量较高,但在胚泡周围浓度较低,这也与体外实验高浓度的 ANA 不利于胚泡发育相一致. 子宫 ANA 的含量与子宫的感受性密切相关, ANA 也可能是调节胚胎植入窗口的一个因素<sup>[4, 14]</sup>.

在雄性生殖方面, ANA 可以调控精子的发生,通过与海胆精细胞膜上的 CB1 受体结合,可以抑制海胆的顶体反应,另外海胆卵也具有合成和降解 ANA 的能力,这可能对阻止多精子受精起一定作用,但在哺乳动物上尚未见类似的研究报道<sup>[4]</sup>.

#### 4 ANA 诱导的信号转导

ANA 的两种受体是  $G_{(Gi/o)}$  蛋白家族的成员, ANA 与其受体结合后,可以下调 ACCase 的活性,进而影响 PKA 的水平. 近年来也有人发现 CB1 受体也与  $G_s$  蛋白相偶联<sup>[15]</sup>. 但这种作用在一般情况下被  $G_i$  介导的抑制作用所覆盖,只有在经过百日咳毒素处理过的细胞上  $G_s$  蛋白的激活才能表现出来<sup>[16]</sup>. ANA 还可以通过两种受体激活 MAPK 及诱导 Krox-24 的表达.

磷酸肌醇-3 激酶 (phosphoinositide 3'-kinase, PI3K) 在生长因子调节的细胞生长和发育中起重要作用,因为 G 蛋白的  $\beta\gamma$  亚基可以激活 PI3K,而 PI3K 的抑制剂可抑制由 ANA 诱导的 MAPK 的级联,所以 PI3K 有可能介导 MAPK 的途径<sup>[17]</sup>. 在信号转导及细胞调节中,鞘磷脂 (sphingomyelin, SM) 水解也是关键步骤之一, ANA 与 CB1-R 受体结合后,可以激活鞘磷脂酶 (sphingomyelinase, SMase),水解 SM 生成神经酰胺 (ceramide),而神经酰胺反过来又刺激 Raf-1,介导 MAPK 通路<sup>[17]</sup>. 在肺成纤维细胞上, ANA 的这种功能是通过何种途径介导尚未确定<sup>[18]</sup>. 另外, ANA 还可以抑制 N 型或 P/Q 型  $Ca^{2+}$ , 激活内化的  $K^+$  通道<sup>[19]</sup>.

#### 5 展 望

ANA 被认为是一种神经递质,在中枢神经系统中起重要作用,如果能掌握它与其他神经递质特别是 5-羟色胺、GABA、多巴胺之间的相互关系,可望对一些神经性疾病的治疗提供新的思路; ANA 可以抑制乳腺癌细胞的增殖<sup>[20]</sup>,通过对其机理的探讨,可能会为治疗癌症提出一些新的策略;另外, ANA 在子宫中含量特别高,又可以与胚泡直接作用,浓度高时可以抑制胚泡的发育,而低浓度又可以促进胚泡的粘附,通过对其表达调控机理的探讨,可能会在避孕药的研发上有所突破.

#### 参 考 文 献

- 1 Devane W A, Hanus L, Breuer A, *et al.* Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science*, 1992, **258** (5090): 1946~ 1949
- 2 Mechoulam R, Fride E, Marzo V D. Endocannabinoids. *Eur J Pharmacol*, 1998, **359** (1): 1~ 18
- 3 Maccarrone M, Fiorucci L, Erba F, *et al.* Human mast cells take up and hydrolyze anandamide under the control of 5-lipoxygenase and do not express cannabinoid receptors. *FEBS Lett*, 2000, **468** (2~ 3): 176~ 180
- 4 Marzo V D. 'Endocannabinoids' and other fatty acid derivatives with cannabimimetic properties: biochemistry and possible physiopathological relevance. *Biochim Biophys Acta*, 1998, **1392** (2~ 3): 153~ 175
- 5 Sheskin T, Hanus L, Slager J, *et al.* Structural requirements for binding of anandamide-type compounds to the brain cannabinoid receptor. *J Med Chem*, 1997, **40** (5): 659~ 667
- 6 Hillard C J, Muthian S, Kearn C S. Effects of CB1 cannabinoid receptor activation on cerebellar granule cell nitric oxide synthase activity. *FEBS Lett*, 1999, **459** (2): 277~ 281
- 7 Marzo D V, Melck D, Bicogno T, *et al.* Endocannabinoids: endogenous cannabinoid receptor ligands with neuromodulatory action. *Trends Neurosci*, 1998, **21** (12): 521~ 528
- 8 Cadogan A K, Alexander S P H, Boyd E A, *et al.* Influence of cannabinoids on electrically evoked dopamine release and cyclic AMP generation in the rat striatum. *Neurochem*, 1997, **69** (3): 1131~ 1137
- 9 Castellano C, Cabib S, Palmisano A, *et al.* The effects of anandamide on memory consolidation in mice involve both D1 and D2 dopamine receptors. *Behav Pharmacol*, 1997, **8** (8): 707~ 712
- 10 Wenger T, Toth B E, Juaneda C, *et al.* The effects of cannabinoids on the regulation of reproduction. *Life Sci*, 1999, **65** (6~ 7): 695~ 701
- 11 Bisogno T, Maurelli S, Melck D, *et al.* Biosynthesis, uptake, and degradation of anandamide and palmitoylethanolamide in leukocytes. *J Biol Chem*, 1997, **272** (6): 3315~ 3323
- 12 Marzo D V, Petrocellis L D, Bisogno T, *et al.* The endogenous cannabimimetic eicosanoid, anandamide, induces arachidonate release in J774 mouse macrophages. *Adv Exp Med Biol*, 1997,

- 407: 341~ 346
- 13 Berdyshev E V, Boichot E, Germain N, *et al.* Influence of fatty acid ethanolamides and delta<sup>9</sup>-tetrahydrocannabinol on cytokine and arachidonate release by mononuclear cells. *Eur J Pharmacol*, 1997, **330** (2~ 3): 231~ 240
- 14 Paria B C, Zhao X, Wang J, *et al.* Fatty-acid amide hydrolase is expressed in the mouse uterus and embryo during the periimplantation period. *Biol Reprod*, 1999, **60** (5): 1151 ~ 1157
- 15 Calandra B, Portier M, Kerneis A, *et al.* Dual intracellular signaling pathways mediated by the human cannabinoid CB1 receptor. *Eur J Pharmacol*, 1999, **374** (3): 445~ 455
- 16 Felder C C, Joyce K E, Briley E M, *et al.* LY320135, a novel cannabinoid CB1 receptor antagonist, unmasks coupling of the CB1 receptor to stimulation of cAMP accumulation. *J Pharmacol Exp Ther*, 1998, **284** (1): 291~ 297
- 17 Guzman M, Sanchez C. Effects of cannabinoids of energy metabolism. *Life Sci*, 1999, **65** (6/7): 657~ 664
- 18 Sanchez C, Galve-Roperh C, Rueda D, *et al.* Involvement of sphingomyelin hydrolysis and the mitogen-activated protein kinase cascade in the Delta<sup>9</sup>-tetrahydrocannabinol-induced stimulation of glucose metabolism in primary astrocytes. *Mol Pharmacol*, 1998, **54** (5): 834~ 843
- 19 Wang J, Paria B C, Dey S K, *et al.* Stage-specific excitation of cannabinoid receptor exhibits differential effects on mouse embryonic development. *Biol Reprod*, 1999, **60** (4): 839~ 844
- 20 Melck D, Rueda D, Galve-Roperh I, *et al.* Involvement of the cAMP/protein kinase A pathway and of mitogen-activated protein kinase in the anti-proliferative effects of anandamide in human breast cancer cells. *FEBS Lett*, 1999, **463** (3): 235~ 240

## Advances in the Anandamide\*

LIU Wei-Min, DUAN Er-Kui\*\*

(State Key Laboratory of Reproductive Biology, Institute of Zoology, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China)

**Abstract** Anandamide (N-arachidonylethanolamide), an arachidonic acid derivative, is an endogenous ligand for cannabinoid receptors, which are members of the G protein (Gi)-coupled receptors family. Anandamide is mainly found in central nervous system, immune system and uterus etc and mimics most of the effects of (-)- $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol [(-)- $\Delta^9$ -THC], a psychoactive derivative of marijuana. Fatty-acid amide hydrolase (FAAH), which is involved in hydrolyzing anandamide to arachidonic acid and ethanolamide, may quickly regulate level of anandamide *in vivo*.

**Key words** anandamide, cannabinoid receptors, signal transduction

\* This work was supported by grants from the special funds for major basic research project (G1999055903), the "100 Scientists" Program of the Chinese Academy of Sciences and the State Key Laboratory of Reproductive Biology, Institute of Zoology, the Chinese Academy of Sciences.

\*\* Corresponding author. Tel: 86-10-62631831, E-mail: duane@panda.ioz.ac.cn

Received: April 3, 2000 Accepted: June 7, 2000