

·特约综述·

脊髓小胶质细胞GLP-1受体/IL-10/ β -内啡肽通路及其与独一味镇痛作用的关系

王永祥

(上海交通大学药学院 King's Lab, 上海 200240)

作者简介:王永祥,教授,获不列颠哥伦比亚大学药理学博士学位后,在斯坦福大学从事博士后研究。在Elan Pharmaceuticals进行药理研究和新药研发多年,主持Ziconotide (Prialt®)的药理学研究,该药已在美国和欧盟上市用于治疗顽固性疼痛。现任上海交通大学长聘(tenured)教授,研究方向为疼痛生物学和转化医学,包括疼痛靶点分子及其信号通路、镇痛中草药反向药理学和新型镇痛药物的研发。在*Journal of Neuroscience*, *Anesthesiology*, *Pain* 和 *Neuropharmacology*等专业杂志发表论文140余篇并获多项发明专利授权,受邀在国内外学术会议和大学、研究所讲座和报告120余次,获“药明康德生命科学研究奖”、“中国药学会科学技术奖”和“上海药学会药学科科技奖”。E-mail: yxwang@sjtu.edu.cn。



摘要:GLP-1受体是B族G-蛋白偶联受体,主要分布于胰岛、肺、胃、小肠、肾脏、心脏和中枢神经系统。GLP-1受体在外周通过促进血糖依赖式的胰岛素分泌和增加胰岛素敏感性参与血糖调节,在中枢神经系统参与神经保护和镇痛。本文简述我们实验室最近发现的脊髓小胶质细胞GLP-1受体/IL-10/ β -内啡肽通路及其与一些中草药镇痛作用之间的关系。GLP-1,艾塞那肽和WB4-24激动脊髓GLP-1受体,通过cAMP/PKA/p38 β /CREB信号转导通路合成/表达IL-10,后者通过自分泌方式活化IL-10受体/STAT3通路合成/表达 β -内啡肽,从而在多种慢性疼痛模型产生显著镇痛作用。止痛中草药独一味通过激动脊髓背角小胶质细胞GLP-1受体/ β -内啡肽通路产生镇痛作用。以山栀子苷为代表的环烯醚萜苷包括京尼平苷、马钱子苷、梓醇和莫诺苷,是人和大鼠GLP-1受体正构性激动剂。这些研究结果提示,脊髓GLP-1受体/IL-10/ β -内啡肽通路可能是已被人体证明有效的治疗慢性疼痛新靶点。

关键词:胰高血糖素样肽-1受体;疼痛;IL-10; β -内啡肽;独一味;环烯醚萜苷

中图分类号:R982 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-3554(2018)03-0321-08

Spinal GLP-1 Receptor/IL-10/ β -endorphin Pathway and It's Relation with *Lamiophlomis rotata* Analgesia

WANG Yong-xiang

(King's Lab, School of Pharmacy, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

Corresponding to: WANG Yong-xiang, E-mail: yxwang@sjtu.edu.cn

Abstract: Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) receptors belong to the class B of G protein coupled-receptors and are expressed in pancreas, lungs, GI tract, kidneys, heart and the central nervous system. During episodes of hyperglycemia activation of GLP-1 receptors located on pancreas islet β -cells facilitates insulin release and increases insulin sensitivity to regulate blood sugar. In the central nervous system, activation of GLP-1 receptors produces neuroprotection and analgesia.

收稿日期:2018-03-15

基金项目:国家自然科学基金(81374000、81673403和81202517);教育部博士学科点基金(20110073110062);上海市科委科技成果转化和产业化项目(15401901300)

sia. In this mini-review, we have summarized our recent work: 1) identification of microglial GLP-1 receptor/IL-10/ β -endorphin pathway in the spinal cord; 2) discovery of the mechanisms of activation of GLP-1 receptors by which analgesic *Lamiophlomis rotata* and its effective ingredients iridoid glycosides produce antinociception. Our work highlight that spinal microglial GLP-1 receptor might be a human-demonstrated target for the treatment of chronic pain.

Key words: glucagon-like peptide-1 (GLP-1) receptor; pain; IL-10; β -endorphin; *Lamiophlomis rotata*; iridoid glycoside

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2018, 39(3):321-328]

胰高血糖素样肽-1 (glucagon-like peptide-1, GLP-1) 是由小肠 L 细胞分泌的一种多肽类激素。GLP-1 通过激动 GLP-1 受体, 能葡萄糖依赖式地促进胰岛素分泌, 增强胰岛素受体敏感性、抑制胰高血糖素分泌, 抑制胃排空和食物摄取, 并且可促进胰岛 β 细胞增殖和抑制 β 细胞程序性凋亡。GLP-1 受体是临床证明有效的治疗 II 型糖尿病的靶点分子, 直接或间接激动 GLP-1 受体的多种药物已经上市用于治疗 II 型糖尿病, 被认为是治疗 II 型糖尿病最具潜力的治疗策略之一, 因为它们诱发低血糖症和诱发心血管疾病的风险较低。这些药物包括 GLP-1 受体激动剂利拉鲁肽、艾塞那肽及其长效制剂, 以及 DPP-4 抑制剂如西他列丁^[1-2]。大量的研究表明, GLP-1 受体在中枢神经系统参与神经保护^[3-4]。在促胰岛素分泌肽的血糖调节研究中, 我们意外地发现艾塞那肽能够有效抑制福尔马林诱导的疼痛反应。随后我们采用大鼠和小鼠系统地研究了脊髓 GLP-1 受体在疼痛敏感状态下的作用及其作用机制, 发现脊髓小胶质细胞存在一条 GLP-1 受体/IL-10/ β -内啡肽通路。与此几乎同时, 我们发现中草药独一味、有效成分山梔子苷和 8-O-乙酰山梔子苷甲酯、以及其他环烯醚萜苷包括京尼平苷、马钱子苷、梓醇和莫诺苷, 正构性地激动 GLP-1 受体产生镇痛作用。

1 脊髓小胶质细胞 GLP-1 受体/IL-10/ β -内啡肽镇痛通路

GLP-1 可以两种分子形式存在; 即 GLP-1(7-36) 和 GLP-1(7-37), 其中 GLP-1(7-36) 是体内 GLP-1 主要的生物活性分子, 而 GLP-1(7-37) 的生物活性相对较弱。GLP-1 很容易被血液和脑脊液等体液中的二肽基酶-4 (dipeptidyl-peptidase

4, DPP-4) 降解, 导致其在体内存在时间极短。唾液素-4 (exendin-4) 是源于毒蛇唾液的一种多肽激素, 艾塞那肽 (exenatide) 是其酰胺化的合成物。艾塞那肽与 GLP-1 一样, 能选择性地激动 GLP-1 受体, 产生相同的生物学效应, 但是由于艾塞那肽不被 DPP-4 降解, 因此在体内存在时间相对较长^[1-2]。此外, WB4-24 是具有较好活性的非肽类 GLP-1 受体正构型激动剂^[5]。疼痛行为学结果表明, 蛛网膜下腔注射 GLP-1(7-36) 和艾塞那肽能有效地抑制大鼠福尔马林、外周神经损伤、骨癌和糖尿病诱发的痛觉过敏, 抑制率可高达 60%~90%, 但是对急性反射性疼痛无效。长期 (7 d) 给予艾塞那肽不产生镇痛耐受性。GLP-1 受体拮抗剂 exendin (9-39) 和 GLP-1 受体基因沉默剂 siRNA/GLP-1 受体, 可完全阻断 GLP-1 和艾塞那肽抑制痛觉过敏的作用^[6]。同样, 蛛网膜下腔注射 WB4-24 能有效抑制福尔马林、角叉菜胶和完全弗氏佐剂诱发的痛觉过敏^[7]。此外, 侧脑室注射艾塞那肽对脑中动脉阻塞 (MCAO) 所引起的脑损伤有显著的保护作用^[8]。

采用原代细胞培养技术, 我们发现艾塞那肽和 WB4-24 可促进脊髓、大脑皮层和海马等区域的小胶质细胞 β -内啡肽基因合成和蛋白释放, 但不促进这些区域的神经元细胞和星形胶质细胞合成/释放 β -内啡肽; 艾塞那肽和 WB4-24 促进小胶质细胞释放 β -内啡肽的作用可完全被小胶质细胞抑制剂米诺环素阻断^[6-8]。采用免疫荧光双染色技术证明, 蛛网膜下腔注射艾塞那肽在脊髓背角可直接促进小胶质细胞释放 β -内啡肽, 而不影响神经元和星形胶质细胞释放 β -内啡肽^[9]。蛛网膜下腔注射米诺环素和 β -内啡肽抗血清, 可完全阻断 GLP-1, 艾塞那肽和 WB4-24 抑制疼痛敏感的作用^[6-7, 9]。 β -内啡肽是内源性 μ -阿片受体特异性激动剂, 因此我们采用选择性阿片受体亚型

拮抗剂测试对 GLP-1 受体激动剂镇痛作用的影响。研究表明,艾塞那肽和 WB4-24 的镇痛作用可完全被特异性阿片类受体拮抗剂纳洛酮以及选择性 μ -阿片受体拮抗剂 CTAP 阻断,但不被选择性 κ -阿片受体拮抗剂 nor-BNI 或 σ -阿片受体拮抗剂 naltrindole 阻断^[6-7]。此外艾塞那肽对脑中动脉阻塞(MCAO)引起脑损伤的神经保护作用可被 β -内啡肽抗血清和纳洛酮阻断,表明 GLP-1 受体的神经保护作用也是由 β -内啡肽表达所介导^[8]。

GLP-1 受体属于 G 蛋白偶联受体 B 家族,其下游信号转导通路包括 cAMP/PKA, ERK1/2, β -arrestin-1 和钙离子^[2]。我们用双标记免疫荧光技术,发现 GLP-1 受体特异性表达于脊髓背角小胶质细胞,在外周神经损伤后,其表达随小胶质细胞增殖显著上调^[6]。此外,脑中动脉阻塞(MCAO)所引起的脑损伤,也导致海马区域小胶质细胞和 GLP-1 受体上调^[8]。

我们最近研究了 GLP-1 受体释放 β -内啡肽的信号转导通路。在原代培养的小胶质细胞上,艾塞那肽呈剂量依赖式促进 β -内啡肽基因和蛋白表达,EC₅₀分别为 4.1 和 7.5 nmol/L。艾塞那肽可分别升高小胶质细胞胞内 cAMP 水平和促进 PKA, p38 和 CREB 磷酸化,同时艾塞那肽促进 β -内啡肽基因的作用可被特异性 PKA 活化抑制剂, p38 活化抑制剂和 CREB 活化抑制剂阻断。p38 进一步分类研究表明,艾塞那肽引起的 p38 磷酸化和 β -内啡肽表达可被干扰 p38 β 基因所阻断,但不受 p38 α 基因干扰影响。而相反,干扰 p38 α 基因可部分抑制内毒素(LPS)引起的 p38 磷酸化和神经炎症因子包括 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 表达,但不受 p38 β 基因干扰影响。体内研究表明,蛛网膜下腔每日注射 p38 β 基因沉默剂,连续 7 d,可抑制艾塞那肽在神经病理性疼痛大鼠所引起的脊髓 p38 活化、 β -内啡肽表达和镇痛作用。上述结果提示,激动 GLP-1 受体通过 cAMP/PKA/p38 β /CREB 信号通路,促进 β -内啡肽从而产生镇痛作用^[9]。

有趣的是,最近研究发现体内重要的抗炎镇痛因子 IL-10(interleukin-10, 白细胞介素-10),通过自分泌方式介导 GLP-1 受体释放 β -内啡肽。细胞免疫荧光染色结果表明,小胶质细胞同时表达 GLP-1 受体、IL-10 和 β -内啡肽。艾塞那肽可促进原代培养的脊髓小胶质细胞(但不促进

神经元细胞和星形胶质细胞)释放 IL-10 和 β -内啡肽,以及 M2 小胶质细胞其他标志物 Arg 1, CD206 和 IL-4,而给予特异性 IL-10 中和抗体可完全阻断艾塞那肽释放 β -内啡肽作用。同样,蛛网膜下腔注射艾塞那肽在脊髓背角可直接促进小胶质细胞(但不影响神经元和星形胶质细胞)释放 IL-10 和 β -内啡肽,而 IL-10 中和抗体可完全阻断艾塞那肽释放 β -内啡肽作用及其后继的镇痛作用。采用基因干扰技术,siRNA/IL-10 受体可完全抑制艾塞那肽在小胶质细胞释放 β -内啡肽和抗神经病理性疼痛作用。艾塞那肽可显著上调转录因子 STAT3 磷酸化活性,而抑制 STAT3 磷酸化活性可完全阻断艾塞那肽诱导的 β -内啡肽释放及其镇痛作用^[10-11]。上述发现提示,背角小胶质细胞存在一条 GLP-1 受体/IL-10/ β -内啡肽镇痛通路,即如图 1 所示,激动小胶质细胞上 GLP-1 受体,激活 cAMP/PKA/p38 β /CREB 信号转导通路促进 IL-10 表达,继而通过自分泌方式激活小胶质细胞 IL-10 受体/STAT3 信号通路,从而促进 β -内啡肽表达和释放,后者作用于神经元上 μ -阿片受体从而产生镇痛和神经保护作用。

小胶质细胞 GLP-1 受体/IL10/ β -内啡肽通路的发现有一定的神经生物学意义,具体表现在:①一般认为小胶质细胞尤其是活化的小胶质细胞介导神经损伤作用和慢性疼痛包括神经病理性疼痛和癌症疼痛^[12-13]。我们的结果表明,小胶质细胞也可以通过激动 GLP-1 受体介导镇痛和神经保护作用。事实上我们还证明从白首乌中分离出的有效成分白首乌二苯酮和乌头生物碱包括草乌甲素和雪上一枝蒿甲素,可通过非 GLP-1 受体刺激脊髓小胶质细胞分别释放 β -内啡肽和强啡肽,在多种慢性疼痛模型产生镇痛作用^[14-16]。②由于 GLP-1 受体激动剂在原代培养的小胶质细胞释放 β -内啡肽与是否给予内毒素刺激没有区别,并且它们在健侧和患侧脊髓释放 β -内啡肽含量相同^[6-7,9],因此激动 GLP-1 受体产生镇痛和神经保护作用与小胶质细胞是否处于活化状态无关,这一点与小胶质细胞致痛需小胶质细胞活化正好相反。③一般认为 p38 活化介导小胶质细胞活化及其致痛和神经破坏作用^[17-18]。但 p38 有多种亚型,我们证明 p38 α 活化介导致痛,而 p38 β 活化则促进 β -内啡肽合成释放。我们还证明白首乌二苯酮和草乌甲素刺激小胶质细胞释放 β -内啡肽和强

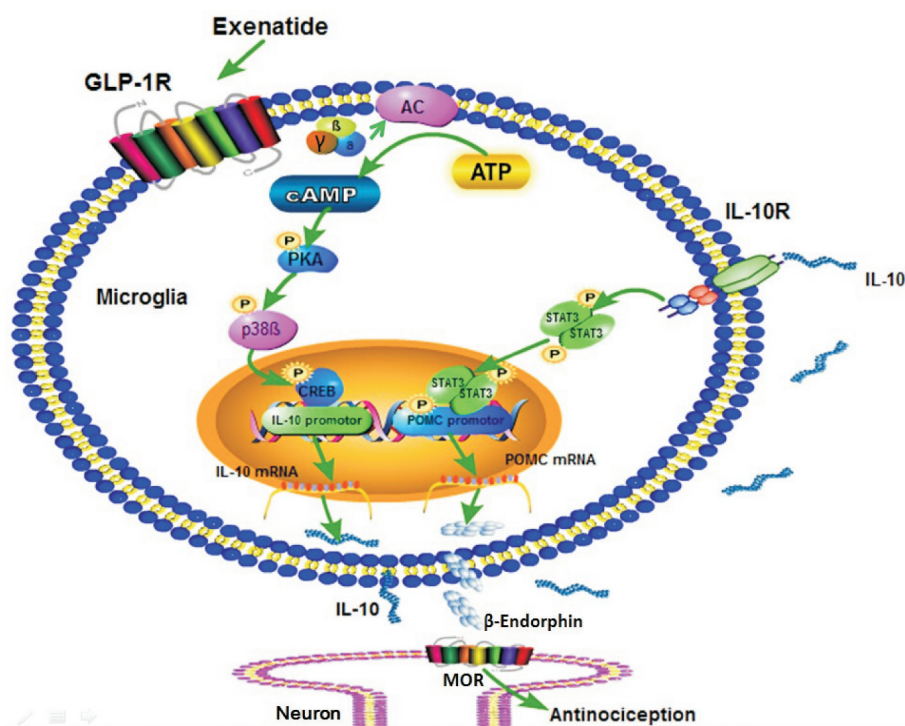


图1 脊髓小胶质细胞 GLP-1 受体/IL-10/β-内啡肽镇痛通路^[10]

Fig.1 Illustration of the proposed IL-10 autocrine mechanisms underlying GLP-1 receptor activation-induced β-endorphin expression in microglia and spinal antinociception in neuropathy^[10]

啡肽是由 p38β (而不是 p38α) 磷酸化介导^[14, 19]。这些结果表明, p38β 活化可能是小胶质细胞释放阿片样肽包括 β-内啡肽和强啡肽的一个共同信号转导机制。④针对这个靶点研发镇痛药物的一个明显优势是, GLP-1 受体激动剂长期给药不产生镇痛耐受性。尽管 GLP-1 受体激动剂是通过释放 β-内啡肽而产生作用, 而给予外源性的 β-内啡肽与吗啡一样可产生镇痛耐受性, 但激动脊髓 GLP-1 受体所释放的内源性 β-内啡肽含量较低 (约为 1/200 达到同样镇痛效果的外源性 β-内啡肽^[20]), 因而不产生镇痛耐受性。

2 独一味及其有效成分通过激动脊髓 GLP-1 受体产生镇痛作用

独一味 [*Lamiophlomis rotata* (Benth.) Kudo] 是一种有几百使用历史的口服藏药, 被广泛地用于疼痛和出血的治疗。在中国药典中环烯醚萜苷类化合物山栀子苷甲酯 (shanzhiside methylester) 和 8-O-乙酰山栀子苷甲酯 (8-O-acetyl-shanzhiside methylester) 被列为独一味质量控制的指标成

分^[21-22]。疼痛行为学研究发现, 独一味水提取物能有效抑制小鼠和大鼠福尔马林、外周神经损伤和骨癌诱发的疼痛反应, 抑制率可达 50%~80%, 半数有效剂量 (ED₅₀) 为 130~250 mg/kg, 与人的剂量接近。但是独一味水提取物不能缓解反射性急性疼痛反应。连续 7 d 灌胃独一味水提取物不产生镇痛耐受性。我们采用活性追踪法, 证明独一味中总黄酮无镇痛作用, 而总环烯醚萜苷类是有效镇痛成分, 其中山栀子苷甲酯和 8-O-乙酰山栀子苷甲酯是其镇痛的主要有效活性成分^[23]。

过氧化氢 (H₂O₂) 可诱导细胞程序性凋亡, 而细胞膜上 GLP-1 受体具有保护过氧化氢损伤作用^[24-25]。因此, 我们以艾塞那肽作为阳性对照, 采用过氧化氢细胞损伤模型来测试山栀子苷甲酯和 8-O-乙酰山栀子苷甲酯对 GLP-1 受体的激动活性。结果表明, 艾塞那肽、山栀子苷甲酯和 8-O-乙酰山栀子苷甲酯, 可浓度依赖式地保护表达有大鼠 GLP-1 受体的 PC12 细胞和稳定表达人 GLP-1 受体的 HEK293 细胞, 免受过氧化氢的氧化损伤, 但对不表达有 GLP-1 受体的 HEK293T 细胞的过氧化氢损伤作用无保护功能。艾塞那肽、山栀子

昔甲酯和 8-O-乙酰山栀子昔甲酯对过氧化氢细胞损伤保护作用的最大效果相同,均可达到 100%,但它们在 PC12 细胞中保护过氧化氢损伤作用的活性(ED_{50})分别为 3.8×10^{-9} , 7.8×10^{-5} 和 1.4×10^{-4} mol/L。采用 GLP-1 受体正构性拮抗剂 exendin(9-39),可使艾塞那肽、山栀子昔甲酯和 8-O-乙酰山栀子昔甲酯对 PC12 细胞和 HEK293 细胞过氧化氢损伤保护的曲线呈浓度依赖式向右移动,但不改变最大抑制率。计算出它们 pA_2 值在两种细胞均相当,表明山栀子昔甲酯和 8-O-乙酰山栀子昔甲酯与艾塞那肽一样,是大鼠和人 GLP-1 受体的正构性、可逆性的完全激动剂^[23]。

在大鼠和小鼠福尔马林疼痛模型和神经病理性疼痛模型,灌胃、皮下和/或蛛网膜下腔注射独一味水提物、山栀子昔甲酯和 8-O-乙酰山栀子昔甲酯可产生显著镇痛作用;蛛网膜下腔预先给予 GLP-1 受体拮抗剂 exendin(9-39)和基因沉默剂 siRNA/GLP-1 受体可完全阻断它们的镇痛作用^[23]。进一步研究证明,山栀子昔甲酯与吗啡或外源性 β -内啡肽合用可产生相加镇痛作用。长期(7 d)给予吗啡或外源性 β -内啡肽可产生镇痛耐受性,但山栀子昔甲酯不产生镇痛耐受性,尽管与吗啡或 β -内啡肽合用可产生交叉耐受性。山栀子昔甲酯可特异性促进原代培养的小胶质细胞(但不促进神经元细胞和星形胶质细胞)释放 β -内啡肽;蛛网膜下腔注射山栀子昔甲酯可促进脊髓释放 β -内啡肽并产生镇痛作用。离体小胶质细胞和整体脊髓释放 β -内啡肽作用及后继的镇痛作用,可完全被小胶质细胞抑制剂米诺环素阻断。蛛网膜下腔注射 β -内啡肽抗血清和选择性 μ -阿片受体拮抗剂 CTAP,可完全阻断山栀子昔甲酯的镇痛作用,但不被选择性 κ -阿片和 σ -阿片受体拮抗剂阻断^[20]。如同艾塞那肽一样^[9],山栀子昔甲酯抑制神经病理性疼痛,同时可特异性地引起脊髓 p38 磷酸化,但对 ERK1/2 和 JNK1/2 的磷酸化无明显影响;其抑制神经病理性疼痛反应作用可被蛛网膜下腔注射 p38 磷酸化抑制剂阻断,而 ERK1/2 和 JNK1/2 的磷酸化抑制剂不能将山栀子昔甲酯的镇痛作用阻断。此外,p38 磷酸化抑制剂可阻断山栀子昔甲酯在脊髓和原代培养的小胶质细胞上 β -内啡肽的表达^[20]。上述结果表明,独一味及其有效成分是通过激动脊髓小胶质细胞 GLP-1 受体及其随后释放的 β -内啡肽产

生镇痛作用。

独一味及其有效成分山栀子昔甲酯和 8-O-乙酰山栀子昔甲酯的作用及其特点的观察,有助于独一味临床合理用药和扩大与吗啡合用适应证。它们激动 GLP-1 受体的分子作用机制的阐明,进一步验证了脊髓 GLP-1 受体是一个潜在性镇痛新靶点分子。尤其独一味在人体镇痛有效,进一步提示 GLP-1 受体可能是已被人体证明有效的治疗慢性疼痛的靶点分子。

3 环烯醚萜昔通过激动脊髓背角小胶质细胞 GLP-1 受体产生镇痛作用

栀子(*Gardenia jasminoides*)中主要环烯醚萜昔类化合物京尼平昔(geniposide)可激动 GLP-1 受体、促进神经元增殖分化和保护神经元免受过氧化氢氧化应激损伤,并且能够调节胰岛素分泌^[26-27]。鉴于山栀子昔甲酯和 8-O-乙酰山栀子昔甲酯与京尼平昔与有着非常相似的化学结构,促使我们假设环烯醚萜昔甚至环烯醚萜,可能是 GLP-1 受体小分子激动剂的一个基本结构。因此我们选用京尼平昔、京尼平昔酸、京尼平、京尼平甲酯、1,10-脱水京尼平、马钱子昔(马钱子主要有效成分)和梓醇(熟地主要有效成分),在离体和整体实验验证与 GLP-1 受体的关系,并与艾塞那肽进行比较。图 2 为京尼平昔、京尼平昔酸、京尼平、京尼平甲酯、1,10-脱水京尼平、马钱子昔、梓醇、山栀子昔甲酯和 8-O-乙酰山栀子昔甲酯的化学结构。

我们检测了京尼平昔对 PC12 细胞(表达大鼠 GLP-1 受体),HEK293 细胞(稳定表达人 GLP-1 受体)和 HEK293T 细胞(不表达 GLP-1 受体)的过氧化氢保护作用。然后我们进一步用福尔马林实验检测了京尼平昔抑制慢性疼痛的作用。结果发现,京尼平昔浓度依赖式地保护表达有大鼠 GLP-1 受体的 PC12 细胞和稳定表达有人 GLP-1 受体的 HEK293 细胞免受过氧化氢导致的氧化损伤,但是对不表达有 GLP-1 受体的 HEK293T 细胞的过氧化氢损伤无保护作用。Exendin(9-39)能使京尼平昔对 PC12 细胞和 HEK293 细胞过氧化氢损伤保护作用曲线向右移动,但不改变其最大抑制率,并且两种细胞的量效曲线 pA_2 值相当。此外,京尼平昔酸、京尼平、京尼平甲酯、1,10-脱水京

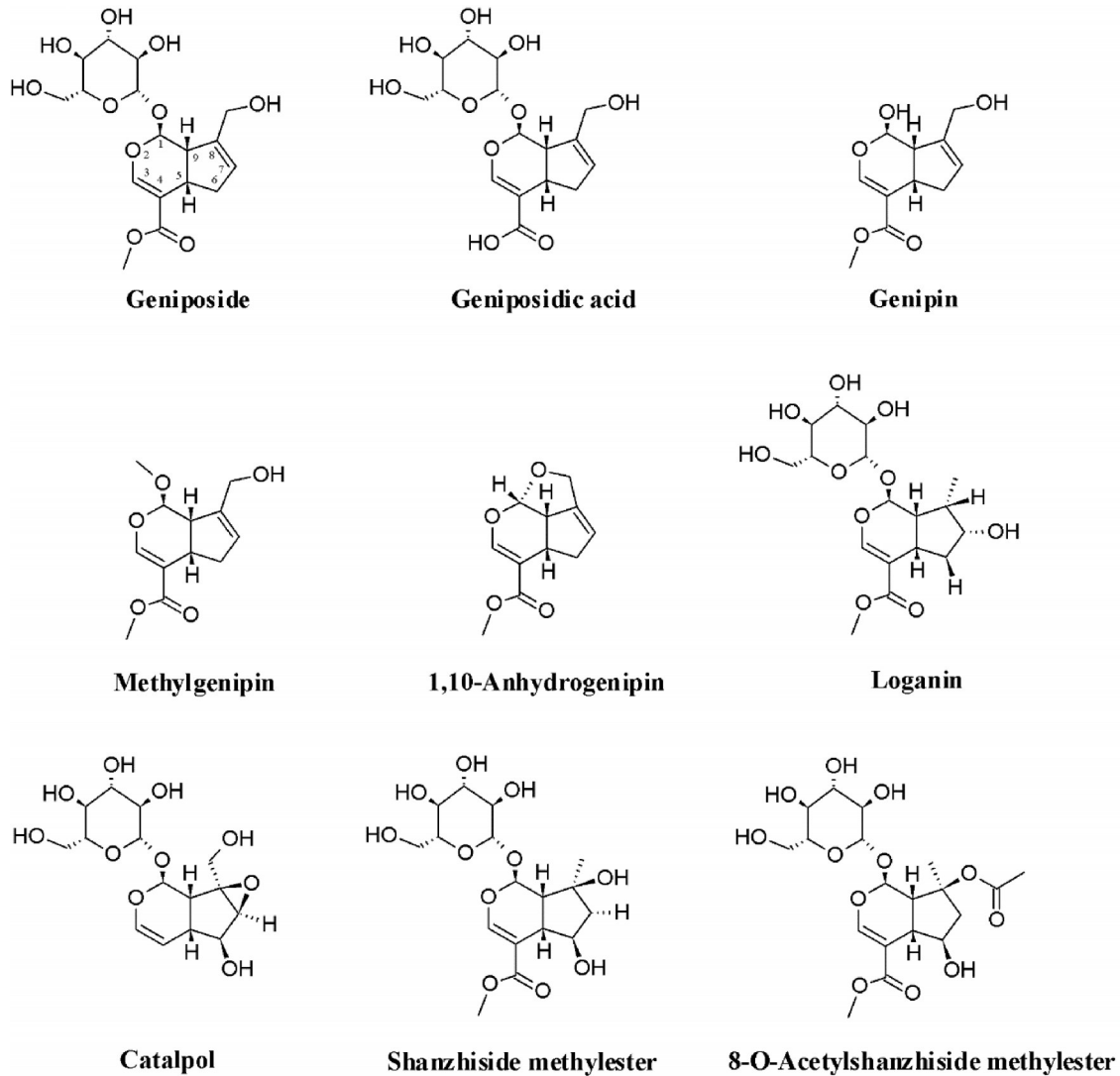


图2 以山栀子苷甲酯和京尼平苷为代表的环烯醚萜化学结构^[28]

Fig.2 The chemical structures of geniposide and the iridoid compounds geniposidic acid, genipin, genipin methyl ether, 1, 10-anhydrogenipin, loganin, catalpol, shanzhiside methylester and 8-O-acetylshanzhiside methylester^[28]

尼平、马钱子苷和梓醇均能有效地抑制过氧化氢导致的细胞损伤,并且上述效应均能被 exendin (9-39)所拮抗^[28]。

皮下注射和口服京尼平苷能剂量依赖的抑制福尔马林诱导的慢性疼痛反应,但对福尔马林诱导的急性疼痛反应无效,最大抑制率分别为72%和68%,ED₅₀分别为13.1 mg/kg和52.7 mg/kg。连续7 d皮下注射京尼平苷和艾塞那肽均没有导致镇痛耐受。蛛网膜下腔注射京尼平苷也可剂量依赖地抑制慢性疼痛反应,并且这种作用能被GLP-1受体拮抗剂 exendin (9-39)和基因沉默剂 siRNA/GLP-1受体完全拮抗。京尼平苷酸、京尼平、京尼平甲酯、1,10-脱水京尼平、马钱子苷和梓醇均能

有效地抑制福尔马林诱发的疼痛反应,并且上述效应均能被 exendin (9-39)所拮抗^[28]。不仅如此,如同艾塞那肽一样^[9],京尼平苷抑制慢性疼痛的作用可被蛛网膜下腔注射腺苷酸环化酶抑制剂和PKA抑制剂完全阻断^[28]。此外,梓醇对脑中动脉阻塞(MCAO)引起脑损伤的神经保护作用亦可被 exendin (9-39)拮抗^[8]。

山茱萸(*Cornus officinalis*)是一味传统的名贵中药,最初记载于《神农本草经》。山茱萸的主要有效化学成分为环烯醚萜苷,其中莫诺昔(morroniside)为裂环环烯醚萜苷,是在闭环的环烯醚萜第7和8位碳之间加入了一个氧原子。莫诺昔具有较好的神经保护作用,具体表现在促进神经细

胞生长、抑制神经细胞氧化应激损伤和抑制神经细胞凋亡^[29-30]。我们最近探索了莫诺昔镇痛活性与 GLP-1 受体之间的关系。研究表明,莫诺昔可完全保护表达有小鼠 GLP-1 受体的 N9 小胶质细胞的过氧化氢损伤作用,EC₅₀ 为 3.6×10^{-7} mol/L; 其保护作用可被 GLP-1 受体拮抗剂平行右移。莫诺昔对表达有人 GLP-1 受体的 HEK293 细胞亦有保护作用,但对不表达有 GLP-1 受体的 HEK293T 细胞无保护作用。莫诺昔灌胃和蛛网膜下腔给药,均可剂量依赖式抑制外周神经损伤所引起的神经病理性疼痛,且给予 7 d 莫诺昔不产生镇痛耐受性。脊髓给予 GLP-1 受体拮抗剂 exendin (9-39) 可完全阻断灌胃和蛛网膜下腔给予莫诺昔

所产生的镇痛作用^[31]。

上述研究提示,京尼平苷、莫诺昔、山栀子苷及其他环烯醚萜化合物是人和大鼠 GLP-1 受体的正构性激动剂,与艾塞那肽和 exendin (9-39) 有相同的结合位点,通过激动脊髓 GLP-1 受体产生抑制慢性疼痛的作用。目前临床上有多种直接作用于受体的 GLP-1 受体激动剂均为肽类,易被蛋白酶水解所以口服使用基本无效。因此寻找能口服的小分子 GLP-1 受体激动剂是目前的研究热点,具有极大挑战性^[5,8]。京尼平苷、莫诺昔、山栀子苷及其他环烯醚萜苷尽管活性较弱,但为研发 GLP-1 受体正构性激动剂镇痛药物提供了一个新的基本结构基团。

参考文献:

- [1] Koole C, Pabreja K, Savage E, et al. Recent advances in understanding GLP-1R (glucagon-like peptide-1 receptor) function [J]. *Biochem Soc Trans*, 2013, 41(1): 172-179.
- [2] Graaf CD, Donnelly D, Wootten D, et al. Glucagon-like peptide-1 and its class B G protein-coupled receptors: A long march to therapeutic successes [J]. *Pharmacol Rev*, 2016, 68(4): 954-1013.
- [3] During MJ, Cao L, Zuzga DS, et al. Glucagon-like peptide-1 receptor is involved in learning and neuroprotection [J]. *Nat Med*, 2003, 9(9): 1173 - 1179.
- [4] Kim S, Moon M, Park S, et al. Exendin-4 protects dopaminergic neurons by inhibition of microglial activation and matrix metalloproteinase-3 expression in an animal model of Parkinson's disease [J]. *J Endocrinol*, 2009, 202(3): 431 - 439.
- [5] Liu Q, Li N, Yuan Y, et al. Cyclobutane derivatives as novel nonpeptidic small molecule agonists of glucagon-like peptide-1 receptor [J]. *J Med Chem*, 2012, 55(1): 250 - 267.
- [6] Gong N, Xiao Q, Zhu B, et al. Activation of spinal glucagon like peptide-1 receptors specifically suppresses pain hypersensitivity [J]. *J Neurosci*, 2014, 34(15): 5322-5334.
- [7] Fan H, Gong N, Li TF, et al. The non-peptide GLP-1 receptor agonist WB4-24 blocks inflammatory nociception by stimulating β-endorphin release from spinal microglia [J]. *Br J Pharmacol*, 2015, 172(1): 64-79.
- [8] Jia Y, Gong N, Li TF, et al. Peptidic exenatide and herbal catalpol mediate neuroprotection via the hippocampal GLP-1 receptor/β-endorphin pathway [J]. *Pharmacol Res*, 2015, 102(3): 276-285.
- [9] Wu HY, Mao XF, Fan H, et al. p38β MAPK signaling mediates exenatide-stimulated microglial β-endorphin expression [J]. *Mol Pharmacol*, 2017, 91(5): 451-463.
- [10] Wu HY, Tan XQ, Mao XF, et al. Autocrine interleukin-10 mediates glucagon-like peptide-1 receptor-induced spinal microglial β-endorphin expression [J]. *J Neurosci*, 2017, 37(48): 11701-11714.
- [11] Wu HY, Tan XQ, Mao XF, et al. Both classic Gs-cAMP/PKA/CREB and alternative Gs-cAMP/PKA/p38β/CREB signal pathways mediate exenatide-stimulated expression of M2 microglial markers [J]. *J Neuroimmunol*, 2018, 316: 17-22.
- [12] Basbaum AI, Bautista DM, Scherrer G, et al. Cellular and molecular mechanisms of pain [J]. *Cell*, 2009, 139(2): 267-284.
- [13] Taves S, Berta T, Chen G, et al. Microglia and spinal cord synaptic plasticity in persistent pain [J]. *Neural Plast*, 2013, 2013(21): 753656.
- [14] Huang Q, Mao XF, Wu HY, et al. Cynandione A attenuates neuropathic pain through p38β MAPK-mediated spinal microglial expression of β-endorphin [J]. *Brain Behav Immun*, 2017, 62(9): 64-77.

- [15] Li TF, Fan H, Wang YX. Aconitum-derived bulleyaconitine A exhibits antihypersensitivity through direct stimulating dynorphin: A expression in spinal microglia [J]. *J Pain*, 2016, 17(5): 530-548.
- [16] Huang Q, Mao XF, Wu HY, et al. Bullatine A stimulates spinal microglial dynorphin A expression to produce anti-hypersensitivity in a variety of rat pain models [J]. *J Neuroinflamm*, 2016, 13(1): 214-225.
- [17] Tsuda M, Mizokoshi A, Shigemoto-Mogami Y, et al. Activation of p38 mitogen-activated protein kinase in spinal hyperactive microglia contributes to pain hypersensitivity following peripheral nerve injury [J]. *Glia*, 2004, 45(1): 89-95.
- [18] Ji RR, Suter MR. p38 MAPK, microglial signaling, and neuropathic pain [J]. *Mol Pain*, 2007, 3(1): 33-45.
- [19] Li TF, Wu HY, Wang YR, et al. Molecular signaling underlying bulleyaconitine A (BAA)-induced microglial expression of prodynorphin [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 45056-45065.
- [20] Fan H, Li TF, Gong N, et al. Shanzhiside methylester, the principle effective iridoid glycoside from the analgesic herb *Lamiophlomis rotata*, reduces neuropathic pain by stimulating spinal microglial β -endorphin expression [J]. *Neuropharmacology*, 2016, 101(12): 98-109.
- [21] 曾阳, 陈学军, 陈振宁. 藏药独一味的研究进展 [J]. *中草药*, 2001, 32(12): 1141-1143.
Zeng Y, Chen XJ, Chen ZY. Advances in Studies on traditional Tibetan herb *Lamiophlomis rotata* [J]. *Chin Trad Herbs drugs*, 2001, 32(12): 1141-1143.
- [22] 李茂星, 贾正平, 张汝学. 镇痛止血药独一味的研究概况 [J]. *中药材*, 2004, 27(3): 222-224.
Li MX, Jia ZP, Zhang RX. Overview of researches on analgesic hemostatic herb *Lamiophlomis rotata* [J]. *Trad Chin Med Herbs*, 2004, 27(3): 222-224.
- [23] Zhu B, Gong N, Fan H et al. *Lamiophlomis rotata*, an orally-available Tibetan herbal painkiller, specifically reduces pain hypersensitivity through the activation of the spinal GLP-1 receptors [J]. *Anesthesiology*, 2014, 121(4): 835-851.
- [24] Perry T, Lahiri DK, Chen D, et al. A novel neurotrophic property of glucagon-like peptide 1: A promoter of nerve growth factor-mediated differentiation in PC12 cells [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2002, 300(3): 958-966.
- [25] Oeseburg H, de Boer RA, Buikema H, et al. Glucagon-like peptide 1 prevents reactive oxygen species-induced endothelial cell senescence through the activation of protein kinase A [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30(7): 1407-1414.
- [26] Liu J, Yin F, Zheng X, et al. Geniposide, a novel agonist for GLP-1 receptor, prevents PC12 cells from oxidative damage via MAP kinase pathway [J]. *Neurochem Int*, 2007, 51(6-7): 361-369.
- [27] Guo LX, Xia ZN, Gao X, et al. Glucagon-like peptide 1 receptor plays a critical role in geniposide-regulated insulin secretion in INS-1 cells [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2012, 33(2): 237-241.
- [28] Gong N, Fan H., Ma AN, et al. Geniposide and its iridoid analogs exhibit antinociception by acting at the spinal GLP-1 receptors [J]. *Neuropharmacology*, 2014, 84(1): 31-45.
- [29] Xu HQ, Hao HP, Zhang X, et al. Morroniside protects cultured human umbilical vein endothelial cells from damage by high ambient glucose [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2004, 25(4): 412-415.
- [30] 艾厚喜, 黄文婷, 王文, 等. 莫诺昔抑制过氧化氢诱导的SH-SY5Y神经细胞氧化损伤 [J]. *中国康复理论与实践*, 2007, 13(11): 1023-1025.
Ai HX, Huang WT, Wang W, et al. Morroniside inhibits H₂O₂-induced oxidative injury in SH-SY5Y neuroblast cells [J]. *Chin J Rehabil Theory Pract*, 2007, 13(11): 1023-1025.
- [31] Xu M, Wu HY, Liu H, et al. Morroniside, a seco-iridoid glycoside from *Cornus officinalis*, attenuates neuropathic pain by activation of spinal glucagon-like peptide-1 receptors [J]. *Br J Pharmacol*, 2017, 174(7): 580-590.

(编辑 刘清海)