

CB2 受体激活对 MPP⁺ 致 SH-SY5Y 细胞损伤的保护作用

万洪丽 马泽刚

(青岛大学医学部基础医学院生理学教研室, 山东 青岛 266071)

[摘要] 目的 研究大麻素 II 型(CB2)受体激活对 1-甲基-4-苯基吡啶离子(MPP⁺)致 SH-SY5Y 细胞损伤的保护作用。方法 根据药物处理的不同将细胞分为正常对照组(C 组)、MPP⁺ 组(M 组)、JWH-133/MPP⁺ 组(J+M 组)以及 JWH-133/AM630/MPP⁺ 组(J+A+M 组)。用免疫印迹法检测各组细胞 CB2 受体和酪氨酸羟化酶(TH)蛋白的表达,用流式细胞仪检测细胞线粒体膜电位($\Delta\Psi_m$)的变化。结果 与 C 组相比,M 组的 CB2 受体蛋白表达下降($P<0.01$);经 JWH-133 预处理后,CB2 受体蛋白表达高于 M 组($P<0.01$),此作用可被 AM630 所阻断;与 C 组相比,M 组的 TH 表达降低($P<0.05$),经 JWH-133 预处理后,TH 表达高于 M 组($P<0.05$),AM630 预处理可抑制此作用;与 C 组相比,M 组细胞的 $\Delta\Psi_m$ 明显下降($P<0.01$),经 JWH-133 预处理后,细胞 $\Delta\Psi_m$ 下降幅度变小($P<0.01$),此作用可被 AM630 所阻断。结论 CB2 受体激活可以抑制 MPP⁺ 对 SH-SY5Y 细胞的损伤作用。

[关键词] 受体,大麻酚,CB2;大麻素受体激动剂;帕金森病;SH-SY5Y 细胞

[中图分类号] R338;R742.5

[文献标志码] A

PROTECTIVE EFFECT OF ACTIVATION OF CANNABINOID RECEPTOR 2 AGAINST 1-METHYL-4-PHENYLPYRIDINIUM-INDUCED INJURY OF SH-SY5Y CELLS WAN Hongli, MA Zegang (Department of Physiology, School of Basic Medicine, Qingdao University, Qingdao 266071, China)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the protective effect of activation of cannabinoid receptor 2 (CB2) against 1-methyl-4-phenylpyridinium (MPP⁺)-induced injury of SH-SY5Y cells. **Methods** SH-SY5Y cells were divided into normal control group (group C), MPP⁺ group (group M), JWH-133/MPP⁺ group (group J+M), and JWH-133/AM630/MPP⁺ group (group J+A+M) according to different drug treatment methods. The expression of CB2 and tyrosine hydroxylase (TH) in cells was determined by Western Blotting, and the changes in mitochondrial membrane potential ($\Delta\Psi_m$) were measured by flow cytometry. **Results** Group M had a significant reduction in the expression of CB2 protein compared with group C ($P<0.01$). After pretreatment with JWH-133, the expression of CB2 protein was significantly higher than that in group M ($P<0.01$), but the effect of JWH-133 could be blocked by AM630. Compared with group C, group M had a significant reduction in the expression of TH protein ($P<0.05$). However, the expression of TH protein was significantly higher than that in group M after pretreatment with JWH-133 ($P<0.05$), and AM630 pretreatment was found to suppress this effect. Group M had a significant decrease in the $\Delta\Psi_m$ of cells compared with group C ($P<0.01$); the decrease in $\Delta\Psi_m$ was reduced after pretreatment with JWH-133 ($P<0.01$), and the effect of JWH-133 could be blocked by AM630. **Conclusion** Activation of CB2 can protect SH-SY5Y cells from the damage caused by MPP⁺.

[KEY WORDS] Receptor, cannabinoid, CB2; Cannabinoid receptor agonists; Parkinson disease; SH-SY5Y cells

帕金森病(PD)被认为是影响老年人的最常见的神经退行性疾病之一。PD 的病理学特征是黑质中多巴胺(DA)能神经元的进行性丢失和纹状体内 DA 的耗竭。PD 的发病机制与遗传易感性、环境损害、氧化应激和神经炎症等有关,但其具体机制仍有待阐明^[1]。人体内的大麻素(CB)系统包括内源性 CB、CB 受体及内源性 CB 的合成酶和降解酶,其中 CB 受体包含 CB I 型(CB1)受体和 CB2 受体。内源性 CB 包括 N-花生四烯酸乙醇胺和 2-花生四烯

酸甘油等,通过与 CB1 受体和 CB2 受体结合而发挥其大部分作用。研究表明,CB 系统参与了 PD 的发病过程,PISANI 等^[2]发现 PD 患者的脑脊液中 N-花生四烯酸乙醇胺的水平升高,GUBELLINI 等^[3]在大鼠 PD 模型中也发现了 N-花生四烯酸乙醇胺的增多。经脂多糖(LPS)损伤的小鼠,其纹状体和黑质中 CB2 受体 mRNA 水平升高^[4]。另外利血平诱导的 PD 大鼠出现运动抑制症状并伴有苍白球中 2-花生四烯酸甘油的成倍增加^[5],有临床研究表明 CB 可以改善 PD 患者的运动和非运动症状^[6]。

在阿尔茨海默病、PD、亨廷顿舞蹈病和肌萎缩侧索硬化症等多种神经退行性疾病的动物模型中,

[收稿日期] 2019-02-19; **[修订日期]** 2019-03-25

[基金项目] 山东省自然科学基金面上项目(ZR2016CM04)

[通讯作者] 马泽刚,Email:mazegang2000@163.com

CB2 受体的激活表现出神经保护作用^[7]。近年来, CB2 受体已成为 PD 的潜在抗炎靶标。CB2 受体是一种 G 蛋白耦联受体, 于 1993 年从脾脏和 HL60 细胞中鉴定并克隆出来^[8]。早期研究表明, CB2 受体仅存在于免疫系统的组织和细胞中, 在中枢神经系统中未见表达^[9-10]。而最新的研究表明, CB2 受体不仅表达在外周组织, 在中枢神经系统中也有广泛表达, 包括中脑腹侧被盖区、黑质、海马、脑干及纹状体等^[10]。CB2 受体不仅表达于小胶质细胞^[11], 在星形胶质细胞和神经元中也有表达^[7]。研究显示, PD 患者黑质酪氨酸羟化酶(TH)阳性神经元中 CB2 受体水平显著低于对照组^[12]。而胶质细胞上 CB2 受体的激活可以通过抑制炎症反应来保护 DA 能神经元^[13-14], 但目前 DA 能神经元上的 CB2 受体激活是否对神经元直接起保护作用尚未见报道。SH-SY5Y 细胞上存在 CB 系统^[15], 本研究利用 1-甲基-4-苯基吡啶离子(MPP⁺)诱导的 SH-SY5Y 细胞作为 PD 的细胞模型, 选择比 CB1 受体选择性高 200 倍的 JWH-133 作为 CB2 受体激动剂^[16], 并选择 AM630 作为 CB2 受体拮抗剂, 通过检测 DA 能神经元的标志蛋白 TH 的表达量和反映线粒体功能的细胞线粒体膜电位($\Delta\Psi_m$)来确定 JWH-133 激活 CB2 受体是否对 SH-SY5Y 细胞具有保护作用。

1 材料与方法

1.1 实验材料

DMSO、MPP⁺ 以及罗丹明 123 购自美国 Sigma-Aldrich 公司; DMEM 高糖培养基和胎牛血清购自以色列 Biological Industries 公司; 青霉素/链霉素溶液购自索莱宝公司; JWH-133 和 AM630 购自美国 Tocris Bioscience 公司; 兔源 TH 抗体购自美国 Millipore 公司; 兔源 CB2 抗体购自英国 Abcam 公司; 兔源 β -actin 抗体购自博奥森生物技术有限公司; HRP 标记山羊抗兔 IgG 购自联科生物技术有限公司。

1.2 细胞培养及分组

在 37 ℃、含体积分数 0.05 的 CO₂ 细胞培养箱中, 用含有体积分数为 0.05 的胎牛血清和体积分数为 0.01 的青霉素/链霉素的高糖培养基培养 SH-SY5Y 细胞。细胞分为正常对照组(C 组)、MPP⁺ 组(M 组)、JWH-133/MPP⁺ 组(J+M 组)及 JWH-133/AM630/MPP⁺ 组(J+A+M 组)。C 组正常培养, M 组用 MPP⁺ (1 mmol/L) 处理细胞 24 h, J+M 组用 JWH-133 (1 μ mol/L) 预处理细胞 30 min, 然后

加入 MPP⁺ (1 mmol/L) 共孵育 24 h, J+A+M 组用 JWH-133 (1 μ mol/L) 和 AM630 (1 μ mol/L) 预处理细胞 30 min, 然后加入 MPP⁺ (1 mmol/L) 共孵育 24 h。在实验以前将 JWH-133 和 AM630 溶于 DMSO, 制成储备溶液 (1 mmol/L), 加药前用培养基稀释至工作溶液。

1.3 流式细胞术检测细胞 $\Delta\Psi_m$ 的变化

细胞经药物处理结束后, 吸净培养板中的培养液, 用 HEPES 平衡盐溶液(HBS)清洗细胞 3 次, 然后加入现配的罗丹明 123 (5 mg/L), 放置在细胞培养箱中避光孵育 30 min。吸除罗丹明 123, 用 HBS 清洗细胞 3 次, 然后每孔加入 1 mL 的 HBS, 轻轻刮下细胞并缓慢吹打制成细胞悬液, 用 300 目筛网分别过滤各孔细胞悬液。FCS/SSC 设门, 在流式细胞仪激发波长 488 nm 和发射波长 525 nm 下, 收集门内 1×10^4 个细胞, 用 CELL Quest Pro 软件分析每孔细胞的荧光强度, 实验重复 7 次。

1.4 免疫印迹法检测细胞 CB2 受体和 TH 蛋白的表达

细胞经药物处理结束后, 吸净培养板中的培养液, 每孔中加入 100 μ L 的裂解液(RIPA 裂解液: PMSF=99:1), 冰上放置 30 min, 然后将刮下的蛋白分别放入相应的 EP 管中。在 4 ℃, 12 000 r/min 条件下离心 20 min, 每 EP 管取上清液 80 μ L, 采用 BCA 法测定蛋白浓度。每组蛋白上样量为 40 μ g, 电泳电压为 80 V; 将蛋白转移至 PDVF 膜上, 转膜电流 300 mA, 共 90 min。用 50 g/L 的脱脂奶粉封闭 1.5 h, 然后将 PDVF 膜放入相应的一抗溶液中, 置于 4 ℃摇床上过夜, TBST 清洗 3 次后, 将 PDVF 膜放入二抗中, 孵育 1 h, 再用 TBST 清洗 3 次, 然后用 ECL 显色液处理进行显影, 实验重复 5 次。目的蛋白的表达分别用 CB2、TH 与 β -actin 灰度值的比值表示。

2 结果

2.1 JWH-133 对于 MPP⁺ 诱导的 SH-SY5Y 细胞 CB2 受体表达的影响

免疫印迹法检测结果显示, C 组、M 组、J+M 组和 J+A+M 组的 CB2 受体的相对表达量分别为 1.16 ± 0.05 、 0.86 ± 0.10 、 1.16 ± 0.06 和 0.84 ± 0.08 , 差异有统计学意义 ($F = 21.72$, $P < 0.05$)。与 C 组相比, M 组 SH-SY5Y 细胞 CB2 受体的表达显著降低 ($P < 0.01$); 而 J+M 组细胞中 CB2 受体的表达高于 M 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); J+A+

M 组细胞中 CB2 受体的表达低于 J+M 组,差异有统计学意义($P<0.01$)。JWH-133 的预处理可以抑制 MPP⁺ 诱导的 SH-SY5Y 细胞 CB2 受体蛋白水平的降低(图 1)。

2.2 JWH-133 对 MPP⁺ 诱导的 SH-SY5Y 细胞 TH 表达的影响

免疫印迹法检测结果显示,C 组、M 组、J+M 组和 J+A+M 组 SH-SY5Y 细胞 TH 蛋白的相对表达量分别为 1.08 ± 0.09 、 0.82 ± 0.14 、 1.06 ± 0.08 和 0.72 ± 0.13 ,差异有显著统计学意义($F=10.12$, $P<0.05$)。与 C 组相比较,M 组细胞 TH 的表达降低($P<0.05$);经 JWH-133 预处理后,细胞 TH 表达高于 M 组,差异具有显著统计学意义($P<0.05$);J+A+M 组细胞 TH 的表达低于 J+M 组,差异有统计学意义($P<0.01$)。JWH-133 的预处理可以抑制 MPP⁺ 诱导的 SH-SY5Y 细胞 TH 蛋白水平的降低(图 2)。

2.3 JWH-133 对 MPP⁺ 诱导的 SH-SY5Y 细胞中 $\Delta\Psi_m$ 的影响

C 组、M 组、J+M 组和 J+A+M 组 SH-SY5Y 细胞中 $\Delta\Psi_m$ 的水平分别为 0.86 ± 2.27 、 -31.14 ± 10.48 、 -17.55 ± 6.47 和 -29.11 ± 6.82 ,差异有统计学意义($F=29.61$, $P<0.05$)。与 C 组相比,M 组细胞中 $\Delta\Psi_m$ 显著降低($P<0.01$);经 JWH-133 预处理后,细胞中 $\Delta\Psi_m$ 的下降幅度变小,差异有统计学意义($P<0.01$);加入 CB2 受体拮抗剂 AM630 后,细胞中 $\Delta\Psi_m$ 下降幅度较 J+M 组加大,差异有统计学意义($P<0.05$)。JWH-133 的预处理可以减少 MPP⁺ 对线粒体的损伤(图 3)。

3 讨 论

越来越多的研究发现 CB2 受体在 PD 中起着非常重要的作用。CHUNG 等^[14]发现 CB2 受体激动剂 WIN55,212-2 和 JWH-133 可以增加 MPTP 诱导的小鼠黑质区 TH 阳性细胞的数量以及纹状体内 TH 阳性纤维的密度;JAVED 等^[13]发现大麻的重要成分 β -石竹烯可以显著防止由鱼藤酮诱导的大鼠黑质中 DA 能神经元和纹状体 TH 阳性纤维的丢失, β -石竹烯的这种保护作用可以被 CB2 受体拮抗剂 AM630 逆转。SHI 等^[17]又发现 CB2 受体激动剂 AM1241 可以有效改善 MPTP 诱导的 PD 小鼠运动迟缓,并且 DA 和 5-羟色胺的水平较未使用 AM1241 的 PD 小鼠升高,还可以促进黑质中的神经再生。

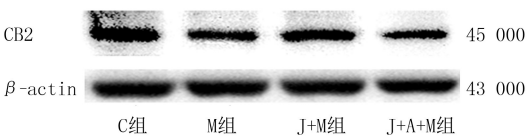


图 1 JWH-133 对 MPP⁺ 损伤的 SH-SY5Y 细胞 CB2 受体表达的影响

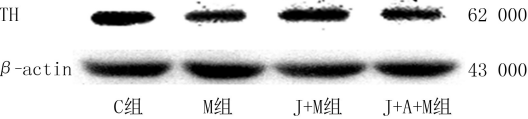


图 2 JWH-133 对 MPP⁺ 损伤的 SH-SY5Y 细胞 TH 表达的影响

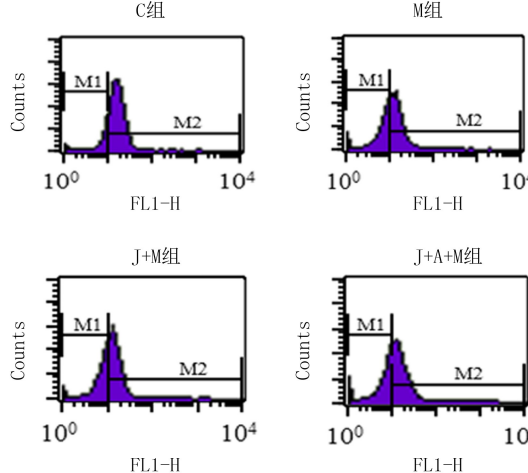


图 3 JWH-133 对 MPP⁺ 损伤的 SH-SY5Y 细胞 $\Delta\Psi_m$ 的影响

本研究采用 SH-SY5Y 细胞模拟 DA 能神经元,发现 CB2 受体激活可以保护 SH-SY5Y 细胞免受 MPP⁺ 的神经毒性作用。同时免疫印迹实验检测到 J+M 组细胞 TH 蛋白表达量明显高于 M 组,而加入 CB2 受体拮抗剂 AM630 后,细胞 TH 蛋白的表达量又下降,提示直接激活 CB2 受体能有效拮抗 MPP⁺ 的毒性作用。CB2 受体对 DA 能神经元有保护作用,其机制是什么呢? 研究结果表明,CB2 受体可以通过参与炎症反应起到神经保护作用。GÓMEZ-GÁLVEZ 等^[4]观察到经 LPS 损伤后,CB2 受体缺陷小鼠与野生型小鼠相比,黑质中 DA 能神经元的丢失更严重,使用 HU-308 激活 CB2 受体逆转了 LPS 诱导的纹状体中 CD68 免疫染色增多和黑质中 DA 能神经元的减少,并且 CB2 受体的激活降低了小鼠纹状体中 iNOS 的 mRNA 的表达。CHUNG 等^[14]发现 CB2 受体激活后,MPTP 损伤的小鼠黑质中激活的小胶质细胞数量减少,促炎因子和星型胶质细胞中的髓过氧化物酶表达也减少,并且外周免疫细胞在黑质区的浸润减轻。以上结果均提示,CB2 受体的神经保护作用可能和 CB2 受体激活抑制炎症反应相关。TAO 等^[18]发现 CB2 受体激活可以抑制神经炎症,其机制是通过调控 cAMP/

PKA 信号通路促进小胶质细胞由 M1 型向 M2 型极化。同样,LUO 等^[19]发现 CB2 受体激活后可通过调控 mTOR/NF- κ B 参与小胶质细胞 M1/M2 极化,抑制炎症反应。在 LPS/IFN- γ 诱导的小鼠中,N-花生四烯酸乙醇胺激活 CB2 受体,通过 ERK1/2 和 JNK 通路导致 IL-10 增加,进而抑制小胶质细胞产生促炎细胞因子 IL-12 和 IL-23^[20-21]。同时 CB2 受体的激活可以通过抑制小胶质细胞中 ERK1/2 的磷酸化,减少中枢神经系统中 iNOS 的产生从而起到神经保护作用^[22]。OH 等^[23]研究发现,CB2 受体的激活通过抑制调节促炎反应的转录因子 NF- κ B,进而抑制 TNF- α 的产生,减轻神经炎症反应。

近来的研究表明,CB2 受体激活可以抑制 DMT1 磷酸化,减弱细胞对铁的摄入^[24]。铁在细胞内过量聚集可引起氧化应激反应,损伤线粒体电子传递链,进而损伤细胞。神经元上也存在 CB2 受体,单独激活神经元上的 CB2 受体,是否可以通过保护线粒体而对神经元直接起保护作用呢?因此,本研究观察了 CB2 受体激活对细胞 $\Delta\Psi_m$ 的影响,结果显示加入 CB2 受体激动剂 JWH-133 后,细胞 $\Delta\Psi_m$ 的下降幅度较 MPP⁺ 单独处理时变小,并且 JWH-133 的作用可被 CB2 受体阻断剂 AM630 所阻断。因此,我们推测 CB2 受体激活后可以通过保护线粒体功能减弱 MPP⁺ 对 SH-SY5Y 细胞的损伤,提示 DA 能神经元上的 CB2 受体激活具有保护神经元的作用。

JWH-133 激活 CB2 受体,减弱了细胞 $\Delta\Psi_m$ 的下降,即延缓了细胞凋亡,那么其抑制细胞凋亡的机制是什么呢?研究发现在心肌缺血再灌注模型中,CB2 受体被 JWH-133 激活后,通过调节线粒体介导的细胞凋亡途径和 PI3K/AKT 信号通路抑制细胞凋亡^[25]。而在大鼠蛛网膜下腔出血模型中,CB2 受体激活后通过 pCREB/Bcl-2 途径增加 Bcl-2 蛋白的表达并抑制促凋亡蛋白 caspase-3 的表达,从而减弱细胞凋亡^[26]。使用 CB2 受体激动剂 β -石竹烯治疗多柔比星诱导的大鼠发现,CB2 受体的激活可以下调促凋亡蛋白 Bax、p53 和 caspase-3 的表达,并且上调抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达^[27]。还有研究发现,CB2 受体激动剂 AM1241 可以减轻胆管结扎大鼠 p53 依赖性细胞凋亡^[28]。N-硬脂酰-1-酪氨酸可以通过 CB2 受体抑制 H₂O₂ 诱导的 HEK293/Tau 细胞中 p53 等的表达,从而减轻细胞凋亡^[29]。研究显示 CB2 受体激动剂 JWH-133 可下调促凋亡 JNK 的基础活性,CB2 受体拮抗剂 AM630 的作用则与

之相反^[30]。由以上研究可知,CB2 受体的激活在抑制细胞凋亡中起重要作用。

总之,CB2 受体激活可以对神经元起保护作用,但具体机制还需要进一步研究。

[参考文献]

- [1] TOLLESON C M, FANG J Y. Advances in the mechanisms of Parkinson's disease[J]. *Discov Med*, 2013,15(80):61-66.
- [2] PISANI A, FEZZA F, GALATI S, et al. High endogenous cannabinoid levels in the cerebrospinal fluid of untreated Parkinson's disease patients[J]. *Ann Neurol*, 2005,57(5):777-779.
- [3] GUBELLINI P, PICCONI B, BARI M, et al. Experimental parkinsonism alters endocannabinoid degradation: Implications for striatal glutamatergic transmission[J]. *J Neurosci*, 2002,22(16):6900-6907.
- [4] GÓMEZ-GÁLVEZ Y, PALOMO-GARO C, FERNÁNDEZ-RUIZ J, et al. Potential of the cannabinoid CB(2) receptor as a pharmacological target against inflammation in Parkinson's disease [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2016,64:200-208.
- [5] DI MARZO V, HILL M P, BISOGNO T, et al. Enhanced levels of endogenous cannabinoids in the globus pallidus are associated with a reduction in movement in an animal model of Parkinson's disease[J]. *FASEB J*, 2000,14(10):1432-1438.
- [6] STAMPANONI BASSI M, SANCESARIO A, MORACE R, et al. Cannabinoids in Parkinson's disease[J]. *Cannabis Cannabinoid Res*, 2017,2(1):21-29.
- [7] FERNÁNDEZ-RUIZ J, ROMERO J, VELASCO G, et al. Cannabinoid CB2 receptor: A new target for controlling neural cell survival[J]? *Trends Pharmacol Sci*, 2007,28(1):39-45.
- [8] MUNRO S, THOMAS K L, ABU-SHAAR M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids[J]. *Nature*, 1993,365(6441):61-65.
- [9] FERNÁNDEZ-RUIZ J, PAZOS M R, GARCÍA-ARENCIBIA M, et al. Role of CB2 receptors in neuroprotective effects of cannabinoids[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2008,286(1-2 Suppl 1):S91-S96.
- [10] CHEN D J, GAO M, GAO F F, et al. Brain cannabinoid receptor 2: Expression, function and modulation[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2017,38(3):312-316.
- [11] PRICE D A, MARTINEZ A A, SEILLIER A, et al. WIN55,212-2, a cannabinoid receptor agonist, protects against nigrostriatal cell loss in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine mouse model of Parkinson's disease[J]. *Eur J Neurosci*, 2009,29(11):2177-2186.
- [12] GARCÍA M C, CINQUINA V, PALOMO-GARO C, et al. Identification of CB2 receptors in human nigral neurons that degenerate in Parkinson's disease[J]. *Neurosci Lett*, 2015,587:1-4.
- [13] JAVED H, AZIMULLAH S, HAQUE M E, et al. Cannabi-

- noid type 2 (CB2) receptors activation protects against oxidative stress and neuroinflammation associated dopaminergic neurodegeneration in rotenone model of parkinson's disease[J]. *Front Neurosci*, 2016,10:321.
- [14] CHUNG Y C, SHIN W H, BAEK J Y, et al. CB2 receptor activation prevents glial-derived neurotoxic mediator production, BBB leakage and peripheral immune cell infiltration and rescues dopamine neurons in the MPTP model of Parkinson's disease[J]. *Exp Mol Med*, 2016,48(1):e205.
- [15] PASQUARIELLO N, CATANZARO G, MARZANO V, et al. Characterization of the endocannabinoid system in human neuronal cells and proteomic analysis of anandamide-induced apoptosis[J]. *J Biol Chem*, 2009,284(43):29413-29426.
- [16] HUFFMAN J W, LIDDLE J, YU S, et al. 3-(1',1'-Dimethylbutyl)-1-deoxy-delta8-THC and related compounds: Synthesis of selective ligands for the CB2 receptor[J]. *Bioorg Med Chem*, 1999,7(12):2905-2914.
- [17] SHI J, CAI Q, ZHANG J, et al. AM1241 alleviates MPTP-induced Parkinson's disease and promotes the regeneration of DA neurons in PD mice[J]. *Oncotarget*, 2017,8(40): p. 67837-67850.
- [18] TAO Y H, LI L, JIANG B, et al. Cannabinoid receptor-2 stimulation suppresses neuroinflammation by regulating microglial M1/M2 polarization through the cAMP/PKA pathway in an experimental GMH rat model[J]. *Brain Behav Immun*, 2016,58:118-129.
- [19] LUO X Q, LI A, YANG X, et al. Paeniflorin exerts neuroprotective effects by modulating the M1/M2 subset polarization of microglia/macrophages in the hippocampal CA1 region of vascular dementia rats via cannabinoid receptor 2[J]. *Chin Med*, 2018,13:14.
- [20] CORREA F, DOCAGNE F, MESTRE L, et al. A role for CB2 receptors in anandamide signalling pathways involved in the regulation of IL-12 and IL-23 in microglial cells[J]. *Biochem Pharmacol*, 2009,77(1):86-100.
- [21] CORREA F, HERNANGÓMEZ M, MESTRE L, et al. Anandamide enhances IL-10 production in activated microglia by targeting CB(2) receptors: Roles of ERK1/2, JNK, and NF-kappaB[J]. *Glia*, 2010,58(2):135-147.
- [22] TANG J, TAO Y H, TAN L, et al. Cannabinoid receptor 2 attenuates microglial accumulation and brain injury following germinal matrix hemorrhage via ERK dephosphorylation in vivo and in vitro[J]. *Neuropharmacology*, 2015,95:424-433.
- [23] OH Y T, LEE J Y, LEE J, et al. Oleamide suppresses lipopolysaccharide-induced expression of iNOS and COX-2 through inhibition of NF-kappaB activation in BV2 murine microglial cells[J]. *Neurosci Lett*, 2010,474(3):148-153.
- [24] SEO Y A, KUMARA R, WETLI H, et al. Regulation of divalent metal transporter-1 by serine phosphorylation[J]. *Biochem J*, 2016,473(22):4243-4254.
- [25] LI Q, WANG F, ZHANG Y M, et al. Activation of cannabinoid type 2 receptor by JWH133 protects heart against ischemia/reperfusion-induced apoptosis[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2013,31(4-5):693-702.
- [26] FUJII M, SHERCHAN P, SOEJIMA Y, et al. Cannabinoid receptor type 2 agonist attenuates apoptosis by activation of phosphorylated CREB-Bcl-2 pathway after subarachnoid hemorrhage in rats[J]. *Exp Neurol*, 2014,261:396-403.
- [27] MEERAN M F N, AL TAE H, AZIMULLAH S, et al. B-Caryophyllene, a natural bicyclic sesquiterpene attenuates doxorubicin-induced chronic cardiotoxicity via activation of myocardial cannabinoid type-2 (CB2) receptors in rats[J]. *Chem Biol Interact*, 2019,304:158-167.
- [28] MAHMOUD H M, OSMAN M, ELSHABRAWY O, et al. AM-1241 CB2 receptor agonist attenuates inflammation, apoptosis and stimulate progenitor cells in bile duct ligated rats[J]. *Open Access Maced J Med Sci*, 2019,7(6):925-936.
- [29] HU Y, ZHOU K Y, WANG Z J, et al. N-stearoyl-L-Tyrosine inhibits the cell senescence and apoptosis induced by H₂O₂ in HEK293/Tau cells via the CB2 receptor[J]. *Chem Biol Interact*, 2017,272:135-144.
- [30] SALORT G, ÁLVARO-BARTOLOMÉ M, GARCÍA-SEVILLA J A. Regulation of cannabinoid CB2 receptor constitutive activity in vivo: Repeated treatments with inverse agonists reverse the acute activation of JNK and associated apoptotic signaling in mouse brain[J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2017,234(6):925-941.

(本文编辑 耿波 厉建强)

(上接第 239 页)

- [16] KRABBE G, HALLE A, MATYASH V, et al. Functional impairment of microglia coincides with Beta-amyloid deposition in mice with Alzheimer-like pathology[J]. *PLoS One*, 2013,8(4):e60921.
- [17] MICHAEL T H, MONICA J C, JOSEPH E K, et al. Neuroinflammation in Alzheimer's Disease[J]. *HHS Public Access*, 2015,14(4):388-405.
- [18] ZHANG W, XING B C, YANG L L, et al. Icaritin attenuates myocardial ischemia and reperfusion injury via anti-inflammatory and anti-oxidative stress effects in rats[J]. *Am J Chin Med*, 2015,43(6):1083-1097.
- [19] HU J M, YANG T, XU H, et al. A novel anticancer agent icaritin inhibited proinflammatory cytokines in TRAMP mice[J]. *Int Urol Nephrol*, 2016,48(10):1649-1655.
- [20] 邹晓岚,叶茸茸,王洋,等. 胰岛素样生长因子-1 及其受体在肿瘤中的研究进展[J]. *重庆医学*, 2018,47(18):2474-2476,2479.
- [21] LAVIOLA L, NATALICCHIO A, GIORGINO F. The IGF-I signaling pathway[J]. *Curr Pharm Des*, 2007,13(7):663-669.
- [22] WANG Z, ZHANG X, WANG H, et al. Neuroprotective effects of icaritin against beta amyloid-induced neurotoxicity in primary cultured rat neuronal cells via estrogen-dependent pathway[J]. *Neuroscience*, 2007,145(3):911-922.

(本文编辑 耿波 厉建强)