

DOI: 10.13376/j.cblls/2018005

文章编号: 1004-0374(2018)01-0037-06

## 毒品成瘾与自噬的研究进展

黄鑫<sup>1</sup>, 杨璐<sup>2</sup>, 王雨霏<sup>1</sup>, 魏曙光<sup>1</sup>, 陈苏<sup>1\*</sup>

(1 西安交通大学医学部法医学院, 西安 710061; 2 西安交通大学第一附属医院转化医学中心, 西安 710061)

**摘要:** 毒品成瘾是一种严重危害人类健康和社会安定的疾病, 但目前还缺乏有效的治疗药物和治疗手段。大量研究表明, 自噬与毒品成瘾有着密不可分的联系, 在毒品成瘾中有着重要的作用。因此, 了解毒品成瘾过程中自噬及其相关分子的变化规律, 将有助于人们对毒品成瘾机制及戒断的理解。现将以自噬为关注点, 重点介绍自噬与毒品成瘾之间的相互关系, 对该领域的研究进展进行综述。

**关键词:** 毒品成瘾; 自噬; 甲基苯丙胺; 吗啡; 可卡因; 大麻

**中图分类号:** Q25; R966 **文献标志码:** A

## Drug addiction and autophagy

HUANG Xin<sup>1</sup>, YANG Lu<sup>2</sup>, WANG Yu-Fei<sup>1</sup>, WEI Shu-Guang<sup>1</sup>, CHEN Su<sup>1\*</sup>

(1 School of Forensic Medicine, Xi'an Jiaotong University Health Science Center, Xi'an 710061, China;

2 Center for Translational Medicine at the First Affiliated Hospital,

Xi'an Jiaotong University Health Science Center, Xi'an 710061, China)

**Abstract:** Drug addiction is a chronic recurrent encephalopathy which severely damages human health and affects social stability. A large number of studies have showed that autophagy plays key roles in drug addiction. Therefore, understanding the dynamics of autophagy during drug addiction may help us to understand the molecular mechanisms of drug addiction and develop effective therapeutic tools. In this review, we will focus on autophagy, and summarize the recent progresses about autophagy and drug addiction.

**Key words:** drug addiction; autophagy; methamphetamine; morphine; cocaine; cannabinoids

毒品成瘾 (drug addiction) 是一种慢性复发性脑病, 其机理十分复杂, 患者往往表现出对毒品的高度渴求和依赖等<sup>[1]</sup>。毒品成瘾一方面严重危害吸毒者的身体和精神健康, 同时也对社会安定造成严重影响。毒品成瘾已成为全球普遍存在的严重社会卫生问题。因此, 深入研究毒品成瘾的分子机制, 对于开发有效的毒品成瘾治疗手段或寻找有效的靶向治疗药物具有重要的应用意义。

自噬 (autophagy) 的概念由 Christian Duve 于 1963 年首次提出。它是指细胞内一些需降解的蛋白质和细胞器等成分被双层膜包裹, 并运送到溶酶体进行降解的过程<sup>[2]</sup>。自噬在进化上十分保守, 其主要功能是降解内源或外源性生物大分子 (如蛋白质等)、细胞器 (如线粒体等) 以及病原微生物, 进而实现氨基酸等不同生物小分子的再循环, 这对细胞内环

境稳态的维持尤其重要, 并在一定程度上决定了应激状态下细胞的命运<sup>[3]</sup>。自噬的活性随着细胞处于不同的状态发生动态变化。在基础状态下, 细胞自噬一般处于较低水平, 但在饥饿、营养缺乏等应激状态下自噬水平就会快速上调, 通过分解细胞自身细胞器和生物大分子, 从而暂时获得能量<sup>[4]</sup>。自噬的激活涉及多个过程, 包括自噬体的形成, 以及自噬体与溶酶体的融合、成熟等<sup>[5]</sup>。自噬异常与诸多

收稿日期: 2017-07-28; 修回日期: 2017-09-13

基金项目: 国家自然科学基金项目(81773009); 中央高校基本科研业务费项目(2017qngz13); 中国博士后科学基金项目(2017M613149); 国家重点研发计划(2016YFA0100400); 国家重大科学研究计划(2015-CB964800)

\*通信作者: E-mail: chensu@xjtu.edu.cn

疾病的发生发展相关,包括肿瘤、神经系统疾病以及免疫系统疾病等<sup>[6]</sup>。由此可见,自噬在细胞中扮演着重要的调节作用,研究自噬可以进一步揭示诸多疾病的发病机理,从而为治疗打下基础。

越来越多的研究表明,自噬与毒品成瘾同样有着紧密的联系。甲基苯丙胺、吗啡、可卡因及大麻类毒品的使用都会引起不同程度的自噬相关蛋白表达变化以及自噬活性的改变。现对不同种类毒品暴露和自噬之间关系的有关研究进展分别进行综述。

## 1 甲基苯丙胺与自噬

甲基苯丙胺又称为去氧麻黄碱,是苯丙胺的衍生物,我国将它称为“冰毒”。研究表明,甲基苯丙胺暴露时,自噬扮演着神经保护性的作用<sup>[7-12]</sup>。甲基苯丙胺的滥用会引起神经元中过量单胺类神经递质的释放,尤其是突触多巴胺的释放。多巴胺对于神经末梢具有毒性,随着多巴胺的聚集,神经元内氧自由基的水平增加,随后泛素-蛋白酶体系统出现功能障碍,内质网出现应激,p53及炎症细胞因子的表达被诱导,微管蛋白发生去乙酰化,而这一系列过程会导致蛋白质损伤及其功能障碍,进而导致神经毒性的产生,最终导致自噬活性的上调<sup>[13]</sup>。但通过自噬机制的诱导,急性暴露于甲基苯丙胺后的细胞会产生早期促生存反应。甲基苯丙胺的急性

暴露会引起 Akt/mTOR 信号通路的失活,同时细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinase, ERK) 1/2 上调,从而诱导 Beclin1 和微管相关蛋白 1 轻链 3 (microtubule-associated protein 1-light chain 3, LC3) 到自噬体募集的早期增加,而抑制 Kappa 阿片受体,并用自噬抑制剂处理会加速甲基苯丙胺诱导的细胞凋亡。这一结果表明,甲基苯丙胺诱导的早期自噬反应是细胞的一种存活机制,并由 Kappa 阿片受体所介导(图 1)。由于甲基苯丙胺暴露会损害血脑屏障,甲基苯丙胺滥用所产生的部分神经毒性可能是由于血脑屏障受损所致。因此,上述研究表明,Kappa 阿片受体有望成为治疗甲基苯丙胺诱导的血脑屏障功能障碍的分子靶点<sup>[7]</sup>。在体外培养的中脑多巴胺能神经元中发现,甲基苯丙胺诱导的早期自噬激活与细胞蛋白酶体功能的下降以及线粒体膜电位的破坏有关。甲基苯丙胺暴露诱导了 PKC $\delta$ 、caspase-3 的激活以及 LC3 II 水平的显著增加。重要的是,抑制自噬后,多巴胺能神经元对甲基苯丙胺诱导的细胞凋亡更加敏感,而过表达 LC3 则可保护细胞使其免于经历细胞凋亡的命运<sup>[11]</sup>。也有文献报道,甲基苯丙胺以一种剂量依赖的方式诱导 SK-N-SH 多巴胺能神经元中 LC3 II 的表达,并且抑制 mTOR 的磷酸化<sup>[12]</sup>。在星形胶质细胞中,甲基苯丙胺会通过 *Beclin1* 和 *Atg5/Atg7* 来

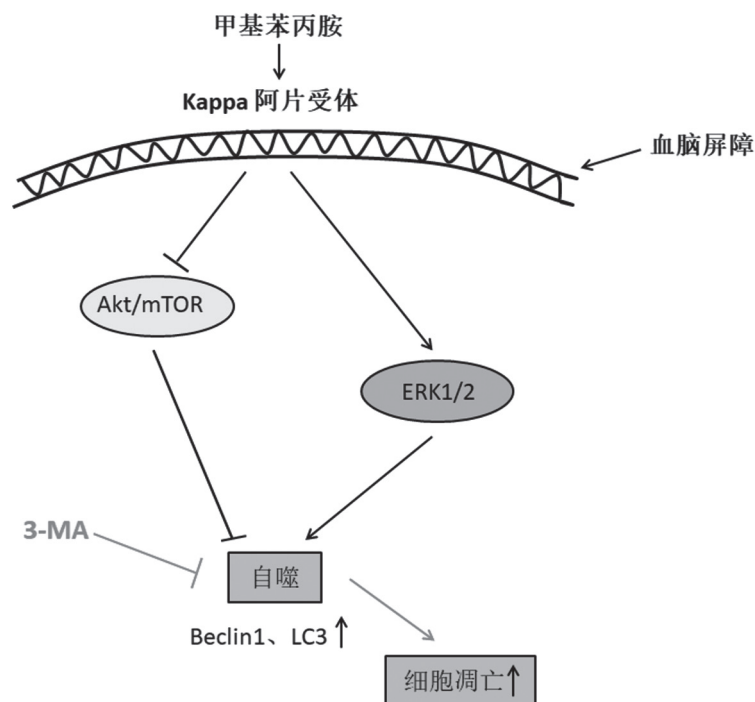


图1 甲基苯丙胺与自噬

增强 HIV-1 gp120 蛋白介导的自噬,作为细胞的一种促生存反应来应答 HIV 的感染<sup>[14]</sup>。甲基苯丙胺可以加剧 HIV 感染个体的神经病理学功能障碍,这种神经病理学改变与中枢神经系统的细胞死亡或者其功能障碍密切相关,自噬在其中同样发挥着重要作用。在某些情况下,自噬对细胞具有保护作用,然而,过度自噬则具有破坏性,会导致自噬性的细胞死亡。在星形胶质细胞中,甲基苯丙胺和 gp120 IIIb 蛋白都可以以剂量和时间依赖性的方式引起细胞 LC3 II 水平的增加,并且在甲基苯丙胺和 gp120 IIIb 联合刺激时,LC3 II 水平进一步增加。研究发现,甲基苯丙胺是通过阿片受体和 mGluR5 受体诱导细胞发生自噬的。除此之外,信号蛋白 Akt、mTOR、Beclin1、ATG5 以及 ATG7 也参与了甲基苯丙胺和 gp120 介导的自噬激活过程。另外,长期甲基苯丙胺和 gp120 IIIb 处理会导致细胞死亡,抑制自噬后这种情况会进一步加剧。这表明,自噬具有一种保护性作用,可以抑制甲基苯丙胺和 gp120 蛋白引起的细胞凋亡。这项研究与临床实际紧密相关,因为在 HIV 感染的人群中,甲基苯丙胺的滥用现象十分流行,并且甲基苯丙胺的滥用会加剧 HIV 感染人群的中枢神经系统艾滋病<sup>[14]</sup>。

甲基苯丙胺暴露可以诱导细胞产生活性氧(reactive oxygen species, ROS),细胞凋亡和自噬,从而引起机体神经元损伤。研究发现,牛磺酸可以通过 mTOR 信号通路来减弱 PC12 细胞中甲基苯丙胺诱导的细胞自噬和凋亡。牛磺酸还可以挽救被甲基苯丙胺所抑制的多种细胞功能。牛磺酸具有多种神经生理活动的调节活性,包括对神经细胞的保护性作用、渗透压调节和调控神经信号转导等。甲基苯丙胺暴露后,LC3 II 的水平显著增加,但给予牛磺酸处理后,这种增加在一定程度上被抑制。进一步的研究发现,牛磺酸处理所导致的 LC3 II 水平的下降可部分地被一种小分子抑制剂 RAD001 (一种 mTOR 抑制剂)的预处理所阻碍。这一结果表明,牛磺酸主要通过激活 mTOR 通路,而不是 ERK 通路,来抑制甲基苯丙胺诱导的自噬激活<sup>[15]</sup>。

MicroRNA (miRNA) 对于基因表达的调节十分重要,它在不同的细胞进程中发挥着重要的调控作用。通过 miRNA 的高通量测序方法,检测盐水对照组和甲基苯丙胺暴露组小鼠伏隔核(nucleus accumbens, NAc)中 miRNA 的表达谱,发现有 45 个已知的 miRNA 对甲基苯丙胺暴露敏感。进一步的分析表明,这些受甲基苯丙胺调节的已知的

miRNA 可能靶向作用于细胞自噬过程相关的一些基因,而对甲基苯丙胺敏感的新的 miRNA 则可能主要靶向作用于药物成瘾相关的基因。因此,甲基苯丙胺也有可能通过改变 NAc 中 miRNA 的表达,进而调控甲基苯丙胺所诱导的神经元自噬激活过程<sup>[16]</sup>。

## 2 吗啡与自噬

阿片类药物是指从天然阿片原植物罂粟中提取的生物碱,或人工合成的可使机体产生类吗啡效应的药物。吗啡是阿片中最主要,含量最多的有效成分<sup>[17]</sup>。研究表明,吗啡能引起人神经母细胞瘤细胞系 SH-SY5Y 细胞及大鼠海马中 Beclin1 和 ATG5 依赖的自噬。吗啡可以促进 Beclin1 的表达,并抑制 Beclin1 和 Bcl-2 的相互作用,从而“释放”Beclin1,使其参与到自噬的激活过程中。过表达 Bcl-2 可以抑制吗啡诱导的细胞自噬。同样地,无论是敲低 Beclin1 还是敲除 ATG5,都可抑制吗啡所诱导的细胞自噬。此外,给予细胞长期吗啡处理会诱导细胞死亡,而抑制自噬则会加剧吗啡诱导的细胞死亡<sup>[18]</sup>,这表明自噬在吗啡所诱导的细胞死亡中具有保护性的作用。有研究表明,吗啡处理大鼠嗜铬神经瘤细胞后会引发 ROS 的增加,从而引发自噬,而自噬又能清除损伤的线粒体<sup>[19]</sup>。当海马神经元中自噬激活时,吗啡所诱导的记忆损害会有所减轻。重复给 C57BL/6 小鼠注射吗啡,会激活海马中的自噬流(尤其是海马 CA1 区神经元和小胶质细胞),同时小鼠的空间记忆能力受到损害。用 3-MA 抑制自噬后发现,吗啡诱导的小鼠记忆损害明显加剧,同时海马 CA1、CA3 以及 DG 区域锥体层细胞的死亡显著增加<sup>[20]</sup>。这一结果提示,在吗啡暴露时,自噬扮演着一种神经保护性的角色(图 2)。

虽然吗啡可以促进一些自噬相关蛋白的产生,但也有研究表明,吗啡对于自噬体的成熟却是负向调控的。长期使用阿片类药物会损害天然免疫应答,增加对感染的易感性。众所周知,自噬是一种应对细菌感染的天然防御机制。吗啡会增强脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的 GFP-LC3 囊泡的形成,同时促进 LC3 II 的水平。此外,吗啡还可以进一步上调 LPS 诱导的 Beclin1 蛋白水平以及下调 Bcl-2 的蛋白水平,但是,吗啡对自噬体的成熟却是负向调控的,它可以阻碍自噬体与自噬溶酶体的融合,进而抑制细胞对感染细菌的清除<sup>[21]</sup>。

吗啡可以引起多巴胺能神经元中 ATG5 和 ATG7

依赖的自噬,从而导致神经元树突棘变少和成瘾行为的发生,说明自噬在调节吗啡所引起的一些行为改变中也有一定的作用<sup>[22]</sup>。此外,在滥用吗啡的HIV感染者中,自噬信号也会发生一些改变。许多HIV感染者都有多种药物的滥用或者依赖史<sup>[23]</sup>。研究表明,小胶质细胞在艾滋病痴呆的发生、发展中发挥着重要作用。艾滋病痴呆患者中,阿片滥用者的神经功能障碍及病理进展会进一步加速。用HIV-1<sub>SF162</sub>感染小胶质细胞会引起自噬体的形成,但并不能促进溶酶体中蛋白质的降解。而HIV-1感染联合吗啡暴露会降低Beclin1的表达和自噬体的形成,并且此时细胞内的pH值增加,这与自噬溶酶体的减少现象是一致的<sup>[24]</sup>。在艾滋病的不同阶段,脑中自噬及其相关的蛋白都受到不同程度的转录水平、翻译水平及翻译后水平的调节。而感染个体在滥用吗啡后,其自噬活性的一些信号会发生混乱,其神经认知能力的损伤会更加严重<sup>[23]</sup>。

### 3 可卡因与自噬

可卡因是古柯叶中所含的主要生物碱,又称古柯碱。它是一种强效中枢兴奋剂,具有很强的精神依赖性<sup>[17]</sup>。已证实可卡因可引起人脑的神经病理学功能障碍及损害。SVGA星形胶质细胞经可卡因处理,随着作用时间和作用剂量的增加,LC3 II的蛋白水平显著增加<sup>[25]</sup>。可卡因诱导的自噬涉及sigma 1受体、自噬标志性信号通路p-mTOR以及ATG5、

ATG7和p-Bcl-2/Beclin1等。此外,长期给予细胞可卡因刺激会导致细胞死亡,而使用自噬抑制剂可改善此种情况。因此,可卡因暴露也与自噬性的细胞死亡密切相关<sup>[25]</sup>。

此外,可卡因诱导的自噬还涉及到甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)的亚硝基化。可卡因作用于脑皮层神经元后会引起GAPDH发生亚硝基化修饰,而用CGP3466B抑制NO/GAPDH/Siah1信号轴后,GAPDH的亚硝基化会被抑制,同时可卡因所诱导的LC3 II水平的增加也被抑制。研究发现,可卡因也可以引起细胞死亡,但parthanatos(PARP-1依赖性细胞死亡)、坏死性凋亡、凋亡的抑制剂以及caspase抑制剂对这一效应没有明显影响。而用药理学的方法抑制自噬后发现,可卡因所诱导的细胞死亡减少,表明自噬介导了可卡因所诱导的细胞死亡过程(图3)。因此,可卡因所诱导的细胞死亡可归因于其所引发的自噬活性异常,而与其他细胞死亡方式没有明显关联<sup>[26]</sup>。

可卡因滥用会引起神经炎症反应,这反过来会促进HIV-1感染相关的神经退行性病变。众所周知,自噬在天然免疫和适应性免疫中都发挥着重要作用。研究发现,可卡因可剂量和时间依赖地引起细胞自噬,其中,自噬标记蛋白Beclin1、ATG5以及MAP1LC3B等的表达都有所增加。用wortmannin(一种自噬抑制剂)预处理小胶质细胞发现,炎症因子如TNF、IL1B、IL6以及CCL2的表达和释放

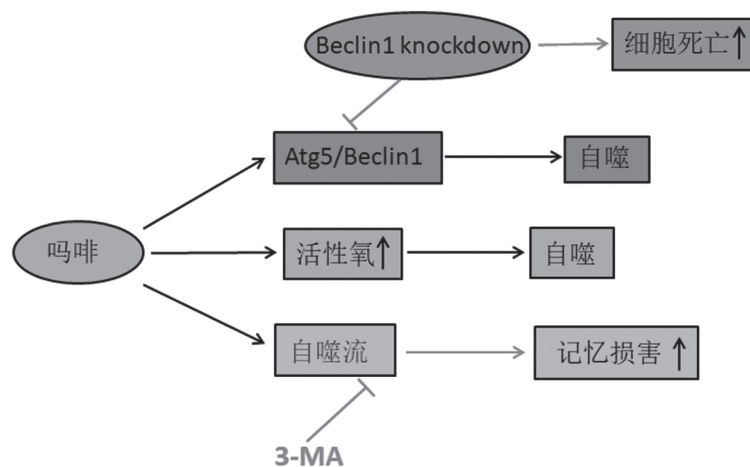


图2 吗啡与自噬

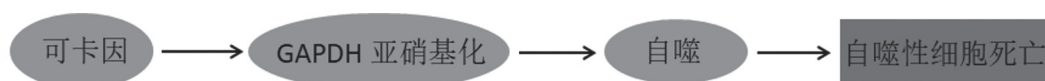


图3 可卡因与自噬

减少, 说明自噬在可卡因介导的小胶质细胞的激活中发挥了作用。因此, 这一结果提示, 可卡因诱导的自噬与神经炎症反应紧密相关<sup>[27]</sup>。

#### 4 大麻与自噬

大麻中含有近 60 种有效成分, 其中具有精神活性、作用最强的是四氢大麻酚<sup>[17]</sup>。研究表明, 重复使用大麻会引起药物耐受, 大麻耐受的致病机制未明, 但自噬可能参与调控了该病理过程, Beclin2 可以通过抑制大麻素受体 1 (cannabinoid receptor 1, CNR1) 循环及其复敏来介导大麻耐受。在小鼠脑中, 敲除 Beclin2 可以恢复 CNR1 的活性, 从而抑制长期使用大麻所致的镇痛耐受。此外, 激活自噬可以竞争性招募 Beclin2, 从而抑制 Beclin2 对 CNR1 的循环和复敏的抑制作用 (图 4)。这些结果表明, 自噬在治疗大麻所致的药物耐受中可能成为新的治疗靶点<sup>[28]</sup>。

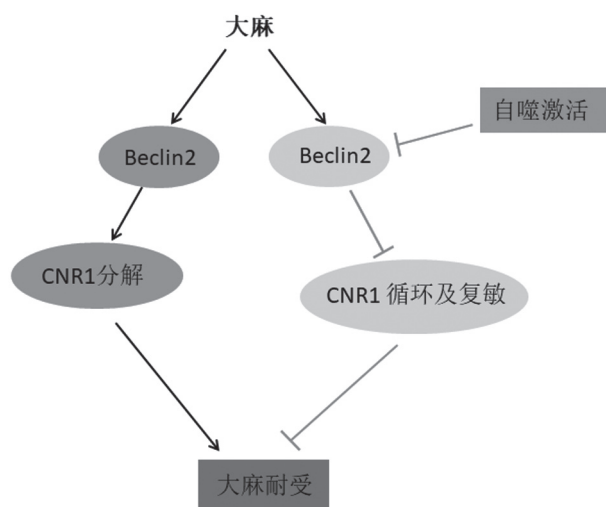


图4 大麻与自噬

#### 5 问题与展望

目前的研究表明, 毒品暴露时, 自噬具有双重作用。首先, 自噬在毒品暴露时发挥着神经保护的作用, 它可以促进细胞存活。其次, 过度的自噬具有破坏性, 会引起自噬性的细胞死亡。那么, 自噬发挥不同作用的具体的分子机制是什么, 其上下游又涉及哪些蛋白? 对很多成瘾者来说, 目前有效可用的治疗是不充分的, 而这些分子 (如 ATG5、Beclin1 等) 在临床上是否可能成为治疗毒品成瘾的靶点, 是否能引领人们找到成瘾治疗的新方法, 还需要更多的研究。

#### [参考文献]

- [1] Mendelson JH, Mello NK. Management of cocaine abuse and dependence. *N Engl J Med* 1996;334: 965-72
- [2] 秦正红. 自噬: 生物学与疾病基础卷[M]. 2版. 北京: 科学出版社, 2015
- [3] Divya T, Sureshkumar A, Sudhandiran G. Autophagy induction by celastrol augments protection against bleomycin-induced experimental pulmonary fibrosis in rats: Role of adaptor protein p62/SQSTM1. *Pulm Pharmacol Ther*, 2017, 45-61
- [4] Levine B, Yuan J. Autophagy in cell death: an innocent convict? *J Clin Invest*, 2005, 115: 2679-88
- [5] Ramesh N, Pandey U B. Autophagy dysregulation in ALS: when protein aggregates get out of hand. *Front Mol Neurosci*, 2017, 10: 263
- [6] 乐卫东. 自噬: 生物学与疾病临床卷[M]. 2版. 北京: 科学出版社, 2017
- [7] Ma J, Wan J, Meng J, et al. Methamphetamine induces autophagy as a pro-survival response against apoptotic endothelial cell death through the  $\kappa$  opioid receptor. *Cell Death Dis*, 2014, 5: e1099
- [8] Castino R, Lazzeri G, Lenzi P, et al. Suppression of autophagy precipitates neuronal cell death following low doses of methamphetamine. *J Neurochem*, 2008, 106: 1426-39
- [9] Zhang Y, Shen K, Bai Y, et al. Mir143-BBC3 cascade reduces microglial survival via interplay between apoptosis and autophagy: implications for methamphetamine-mediated neurotoxicity. *Autophagy*, 2016, 12: 1538-59
- [10] Larsen KE, Fon EA, Hastings TG, et al. Methamphetamine-induced degeneration of dopaminergic neurons involves autophagy and upregulation of dopamine synthesis. *J Neurosci*, 2002, 22: 8951-60
- [11] Lin M, Chandramani-shivalingappa P, Jin H, et al. Methamphetamine-induced neurotoxicity linked to ubiquitin-proteasome system dysfunction and autophagy-related changes that can be modulated by protein kinase C  $\delta$  in dopaminergic neuronal cells. *Neuroscience*, 2012: 308-32
- [12] Kongsuphol P, Mukda S, Nopparat C, et al. Melatonin attenuates methamphetamine-induced deactivation of the mammalian target of rapamycin signaling to induce autophagy in SK-N-SH cells. *J Pineal Res*, 2009, 46: 199-206
- [13] Sanchez AB, Kaul M. Neuronal stress and injury caused by HIV-1, cART and drug abuse: converging contributions to HAND. *Brain Sci*, 2017, 7: 25
- [14] Cao L, Fu M, Kumar S, et al. Methamphetamine potentiates HIV-1 gp120-mediated autophagy via Beclin-1 and Atg5/7 as a pro-survival response in astrocytes. *Cell Death Dis*, 2016, 7: e2425
- [15] Li Y, Hu Z, Chen B, et al. Taurine attenuates methamphetamine-induced autophagy and apoptosis in PC12 cells through mTOR signaling pathway. *Toxicol Lett*, 2012, 215: 1-7
- [16] Zhu L, Zhu J, Liu Y, et al. Chronic methamphetamine regulates the expression of microRNAs and putative target

- genes in the nucleus accumbens of mice. *J Neurosci Res*, 2015, 93: 1600-10
- [17] 刘良. 法医毒理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 108-21
- [18] Zhao L, Zhu Y, Wang D, et al. Morphine induces Beclin 1- and ATG5 dependent autophagy in human neuroblastoma SH-SY5Y cells and in the rat hippocampus. *Autophagy*, 2010, 6: 386-94
- [19] Feng Y, Jia YF, Su L, et al. Decreased mitochondrial DNA copy number in the hippocampus and peripheral blood during opiate addiction is mediated by autophagy and can be salvaged by melatonin. *Autophagy*, 2013, 9: 1395-406
- [20] Pan J, He L, Li X, et al. Activating autophagy in hippocampal cells alleviates the morphine-induced memory impairment. *Mol Neurobiol*, 2017, 54: 1710-24
- [21] Wan J, Ma JZ, Anand V, et al. Morphine potentiates LPS-induced autophagy initiation but inhibits autophagosomal maturation through distinct TLR4-dependent and independent pathways. *Acta Physiol*, 2015, 214: 189-99
- [22] Su L Y, Luo R, Liu Q, et al. Atg5- and Atg7-dependent autophagy in dopaminergic neurons regulates cellular and behavioral responses to morphine. *Autophagy*, 2017, 13: 1496-511
- [23] Dever SM, Rodriguez M, Lapierre J, et al. Differing roles of autophagy in HIV-associated neurocognitive impairment and encephalitis with implications for morphine co-exposure. *Front Microbiol*, 2015, 6: 653
- [24] Elhage N, Rodriguez M, Dever SM, et al. HIV-1 and morphine regulation of autophagy in microglia: Limited interactions in the context of HIV-1 infection and opioid abuse. *J Virol*, 2015, 89: 1024-35
- [25] Cao L, Walker MP, Vaidya NK, et al. Cocaine-mediated autophagy in astrocytes involves sigma 1 receptor, PI3K, mTOR, Atg5/7, Beclin-1 and induces type II programmed cell death. *Mol Neurobiol*, 2015, 53: 4417-30
- [26] Guha P, Harraz MM, Snyder SH, et al. Cocaine elicits autophagic cytotoxicity via a nitric oxide-GAPDH signaling cascade. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: 1417-22
- [27] Guo M, Liao K, Periyasamy P, et al. Cocaine-mediated microglial activation involves the ER stress-autophagy axis. *Autophagy*, 2015, 11: 995-1009
- [28] Kuramoto K, Wang N, Fan Y, et al. Autophagy activation by novel inducers prevents BECN2-mediated drug tolerance to cannabinoids. *Autophagy*, 2016, 12: 1460-71