

Systeme cannabinoïde et douleur : vers de nouveaux médicaments ?

Massimiliano Beltramo

Institut de Recherche Schering-Plough, Parc Scientifique Biomédical San Raffaele, via Olgettina 58, 20132 Milan, Italie

Auteur correspondant : Massimiliano Beltramo, massimiliano.beltramo@spcorp.com

Reçu le 3 janvier 2009

Résumé – Les différents composants du système endocannabinoïde ont été découverts durant les vingt dernières années. Le système cannabinoïde avait attiré l'intérêt des pharmacologistes comme cible thérapeutique potentielle pour différentes pathologies, allant de l'obésité à la maladie de Parkinson, et de la sclérose en plaques à la douleur. La recherche a d'abord été centrée sur le récepteur cannabinoïde 1 (CB1), mais en raison des effets secondaires psychotropes provoqués par son activation, les tentatives pour développer un agoniste de ce récepteur ont été infructueuses. Récemment, une alternative pour le traitement de la douleur semble être apparue en ciblant le récepteur CB2. L'avantage principal de ce récepteur est d'obtenir une analgésie sans effets secondaires psychotropes. L'effet analgésique d'agonistes sélectifs du récepteur CB2 a été prouvé dans différents modèles de douleur chronique, aussi bien d'origine inflammatoire que neuropathique. Pour expliquer le mécanisme de base de cet effet analgésique, plusieurs hypothèses ont été formulées : action sur les cellules inflammatoires, réduction du niveau basal du NGF, induction de la libération de β -endorphine par les kératinocytes, action directe sur les nocicepteurs. Un argument pour soutenir cette dernière hypothèse est venu de l'observation d'une réduction de la libération de CGRP induite par la capsaïcine dans des tranches de moelle et dans des neurones en culture, après traitement par des agonistes sélectifs du CB2. Les agonistes du CB2 agissent probablement par plusieurs mécanismes, et par conséquent, le récepteur CB2 représente une cible intéressante et prometteuse dans le domaine de la douleur chronique. La clarification des mécanismes à la base de l'effet analgésique du CB2 va certainement représenter un secteur de recherche à la fois intrigant et stimulant pour les années à venir.

Mots clés : Cannabinoïde / récepteur cannabinoïde 2 / douleur / analgésie

Abstract – The cannabinoid system and pain: towards new drugs?

The various components of the endocannabinoid system were discovered in the last twenty years. The cannabinoid system has attracted pharmacologists interest for its potential as therapeutic targets for several diseases ranging from obesity to Parkinson's disease and from multiple sclerosis to pain. Research initially focused on cannabinoid receptor 1 (CB1), but, due to psychotropic side effects related to its activation, the attempts to develop an agonist drug for this receptor has been so far unsuccessful. Recently the possibility to target CB2 has emerged as an alternative for the treatment of pain. The main advantage of targeting CB2 resides in the possibility to elicit the analgesic effect without the psychotropic side effects. Evidence of the analgesic effect of CB2 selective agonists has been obtained in various models of both inflammatory and neuropathic chronic pain. To explain the mechanism at the basis of this analgesic effect different hypotheses have been proposed: effect on inflammatory cells, reduction of basal NGF tone, induction of β -endorphin release from keratinocytes, direct action on nociceptors. Evidence in support of this last hypothesis comes from down regulation of capsaicin-induced CGRP release in spinal cord slices and Dorsal Root Ganglia (DRG) neurons in culture after treatment with CB2 selective agonists. CB2 agonists

are probably acting through several mechanisms and thus CB2 represents an interesting and promising target in the chronic pain field. Further clarification of the mechanisms at the basis of CB2 analgesic effect would surely be an intriguing and stimulating area of research for the years to come.

Key words: Cannabinoid / cannabinoid receptor 2 / pain / analgesic effect

Introduction

Le système cannabinoïde tire son nom de la plante *Cannabis sativa*. Les hommes l'ont tout d'abord utilisée pour fabriquer des cordes et des vêtements, ainsi qu'en témoignent des découvertes archéologiques qui montrent son usage dès 10 000 ans avant J.C. (Iversen, 2000). Les propriétés pharmacologiques de la plante furent reconnues plus tardivement et apparaissent dans d'anciens textes chinois et indiens (Pen-ts'ao Ching et Athera Veda). Dans ces textes, le cannabis est recommandé pour traiter différentes maladies, comme la constipation, la malaria, la goutte etc. et l'utilisation de la marijuana contre la douleur y est aussi mentionnée pour la première fois. Ainsi, les propriétés thérapeutiques de l'extrait de cannabis étaient bien connues en Asie, longtemps avant qu'elles n'attirent l'intérêt de la médecine occidentale. Cela n'arriva que dans la première moitié du 19^e siècle, en particulier grâce au travail de O'Shaugnessey, qui étudia les différents usages de l'extrait de cannabis (Iversen, 2000). Du milieu du 19^e jusqu'au début du 20^e siècles, les propriétés du cannabis trouvèrent une vaste application dans les pays occidentaux, avec l'introduction de plusieurs médicaments contenant du cannabis. Toutefois, son usage largement répandu en médecine fut stoppé par l'introduction de restrictions de plus en plus sévères, jusqu'à rendre l'utilisation de l'extrait de cannabis illégale.

L'intérêt pour les propriétés pharmacologiques du cannabis resurgit avec l'identification, par le groupe de Mechoulam (Mechoulam & Gaoni, 1967), du principe actif de la marijuana le Δ -9 tétra-hydro-cannabinol (Δ -9-THC) et la découverte ultérieure de l'existence d'un système cannabinoïde endogène (Devane *et al.*, 1988; Devane *et al.*, 1992; Matsuda *et al.*, 1990; Munro *et al.*, 1993). Le système endocannabinoïde est doté des caractéristiques d'un système neurotransmetteur classique. Des molécules (endocannabinoïdes) sont produites de manière endogène, elles activent des récepteurs cannabinoïdes spécifiques et un système d'inactivation met fin au processus.

Les endocannabinoïdes sont de nature lipidique et sont synthétisés à partir d'un précurseur présent dans la membrane cellulaire, grâce à l'activité d'enzymes spécifiques (Piomelli, 2003). Les deux endocannabinoïdes les plus étudiés sont l'anandamide et le 2-arachidonoyl-glycérol (2-AG) mais l'existence

d'autres endocannabinoïdes, tels que l'éther de noladin, la virodhamine, la N-arachidonoyl-dopamine (NADA), a été rapportée. Les endocannabinoïdes exercent leur action sur deux récepteurs cannabinoïdes bien connus et caractérisés : CB1 et CB2. Ces deux récepteurs appartiennent à la superfamille de récepteurs couplés aux protéines G, les RCPG. CB1 et CB2 sont tous les deux couplés à la protéine Gi et l'effet majeur induit par leur activation est la diminution du niveau intracellulaire de l'AMP cyclique. Une autre voie initiée par l'activation des récepteurs cannabinoïdes est le déclenchement de la cascade MAP kinase. Des seconds messagers supplémentaires peuvent être modulés spécifiquement par l'un des deux récepteurs, tels le CB1 pour les canaux ioniques et le CB2 pour le NF κ B.

Depuis quelques années, on a supposé l'existence d'un troisième récepteur cannabinoïde et récemment, un récepteur orphelin, le GPR55, a été proposé comme étant ce troisième récepteur (Ryberg *et al.*, 2007). Toutefois, ce récepteur ne montre qu'un très faible degré d'homologie avec CB1 ou CB2, et n'est pas couplé à Gi mais à G α 12 ou G α 13. L'identité du GPR55 comme véritable récepteur cannabinoïde est donc peu étayée et sujette à controverse (Petitet *et al.*, 2006).

Les mécanismes d'inactivation des endocannabinoïdes ont été étudiés principalement pour l'anandamide et le 2-AG. Le processus s'effectue en deux étapes, tout d'abord une diffusion dans la cellule à partir du milieu extracellulaire est médiée par un transporteur membranaire, puis une dégradation enzymatique est effectuée par des enzymes spécifiques (l'amido-hydrolase des acides gras pour l'anandamide et la mono-acyl glycérol lipase pour le 2-AG) (Piomelli, 2003).

Cannabis, douleur et découverte de médicaments

Les stimuli nociceptifs sont perçus par des cellules spécialisées dénommées nocicepteurs, qui transfèrent l'information nociceptive de la périphérie vers la moelle. Dans la moelle, après une première étape d'élaboration, l'information nociceptive est ensuite transférée aux centres supérieurs du cerveau (*periductal grey matter*, thalamus et cortex sensoriel),

impliqués dans l'élaboration ultérieure de l'information nociceptive, qui sera ensuite perçue consciemment comme douleur.

Une foule de résultats d'études cliniques et précliniques confirment l'effet analgésique des cannabinoïdes, ce qui n'est pas surprenant si l'on considère la localisation des différents effecteurs du système endocannabinoïde. Le CB1 est présent dans des neurones situés dans toutes les zones d'élaboration de l'information douloureuse mentionnées plus haut. Dans les régions où le CB1 est exprimé, on a également démontré, par spectrométrie de masse, la présence d'endocannabinoïdes (Walker *et al.*, 1999; Petrosino *et al.*, 2007) et, par immunocytochimie et biochimie, celle des enzymes impliquées dans leur inactivation (Egertová *et al.*, 1998; Dinh *et al.*, 2002). Une autre observation intéressante a décelé un niveau élevé d'endocannabinoïdes dans la moelle d'animaux modèles des douleurs neuropathiques, ce qui suggère un lien avec cette pathologie (Mitrirattanakul *et al.*, 2006).

La distribution du CB2 est plus controversée, car des données indiquent sa présence à la fois dans les ganglions et dans la moelle (Zhang *et al.*, 2003; Wotherspoon *et al.*, 2005; Beltramo *et al.*, 2006) et d'autres affirment son absence dans ces mêmes régions (Hohmann & Herkenam, 1999; Salio *et al.*, 2002). Des preuves confirmant la première hypothèse seront apportées dans la section relative aux mécanismes de l'analgésie induite par l'activation de CB2.

Dans la perspective de découverte d'un médicament, trois groupes de cibles potentielles peuvent être identifiés : les récepteurs, le système de capture et le système de dégradation. Chacun de ces ciblage a des avantages et des inconvénients.

L'intérêt d'inhiber le transporteur des endocannabinoïdes (et aussi les enzymes de leur dégradation) afin d'induire une analgésie est basé sur l'hypothèse selon laquelle la stimulation du récepteur entraînerait un effet analgésique. Le blocage de la dégradation des endocannabinoïdes augmenterait leur concentration extracellulaire et prolongerait ainsi l'activation du récepteur, ce qui en retour donnerait l'effet analgésique. Une approche similaire avait été appliquée avec succès aux systèmes indolaminergique et catécholaminergiques, ce qui a conduit à la création de médicaments à gros chiffre d'affaire (*blockbusters*) comme le Prozac dans le traitement de la dépression. En ce qui concerne les endocannabinoïdes, le premier inhibiteur du transporteur identifié a été l'AM404 (Beltramo *et al.*, 1997), suivi par d'autres composés comme l'arvanil, le VDM11, l'UCM707, l'OMDM-1 et l'OMDM-2 (pour revue, cf. Lopez-Rodriguez *et al.*, 2001). Tous ces composés ont été identifiés grâce à une approche pharmacologique dans des cellules exprimant le transporteur de façon native. Le clonage du

transporteur, nécessaire à l'établissement d'une lignée cellulaire recombinante, s'est avéré un véritable défi et actuellement, bien que certaines compagnies pharmaceutiques aient progressé dans leurs projets sur cette cible, le clonage du récepteur reste encore à faire.

Il est important de garder à l'esprit que, lorsqu'on cible un transporteur, l'efficacité du traitement dépendra largement de la quantité d'endocannabinoïdes libérés dans la zone d'intérêt. Des données fiables suggèrent actuellement que la production d'endocannabinoïdes est augmentée dans les régions douloureuses, bien qu'avec un profil qui semble dépendre du type de maladie et qui n'est pas encore totalement compris (Jhaveri *et al.*, 2007). De plus, le rôle de chacun des endocannabinoïdes pour l'induction de l'analgésie n'est pas très clair pour le moment. Il en résulte que dans la perspective de découvrir un nouveau médicament, la piste du transporteur est intéressante, mais à haut risque.

La seconde approche pour cibler le système cannabinoïde, toujours dans le but d'augmenter son activité, passe par le blocage des enzymes de dégradation des endocannabinoïdes. Les deux plus importantes sont l'amido-hydrolase des acides gras (fatty acid amido-hydrolase, FAAH) et la mono-acyl glycérol lipase (MAGL). FAAH et MAGL dégraderaient respectivement l'anandamide et le 2-AG, bien que ce dernier puisse également être dégradé par la FAAH. Récemment, l'intervention de la cyclo-oxygénase (COX2) dans ce processus a aussi été reconnue (Jhaveri *et al.*, 2007).

Des études comportementales sur des souris KO pour la FAAH ont montré que, chez ces animaux, il existe une augmentation significative des endocannabinoïdes, et une sensibilité réduite à la douleur aiguë et à la douleur chronique d'origine inflammatoire (Cravatt *et al.*, 2001). Cette observation confirme l'idée que bloquer l'activité de la FAAH pourrait conduire à un effet analgésique. Cependant, des études menées avec des inhibiteurs de la FAAH (OL135 et URB597) ont donné des résultats contradictoires, avec ou sans effet analgésique (Jhaveri *et al.*, 2007). Par contre, l'utilisation de l'URB602 comme inhibiteur de la MAGL a provoqué une analgésie chez différents modèles (Guindon *et al.*, 2007; Hohmann *et al.*, 2005). Toutefois la sélectivité de ce composé a été mise en question et le niveau réel de l'analgésie induite par cette inhibition sélective de la MAGL demeure peu clair.

Historiquement, le ciblage des récepteurs a été la stratégie la plus fructueuse pour la recherche de médicaments. Actuellement, plus de 30 % du total des molécules du marché ciblent les RCPG. Ainsi, la stratégie la plus évidente pour induire une analgésie serait la stimulation du récepteur CB1. Plusieurs travaux expérimentaux *in vivo* ont signalé l'efficacité

d'une telle approche en montrant un effet analgésique net, qui pouvait être inversé par des antagonistes sélectifs du CB1. De plus, les souris KO pour le CB1 ont un phénotype hypoalgésique (pour revues sur l'analgésie par le CB1, voir Pertwee, 2001 et Walker & Hohmann, 2005). Toutefois, plusieurs essais portant sur le développement d'une molécule analgésique agissant sur le CB1 sont restés infructueux en raison de l'effet psychotrope associé à sa stimulation. Si l'on considère la large distribution du CB1 dans le cerveau, l'apparition d'effets secondaires n'a rien de surprenant. Néanmoins, il restait un espoir de trouver une fenêtre thérapeutique suffisante entre effets bénéfiques et effets secondaires mais, malheureusement, cela s'est avéré impossible jusqu'à présent.

Une autre approche, actuellement en cours d'évaluation, consiste à créer des composés « à effets périphériques », qui ne pénètrent pas dans le cerveau, mais agissent sur des récepteurs localisés en périphérie. Une telle approche résoudrait le problème des effets psychotropes secondaires, mais il reste à démontrer que ce type de composé fournirait un effet analgésique satisfaisant.

Au vu des difficultés rencontrées pour cibler en toute sécurité le récepteur CB1, l'attention s'est récemment portée sur l'autre récepteur, le CB2. L'activation des récepteurs CB2 semble induire une analgésie sans les effets psychomimétiques constatés avec les agonistes CB1.

Les premières données suggérant qu'un agoniste CB2 pouvait être antinociceptif, sans déclencher d'effets secondaires, ont été obtenues avec le modèle au formol, en utilisant comme agoniste le HU308 (Hanuš *et al.*, 1999). Des études ultérieures, avec différents composés, ont confirmé l'hypothèse d'une action antinociceptive dans des modèles de douleur inflammatoire (Clayton *et al.*, 2002; Nackley *et al.*, 2003; Quartilho *et al.*, 2003) ainsi que dans ceux de douleur neuropathique (Malan *et al.*, 2002; Ibrahim *et al.*, 2003, 2005; Valenzano *et al.*, 2005).

Étant donné l'intérêt de cette approche, nous avons entrepris au laboratoire une étude pour confirmer et développer les données disponibles sur le rôle des agonistes sélectifs du CB2 dans la modulation de la douleur, en cherchant plus particulièrement à comprendre quel était l'intérêt potentiel de cette cible pour le traitement de la douleur neuropathique. Dans notre travail, nous avons utilisé deux modèles différents : le premier a été le test au formol au cours duquel la seconde phase des comportements nociceptifs a été étudiée, celle qui mimerait l'effet de sensibilisation centrale présente dans les douleurs chroniques. Le second test a été la ligature des nerfs spinaux chez le rat, un modèle de douleur neuropathique. Parmi les quelques agonistes du CB2 utilisables, nous avons choisi de tester le (+)-AM1241 et le L768242

qui, bien qu'ayant un profil pharmacocinétique assez mauvais, sont cependant considérés comme sélectifs pour le CB2 par rapport au CB1. Nos résultats ont montré que, dans les deux modèles, les agonistes CB2 étaient capables de réduire notablement les comportements douloureux et que cet effet s'inversait en présence de l'antagoniste CB2, le SR144528 (Beltramo *et al.*, 2006). De plus, en expérimentant sur des animaux génétiquement modifiés et dépourvus du récepteur CB1, il était encore possible d'observer l'effet analgésique de l'agoniste du CB2 (Ibrahim *et al.*, 2003; Beltramo *et al.*, 2006), tandis que chez les souris KO pour le CB2, cet effet était significativement réduit (Valenzano *et al.*, 2005). Dans leur ensemble, ces résultats confirment donc l'hypothèse selon laquelle les agonistes du CB2 peuvent induire un effet analgésique et que le CB2 est une bonne cible pour le traitement de la douleur.

Mécanismes de l'analgésie induite par les agonistes CB2

Cette capacité qu'ont les agonistes CB2 d'induire une analgésie soulève la question des mécanismes cellulaires impliqués dans cet effet comportemental. Les données publiées sur l'expression et la distribution du CB2 rapportent une localisation prédominante dans les cellules du système immunitaire, alors que, comme nous l'avons indiqué plus haut, sa présence dans les ganglions et dans la moelle reste controversée.

Une lésion périphérique, déclenchant surtout une douleur inflammatoire, pourrait entraîner le recrutement de cellules inflammatoires sur le site de la lésion et la libération de plusieurs médiateurs (cytokines, prostanoïdes, NGF, histamine, etc.) à partir de types cellulaires variés, comprenant les cellules immunitaires et les mastocytes. Dans ce scénario, l'activation du récepteur CB2 présent dans ces types cellulaires pourrait être un facteur important pour réduire la nociception (Malan *et al.*, 2003). La capacité d'action des cannabinoïdes sur la réponse inflammatoire est bien connue, même s'il existe quelques controverses à propos de la résultante des effets des agonistes et des antagonistes (Klein *et al.*, 2005). D'autre part, même si l'action des agonistes du CB2 sur les cellules immunitaires et inflammatoires peut aider à expliquer l'effet analgésique observé en cas de douleur inflammatoire chronique, elle ne peut néanmoins permettre de comprendre l'effet sur la douleur aiguë ou la souffrance neuropathique chronique. Une hypothèse a donc été avancée, proposant que l'activation du récepteur CB2 puisse induire une analgésie par réduction du niveau basal de NGF, une molécule proalgésique (Malan *et al.*, 2003). Cette hypothèse reste cependant tout à fait spéculative et il n'y a pas actuellement de preuve expérimentale claire pour la confirmer. Une

autre théorie intéressante propose que les agonistes du CB2 stimuleraient la libération de β -endorphine par les kératinocytes, et que la β -endorphine à son tour activerait le récepteur opioïde, induisant ainsi des effets analgésiques (Ibrahim *et al.*, 2005).

Une troisième possibilité serait que les agonistes agissent directement sur le récepteur CB2 localisé dans la portion neurale des voies douloureuses. Dans la littérature, le sujet est actuellement controversé. Historiquement, on a considéré que les récepteurs CB2 étaient absents du système nerveux central (SNC), en se basant sur l'hybridation *in situ*, la PCR et des méthodes de *binding* (Breivogel *et al.*, 1997; Hohmann & Herkenham, 1999; Salio *et al.*, 2002). Cependant, des études affirmant l'existence de CB2 dans les ganglions et dans la moelle viennent d'être publiées. La présence d'un récepteur CB2 fonctionnel dans les ganglions et dans la moelle a été démontrée au moyen de différentes techniques, allant de l'hybridation *in situ* (Zhang *et al.*, 2003) à l'immunocytochimie (Wotherspoon *et al.*, 2005), et de la PCR quantitative en temps réel (QRT-PCR) (Van Sickle *et al.*, 2005) à l'électrophysiologie (Elmes *et al.*, 2004; Sagar *et al.*, 2005).

Pour tester cette hypothèse, une série d'expérimentations a été entreprise, visant à évaluer le profil d'expression du CB2 dans les différents tissus du SNC chez des rats neuropathiques. La QRT-PCR a révélé la présence, bien qu'à un niveau très faible, des ARN messagers du CB2 dans la moelle lombaire et dans les ganglions. De plus, en comparant l'expression des ARNm du CB2 du côté ipsilatéral de la moelle au côté controlatéral, on a pu observer une augmentation du niveau d'expression du CB2 dans les nocicepteurs, ce qui suggérerait une « *up-regulation* » du récepteur après l'induction d'une douleur neuropathique (Beltramo *et al.*, 2006).

En raison de la présence, dans la moelle, de populations variées de cellules neuronales et gliales, il est difficile de savoir dans quel type cellulaire le récepteur serait localisé. Cependant, la présence de CB2 dans la microglie a pu être démontrée en appliquant la QRT-PCR à des ARNm extraits de cultures de cellules microgliales de moelle (Beltramo *et al.*, 2006), résultat en accord avec les données obtenues par hybridation *in situ* (Zhang *et al.*, 2003). Par contre, la présence de ces ARNm dans les ganglions pourrait davantage être interprétée comme l'expression dans les nocicepteurs.

Lors d'une douleur chronique, il y a une hyperactivation des nocicepteurs qui engendre une libération continue de neurotransmetteurs à partir de l'afférence primaire. Ces neurotransmetteurs vont stimuler le neurone post-synaptique, mais pourraient aussi agir sur la microglie en induisant son activation. Une fois activée, la microglie libérerait une foule de molécules,

dont des neurotransmetteurs excitateurs, cytokines, radicaux libres, etc, qui à leur tour iraient exacerber l'excitabilité neuronale. Dans la moelle, il est tentant d'imaginer le récepteur CB2 présent au niveau présynaptique, dans l'afférence primaire et dans la microglie. En se basant sur cette information, on peut supposer un mécanisme d'action des agonistes du CB2 qui concernerait le système nerveux central et le système périphérique. Si cette hypothèse est correcte, un agoniste du CB2 serait capable de bloquer la libération des neurotransmetteurs à partir des afférences primaires et donc toute la cascade des événements qui en découle.

Pour valider cette hypothèse, un test a été mis au point pour détecter la libération de CGRP (*Calcitonin Gene Related Peptide*), en l'utilisant comme biomarqueur de l'activation présynaptique terminale, dans des tranches de moelle lombaire. La libération du CGRP était déclenchée par une stimulation à la capsaïcine, un agoniste du récepteur TRPV1 présent dans les afférences primaires nociceptives. L'administration de (+)-AM1241 ou de L768242 a provoqué une réduction dose-dépendante de la libération de CGRP induite par la capsaïcine dans les tranches de moelle. Des résultats similaires ont été obtenus en employant une combinaison de dépolarisation (par 50 mM de KCl) et de stimulation de l'AMPc par la forskoline. L'ensemble des résultats indique que le mécanisme n'est pas lié spécifiquement à l'activation du TRPV1, mais a une implication plus large. L'effet est bloqué par le SR144528, mais non par le SR141716A, ce qui confirme l'idée qu'il est bien médié par le CB2 et suggère une action directe sur les afférences primaires (Beltramo *et al.*, 2006).

Sur des neurones ganglionnaires en culture, un modèle expérimental moins intégré que les tranches de moelle, une confirmation supplémentaire à l'hypothèse d'un effet direct des agonistes CB2 sur les neurones a été apportée. L'imagerie du calcium sur cellule isolée a montré que l'agoniste JWH133 du CB2 réduisait l'influx de calcium induit par la capsaïcine de façon dépendante du CB2 (Bernardini *et al.*, 2007).

Sur la base de ces résultats, une hypothèse de travail a pu être proposée à propos du mécanisme de l'effet analgésique induit par un agoniste CB2 (Fig. 1). La stimulation nociceptive (par exemple l'activation du TRPV1) induit une élévation du calcium intracellulaire, augmentation qui peut déclencher une libération additionnelle de calcium à partir de ses stocks intracellulaires et finalement amener à la fusion membranaire des vésicules synaptiques et à la décharge de neurotransmetteurs dans la fente synaptique. Ces molécules induisent alors une activation du neurone post-synaptique. D'autre part, l'activation de l'adénylyl-cyclase par les récepteur couplés à la Gs induit une élévation des niveaux

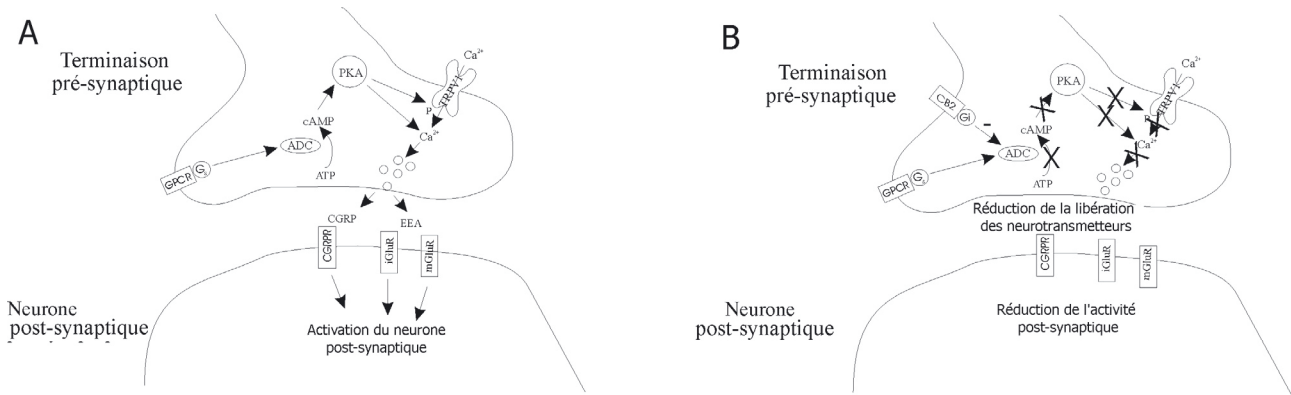


Fig. 1. Schéma simplifié de possibles mécanismes impliquant le CB2 au niveau de la moelle. A : Mécanismes pré-synaptiques conduisant à la libération de neurotransmetteurs pro-nociceptifs par l'activation de canaux ioniques ligand-dépendants et de GPCRs couplés à Gs. Ces mécanismes aboutissent à une augmentation du calcium intracellulaire B : L'activation des récepteurs CB2 réduirait la libération de neurotransmetteurs pro-nociceptifs en diminuant les taux d'AMPc et par là l'activation de PKA et le calcium intracellulaire. ADC : Adénylate Cyclase ; CGRP : Calcitonin Gene Related Peptide ; CGRPR : récepteur du CGRP ; EAA : Amino-acide excitateur ; GPCR : Récepteur couplé aux protéines G ; iGluR : Récepteur ionotrope du glutamate ; mGluR : récepteur métabotrope du glutamate ; PKA : Protéine Kinase A. TRPV1 : *Transient Receptor Potential Vanilloid 1*.

intracellulaires d'AMPc, qui activerait la Protéine Kinase A (PKA). La PKA, en phosphorylant des récepteurs (par exemple le TRPV1), augmenterait leur activité. La PKA agit sur d'autres protéines pour stimuler la libération du calcium intracellulaire stocké (Fig. 1A). Dans ce scénario (Fig. 1B), le récepteur CB2, localisé du côté pré-synaptique, pourrait, lorsqu'il est activé, réduire le niveau d'AMPc. Ce faisant, il déprimerait l'activation de la PKA, avec, pour résultat final, une diminution de l'influx de calcium extracellulaire et de l'efflux de calcium stocké, et par conséquent de la décharge de neurotransmetteurs. Dans la moelle, une réduction de la libération de neurotransmetteurs au niveau des afférences primaires déprimerait la transmission nociceptive et il en résulterait finalement un effet analgésique. Ceci n'est, bien sûr, qu'une hypothèse de travail et d'autres composants interviennent certainement, mais elle fournit une explication raisonnable des découvertes rapportées plus haut.

Conclusions et perspectives

Ainsi, pour récapituler, les agonistes sélectifs du CB2 s'avèrent analgésiques dans différents modèles de douleur, et ces effets analgésiques sont en partie médiés par une action sur la moelle et les ganglions, par suite d'une réduction de la décharge de neurotransmetteurs. Il est important de souligner que cette hypothèse concernant le mécanisme requiert une confirmation ultérieure, à travers des expérimentations supplémentaires convaincantes.

Cette hypothèse n'exclut pas le fait que les agonistes du CB2 puissent agir par d'autres mécanismes. En réalité, les agonistes du CB2 agissent probablement par plusieurs voies, et c'est cet aspect qui fait du récepteur CB2 une cible encore plus prometteuse pour le traitement de la douleur. Il serait très intéressant de clarifier les relations entre ces divers mécanismes et de comprendre si elles sont différentes lorsqu'il s'agit de types variés de douleur, par exemple neuropathique ou inflammatoire. Ainsi, pour les années à venir, des perspectives de recherche très excitantes apparaissent dans ce domaine.

Remerciements

J'aimerais remercier tous les collègues qui ont contribué, à différents niveaux, aux études rapportées dans cet article, et plus particulièrement les Drs N. Bernardini, R. Bertorelli, R. Brusa, A. Campanella, F. Freduzzi, C. Foglia, G. Tarozzo, D. Tulshian, et A. Reggiani ainsi qu'Evelyne Vila-Porcile qui en a assuré la traduction française.

Références

- Beltramo M., Stella N., Calignano T., Lin S.Y., Makriyannis A., Piomelli D. Functional role of high-affinity anandamide transport revealed by selective inhibition. *Science*, 1997, 277, 1094–1097.
- Beltramo M., Bernardini N., Bertorelli R., Campanella M., Nicolussi E., Freduzzi S., Reggiani. CB2 receptor-mediated antihyperalgesia : possible direct involve-

- ment of neural mechanisms. *Eur J Neurosci*, 2006, 23, 1530–1538.
- Bernardini N., Foglia C., Tarozzo G., Zacchetti D., Grohovatz F., Beltramo M., Reggiani A. Modulation of primary sensory afferents activity by CB2 receptors agonists Program No. 722.2. *Neuroscience Meeting*. San Diego, CA : Society for Neuroscience, 2007.
- Breivogel C.S., Sim L.J., Childers S.R. Regional differences in cannabinoid receptor/G-protein coupling in rat brain. *J Pharmacol Exp Ther*, 1997, 282, 1632–1642.
- Clayton N., Marshall F.H., Bountra C., O'Shaughnessy C.T. CB1 and CB2 cannabinoid receptors are implicated in inflammatory pain. *Pain*, 2002, 96, 253–260.
- Cravatt B.F., Demarest K., Patricelli M.P., Bracey M.H., Giang D.K., Martin B.R., Lichtman A.H. Supersensitivity to anandamide and enhanced endogenous cannabinoid signalling in mice lacking fatty acid amido hydrolase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98, 9371–9376.
- Devane W.A., Dysarz F.A. 3rd, Johnson M.R., Melvin L.S., Howlett A.C. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Mol Pharmacol*, 1988, 34, 605–613.
- Devane W.A., Hanùs L., Breuer A., Pertwee R.G., Stevenson L.A., Griffin G., Gibson D., Mandelbaum A., Etinger A., Mechoulam R. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science*, 1992, 258, 1882–1884.
- Dinh T.P., Carpenter D., Leslie F.M., Freund T.F., Katona I., Sensi S.L., Kathuria S., Piomelli D. Brain monoglyceride lipase participating in endocannabinoid inactivation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, 99, 10819–10824.
- Egertová M., Giang D.K., Cravatt B.F., Elphick M.R. A new perspective on cannabinoid signalling : complementary localization of fatty acid amide hydrolase and the CB1 receptor in rat brain. *Proc Biol Sci*, 1998, 265, 2081–2085.
- Elmes S.J.R., Jhaveri M.D., Smart D., Kendall D.A., Chapman V. Cannabinoid CB2 receptor activation inhibits mechanically evoked responses of wide dynamic range dorsal horn neurons in naïve rats and in rat models of inflammatory and neuropathic pain. *Eur J Neurosci*, 2004, 20, 2311–2320.
- Guindon J., Desroches J., Beaulieu P. The antinociceptive effects of intraplantar injections of 2-arachidonoyl glycerol are mediated by cannabinoid CB2 receptors. *Brit J Pharmacol*, 2007, 150, 693–701.
- Hanuš L., Breuer A., Tchilibon S., Shiloah S., Goldenberg D., Horowitz M., Pertwee R.G., Ross R.A., Mechoulam R., Fride E. HU-308: a specific agonist for CB(2), a peripheral cannabinoid receptor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96, 14228–14233.
- Hohmann A.G., Herkenham M. Localization of central cannabinoid CB1 receptor messenger RNA in neuronal subpopulations of rat dorsal root ganglia: a double-label *in situ* hybridization study. *Neuroscience*, 1999, 90, 923–931.
- Hohmann A.G., Suplita R.L., Bolton N.M., Neely M.H., Fegley D., Mangieri R., Krey J.F., Walker J.M., Holmes P.V., Crystal J.D., Duranti A., Tontini A., Mor M., Tarzia G., Piomelli D. An endocannabinoid mechanism for stress-induced analgesia. *Nature*, 2005, 435, 7045, 1108–1112.
- Ibrahim M.M., Deng H., Zvonok A., Cockayne D.A., Kwan J., Mata H.P., Vanderah T.W., Lai J., Porreca F., Makriyannis A., Malan T.P. Jr. Activation of CB2 cannabinoid receptors by AM1241 inhibits experimental neuropathic pain: pain inhibition by receptors not present in the CNS. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100, 10529–10533.
- Ibrahim M.M., Porreca F., Lai J., Albrecht P.J., Rice F.L., Khodorova A., Davar G., Makriyannis A., Vanderah T.W., Mata H.P., Malan T.P. Jr. CB2 cannabinoid receptor activation produces antinociception by stimulating peripheral release of endogenous opioids. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102, 3093–3098.
- Iversen L.L. The science of marijuana. Oxford University Press 2000.
- Jhaveri M.D., Richardson D., Chapman V. Endocannabinoid metabolism and uptake: novel targets for neuropathic and inflammatory pain. *Brit J Pharmacol*, 2007, 152, 624–632.
- Lopez-Rodriguez M.L., Viso A., Ortega-Gutierrez S., Lastres-Becker I., Gonzalez S., Fernandez-Ruiz J., Ramos J.A. Design, synthesis and biological evaluation of novel arachidonic acid derivatives as highly potent and selective endocannabinoid transporter inhibitors. *J Med Chem*, 2001, 46, 1512–1522.
- Klein T.W. Cannabinoid-based drugs as anti-inflammatory therapeutics. *Nat Rev Immunol*, 2005, 5, 400–411.
- Malan T.P. Jr., Ibrahim M.M., Vanderah T.W., Makriyannis A., Porreca F. Inhibition of pain responses by activation of CB(2) cannabinoid receptors. *Chem Phys Lipids*, 2002, 121, 191–200.
- Malan T.P. Jr., Ibrahim M.M., Lai J., Vanderah T.W., Makriyannis A., Porreca F. CB2 cannabinoid receptor agonists: pain relief without psychoactive effects? *Curr. Opin. Pharmacol.*, 2003, 3, 62–67.
- Matsuda L.A., Lolait S.J., Brownstein M.J., Young A.C., Bonner T.I. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature*, 1990, 346, 561–564.
- Mechoulam R., Gaoni Y. The absolute configuration of delta-1-tetrahydrocannabinol, the major active constituent of hashish. *Tetrahedron Lett* 1967, 1109–1111.
- Munro S., Thomas K.L., Abu-Shaar M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature*, 1993, 365, 61–65.
- Mitrirattanakul S., Ramakul N., Guerrero A.V., Matsuka Y., Ono T., Iwase H., Mackie K., Faull K.F., Spigelman I. Site-specific increases in peripheral cannabinoid receptors and their endogenous ligands in a model of neuropathic pain. *Pain*, 2006, 126, 102–114.
- Nackley A.G., Makriyannis A., Hohmann A.G. Selective activation of cannabinoid CB(2) receptors suppresses

- spinal fos protein expression and pain behavior in a rat model of inflammation. *Neuroscience*, 2003, 119, 747–757.
- Pertwee R.G. Cannabinoid receptor and pain. *Progress in Neurobiology*, 2001, 63, 569–611.
- Petrosino S., Palazzo E., de Novellis V., Bisogno T., Rossi F., Maione S, Di Marzo V. Changes in spinal and supraspinal endocannabinoid levels in neuropathic rats. *Neuropharmacology*, 2007, 52, 415–422.
- Petitot F., Donlan M., Michel A. GPR55 as a new cannabinoid receptor: still a long way to prove it. *Chem Biol Drug Des*, 2006, 67, 252–253.
- Piomelli D. The molecular logic of endocannabinoid signaling. *Nat Rev Neurosci*, 2003, 4, 873–884.
- Quartilho A., Mata H.P., Ibrahim M.M., Vanderah T.W., Porreca F., Makriyannis A., Malan T.P. Jr. Inhibition of inflammatory hyperalgesia by activation of peripheral CB2 cannabinoid receptors. *Anesthesiology*, 2003, 99, 955–960.
- Ryberg E., Larsson N., Sjögren S., Hjorth S., Hermansson N.O., Leonova J., Elebring T., Nilsson K., Drmota T., Greasley P.J. The orphan receptor GPR55 is a novel cannabinoid receptor. *Br J Pharmacol*, 2007, 152, 1092–1101.
- Sagar D.R., Millns P.J., O’Shaughnessey C.T., Kendall D.A., Chapman V. Inhibitory effects of CB1 and CB2 receptor agonists on responses of DRG neurons and dorsal horn neurons in neuropathic rats. *Eur J Neurosci*, 2005, 22, 371–379.
- Salio C., Fischer J., Franzoni M.F., Conrath M. Pre- and postsynaptic localizations of the CB1 cannabinoid receptor in the dorsal horn of the rat spinal cord. *Neuroscience*, 2002, 110, 755–764.
- Valenzano K.J., Tafesse L., Lee G., Harrison J.E., Boulet J.M., Gottshall S.L., Mark L., Pearson M.S., Miller W., Shan S., Rabadi L., Rotshteyn Y., Chaffer S.M., Turchin P.I., Elsemore D.A., Toth M., Koetzner L., Whiteside G.T. Pharmacological and pharmacokinetic characterization of the cannabinoid receptor 2 agonist, GW 405833, utilizing rodent models of acute and chronic pain, anxiety and catalepsy. *Neuropharmacology*, 2005, 48, 658–672.
- Van Sickle M.D., Duncan M., Kingsley P.J., Mouihate A., Urbani P., Mackie K., Stella N., Makriyannis A., Piomelli D., Davison J.S., Marnett L.J., Di Marzo V., Pittman Q.J., Patel K.D., Sharkey K.A. Identification and functional characterization of brainstem cannabinoid CB2 receptors. *Science*, 2005, 310, 329–332.
- Walker J.M., Huang S.M., Strangman N.M., Tsou K., Sañudo-Peña M.C. Pain modulation by release of the endogenous cannabinoid anandamide. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96, 12198–12203.
- Walker J.M., Hohmann A.G. Cannabinoid mechanisms of pain suppression. *Handb Exp Pharmacol*, 2005, 168, 509–554.
- Wotherspoon G., Fox A., McIntyre P., Colley S., Bevan S., Winter J. Peripheral nerve injury induces cannabinoid receptor 2 protein expression in rat sensory neurons. *Neuroscience*, 2005, 135, 235–245.
- Zhang J., Hoffert C., Vu. H.K., Groblewski T., Ahmad S., O’Donnell D. Induction of CB2 receptor expression in the rat spinal cord of neuropathic but not inflammatory chronic pain models. *Eur J Neurosci*, 2003, 17, 2750–2754.