

解一舟,李玉珍,朱慧,等. 蛋白和肽类物质跨血脑屏障转运研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(2): 128-134.
Xie YZ, Li YZ, Zhu H, et al. Progress in research on trans-blood-brain barrier delivery of proteins and peptides [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(2): 128-134.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2019.02.022

蛋白和肽类物质跨血脑屏障转运研究进展

解一舟,李玉珍,朱 慧,李宏强*

(北京建生药业有限公司,北京 100039)

【摘要】 血脑屏障是外周循环系统与大脑组织之间的一个动态的屏障,其对多肽类药物的通透性直接影响了药物作用于中枢神经系统的疗效。随着神经科学、遗传工程等技术的发展,大量蛋白质或多肽类药物得以应用于神经系统疾病,许多蛋白或多肽类药物均有对中枢神经系统的生物活性,而血脑屏障的存在,阻碍了这些物质进入中枢神经系统发挥疗效。本文总结概括了肽类物质的转运机制、促进多肽类药物跨血脑屏障能力的途径以及介绍了已知的能透过血脑屏障蛋白及多肽,希望为蛋白及多肽类中枢神经系统药物提供一些方向。

【关键词】 血脑屏障;通透性;中枢神经系统;多肽

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2019) 02-0128-07

Progress in research on trans-blood-brain barrier delivery of proteins and peptides

XIE Yizhou, LI Yuzhen, ZHU Hui, LI Hongqiang*
(Beijing Jiansheng Pharmaceutical Co. Ltd, Beijing 100039, China)

【Abstract】 The blood-brain barrier (BBB) is a dynamic barrier between the peripheral circulatory system and brain tissue, whose permeability to polypeptide drugs has a direct impact on the effect of drugs on the central nervous system (CNS). With the development of neuroscience and genetic engineering technology, a large number of protein and polypeptide drugs have been applied to the treatment of nervous system diseases. Many protein and polypeptide drugs have biological activities on the CNS, but the BBB prevents these substances from entering the CNS and exerting therapeutic effects. The mechanisms of transport of peptides and ways of promoting the penetration of the BBB by polypeptide drugs are summarized in this article and proteins or peptides known to penetrate the BBB are introduced. It is hoped that this paper will provide some direction for the development of CNS drugs.

【Keywords】 blood-brain barrier; permeability; central nervous system; peptide

近几十年来,随着人类平均寿命的增加及生活习惯、生活环境改变等因素,人类神经系统疾病的患病率正在逐年升高^[1],根据国内流行病学统计分析,我国颅内肿瘤的患病率为 32/10 万人,平均年发病率为 66/10 万人,并呈逐年上升的趋势^[2-3]。从理论上讲,药物要首先应能通过血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)并在中枢神经系统(central nervous system, CNS)中达到一定的血药浓度,才能发挥一定的作用。在 Kastin 证明促肾上腺皮质激素(adrenocorticotrophic hormone, ACTH)等肽类物质可

[基金项目]北京市密云区区级科技三项费。
[作者简介]解一舟(1986—),男,硕士,研究方向:中药新药研发及上市后中药评价。E-mail: williamjee@126.com
[通信作者]李宏强(1977—),男,副研究员,博士,研究方向:现代鲜药制剂研究。E-mail: lihq87@126.com; jianshengyaoye210@163.com

完整穿越 BBB 之前,学术界普遍认为肽类物质不能穿越 BBB,随着 BBB 研究的不断深入,越来越多的可跨 BBB 转运的肽类物质被报道^[4]。一些具有脂溶性、一定分子量及特定电荷的小分子物质能够直接从血液扩散穿越 BBB 进入 CNS,极大部分的大分子物质,如重组蛋白等均难以通过扩散的途径穿越 BBB^[5]。目前已知的跨 BBB 转运的机制主要包括以下几种:(1)水溶性小分子及其他生命活动所必需的营养类物质,如氨基酸、葡萄糖等,通过血管内皮细胞血管腔面与基底侧上的转运受体穿越 BBB;(2)多肽或蛋白类物质可以通过吸附介导转运、受体介导转运或载体介导转运等途径实现跨 BBB 转运;(3)小分子量脂溶性物质可经被动扩散途径跨 BBB 转运进入脑内^[4]。尽管经过了数十年的研究,如何使药物高效地穿越 BBB 依然是治疗 CNS 疾病的药物研发的难点。由于 BBB 结构的复杂性,通常需要建立体外模型来开展诸如药物跨 BBB 转运等研究,文中也会介绍主流模型及装置,如 Transwell 装置、NV 生物反应器等,同时也比较了它们的优缺点及应用,便于根据不同研究目的选择合适的模型或装置。

肽(peptide)是 α -氨基酸以肽键连接在一起而形成的化合物,通常指的是 100 个氨基酸以下的大分子物质,多肽通常也是蛋白质水解的中间产物。在哺乳动物体中,肽类物质主要由外周脏器或 CNS 产生,如胰岛素(insulin)、胰高血糖素(glucagon)可调节血糖浓度,神经肽作为 CNS 的递质在大脑的不同部位发挥着不同的生理作用,如痛觉、睡眠、情绪、学习、摄食、痛觉等均有调节作用,另外,神经系统本身的分化和发育也受神经肽的调节。

1 已发现的可通过 BBB 的多肽或蛋白类物质

1.1 神经营养因子

神经营养因子(neurotrophin, NT)对 CNS 的创伤性、退化性和缺血性疾病均具有治疗潜力,如 NGF、NT-3、NT-4/5 及脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)均可被选择性地输送至脑内^[5],而另外某些神经营养因子却不能跨 BBB 转运,如人类胶质细胞衍生神经营养因子(human glia-derived neurotrophic factors)等^[6]。

1.2 神经营养肽

上表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)^[7]神经生长因子(nerve growth factor, NGF)、

的胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF)^[8]等神经营养多肽(neurotrophic peptides)可通过饱和运输系统穿越 BBB,碱性成纤维母细胞生长因子(basic fibroblast growth factor)可能通过吸附胞吞的作用跨 BBB 转运^[9]。EGF 是通过结合一个 170 kD 的酪氨酸特异性蛋白激酶(tyrosine-specific protein kinase)来向脑内运输的^[10]。

1.3 细胞因子

细胞因子(cytokine)具有调节固有免疫和适应性免疫、细胞生长以及损伤组织修复等多种功能。白血病抑制因子(leukemia inhibitory factor)通过饱和转运系统或原位脑灌注跨 BBB 转运至脑内^[11],可以改变 NT-3 的表达、减少少突细胞的死亡,也可用于改善卢伽雷病的症状^[12]。

1.4 作用于摄食行为的多肽

一般情况下,瘦素(leptin, LP)会被完全转移至大脑中,此类多肽是 LP 作用的主要受体。其在下丘脑的核团上高度表达,而这些核团具有调节摄食与体重的功能,在一些外周组织如心、肺、淋巴结中也有表达。短受体在多种外周器官中选择性地表达^[13]。这类多肽在体内表达最广泛,其他多肽如胰肽(pancreatic polypeptide)、促肾上腺皮质激素释放激素(corticotropin releasing hormone, CRF)是通过饱和转运系统转运^[14],甘丙肽样肽(galanin-like peptide)^[15]、食欲肽 A(orexin-A)^[16]等都是通过非饱和途径转运的。

1.5 阿片肽

阿片肽是免疫系统中重要的调节因子,它几乎作用于所有的免疫活性细胞,对不同亚类的细胞作用却不尽相同,阿片肽可能是应激引起免疫调节的介质。阿片肽、甲硫脑啡肽都是通过肽传输系统-1(peptide transport system-1)转运的^[17],也可以通过改变化合物的理化性质来实现跨 BBB 转运^[18]。

1.6 激素或其他蛋白

CRF 是通过饱和转运系统来影响垂体及下丘脑产生脑内啡的^[19],在大脑中存在一个胰岛素(insulin)的饱和转运系统,受体相关蛋白(receptor-associated protein)也可以透过 BBB 转运至脑组织。抗原结合片段(fragment of antibody binding, FAB)、单克隆抗体(monoclonal antibody, MAbs)、IgG、白蛋白(albumin)、P-糖蛋白(P-glycoprotein)、脑啡肽、糖肽等蛋白也可通过改变 BBB 通透性或化合物的理化性质来实现跨 BBB 转运^[20]。

2 多肽类物质的转移机制

外周注射入血的多肽类物质透过 BBB 的机制主要是不饱和的跨膜扩散,如 δ -促睡眠肽(δ -sleep-inducing peptide, DSIP)及其类似物、类固醇类药物,跨 BBB 转运能力主要取决于药物的脂溶性^[5]。随着研究的不断深入,越来越多的实验数据证明,较脂溶性,氢键键能对多肽类物质透过 BBB 的影响更大^[21],同一种多肽,氢键构象的改变可引起氢键键能的改变^[22],所以亲水性较强的 DSPI 也能跨 BBB 转运。某些多肽如亮氨酸脑啡肽、精氨酸加压素、黄体生成素释放激素等还可以通过饱和转运系统来透过 BBB,这种机制被称为肽转运系统^[23],在 BBB 中,区域差异(大脑的不同区域)也会影响到肽或蛋白质向脑内的传输^[24]。大多数亲水性多肽的扩散能力是有限的,然而,选择性饱和转运系统通常能够更高效的运输一些亲水性多肽^[14],转运机制又可细分为吸附介导转运、受体介导转运、载体介导转运等多种形式,吸附介导转运中的胞吞作用的强弱与多肽的带正电部分和带负电的细胞膜表面之间的静电作用大小有关^[25]。吸附介导转运易受到聚 L-赖氨酸、丹酰尸胺、鱼精蛋白^[26]等的抑制。受体介导转运具有更高的亲和力及底物特异性,但是传输能力较吸附介导转运低^[13]。载体介导转运运输能力的强弱与具有交叉抑制活性的结构性配体有关^[14]。此外,依附于蛋白上的 IGF 及其聚合物也会影响多肽跨 BBB 转运的能力^[6]。大脑内不同区域的酶活力是不尽相同的,这就为我们提供了一种通过调节进入大脑不同区域物质的量来调节多肽类物质穿越 BBB 的方法^[27]。通常情况下,可能只有很少量的肽类物质可以跨 BBB 转运至 CNS 内,但足以引起一定的生理反应。

3 改变大分子肽类药物跨 BBB 能力的途径

多肽或蛋白类药物在 CNS 疾病的治疗中具有一定的意义,经常会因 BBB 的屏障作用难以在脑内达到有效血药浓度而影响药物的疗效。因此,提高药物穿越 BBB 的能力显得尤为重要。

3.1 渗透性 BBB 开放

最直接的方法就是对 BBB 进行可逆性的开放^[28],最常用的方法是在颈动脉注射如甘露醇、阿拉伯糖等高渗溶液(即渗透性休克),能使伊文思蓝

跨 BBB 转运并对脑组织进行染色,1988 年 Neuwelt 等通过渗透性开放 BBB 的实验证明了 FAB 或 MAb 均可以通过此方法进入脑组织,但同时,这种非特异性的方法也会让一些有害物质进入到脑内^[20]。

3.2 改变药物的理化性质

多肽类物质跨 BBB 转运的能力与多肽的亲脂性、分子大小、氢键键能等有关。一般来说,亲脂性越强,穿透能力也越强,氢键键能越低,穿透能力越强,因此,可以通过改变多肽的物理化学性质来提高多肽类药物通过 BBB 的能力。一系列实验证明降低氢键键能可以提高 P-糖蛋白(P-glycoprotein)的跨 BBB 转运量^[29],糖基化的方法可提高阿片肽跨 BBB 转运的量以期增加药效^[30]、脑啡肽、糖肽、阿片肽等通过聚乙二醇化^[18]的方法可提高其跨 BBB 转运的能力,神经生长因子(nerve growth factor, NGF)和 IgG 糖基化后的跨 BBB 能力均有明显提高^[21],胰岛素(insulin)、白蛋白(albumin)、IgG 经聚酰胺修饰后跨 BBB 的转运能力会大大增强^[31],脂质体、免疫脂质体的应用也是这一想法的延伸。另外,脑毛细血管内皮带有负电荷,因此可以使多肽带正电荷以提高其跨 BBB 能力,总之,在改变多肽的物理化学性质的同时要保留或增强其疗效,需要进行更加深入的研究。

3.3 借助药物转运载体

将多肽与特殊的载体结合,可以提高其跨 BBB 转运的能力。最近十几年,陆续有文献报道,用腺相关病毒、逆转录病毒,单纯疱疹病毒以及牛痘病毒等作为载体 CNS 疾病,如神经退行性疾病、肿瘤及中风^[32],在此过程中用甘露醇打开 BBB 通道以增加转运的量^[33],病毒载体与神经营养蛋白相结合可以促进背根神经轴突到脊髓等细胞定位再生,如 NT-3 可借助腺病毒作为载体提高转运能力^[34]。转铁蛋白、低密度脂蛋白、胰岛素等及其受体、抗体也可以作为多肽类药物跨 BBB 的转运载体^[26, 35],此外,如阳离子化的人血清白蛋白(human serum albumin)^[36]、转铁蛋白的单克隆抗体 OX26^[37]都可以作为良好的脑药物转运载体,最新的研究发现细胞穿透肽(cell penetrating peptides, CPP)、蛋白质转导域(protein transduction domain, PTD)能促进细胞对其所携带的各种物质的摄取^[38],因此将多肽类药物制成纳米颗粒并且通过与 CPP 或 PTD 的结合达到跨 BBB 转运的目的成为了一个研究热点。

4 血脑屏障体外模型及体外装置

BBB 的结构十分复杂,因此其通透性的研究常常借助体外模型来实现。通过查阅文献,可以将体外模型大致划分为静态模型和动态模型两种类型,这两种类型又可以细分为不同的类型。

4.1 静态模型

静态模型根据所培养细胞种类的不同,大致可分为单层模型及共培养模型^[39],因其不能模拟在体内环境下血液流动产生的切应力,故其更适用于研究信号通路、转运动力学、高分子筛以及结合亲和力的测量、细胞与细胞间、细胞与内环境间的相互作用等的研究,其突出的优点为操作简单。

4.1.1 单层模型

将单一类型的内皮细胞^[40]如脑微血管细胞(brain microvascular endothelial cells, BMEC),培养于 Transwell 膜上所构建的 BBB 模型,基本可模拟 BBB 功能,牛、猪等大型动物细胞比大鼠更适合建立体外 BBB 模型^[41]。单层模型根据培养细胞来源的不同主要有脑微血管碎段模型^[41]、MDCK 细胞模型^[42]、永生化细胞模型^[43]、原代 BMEC 模型等。单层模型的关键是要对细胞进行纯化,常见的纯化方法有筛网过滤、差速贴壁及摇床振摇^[44]、免疫磁珠纯化、Percoll 离心纯化等^[45]。

4.1.2 共培养模型

为避免单独培养的细胞丧失 BBB 的活性,加入其他细胞尤其是星形胶质细胞能更好地模拟在体环境^[46]。下面以三种共培养模型举例:(1)微血管内皮细胞+星形胶质细胞共培养模型,其表现型较单层模型更接近于体内生理状态^[47],因此能较好地模拟在体环境,是目前应用最广泛的模型。(2)脑微血管内皮细胞+星形胶质细胞+周细胞共培养模型,由于加入了周细胞,较前一种模型可更好地模拟在体状态,通过测量上皮电阻(trans-epithelial electric resistance, TEER)、荧光素钠通透性、碱性磷酸酶及 γ -谷氨酰转肽酶的表达等来评价屏障功能^[48]。(3)原代培养脑微血管内皮细胞+周细胞模型,此模型缺少星形胶质细胞的功能支持,较少使用,可用于研究两种细胞间的相互作用。此外,BMEC 还可以与神经元或其他细胞共培养制备 BBB

模型,如由 BMEC 与胶质细胞、海马神经元共培养制备而成的静态三维模型可用于药物筛选。

4.2 动态模型

在体内正常生理状态下,血流流动产生切应力,能够影响内皮细胞的屏障功能,降低单层脑微血管内皮细胞对药物的渗透率。下面介绍三种常见的能够模拟切应力的 BBB 体外模型:(1)锥板装置模型,利用圆锥旋转来产生一定的切应力^[49],切应力受角速度和锥角大小的影响。(2)体外 BBB 动力学模型,模型中的中空纤维膜可产生一定的切应力,同时模型中也可以共培养其他类型的细胞,用输气管系统实现气体交换来维持微环境的稳定,可用于研究各种 CNS 疾病的病理生理学,如脑缺血再灌注损伤和癫痫等的改变^[50]。(3)三维动力学模型,该模型用变速泵输入液体产生切应力,切应力的产生装置由两个互相垂直的中空纤维管组成,多孔膜内外两侧接种细胞并放置多个 Ag/AgCl 电极^[51],输气管实现 O_2 和 CO_2 交换。其为转运迁移实验的首选,也可应用于神经血管的研究、BBB 内信号传导的研究^[52]。

除以上所介绍的模型外,很多学者基于细胞层面进行 BBB 体外模型装置的研发,以期在体外条件下再现 BBB 的结构、功能和特性,常见 BBB 体外模型优缺点及其应用详见表 1。

5 总结

外周与大脑的大部分交流要依赖 BBB。随着神经科学、遗传工程技术、多肽蛋白分子三维结构预测及多肽蛋白分子相互作用研究的不断深入,将会有更多的治疗 CNS 疾病的多肽或蛋白类物质将被发现并开发成可用于临床的药物。每年有上千种具有生物活性的多肽类物质从动物或细菌中被提取出来,天然多肽又可以通过基因工程、酶工程、糖基化、纳米化等方法进行修饰或克隆,从而获得更多的应用,因此,为增强多肽类药物跨 BBB 转运的能力,对药物进行必要的化学修饰将成为一个研发的热点,相信在不久的将来,将会有更多的多肽类神经系统药物及给药、释药系统被开发出来并用于临床实践。

表 1 BBB 体外模型装置优缺点及其应用 ^[53]				
Table 1 Advantages and disadvantages of BBB models in vitro and their application				
名称 Name	细胞类型 Cell type	剪切应力 Shearing stress	优缺点 Advantages and disadvantages	应用 Application
Transwell 装置 ^[43]	各种类型的 脑内皮细胞	无	优点:装置简单、操作性及兼容性好 缺点:需要细胞共培养来维持 BBB 特性	药物渗透性、肿瘤药物毒性、细胞迁移实验等 ^[43]
平行板流室 ^[44]	内皮细胞、肿瘤细胞等	有	优点:装置简单、可实时长期显微观察、可提供剪切应力 缺点:仅能进行单层细胞培养,无法实现细胞共培养	细胞趋药性、肿瘤细胞跨内皮迁移、方面的研究药物对脑血管内皮细胞功能调控 ^[44]
3D NVU ^[45]	bEnd.3、C8D1A	有	优点:可实现 3D 细胞培养、细胞共培养,细胞实时显微观察,提供剪切应力 缺点:不能实时监测 TEER 值	药代动力学实验及 CNS 药物筛选等 ^[45]
μBBB ^[41]	bEnd.3、C8D1A	有	优点:成本低,显微成像清晰、实时 TEER 监测 缺点:调控微环境变化的能力弱	药物筛选、药物转运研究,监控 BBB 对外界刺激物的反应 ^[40,46]
NVU 芯片 ^[46]	RBE4、鼠源 E18 神经细胞	无	优点:可构建神经与血管信息通讯,再现完整的 BBB 结构,药物筛选准确性高 缺点:装置复杂,细胞无法长期培养	药物功效和毒性预测、神经元与脑脊液相互作用脑组织中化学通讯、分子示踪、炎症发生等研究 ^[46]
SyM-BBB ^[47]	RBE4、ACM	有	优点:成本低、便于显微观察,可实现液体的连续灌注 缺点:无法进行共培养、高通量药物筛选及 TEER 实时监测	神经药物筛选、生理状态下 BBB 信号通路以及神经疾病中 BBB 功能紊乱机制研究 ^[47]
NV 生物反应器 ^[48]	hBMVEC、周细胞、hiPS 来源的神经元	有	优点:人源细胞构建、神经元 3D 培养、可对腔面和基底面物质运输分别控制 缺点:装置复杂,TEER 不能实时监控	药物渗透性及毒性、药物对神经元的作用、神经元对 BBB 功能的影响等研究 ^[48]
3D BBB ^[49]	hCMEC/D3、人星形胶质细胞	有	优点:能实现 3D 细胞共培养,提供剪切应力及周期性收缩 缺点:在 TEER 值实时监测、药物高通量筛选等方面存在不足	药物筛选,研究剪切应力血管周期性收缩对内皮细胞功能的影响 ^[49]

参考文献:

[1] 许钹,施霖,刘瑞璋. 脑肿瘤的理化致病因素[J]. 中国公共卫生, 2000, 16(7): 651-652.

[2] 王维琼. 2016 年中国恶性肿瘤发病和死亡分析[J]. 临床医药文献杂志;电子版, 2017, 4(19): 3604-3604.

[3] 陈万青,郑荣寿,曾红梅,等. 2011 年中国恶性肿瘤发病和死亡分析[J]. 中国肿瘤, 2017, 25(1): 1-10.

[4] 王焱超,梁锐超,方芳. 中枢神经系统药物穿透血脑屏障的研究进展[J]. 华西医学, 2015, (7): 1351-1356.

[5] Samii A, Bickel U, Stroth U, et al. Blood-brain barrier transport of neuropeptides; analysis with a metabolically stable dermorphin analogue[J]. Am J Physiol, 1994, 267(1): 124-31.

[6] Kastin AJ, Akerstrom V, Pan W. Glial cell line-derived neurotrophic factor does not enter normal mouse brain [J]. Neurosci Lett, 2003, 340(3): 239-241.

[7] Pan W, Kastin AJ, Banks WA, et al. Effects of peptides; a cross-listing of peptides and their central actions published in the journal Peptides from 1994 through 1998 [J]. Peptides, 1999, 20(9): 1127-38.

[8] Pan W, Kastin AJ. Interactions of IGF-1 with the blood-brain barrier in vivo and in situ [J]. Neuroendocrinology, 2000, 72(3): 171-178.

[9] Deguchi Y, Naito T, Yuge T. Blood-brain barrier transport of 125I-labeled basic fibroblast growth factor[J]. Pharm Res, 2000, 17(1): 63-69.

[10] Brändli AW, Adamson ED, Simons K. Transcytosis of epidermal growth factor. The epidermal growth factor receptor mediates uptake but not transcytosis [J]. J Biol Chem, 1991, 266(13): 8560.

[11] Pan W, Kastin AJ, Brennan JM. Saturable entry of leukemia inhibitory factor from blood to the central nervous system[J]. J

- Neuroimmunol, 2000, 106(1-2): 172-180.
- [12] Kurek JB, Radford AJ, Crump DE, et al. LIF (AM424), a promising growth factor for the treatment of ALS[J]. J Neurol Sci, 1998, 160(3): S106-S113.
 - [13] Kastin AJ, Akerstrom V. Differential interactions of urocortin/corticotropin-releasing hormone peptides with the blood-brain barrier[J]. Neuroendocrinol, 2002, 75(6): 367-374.
 - [14] Banks WA, Kastin AJ, Jaspan JB. Regional variation in transport of pancreatic polypeptide across the blood-brain barrier of mice[J]. Pharmacol Biochem Be, 1995, 51(1): 139-47.
 - [15] Kastin AJ, Akerstrom V, Hackler L. Food Deprivation Decreases Blood Galanin-Like Peptide and Its Rapid Entry into the Brain[J]. Neuroendocrinol, 2001, 74(6): 423-432.
 - [16] Kastin AJ, Akerstrom V, Hackler L, et al. Adrenomedullin and the blood-brain barrier[J]. Horm Metab Res, 2001, 33(01): 19-25.
 - [17] Kastin AJ, Fasold MB, Smith RR, et al. Saturable brain-to-blood transport of endomorphins[J]. Exp Brain Res, 2001, 139(1): 70-75.
 - [18] Calvo P, Gouritin B, Villarroja H, et al. Quantification and localization of PEGylated polycyanoacrylate nanoparticles in brain and spinal cord during experimental allergic encephalomyelitis in the rat[J]. Eur J Neurosci, 2010, 15(8): 1317-1326.
 - [19] Martins JM, Banks WA, Kastin AJ. Transport of CRH from mouse brain directly affects peripheral production of beta-endorphin by the spleen[J]. Am J Physiol, 1997, 273(1): 1083-9.
 - [20] Neuwelt EA, Barnett PA, Hellström I, et al. Delivery of melanoma-associated immunoglobulin monoclonal antibody and fab fragments to normal brain utilizing osmotic blood-brain barrier disruption[J]. Cancer Res, 1988, 48(17): 4725-4729.
 - [21] Poduslo JF, Curran GL. Glycation increases the permeability of proteins across the blood-nerve and blood-brain barriers[J]. Mol Brain Res, 1994, 23(1-2): 157-162.
 - [22] Chikhale EG, Ng KY, Burton PS, et al. Hydrogen bonding potential as a determinant of the in vitro and in situ blood-brain barrier permeability of peptides[J]. Pharm Res, 1994, 11(3): 412-9.
 - [23] Banks WA, Kastin AJ. Peptide transport systems for opiates across the blood-brain barrier[J]. Am J Physiol, 1990, 259(1): 1-10.
 - [24] Kastin AJ, Hahn K, Zadina JE. Regional differences in peptide degradation by rat cerebral microvessels: a potential novel regulatory mechanism for communication between blood and brain[J]. Life Sci, 2001, 69(11): 1305-1312.
 - [25] Li Q, Sai Y, Kato Y, et al. Transporter-mediated renal handling of nafamostat mesilate[J]. J Pharm Sci, 2004, 93(2): 262-272.
 - [26] Akta Y, Yemisci M, Andrieux K, et al. Development and brain delivery of chitosan-PEG nanoparticles functionalized with the monoclonal antibody OX26[J]. Bioconjugate Chem, 2005, 16(6): 1503-1511.
 - [27] Sakurada S, Hayashi T, Yuhki M, et al. Differential antinociceptive effects induced by intrathecally administered endomorphin-1 and endomorphin-2 in the mouse[J]. Eur J Pharmacol, 2001, 427(3): 203-210.
 - [28] 许金明, 郑惠民. 肽类物质的跨血脑屏障转运研究进展[J]. 中国药理学通报, 1998, (s1): 34-37.
 - [29] Chikhale EG, Burton PS, Borchardt RT. The effect of verapamil on the transport of peptides across the blood-brain barrier in rats: kinetic evidence for an apically polarized efflux mechanism[J]. J Pharmacol Exp Ther, 1995, 273(1): 298-303.
 - [30] Dhanasekaran M, Polt R. New prospects for glycopeptide based analgesia: glycoside-induced penetration of the blood-brain barrier[J]. Curr Drug Deliv, 2005, 2(1): 59-73.
 - [31] Poduslo JF, Curran GL. Polyamine modification increases the permeability of proteins at the blood-nerve and blood-brain barriers[J]. J Neurochem, 2010, 66(4): 1599-1609.
 - [32] Lowenstein PR, Castro MG. Progress and challenges in viral vector-mediated gene transfer to the brain[J]. Curr Opin Mol Ther, 2002, 4(4): 359-371.
 - [33] Muldoon LL, Nilaver G, Kroll RA, et al. Comparison of intracerebral inoculation and osmotic blood-brain barrier disruption for delivery of adenovirus, herpesvirus, and iron oxide particles to normal rat brain[J]. Am J Pathol, 1995, 147(6): 1840-1851.
 - [34] Dijkhuizen P, Zhang Y, Anderson P, et al. Regrowth of injured dorsal root axons into the spinal cord by adenoviral vector-mediated NT-3 delivery[J]. J Neurosci Res, 1998, 54(4): 554-562.
 - [35] Boado RJ, Zhang Y, Zhang Y, et al. GDNF fusion protein for targeted-drug delivery across the human blood-brain barrier[J]. Biotechnol Bioeng, 2010, 100(2): 387-396.
 - [36] Kang YS, Pardridge WM. Brain delivery of biotin bound to a conjugate of neutral avidin and cationized human albumin[J]. Pharm Res, 1994, 11(9): 1257-1264.
 - [37] Wu D, Pardridge WM. Central nervous system pharmacologic effect in conscious rats after intravenous injection of a biotinylated vasoactive intestinal peptide analog coupled to a blood-brain barrier drug delivery system[J]. J Pharmacol Exp Ther, 1996, 279(1): 77-83.
 - [38] 黄秉仁. 神经系统多肽(蛋白)药物研发现状与前景[J]. 生物产业技术, 2009, (3): 52-67.
 - [39] 聂子涵, 李俊发, 赵丽. 血脑屏障细胞体外培养模型研究进展[J]. 中国药理学杂志, 2018, 53(3): 165-168.
 - [40] 黄丹, 丛喆, 徐珮, 等. HIV/SIV 入侵血脑屏障的分子机制探讨[J]. 中国比较医学杂志, 2015, 25(11): 81-85.
 - [41] Bicker J, Alves G, Fortuna A, et al. Blood-brain barrier models and their relevance for a successful development of CNS drug delivery systems: a review[J]. Eur J Pharm Biopharm, 2014, 87(3): 409-432.
 - [42] Kikuchi R, De Morais SM, Kalvass JC. In vitro P-glycoprotein efflux ratio can predict the in vivo brain penetration regardless of biopharmaceutics drug disposition classification system class[J].

Drug Metab Dispos, 2013, 41(12): 2012-2017.

[43] Kamiichi A, Furihata T, Kishida S, et al. Establishment of a new conditionally immortalized cell line from human brain microvascular endothelial cells: A promising tool for human blood-brain barrier studies[J]. Brain Res, 2012, 1488(2): 113-122.

[44] Tang T, Guan Z, Wenfeng YU, et al. Primary Culture of Cerebral Cortical Astrocytes from SD Rats in vitro[J]. Journal of Guiyang Medical College, 2014,39(2):158-161.

[45] Gaillard PJ, Voorwinden LH, Vu D, et al. Astrocytes increase the functional expression of P-glycoprotein in an in vitro model of the blood-brain barrier[J]. Pharm Res, 2000, 17(10): 1198.

[46] 张靖华, 樊怡, 马健飞, 等. 小鼠腹膜透析模型的构建及腹膜转运关键蛋白的表达[J]. 中国比较医学杂志, 2008, 18(4):18-20.

[47] Abbott NJ. Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier[J]. Nat Rev Neurosci, 2006, 7(1): 41-53.

[48] 王超, 张会欣, 邢邯英, 等. 通心络胶囊抑制 p38 MAPK 磷酸化抑制糖尿病周围神经病变小鼠氧化应激[J]. 中国药理学通报, 2015, (5): 726-730.

[49] Tarbell JM. Shear stress and the endothelial transport barrier[J]. Cardiovas Res, 2010, 87(2): 320.

[50] Cucullo L, Couraud PO, Weksler B, et al. Immortalized human brain endothelial cells and flow-based vascular modeling: a marriage of convenience for rational neurovascular studies[J]. J Cerebr Blood F Met, 2008, 28(2): 312-328.

[51] Booth R, Kim H. Characterization of a microfluidic in vitro model of the blood-brain barrier (μBBB) [J]. Lab Chip, 2012, 12(10): 1784-1792.

[52] He Y, Yao Y, Tsirka SE, et al. Cell-culture models of the blood-brain barrier[J]. Stroke, 2014, 45(8): 2514-2526.

[53] 沙保勇, 刘洁, 景晓红, 等. 脑血屏障体外模型研发[J]. 生命科学, 2018, 30(3):310-318.

[收稿日期]2018-08-08

(上接第 105 页)

原特性和检测方法的敏感性,调整监测计划,有目的地增加检测频率,既保证动物质量,又可节省经费,使检测工作在确保实验动物质量方面起到应有的作用^[10]。目前,四川省在遗传的监测上几乎没有涉及,虽然暂时并没有近交系实验动物的生产,但是具备遗传质量评价的能力对于检测机构是必要的^[11]。实验动物的遗传背景决定了其反应特性,只有做好遗传质量检测,才能充分保障种群的特异性,所以也要增强生产单位对遗传质量控制意识,共同保障实验动物的质量^[12]。

参考文献:

[1] GB14922. 1-2001.实验动物 寄生虫学等级及监测[s].2001.

[2] GB14922. 2-2001.实验动物 微生物学等级及监测[s].2001.

[3] GB14922. 2-2011.实验动物 微生物学等级及监测[s].2011.

[4] 凌巍. 金黄色葡萄球菌的分布及其肠毒素基因的研究[D].河北农业大学,2007.

[5] 邓泽静,李毅,洪程基,等. 食品中金黄色葡萄球菌污染状况及其毒素检测[J].浙江预防医学,2011, 23(2):92-94.

[6] 宁磊.影响实验动物质量和动物试验结果的因素分析[J]. 微生物学免疫学进展,2011,39(1):48-52.

[7] 王莉,刘军须,王瑜,等. 清洁级小鼠科学饲养管理措施探讨[J]. 医学动物防制,2010,26(7):605-607.

[8] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局.GB/T 14922. 2-2011 实验动物微生物学等级及监测[S].2011:1-6.

[9] 葛文平,张旭,高翔,等. 我国商业化 SPF 级小鼠病原体污染分析[J].中国比较医学杂志,2012,22(3):65-68.

[10] 张丽芳.实验动物细菌学监测工作中存在的问题及建议[J]. 中国比较医学杂志,2011,21(8):74-78.

[11] 佟 巍.国内外实验动物病毒检测的比较[J].中国比较医学杂志,2012,22(11):10-15.

[12] 魏杰,林建伟,付瑞,等.2009-2013 年北京地区实验动物质量抽检结果分析[J].实验动物科学,2014, 31(02):1-6.

[收稿日期]2018-08-20