

闫峰, 田悦, 黄语悠, 等. 稀荃通栓胶囊减轻慢性脑缺血大鼠认知功能损伤的机制研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32 (5): 47-52, 76.

Yan F, Tian Y, Huang YY, et al. Use of xi-xian-tong-shuan capsules for alleviating vascular cognitive impairment in rats with chronic cerebral hypoperfusion [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(5): 47-52, 76.

doi: 10. 3969/j.issn.1671-7856. 2022. 05. 007

稀荃通栓胶囊减轻慢性脑缺血大鼠认知功能损伤的机制研究

闫 峰¹, 田 悦^{1,2}, 黄语悠¹, 钟丽媛¹, 罗玉敏^{1*}

(1.首都医科大学宣武医院脑血管病研究室,北京 100052;2.广州中医药大学科技创新中心,广州 510405)

【摘要】 目的 研究稀荃通栓胶囊对大鼠慢性脑缺血 (chronic cerebral hypoperfusion, CCH) 模型的作用及对血脑屏障的影响。**方法** 使用 SD 大鼠制作双侧颈总动脉结扎慢性脑缺血模型,造模后连续灌胃稀荃通栓 (xi-xian-tong-shuan, XXTS) 42 d。应用水迷宫评价大鼠学习认知功能,尼氏染色观察海马区神经元,免疫荧光染色观察血脑屏障损伤程度,分别使用 ELISA 和 Western blot 检测血浆、脑组织中血脑屏障相关蛋白含量。**结果** 稀荃通栓胶囊可改善慢性脑缺血后大鼠学习认知功能下降,减少海马区神经元中尼氏小体减少、IgG 漏出,降低血浆中 MMP-9、claudin-5、occludin 的水平,提高脑组织中 claudin-5、occludin 的表达量。**结论** 稀荃通栓胶囊可以减轻血脑屏障损伤,改善慢性脑缺血后学习认知功能。

【关键词】 慢性脑缺血;血管性认知损伤;稀荃通栓胶囊;血脑屏障

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2022) 05-0047-06

Use of xi-xian-tong-shuan capsules for alleviating vascular cognitive impairment in rats with chronic cerebral hypoperfusion

YAN Feng¹, TIAN Yue^{1,2}, HUANG Yuyou¹, ZHONG Liyuan¹, LUO Yumin^{1*}

(1. Institute of Cerebrovascular Disease Research, Xuanwu Hospital of Capital Medical University, Beijing 100052, China.

2. Science and Technology Innovation Center, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405)

【Abstract】 Objective To study the effects of xi-xian-tong-shuan capsules on chronic cerebral hypoperfusion rats. **Methods** A rat model of chronic cerebral hypoperfusion was established by ligating bilateral common carotid arteries, and then xi-xian-tong-shuan capsules were given daily for 42 days. Water maze test was used to evaluate the learning and cognitive functions of these rats. Neurons in the hippocampus were observed by Nissl's staining and blood brain barrier (BBB) function was evaluated by immunofluorescence staining. BBB-related proteins in plasma and brain tissues were detected by ELISA and Western blot, respectively. **Results** Xi-xian-tong-shuan capsules ameliorated the declines of learning and cognitive functions in rats after chronic cerebral hypoperfusion, reduced the number of Nissl bodies and amount of IgG leakage in the hippocampus, and enhanced the expression of BBB-related proteins, when compared with those in the model group. **Conclusions** Xi-xian-tong-shuan capsules improved learning and cognitive functions after chronic cerebral ischemia by alleviating the damage to the BBB.

【Keywords】 chronic cerebral hypoperfusion; vascular cognitive impairment; xi-xian-tong-shuan capsule; blood brain barrier

[基金项目]国家自然科学基金面上项目(82171301)。

[作者简介]闫峰(1984—),男,主管技师,博士,研究方向:脑血管病发病机制。E-mail: yanfeng@ccmu.edu.cn

[通信作者]罗玉敏(1965—),女,教授,研究方向:脑血管病发病机制。E-mail: yumin111@ccmu.edu.cn

缺血性脑血管病已成为威胁我国人民健康的头号杀手,随着人口老龄化社会的进入,我国脑血管病的发病率在近几年快速增长^[1]。其中慢性脑缺血作为一种常见的病理状态,伴发于血管性痴呆、老年性痴呆等多种神经系统疾病的进程中。因慢性脑缺血导致的运动、认知、行为能力以及学习记忆等功能障碍的患者人群越来越多,给患者和家人带来了严重的危害,给社会造成了严重的负担。与急性脑缺血相比,慢性脑缺血的治疗时间窗更长,早期干预,可以改善临床预后。但目前治疗慢性脑缺血的药物较少,亟待开发。

慢性脑缺血发病机制复杂,最新研究表明,血脑屏障(blood brain barrier, BBB)损伤,参与了慢性脑缺血的发生发展^[2-3]。稀荳蔻通栓(xi-xian-tong-shuan, XXTS)胶囊由稀荳蔻等 13 味君臣佐使的中药药物组方,能够活血祛瘀、祛风化痰、舒筋通络、醒脑开窍。用于缺血性中风风痰痹阻脉络证引起的半身不遂、偏身麻木、口舌歪斜,语言蹇涩。在慢性脑缺血的治疗中是否能发挥神经保护作用报道较少。因此,本研究应用慢性脑缺血大鼠模型研究稀荳蔻通栓胶囊对大鼠慢性脑缺血的作用及对 BBB 的影响,为后续药物的适应症开发提供依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级雄性 SD 大鼠(270~300 g, 8~10 周龄) 21 只,购于斯贝福(北京)生物技术有限公司[SCXK(京)2019-0010],饲养于中国疾病预防控制中心 SPF 级动物实验室[SCXK(京)2019-0050]。所有动物实验均遵守 3R 原则及首都医科大学宣武医院动物伦理委员会相关要求(xw20211117-1)。

1.2 主要试剂与仪器

稀荳蔻通栓胶囊(山西晋新双鹤药业有限责任公司,国药准字 z20040065);异氟烷(河北一品制药股份有限公司,国药准字 H19980141);IgG 荧光抗体(Alexa Flour 488, Life, 1 : 500);一抗(occludin, 1 : 250, Abcam, ab31721; claudin-5, 1 : 500, Santa, sc-28670);二抗(1 : 2000, 中杉金桥);基质金属蛋白酶 ELISA 试剂盒(MMP-9, 江苏酶免实业有限公司, MM-20918R2);紧密连接蛋白 ELISA 试剂盒(occludin, 江苏酶免实业有限公司 MM-70051R2; claudin-5, 江苏酶免实业有限公司, MM-61504R2)。显微镜(Nikon, 941176);水迷宫(上海科欣电子科技有限公司);酶标仪(Labsystems Multiskan MS, 芬兰)。

1.3 实验方法

1.3.1 Sprague-Dawley(SD)大鼠 CCH 模型及分组
术前 12 h 禁食水。CCH 模型组制作:5%异氟烷吸入诱导麻醉后取仰卧位固定,2%异氟烷维持麻醉状态。颈部备皮后碘伏消毒,沿颈部正中线切开皮肤,钝性分离筋膜、肌肉组织,充分暴露颈总动脉并小心分离,注意避免损伤迷走神经,用 6-0 线结扎右侧颈总动脉,缝合伤口。30 min 后同样步骤结扎左侧颈总动脉。假手术组找到双侧颈总动脉并与周围肌肉组织分离而不结扎。SD 大鼠随机分组:假手术组(Sham, n = 7)、模型组(CCH, n = 7)、模型+稀荳蔻通栓胶囊组(CCH+XXTS, n = 7)。

1.3.2 给药方法

大鼠术后第 2 天开始灌胃给药,稀荳蔻通栓胶囊组大鼠给药剂量为 500 mg/(kg · d),假手术组与模型组给予相同体积的蒸馏水,所有大鼠术后持续灌胃 42 d。

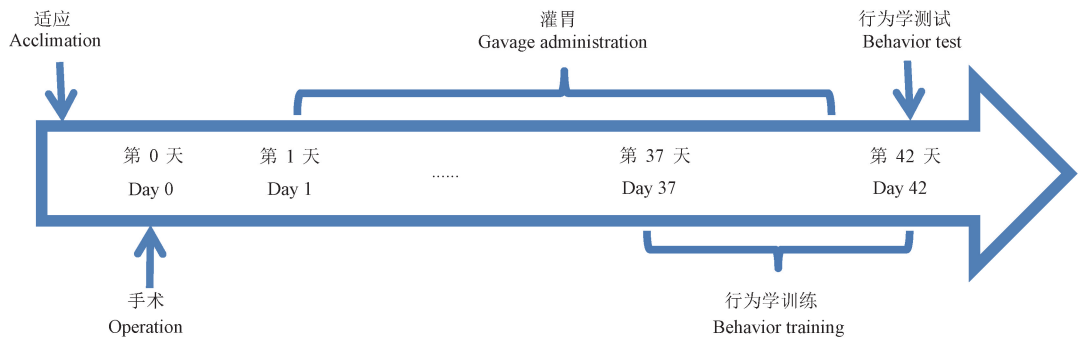


图 1 实验流程
Figure 1 Experimental sequence

1.3.3 Morris 水迷宫实验

采取 Morris 水迷宫方法对大鼠的认知、记忆功能进行评价。Morris 水迷宫是用来评价大鼠脑缺血后空间学习记忆特征。本研究在大鼠手术后第 37~42 天进行学习训练,第 42 天进行记忆检测并记录(具体流程见图 1)。

1.3.4 取材与组织标本留存

所有组织与血液均在第 42 天完成水迷宫实验后当天取得。大鼠腹腔注射戊巴比妥钠麻醉后下腔静脉采集静脉血液 4 mL, EDTA 抗凝。离心(3000 r/min, 10 min)后,取上清血浆并分装, -80℃ 冷藏待后续检测。大鼠心脏灌注生理盐水和 4% 多聚甲醛后取脑组织进行石蜡包埋及切片。

1.3.5 尼氏染色

石蜡切片常规脱蜡后放入 1% 焦油紫染液中于 37℃ 烤箱中染色 30 min, 后用蒸馏水小心冲洗脑组织表面染液。将切片放于 95% 乙醇溶液中分色后放入新的 95% 乙醇溶液中脱水 2 min。将切片放入二甲苯溶液中浸泡 10 min 后用中性树脂封片。显微镜下观察海马组织神经元变化并选取代表性位置拍照。

1.3.6 IgG 法检测血脑屏障通透性

大鼠脑组织石蜡切片常规脱蜡后,使用 5% BSA+驴血清封闭 4℃ 过夜。第 2 天使用 1:200 大鼠 IgG 荧光抗体避光孵育 24 h。后使用 PBS 常规清洗并用含 DAPI 的树脂封片剂封片。荧光显微镜观察并拍照。

1.3.7 ELISA 检测血脑屏障相关因子

根据 ELISA 说明书操作步骤,检测血浆中基质金属蛋白酶和紧密连接蛋白的含量。

1.3.8 Western blot 检测血脑屏障相关蛋白表达

取大鼠海马组织放入裂解液中用超声破碎匀浆后取上清,分光光度计测量蛋白浓度并定量变性后,取 20 μg 蛋白上样电泳、电转。将 PVDF 膜用 5% 牛奶封闭 1 h 后,加入一抗,4℃ 冰箱孵育过夜。次日常规洗膜后二抗室温孵育 1 h,常规洗膜后加发光液曝光。

1.4 统计学方法

采用 GaphPad Prism8 对实验数据进行统计分析。实验数据采用平均数±标准误差($\bar{x} \pm \bar{sx}$)表示。实验数据采用单因素方差分析(One-Way ANOVA)统计,利用 Tukey 进行检验分析。 $P < 0.05$

代表组间差异有统计学意义。

2 结果

2.1 稀荛通栓胶囊改善慢性脑缺血大鼠学习记忆能力

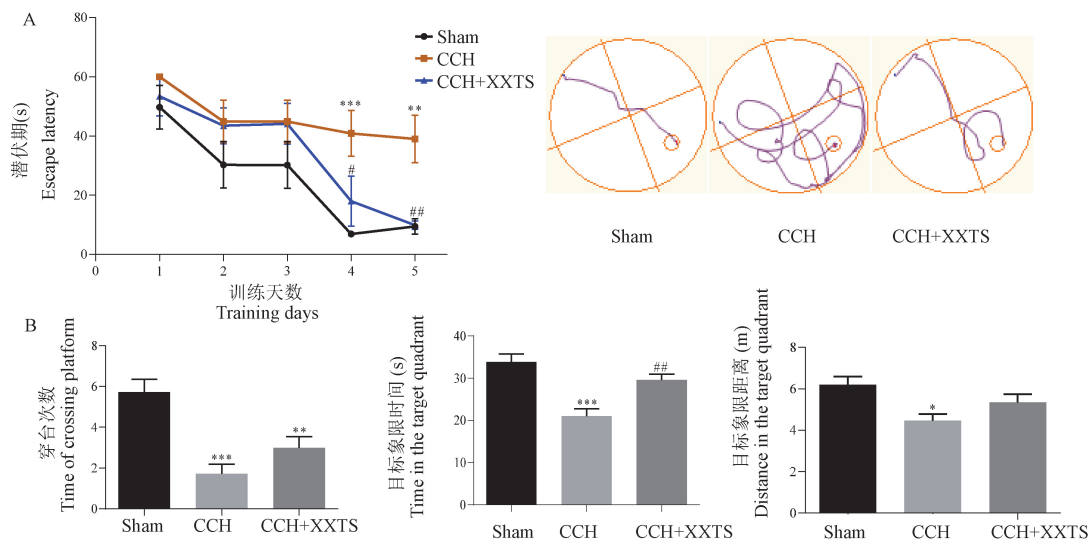
由于慢性脑缺血常导致认知功能损伤,因此我们使用 Morris 水迷宫对不同处理组大鼠的学习记忆能力进行了检测。结果显示,各组大鼠在 5 d 的训练中找到平台的潜伏期均随学习次数的增加而下降。训练第 4 天及第 5 天后,Sham 组和 CCH+XXTS 组找到平台的潜伏期均显著低于 CCH 组($P < 0.05$, $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$, 图 2A)。以上结果表明给予稀荛通栓胶囊治疗可以明显改善大鼠慢性脑缺血后学习能力下降的现象。在撤平台后对大鼠记忆能力的检测中发现,CCH 组大鼠的穿越平台次数、目标象限距离、目标象限时间,较 Sham 组均出现明显下降,差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.001$, 图 2B)。给予稀荛通栓治疗后,大鼠记忆力改善,CCH+XXTS 组大鼠在目标象限停留时间显著高于 CCH 组。($P < 0.01$, 图 2B)。

2.2 稀荛通栓胶囊改善慢性脑缺血大鼠海马区神经元损伤

尼氏染色结果显示,正常对照组大鼠海马 CA1、CA3 区神经元染色可见深蓝色尼氏小体,神经元数目较多;慢性脑缺血后大鼠海马区神经元尼氏小体染色变淡,排列散乱,数量明显减少,胞体缩小。给予稀荛通栓胶囊治疗后,大鼠海马区神经元,尼氏小体染色较 CCH 组明显加深,数量增多,海马 CA1、CA3 区神经元损伤得到改善($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.01$, 图 3)。

2.3 稀荛通栓胶囊减少慢性脑缺血后大鼠脑组织 IgG 渗出

IgG 分子量较大,在正常情况下其只存在于血管中。当血脑屏障被破坏后,血管中的 IgG 会渗漏到脑组织中。为了观察稀荛通栓胶囊对慢性脑缺血大鼠 BBB 通透性的影响,我们对脑组织切片 IgG 渗漏情况进行了检测。结果显示,与对照组相比,慢性脑缺血损伤大鼠脑组织 IgG 漏出量明显增多,给予稀荛通栓胶囊治疗后,可以显著减少大鼠脑组织中 IgG 的漏出量($P < 0.05$, $P < 0.01$, 图 4)。

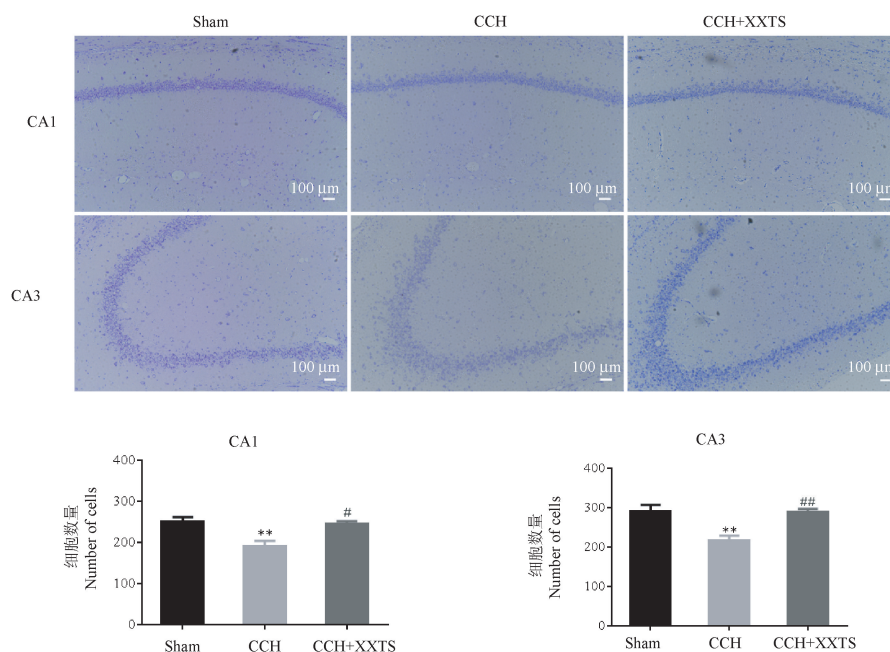


注:与 Sham 组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$;与 CCH 组相比, ## $P < 0.01$ 。

图 2 稀荛通栓胶囊改善慢性脑缺血大鼠学习记忆能力 ($n=7$)

Note. Compared with Sham group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. Compared with CCH group, ## $P < 0.01$.

Figure 2 Xi-xian-tong-shuan capsules improve the learning and memory abilities of CCH rats



注:与 Sham 组相比, ** $P < 0.01$;与 CCH 组相比, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

图 3 稀荛通栓胶囊改善慢性脑缺血大鼠海马区神经元损伤 ($n=3$)

Note. Compared with Sham group, ** $P < 0.01$. Compared with CCH group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$.

Figure 3 Xi-xian-tong-shuan capsules reduce the number of Nissl body in hippocampus

2.4 稀荛通栓胶囊减少慢性脑低灌注大鼠血浆 MMP-9、occludin、claudin-5 浓度

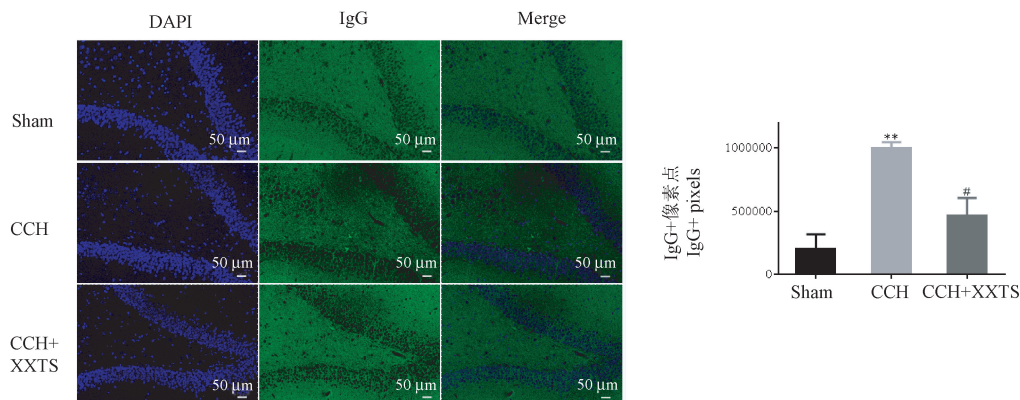
我们应用 ELISA 的方法检测了 Sham 组、CCH 组、CCH+XXTS 组血浆中 MMP-9、occludin、claudin-5 的蛋白浓度。结果显示与假手术相比,

CCH 组血浆中 MMP-9、occludin、claudin-5 浓度显著高于 Sham 组,给予稀荛通栓胶囊可显著降低慢性脑缺血损伤后血浆中 MMP-9、occludin、claudin-5 浓度 ($P < 0.01$, $P < 0.001$, $P < 0.0001$, $P < 0.0001$, 图 5)。

2.5 稀荃通栓胶囊增加慢性脑低灌注大鼠脑组织中紧密连接相关蛋白表达的影响

我们应用 Western blot 的方法检测了 Sham 组、CCH 组、CCH+XXTS 组脑组织中紧密连接相关蛋白

occludin 和 claudin-5 的表达情况。结果显示与 Sham 组相比, CCH 组中 occludin 和 claudin-5 的表达显著减少, 给予稀荃通栓胶囊治疗可显著上调上述紧密连接蛋白的表达 ($P<0.05$, $P<0.05$, 图 6)。

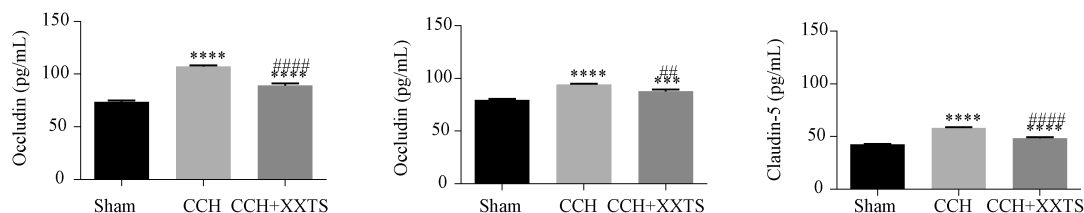


注: 与 Sham 组相比, ** $P<0.01$; 与 CCH 组相比, # $P<0.05$ 。

图 4 稀荃通栓胶囊减少慢性脑缺血大鼠海马 IgG 漏出 ($n=3$)

Note. Compared with Sham group, ** $P<0.01$. Compared with CCH group, # $P<0.05$.

Figure 4 Xi-xian-tong-shuan capsules reduce the IgG leakage in hippocampus

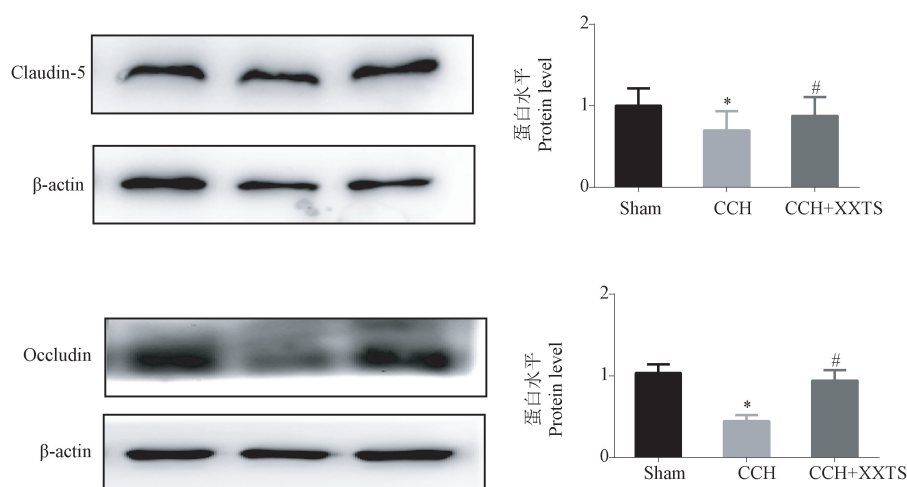


注: 与 Sham 组相比, *** $P<0.0001$, **** $P<0.0001$; 与 CCH 组相比, ## $P<0.01$, #### $P<0.0001$ 。

图 5 稀荃通栓胶囊减少慢性脑缺血大鼠血浆 MMP-9、occludin、claudin-5 水平 ($n=7$)

Note. Compared with Sham group, *** $P<0.0001$, **** $P<0.0001$. Compared with CCH group, ## $P<0.01$, #### $P<0.0001$.

Figure 5 Xi-xian-tong-shuan capsules improve the leave of MMP-9, occluding and claudin-5 in plasma



注: 与 Sham 组相比, * $P<0.05$; 与 CCH 组相比, # $P<0.05$ 。

图 6 稀荃通栓胶囊改善慢性脑缺血大鼠脑组织中 occludin、claudin-5 水平 ($n=3$)

Note. Compared with Sham group, * $P<0.05$. Compared with CCH group, # $P<0.05$.

Figure 6 Xi-xian-tong-shuan capsules improve the leave of occludin and claudin-5 in brain

3 讨论

慢性脑血管病与动脉粥样硬化、糖尿病、肾病等常见病息息相关,目前的研究发现慢性脑血管病的损伤机制主要包括脑白质损伤、神经炎症、细胞新生、神经细胞凋亡坏死等,血脑屏障作为中枢神经系统与外周的屏障,其在慢性脑血管病中的作用越来越受到重视^[4-6]。长期脑血管低灌注会导致 BBB 受损,通透性增加,脑微血管中水分和血浆蛋白的渗出,进而造成细胞间隙水分的增加,形成血管源性水肿。我们应用大鼠双侧颈总动脉结扎慢性脑缺血模型,观察脑慢性缺血后给予稀荃通栓胶囊 42 d 后,观察大鼠学习记忆能力和血脑屏障等情况。我们发现稀荃通栓胶囊可以明显改善慢性脑缺血造成的大鼠学习记忆能力下降的现象。在水迷宫实验中我们发现,给予稀荃通栓胶囊治疗组大鼠在撤平台后其穿台次数及目标象限时间均较模型组有明显改善。说明了稀荃通栓胶囊对于改善慢性脑缺血后认知记忆功能下降方面的作用。虽然在目标象限距离指标中稀荃通栓治疗组与模型组没有统计学差异,但由于目标象限时间和游速决定的,部分稀荃通栓治疗组组动物在到达其记忆的平台位置漂浮在水中不再移动,因而产生了此种结果。在血脑屏障功能检测中我们发现慢性脑低灌注损伤后大鼠血脑屏障破坏,而稀荃通栓胶囊治疗后可显著改善此情况。我们通过实验证实脑组织 BBB 破坏后引起毛细血管的通透性增加,可以使正常情况下只存在于血管中的大分子 IgG 通过破坏的 BBB 进入脑组织,因此测定脑组织中 IgG 渗出量可以反映 BBB 开放程度^[7]。我们通过对大鼠脑组织中 IgG 的荧光染色发现,稀荃通栓胶囊治疗可以显著减少慢性脑低灌注损伤后可脑组织中 IgG 的含量。以上结果提示我们,稀荃通栓胶囊治疗可以改善慢性脑低灌注损伤后 BBB 的损伤、降低其通透性。

基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMPs) 是含有 Zn^{2+} 的蛋白水解酶家族。一方面, MMPs 可以降解细胞外基质 (ECM), 进而使得脑毛细血管的通透性增加,引起水分和血浆蛋白的渗出,形成水肿。另一方面, MMPs 对基底膜和内皮细胞间的紧密连接的破坏直接导致 BBB 损伤,参与多种病理情况下的 BBB 的开放^[8-11]。紧密连接相关蛋白在维持 BBB 完整性的过程中发挥关键的作用,

其结构和功能的破坏将引起 BBB 通透性增加,甚至脑水肿。其中 claudin-5 和 occludin 蛋白是细胞与细胞之间紧密连接完整性最关键的成分^[12-13]。研究发现,缺血损伤可以上调脑组织中 MMP-9 的表达,与缺血损伤后脑水肿和 BBB 开放密切相关,其机制可能与 MMP-9 直接降解紧密连接蛋白有关^[14]。因此为了进一步证实稀荃通栓胶囊对慢性脑低灌注损伤后 BBB 的保护作用,我们对血液中的 MMP-9 以及血液和脑组织中的紧密连接相关蛋白的表达进行了测定。我们发现血液中的 claudin-5 和 occludin 含量明显升高,这与临床研究发现脑血管病人血清中其二者的变化结果相一致^[15],且 MMP-9 的表达量明显上调。在脑组织中的紧密连接相关蛋白表达检测中我们发现紧密连接相关蛋白表达明显减少。并且稀荃通栓治疗后能够明显改善以上结果。这些研究结果均提示,稀荃通栓胶囊可能通过抑制 MMP-9 的表达,减少脑组织中紧密连接相关蛋白 claudin-5 和 occludin 的降解,最终发挥对 BBB 的保护作用。

综上所述,稀荃通栓胶囊可能通过保护血脑屏障的功能发挥神经保护作用,改善慢性脑缺血后大鼠的认知功能。

参考文献:

- [1] Li ZX, Jiang Y, Li H, et al. China's as response to the rising stroke burden [J]. BMJ, 2019, 364: 1879.
- [2] Liu QH, Radwanski R, Babadjouni R, et al. Experimental chronic cerebral hypoperfusion results in decreased pericyte coverage and increased blood-brain barrier permeability in the corpus callosum [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2019, 39(2): 240-250.
- [3] Yang HY, Wang W, Jia LF, et al. The effect of chronic cerebral hypoperfusion on blood-brain barrier permeability in a transgenic Alzheimer's disease mouse model (PS1V97L) [J]. J Alzheimers Dis, 2020, 74(1): 261-275.
- [4] 张悦, 赵虹, 郭朝晖, 等. 慢性脑缺血致脑白质病变的机制及研究进展 [J]. 医学综述, 2020, 26(10): 1914-1918.
- [5] 韩星伟. 慢性缺血性脑血管病与动脉硬化性狭窄的关系 [J]. 中国实用神经疾病杂志, 2017, 20(11): 130-131.
- [6] 郝茂林, 刘菲, 商校, 等. 慢性肾脏病与脑血管病关系的研究进展 [J]. 医学综述, 2015, 22(21): 4101-4104.
- [7] Pan JJ, Qu MJ, Li YF, et al. MicroRNA-126-3p/-5p overexpression attenuates blood-brain barrier disruption in a mouse model of middle cerebral artery occlusion [J]. Stroke, 2020, 51(2): 619-627.

(下转第 76 页)

- accelerates the progression of melanoma by targeting miR-653-5p/RAI14 axis [J]. BMC Cancer, 2020, 20(1): 258.
- [13] Wang B, Shen C, Li Y, et al. Oridonin overcomes the gemcitabine resistant PANC-1/Gem cells by regulating GST pi and LRP/1 ERK/JNK signalling [J]. Onco Targets Ther, 2019, 12: 5751-5765.
- [14] Yang J, Ren X, Zhang L, et al. Oridonin inhibits oral cancer growth and PI3K/Akt signaling pathway [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 100: 226-232.
- [15] Xu L, Bi Y, Xu Y, et al. Oridonin inhibits the migration and epithelial-to-mesenchymal transition of small cell lung cancer cells by suppressing FAK-ERK1/2 signalling pathway [J]. J Cell Mol Med, 2020, 24(8): 4480-4493.
- [16] Liu W, Huang G, Yang Y, et al. Oridonin inhibits epithelial-mesenchymal transition of human nasopharyngeal carcinoma cells by negatively regulating AKT/STAT3 signaling pathway [J]. Int J Med Sci, 2021, 18(1): 81-87.
- [17] 孟小琴, 李云峰, 周毅, 等. 过表达 OTUD1 对结肠癌细胞 HCT116 增殖和侵袭的影响及机制研究 [J]. 重庆医科大学学报, 2018, 43(5): 687-691.
- [18] Noori J, Sharifi M, Haghjooy Javanmard S. miR-30a inhibits melanoma tumor metastasis by targeting the *E-cadherin* and zinc finger E-box binding homeobox 2 [J]. Adv Biomed Res, 2018, 7: 143.
- [19] Sánchez-Sendra B, Martínez-Ciarpaglini C, González-Muñoz JF, et al. Downregulation of intratumoral expression of miR-205, miR-200c and miR-125b in primary human cutaneous melanomas predicts shorter survival [J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 17076.
- [20] Shi D, Guo L, Sun X, et al. UTMD inhibit EMT of breast cancer through the ROS/miR-200c/ZEB1 axis [J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 6657.
- [21] Xu Y, Wang H, Li F, et al. Long Non-coding RNA LINC-PINT suppresses cell proliferation and migration of melanoma via recruiting *EZH2* [J]. Front Cell Dev Biol, 2019, 7: 350.
- [22] Xu L, Lin J, Deng W, et al. *EZH2* facilitates BMI1-dependent hepatocarcinogenesis through epigenetically silencing microRNA-200c [J]. Oncogenesis, 2020, 9(11): 101.

[收稿日期]2021-06-22

(上接第 52 页)

- [8] Jing N, Fang B, Li Z, et al. Exogenous activation of cannabinoid-2 receptor modulates TLR4/MMP9 expression in a spinal cord ischemia reperfusion rat model [J]. J Neuroinflammation, 2020, 17(1): 101.
- [9] Wu MY, Gao F, Yang XM, et al. Matrix metalloproteinase-9 regulates the blood brain barrier via the hedgehog pathway in a rat model of traumatic brain injury [J]. Brain Res, 2020, 1727: 146553.
- [10] Ma GD, Pan ZR, Kong LL, et al. Neuroinflammation in hemorrhagic transformation after tissue plasminogen activator thrombolysis: potential mechanisms, targets, therapeutic drugs and biomarkers [J]. Int Immunopharmacol, 2021, 90: 107216.
- [11] Han L, Jiang C. Evolution of blood-brain barrier in brain diseases and related systemic nanoscale brain-targeting drug delivery strategies [J]. Acta Pharm Sin B, 2021, 11(8): 2306-2325.
- [12] Zhang Y, Li XF, Qiao SS, et al. Occludin degradation makes brain microvascular endothelial cells more vulnerable to reperfusion injury *in vitro* [J]. J Neurochem, 2021, 156(3): 352-366.
- [13] Yang ZG, Lin PP, Chen B, et al. Autophagy alleviates hypoxia-induced blood-brain barrier injury via regulation of CLDN5 (claudin 5) [J]. Autophagy, 2020, 17(10): 3048-3067.
- [14] Jickling GC, Liu D, Stamova B, et al. Hemorrhagic transformation after ischemic stroke in animals and humans [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2014, 34(2): 185-199.
- [15] 朱玉岩, 常大伟, 聂恒浩. 急性缺血性脑卒中患者血清 Occludin 表达水平及其临床意义 [J]. 标记免疫分析与临床, 2021, 28(9): 1479-1484.

[收稿日期]2021-11-15