

## 血脑屏障细胞组成研究进展

董小平<sup>1,2</sup>, 喻斌<sup>1,2</sup>, 金路<sup>1,2</sup>, 方泰惠<sup>1,2\*</sup>

(1. 南京中医药大学药学院, 南京 210046;

2. 江苏省中药药效与安全性评价重点实验室, 南京 210046)

**[摘要]** 对血脑屏障的细胞组成及其不同的功能进行了文献整理和分析。通过中国知网, PubMed, Elsevier 等数据库, 检索了近 10 年来血脑屏障的功能研究, 这些功能与之相关的细胞的特殊构造, 以及不同细胞之间的相互作用的一个研究近况。通过整理发现组成血脑屏障的细胞包括: 基膜、神经元、小的神经胶质细胞、周细胞、星形细胞、内皮细胞组成且每种细胞对血脑屏障功能的形成都有很大贡献。有关血脑屏障的研究目前已成为生命科学领域的研究热点, 而有关血脑屏障的细胞组成在近几年也获得一定研究成果。对近年来关于血脑屏障的细胞构成作一整理, 以期对血脑屏障的相关研究作参考。

**[关键词]** 血脑屏障; 功能; 细胞; 研究进展

**[中图分类号]** R 285 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)08-0281-04

## Advance on Study of Cells of Blood-brain Barrier

DONG Xiao-ping<sup>1,2</sup>, YU Bin<sup>1,2</sup>, JIN Lu<sup>1,2</sup>, FANG Tai-hui<sup>1,2\*</sup>

(1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China;

2. Jiangsu Key Laboratory for Pharmacology and Safety Evaluation of Chinese Materia Medica, Nanjing 210046, China)

**[Abstract]** This article summarized and analyzed the cell composition and different functions of blood-brain barrier. Searching recent studies on blood-brain barrier function and particular structure of relative cells and interaction between different cells in 10 years through CNKI, PubMed, Elsevier, etc databases. The blood-brain barrier cells included basement membrane, neuron, small glial cells, pericytes, astrocytes, and endothelial cells etc, each cell played an important role in the formation of the blood brain barrier function. The study of the blood-brain barrier has become a key research area. The research work on cell composition of the blood-brain barrier in recent years has achieved barrier-related research.

**[Key words]** blood-brain barrier; function; cell; research progress

血脑屏障(blood brain barrier, BBB)指血-脑及血-脑脊液屏障(blood cerebrospinal fluid barrier, BCSFB or BCB)。它是由无窗孔的毛细血管内皮细胞(脑微血管内皮细胞)及其细胞间紧密连接、基膜(毛细血管基底膜)及嵌入其中的周细胞、星形胶质细胞足突和极狭小的细胞外隙共同组成的一

个细胞复合体,是存在于脑和脊髓内的毛细血管与神经组织之间的一个调节中枢神经系统内环境的细胞屏障,能够维持脑内离子、激素和递质等的动态平衡。血脑屏障是脑毛细血管所独有的特征性结构,它对一些能透过周围血管的物质具有屏障作用从而保护脑组织,对维持脑组织内环境的稳定性起着重要作用。其中,脑的毛细血管内皮细胞及其紧密连接是血脑屏障的主要形态学基础。近年来研究表明,星形细胞在内皮细胞由非屏障细胞向屏障细胞转变的诱导和维持中扮演着重要的角色。大量研究表明,构成血脑屏障的内皮细胞其屏障性质不是与生俱来的,而是在中枢神经系统的特殊环境下诱导产生的。

大脑在发育过程中,脑的微血管分化、发育成熟形成血脑屏障<sup>[1]</sup>。某些脑毛细血管具有完整的血脑屏障特性(渗透性),尽管血脑屏障的渗透性一般是由脑毛细血管内皮

**[收稿日期]** 20111013(010)

**[基金项目]** 国家自然科学基金青年基金项目(81001651);江苏省针药结合省部共建教育部重点实验室开放性研究课题(KJA200905)

**[第一作者]** 董小平, 硕士, 从事心脑血管药理学研究, Tel: 15850510159, E-mail: dxp20082008@163.com

**[通讯作者]** \*方泰惠, 博导, 从事心脑血管药理研究, Tel: 13851675957, E-mail: fangtaihui@sina.com

细胞 (brain microvascular endothelial cells, BMVEC) 的生物化学特性决定的<sup>[2]</sup>, 但其渗透性会随着这些血管直径的增加而增加<sup>[3]</sup>。微血管的这些特性是由于这些细胞之间的相互作用, 如基膜与周围的胶质细胞, 这些胶质细胞包括小神经胶质细胞、星形细胞、神经元和血管周围的周细胞<sup>[4]</sup>。

### 1 基膜

基膜是血脑屏障重要的组成部分。它主要由 IV 型胶原、层连蛋白、内肌动蛋白、纤维连接蛋白以及一些糖蛋白等组成, 其中 IV 胶原和层连蛋白是构成基膜的主要物质<sup>[5-6]</sup>。研究发现, IV 型胶原可以直接与层连蛋白, 也可以通过内肌动蛋白与层连蛋白连接, 形成聚合体网。同时, 纤维连接蛋白可将基膜与周围组织以及细胞外间质相连, 说明基膜对 BBB 的屏障作用维持起着重要作用。另外, 基膜对周围细胞的生长分化也起着调节作用, 脑血管内皮细胞生长和分化就是星形胶质细胞通过基膜来完成的<sup>[5]</sup>。基膜围绕着脑血管内皮细胞, 将周细胞转入内。锚定细胞的位置, 建立了与周围脑细胞之间的联络<sup>[7]</sup>。脑毛细血管内皮细胞、周细胞、星形细胞构成了不同的细胞外基质分子层<sup>[8]</sup>。基膜也包含细胞黏着受体, 这个受体叫作细胞黏附分子 (cell adhesion molecules, CAM), 也是细胞信号蛋白, 它们来自广泛复杂的细胞<sup>[7]</sup>。这些分子来自于血管细胞、神经元, 它们支撑着神经胶质细胞, 同时也是维持血脑屏障的基本组成成分。基膜的断裂能够导致 BMVEC 细胞骨架的改变, 这反过来影响了紧密连接 (tight junctions, TJ) 蛋白和屏障的完整性。细胞金属蛋白酶类 (matrix metalloproteinases, MMP) 被认为可以消化基膜, 这导致锚定的脑内皮细胞 (endothelial cells, EC) 的减少。母-EC 信号肽是可以影响 TJ 的紧密性和削弱屏障的完整性<sup>[7]</sup>。相应地, 在一些病理学条件下, 细胞外基质的断裂与血脑屏障通透性的增加也有很紧密的联系<sup>[9-10]</sup>。

### 2 神经元

长期以来神经元发育的角色以及神经元作用于血脑屏障的表型不被重视。然而一些研究表明, 神经元能够通过诱导 BMVEC 特异性酶调节血管在对抗代谢需求方面的功能<sup>[11]</sup>。同时, BMVEC 和星形细胞的功能又受到去肾上腺素能、血清素能、胆碱能、 $\gamma$ -氨基丁酸能等神经的支配<sup>[9]</sup>。此外, 在稳定的脑微循环状态下, 成熟的脑毛细血管内皮细胞对神经元的功能也有双向调节作用<sup>[12]</sup>。

### 3 小神经胶质细胞

小神经胶质细胞在中枢神经系统的免疫应答中起着重要作用, 其可反映中枢微环境并可对后者的异常状态进行调节。一般来说小神经胶质细胞以两种形式出现: 静态和动态。当小神经胶质细胞处于静态时, 是一种长而细的形态; 当它处于活性则转变为短而粗<sup>[13]</sup>。依照巨噬细胞在其他器官里的数量, 这些细胞有不同的效应子作用<sup>[14]</sup>。小神经胶质细胞在血管周间隙, 其与 BMVEC 之间的相互作用对 BBB 的屏障作用具有积极意义<sup>[15]</sup>。现今, 具体的作用机制仍未清楚。

### 4 周细胞

周细胞 (也称为血管平滑肌细胞、腔壁细胞、肌成纤维细胞) 是微血管和毛细血管后微静脉重要的细胞组成<sup>[16]</sup> 和内皮细胞有紧密的连接, 同时和内皮细胞共有相同的基膜<sup>[17]</sup>, 周细胞周围覆盖 22% ~ 32% 的微血管<sup>[18]</sup>。在不同类型的微血管中, 周细胞在微血管中的位置和覆盖度有很大差异<sup>[19]</sup>。有报道说, 还与内皮细胞间紧密连接的紧密程度有关<sup>[20]</sup>。血管周细胞综合了基膜的许多组成部分, 其中包括很多的蛋白聚糖类。此外, 周细胞合成和释放薄蛋白早就被认为是 BBB 分化的重要步骤<sup>[21]</sup>。周细胞和微血管内皮细胞之间适当的联系对于维持 BBB 结构和连接的完整性是必需的<sup>[20-21]</sup>。周细胞和内皮细胞之间通过一些装置进行交流 (如缝隙结合部) 紧密连接黏合斑<sup>[23]</sup> 和一些可溶因子<sup>[18]</sup>。

### 5 星形细胞

星形是胶质细胞的突触小体形成精致薄片花边, 紧密的靠近 BBB 外表面的内皮细胞和各自的基膜<sup>[24]</sup>。它们在促进蛋白聚糖合成方面和在诱导血脑屏障功能方面起着重要作用<sup>[25-26]</sup>。星形细胞同时对于维持适当的神经元功能起着重要作用。神经元细胞体与脑血管紧密靠近也表明这些基本元素之间的相互作用对于的神经血管单元 (neurovascular unit, NVU) 的功能是必不可少的<sup>[27]</sup>。中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 微血管的某些领域缺乏星形细胞的内皮基膜仍然显示一些 BBB 的特性, 这可能是由于可溶因子作用于胶质界膜或者蛛网膜下腔静脉的脑脊液引起的<sup>[24]</sup>。因此, 在没有直接涉及 BBB 物理特性的情况下, 星形细胞可能调整 BBB 的功能。尝试恢复 BBB 在 BMVEC 培养方面的研究已经涉及到星形细胞的联合培养或者星形胶质细胞的条件培养水平<sup>[28]</sup>。脑血管的超微结构的研究表明, 星形胶质细胞环脑血管现象是脑血管的一个独有的特点, 在 BBB 发育的同时就已经出现<sup>[29]</sup>。Svendaard 等<sup>[30]</sup> 的实验证实: 将非神经组织的血管移植于脑组织中生长, 可以获得脑血管内皮细胞的某些特性。然而, 脑血管移植于中胚层中, 却逐渐失去了脑血管 EC 的特性。大量事实表明: 星形胶质细胞对内皮细胞有极大的影响, 对 BBB 的维持有着重要的作用。

### 6 内皮细胞

研究表明, EC 在 BBB 特性方面起着重要的作用, 观察到辣根过氧化物酶从任何方向都不能经过内皮层, 尽管周围的星形细胞不在<sup>[31]</sup>, 两栖动物的脑血管中有高电阻抗, 表明其对离子转运的限制。BMVEC 与 NVU 中其他脑细胞有着紧密的联系, 因此在血液与脑脊液中起着重要的媒介作用<sup>[32]</sup>。它们调节着选择转运包括物质从脑到血的代谢, 也包括相反的方向的从脑到体循环的代谢<sup>[32]</sup>。对于阻止毒性物质进入脑, BMVEC 屏障线起着最重要的作用<sup>[33]</sup>。EC 和周围细胞之间的交流, 维护和确立适当的脑的动态平衡, 同时增强了屏障功能<sup>[34]</sup>。从根本上, BMVEC 内层大脑的微血管不同于其他血管内皮细胞, 在它们的能力范围内去调节分子通道和神经实质<sup>[35-36]</sup>。在大脑中的毛细血管内皮是比周围的微血管紧密 50 ~ 100 倍, 这种特性的结果导致对亲水性

溶质的旁细胞途径严格的限制<sup>[37]</sup>。EC 细胞质有均匀的厚度,无窗,胞饮作用活力,脑血管 EC 与其他组织 EC 的主要区别在于前者具有复杂的 TJ 和丰富的线粒体,但缺少跨膜转运的质膜小泡(plasma vesicle)以及缺乏细胞孔。另外,脑血管细胞内皮细胞的胞膜上含有一些特殊蛋白:碱性磷酸酶、 $\gamma$ -谷氨酸转氨酶、糖转蛋白、转铁蛋白受体等。以上结构是脑血管内皮细胞特有的,它们对维持脑血管内皮 TJ 功能具有重要作用。大分子物质转运研究证实,BBB 以外的血管内皮细胞含有大量的小凹陷和小泡,这对细胞的内吞起重要作用,但 BBB 的血管内皮细胞缺乏这种结构这说明脑血管内皮细胞具有特殊的吞饮机制。一般认为其内吞机制分三大类:第一类受体介导的内吞,是细胞在网格蛋白参与下内吞结合在质膜受体上的大分子物质;第二类吸附内吞,是细胞内吞在质膜上的物质分子的过程;第三类液相内吞,是一些与质膜没有亲和力的分子溶于细胞间质而被包裹“饮”入的过程<sup>[38]</sup>。BBB 就像一道不通透的墙,其内皮细胞有特定的受体模式和运输系统,它可以促进重要营养素和激素的摄取,另外通过活水泵,帮助调节脑内的离子浓度、代谢产物和外源物质<sup>[39]</sup>。BMVEC 能够有效的提供大脑代谢需求同时维持脑内离子的动态平衡。阻止大量的潜在的疏水性化合物进入 CNS<sup>[40-41]</sup>。BMVEC 同时具有基本的作用在神经生态位,显微解剖单元在成熟的哺乳动物脑内有神经形成。在这些生态位主要位于室下的区域,祖细胞非常接近于微血管<sup>[42-43]</sup>。它缺乏星形胶质细胞突触小节和周细胞覆盖,使它们直接接触血管和血衍信号。在这些血管的生态单位内,EC 保密了很多可扩散信号,例如血管内皮生长因子(VEGF),脑源性神经营养因子和色素上皮衍生因子。同时也存在一些未经确认的因子影响着神经前体。促进干细胞的再生和分化<sup>[44-45]</sup>。因此血管间隙的生态单位有唯一的机会去调节神经干细胞的行为,这可能进一步被室管膜细胞和脑脊液影响<sup>[44]</sup>。

## 7 小结

脑血管病发病率高且死亡率极高,使得 BBB 的研究在国内外极受重视。BBB 的细胞学及分子生物学基础已经清楚,BBB 是一个动态的屏障,对维持中枢神经系统内环境的相对稳定有着重要意义。参与 BBB 构成的细胞与细胞之间的相互联系,影响着 BBB 的形成、功能和结构的完整性。进一步详细研究各细胞在 BBB 中的作用以及相互影响的机制。分别以内皮细胞、胶质细胞和周皮细胞作为治疗靶点,有助于全面设计保护和治疗 BBB 的方案从而减轻继发性神经元损害和延级或阻止疾病的发展。本文对血脑屏障细胞组成这部分进行了综述,以期为临床上明确某些脑病的血脑通透性变化,为增加或降低血脑屏障的方法提供参考。同时对血脑屏障细胞的特性和功能的系统总结也为血脑屏障的体外研究提供参考,为临床脑血管疾病合理、准确用药提供科学依据。

## 【参考文献】

[ 1 ] Lee S W, Kim W J, Park J A, et al. Blood-brain barrier

- interfaces and brain tumors [J]. Arch Pharm Res, 2006, 29:265.
- [ 2 ] Pardridge W M. Blood-brain barrier biology and methodology [J]. Neurovirol, 1999, 5:556.
- [ 3 ] Marchi N, Cavaglia M, Fazio V, et al. Peripheral markers of blood-brain barrier damage [J]. Clin Chim Acta, 2004, 342:1.
- [ 4 ] Zozulya A, Weidenfeller C, Galla H J, et al. Pericyte-endothelial cell interaction increases MMP-9 secretion at the blood-brain barrier *in vitro* [J]. Brain Res, 2008, 189:1.
- [ 5 ] Yurchenco P D, Schittny J C. Molecular architecture of basement membrane [J]. FASEB J, 1990, 4(1):577.
- [ 6 ] Hamann G F, Okada Y, Fitridge R, et al. Microvascular basal lamina antigens disappear during cerebral ischemia and reperfusion [J]. Stroke, 1995, 26(2):120.
- [ 7 ] Carvey P M, Hendey B, Monahan A J. The blood-brain barrier in neurodegenerative disease: a rhetorical perspective [J]. Neurochem, 2009, 111:291.
- [ 8 ] Weiss N, Miller F, Cazaubon S, et al. The blood-brain barrier in brain homeostasis and neurological diseases [J]. Biochem. Biophys Acta, 2009, 1788:842.
- [ 9 ] Hawkins B T, Davis T P. The blood-brain-barrier/neurovascular unit in health and disease [J]. Pharmacol Rev, 2005, 57:173.
- [ 10 ] Zlokovic B V. The blood-brain-barrier in health and chronic neuron degenerative disorders [J]. Neuron, 2008, 57:178.
- [ 11 ] Persidsky Y, Ramirez S H, Haorah J, et al. Blood-brain barrier: structural components and function under physiologic and pathologic conditions [J]. Neuroimmune Pharmacol, 2006, 1:223.
- [ 12 ] Nishioku T, Dohg S, Takata F, et al. Detachment of brain pericytes from the basal lamina is involved in disruption of the blood-brain barrier caused by lipopolysaccharide-induced sepsis in mice [J]. Cell Mol Neurobiol, 2009, 29:309.
- [ 13 ] Zlokovic B V. The blood-brain barrier in health and chronic neuron degenerative disorders [J]. Neuron, 2008, 57:178.
- [ 14 ] Ransohoff R M, Perry V H. Microglial physiology: unique stimuli, specialized responses [J]. Annu Rev Immunol, 2009, 27:119.
- [ 15 ] Choi Y K, Kim K W. Blood-neural barrier: its diversity and coordinated cell-to-cell communication [J]. BMB Rep, 2008, 41:345.
- [ 16 ] Dore-Duffy P. Pericytes: pluripotent cells of the blood brain barrier [J]. Curr Pharm Des, 2008, 14:1581.

- [17] Bagley R G, Weber W, Rouleau C, et al. Pericytes and endothelial precursor cells: cellular interactions and contributions to malignancy [J]. *Cancer Res*, 2005, 65:9741.
- [18] Kim J A, Tran N D, Li Z, et al. Brain endothelial hemostasis regulation by pericytes [J]. *Cereb Blood Flow Metab*, 2006, 26:209.
- [19] Allt G, Lawrenson J G. Pericytes: cell biology and pathology [J]. *Cells Tissues Organs*, 2001, 169:1.
- [20] Lai C H, Kuo K H. The critical component to establish *in vitro* BBB model: pericyte [J]. *Brain Res Rev*, 2005, 50:258.
- [21] Dore-Duffy P, Katy Chev A, Wang X, et al. CNS microvascular pericytes exhibit multi potential stem cell activity [J]. *Cereb Blood Flow Metab*, 2006, 26:613.
- [22] Braun A, Xu H, Hu F, et al. Paucity of pericytes in germinal matrix vasculature of premature infants [J]. *Neurosci*, 2007, 27:12012.
- [23] Allt G, Lawrenson J G. Pericytes: cell biology and pathology [J]. *Cells Tissues Organs*, 2001, 169:1.
- [24] Abbott N J, Astrocyte-endothelial interactions and blood-brain barrier permeability [J]. *Anat*, 2002, 200:629.
- [25] Yamagata K, Tagami M, Nara Y, et al. Astrocyte-conditioned medium induces blood-brain barrier properties in endothelial cells [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 1997, 24:710.
- [26] Bernoud N, Fenart L, Benistant C, et al. Astrocytes are mainly responsible for the polyunsaturated fatty acid enrichment in blood-brain barrier endothelial cells *in vitro* [J]. *Lipid Res*, 1998, 39:1816.
- [27] Persidsky Y, Ramirez S H, Haorah J, et al. Blood-brain barrier: structural components and function under physiologic and pathologic conditions [J]. *Neuroimmune Pharmacol*, 2006, 1:223.
- [28] Colgan O C, Collins N T, Ferguson, G, et al. Influence of basolateral condition on the regulation of brain microvascular endothelial tight junction properties and barrier function [J]. *Brain Res*, 2008, 1193:84.
- [29] Werener R, Hartwig W. Development of the blood-brain barrier [J]. *Trends Neurosci*, 1990, 13:174.
- [30] Svendgaard N A. Axonal degeneration associated with adefective blood-brain barrier in cerebral implants [J]. *Nature*, 1975, 25:334.
- [31] Hawkins B T, Egleton R D. Fluorescence imaging of blood-brain barrier disruption [J]. *Neurosci Method*, 2006, 151:262.
- [32] Calabria A R, Shusta E V. A genomic comparison of *in vivo* and *in vitro* brain microvascular endothelial cells [J]. *Cereb Blood Flow Metab*, 2008, 28:135.
- [33] Ueno M. Molecular anatomy of the brain endothelial barrier; an overview of the distributional features [J]. *Curr Med Chem*, 2007, 14:1199.
- [34] Choi Y K, Kim K W. Blood-neural barrier: its diversity and coordinated cell-to-cell communication. [J]. *BMB Rep*, 2008, 41:345.
- [35] Ge S, Song L, Pachter J S. Where is the blood-brain barrier really [J]. *Neurosci Res*, 2005, 79:421.
- [36] Weksler B B, Subileau E A, Perrière N, et al. Blood-brain barrier-specific properties of a human adult brain endothelial cell line [J]. *Faseb*, 2005, 19:1872.
- [37] Abbott N J. Astrocyte-endothelial interactions and blood-brain barrier permeability [J]. *Anat*, 2002, 200:629.
- [38] Friden P M, Walus L R, Watsen P, et al. Blood-brain barrier penetration and *in vivo* activity of an NGF conjugat [J]. *Science*, 1993, 259:373.
- [39] Zheng W, Aschner M, Ghersi-Egea J F. Brain barrier systems: a new frontier in metal neuron toxicological research [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2003, 192:1.
- [40] Betz A L. An overview of the multiple functions of the blood-brain barrier [J]. *Nida Res Monogr*, 1992, 120: 54.
- [41] Choi Y K, Kim K W. Blood-neural barrier: its diversity and coordinated cell-to-cell communication [J]. *BMB Rep*, 2008, 41, 345.
- [42] Goldberg J S, Hirschi K K. Diverse roles of the vasculature within the neural stem cell niche [J]. *Regen Med*, 2009(4):879.
- [43] Tavazoie M, Vander Veken L, Silva-Vargas V, et al. A specialized vascular niche for adult neural stem cells [J]. *Cell Stem Cell*, 2008, 3:279.
- [44] Shen Q, Goderie S K, Jin L, et al. Endothelial cells stimulate self-renewal and expand neuron genesis of neural stem cells [J]. *Science*, 2004, 304:1338.
- [45] Ramírez-Castillejo C, Sánchez-Sánchez F, Andreu-Agulló C, et al. Pigment epithelium-derived factor is a niche signal for neural stem cell renewal [J]. *Nat Neurosci*, 2006, 9:331.

[责任编辑 邹晓翠]