

脑缺血后神经血管单元保护的研究进展*

唐 强¹ 葛 腾² 朱路文¹

2002年,由美国神经疾病与卒中研究所提出了“神经血管单元(neurovascular unit, NVU)”的概念^[1]。NVU是指由神经元、血脑屏障(blood brain barrier, BBB)、小胶质细胞以及维持脑和神经组织完整性的细胞外基质(extracellular matrix, ECM)共同构成的一个动态的结构复合体。在脑缺血及其治疗中,它也是构成细胞-细胞间信号传递和细胞-基质间相互影响的基本框架,也可以说是神经系统的结构和功能的基本单位。

1 NVU的结构和功能

1.1 神经元

神经元对BBB功能的调节起关键作用^[2]。现已有解剖学证据证明,神经元支配内皮细胞及与其相关的星形胶质细胞。神经元和微血管的联系不仅仅是血流的调节,还与BBB的通透性有关。

1.2 血-脑屏障

BBB包括微血管内皮细胞、基底膜、星形胶质细胞终足和周细胞^[3]。

在脑组织中,因浅表的粗大血管并不具备屏障功能,而各种深穿支血管的内皮具有充分的屏障功能,所以将能参与实现BBB选择性屏障功能的血管内皮细胞称为“脑微血管内皮细胞(brain microvascular endothelial cells, BMEC)”。20世纪60年代,Reese等^[4]经铁蛋白和辣根过氧化物酶电镜研究发现,BBB的大部分功能是由相邻脑血管内皮细胞间的紧密连接(tight junctions, TJ)来实现的。因此TJ连接的高度密合的单层血管内皮结构被认为是BBB的核心。此外,黏合连接(adherens junctions, AJ)和缝隙连接(gap junctions, GJ)对血管内皮间的高电子排斥力和低通透性的形成也发挥了一定的作用^[5]。

星形胶质细胞是功能性血脑屏障的重要组成部分。在神经血管单元的微细结构中,星形胶质细胞众多的分支及伪足包裹在微血管的周围,同时也包裹在神经元的各部分,包括神经元的胞体、树突、轴突及神经突触等,参与神经元的营

养、支持及电生理活动的调节^[6]。此外,星形胶质细胞在生理、病理状态下能够分泌大量的神经营养因子及生长因子,这也是其维持微环境稳定及损伤后修复的重要机制。

周细胞是一种扁而有突起兼有巨噬细胞和平滑肌细胞特性的细胞,常贴在毛细血管的管壁外面,具有活跃的合成和分泌功能,可以合成与释放血管基底膜和细胞外基质的结构成分,包括胶原I、胶原III、纤连蛋白和血小板反应蛋白等,对维持BBB的完整性具有重要作用^[7]。

1.3 小胶质细胞

小胶质细胞隶属单核吞噬细胞族,是中枢神经系统内的主要免疫效应器。小胶质细胞对中枢神经系统损伤反应敏感,能迅速增殖,增加或重新表达同种异型抗原,迁移并变化成吞噬细胞样形态,同时迅速地分泌大量细胞因子和细胞毒性物质。在损伤所致炎症后期,主要分泌脑源性神经营养因子,促进神经元的营养及修复^[8]。

1.4 细胞外基质

基膜的细胞外基质主要指分布于细胞外空间,有细胞分泌的蛋白质和多糖组成的网络结构。而且基膜的细胞外基质与脑血管内皮组织也存在重要联系^[9]。

2 NVU各组间的联系

NVU各组分在微环境中相互关联,主要通过正负反馈机制相互作用^[2,10-11],大量研究表明各组间信号传递和偶联是维持大脑正常功能的基础。

2.1 微血管与神经胶质细胞

联合培养胶质细胞与血管内皮细胞的研究发现,胶质细胞可促进内皮细胞向血管的演化;同时内皮细胞对胶质细胞的分化也有导向作用^[12]。而胶质细胞如周细胞也可通过相应信号通路参与血管内皮细胞的生长、毛细血管的发生和重塑过程^[13-17]。现已发现去甲肾上腺素能^[18-19]、5-羟色胺能^[20]、胆碱能^[21-22]及γ-氨基丁酸能^[23]神经元支配微血管内皮细胞和相关星形细胞轴突的解剖学证据。星形胶质细胞紧密包裹在血管壁的表面,与微血管的内皮细胞相互作用,对维持BBB

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2014.10.025

*基金项目:国家自然科学基金面上项目(81273818);黑龙江省教育厅科学技术项目(12531606);黑龙江中医药大学科研基金项目(201202);黑龙江中医药大学优秀创新人才支持计划(领军人才)

1 黑龙江中医药大学附属第二医院,哈尔滨,150040; 2 黑龙江中医药大学

作者简介:唐强,男,主任医师; 收稿日期:2013-10-29

的功能意义重大。它还参与调节脑血流量,能够释放NO、环氧化酶及环加氧酶活化产物等血管活性物质^[24-25]。而内皮细胞也可通过释放环氧二十碳烯酸以舒张血管平滑肌达到调节脑血流量的作用。

2.2 微血管与神经元

大量研究表明,微血管分布的疏密与神经元分布密集程度及功能具有一致性。神经元与微血管血流间调节功能的耦联是通过星形胶质细胞介导的^[26]。缺血损伤时,微血管对缺血的反应与神经元受损发生在相同的时相和区域,提示两者具有紧密联系。神经血管间的耦合是神经元调节脑损伤区脑血流量的能力来源,而在脑缺血损伤区域外,脑局部血流的控制和调节同样依赖于神经血管的耦合^[27]。另有研究表明,在易损区微血管和邻近神经元间存在特定的联系,微血管内皮细胞与神经元之间进行的并不是单向传导,而是双向交流^[28]。BMEC还可以分泌脑源性神经营养因子,使神经元免受缺血、缺氧和应激等损害^[29]。

2.3 微血管与基质

除了神经胶质细胞和神经元以外,基底膜的细胞外基质也与BMEC相互作用。细胞外基质似乎是连接层黏连蛋白和其他具有内皮整合素受体的基质蛋白质的锚链,从而对内皮组织发挥作用。相关研究表明,基质蛋白能影响内皮TJ蛋白质的表达^[30],在病理状态下细胞外基质的破坏与血脑屏障通透性增加相关,基底膜蛋白质似乎还有维护BBB的作用。此外,许多细胞内信号通道也是被这种细胞-基质交互作用所激活。

2.4 星形胶质细胞与神经元

星形胶质细胞向四周伸出无数的突起,包裹神经元的各部分,并与神经元及突触联系,参与神经元的营养、保护、支持、电生理活动及信号转导^[6]。星形胶质细胞通过摄取和释放神经递质,确保神经元突触活动的有效性和精确性。脑缺血后,神经胶质细胞释放多种神经营养因子,促进神经元的修复和再生,增强神经元的可塑性,有利于改善神经系统的功能。

3 脑缺血与NVU

张伟等^[31]实验显示,脑缺血再灌注早期(即30min,3h)梗死灶开始仅见于基底核视前区,神经元皱缩成扇形,细胞质肿胀,血管周围水肿,内皮细胞肿胀,星形胶质细胞肿胀,细胞质断裂;随后梗死逐渐波及皮质,胶质细胞增生。再灌注后期(即6、12、24、48、72h)出现神经元嗜酸性变,部分血管壁断裂,胶质细胞肿胀、崩解;嗜酸性变的神经元数量增加明显;部分神经元成为无结构的细胞,梗死灶出现大片坏死组织;随后梗死灶内出现了新生血管,水肿较前减轻;并有大量中性粒细胞浸润。此实验还提出基底膜重要成分的缺失是

导致微血管完整性、血脑屏障损伤的主要因素,其中层粘连蛋白(laminin)是基底膜的主要成分之一,缺血再灌注的早期即有laminin的损伤。而Michal等^[32]实验结果表明小胶质细胞作为脑内重要的炎症细胞,对维持中枢神经系统内环境的稳定具有重要作用,而在病理情况下,小胶质细胞的过度活化将会加重脑组织的损伤程度。Gürsoy-Ozdemir等^[33]实验研究表明,由于再灌注时微血管及其周围的星形细胞足突产生过氧化亚硝酸盐会破坏微血管的完整性,从而导致出血和水肿。此外脑缺血急性期,基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)家族的某些成员(如MMP-1, MMP-2等)可通过活性氧(reactive oxygen species, ROS)的参与造成BBB的破坏^[34]。

BBB的开放不仅是解剖结构的破坏,而是有选择性的代偿机制。这表明神经元和微血管的联系不单是血流的调节,还与BBB的通透性有关。有研究表明BBB通透性的必要的解剖学结构是微血管内皮细胞与星形胶质细胞终足的紧密连接,且星形胶质细胞对血管的直接调控是通过促进其扩张或收缩的双重作用来实现的^[35]。还有研究表明,脑缺血缺氧时,旁细胞能迅速从微血管中迁移出来^[36],提示旁细胞在BBB的形成及功能维持过程中起着与神经胶质细胞相似的作用。此外,病理状态下BBB通透性增加与细胞外基质的破坏明显相关^[37]。

此外,在脑缺血病理过程研究中人们发现硝化应激稳态失衡与NVU的破坏密切相关。硝化应激是指由一氧化氮自由基与超氧离子迅速反应,在短时间内生成大量过氧亚硝基阴离子(peroxynitrite, ONOO⁻),从而发生蛋白质酪氨酸硝化作用及细胞损伤级联反应^[38-39]。大量实验表明,硝化应激在脑缺血的发生、发展及转归过程中均具有重要作用,近年来对其研究备受关注。

4 保护脑缺血后NVU的研究进展

4.1 药物

目前应用于脑缺血后NVU修复方面的药物研究很多,且一种药物的作用机制也是多方面的。如何更合理的用药还需进一步临床研究。以下例举几种具有代表性的药物研究。

4.1.1 自由基清除剂:可减少BBB破坏,抑制组织型纤溶酶原激活剂(tissue-type plasminogen activator, tPA)诱导出血性转化。

4.1.2 辛伐他汀:可保护神经细胞、内皮细胞和促进NVU修复。

4.1.3 红酒多酚复合物:抗缺血再灌注损伤、扩张动脉、抗氧化应激、改善能量代谢、促进NVU损伤修复。

4.1.4 重组人红细胞生成素:保护神经细胞、内皮细胞和促

进NVU修复^[40-43]。

4.1.5 钙调素抑制剂、ONOO-清除剂、ONOO-分解催化剂等:可阻断NO/ONOO-信号通路或清除ONOO-,抑制硝化应激,保护NVU^[44]。

4.2 康复

NVU概念的提出为康复治疗缺血性脑卒中的研究提供了新的平台,无论是现代康复治疗技术领域还是传统康复领域,都掀起了运用康复手段干预脑缺血后NVU保护的热潮。

徐莉等^[45]的康复训练后大鼠脑梗死的组织形态学改变的研究表明,不同时间点光镜下观察脑梗死灶边缘的细胞增生及血管新生的形态学改变,康复组较其他组显著,说明康复功能训练能有效地增加脑血液循环,促进脑组织再生、修复。袁华等^[46]在康复训练对脑梗死大鼠皮质中S-100蛋白、胶质原纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)和巢蛋白(Nestin)表达影响的研究中发现,康复功能训练可激活大量的星形胶质,改善神经元的内环境,保护神经元,促进其修复,有利于功能的恢复。王晶余等^[47]运用脉冲式中频电刺激、针灸、推拿及运动疗法(神经促进技术、冷热刺激和关节加压等)相结合的综合康复方法干预脑缺血大鼠,其研究结果表明,脑缺血模型的不同时间点,均可见GFAP阳性表达,且综合康复治疗可明显提高缺血周边区GFAP的表达。韩肖华等^[48]用电针组梗死灶周围碱性成纤维细胞生长因子和血管生成素2表达较对照组增强,提示电针可以促进脑缺血后梗死灶周围的血管新生。而马曦等^[49]用线栓法制备Wistar大鼠局灶脑缺血再灌注模型进行随机分组实验,实验组选取双侧“合谷”穴为电针穴位,检测血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)mRNA及血管生成素-1(Angiopoietin-1, Ang-1)蛋白表达比对照组明显增加,而内皮抑素(Endostatin)蛋白的表达比对照组明显降低,提示可能通过上调血管生长因子和下调血管抑制因子的表达来促进局灶脑缺血再灌注后的血管新生。

4.3 其他

4.3.1 高压氧:Veltkamp等^[50]的实验研究表明,高压氧治疗可减少大鼠和小鼠早期的和延迟的局灶性缺血后BBB损害和组织水肿。高压氧可保护短暂性局部脑缺血的脑实质,但对缺血微循环的影响机制还不明确,尚需深入研究。

4.3.2 亚低温:亚低温治疗包括体表降温 and 血管内冷却两种方法。亚低温治疗被认为是非常前景的NVU保护方法,但相关研究多为动物实验,用于人类脑缺血的治疗还存在许多问题,有待进一步研究。

5 小结

NVU是一个复杂的动态复合体,其中各组分均扮演着重要角色,但各组分并不是独立的个体,各组分间的相互联

系尤为重要。由于缺血诱导的脑损伤是一个复杂的病理改变过程。人们逐渐意识到应针对NVU各组分间的关系,多途径、多方位的全面保护才能使脑缺血的治疗效果更理想。综上所述,NVU的提出为人类进一步研究脑缺血的病理改变和治療措施提供了一个更广阔的平台,值得研究人员和临床医师更深入的探索。

参考文献

- [1] del Zoppo GJ. Relationship of neurovascular elements to neuron injury during ischemia[J]. Cerebrovasc Dis, 2009, 27 (Suppl): 65—76.
- [2] Hawkins BT, Davis TP. Blood-brain barrier/neurovascular unit in health and disease[J]. Pharmacol Rev, 2005, 57(2): 173—185.
- [3] Mobley AK, Tchaicha JH, Shin J, et al. $\beta 8$ integrin regulates neurogenesis and neurovascular homeostasis in the adult brain[J]. J Cell Sci, 2009, 122: 1842—1851.
- [4] Reese TS, Karnovsky MJ. Fine structural localization of a blood-brain barrier to exogenous peroxidase[J]. J Cell Biol, 1967, 34(1): 207—217.
- [5] 常铮, 许继平. 脑血管内皮细胞与神经系统变性病关系的研究进展[J]. 临床医学工程, 2009, 17(3): 151—153.
- [6] Abbott NJ, Rönnbäck L, Hansson E. Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier[J]. Nat Rev Neurosci, 2006, 7(1): 41—53.
- [7] 刘庆山, 方亮, 王维群. 脑梗死神经血管单元的病变机制与治疗策略[J]. 国际药学研究杂志, 2011, 38(2): 105—108.
- [8] Hamel E. Perivascular nerves and the regulation of cerebrovascular tone[J]. J Appl Physiol, 2006, 100(3): 1059—1064.
- [9] Rosenberg GA, Estrada E, Kelley RO, et al. Bacterial collagenase disrupts extracellular matrix and opens blood-brain barrier in rat[J]. Neurosci Lett, 1993, 160(1): 117—119.
- [10] Allan S. The neurovascular unit and the key role of astrocytes in the regulation of cerebral blood flow[J]. Cerebrovasc Dis, 2006, 21(1—2): 137—138.
- [11] Lo EH, Broderick JP, Moskowitz MA. tPA and proteolysis in the neurovascular unit[J]. Stroke, 2004, 35(2): 354—356.
- [12] Lok J, Gupta P, Guo S, et al. Cell-cell Signaling in the Neurovascular Unit[J]. Neurochem Res, 2007, 32(12): 2032—2045.
- [13] Koehler RC, Roman RJ, Harder DR. Astrocytes and the Regulation of Cerebral Blood Flow[J]. Trends Neurosci, 2009, 32(3): 160—169.
- [14] Dore-Duffy P. Pericytes: Pluripotent Cells of the Blood Brain Barrier[J]. Curr Pharm Des, 2008, 14(16): 1581—1593.
- [15] Hartmann C, Zozulya A, Wegener J, et al. The Impact of Glia-derived Extracellular Matrices on the Barrier Function of Cerebral Endothelial Cells: An In Vitro Study[J]. Exp Cell Res, 2007, 313(7): 1318—1325.
- [16] Pun PB, Lu J, Mochhala S. Involvement of ROS in BBB Dysfunction[J]. Free Radic Res, 2009, 43(4): 348—364.
- [17] Kutcher ME, Herman IM. The Pericyte: Cellular Regulator of Microvascular Blood Flow[J]. Microvasc Res, 2009, 77

- (3): 235—246.
- [18] Ben-Menachem E, Johansson BB, Svensson TH. Increased vulnerability of the blood-brain barrier to acute hypertension following depletion of brain noradrenaline[J]. J Neural Transm, 1982, 53(2-3): 159—167.
- [19] Cohen Z, Molinatti G, Hamel E. Astroglial and vascular interactions of noradrenaline terminals in the rat cerebral cortex[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 1997, 17(8): 894—904.
- [20] Cohen Z, Bonvento G, Lacombe P, et al. Serotonin in the regulation of brain microcirculation[J]. Prog Neurobiol, 1996, 50(4): 335—362.
- [21] Vaucher E, Hamel E. Cholinergic basal forebrain neurons project to cortical microvessels in the rat: electron microscopic study with anterogradely transported phaseolus vulgaris leucoagglutinin and choline acetyltransferase immunocytochemistry[J]. J Neurosci, 1995, 15(11): 7427—7441.
- [22] Tong XK, Hamel E. Regional cholinergic denervation of cortical microvessels and nitric oxide synthase-containing neurons in Alzheimer's disease[J]. Neuroscience, 1999, 92(1): 163—175.
- [23] Vaucher E, Tong XK, Cholet N, et al. GABA neurons provide a rich input to microvessels but not nitric oxide neurons in the rat cerebral cortex: a means for direct regulation of local cerebral blood flow[J]. J Comp Neurol, 2000, 421(2): 161—171.
- [24] Li N, Sul JY, Haydon PG. A calcium-induced calcium influx factor, nitric oxide, modulates the refilling of calcium stores in astrocytes[J]. J Neurosci, 2003, 23(32): 10302—10310.
- [25] Coco S, Calegari F, Pravettoni E, et al. Storage and release of ATP from astrocytes in culture[J]. J Biol Chem, 2003, 278(2): 1354—1362.
- [26] Koehler RC, Roman RJ, Harder DR. Astrocytes and the regulation of cerebral blood flow[J]. Trends Neurosci, 2009, 32(3): 160—169.
- [27] Iadecola C. Neurovascular regulation in the normal brain and in Alzheimer's disease[J]. Nat Rev Neurosci, 2004, 5(5): 347—360.
- [28] Grant DS, Kleinman HK. Regulation of capillary formation by laminin and other components of the extracellular matrix[J]. EXS, 1997, 79: 317—333.
- [29] Guo S, Kim WJ, Lok J, et al. Neuroprotection via matrix-trophic coupling between cerebral endothelial cells and neurons[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(21): 7582—7587.
- [30] Savettieri G, Di Liegro I, Catania C, et al. Neurons and ECM regulate occludin localization in brain endothelial cells[J]. Neuroreport, 2000, 11(5): 1081—1084.
- [31] 张伟, 赵伟秦, 卢德宏. 大鼠脑缺血再灌注损伤后神经血管单元的改变[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2008, 10(8): 620—622.
- [32] Schwartz M. Macrophages and Microglia in Central Nervous System Injury: Are They Helpful or Harmful?[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2003, 23(4): 385—394.
- [33] Gürsoy-Ozdemir Y, Can A, Dalkara T. Reperfusion-induced oxidative/nitrative injury to neurovascular unit after focal cerebral ischemia[J]. Stroke, 2004, 35(6): 1449—1453.
- [34] Pun PB, Lu J, Mochhala S. Involvement of ROS in BBB dysfunction[J]. Free Radic Res, 2009, 43: 348—364.
- [35] Ito U, Hakamata Y, Kawakami E, et al. Temporary cerebral ischemia results in swollen astrocytic end-feet that compress microvessels and lead to delayed focal cortical infarction[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2011, 31(1): 328—338.
- [36] Gonul E, Duz B, Kahraman S, et al. Early pericyte response to brain hypoxia in cats: an ultrastructural study[J]. Microvasc Res, 2002, 64(1): 116—119.
- [37] Rascher G, Fischmann A, Kröger S, et al. Extracellular matrix and the blood-brain barrier in glioblastoma multiforme: spatial segregation of tenascin and agrin[J]. Acta Neuropathol, 2002, 104(1): 85—91.
- [38] Pryor WA, Squadrito GL. The chemistry of peroxynitrite: a product from the reaction of nitric oxide with superoxide[J]. Am J Physiol, 1995, 268(5 pt 1): L699—L722.
- [39] Radi R. Nitric oxide, oxidants, and protein tyrosine nitration[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101(12): 4003—4008.
- [40] Yamashita T, Kamiya T, Deguchi K, et al. Dissociation and protection of the neurovascular unit after thrombolysis and reperfusion in ischemic rat brain[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2009, 29(4): 715—725.
- [41] Nagaraja TN, Knight RA, Croxen RL, et al. Acute neurovascular unit protection by simvastatin in transient cerebral ischemia[J]. Neurol Res, 2006, 28(8): 826—830.
- [42] Ritz MF, Ratajczak P, Curin Y, et al. Chronic treatment with red wine polyphenol compounds mediates neuroprotection in a rat model of ischemic cerebral stroke[J]. J Nutr, 2008, 138(3): 519—525.
- [43] Keogh CL, Yu SP, Wei L. The effect of recombinant human erythropoietin on neurovasculature repair after focal ischemic stroke in neonatal rats[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2007, 322(2): 521—528.
- [44] 黄继云, 韩峰. 硝化应激参与介导缺血性脑损伤的研究进展[J]. 神经药理学报, 2011, 1(5): 56—64.
- [45] 徐莉, 李玲, 晏培松, 等. 康复训练后大鼠脑梗死的组织形态学改变[J]. 现代康复, 2000, 4(5): 678—679.
- [46] 袁华, 龙华, 李玲. 康复训练对脑梗死大鼠皮质 S-100、GFAP 和 Nestin 表达的影响[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2003, 25(9): 520—523.
- [47] 王晶余, 尹立全, 许建华. 综合康复对动物模型 GFAP 表达的研究[J]. 中国实验诊断学, 2009, 13(5): 675—676.
- [48] 韩肖华, 黄晓琳, 郭铁成, 等. 电针对脑缺血大鼠碱性成纤维细胞生长因子和血管生成素及其受体表达的影响[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2006, 28(9): 581—583.
- [49] 马曦, 罗勇. 电针对大鼠局灶缺血再灌注后脑内血管生长因子和血管抑制因子表达的影响. 中国针灸, 2007, 27(2): 129—133.
- [50] Velikamp R, Siebing DA, Sun L, et al. Hyperbaric oxygen reduces blood-brain barrier damage and edema after transient focal cerebral ischemia [J]. Stroke, 2005, 36(8): 1679—1683.