

神经血管单元在脑缺血治疗中的作用和意义

杨国源 贺小松 王永亭

【关键词】 脑缺血； 神经系统； 血管； 综述文献

DOI:10.3969/j.issn.1672-6731.2011.02.001

脑卒中是当前威胁人类健康的三大主要疾病之一,具有高发病、高病残及高病死的特点,其中缺血性卒中发生率占 60%~80%。世界卫生组织(WHO)调查结果显示,中国缺血和(或)出血性卒中发病率居世界首位,约高于美国 1 倍。全国第 3 次死因回顾抽样调查资料表明,目前脑卒中已上升为中国的首位死因。近 20 年的流行病学研究结果显示,脑卒中病死率逾 150 万例/年,并呈逐年增长趋势,严重威胁着国民的生命和健康生活质量,长期以来一直缺乏针对病因的有效治疗,给社会和家庭造成沉重的经济负担和心理负担。脑卒中后的病理变化呈多种多样且并发症复杂,常规单一神经保护治疗在临床治疗过程中通常不能发挥有效的治疗作用。缺血性卒中患者往往是先有血管病变而后引起神经系统病变并出现临床症状,单一针对神经元的保护治疗几乎不产生明显疗效;神经与血管之间存在密切联系,从局灶性缺血引起的变化来看,神经与微血管可同时发生急性反应;而且发育期和成年期细胞间或超微结构间的关系是可以预见的。在此基础上,作为整体单位,提出了“神经血管单元”这一概念。“神经血管单元”的概念为双向研究神经元、神经胶质细胞及微血管之间的内在联系提供了良好的框架,在这一概念框架内,细胞与细胞之间、细胞与血管之间的联系均可以得到充分的阐述。神经血管单元主要由血管内皮细胞、基底膜、旁细胞、星形胶质细胞、神经元和小胶质细胞组成。神经血管单元在缺血性卒中的病理学诊断及

临床治疗过程中起着非常重要的作用,越来越受到研究人员和临床医师的重视。在本文中,我们将详细讨论神经血管单元的发展及其在缺血性卒中治疗中的作用和意义。

一、血-脑脊液屏障

1. 血-脑脊液屏障的发现 中枢神经系统是人体最重要亦是最敏感的系统。维持正常的神经功能首先需要稳定细胞外环境,使钠、钾、钙离子等维持于相对稳定的环境;而且神经系统代谢约需要人体总氧耗量的 20%^[1]。因此,维持中枢神经系统及周围循环系统离子平衡、调节营养因子水平,同时排除潜在的毒性物质等动态管理功能至关重要。血-脑脊液屏障即是机体维持大脑微血管稳态的天然屏障。1904 年, Ehrlich^[2]在一次动物实验中将水溶性染色剂注入循环系统中,除了脑和脊髓,其他所有组织和器官均着色,由此首次发现了血-脑脊液屏障的存在。当时他认为这是由于脑组织与染料的低亲和力所致。但 Goldmann^[3]不认同 Ehrlich 的观点,他将台盼蓝(trypsin blue)注射到脑脊液中,所有神经细胞均着色而周围循环系统细胞却不着色。提示中枢神经系统与周围循环系统之间存在着“天然”生理屏障。他们之间的争论一直持续到 20 世纪 60 年代。一些科学家认为,由于血液和脑脊液的组成成分不同,它们与染料结合的亲和力亦不尽相同,因此不能进行类比。进一步的观察发现,碱性苯胺染料能够透过血-脑脊液屏障而酸性染料则不能,使得对血-脑脊液屏障存在与否的争论进一步复杂化。另外,围绕血-脑脊液屏障的结构组成亦存在较大的争论,部分学者认为,血-脑脊液屏障单纯由内皮组织组成,神经胶质细胞不参与血-脑脊液屏障的组成;但是 Brightman 和 Reese^[4]的研究发现,神经胶质细胞可以通过终足(endfoot)与内皮细胞形成紧密的解剖结构联系。对血-脑脊液屏障解剖结

基金项目:国家重点基础研究发展计划(“973”计划)项目(项目编号:2011CB504400)

作者单位:200230 上海交通大学 Med-X 研究院神经科学与神经工程研究中心(杨国源,贺小松,王永亭);上海交通大学医学院神经病学研究所(杨国源)

通信作者:杨国源(Email:gyyang0626@gmail.com)

构的认识,在一定程度上受到检测手段的制约,随着科学技术的发展这种约束正在逐渐减弱。显微镜特别是电子显微镜的发展,使得对血-脑脊液屏障的结构有了比较明确的认识,而放射性核素的应用则对其功能有了进一步的了解。

2. 神经血管单元的解剖结构 (1) 神经元与微血管之间的关系: 由于神经活动的自然属性及神经组织所需的巨大能量, 脑微血管对其所负责区域的神经组织具有高度敏感性。虽然 fMRI 的分子机制尚未阐明, 但是这种神经-血管的代谢配对确是功能成像的基础^[5]。据研究显示, 血-脑脊液屏障完整性遭到破坏时可伴有脑血流量(CBF)和脑灌注压(CPP)的改变^[6-7], 而且这是一种有选择性的补偿机制而非简单的解剖结构的变化^[8]。这些实验提示: 除了神经元与血管之间的联系控制着局部脑组织的血流变化外, 血-脑脊液屏障同样对其发挥重要影响。解剖学研究发现, 微血管内皮细胞或相关星形胶质细胞受各种神经元的直接支配^[9-11], 如胆碱能神经元、 γ -氨基丁酸(GABA)能神经元等。化学损伤可以通过去甲肾上腺素能神经元到达蓝斑, 增加血-脑脊液屏障的易损性^[12]。虽然, 目前尚无证据说明神经元在血-脑脊液屏障的表型发育中居重要地位, 但是神经元对维持血-脑脊液屏障功能的作用是不可或缺的。微血管在脑血液循环中的结构分布顺应血流动力学变化, 或由器官特性和所在解剖部位所决定。在生长发育阶段, 血管与神经元之间的相对位置是血管沿基质生长, 毛细血管、内皮细胞和星形胶质细胞共同组成基膜屏障, 内皮细胞紧密连结为屏障的一部分; 内皮细胞与星形胶质细胞的终足紧密相连则是屏障渗透性的必要条件^[13-14]。一般而言, 毛细血管与距其最近的神元距离约为 30 μm ^[15], 神经元与相邻微血管之间的距离并非恒定, 但它们的排列很有规则且是可预测的。脑灰质供血动脉从软脑膜出发至脑白质边缘呈“六边”形排列, 逐级递减, 微血管的这些分支使血流可以绕过基膜屏障前行; 脑白质毛细血管的分布与轴突一致, 但仅有约 10% 的毛细血管分布于灰质^[16-17]。目前, 对于微血管分支在脑白质中的分布特点尚不十分清楚, 但是从局部脑血流分布来看, 沟回处最低, 皮质最高, 这种差异与毛细血管的分布区域相一致。(2) 神经胶质细胞与微血管的关系: 长期以来一直认为, 星形胶质细胞在血-脑脊液屏障的形成及其功能维持等方面发挥重要作用, 大量体外和异体

移植实验亦证明了这一观点。然而, 最近的研究发现, 神经胶质细胞可能具有更为广泛的作用, 它在血-脑脊液屏障发育过程中的潜在作用已经纯化的新生神经胶质细胞向眼前房移植实验所证实。神经胶质细胞能够迅速聚集于已形成的微血管周围, 且新生的血管排斥外来的染料, 与在脑组织中所观察到的结果相似^[18]。同样, 经体外共培养的内皮细胞与神经胶质细胞可提高血-脑脊液屏障的功能特征^[19]。但是, 共培养因其实验方法上的不成熟而倍受批评, 尤其是神经胶质细胞仅能参与血-脑脊液屏障形态结构的维护^[20]。随后体内实验证实, 在广泛性神经胶质细胞缺失区域脑微血管不仅能够存活且可维持血-脑脊液屏障功能的整体性^[21]。推测, 神经胶质细胞在神经元与血管渗透性的时程调控中可能发挥中介作用, 通过介导钙离子动态信号、缝隙连接及谷氨酰胺受体转导而发挥作用^[22-23]。单纯从解剖结构上看, 神经胶质细胞所发挥的作用更似中枢性作用, 既能够接受神经元突触的传入信号, 同时又能将这些信号转导给局部脑组织中的微血管, 使微血管的开放和关闭发生变化^[24]。星形胶质细胞通过其终足直接或间接提高钙离子浓度, 诱发微血管反应, 星形胶质细胞促进血管扩张的作用不仅通过释放前列腺素 E2(PGE2) 来实现, 其他促血管扩张因子如环氧二十碳三烯酸(EETs) 等物质同样参与了血管扩张的过程^[25]。双光子显微镜下直接刺激星形胶质细胞释放游离钙离子的实验证明, 星形胶质细胞不仅具有扩张血管的作用, 同时亦具有收缩血管的作用^[26]。进一步研究发现, 星形胶质细胞通过释放花生四烯酸(AA) 促进平滑肌细胞分泌羟基二十碳四烯酸(HETE), 进而促进血管收缩^[27]。然而, 是什么因素能够协调星形胶质细胞对血管的双重作用呢? 多项研究业已证实一氧化氮介导了这一过程^[27]。缺血可以导致星形胶质细胞终足肿胀压迫微血管, 使血流不通畅而引起更大面积的细胞坏死。因此, 星形胶质细胞通过促进扩张或收缩的双重作用实现对血管的直接调控^[28]。越来越多的研究显示, 神经胶质细胞在脑缺血时的作用不单纯局限于以上所述, Nimmerjahn 等^[29]发现还具有以下潜在功能, 例如通过改变神经胶质细胞钙离子信号的形式来影响其功能角色的变化, Bergmann 区神经胶质细胞钙离子的活动可调控清醒动物的血流变化, 甚至影响其运动行为学的变化。而在其他研究中则未发现同样现象^[30], 因此认

为,激活后的神经胶质细胞为一异源性细胞,具备与内源性神经胶质细胞不同的性质及功能^[31]。神经胶质细胞在脑缺血后期的血管新生及神经再生中同样起着重要作用,神经血管龕(neurovascular niche)可分泌血管内皮生长因子(VEGF)、基质细胞衍生因子-1(SDF-1)和血管生成素-1(Ang-1)等细胞因子,后者能够促进室管膜下区的成体干细胞迁移至缺血区域,促进神经血管单元的修复^[32]。(3)旁细胞:旁细胞位于动脉、静脉和毛细血管内皮细胞的基膜侧,旁细胞覆盖在 22%~32% 大脑毛细血管表面,而且毛细血管后微静脉似乎比毛细血管本身具有更多的旁细胞,紧密围绕在紧密连结周围,覆盖在整个内皮细胞的基膜表面。对旁细胞在血-脑脊液屏障中的作用研究较少,其功能主要集中于以下方面。①收缩作用,旁细胞表达的收缩蛋白有可能调控毛细血管血流,而在内皮细胞与神经胶质细胞共培养液中加入旁细胞则有助于形成毛细血管样结构^[33-34]。②迁移作用,在缺氧及颅脑创伤时,旁细胞能迅速从微血管中迁移出来^[35],从而增加血-脑脊液屏障通透性。关于旁细胞在血-脑脊液屏障破坏过程中是否具有起始作用尚未得到肯定。但是旁细胞来源的血管生成素能够诱导内皮细胞表达闭合蛋白(occludin),而后者则是血-脑脊液屏障紧密连结的主要组成部分,提示旁细胞在血-脑脊液屏障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。③免疫及吞噬作用,旁细胞可持续低表达黏附分子,其免疫反应因子的表达随着旁细胞数目的增多而逐渐升高;还具有抗原递呈作用。其溶酶体具有高表达磷酸酶的功能,提示旁细胞具有吞噬功能。④干细胞样作用。(4)细胞外基质(EM):基膜的细胞外基质主要指分布于细胞外空间、由细胞分泌的蛋白质和多糖组成的网络结构。基膜的细胞外基质同样与脑血管内皮组织存在重要联系。病理状态下,血-脑脊液屏障通透性增加即与细胞外基质的破坏明显相关^[36-37]。细胞外基质通过黏连蛋白及其他基质蛋白与内皮整合素受体作用而为内皮组织定位^[38],这种细胞与基质之间的联系可激活许多信号转导通路^[39]。细胞基质对内皮细胞紧密连结蛋白的分泌有一定影响,虽然紧密连结是细胞旁分泌的首要障碍,但基膜的这些蛋白质对维持紧密连结具有一定作用。

二、单一治疗方法存在的缺陷

经过 20 年的努力探索,科学家们提出了一些治

疗缺血性卒中的可行方案如神经保护和溶栓治疗。包括:N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)受体阻断药(胞二磷胆碱)、活性氧清除药(替拉扎特甲磺酰基)、抗炎性反应免疫抑制药(恩莫单抗)等神经保护药物,以及血浆酶原催化剂如重组组织型纤溶酶原激活物(rt-PA)等溶栓药物的临床应用^[40]。但是单一治疗方法仍存在许多缺陷。

1. 神经保护药的缺陷 治疗缺血性卒中的首要目的是保护缺血半暗带区未受损的神经元。神经保护药物的作用对象为神经元,其主要药理作用是抑制细胞内钙离子转移、神经递质释放及神经元凋亡。虽然,神经保护药物挽救受损神经元的研究取得了一些进展,但用于治疗脑缺血的疗效却并不乐观。近期研制的 NXY-059 被认为对治疗缺血性卒中可能有效,但是在其多中心 I 期临床试验中并未取得预期的疗效;而且 II 期临床试验亦未显示出明显的治疗效果^[41]。目前临床用于抑制活性氧的神经保护药物不能透过血-脑脊液屏障进入脑组织,只能到达产生活性氧的微血管表面^[42]。其他药物均被证实脑缺血时不能起到神经保护作用^[43]。因此,研制新型神经保护药物并使其能够进入神经血管单元而发挥药理作用,是今后脑缺血药物研究迫切需要解决的问题。

2. 溶栓治疗的缺陷 溶栓治疗也是目前治疗缺血性卒中较为成功的手段。由于缺血性卒中是继发于脑血管堵塞的脑实质损伤,故疏通血管方案主要是通过早期对血栓进行溶解来实现血管再灌注。rt-PA 是迄今为止首例被美国食品与药品管理局(FDA)批准用于治疗急性缺血性卒中的溶栓药物,但是溶栓后所出现的严重并发症如颅内出血等仍然是影响患者预后的重要难题。研究证明,基质金属蛋白酶-9(MMP-9)活性增加与 rt-PA 溶栓治疗密切相关,缺血早期 MMP-9 活性增加是反复颅内出血和脑水肿的首要原因^[44-46]。另外,rt-PA 有着明显的治疗时间限制,通常在缺血后 4~5 h 为最佳治疗时间窗,而大多数患者不能在这一时间窗内得到药物治疗,仅有约 5% 的缺血性卒中患者能够及时得到 rt-PA 治疗^[47]。

三、神经血管单元在缺血性卒中诊断过程中的作用

基质金属蛋白酶(MMPs)为一种锌依赖蛋白酶,在胚胎再生、组织重建、创伤修复及血管新生等生理过程中发挥重要作用。到目前为止,已发现基

质金属蛋白酶家族中许多成员如 MMP-2、-3、-7 和 -9 均与脑缺血后血-脑脊液屏障破坏有关^[48-49],其原因大致为:基质金属蛋白酶降解包含基膜的细胞外基质,直接破坏血-脑脊液屏障的通透性,破坏神经-血管基膜导致神经元失巢凋亡。基质金属蛋白酶所降解的细胞外基质是神经血管单元中正常信号转导通路和内环境稳态维持的基础,缺血性卒中后基质金属蛋白酶活性增加可促进紊乱蛋白质的水解,从而引起血-脑脊液屏障渗漏及细胞死亡^[50-51]。多项对啮齿类缺血性卒中动物模型的观察均显示,脑缺血后有数种基质金属蛋白酶家族成员的活性明显增加,虽然在时间上不同成员的活性可能不一致,但至少 MMP-9 在缺血急性期呈高表达, MMP-2 则于发病后期表达水平明显升高^[52-53]。脑缺血急性期 MMP-9 活性升高具有溶解基质的作用,进一步加重梗死,而至疾病后期的修复阶段则可通过促进轴突生长、细胞迁移、血管新生等作用参与神经元功能的修复^[45]。临床研究同样发现,与健康个体相比,缺血性卒中及出血性卒中患者血清 MMP-9 活性明显增加^[54-55]。更重要的是, MMP-9 表达水平与梗死灶体积、神经元功能、出血转换等密切相关,通过 MRI 可以测量梗死灶体积,而 MMP-9 水平变化则有助于判断患者是否可以进行溶栓治疗^[56]。

基质金属蛋白酶的自然抑制物金属蛋白酶组织抑制因子(TIMP)对基质的降解作用,在缺血性卒中的诊断过程中同样具有重要作用。缺血性卒中早期 TIMP-1 或 -3 呈高表达,通过抑制基质金属蛋白酶活性,延迟神经元凋亡而产生神经保护作用^[57]。同样,对缺血性卒中患者血液的检测亦发现 TIMP 表达水平异常,推测它与基质金属蛋白酶之间存在动态平衡关系^[58-59]。因此,有学者提出以基质金属蛋白酶家族成员及 TIMP 作为脑卒中的生物学标志。虽然这一概念已经形成,但在当前缺乏快速实时定量检测基质金属蛋白酶表达水平设备的情况下尚无法实现从实验室转化为临床应用。不可否认的是,检测血清基质金属蛋白酶活性将有利于缺血性卒中的鉴别诊断及预后判断。

四、神经血管单元在缺血性卒中治疗过程中的作用

1. 血管新生 长期以来一直致力于神经保护药物治疗缺血性卒中,例如:抗凋亡药、钙拮抗药、抗炎药以及抗氧化应激药物,然而无论是实验研究或是临床实践这些药物都收效甚微。正因如此,缺血

性卒中的血管新生和神经再生治疗方法越来越受到重视。血管内皮生长因子作为潜在的促血管生成因子,由多种细胞分泌并能被其他因素所调节,如白细胞介素、转化生长因子(TGF)、血小板源性生长因子(PDGF)等都能够参与调节血管内皮生长因子,诱导内皮细胞增殖、迁移,以及局部毛细血管新生等。于脑室内注射血管内皮生长因子可促进纹状体缺血半暗带区的血管新生,增加新生海马齿状回颗粒层(SGZ)和室管膜下区(SVZ)神经元存活,从而缩小梗死范围并改善行为能力^[60]。利用重组腺病毒为载体,于体内过表达血管内皮生长因子而刺激血管新生,但是有可能影响血-脑脊液屏障的通透性^[61]。在发育的生理过程中,血管内皮生长因子和血管生成素-1~-4 共同作用调控血管的形成^[62],而且可激发内皮细胞增殖和迁移,形成新的血管^[63]。而血管生成素-1 通过结合 Tie1 和 Tie2 在血管重塑过程中发挥重大作用^[64]。研究表明,血管生成素-1 能够减少血管内皮生长因子介导的血管通透性改变,血管生成素-1 与血管内皮生长因子联合用于缺血性卒中模型对水肿及梗死体积的改善作用优于血管内皮生长因子单药治疗^[65]。血管生成素-2 在促进血管内皮生长因子诱发血管新生的同时亦增加局部脑组织 MMP-9 的表达。Netrin-1 最初被认为是一种轴突导向因子,在脑的发育过程中起重要作用。最近的研究发现,netrin-1 通过结合其受体,于缺血性卒中后血管新生过程中发挥作用^[66-67]。以腺相关病毒为载体实现 netrin-1 过表达,可有效促进局部脑区的血管生成(neovascularization),而血管内皮生长因子通常仅具有促进局部微血管新生(angiogenesis)的作用,提示 netrin-1 与血管内皮生长因子促进血管新生的途径不同^[68]。于体内注射 netrin-1 后可通过依赖 DCC(deleted in colorectal carcinoma)介导的细胞外信号调节激酶(ERK)1/2-内皮型一氧化氮合酶(eNOS)通路而缩小心肌梗死范围,而 DCC siRNA 及其抑制剂则能抑制血管新生及动脉内皮细胞一氧化氮合酶的分泌,进一步证实 netrin-1 促进血管新生的机制不同于血管内皮生长因子^[69]。Netrin-1 促进缺血后血管新生以达到改善神经元功能的目的,这仅是 netrin-1 治疗作用的一方面,它还可于缺血后抑制由 P53 介导的细胞凋亡而达到缩小梗死面积的作用^[70]。虽然,netrin-1 在轴突的发育导向过程中发挥重要作用,但它是否能够诱导成体干细胞的迁移而达到治疗目的,尚需深入

研究。

2. 细胞移植治疗 缺血性卒中治疗的首要目标是减少神经元死亡和提高神经功能修复。神经再生存在于某些特定的神经再生区域如室管膜下区和海马齿状回颗粒层,且可持续存在于成体中。正常鼠脑新生的海马神经元能够发展为成熟的神经元并且能够表现功能兴奋或抑制。缺血性脑损伤后成体干细胞可迁移至纹状体区,经膜片钳等技术证实再生的神经元可与缺血性损伤区存活神经元整合,表现出神经元的功能^[71],但自身产生的干细胞尚不足以达到修复缺血损伤的功能。因此,于体外移植具有多向分化潜能的前体细胞如神经前体细胞、胚胎干细胞、骨髓来源的前体细胞、血液来源的前体细胞等,越来越受到青睐。神经干细胞(NSCs)能够分化为神经元^[72]、星形胶质细胞^[73]、少突胶质细胞^[74],甚至可分化为内皮细胞^[75],提示神经干细胞可代偿多种细胞。然而,在临床前实验中所观察到的结果却并非如此。虽然,神经干细胞移植后能够存活且具有向梗死区域迁移趋势^[76],分化为功能性神经元^[77],且与宿主细胞形成连接;但许多研究发现,干细胞移植并不能缩小梗死灶体积,仅具有部分神经保护作用及免疫调节作用。骨髓间充质干细胞(BMSCs)是目前应用最为广泛的一种前体细胞,其优点为:来源简单广泛,易于培养^[78];几乎不产生异体移植后的免疫排斥反应^[79]。目前,对于骨髓间充质干细胞促进缺血后神经元功能修复的机制尚不清楚,有两种观点^[80]:其一,骨髓间充质干细胞移植后分化为神经元、内皮细胞等参与神经血管单元的修复,最终促进其功能修复,但是于体外标记的骨髓间充质干细胞移植后大多不能迁移至梗死区域且存活时间极短,移植后 3 d 在缺血区几乎找不到移植细胞,但有趣的是,仍可观察到功能修复作用;基于此,提出另外一种机制,即骨髓间充质干细胞分泌神经或血管营养因子,通过营养因子的作用促进神经功能的修复。大多数研究倾向于后一种机制的解释。无论骨髓间充质干细胞通过何种机制促进缺血损伤后的功能修复,其改善缺血损伤这一事实是肯定的,且已应用于临床^[81]。骨髓来源的另一类前体细胞,即内皮祖细胞也被证实能够缩小梗死灶范围。利用脐带血分离获得内皮祖细胞,移植到缺血脑损伤鼠的相应脑区后,梗死灶体积明显缩小。这一研究结果为临床治疗提供了另一干细胞获得来源,但是其治疗机制仍有待

进一步研究阐明^[82]。干细胞移植治疗脑卒中虽然存在许多问题,如细胞存活、移植时间、移植细胞数目,以及最为关键的免疫排斥反应等问题,但是干细胞移植治疗技术的出现仍为脑卒中患者及科研人员带来了福音。

总之,回顾以往研究可以发现,微血管内皮组织、星形胶质细胞、旁细胞、神经元和细胞外基质构成了“神经血管单元”,而且血-脑脊液屏障的概念对理解神经血管单元的发育及生理功能至关重要。“神经血管单元”概念的提出,为整体研究大脑对血管病理变化的反应提供了一个框架,亦为理解药物调节大脑微血管通透性的不同途径提供了研究基础,为当前神经疾病研究及治疗提供了理论依据。单纯的神经保护及针对血管的治疗方法已经不能适应当今系统医学的需求,因此在整体水平靶向性针对神经血管单元有可能为脑卒中的治疗带来新的机遇。

参 考 文 献

- [1] Rolfe DF, Brown GC. Cellular energy utilization and molecular origin of standard metabolic rate in mammals. *Physiol Rev*, 1997, 77:731-758.
- [2] Ehrlich P. Ueber die beziehungen von chemischer constitution, verteilung und pharmakologischer wirkung. Berlin: Gesammelte Arbeiten zur Immunitaetsforschung, 1904: 574.
- [3] Goldmann EE. Vitalfärbung am zentralnervensystem. *Abhandl Konigl Preuss Akad Wiss*, 1913, 1:1-60.
- [4] Brightman MW, Reese TS. Junctions between intimately apposed cell membranes in the vertebrate brain. *J Cell Biol*, 1969, 40:648-677.
- [5] Paemeleire K. The cellular basis of neurovascular metabolic coupling. *Acta Neurol Belg*, 2002, 102:153-157.
- [6] Hatashita S, Hoff JT. Brain edema and cerebrovascular permeability during cerebral ischemia in rats. *Stroke*, 1990, 21: 582-588.
- [7] Petty MA, Wettstein JG. Elements of cerebral microvascular ischemia. *Brain Res Brain Res Rev*, 2001, 36:23-34.
- [8] Lee EJ, Hung YC, Lee MY. Early alterations in cerebral hemodynamics, brain metabolism, and blood-brain barrier permeability in experimental intracerebral hemorrhage. *J Neurosurg*, 1999, 91:1013-1019.
- [9] Cohen Z, Bonvento G, Lacombe P, et al. Serotonin in the regulation of brain microcirculation. *Prog Neurobiol*, 1996, 50: 335-362.
- [10] 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 Neurosci*, 1995, 15:7427-7441.
- [11] Tong XK, Hamel E. Regional cholinergic denervation of cortical microvessels and nitric oxide synthase-containing neurons in Alzheimer's disease. *Neuroscience*, 1999, 92:163-175.
- [12] Ben-Menachem E, Johansson BB, Svensson TH. Increased vulnerability of the blood-brain barrier to acute hypertension

- following depletion of brain noradrenaline. *J Neural Transm*, 1982, 53(2/3):159-167.
- [13] Haralabopoulos GC, Grant DS, Kleinman HK, et al. Thrombin promotes endothelial cell alignment in Matrigel in vitro and angiogenesis in vivo. *Am J Physiol*, 1997, 273(1 Pt 1):239-245.
- [14] Hurwitz AA, Berman JW, Rashbaum WK, et al. Human fetal astrocytes induce the expression of blood-brain barrier specific proteins by autologous endothelial cells. *Brain Res*, 1993, 625: 238-243.
- [15] Mabuchi T, Lucero J, Feng A, et al. Focal cerebral ischemia preferentially affects neurons distant from their neighboring microvessels. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2005, 25:257-266.
- [16] 王永亭, 曾丽莉, 吕海燕, 等. 缺血性卒中病因学与发病机制研究的十年进展. *中国现代神经疾病杂志*, 2010, 10:2-27.
- [17] Milner R, Hung S, Wang X, et al. The rapid decrease in astrocyte-associated dystroglycan expression by focal cerebral ischemia is protease-dependent. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2007, 28:812-823.
- [18] Janzer R, Raff MC. Astrocytes induce blood-brain barrier properties in endothelial cells. *Nature*, 1987, 325:253-257.
- [19] Maxwell K, Berliner JA, Cancilla PA. Induction of gamma-glutamyl transpeptidase in cultured cerebral endothelial cells by a product released by astrocytes. *Brain Res*, 1987, 410:309-314.
- [20] Holash JA, Noden DM, Stewart PA. Re-evaluating the role of astrocytes in blood-brain barrier induction. *Dev Dyn*, 1993, 197: 14-25.
- [21] Krum JM, Kenyon KL, Rosenstein JM. Expression of blood-brain barrier characteristics following neuronal loss and astroglial damage after administration of anti-Thy-1 immunotoxin. *Exp Neurol*, 1997, 146:33-45.
- [22] Braet K, Paemeleire K, D'Herde K, et al. Astrocyte-endothelial cell calcium signals conveyed by two signalling pathways. *Eur J Neurosci*, 2001, 13:79-91.
- [23] Zonta M, Angulo MC, Gobbo S, et al. Neuron-to-astrocyte signaling is central to the dynamic control of brain microcirculation. *Nat Neurosci*, 2002, 6:43-50.
- [24] Haydon PG, Carmignoto G. Astrocyte control of synaptic transmission and neurovascular coupling. *Physiol Rev*, 2006, 86: 1009-1031.
- [25] Roman RJ. P-450 metabolites of arachidonic acid in the control of cardiovascular function. *Physiol Rev*, 2002, 82:131-185.
- [26] Mulligan SJ, MacVicar BA. Calcium transients in astrocyte endfeet cause cerebrovascular constrictions. *Nature*, 2004, 431: 195-199.
- [27] Metaa MR, Newman EA. Glial cells dilate and constrict blood vessels: a mechanism of neurovascular coupling. *J Neurosci*, 2006, 26:2862-2870.
- [28] Ito U, Hakamata Y, Kawakami E, et al. Temporary [corrected] cerebral ischemia results in swollen astrocytic end-feet that compress microvessels and lead to delayed [corrected] focal cortical infarction. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2011, 31:328-338.
- [29] Nimmerjahn A, Mukamel EA, Schnitzer MJ. Motor behavior activates Bergmann glial networks. *Neuron*, 2009, 62:400-412.
- [30] Dombeck DA, Khabbazi AN, Collman F, et al. Imaging large-scale neural activity with cellular resolution in awake, mobile mice. *Neuron*, 2007, 56:43-57.
- [31] Matthias K, Kirchhoff F, Seifert G, et al. Segregated expression of AMPA-type glutamate receptors and glutamate transporters defines distinct astrocyte populations in the mouse hippocampus. *J Neurosci*, 2003, 23:1750-1758.
- [32] Yang M, Wei X, Li J, et al. Changes in host blood factors and brain glia accompanying the functional recovery after systemic administration of bone marrow stem cells in ischemic stroke rats. *Cell Transplantation*, 2010, 19:1073-1084.
- [33] Bandopadhyay R, Orte C, Lawrenson JG, et al. Contractile proteins in pericytes at the blood-brain and blood-retinal barriers. *J Neurocytol*, 2001, 30:35-44.
- [34] Ramsauer M, Krause D, Dermietzel R. Angiogenesis of the blood-brain barrier in vitro and the function of cerebral pericytes. *FASEB J*, 2002, 16:1274-1276.
- [35] Gonul E, Duz B, Kahraman S, et al. Early pericyte response to brain hypoxia in cats: an ultrastructural study. *Microvasc Res*, 2002, 64:116-119.
- [36] Rosenberg GA, Estrada E, Kelley RO, et al. Bacterial collagenase disrupts extracellular matrix and opens blood-brain barrier in rat. *Neurosci Lett*, 1993, 160:117-119.
- [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. *Acta Neuropathol*, 2002, 104: 85-91.
- [38] Hynes RO. Integrins: versatility, modulation, and signaling in cell adhesion. *Cell*, 1992, 69:11-25.
- [39] Tilling T, Engelbertz C, Decker S, et al. Expression and adhesive properties of basement membrane proteins in cerebral capillary endothelial cell cultures. *Cell Tissue Res*, 2002, 310: 19-29.
- [40] 侯秋慧, 张苏明. 脑卒中治疗十年进展. *中国现代神经疾病杂志*, 2010, 10:28-35.
- [41] Lees KR, Zivin JA, Ashwood T, et al. NXY-059 for acute ischemic stroke. *N Engl J Med*, 2006, 354:588-600.
- [42] Kontos CD, Wei EP, Williams JJ, et al. Cytochemical detection of superoxide in cerebral inflammation and ischemia in vivo. *Am J Physiol*, 1992, 263(4 Pt 2):H1234-1242.
- [43] del Zoppo GJ. Inflammation and the neurovascular unit in the setting of focal cerebral ischemia. *Neuroscience*, 2009, 158:972-982.
- [44] Cunningham LA, Wetzel M, Rosenberg GA. Multiple roles for MMPs and TIMPs in cerebral ischemia. *Glia*, 2005, 50:329-339.
- [45] Rosell A, Cuadrado E, Ortega-Aznar A, et al. MMP-9-positive neutrophil infiltration is associated to blood-brain barrier breakdown and basal lamina type IV collagen degradation during hemorrhagic transformation after human ischemic stroke. *Stroke*, 2008, 39:1121-1126.
- [46] Sumii T, Lo EH. Involvement of matrix metalloproteinase in thrombolysis-associated hemorrhagic transformation after embolic focal ischemia in rats. *Stroke*, 2002, 33:831-836.
- [47] Wardlaw J, Murray V, Berge E, et al. Thrombolysis for acute ischemic stroke. *Cochrane Database Syst Rev*, 2009, (4): CD000213.
- [48] Solé S, Petegnief V, Gorina R, et al. Activation of matrix metalloproteinase-3 and agrin cleavage in cerebral ischemia/reperfusion. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2004, 63:338-349.
- [49] Heo JH, Lucero J, Abumiya T, et al. Matrix metalloproteinases increase very early during experimental focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1999, 19:624-633.
- [50] Lo EH, Wang X, Cuzner ML. Extracellular proteolysis in brain injury and inflammation: role for plasminogen activators and matrix metalloproteinases. *J Neurosci Res*, 2002, 69:1-9.
- [51] Rosenberg GA, Dencoff JE, Correa N Jr, et al. Effect of steroids on CSF matrix metalloproteinases in multiple sclerosis: relation to blood-brain barrier injury. *Neurology*, 1996, 46:1626-1632.
- [52] Planas AM, Solé S, Justicia C. Expression and activation of matrix metalloproteinase-2 and -9 in rat brain after transient focal cerebral ischemia. *Neurobiol Dis*, 2001, 8:834-846.
- [53] Gasche Y, Fujimura M, Morita - Fujimura Y, et al. Early

- appearance of activated matrix metalloproteinase -9 after focal cerebral ischemia in mice: a possible role in blood-brain barrier dysfunction. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1999, 19:1020-1028.
- [54] Montaner J, Alvarez - Sabín J, Molina CA, et al. Matrix metalloproteinase expression is related to hemorrhagic transformation after cardioembolic stroke. *Stroke*, 2001, 32:2762-2767.
- [55] Alvarez-Sabín J, Delgado P, Abilleira S, et al. Temporal profile of matrix metalloproteinases and their inhibitors after spontaneous intracerebral hemorrhage: relationship to clinical and radiological outcome. *Stroke*, 2004, 35:1316-1322.
- [56] Vukasovic I, Tesija - Kuna A, Topic E, et al. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in different acute stroke subtypes. *Clin Chem Lab Med*, 2006, 44:428-434.
- [57] Wallace JA, Alexander S, Estrada EY, et al. Tissue inhibitor of metalloproteinase - 3 is associated with neuronal death in reperfusion injury. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2002, 22:1303-1310.
- [58] Ning M, Furie KL, Koroshetz WJ, et al. Association between tPA therapy and raised early matrix metalloproteinase - 9 in acute stroke. *Neurology*, 2006, 66:1550-1555.
- [59] Horstmann S, Kalb P, Koziol J, et al. Profiles of matrix metalloproteinases, their inhibitors, and laminin in stroke patients: influence of different therapies. *Stroke*, 2003, 34:2165-2170.
- [60] Sun Y, Jin K, Xie L, et al. VEGF - induced neuroprotection, neurogenesis, and angiogenesis after focal cerebral ischemia. *J Clin Invest*, 2003, 111:1843-1851.
- [61] Xu B, Wu YQ, Huey M, et al. Vascular endothelial growth factor induces abnormal microvasculature in the endoglin heterozygous mouse brain. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2004, 24: 237-244.
- [62] Carmeliet P. Angiogenesis in health and disease. *Nat Med*, 2003, 9:653-660.
- [63] Jain RK. Molecular regulation of vessel maturation. *Nat Med*, 2003, 9:685-693.
- [64] Yancopoulos GD, Davis S, Gale NW, et al. Vascular - specific growth factors and blood vessel formation. *Nature*, 2000, 407: 242-248.
- [65] 沈帆霞, 陈生弟. 血管内皮细胞生长因子的血管新生、神经新生及神经保护作用. *中国现代神经疾病杂志*, 2006, 6:143-146.
- [66] Castets M, Mehlen P. Netrin-1 role in angiogenesis: to be or not to be a pro-angiogenic factor? *Cell Cycle*, 2010. [Epub ahead of print]
- [67] Baioni L, Basini G, Bussolati S, et al. Netrin-1: just an axon-guidance factor? *Vet Res Commun*, 2010, 34 Suppl 1:1-4.
- [68] Fan Y, Shen F, Chen Y, et al. Overexpression of netrin - 1 induces neovascularization in the adult mouse brain. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2008, 28:1543-1551.
- [69] Nguyen A, Cai H. Netrin - 1 induces angiogenesis via a DCC - dependent ERK1/2 - eNOS feed - forward mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103:6530-6535.
- [70] Roperch JP, El Ouadrani K, Hendrix A, et al. Netrin-1 induces apoptosis in human cervical tumor cells via the TAp73alpha tumor suppressor. *Cancer Res*, 2008, 68:8231-8239.
- [71] Hou SW, Wang YQ, Xu M, et al. Functional integration of newly generated neurons into striatum after cerebral ischemia in the adult rat brain. *Stroke*, 2008, 39:2837-2844.
- [72] Song H, Stevens CF, Gage FH. Astroglia induce neurogenesis from adult neural stem cells. *Nature*, 2002, 417:39-44.
- [73] Eriksson C, Björklund A, Wictorin K. Neuronal differentiation following transplantation of expanded mouse neurosphere cultures derived from different embryonic forebrain regions. *Exp Neurol*, 2003, 184:615-635.
- [74] Pluchino S, Quattrini A, Brambilla E, et al. Injection of adult neurospheres induces recovery in a chronic model of multiple sclerosis. *Nature*, 2003, 422:688-694.
- [75] Wurmser AE, Nakashima K, Summers RG, et al. Cell fusion - independent differentiation of neural stem cells to the endothelial lineage. *Nature*, 2004, 430:350-356.
- [76] Kelly S, Bliss TM, Shah AK, et al. Transplanted human fetal neural stem cells survive, migrate, and differentiate in ischemic rat cerebral cortex. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101:11839-11844.
- [77] Englund U, Björklund A, Wictorin K, et al. Grafted neural stem cells develop into functional pyramidal neurons and integrate into host cortical circuitry. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 17089-17094.
- [78] Pittenger M, Mackay AM, Beck SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*, 1999, 284:143-147.
- [79] Drukker M, Benvenisty N. The immunogenicity of human embryonic stem-derived cells. *Trends Biotechnol*, 2004, 22:136-141.
- [80] Teng H, Zhang ZG, Wang L, et al. Coupling of angiogenesis and neurogenesis in cultured endothelial cells and neural progenitor cells after stroke. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2007, 28:764-771.
- [81] Suárez-Monteaudo C, Hernández-Ramírez P, Alvarez-González L, et al. Autologous bone marrow stem cell neurotransplantation in stroke patients: an open study. *Restor Neurol Neurosci*, 2009, 27:151-161.
- [82] Fan Y, Shen F, Frenzel T, et al. Endothelial progenitor cell transplantation improves long-term stroke outcome in mice. *Ann Neurol*, 2010, 67:488-497.

(收稿日期:2011-02-21)

· 小词典 ·

中英文对照名词词汇(一)

阿替普酶溶栓治疗急性缺血性卒中研究

Alteplase Thrombolysis for Acute Noninterventioal Therapy in Ischemic Stroke(ATLANTIS)

C-Jun 氨基末端激酶 C-Jun N-terminal kinase(JNK)

白血抑制因子 leukemia inhibitory factor(LIF)

半球切除术治疗大脑中动脉梗死伴致死性脑水肿试验

Hemicraniectomy after Middle Cerebral Artery

Infarction with Life-Threatening Edema Trial (HAMLET)

半乳糖脑苷脂 galactocerebroside(GalC)

保护性支架血管成形术与颈动脉内膜切除术试验

Stent-Protected Angioplasty versus Carotid Endarterectomy (SPACE)