

# 斑马鱼模型与脑出血遗传分子机制研究进展

王雪琪 郭睿 陈雨麒 刘翼 游潮 王业启 田蕊

**【摘要】** 脑出血是老年人常见的急性进行性脑血管病,大量基础研究提示,脑出血的病理学机制可能与不同遗传因子对血-脑屏障的调控与干预有关。斑马鱼脑出血模型作为出血性脑血管病研究的经典模型,在相关遗传分子机制研究中起重要作用,本文系统介绍斑马鱼脑出血模型的特点及优势,并基于常用转基因斑马鱼脑出血模型阐述斑马鱼血-脑屏障结构与功能完整性的遗传分子学研究现状、相关基因表达与脑出血致病机制研究进展,以加深对脑出血发病机制的理解,并协助制定相应防治策略。

**【关键词】** 脑出血; 血脑屏障; 斑马鱼; 遗传学; 基因; 综述

## Zebrafish model and intracranial hemorrhage: a review from genetic to molecular mechanism perspectives

WANG Xue-qi<sup>1</sup>, GUO Rui<sup>2</sup>, CHEN Yu-qi<sup>2</sup>, LIU Yi<sup>2</sup>, YOU Chao<sup>2</sup>, WANG Ye-qi<sup>3</sup>, TIAN Rui<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Grade 2018 of Bioengineering College, <sup>2</sup>Bioengineering College, Chongqing University, Chongqing 400030, China

<sup>3</sup>Department of Neurosurgery, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan, China

WANG Xue-qi and GUO Rui contributed equally to the article

Corresponding authors: TIAN Rui (Email: tianrui17419@wchscu.cn);

WANG Ye-qi (Email: yeqi.wang@cqu.edu.cn)

**【Abstract】** Intracranial hemorrhage (ICH) is the most common acute progressive cerebrovascular disease in aging population. Although the pathogenesis of ICH remains unclear, a great many mechanism researches have shown that the blood-brain barrier (BBB) regulated by different genetic factors may play an important role. As classic animal model for hemorrhagic cerebrovascular disease, the ICH zebrafish model plays a key role in the studies for mechanisms of genetic factors. In this article, we comprehensively reviews the characteristics and advantages of ICH zebrafish model, and also makes an updated introductions on genetic and molecular aspects of BBB structures and functions based on common transgenic ICH zebrafish model. Therefore, we explain the relationship between ICH and related gene expression, in order to deepen current understanding on ICH pathogenesis and help to make relevant strategy for prevention and treatment.

**【Key words】** Cerebral hemorrhage; Blood-brain barrier; Zebrafish; Genetics; Genes; Review

This study was supported by National Key Research and Development "Stem Cells and Translational Research" Program of China (No. 2018YFA0108603), the National Natural Science Foundation of China (No. 31771599), 1·3·5 Project for Disciplines of Excellence-Clinical Research Incubation Project, West China Hospital, Sichuan University (No. 2021HXFH014), and Clinical Research Innovation Project, West China Hospital, Sichuan University (No. 2019HXCX07).

**Conflicts of interest:** none declared

doi:10.3969/j.issn.1672-6731.2021.02.005

基金项目:国家重点研发计划“干细胞及转化研究”项目(项目编号:2018YFA0108603);国家自然科学基金资助项目(项目编号:31771599);四川大学华西医院学科卓越发展1·3·5工程临床研究孵化项目(项目编号:2021HXFH014);华西医院院-企合作临床研究创新项目(项目编号:2019HXCX07)

作者单位:400030 重庆大学生物工程学院2018级(王雪琪),生物工程学院(王业启);610041 成都,四川大学华西医院神经外科(郭睿,陈雨麒,刘翼,游潮,田蕊)

王雪琪与郭睿对本文有同等贡献

通讯作者:田蕊,Email:tianrui17419@wchscu.cn;王业启,Email:yeqi.wang@cqu.edu.cn

脑出血是老年人群最为常见的急性进行性脑血管病,具有高发病率、高病死率、高病残率的临床特点,同时具有明显的遗传倾向<sup>[1]</sup>。目前对于脑出血的发病机制尚不十分清楚,一般认为与高血压、脑血管畸形、颅内动脉瘤、脑血管淀粉样变、颅脑创伤或抗血栓药物等危险因素有关<sup>[2-5]</sup>。有研究显示,影响脑血管和血-脑屏障(BBB)发育的相关基因突变如 *NOTCH3* 基因突变,可能与脑血管畸形、颅内动脉瘤和脑血管淀粉样变相关性脑出血密切相关<sup>[6]</sup>。血-脑屏障构成单元之间共同作用以维持脑组织氧气、营养物质输送与能量代谢平衡,并保护大脑免受毒素与病原体侵害,其构成单元发生病变即可造成脑血管结构或功能障碍。目前针对血-脑屏障的动物实验大多采用大鼠、小鼠、猴或斑马鱼等作为疾病模型<sup>[7]</sup>,其中斑马鱼因具备血管结构易观察、基因和药物靶点相对保守,并可进行高通量表型筛选等优势,有利于对脑出血相关遗传因素进行全面剖析而成为较为理想的脑血管病遗传分子学研究模型生物。本文重点对基于斑马鱼脑出血模型血-脑屏障调控的遗传分子学研究与脑出血致病机制的相关研究进展进行阐述,以加深对其发病机制的理解,并协助制定相应防治策略。

### 一、血-脑屏障的形成、构成单元及其功能

1. 血-脑屏障的形成 在大部分哺乳动物胚胎期,当神经周围血管与神经开始相互交联时,功能性血-脑屏障即已逐渐形成。Ben-Zvi 等<sup>[8]</sup>采用荧光染料标记的方法对小鼠不同胚胎时期血-脑屏障渗漏情况进行鉴定,Dextran 等荧光染料经胚胎小鼠肝脏回流至血管,并最终进入血-脑屏障;经观察发现,Dextran 渗漏自胚胎 13.5 天逐渐减少,至 15.5 天已无渗漏,标志着功能完整的血-脑屏障业已形成,而且此过程是在胚胎发育期逐渐形成的。动物实验显示,斑马鱼胚胎受精后 20 小时即可在其后脑腹侧观察到荧光染料标志物,此为与血-脑屏障形成密切相关的神经周围血管-原始后脑通道(PHBC)部位<sup>[9]</sup>,提示功能性血-脑屏障在斑马鱼胚胎第 4 天即已基本形成<sup>[10]</sup>。上述研究结果表明,功能性血-脑屏障形成于斑马鱼胚胎发育过程中,与小鼠模型相比,采用该模型研究血-脑屏障相关疾病所需周期更短。然而,新近研究发现,斑马鱼功能性血-脑屏障的形成呈现前后轴特性,经窖蛋白(Cav-1)标记的囊泡数目从前脑向后脑逐渐减少,直至胚胎第 6 天才形成功能完整的血-脑屏障<sup>[11]</sup>。

2. 血-脑屏障构成单元与功能 血-脑屏障系分隔中枢神经系统和外周血液循环系统的多细胞血管结构,包括内层特化的内皮细胞(EC)、中间层的周细胞(pericyte)、外层的星形胶质细胞(astrocyte)和基膜(BM)<sup>[12]</sup>。血-脑屏障构成单元在维持其功能方面发挥关键作用,若内皮细胞、周细胞和星形胶质细胞发生结构或功能变异,则可导致其完整性和通透性改变<sup>[13]</sup>,进而影响脑内物质与能量代谢平衡,在危险因素的作用下极易诱发脑出血。内皮细胞对维持血-脑屏障的完整性至关重要。血-脑屏障内皮细胞具有特化的紧密连接,分别由咬合蛋白(Occludin)、闭合蛋白(Claudins)、紧密连接黏附分子(JAMs)和三细胞紧密连接蛋白(Tricellulins)所组成,上述蛋白富集于血-脑屏障内皮细胞,维持血-脑屏障完整性。既往研究表明,尽管 *Ocln* 基因敲除小鼠紧密连接发育正常,但 *Ocln* 基因缺失可影响紧密连接蛋白 ZO-1 的定位<sup>[12]</sup>。斑马鱼 *Cldn5* 有两个同源基因——*Cldn5a* 和 *Cldn5b*,*Cldn5b* 基因于受精后 48 小时特异性表达于脑血管内皮细胞,而 *Cldn5a* 基因广泛表达于脉络丛室管膜细胞<sup>[9]</sup>。针对 *Cldn5* 基因敲除斑马鱼的最新研究发现,*Cldn5* 基因还具有自噬激活功能,可通过调节自噬而保护血-脑屏障的完整性,为血-脑屏障功能紊乱导致的脑血管病提供潜在的治疗策略<sup>[14]</sup>。周细胞是包覆神经鞘侧毛细血管上的一类壁细胞,位于内皮细胞、星形胶质细胞与神经细胞之间,在血-脑屏障信号转导过程中发挥重要作用。内皮细胞表达血小板源性生长因子- $\beta$ (PDGF- $\beta$ ),招募表达 *Pdgfrb* 基因编码的血小板源性生长因子受体- $\beta$ (PDGFR- $\beta$ )的周细胞,从而促进周细胞包覆在内皮细胞外侧,从而调控血-脑屏障的完整性<sup>[15]</sup>。Ando 等<sup>[16]</sup>通过转基因鱼的方法对斑马鱼胚胎 *Pdgfrb* 基因进行标记,观察到斑马鱼胚胎于受精 60 小时即出现周细胞与脑血管的交联。与哺乳动物类似,敲除该基因可以造成周细胞损伤,此时血-脑屏障则难以发挥其“屏障”作用<sup>[17]</sup>。另外,由 *Foxf2* 基因编码的转录因子 Foxf2 同样表达于中枢神经系统和周细胞,可刺激 *Pdgfrb* 基因表达、激活转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )信号转导通路,*Foxf2* 基因表达缺乏时,TGF- $\beta$  信号转导通路受阻,进而影响血-脑屏障结构与功能的完整性,使通透性增加,血-脑屏障渗漏<sup>[12]</sup>。斑马鱼 *fox2a*、*fox2b*、*pdgfrb* 和 *notch3* 基因具有相似的表达谱,*fox2b* 突变可导致周细胞数目减少,以及周细胞和平滑肌的分子标记基因 *acta2* 表

达下调<sup>[18]</sup>。星形胶质细胞覆盖于毛细血管之上,构成神经血管单元的最外层,对维持血-脑屏障结构完整、发挥正常功能至关重要。其上的终足(end-feet)能够辅助星形胶质细胞接触脑血管外的细胞外基质(ECM),星形胶质细胞产生的音猬因子(shh),可上调内皮细胞紧密连接蛋白 Occludin 和 Claudins 的表达,从而维持血-脑屏障完整性和神经系统的免疫平衡<sup>[19]</sup>。Lamc1 基因编码的层粘连蛋白能够诱导内皮细胞紧密连接相关蛋白表达,并促进星形胶质细胞水通道蛋白 4(AQP4)表达,星形胶质细胞层粘连蛋白缺失致 AQP4 表达下降,内皮细胞紧密连接相关蛋白表达水平降低,血-脑屏障完整性受损<sup>[20]</sup>。然而,根据 Gleiser 等<sup>[21]</sup>2016 年公布的研究结果,并未在免疫标记斑马鱼 AQP4 后观察到“极化”现象,提示与其他哺乳动物不同,斑马鱼模型星形胶质细胞不表达 AQP4,斑马鱼星形胶质细胞如何与神经血管单元进行信息交流和信号转导尚不明确,有待进一步研究证实。基膜是一类维持血-脑屏障神经血管单元结构完整的细胞外基质,主要由 IV 型胶原、纤维连接蛋白、层粘连蛋白和其他糖蛋白所组成,是细胞间进行信号转导的重要枢纽,能够触发细胞迁移、增殖和存活信号级联反应。研究显示,整合蛋白(Integrin)可介导细胞外基质驱动的调控 WNT 信号和 TGF- $\beta$  信号,敲除星形胶质细胞和细胞外基质中的 *Itgav* 基因可诱发小鼠模型的脑出血表型,提示 *Itgav* 基因对维持血-脑屏障功能发挥重要作用<sup>[22]</sup>。Hübner 等<sup>[23]</sup>对 WNT 信号缺失斑马鱼胚胎进行研究,发现 WNT 信号缺失斑马鱼胚胎可于发育后期发生脑出血,表明 WNT 信号对血-脑屏障的发育至关重要。

由此可见,中枢神经系统内皮细胞和神经血管单元共同维持血-脑屏障结构完整性并维持其正常生理功能,不同组织结构之间相互影响、相互作用。血-脑屏障以及相关神经血管单元受多种遗传因子的调节,其中任何基因的异常表达都会影响血管的屏障作用,在危险因素的作用下诱发脑出血。通过明确导致脑出血的突变基因,有望筛选出与脑出血预后相关的药物靶点,并对遗传学高危人群进行一级预防,延缓发病时间,降低死亡率。

## 二、斑马鱼脑出血模型

1. 模型构建及其行为学分析 目前主要采用基因编辑法和化学法构建斑马鱼脑出血模型。(1)基因编辑法:通过对与血-脑屏障结构和功能完整性相

关基因的改造,构建脑出血模型<sup>[17]</sup>。(2)化学法:对斑马鱼胚胎进行水浴孵育并使其吸收他汀类药物,诱发斑马鱼幼体脑出血或增加其发生脑出血的概率,如胆固醇代谢通路抑制剂 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶(HMGCR)<sup>[24]</sup>。对脑损伤斑马鱼的运动行为分析发现,其异常游动模式与脑损伤程度呈强相关,以旋转(rotating)或绕动(circling)为主<sup>[25]</sup>。运动行为记录显示,脑损伤斑马鱼幼体 10 分钟累计运动距离明显短于正常斑马鱼幼体,且脑损伤程度与运动距离呈负相关,通过记录斑马鱼运动距离、速度和游动模式等行为,可初步判断其幼体脑损伤情况<sup>[26-27]</sup>,随着激光共聚焦实时成像技术用于成年斑马鱼模型脑出血后神经行为学的研究,期待构建新型模型,加强行为学观察分析。

2. 模型优势 与其他哺乳动物脑出血模型相比,斑马鱼脑出血模型具有以下优势:(1)观察周期短。斑马鱼胚胎形成后第 1 天脑血管即开始同步形成,第 2 天通过传统光学显微镜可直接观察到斑马鱼脑出血情况<sup>[25]</sup>。(2)斑马鱼转基因技术结合激光共聚焦显微镜在脑血管发育、血-脑屏障形成,以及脑出血研究方面具有独特的优势。首先,胚胎阶段斑马鱼身体透明,可通过 Tg(flkl1:EGFP;gata1:dsred)双转基因斑马鱼实时观察脑血管中红色荧光标记的红细胞渗漏至血管外的整个过程<sup>[25]</sup>。其次,在细胞水平上,可通过激光共聚焦显微镜结合 Tg(flkl1:EGFP)、Tg(fli1a:EGFP)、Tg(fli1a:dsRed)、Tg(kdrl:mcherry)<sup>[28]</sup>等各种转基因斑马鱼模型观察脑血管的发育过程;依据周细胞分子标志物 PDGFR- $\beta$  构建 Tg(Pdgfrb:Gal4:UAS:GFP)双转基因斑马鱼模型,观察其脑血管周细胞发育过程<sup>[16]</sup>。再次,可通过分子水平的 Tg( Glut1b: mCherry) 和 Tg(Plvap: eGFP)等转基因斑马鱼模型评价血-脑屏障的形成和成熟过程<sup>[29]</sup>。在维持血-脑屏障功能完整性方面,可以利用 Tg(flkl1:EGFP)、Tg(fli1a:EGFP)<sup>[28]</sup>等转基因斑马鱼模型实时评价血-脑屏障中 Dextran 等荧光染料渗漏程度,判断血-脑屏障完整性。注射 DAPI 等染料到 Tg(flkl1:EGFP)等转基因斑马鱼模型可用于血-脑屏障完整性的定量研究<sup>[30]</sup>,随着更多分子标志物的发现,可以对斑马鱼血-脑屏障完整性进行定性和定量评价。(3)利用斑马鱼脑出血模型快速筛选脑出血相关化合物、抑制剂和易感基因。Yu 和 Li 等<sup>[25]</sup>通过 42 °C 水浴斑马鱼胚胎 30 分钟模拟高血压引起的血管扩张,以筛选脑出血易感基

因。(4)斑马鱼脑出血模型血-脑屏障具有保守性,其与人类血-脑屏障结构和功能相关遗传因子之间具有高度保守性,斑马鱼血-脑屏障在结构与分子组成上同小鼠、人类血-脑屏障基本相似,且斑马鱼内皮细胞亦可表达 *claudin5b*、*zo-1*、*glut1b* 和 *plvap* 等血-脑屏障相关基因<sup>[10]</sup>,可为脑出血机制研究提供便利。新近研究显示,*cldn5a* 基因是斑马鱼的同源基因,在血-脑屏障和脊膜丛(CP)屏障中高保真表达,表明人类和斑马鱼血-脑屏障、脊膜丛屏障之间存在一定的保守性<sup>[9]</sup>,且 *cldn5a* 基因亦参与维持人类血-脑屏障的完整性。血管内皮钙黏着蛋白(VE-cad)对维持血-脑屏障完整性亦十分重要,可抑制斑马鱼体内编码 VE-cad 蛋白 *cdh5* 同源基因表达,诱发斑马鱼胚胎脑出血事件,提示斑马鱼脑血管发生渗漏<sup>[31]</sup>。MFSD2A 是人和小鼠血-脑屏障中不可或缺的结构,与野生型斑马鱼相比,通过基因编辑技术敲除斑马鱼 *mfsd2a* 基因后,于突变体斑马鱼体内注射 Dextran 染料 40 分钟后即可见其血-脑屏障出现明显的荧光扩散现象<sup>[11]</sup>,提示其血-脑屏障受损。然而,斑马鱼与其他哺乳动物在血-脑屏障形态上存在一定差异,构成斑马鱼血-脑屏障的星形胶质细胞虽然发挥重要功能,但并非与哺乳动物一样可形成明显的“终足”样的结构覆盖整个脑血管表面。

### 三、斑马鱼模型与人类脑出血疾病研究进展

随着全基因组关联分析(GWAS)、候选基因法、第二代测序技术(NGS)等新技术的发展,目前已经明确部分与人类脑出血疾病的相关基因。通过基因组测序对脑出血患者候选基因进行筛选,现已鉴定出 *THSD1*、*FOXCI*、*CECR1* 等多个脑出血相关基因<sup>[4,6,32]</sup>。近期开展的全外显子组测序(WES)研究显示,颅内动脉瘤破裂导致的蛛网膜下腔出血患者存在 *THSD1* 基因突变<sup>[33-34]</sup>,这一结论经由斑马鱼脑出血模型及脑出血模型小鼠实验验证,证实了 *THSD1* 基因通过调控内皮细胞焦点粘连的机制维持血-脑屏障功能完整性<sup>[34]</sup>,提示 *THSD1* 基因功能缺失性突变可导致脑出血。通过对非免疫性胎儿水肿(NIHf)研究发现,非免疫性胎儿水肿可导致 *THSD1* 基因功能失活,进一步随访发现,大部分非免疫性胎儿水肿胎儿存在颅内血管瘤,以及血管瘤破裂所致脑出血,再一次证明 *THSD1* 基因缺失与脑出血相关疾病的发病机制密切相关<sup>[35]</sup>。靶向全基因组关联分析和全基因组测序(WGS)结果显示,脑小血管病(CSVD)患者的 *FOXCI* 基因组序列存在错

义突变、片段重复和缺失,并经斑马鱼脑出血模型所验证,注射吗啉基(morpholino)沉默 *FOXCI* 基因可诱导斑马鱼脑出血<sup>[18]</sup>。其机制可能与抑制 *FOXCI* 基因使 PDGF 信号转导功能障碍有关,继而损害神经嵴迁移和壁细胞的招募,导致血-脑屏障完整性破坏诱发脑出血。*CECR1* 基因编码腺苷脱氨酶 2(ADA2),其功能缺失性突变与一系列血管病和炎症表型相关,其中包括早发、复发性脑卒中和系统性血管病变或血管炎<sup>[36]</sup>。研究显示,出血性卒中患者血清 ADA2 及 ADA2 特异性酶活性明显降低,而皮肤、肝脏和大脑活检结果提示以内皮完整性受损、内皮细胞活化和炎症为特征的血管病变,表明 ADA2 含量和活性与内皮细胞结构完整性和血管病变密切相关。敲除 ADA2 同源物的斑马鱼可出现脑出血和中性粒细胞减少,而注射未发生突变的人 *CECR1* mRNA 则可预防斑马鱼脑出血和血管炎症。

脑出血的常见病因还包括脑海绵状血管瘤(CCM),迄今为止已发现 *CCM1*(*KRIT1*)、*CCM2*(*MGC4607*)和 *CCM3*(*PDCD10*)3 个基因突变与脑海绵状血管瘤相关,3 个蛋白均可通过脑海绵状血管畸形蛋白 2(CCM2)形成复合体,并调节血管新生、血-脑屏障完整性,以及氧化损伤保护等一系列血管生物学进程<sup>[37]</sup>。斑马鱼的 *CCM* 同源基因包括 *ccm1*、*ccm2*、*ccm3a*、*ccm3b*,基于斑马鱼、小鼠和人类 *CCM1/2/3* 基因功能缺失具有共同的心血管表型,如血管异常增粗或扩张、血-脑屏障内皮细胞形成与融合明显受损、心脏异常肿大、心内膜垫在房室管形成失败等缺陷<sup>[38]</sup>,Otten 等<sup>[39]</sup>以斑马鱼 *ccm2* 突变体的心脏肿大表型为模型进行小分子药物筛选研究,意外发现小分子药物 IRM-3 能够明显缓解小鼠 *CCM2/3* 出血模型因 *CCM2/3* 突变导致的脑出血。

### 四、小结与展望

综上所述,随着脑出血发病低龄化趋势和死亡率不断攀升,基于遗传分子学角度的脑出血致病机制研究显得愈发重要。斑马鱼脑出血模型便于观察脑血管结构,基因和药物靶点相对保守,能够进行高通量表型筛选,为脑出血遗传分子机制的研究提供了便利条件。尽管斑马鱼脑出血模型在脑出血基础研究中已占据一席之地,但如何利用全基因组关联分析、候选基因法、第二代测序技术建立新的转基因斑马鱼脑出血模型,用于探索遗传因素在脑出血发病过程中的作用,确定脑出血防治药物靶点,并进行药物初步筛选和进一步评鉴,从而尽早

为患者提出有效的疾病预防策略和治疗手段,将成为该领域的热门研究问题,仍尚待进一步探索。

利益冲突 无

### 参 考 文 献

- [1] Malik R, Dichgans M. Challenges and opportunities in stroke genetics[J]. *Cardiovasc Res*, 2018, 114:1226-1240.
- [2] Goldberg J, Raabe A, Bervini D. Natural history of brain arteriovenous malformations: systematic review[J]. *J Neurosurg Sci*, 2018, 62:437-443.
- [3] Samuel N, Radovanovic I. Genetic basis of intracranial aneurysm formation and rupture: clinical implications in the postgenomic era[J]. *Neurosurg Focus*, 2019, 47:E10.
- [4] Yamada C, Hagiwara S, Ohbuchi H, Kasuya H. Risk of intracranial hemorrhage and short-term outcome in patients with minor head injury[J]. *World Neurosurg*, 2020, 141:e851-857.
- [5] Macdonald RL. management of intracranial hemorrhage in the anticoagulated patient[J]. *Neurosurg Clin N Am*, 2018, 29:605-613.
- [6] Karschnia P, Nishimura S, Louvi A. Cerebrovascular disorders associated with genetic lesions[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2019, 76: 283-300.
- [7] Bai Q, Sheng Z, Liu Y, Zhang R, Yong VW, Xue M. Intracerebral haemorrhage: from clinical settings to animal models[J]. *Stroke Vasc Neurol*, 2020, 5:388-395.
- [8] Ben-Zvi A, Lacoste B, Kur E, Andreone BJ, Mayshar Y, Yan H, Gu C. Mfsd2a is critical for the formation and function of the blood-brain barrier[J]. *Nature*, 2014, 509:507-511.
- [9] van Leeuwen LM, Evans RJ, Jim KK, Verboom T, Fang X, Bojarczuk A, Malicki J, Johnston SA, van der Sar AM. A transgenic zebrafish model for the in vivo study of the blood and choroid plexus brain barriers using claudin 5[J]. *Biol Open*, 2018, 7:bio030494.
- [10] Quiñonez-Silvero C, Hübner K, Herzog W. Development of the brain vasculature and the blood-brain barrier in zebrafish[J]. *Dev Biol*, 2020, 457:181-190.
- [11] O’Brown NM, Megason SG, Gu C. Suppression of transcytosis regulates zebrafish blood-brain barrier function[J]. *Elife*, 2019, 8:e47326.
- [12] Langen UH, Aylloo S, Gu C. Development and cell biology of the blood-brain barrier[J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2019, 35: 591-613.
- [13] Segarra M, Aburto MR, Acker-Palmer A. Blood-brain barrier dynamics to maintain brain homeostasis[J]. *Trends Neurosci*, 2021.[Epub ahead of print]
- [14] Yang Z, Lin P, Chen B, Zhang X, Xiao W, Wu S, Huang C, Feng D, Zhang W, Zhang J. Autophagy alleviates hypoxia-induced blood-brain barrier injury via regulation of CLDN5 (claudin 5)[J]. *Autophagy*, 2020.[Epub ahead of print]
- [15] Zhao Z, Nelson AR, Betsholtz C, Zlokovic BV. Establishment and dysfunction of the blood-brain barrier[J]. *Cell*, 2015, 163: 1064-1078.
- [16] Ando K, Wang W, Peng D, Chiba A, Lagendijk AK, Barske L, Crump JG, Stainier DYR, Lendahl U, Koltowska K, Hogan BM, Fukuhara S, Mochizuki N, Betsholtz C. Peri-arterial specification of vascular mural cells from naive mesenchyme requires Notch signaling[J]. *Development*, 2019, 146: dev165589.
- [17] Matsuoka RL, Stainier DYR. Recent insights into vascular development from studies in zebrafish[J]. *Curr Opin Hematol*, 2018, 25:204-211.
- [18] Bahrami N, Childs SJ. Pericyte biology in zebrafish[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2018, 1109:33-51.
- [19] Alvarez JI, Dodelet-Devillers A, Kebir H, Ifergan I, Fabre PJ, Terouz S, Sabbagh M, Wosik K, Bourbonnière L, Bernard M, van Horsen J, de Vries HE, Charron F, Prat A. The Hedgehog pathway promotes blood-brain barrier integrity and CNS immune quiescence[J]. *Science*, 2011, 334:1727-1731.
- [20] Mader S, Brimberg L. Aquaporin-4 water channel in the brain and its implication for health and disease[J]. *Cells*, 2019, 8:90.
- [21] Gleiser C, Wagner A, Fallier-Becker P, Wolburg H, Hirt B, Mack AF. Aquaporin-4 in astroglial cells in the CNS and supporting cells of sensory organs—a comparative perspective[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17:1411.
- [22] Segarra M, Aburto MR, Cop F, Llaó-Cid C, Härtl R, Damm M, Bethani I, Parrilla M, Husainie D, Schänzer A, Schlierbach H, Acker T, Mohr L, Torres-Masjoan L, Ritter M, Acker-Palmer A. Endothelial Dab1 signaling orchestrates neuro-glia-vessel communication in the central nervous system[J]. *Science*, 2018, 361:eaao2861.
- [23] Hübner K, Cabochette P, Diéguez-Hurtado R, Wiesner C, Wakayama Y, Grassme KS, Hubert M, Guenther S, Belting HG, Affolter M, Adams RH, Vanhollebeke B, Herzog W. Wnt/ $\beta$ -catenin signaling regulates VE-cadherin-mediated anastomosis of brain capillaries by counteracting S1pr1 signaling[J]. *Nat Commun*, 2018, 9:4860.
- [24] Adler D, Linden JR, Shetty SV, Ma Y, Bokori-Brown M, Titball RW, Vartanian T. Clostridium perfringens Epsilon Toxin Compromises the Blood-Brain Barrier in a Humanized Zebrafish Model[J]. *iScience*, 2019, 15:39-54.
- [25] Yu X, Li YV. Zebrafish (Danio rerio) developed as an alternative animal model for focal ischemic stroke[J]. *Acta Neurochir Suppl*, 2016, 121:115-119.
- [26] Crilly S, Njegic A, Laurie SE, Fotiou E, Hudson G, Barrington J, Webb K, Young HL, Badrock AP, Hurlstone A, Rivers-Auty J, Parry-Jones AR, Allan SM, Kasher PR. Using zebrafish larval models to study brain injury, locomotor and neuroinflammatory outcomes following intracerebral haemorrhage[J]. *F1000Res*, 2018, 7:1617.
- [27] Crilly S, Njegic A, Parry-Jones AR, Allan SM, Kasher PR. Using zebrafish larvae to study the pathological consequences of hemorrhagic stroke[J]. *J Vis Exp*, 2019, 148.
- [28] Bahrami N, Childs SJ. Development of vascular regulation in the zebrafish embryo[J]. *Development*, 2020, 147:dev183061.
- [29] Umans RA, Henson HE, Mu F, Parupalli C, Ju B, Peters JL, Lanham KA, Plavicki JS, Taylor MR. CNS angiogenesis and barrierogenesis occur simultaneously[J]. *Dev Biol*, 2017, 425:101-108.
- [30] Zhang T, Xu Z, Wen L, Lei D, Li S, Wang J, Huang J, Wang N, Durkan C, Liao X, Wang G. Cadmium-induced dysfunction of the blood-brain barrier depends on ROS-mediated inhibition of PTPase activity in zebrafish[J]. *J Hazard Mater*, 2021, 412: 125198.
- [31] Eisa-Beygi S, Macdonald RL, Wen XY. Regulatory pathways affecting vascular stabilization via VE-cadherin dynamics: insights from zebrafish (Danio rerio)[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2014, 34:1430-1433.
- [32] Chauhan G, Dabette S. Genetic risk factors for ischemic and hemorrhagic stroke[J]. *Curr Cardiol Rep*, 2016, 18:124.
- [33] Abdelrahman HA, Al-Shamsi A, John A, Hertecant J, Lootah A, Ali BR, Al-Gazali L. A recessive truncating variant in thrombospondin-1 domain containing protein 1 gene THSD1 is the underlying cause of nonimmune hydrops fetalis, congenital

- cardiac defects, and haemangiomas in four patients from a consanguineous family[J]. *Am J Med Genet A*, 2018, 176:1996-2003.
- [34] Santiago-Sim T, Fang X, Hennessy ML, Nalbach SV, DePalma SR, Lee MS, Greenway SC, McDonough B, Hergenroeder GW, Patek KJ, Colosimo SM, Qualmann KJ, Hagan JP, Milewicz DM, MacRae CA, Dymecki SM, Seidman CE, Seidman JG, Kim DH. THSD1 (Thrombospondin Type 1 Domain Containing Protein 1) mutation in the pathogenesis of intracranial aneurysm and subarachnoid hemorrhage[J]. *Stroke*, 2016, 47:3005-3013.
- [35] Sauvigny T, Alawi M, Krause L, Renner S, Spohn M, Busch A, Kolbe V, Altmüller J, Löscher BS, Franke A, Brockmann C, Lieb W, Westphal M, Schmidt NO, Regelsberger J, Rosenberger G. Exome sequencing in 38 patients with intracranial aneurysms and subarachnoid hemorrhage [J]. *J Neurol*, 2020, 267:2533-2545.
- [36] Zhou Q, Yang D, Ombrello AK, Zavialov AV, Toro C, Zavialov AV, Stone DL, Chae JJ, Rosenzweig SD, Bishop K, Barron KS, Kuehn HS, Hoffmann P, Negro A, Tsai WL, Cowen EW, Pei W, Milner JD, Silvin C, Heller T, Chin DT, Patronas NJ, Barber JS, Lee CC, Wood GM, Ling A, Kelly SJ, Kleiner DE, Mullikin JC, Ganson NJ, Kong HH, Hambleton S, Candotti F, Quezado MM, Calvo KR, Alao H, Barham BK, Jones A, Meschia JF, Worrall BB, Kasner SE, Rich SS, Goldbach - Mansky R, Abinun M, Chalom E, Gotte AC, Punaro M, Pascual V, Verbsky JW, Torgerson TR, Singer NG, Gershon TR, Ozen S, Karadag O, Fleisher TA, Remmers EF, Burgess SM, Moir SL, Gadina M, Sood R, Hershfield MS, Boehm M, Kastner DL, Aksentijevich I. Early-onset stroke and vasculopathy associated with mutations in ADA2[J]. *N Engl J Med*, 2014, 370:911-920.
- [37] Wei S, Li Y, Polster SP, Weber CR, Awad IA, Shen L. Cerebral cavernous malformation proteins in barrier maintenance and regulation[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21:675.
- [38] Rödel CJ, Otten C, Donat S, Lourenço M, Fischer D, Kuroepka B, Paolini A, Freund C, Abdelilah - Seyfried S. Blood flow suppresses vascular anomalies in a zebrafish model of cerebral cavernous malformations[J]. *Circ Res*, 2019, 125:e43-e54.
- [39] Otten C, Knox J, Boulday G, Eymery M, Haniszewski M, Neuenschwander M, Radetzki S, Vogt I, Hähn K, De Luca C, Cardoso C, Hamad S, Igual Gil C, Roy P, Albiges - Rizo C, Faurobert E, von Kries JP, Campillos M, Tourmier-Lasserre E, Derry WB, Abdelilah - Seyfried S. Systematic pharmacological screens uncover novel pathways involved in cerebral cavernous malformations[J]. *EMBO Mol Med*, 2018, 10:e9155.

(收稿日期:2021-02-23)

(本文编辑:袁云)

## · 小词典 ·

## 中英文对照名词词汇(三)

细胞外信号调节激酶 1/2

extracellular signal-regulated kinase 1/2(ERK1/2)

腺苷脱氨酶 adenosine deaminase(ADA)

信号转导及转录激活因子 3

signal transduction and activator of transcription 3(STAT3)

1 型神经纤维瘤病 neurofibroma 1(NF1)

血管紧张素转换酶 angiotensin converting enzyme(ACE)

血管细胞黏附分子-1

vascular cell adhesion molecule-1(VCAM-1)

血红素加氧酶-1 heme oxygenase-1(HO-1)

血-脑脊液屏障 blood-cerebrospinal fluid barrier(BCSFB)

血-脑屏障 blood-brain barrier(BBB)

血小板源性生长因子-β

platelet-derived growth factor-β(PDGF-β)

血小板源性生长因子受体-β

platelet-derived growth factor receptor-β(PDGFR-β)

血压变异性 blood pressure variability(BPV)

Toll 样受体 4 Toll-like receptor 4(TLR4)

一氧化氮合酶 nitric oxide synthase(NOS)

乙酰辅酶 A acetoacetyl coenzyme A(Acetyl-CoA)

音猬因子 sonic hedgehog(shh)

荧光原位杂交 fluorescence in situ hybridization(FISH)

诱导型一氧化氮合酶 inducible nitric oxide synthase(iNOS)

原发性脑干出血 primary brainstem hemorrhage(PBSH)

原始后脑通道 primordial hindbrain channels(PHBC)

原位杂交 in situ hybridization(ISH)

运动诱发电位 motor-evoked potential(MEP)

支架蛋白-1 disabled-1(Dab-1)

肿瘤坏死因子-α tumor necrosis factor-α(TNF-α)

肿瘤抑制素 2 suppressor of tumorigenicity 2(ST2)

蛛网膜下腔出血 subarachnoid hemorrhage(SAH)

转化生长因子 transforming growth factor(TGF)

转化生长因子-β transforming growth factor-β(TGF-β)

自发性脑出血 spontaneous intracerebral hemorrhage(SICH)

Ehlers-Danlos 综合征 Ehlers-Danlos syndrome(EDS)

Loeys-Dietz 综合征 Loeys-Dietz syndrome(LDS)

Marfan 综合征 Marfan syndrome(MS)