

化浊解毒活血通络方对脑缺血再灌注损伤大鼠 ZO-1 和 occludin 表达的影响

李希 万溪 高晶晶 赵层闪 刘学飞 杨丽静 徐丽娟 田军彪

【摘要】 目的 观察化浊解毒活血通络方对脑缺血再灌注损伤模型大鼠紧密连接蛋白 ZO-1 和 occludin 表达的影响,探讨其神经保护机制。**方法** 以改进后的 Zea-Longa 线栓法制备局灶性脑缺血再灌注损伤模型,以 Longa 评分法进行神经功能缺损评分,光镜下观察脑组织形态改变,免疫组化法观察 ZO-1 和 occludin 的分布及表达,RT-PCR 法评测其在各组大鼠缺血侧脑组织中表达量。**结果** 免疫组化结果显示,与假手术组相比,模型组 ZO-1 表达水平明显降低($P<0.05$);与模型组相比,各用药组 ZO-1 的表达水平均有升高($P<0.05$),其中以尼莫地平组和中药高剂量组最为明显。与假手术中相比,模型组 occludin 表达明显减弱($P<0.05$),与模型组相比,各用药组 occludin 表达均有增加($P<0.05$);中药低剂量组、中剂量组、高剂量组表达依次增加($P<0.05$),高剂量组与尼莫地平组差别不明显($P>0.05$)。RT-PCR 法显示:与假手术组相比,模型组 ZO-1 及 occludin 表达水平明显降低($P<0.05$);与模型组相比,各用药组 ZO-1 及 occludin 的表达水平均有升高($P<0.05$),其中以尼莫地平组和高剂量组最为显著。**结论** 化浊解毒活血通络方可能通过增加 ZO-1 和

基金项目:河北省自然科学基金面上项目(H2013206393);河北省科技支撑计划(15277748D);河北省省级中医药类重大医学科研课题(zyzd2013004);河北省中医药管理局科研计划(2014039)

作者单位:石家庄 050011,河北医科大学研究生院[李希(硕士研究生)、万溪、高晶晶、田军彪];河北省衡水市中医院(赵层闪);河北省中医院神经内科(杨丽静、徐丽娟、田军彪、刘学飞)

作者简介:李希(1989-),女,2014 级在读硕士研究生。研究方向:中西医结合临床与研究。E-mail:948977428@qq.com

通信作者:田军彪(1964-),博士,主任医师,教授,博士生导师。研究方向:中西医结合临床与研究。E-mail:jbt1965@sina.com

occludin 的表达、调节血脑屏障通透性等机制,发挥神经保护作用。

【关键词】 化浊解毒活血通络方; 脑缺血再灌注损伤; 紧密连接蛋白

【中图分类号】 R285.5 【文献标识码】 A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2017.07.005

Effects of Huazhuo Jiedu Huoxue Tongluo prescription on expression of tight junction ZO-1 and occludin in rats with cerebral ischemia reperfusion injury

LI Xi, WAN Xi, GAO Jingjing, et al.

Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, China

Corresponding author: TIAN Junbiao, E-mail: jbt1965@sina.com

【Abstract】 Objective To investigate the effects of Huazhuo Jiedu Huoxue Tongluo prescription on expression of tight junction protein ZO-1 and occludin in rats with Cerebral ischemia reperfusion Injury, and explore the neuroprotective mechanism. **Methods** The rat model of cerebral ischemia-reperfusion injury (CIRI) was induced by Zea-Longa method. The neurological severity score was assessed by longa grade point standard, the change of ischemic brain tissue was observed under light microscope, and the expression of ZO-1 and occludin was detected by immunohistochemistry and RT-PCR method. **Results** The immunohistochemical results showed that compared with sham operation group, the expression of ZO-1 in model group was lower ($P<0.05$). Compared with the model group, the expression of ZO-1 in drugs group was obviously higher ($P<0.05$), the nimodipine group and high dose group was increased most obviously ($P<0.05$). Compared with sham operation group, the expression of occludin in model group was lower ($P<0.05$). Compared with model group, the expression of drugs group was obviously higher ($P<0.05$), the expression of middle dose group was higher than that in the low dose group ($P<0.05$), lower than that in the high dose group ($P<0.05$). There was no significant difference between nimodipine group and high dose group ($P>0.05$). The RT-PCR method showed that compared with sham operation group, the expression of ZO-1 and occludin in model group were lower ($P<0.05$). Compared with the model group, the expression of ZO-1 and occludin in drugs group was obviously higher ($P<0.05$), the nimodipine group and high dose group were increased most obviously ($P<0.05$). **Conclusion** Huazhuo Jiedu Huoxue Tongluo prescription may play a neuroprotective role by increasing the expression of ZO-1 and occludin and regulating the permeability of blood-brain barrier.

【Key words】 Huazhuo Jiedu Huoxue Tongluo prescription; Cerebral ischemia reperfusion injury; Tight junction protein

脑血管疾病包括缺血性脑血管病和出血性脑血管病,约 67% 的脑卒中属于缺血性脑卒中。及早溶栓是缺血性脑血管疾病发作时最有效的治疗方法,若血流再通超过了时间窗便有脑缺血再灌注损伤发生的风险。现代病理生理学研究表明脑缺血再灌注损伤是缺血性脑血管病的重要病理过程。缺血再灌注损伤是一个复杂的病理过程,血脑屏障的损伤是缺血再灌注损伤的重要方面和病理阶段,且血脑屏障损伤后进一步加重脑组织损伤,形成恶性循环。因此,减轻脑缺血再灌注带来的血脑屏障的损伤,对于临床治疗缺血性脑血管疾病有重要意义。

化浊解毒活血通络方是根据“浊凝闭阻清窍,瘀毒损伤脑络”的病机,以化浊解毒与活血通络为治疗大法确定的治疗方法,在临床已得到广泛应用。本文旨在通过研究化浊解毒活血通络方对局灶性脑缺血再灌注损伤大鼠紧密连接蛋白 ZO-1、

occludin 的影响,探讨该方对血脑屏障的调节作用及神经保护机制。

1 材料与方法

1.1 试剂及仪器

ZO-1 抗体 (Invitrogen)、occludin 抗体 (Invitrogen)、NT 膜 (Pall Corporation)、免疫组化试剂盒抗兔、抗小鼠 (VECTOR LABORATORIES, INC.),总 RNA 提取试剂、cDNA 合成试剂盒、PCR 反应体系、DNA 标准均由 Takara 公司提供,PCR 基因扩增仪 (PE-9600),紫外可见分光光度计 (756MC),复日生物电泳图像分析系统 (FR-980),离心机 (TDL-5-A)。

1.2 实验动物及分组

成年 SD 大鼠,4~5 个月龄,雄性,清洁级,共 54 只,体重 (250~300) g,购置于河北医科大学实

验动物中心(合格证编号:1407012),随机分为:假手术组、模型组、尼莫地平组、中药高剂量组、中药中剂量组、中药低剂量组,每组 9 只。

1.3 药物

化浊解毒通络方组成:石菖蒲 15 g、地龙 15 g、茯苓 15 g、泽泻 6 g、黄连 6 g、川芎 9 g、丹参 15 g、赤芍 15 g、当归 9 g、郁金 15 g,颗粒配方;尼莫地平片(拜耳医药保健有限公司,规格 30 mg,批号 BJ27586),均购于河北省中医院药房。

1.4 模型制备及干预方法

以改进后的 Zea-Longa 线栓法阻断大鼠右侧大脑中动脉制造局部梗死性脑缺血再灌注损伤模型。选用直径为 0.26 mm 的尼龙线,剪成长度约 50 mm 的线段,将头端烧灼成直径为 0.27~0.28 mm 的圆滑小球,距离小球 18 mm 处以黑色笔标记。用酒精完全消毒后将线栓置于放有肝素钠的试管中备用。

大鼠术前禁食 12 小时,自由饮水,用 10% 水合氯醛(0.35 mL/100 g)腹腔注射麻醉,沿颈部正中线在胸骨角和离大鼠下唇 1 cm 处之间作切口,分离出颈总动脉、右侧颈外动脉和右侧颈内动脉,分别在颈总动脉近心端及分叉处、颈内动脉近分叉处、颈外动脉近分叉处穿丝线备用。颈总动脉近心端丝线打死结,颈内动脉和颈外动脉的近分叉处打活结,颈总动脉近分叉处剪一倒“V”型破口,将线栓插入颈内动脉,备用丝线打结固定线栓,松开颈内动脉上活结,轻送线栓至颈内动脉,进入(18.0±0.5) mm。待脑缺血 2 小时后拔出线栓 15 mm 左右,形成脑缺血再灌注模型。

造模成功后 24 小时分别给予模型组灌服 0.9% 氯化钠溶液 20 mL/kg/d,尼莫地平组灌服尼莫地平混悬液 9.375 mg/kg/d,中药高剂量组灌服化浊解毒活血通络方 25 g/kg/d、中药中剂量组灌服化浊解毒活血通络化浊解毒活血通络 12.5 g/kg/d、中药低剂量组灌服 6.25 g/kg/d。每天 1 次,连续灌服 7 天。

1.5 指标检测

1.5.1 神经功能缺损评分 分别于造模成功后 24 小时和给药后 7 天以 Longa 评分标准对每组实验大鼠进行肢体神经功能缺损程度评定和比较,0 分:无任何神经功能缺损体征,活动正常,与寻常大鼠无异;1 分:不能完全伸展瘫痪侧(左侧)前肢,活动正常;2 分:爬行时向瘫痪侧(左侧)转圈;3 分:行走时向瘫痪侧(左侧)倾倒;4 分为不能自发行走,意识水

平降低;5 分:死亡。1~3 分为有效模型,按实验要求剔除和补足大鼠。

1.5.2 HE 染色 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉,迅速断头取脑,取缺血侧脑组织 1/2 置于液氮中保存备用,1/2 置于 4% 多聚甲醛固定液中保存备用。将备用的脑组织做冠状切片,常规固定、脱水、透明、浸蜡、包埋、切片 5 μm 厚备用。石蜡切片常规脱蜡到水,入苏木精染色 5 分钟,自来水冲洗,1% 盐酸乙醇分色氨水返蓝,间以流水冲洗 10 分钟,入伊红染色剂染色 2~3 分钟,流水冲洗 10 分钟,常规脱水、透明、封片。

1.5.3 免疫组化法检测 ZO-1 和 occludin 脑组织切片以免疫组化法进行检测,具体操作步骤严格按试剂盒说明书进行。低倍镜下(100 倍)染色呈棕黄色的细胞为免疫组化染色阳性细胞,于阳性细胞分布密集区(热点)随机选取 4 个不重复视野。在高倍镜(400 倍)视野下计数每个视野内阳性细胞数。

1.5.4 RT-PCR 法检测 ZO-1 和 occludin 取组织 100 mg 左右,RT-PCR 法进行检测,具体操作步骤严格按试剂盒说明书进行。取每个标本的扩增产物 6 μL 于 1% 的含 GV 核酸染料的琼脂糖凝胶电泳,以 DNA Marker(DL2000)作为标准片段标记,电泳后于紫外透射仪观察,并用数码相机照相,输入微机应用 Quantity One 凝胶图象分析软件对目的电泳条带进行分析,以相应的内参电泳条带作为参照,结果以两者之积分吸光度的比值表示。

1.6 统计学处理

使用 SPSS 19.0 统计软件进行统计学处理,多组均数间的比较运用单因素方差分析,组间两两比较使用 SNK-*q* 检验;方差不齐用秩和检验,以 $P<0.05$ 的标准为有统计学意义。

2 结果

2.1 各组神经功能缺损评分对比显示

术后 24 小时:假手术组大鼠无明显的神经功能缺损,模型组及各用药组均出现不同程度的神经功能缺损。药物治疗 7 天后:模型组与假手术组相比较,神经功能缺损评分升高明显($P<0.05$);与模型组相比较,尼莫地平组与中药高剂量组神经功能缺损评分均出现明显下降($P<0.05$),但两组间神经功能缺损评分无明显统计学差异($P>0.05$);与模型组比较,中药低剂量组、中药中剂量组神经功能缺损程度有所减轻($P<0.05$),两组之间神经功能缺损程

度无明显差异($P>0.05$);与尼莫地平组比较,中药中剂量组、中药低剂量组神经功能缺损程度有明显差异($P>0.05$)见表 1。

表 1 各组脑缺血再灌注损伤模型大鼠神经功能缺损评分比较($\bar{x}\pm s$,分)

组别	<i>n</i>	24 小时	7 天
假手术组	9	0±0	0±0
模型组	9	2.67±0.71 ^a	3.67±0.50 ^a
尼莫地平组	9	2.78±1.20 ^a	1.56±0.53 ^{ab}
中药高剂量组	9	2.56±0.88 ^a	1.89±0.78 ^{ab}
中药中剂量组	9	3.00±0.87 ^a	2.78±0.67 ^{abc}
中药低剂量组	9	3.00±0.87 ^a	2.89±0.60 ^{abc}

注:与假手术组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与尼莫地平组比较,^c $P<0.05$ 。

2.2 各组 HE 染色结果

光镜下观察可发现假手术组大鼠脑组织细胞分布整齐紧凑,形态规整,胞浆圆润饱满,染色均匀呈紫红色,细胞核淡染呈蓝色;模型组大鼠缺血侧脑组织缺血中心区可见细胞结构溶解破坏,大量坏死神经元细胞肿胀,细胞核破裂或溶解,其余给药各组大鼠大脑缺血区也可见上述病理改变,其中中药低剂量组及中剂量组与模型组比较缺血坏死区有所减少,尼莫地平组与中药高剂量组与模型组比较缺血坏死区明显减少。见图 1。

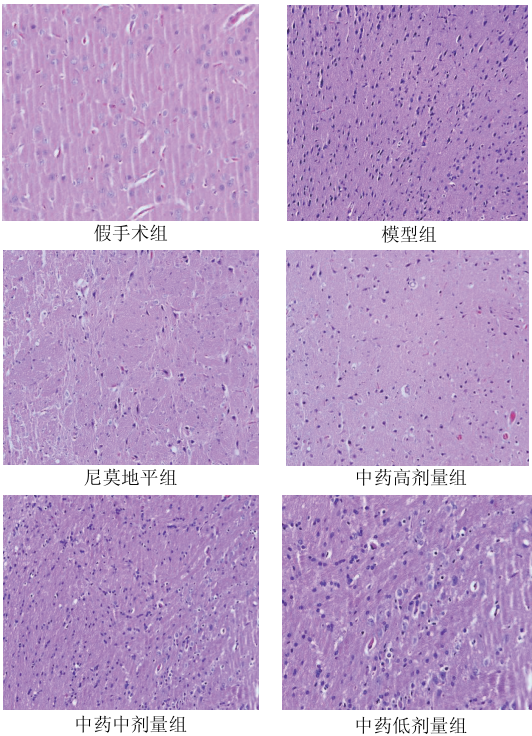


图 1 各组脑缺血再灌注损伤模型大鼠 HE 染色比较($\times 400$)

2.3 免疫组化法检测结果

2.3.1 免疫组化法检测 ZO-1 表达的变化 光镜下阳性表达细胞的细胞浆染色呈棕黄色,细胞核呈圆形或类圆形,大多数阳性细胞于缺血区周围集中分布。假手术组 ZO-1 持续表达,呈现连续分布状态;与假手术中相比,模型组 ZO-1 表达明显减弱,仅呈散在的点状阳性染色($P<0.05$);与模型组相比,尼莫地平组与中药高剂量组 ZO-1 表达量都有明显增加($P<0.05$),连续表达与间断表达并存,两组之间差异不明显($P>0.05$);与模型组比较,中药低剂量组、中药中剂量 ZO-1 表达量均有所增加($P<0.05$),呈间断表达,两组之间差异无统计学意义($P>0.05$)。与尼莫地平组比较,中药中剂量组、中药低剂量组 ZO-1 表达减少($P<0.05$)见表 2、图 2。

表 2 各组脑缺血再灌注损伤模型大鼠缺血脑组织 ZO-1 与 occludin 阳性表达细胞数比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	ZO-1	occludin
假手术组	9	36.25±3.10	84.75±3.40
模型组	9	19.75±1.50 ^a	42.50±1.92 ^a
尼莫地平组	9	31.25±2.22 ^{ab}	58.00±1.83 ^{ab}
中药高剂量组	9	31.75±2.63 ^{ab}	57.00±2.45 ^{ab}
中药中剂量组	9	26.50±1.29 ^{abc}	49.50±1.29 ^{abc}
中药低剂量组	9	24.50±1.29 ^{abc}	41.00±0.82 ^{abc}

注:与假手术组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与尼莫地平组比较,^c $P<0.05$ 。

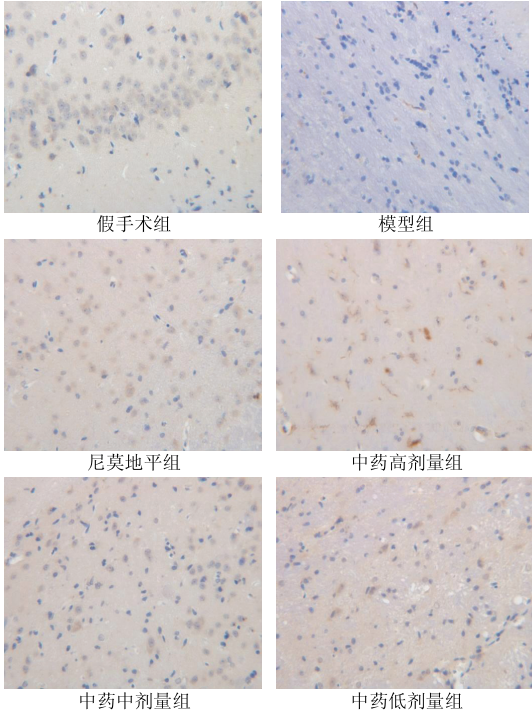


图 2 各组脑缺血再灌注损伤模型大鼠免疫组化法检测 ZO-1 表达比较($\times 400$)

2.3.2 免疫组化法检测 occludin 表达 光下阳性表达细胞胞浆染色呈棕黄色,细胞核呈圆形或类圆形,大多数阳性细胞于缺血区周围集中分布。假手术组 occludin 持续表达,呈现连续分布状态;与假手术中相比,模型组 occludin 表达明显减弱,仅呈散在点状阳性染色, ($P<0.05$);与模型组相比,尼莫地平组与中药高剂量组 occludin 表达量均增加明显 ($P<0.05$),连续表达与间断表达并存,两组之间无明显差异 ($P>0.05$);与模型组比较,中药低剂量组、中药中剂量组 occludin 表达量均有所增加 ($P<0.05$),呈间断表达,中药中剂量组较中药低剂量组增加明显 ($P<0.05$)。与尼莫地平组比较,中药中剂量组、中药低剂量组 occludin 表达量明显减少 ($P<0.05$)。表 2、见图 3。

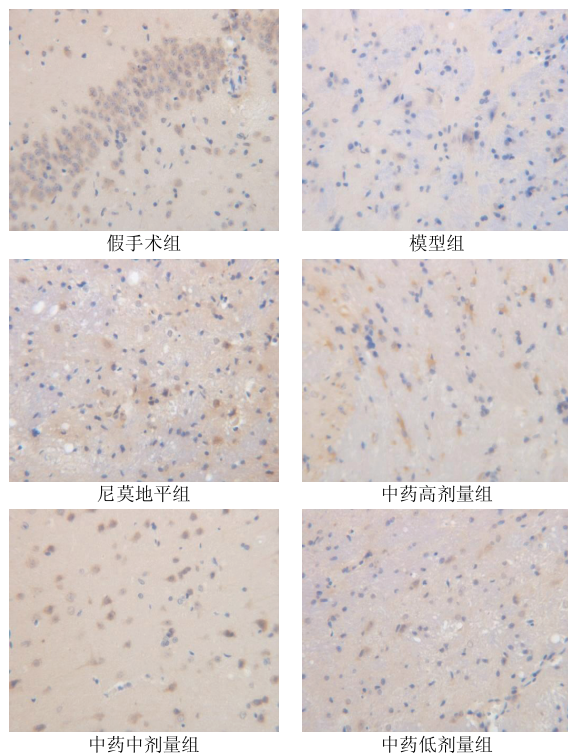


图 3 各组脑缺血再灌注损伤模型大鼠免疫组化法检测 occludin 表达比较($\times 400$)

2.4 RT-PCR 法检测结果

2.4.1 RT-PCR 法检测 ZO-1 表达 模型组与假手术组比较,ZO-1 表达量明显升高 ($P<0.05$);与模型组相比,尼莫地平组与中药高剂量组 ZO-1 表达量明显升高 ($P<0.05$);尼莫地平组与中药高剂量组之间无明显统计学差异 ($P>0.05$);中药低剂量组、中药中剂量 ZO-1 表达量均有增加 ($P<0.05$),中药低剂量组、中药中剂量组之间无明显差异 ($P>0.05$)。见表 3。

表 3 各组脑缺血再灌注损伤模型大鼠缺血脑组织 ZO-1 蛋白与 occludin 蛋白表达比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	OD(ZO-1/GAPDH)	OD(occludin/GAPDH)
假手术组	9	0.9067 \pm 0.0100	0.7756 \pm 0.0159
模型组	9	0.4689 \pm 0.0078 ^a	0.2678 \pm 0.0186 ^a
尼莫地平组	9	0.7989 \pm 0.0078 ^{ab}	0.6644 \pm 0.0133 ^{ab}
中药高剂量组	9	0.7978 \pm 0.0067 ^{ab}	0.6411 \pm 0.0145 ^{ab}
中药中剂量组	9	0.7222 \pm 0.0070 ^{abc}	0.3778 \pm 0.0109 ^{abc}
中药低剂量组	9	0.7200 \pm 0.0715 ^{abc}	0.3833 \pm 0.0087 ^{abc}

注:与假手术组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与尼莫地平组比较,^c $P<0.05$ 。

2.4.2 RT-PCR 法检测 occludin 表达 模型组与假手术组比较, occludin 表达量明显降低 ($P<0.05$);与模型组相比,尼莫地平组与中药高剂量组 occludin 表达量均升高 ($P<0.05$);尼莫地平组与中药高剂量组之间无明显统计学差异 ($P>0.05$);与模型组比较,中药低剂量组、中药中剂量组 occludin 表达量均有增加 ($P<0.05$),中药低剂量组、中药中剂量组之间无明显差异 ($P>0.05$)。与尼莫地平组比较,中药中剂量组、中药低剂量组 occludin 表达量明显减少 ($P<0.05$)。见表 3。

3 讨论

脑缺血再灌注损伤是缺血性脑血管病一个常见和重要的病理过程,属于中医中风证范畴,中风高发人群为老年人,脏腑衰微,脾无运力,对精微物质和水液布散功能减弱,久则痰浊内生,在上蒙蔽清窍,在体壅阻气机,致血行不畅,血瘀与痰浊互结化生浊毒,久而腐化凝聚于脑,损伤脑之络脉,故其基本病机为“浊凝闭阻清窍,瘀毒损伤脑络”^[1]。根据这一病机,以化浊解毒与活血通络为治疗大法,拟定了化浊解毒活血通络方,方中石菖蒲化浊开窍,黄连祛浊解毒,郁金行气活血,三药合而为君,共奏化浊解毒活血通络之功;地龙性善走窜、通经活络,丹参、赤芍、当归养血活血化瘀,合为臣药;茯苓健脾利湿、泽泻利湿泄热,共为佐药;川芎活血行气、引药上行头目为使药。该方中单味药物经现代药理研究多有神经保护作用,如石菖蒲中挥发油可有效抑制脑缺血再灌注后 Glu、Asp、 γ -氨基丁酸含量的异常升高,减轻神经损伤^[2];黄连中黄连素具有一定的抗脑缺血缺氧作用^[3];丹参中丹参酮通过减少自由基产生,抑制过氧化反应、提高脑血流量等减轻脑损伤^[4];赤芍中的芍药总苷能通过提高 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 、 $\text{Ca}^{2+} - \text{ATPase}$ 的活性起到脑保护作用。

用^[5]。尼莫地平对脑缺血再灌注后的血脑屏障有保护作用,已广泛用于脑卒中的治疗^[6]。

血脑屏障的损伤及通透性的异常改变是脑缺血再灌注损伤的一个重要环节。脑微血管内皮细胞之间形成的紧密连接(tight junctions, TJ)是大分子物质经细胞旁途径转运的屏障^[7],对限制血液和脑组织间大分子的运动、维持大脑内环境稳态、保持细胞的极性、维持血管通透性有重要的作用,是保持血脑屏障完整性的重要因素。所以,脑缺血再灌注后如何保持紧密连接成为保护血脑屏障的关键^[8],而紧密连接蛋白 ZO-1 和 occludin 是血脑屏障非常重要的标志性蛋白。

ZO 家族包括 ZO-1、ZO-2、ZO-3,其中 ZO-1 的作用最为重要,是第一个被确定的紧密连接相关蛋白。ZO-1 在构成紧密连接中的作用是:(1)沟通桥梁^[3],是构成 TJ 支持结构的基础。(2)使上皮细胞具有极性;(3)参与细胞免疫调节;(4)参与细胞的增殖与分化;(5)癌细胞转移;(6)参与细胞内外分子信号的传导。ZO-1 既是紧密连接的主要结构蛋白,也是紧密连接的功能蛋白,其表达量变化可以影响其他紧密连接蛋白结构功能改变,其水平的下降和活性的降低均会影响细胞间紧密连接结构的稳定和细胞功能的完整性^[9]。

occludin 蛋白是第一个被分离的紧密连接相关蛋白,occludin 在脑血管内皮细胞内的紧密连接中表达最高。其作用为:(1)紧密连接的重要结构蛋白,是 BBB 通透性明显低于其他血组织屏障的重要原因^[10],且已证实它直接参与脑微血管内皮细胞上紧密连接的形成,行使重要的屏障功能。(2)调节功能,occludin 是紧密连接中关键性的一个调节性蛋白。(3)减震功能,occludin 蛋白可能存在类似关键性减震器功能,用以调节血管动力学中紧密连接蛋白对紧急变化的反应。(4)信号转导^[11],occludin 蛋白的 C 端同时还有信号转导功能,调节 occludin 蛋白的二聚体化。(5)协同作用,occludin 与另一种跨膜蛋白 Claudins 的共聚作用对紧密连接的稳定性方面起到很重要的作用^[12]。occludin 表达水平能够代表 BBB 的结构状态,其下降程度可作为 BBB 损伤程度的标志。

本研究发现化浊解毒活血通络方可能通过调控紧密连接蛋白 ZO-1、occludin 的表达水平、调整紧密连接的结构和功能、调节血脑屏障通透性,发挥其神经保护作用。但本研究对 ZO-1、occludin 蛋白定量所采用的方法属于半定量,存在一定的主观性,不够精确,仍需进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 赵见文,田军彪,李佃贵,等.化浊解毒活血通络法对脑缺血再灌注损伤小鼠行为学及海马神经细胞形态学的影响[J].中医杂志,2011,52(17):1492-1495.
- [2] 柯雪梅,方永奇.石菖蒲挥发油对脑缺血再灌注脑中氨基酸的影响[J].中国老年学杂志,2003,23(5):302.
- [3] 徐静华,于庆海,蔡爽,等.黄连解毒汤对小鼠急性脑缺血、缺氧的影响[J].沈阳药科大学学报,2003,2(3):132-134.
- [4] 闻公灵,张宝朝.丹红注射液对脑缺血再灌注损伤大鼠 ICAM-1 表达的影响[J].中国实用神经疾病杂志,2010,13(13):40.
- [5] 何延龙,周端,董六一.赤芍总苷对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的保护效果[J].中国临床康复,2006,10(39):59.
- [6] 王耀明,莫雪安,童萼塘,等.尼莫地平对脑缺血再灌注后大鼠血脑屏障通透性的影响[J].华中医杂志,2000,24(4):171.
- [7] González-M ariscdll, Betazosa A, Nava P, et al. Tight junction proteins [J]. Prog Biophys Mol Biol, 2003, 81(1):1-44.
- [8] 韩冬,孙森,何平平,等.缺血后处理对大鼠脑缺血再灌注后紧密连接的保护作用及 zo-1 蛋白表达的影响[J].中风与神经疾病杂志,2015,32(4):296-298.
- [9] Hartwig W, Andrea L. Tight junctions of the blood-brain barrier: development, composition and regulation [J]. Vascu Pharmacol, 2002, 38(6):323-337.
- [10] 石向群,杨金升,王运良,等.脑缺血再灌注损伤后脑内 ZO-1 蛋白动态变化与神经功能缺损及血脑屏障功能的关系 [J]. 中国临床康复,2005,9(1):113-115.
- [11] Balda MS. Functional dissociation of paracellular permeability and transepithelial electrical resistance and disruption of the apical lateral intramembrane diffusion barrier by expression of a mutant tight junction membrane protein [J]. Cell Biol, 1996, 134, 1031-1049.
- [12] Asaka M, Hirase T, Hashimoto-Komatsu A, et al. Rab5a-mediated localization of claudin-1 is regulated by proteasomes in endothelial cells [J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2011, 300:87-96.

(收稿日期:2016-02-22)

(本文编辑:董历华)