

血脑屏障模型及中药对其通透性影响研究进展

王竞静, 农汝楠, 覃乐, 周至品*

(广西中医药大学 附属瑞康医院, 南宁 530011)

[摘要] 血脑屏障(BBB)作为脑毛细血管壁与神经胶质细胞形成的血浆与脑细胞之间的屏障和由脉络丛形成的血浆和脑脊液之间的屏障,能够阻止某些物质(多半是有害的)脑组织,从而保持脑组织内环境的基本稳定,但同时其阻止大多数药物进入颅内,给颅脑疾病的治疗带来困难。血脑屏障实验模型的建立是进行颅脑疾病药物治疗的一个关键技术。因此,对血脑屏障模型的建立及其通透性改变的研究,将深化对神经-血管相互作用的认识,为中枢神经系统疾病的诊疗提供重要的理论依据。中药可通过影响脑组织超氧化物歧化酶(SOD)活性、抑制髓过氧化物酶(MPO)活性及肿瘤坏死因子- α (TNF- α)含量,影响闭锁小带蛋白-1(ZO-1)的表达或上调紧密连接蛋白-5(Claudin-5)等的表达抑制病理条件下 BBB 通透性,对 BBB 起到保护作用。中药也可通过影响细胞黏着因子-1(CAM-1),ZO-1 和纤维状肌动蛋白(F-actin),P-糖蛋白(P-gp)及增加 5-羟色胺(5-HT)等的表达来促进 BBB 通透性改变,或与其他药物共递送,增加药物透过率。本文对近年来血脑屏障实验模型建立的方法、优缺点及中药单体及有效成分、中药复方等对血脑屏障通透性作用的文献进行整理,为下一步中西医治疗颅内疾病提供重要的指导意义和方向。

[关键词] 中药; 血脑屏障; 通透性; 研究进展

[中图分类号] R2-0;R22;R285.5;R284 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)09-0225-10

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20200607

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20191206.1749.015.html>

[网络出版时间] 2019-12-07 09:26

Research Progress of Blood Brain Barrier Model and Effect of Traditional Chinese Medicine on Its Permeability

WANG Jing-jing, NONG Ru-nan, QIN Le, ZHOU Zhi-pin*

(Ruikang Hospital Affiliated To Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530011, China)

[Abstract] Blood brain barrier (BBB), as barrier between plasma and brain cells formed by brain capillary wall and glial cells and barrier between plasma and cerebrospinal fluid formed by choroid plexus, can prevent some brain tissues (mostly harmful substances), so as to maintain a stable internal environment of brain tissues, while stopping most drugs from the intracranial and causing difficulties to cerebral diseases. The establishment of experimental model of BBB is a key technique for drug treatment of craniocerebral diseases. Therefore, the establishment of the BBB model and the study of its permeability change will deepen the understanding of the neuro-vascular interaction and provide an important theoretical basis for the diagnosis and treatment of central nervous system diseases. Traditional Chinese medicine (TCM) can affect brain tissue superoxide dismutase (SOD) activity, inhibit myeloperoxidase (MPO) activity and tumor necrosis factor- α (TNF- α) content, so as to affect the expression of zonula occluden-1 (ZO-1) or up-regulate the expression of Claudin-5, inhibit BBB permeability under pathological conditions, and play a protective role in BBB. TCM can also promote the changes in BBB permeability by affecting the expressions of cell adhesion factor-1 (CAM-1),

[收稿日期] 20190823(014)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81760751)

[第一作者] 王竞静,在读硕士,从事中药药理学研究,E-mail:jingwj123@qq.com

[通信作者] *周至品,博士,主任药师,硕士生导师,从事中药药理与临床药理学研究,E-mail:gxzhouzhipin@126.com

ZO-1, filamentous actin (F-actin), P-glycoprotein (P-gp) and 5-hydroxytryptamine (5-HT), or increase drug permeability through co-delivery with other drugs. In this paper, the methods, advantages and disadvantages of the establishment of experimental models of the BBB in recent years, as well as the effects of TCM monomers, effective components and TCM compounds on the permeability of the BBB were summarized, so as to provide important guidance and direction for the future treatment of intracranial diseases by traditional Chinese and western medicine.

[Key words] traditional Chinese medicine; blood-brain barrier model; permeability; research progress

中枢神经系统(CNS)疾病的治疗是现代医学中面临的一个难题。其中的一个关键问题就是血脑屏障(BBB)的存在,其在维持大脑稳态方面发挥着至关重要作用^[1],其损伤会让有害物质进入颅内,引起中枢神经系统的损害,但与些同时,又限制了大多数药物进入 CNS^[2],给颅脑疾病治疗带来很大困难。BBB 实验模型的建立是研究是颅脑疾病药物治疗的一个关键技术,当前研究表明中药对 BBB 通透性具有很好的作用。故了解 BBB 的组成与结构、实验模型及中药对 BBB 通透性的影响研究进展,对临床防治颅脑疾病都有积极意义。因此,本文对近几年 BBB 实验模型及中药对 BBB 通透性影响的文献进行总结,以供参考。

1 BBB 的组成与结构

BBB 主要由中枢神经系统的脑微血管内皮细胞(Bmecs),星状胶质细胞、周细胞和基质组成。周细胞与内皮细胞结合,介导 BBB 功能所必需的紧密连接(TJs)的形成^[3]。从 BBB 的结构上看,临近的 Bmecs 通过建立 TJs 形成 BBB 的雏形,星形胶质细胞环绕在 Bmecs 细胞的外侧,周细胞嵌在 Bmecs 和星形胶质细胞之间^[4]。大脑毛细血管的内皮单层细胞既是血液和大脑之间交换营养物质等的重要界面,也是血浆和异生物神经毒性成分的屏障^[5]。周细胞是嵌入在微血管基底膜中的血管壁细胞,沿毛细血管四周扩张^[6]。星形胶质细胞作为中枢神经系统胶质细胞群,除了维持中枢稳态外,还调节着中枢神经系统在病理条件下的先天和适应性免疫反应^[7]。Bmecs,周细胞,星形胶质细胞连续分泌细胞外基质蛋白,构成厚 40~50 nm 的基膜^[8]。

2 体外模型

2.1 静态模型

静态模型不考虑体内动态环境因素。按细胞培养模型所包含细胞种类数不同,可将其分为单层和共培养模型。

2.1.1 单层模型

BBB 主要由高度专业化的 Bmecs 及紧密连接组成,将内皮细胞接种于包被明胶的 Transwell 细胞培养池中进行单培养。培养 Bmecs 最重要的是对细胞进行纯化。研究表明,

常规使用普洛霉素处理 Bmecs 纯度可达 99.8%,且处理的培养基纯度不受初始播种密度的影响^[9]。实验结果也表明,纯化后的大鼠 Bmecs 培养物在糖皮质激素诱导下表现出更好的屏障特性^[9]。

2.1.2 共培养模型

研究表明,原代培养的 Bmecs 的体外 BBB 模型,与 BBB 相关细胞共同培养,可以更紧密地模拟体内条件^[10]。目前有以下几种体外共培养模型

- ① Bmecs-星形胶质细胞共培养 研究表明,Bmecs 和星形胶质细胞的共培养, γ -谷氨酰转肽酶和碱性磷酸酶活性显著提高^[11]。
- ② Bmecs-周细胞共培养 研究表明,周细胞通过调节内皮细胞中 BBB 特异性基因表达模式,及诱导星形胶质细胞端脚在中枢神经系统血管周围极化^[12]。
- ③ Bmecs-周细胞-星形胶质细胞共培养 将 3 种细胞同时接种在 transwell 培养池中,Bmecs 接种在微孔膜上方,周细胞在膜下方贴膜接种,星形胶质细胞在培养池底部贴壁接种。研究表明,三元共培养模型跨膜电阻明显增强,渗透率降低,优于二元共培养模型^[13]。
- ④ 其他细胞共培养 Bmecs 还可以与其他细胞进行共培养 研究表明,巨噬细胞与 Bmecs 共培养能调节 BBB 特异性功能,显著提高跨膜电阻^[14]。

2.2 动态模型

血液动力学力量和物理组织等微环境也被认为对微血管功能有显著的贡献^[15],这种与生理上更相关的微环境可以通过微流体装置来实现^[16]。

2.2.1 动态 BBB 体外模型(DIV-BBB)

DIV-BBB 是一种基于新型人脑血管内皮细胞系(Hcmece/d3)的人性化动态体外 BBB 模型。在流动条件下培养的 hcmecc/d3 细胞能原位保持 BBB 的体外生理渗透性屏障特性^[17]。

2.2.2 微流体 BBB(μ BBB)装置

μ BBB 用 b. end3 内皮细胞培养,并采用光学清晰成像。BOOTH 等^[18]采用胶质细胞系 C6 在两个通道内共同培养 b. end3 细胞,测量的渗透率系数与体内脑-等离子体比密切相关,证明了该模型能预测 BBB 药物清除率。

2.2.3 合成微脉管 BBB (SyM-BBB)装置

SyM-

BBB 由玻璃和 PDMS 组成,具有玻璃通道结构,可同时对内外室进行成像。在流体剪切条件下,将大鼠 Bmecs 在腔内培养,并与外侧腔内的星形胶质细胞条件介质连续接触^[19]。

2.2.4 NVU 芯片 (neurovascular unit-on-a-chip) 装置 NVU 芯片由神经模块和血管模块组成,可分别培养后再组装在一起,研究神经血管间相互作用^[20]。NVU 模型可用于脑组织再生、药物干扰毒性筛查等研究^[21]。

2.2.5 体外动态新生儿 BBB 芯片装置 DEOSARKAR 等^[22]开发了体外新生儿 BBB 模型装置。该芯片由组织室和血管通道并排放置,在剪切

流动条件下将新生大鼠 Bmecs 接种在血管通道中,星形胶质细胞在组织室中培养,二者通过多孔界面相互作用。

2.2.6 微流控芯片装置 采用两套细胞培养组件,将微流控芯片处理后,在芯片下侧培养池接种星形胶质细胞,在微流控芯片上层细胞培养池中培养 Bmecs,中间用 PC 膜隔,使细胞间相互作用^[23]。

2.2.7 人类诱导多能干细胞装置 从人类诱导的多能干细胞中提取了 Bmecs,并将其与大鼠原代星形胶质细胞在无泵微流体平台上共培养,模型测量的渗透系数与体内值相当^[24]。体外模型概括见表 1。

表 1 BBB 体外模型

Table 1 BBB *in vitro* model

名称	膜的材质	细胞类型	优缺点	参考文献
transwell	PTFE, PC 等	各种类型的脑内皮细胞	结构简单、易于操作、可进行高通量药物筛选;无法模拟 BBB 所处微环境	[9]
DIV-BBB	热塑性聚合物(如聚丙烯)	Hmece/或 Bmecs 与星状胶质细胞共培养	实现模拟体内流变环境;无法实现可视化、实时监测、不能准确地表示大脑微血管的尺寸和几何形状、亲脂材料会影响亲脂性药物透过	[17]
μBBB 装置	多孔聚碳酸酯(PC)	b. end3 内皮细胞或与星形胶质细胞的共培养	实时可视化 BBB,实时检测 Teer;调控微环境能力弱	[18]
SyM-BBB 装置	PDMS	RBE4 (腔内)、星形胶质细胞(腔外)	低成本、模拟真实的微循环环境、生理流体流动、剪切应力及允许长期细胞培养、实时光学监测;无法高通量药物筛选及 TEER 实时检测	[19]
NVU 芯片装置	PC	RBE4, 神经元,星形胶质细胞和微胶质细胞	低成本、实现神经血管间相互作用;装置较复杂,细胞难以长期培养	[20-21]
新生儿 BBB 芯片装置	PDMS	大鼠脑内皮细胞、星形胶质细胞	模拟体内剪切流的环境、实时可视化、直接测量动态过程;技术不够成熟	[22]
微流控芯片装置	多孔聚碳酸酯膜	Bmecs, 星形胶质细胞	模拟器官或组织相互作用、模拟体内流体剪切力、应变和机械压缩、实现对培养体系的精确控制、对气体有较好通透性、实时监控和结果分析;技术平台复杂、生产成本高昂	[23]
人类诱导 hiPSCs 装置	PDMS	hiPSCs, 大鼠原代星形胶质细胞	克服种属差异、实现细胞的长时间共培养;难以获得稳定大批量细胞	[24]

3 中药对 BBB 通透性的影响

3.1 对 BBB 通透性抑制作用

BBB 完整性的破坏导致其通透性改变是其损伤的重要病理基础。中药可通过抑制病理条件下 BBB 通透性,对 BBB 起到保护作用。

3.1.1 影响氧化应激抑透 脑内皮具有高反应性,因为它既是炎症蛋白和活性氧(ROS)的来源,又是其靶标。氧自由基生成及其引起的脂质过氧化是 BBB 损伤的重要机制之一。氧自由基的大量产生,广泛攻击易损区的富含不饱和脂肪酸双链的生物膜结构,导致膜结构和功能破坏,加重脑组织损伤。研

究表明,中药可通过影响组织或细胞氧化应激反应抑制 BBB 通透性改变。超氧化物歧化酶(SOD)作为一种源于生命体的活性物质,能消除生物体在新陈代谢过程中产生的有害物质。因此提高 SOD 活性可以将脑组织中氧自由基转化为过氧化氢,从而抑制 BBB 通透性,保护脑组织。髓过氧化物酶(MPO)是中性粒细胞的功能标志和激活标志,可利用过氧化氢和氯离子产生次氯酸盐,并形成具有氧化能力的自由基。丙二醛(MDA)是膜脂过度氧化的产物之一。MDA 的产生可以加剧膜的损伤。因此,冰片通过降低脑缺血再灌注损伤模型大鼠脑

组织 SOD 活性,抑制 MPO 活性及 TNF- α 含量,降低 BBB 通透性^[25]。苦菜总黄酮保护脑缺血再灌注损伤大鼠 BBB 损伤,其机制也是提高抗氧化活性、自由基清除作用^[26]。当归多糖可保护大鼠脑缺血再灌注损伤,降低病理条件下 BBB 通透性该作用与其抗氧化及抗炎作用有关^[27]。复方红花饮可升高 SOD 活性;降低 MDA 含量,保护 BBB,抑制大鼠脑挫裂伤后血脑屏障的过度开放^[28]。研究表明,芍药苷对纤维状 β 样淀粉酶 1-42 ($A\beta_{1-42}$) 介导的 BBB 体外模型具有保护作用,机制提高是 bEnd. 3 细胞活性、降低血脑屏障的通透性;在脑血管疾病的早期生成的内源性 NO 主要为脑保护作用,谷胱甘肽 (GSH) 作为体内一种过氧化物分解酶^[29]。因此白果内酯可通过提高内皮细胞总抗氧化能力及 NO, GSH 水平,降低乳酸脱氢酶 (LDH) 水平,并上调 Nrf2/HO-1 信号通路抗氧化蛋白表达,对过氧化氢所致体外 BBB 起保护作用^[30]。

3.1.2 调节转运蛋白表达抑透 脑毛细血管通过连续的紧密连接 (TJ) 相互连接,这些连接是由集中跨膜蛋白相互作用产生的。TJ 是多种蛋白质成分的动态复合物,包括结合黏附分子 (JAM), 闭合蛋白,紧密连接蛋白 Claudins (即 Claudin-1, -3 和 -5) 和膜相关鸟苷酸激酶 (MAGUK) 样蛋白 (例如 ZO-1, ZO-2 和 ZO-3)。因此,转运蛋白的表达降低和/或功能受损,导致 BBB 通透性增加。缺氧诱导因子 (HIF)-1 α 可通过稳定紧密连接蛋白,复合体构型等改善缺氧诱导的 BBB 损伤。血管内皮生长因子 (VEGF) 可增加 BBB 通透性,加重脑水肿。因此中药单体木脂素可通过促进紧密结合蛋白的基因和蛋白质表达,抑制 HIF-1 α , VEGF 等的上调,降低氧、葡萄糖剥夺诱导的 BBB 模外体渗透率^[31]; 川芎嗪影响 ZO-1 的表达或上调 Claudin-5 的表达,降低 LPS 诱导大鼠脑缺血再灌注 BBB 的通透性^[32-33]; 黄芪甲苷降低 BBB 的通透性,其机制是抑制 $A\beta_{1-42}$ 诱导的脑微血管内皮细胞 bEnd. 3 的凋亡及提高 ZO-1, Claudin-5, 咬合蛋白 (Occludin) 的表达,降低活化的半胱天冬蛋白酶-3/半胱天冬蛋白酶-3^[34]。也有研究发现,来源于黄芩的千叶素 A 对缺氧损伤体外 BBB 具有保护作用,其机制是降低脑 ZO-1, Claudin-1 基因表达^[35]。而当归多糖能降低脑梗死模型大鼠血脑屏障通透性,其机制是降低 Claudin-5, ZO-1 表达^[36]。Caspase 是一个半胱氨酸蛋白酶家族,其中 Caspase-3 是 Caspases 级联反应中下行的最关键的凋亡执行蛋白酶,它的激活可通过裂解 DNA 依赖

性蛋白酶等,改变其结构,促使细胞凋亡。降低血清中 Caspase-3 的含量,能抑制神经细胞凋亡,减轻脑损伤,促进微血流。B 淋巴细胞瘤-2 (Bcl-2) 与 Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax) 形成异源二聚体 Bcl-2/Bax, 可抑制细胞凋亡, Bcl-2/Bax 降低时更容易导致机体内细胞死亡。因此,金丝桃苷通过降低 Bax/Bcl-2, cleaved Caspase-3/Caspase-3 的及细胞色素-C 的表达对脑微血管内皮细胞具有保护作用,抑制纤维状 $A\beta_{1-42}$ 诱导的 BBB 通透性^[37]。基质金属蛋白酶 (MMPs) 是一组蛋白水解酶,可降解血管膜外基膜,破坏血管完整性。MMP-9 可直接降解血管外基膜的主要成分与层连蛋白,从而分解破坏内皮细胞基膜,破坏 BBB 完整性。MMP-2 和 MMP-9 同属明胶酶,是 MMPs 相互作用或和其他蛋白酶作用发生激活级联反应的关键酶。紫菜多糖下调 MMP-9 的表达,上调 ZO-1 的表达对缺血再灌注后脑损伤具有保护作用^[38]。姜黄素降低脑缺血再灌注损伤大鼠 BBB 通透性,其机制是抑制 MMP-2 及增加层黏连蛋白的表达^[39]。研究表明,健脾补土法组方对脑缺血再灌注大鼠 BBB 有保护作用,其机制之一是减少 MMP-2 表达^[40]。Claudin-5, Occludin, ZO-1 是紧密连接蛋白的主要成分,降低 Occludin, ZO-1 表达可以增加 BBB 的渗透性。绿茶多酚通过上调紧密连接蛋白 Occludin, Claudin-5 的表达及下调蛋白酶 $C\alpha$ (PKC α) 的表达,降低脑缺血大鼠 BBB 通透性^[41]。中药有效成分锦鸡儿总黄酮通过抑制 MMP-9, MMP-2 蛋白表达,促进 Claudin-5, Occluding 蛋白表达对局灶性脑缺血再灌注损伤模型大鼠 BBB 具有保护作用^[42]。中药黄芪注射液对创伤性脑损伤大鼠 BBB 通透性具有抑制作用,其机制可能是抑制脑 claudin-5 表达^[43]。Fas 蛋白是细胞凋亡信号的受体, Fas 配体 (FasL) 属肿瘤坏死因子超家族。Fas 与 FasL 结合后,能引起其下游一系列凋亡蛋白的级联反应并诱导凋亡。抑制 Fas, FasL 通路的激活可抑制神经元的凋亡,从而发挥脑保护作用。研究表明,中药复方星蒺承气汤可降低脑出血大鼠模型 BBB 通透性,降低脑组织中 Bax, FasL, Fas, Caspase-3 的 mRNA 表达量以及 MDA, 晚期氧化蛋白产物 (AOPP), TNF- α , 重组蛋白 (HMGB1), 单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1) 的含量^[44]; 活血开窍汤对大鼠中动脉梗死模型大鼠 BBB 有保护作用,其机制是减少 Claudin-5 蛋白表达,减轻 BBB 通透性^[45]。脑微血管内皮细胞中 Claudin-3, Claudin-5 表达与血脑屏障功能密切,新葛根苓连汤降低糖尿病脑病大鼠

BBB 通透性,其机制是提高 occludin/Claudins-5 表达^[46];加味四君子汤可能通过增加紧密连接蛋白 Occludin, ZO-1, Claudin-1 的表达,保护血脑屏障,减轻缺血性脑卒中大鼠脑水肿^[47];ERK1/2 是一类广泛存在于真核细胞内的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,是丝裂原激活的蛋白激酶(MAPKs)信号通路中重要组成部分,能被许多细胞因子所激活进而调节细胞生长、分化、凋亡。四君子汤加减可通过上调 p-细胞外信号调节激酶(ERK)1/2, p-蛋白激酶 B(Akt),下调 Bax 蛋白表达对脑缺血/再灌注损伤大鼠细胞发挥脑保护作用^[48];补阳还五汤联合骨髓间充质干细胞可降低脑缺血再灌注大鼠 BBB 通透性,其作用机制是降低水通道蛋白的表达^[49];AQP 是一组分布及其广泛的细胞膜蛋白,AQP4 的存在,有助于减轻脑缺血后组织细胞外压降低所导致的血源性水肿,在降低 BBB 通透性。黄芩苷、栀子苷配伍降低 BBB 通透性,其作用机制是提高 Na^+/K^+ -ATP 酶活性,降低 P-gp 含量,AQP4 蛋白表达^[50];纤溶酶原激活物抑制剂(PAI)是纤溶酶原激活物(PA)的生理性抑制剂,通过抑制 PA 活性,具有防止基底膜过度降解,发挥保护 BBB 的作用。益气活血法降低气虚血瘀脑缺血再灌注大鼠 BBB 通透性,其机制是抑制 t-PA 蛋白及增加 PAI-1 蛋白表达^[51]。 $\alpha\beta$ 可影响晚期糖基化终末产物受体(RAGE)表达, $\alpha\beta$ 跨血管内皮细胞转运与 RAGE 和低密度脂蛋白受体相关蛋白 1(LRP1)有关。丹溪痛风方降低阿尔茨海默病小鼠 BBB 通透性,其机制是通过下调海马 RAGE 和上调海马 LRP1 表达^[52]。

3.1.3 直接影响 BBB 通透性 研究发现,中药也可直接抑制 BBB 的通透性,保护病理条件下血脑屏障。如丹酚酸 B 能直接保护缺糖缺氧/复糖复氧引起的 BBB 破坏和降低通透性,降低辣根过氧化物酶的通过率^[53]。七叶皂苷、通窍活血汤也降低脑缺血再灌注后大鼠 BBB 透过性^[54-55]。研究表明天麻素对局灶性脑缺血损伤大鼠 BBB 的通透性具有抑制作用^[56]。安宫牛黄丸保护大鼠脑外伤后 BBB,降低其毛细血管的通透性^[57]。麝香与冰片配伍对急性脑缺血模型小鼠脑损伤具有保护作用,其机制是降低小鼠缺血状态下 BBB 的通透性^[58]。补肾益精方含药血清具有降低荧光素钠渗透大鼠脑微血管内皮细胞和星形胶质细胞共培养模型 BBB 体外模型的能力^[59]。以上研究表明,中药可通过直接抑制 BBB 的通透性,保护病理条件下 BBB。

3.1.4 调节炎症反应抑透 脑损伤早期伴有大量

细胞因子(IL-1, IL-6, TNF- α 等)的表达,引起炎症反应导致脑毛细血管内皮基底膜损害,使 BBB 通透性增加。TNF- α 对毛细血管具有直接毒性,使毛细血管通透性增加, BBB 开放。IL-1 β 是由单核巨噬细胞合成分泌的急性炎症因子,可激活小胶质细胞,使其释放细胞因子,自由基等参与脑内炎症反应。IL-6 是由 T 细胞,巨噬细胞,内皮细胞产生,参与机体免疫和炎症反应。研究发现,中药通过调节 TNF- α 和 IL-1 β , IL-6 等炎症细胞因子表达抑制 BBB 通透性改变,对病理状态下 BBB 起保护作用。如知母皂苷可通过下调 AQP-4 和 TNF- α , IL-6, IL-1 β 表达对大鼠局灶性脑缺血/再灌注损伤起保护作用^[60]。三七总皂苷通过抑制 IL-1 β , TNF- α 表达,减少 BBB 通透性,从而对脑缺血-再灌注损伤大鼠脑神经有保护作用^[61]。人参和三七配伍提取物对脑缺血再灌注损伤小鼠 BBB 具有保护作用,降低 BBB 通透性,其机制是降低脑组织 IL-1 β 和 TNF- α 的表达^[62]。也有研究表明^[63], 芒柄花素保护前脑缺血再灌注损伤中的 BBB,其机制是降低脑内 MMPs 表达,减少诱导型一氧化氮合酶, TNF- α 和 IL-1 β 等炎症因子的表达。NF- κ B 是细胞内一种重要的核转录因子,活化后参与炎症反应、免疫反应等多种生物进程, NF- κ B 的活化加强了 BBB 损伤的血管源性脑水肿。因此红景天苷可通过抑制 NF- κ B 的表达,降低大鼠脑出血后 BBB 通透性^[64]。

3.1.5 调节神经功能抑透 脑源性神经营养因子(BDNF),胶质细胞源性神经营养因子(GDNF)为重要的神经营养因子,参与调整神经元存活、血管重构及突触的功能。小续命汤可通过上调脑缺血再灌注后缺血半暗带区 BDNF, GDNF 的表达,降低病理条件下 BBB 通透性,发挥脑保护的作用^[65]。Notch 通路是动物发育过程中极其重要的信号转导通路,相邻细胞通过 Notch 受体传递信号可以调节多种细胞的增殖、分化和凋亡。Notch 通路可调控神经干细胞(NSCs)增殖分化。地黄饮子能改善大脑中动脉栓塞(MCAO)大鼠模型的神经功能缺损,减小脑梗死体积,降低脑组织病理 BBB 通透性,保护脑缺血再灌注损伤(CIRI)大鼠,其机制是激活 Notch 信号通路,上调 Notch1, Jagged1, Hes1 mRNA 的表达,促进神经干细胞(NSCs)增殖^[66]。中药对 BBB 通透性抑制作用概括见表 2。

3.2 中药对 BBB 促透作用

3.2.1 中药单体 研究表明,冰片可通过增加 CAM-1, ZO-1 和 F-actin 的表达增加血脑屏障

表 2 药物对 BBB 通透性抑制作用

Table 2 Inhibitory effect of drugs on BBB permeability

成分	药物	相关作用分子调节	模型	参考文献	
中药单体	冰片	上调 SOD, 下调 MPO, TNF- α	脑缺血再灌注损伤模型	[25]	
	木脂素	下调 HIF-1 α , VEGF 和 aq4	氧、葡萄糖剥夺 (OGD) 诱导的 BBB 损伤模型	[31]	
	川芎嗪	上调 Claudin-5, 下调 ZO-1	LPS 诱导的体外血脑屏障模型	[32-33]	
	丹酚酸 B	下调辣根过氧化物酶	缺糖缺氧/复糖复氧 BBB 模型	[53]	
	红景天苷	下调 NF- κ B	大鼠脑出血模型	[64]	
	黄芪甲苷	上调 ZO-1, Claudin-5, Occludin, 下调 cleaved Caspase-3/Caspase-3	A β_{1-42} 诱导的脑微血管内皮细胞模型	[34]	
	七叶皂苷	-	脑缺血再灌注后大鼠模型	[54]	
	千叶素 A	下调 ZO-1, claudin-1	缺氧损伤体外血脑屏障模型	[35]	
	当归多糖	下调 Claudin-5, ZO-1/抗氧化及抗炎	脑梗死大鼠模型/脑缺血再灌注损伤大鼠模型	[36,27]	
	金丝桃苷	下调 Bax/Bcl-2, cleaved Caspase-3/Caspase-3, 细胞色素-C	纤维状 A β_{1-42} 诱导的 BBB 模型	[37]	
	白果内酯	上调 NO, GSH, 下调 LDH	过氧化氢 (H ₂ O ₂) 所致体外损伤血脑屏障模型	[30]	
	知母皂苷	下调 AQP-4, TNF- α , IL-6, IL-1 β	大鼠局灶性脑缺血/再灌注损伤模型	[60]	
	紫菜多糖	上调 ZO-1, 下调 MMP-9	缺血再灌注后脑损伤模型	[38]	
	芍药苷	上调 bEnd. 3 细胞活性	纤维状 A β_{1-42} 介导的血脑屏障体外模型	[29]	
	姜黄素	上调层粘连蛋白, 下调 MMP-2	脑缺血再灌注损伤大鼠血脑屏障模型	[39]	
	绿茶多酚	上调 occludin, claudin-5, PKC α	脑缺血大鼠血脑屏障模型	[41]	
	芒柄花素	下调 MMPs, 诱导型一氧化氮合酶, TNF- α 和 IL-1 β	前脑缺血再灌注损伤模型	[63]	
	天麻素	下调 TNF- α , IL-1 β , IL-6	局灶性脑缺血损伤血脑屏障模型	[56]	
	中药有效部位	锦儿鸡总黄酮	上调 Claudin-5, Occluding, 下调 IL-1 β , TNF- α	局灶性脑缺血再灌注损伤模型	[42]
		三七总皂苷	下调 IL-1 β , TNF- α	脑缺血-再灌注损伤模型	[61]
苦菜总黄酮		上调抗氧化、自由基活性	脑缺血再灌注损伤模型	[26]	
单味中药	黄芪	下调 Claudin-5	创伤性脑损伤模型	[43]	
中药复方	星婆承气汤	下调 Bax, FasL, Fas, Caspase-3 mRNA, MDA, AOPP, TNF- α , HMGB1, MCP-1	脑出血大鼠模型	[44]	
	活血开窍汤	下调 Claudin-5	大脑中动脉梗死模型	[45]	
	新葛根芩连汤	上调 Occludin/Claudins-5	糖尿病脑病大鼠模型	[46]	
	补阳还五汤	下调 AQP4	脑缺血再灌注大鼠模型	[49]	
	通窍活血汤	上调 NA, DA, 5-HT	脑缺血再灌注小鼠模型	[55]	
	加味四君子汤	上调 Occludin, ZO-1, Claudin-1	脑缺血大鼠脑组织模型	[47]	
	四君子汤加减	上调 p-ERK1/2, p-Akt, 下调 Bax 蛋白	脑缺血/再灌注损伤大鼠模型	[48]	
	小续命汤	上调 BDNF, GDNF 蛋白表达	急性脑缺血再灌注损伤模型	[65]	
	地黄饮子	上调 Notch1, Jagged1, Hes1 mRNA 的表达	脑缺血再灌注损伤大鼠模型	[66]	
	复方红花	上调 SOD, MDA	大鼠脑挫裂模型	[28]	
	安宫牛黄丸	-	大鼠脑外伤模型	[57]	
	人参三七配伍	下调 IL-1 β , TNF- α	脑缺血再灌注损伤模型	[62]	
	黄芩苷、栀子苷配伍	上调 Na ⁺ /K ⁺ -ATP 酶 P-gp, AQP-4	保护缺血/再灌注损伤模型	[50]	
	麝香冰片配伍	-	急性脑缺血模型	[58]	
	补肾益精方	-	大鼠 Bmecs 和星形胶质细胞共培养模型	[59]	
	丹溪痛风方	上调 LRP1, 下调 RAGE	阿尔茨海默病小鼠模型	[52]	
	健脾补土法	下调 MMP-2	脑缺血再灌注大鼠模型	[40]	
	益气活血法	上调 PAI-1, t-PA	气虚血瘀脑缺血再灌注大鼠模型	[51]	

(BTB)的开放程度,提高化疗药物的透过率^[67-68]。此外,基于 hCMEC/D3 细胞的体外 BBB 模型实验表明,大麻素增强 BBB 的转运效率^[69]。

3.2.2 中药与其他药物共递送

3.2.2.1 冰片与其他药物共递送 研究表明,正常生理状态下大鼠灌胃冰片后可提高栀子苷入脑量和入脑速度,缩短达峰时间^[70]。冰片联合葛根素用药可以一定程度上促进葛根素透过小鼠脑微血管内皮细胞(bEnd.3)制备 BBB 模型或葛根素和梓醇用药促进其透过原代大鼠脑微血管内皮细胞和星型胶质细胞共培养建立体外 BBB 模型,降低其跨膜电阻^[71-72]。王刚等^[73]证明,冰片促进正常小鼠 BBB 槲皮素脑组织吸收,下调 P-gp 及增加 5-HT 表达可

能是其机制。研究表明,冰片可促进积雪草苷透过正常 SD 大鼠 BBB 增加其在脑组织中的药物浓度^[74]。研究表明,冰片可促进苯妥英钠, MnTBA 透过正常生理状态大鼠 BBB,提高脑组织中药物含量,增强药效^[75-76]。

3.2.2.2 其他药物共递送 除冰片可促进药物进入 BBB 外,其他药物如石菖蒲挥发油有效成分 β -细辛醚可提高帕金森病模型大鼠 BBB 通透性,可促进左旋多巴进入颅内,其机制是减少 ZO-1, Occludin, Actin 和 Claudin-5 的表达^[77]。并有研究表明,苏合香能够促进舒必利透过 SD 大鼠 BBB,提高脑组织中舒必利的含量^[78]。中药对 BBB 通透性促进作用概括见表 3。

表 3 药物对 BBB 通透性促进作用

Table 3 Permeability effect of drugs on BBB permeability

药物	相关作用分子	模型	参考文献
冰片	下调 CAM-1, ZO-1, F-actin	血脑肿瘤屏障模型	[67-68]
大麻酚	-	hCMEC/D3 细胞的体外血脑屏障模型	[69]
中药与其他药物共递送			
冰片与栀子苷	上调 C _{max} , AUC	大鼠灌胃模型	[70]
冰片与葛根素	-	小鼠脑微血管内皮细胞 BBB 模型	[71]
冰片与葛根素、梓醇	-	原代大鼠 Bmecs 和星型胶质细胞共培养	[72]
冰片与槲皮素	上调 5-HT, 下调 P-糖蛋白	正常小鼠血脑屏障模型	[73]
冰片与积雪草苷	-	SD 大鼠血脑屏障模型	[74]
冰片与苯妥英钠	-	Wistar 大鼠血脑屏障模型	[75]
PP 冰片与 MnTBAP	-	SD 大鼠血脑屏障模型	[76]
石菖蒲挥发油有效成分与左旋多巴	下调 ZO-1, Occludin, Actin, Claudin-5	6-羟基多巴诱导帕金森病模型	[77]
苏合香与舒必利	-	SD 大鼠胃肠屏障与血脑屏障模型	[78]

4 小结

BBB 在维持中枢内环境稳态平衡发挥着重要作用,但同时也限制了药物进入颅内,为脑部疾病药物治疗带来困难。在体 BBB 模型较难获得,建立具有重复性好、细胞纯度高、培养操作简便的体外 BBB 模型将有助于研究药物对 BBB 生理及病理状态影响的效果和机制。简单易操作的单层 Bmecs 培养模型,二培养、三培养的静态模型及动态微流控系统是目前优良的体外 BBB 模型,可以为研究中枢神经系统相关疾病的药物治疗提供很好的工具。

药物对颅内疾病的治疗发挥着重要作用,然而 BBB 的存在限制了药物进入,给颅内疾病的治疗带来困难,研究药物如何透过 BBB 或影响 BBB 的功能是中枢系统疾病治疗的关键。当前研究发现,很多中药及其活性成分、中药复方等通过抑制抗炎,抗

衰老、抗氧化及其他等药理机制达到降低 BBB 通透性,进而起到保护脑功能的效果,具有良好的研究价值。而以冰片为首的醒脑开窍类中药及部分化学药物可以开放 BBB,促进其他物质透过 BBB 进入脑组织,提高其他药物在脑组织中的药物浓度,为颅内疾病药物治疗策略带来新的方向。

综上,本文通过对近几年 BBB 模型及影响 BBB 通透性药物的总结,为下一步药物研发,尤其是中药治疗颅内疾病研究提供了新的思路,为保护病理状态下 BBB 及促进药物进入 BBB 治疗中枢性疾病提供科学的理论依据。

[参考文献]

[1] KAISAR M A, SAJJA R K, PRASAD S, et al. New experimental models of the blood-brain barrier for CNS

- drug discovery [J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2017, 12(1): 89-103.
- [2] PARDRIDGE W M. Drug Transport across the Blood-Brain Barrier [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2012, 32(11): 1959-1972.
- [3] FAAL T, PHAN DT T, DAVTYAN H, et al. Induction of mesoderm and neural crest-derived pericytes from human pluripotent stem cells to study blood-brain barrier interactions [J]. *Stem Cell Rep*, 2019, 12(3): 451-460.
- [4] YAO Y, CHEN Z L, NORRIS E H, et al. Astrocytic laminin regulates pericyte differentiation and maintains blood brain barrier integrity [J]. *Nat Commun*, 2014, 5:3413.
- [5] HELMS H C, ABBOTT N J, BUREK M, et al. *In vitro* models of the blood-brain barrier: an overview of commonly used brain endothelial cell culture models and guidelines for their use [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2016, 36(5): 862-890.
- [6] SWENNEY M D, AYYADURAI S, ZLOKOVIC B V. Pericytes of the neurovascular unit: key functions and signaling pathways [J]. *Nat Neurosci*, 2016, 19(6): 771-783.
- [7] GEYER S, JACOBS M, HSU N J. Immunity against bacterial infection of the central nervous system: an astrocyte perspective [J]. *Front Mol Neurosci*, 2019, 12:57
- [8] ZHAO Z, NELSON A R, BETSHOLTZ C, et al. Establishment and dysfunction of the blood-brain barrier [J]. *Cell*, 2015, 163(5): 1064-1078.
- [9] CALABRIA A R, WEIDENFELLER C, JONES A R, et al. Puromycin-purified rat brain microvascular endothelial cell cultures exhibit improved barrier properties in response to glucocorticoid induction [J]. *J Neurochem*, 2006, 97(4): 922-933.
- [10] ABBOTT N J, DOLMAN D E, DRNDARSKI S, et al. An improved *in vitro* blood-brain barrier model: rat brain endothelial cells co-cultured with astrocytes [J]. *Methods Mol Biol*, 2012, 814:415-430.
- [11] YANG L, SHAN K K, ABBRUSCATO T J. An *in vitro* model of ischemic stroke [J]. *Methods Mol Biol*, 2012, 814:451-466.
- [12] ARMULIK A, GENOVE G, MAE M, et al. Pericytes regulate the blood-brain barrier [J]. *Nature*, 2010, 468(7323): 557-561.
- [13] 查雨锋,傅晓钟,张顺,等. 大鼠脑微血管内皮细胞与周细胞、星形胶质细胞共培养建立体外血脑屏障模型[J]. *中国药理学通报*, 2015, 31(5): 730-735.
- [14] ZENKER D, BEGLEY D, BRATZKE H, et al. Human blood-derived macrophages enhance barrier function of cultured primary bovine and human brain capillary endothelial cells [J]. *J Physiol*, 2003, 551 (Pt3): 1023-1032.
- [15] CUCULLO L, HOSSAIN M, PUVENNA V, et al. The role of shear stress in blood-brain barrier endothelial physiology [J]. *BMC Neurosci*, 2011, doi: 10.1186/1471-2202-12-40.
- [16] VAN DER MEER A D, VAN DEN BERG A. Organ-on-chips: breaking the *in vitro* impasse [J]. *Integr Biol (Camb)*, 2012, 4(5): 461-470.
- [17] CUCULLO L, COURAUD P O, WEKSLER B, et al. Immortalized human brain endothelial cells and flow-based vascular modeling: a marriage of convenience for rational neurovascular studies [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2008, 28(2): 312-328.
- [18] BOOTH R, KIM H. Permeability analysis of neuroactive drugs through a dynamic microfluidic *in vitro* blood-brain barrier model [J]. *Ann Biomed Eng*, 2014, 42(12): 2379-2391.
- [19] PRABHAKARPANDIAN B, SHEN M C, NICHOLS J B, et al. SyM-BBB: a microfluidic blood brain barrier model [J]. *Lab Chip*, 2013, 13(6): 1093-1101.
- [20] ACHYUTA A K, CONWAY A J, CROUSE R B, et al. A modular approach to create a neurovascular unit-on-a-chip [J]. *Lab Chip*, 2013, 13(4): 542-553.
- [21] ALCENDOR D J, BLOCK FE R D, CLIFFEL D E, et al. Neurovascular unit on a chip: implications for translational applications [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2013, 4(1): 18.
- [22] DEOSARKAR S P, PRABHAKARPANDIAN B, WANG B, et al. A novel dynamic neonatal blood-brain barrier on a chip [J]. *PLoS One*, 2015, 10(11): e142725.
- [23] 蒋丽莉,郑峻松,李艳,等. 基于微流控芯片的体外血脑屏障模型构建[J]. *中国生物工程杂志*, 2017, 37(12): 1-7.
- [24] WANG Y I, ABACI H E, SHULER M L. Microfluidic blood-brain barrier model provides *in vivo*-like barrier properties for drug permeability screening [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2017, 114(1): 184-194.
- [25] 邵新然,蔡克瑞,贾茹,等. 冰片对脑缺血再灌注损伤模型大鼠炎症反应和血脑屏障通透性的影响[J]. *中国临床药理学杂志*, 2018, 34(13): 1558-1560.
- [26] WU S, WANG N, LI J, et al. Ligustilide ameliorates the permeability of the blood-brain barrier model *in vitro* during oxygen-glucose deprivation injury through HIF/VEGF pathway [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2019, 73(5): 316-325.

- [27] 彭镜,尹飞,李玉飞,等. 川芎嗪对内毒素脂多糖诱导的体外血脑屏障模型通透性增高的保护作用及其机制[J]. 解剖学杂志, 2007, 30(5): 594-596.
- [28] 李玉芳,刘坤,倪月秋,等. 川芎嗪对大鼠脑缺血再灌注后血脑屏障的保护作用及 Claudin-5 表达的影响[J]. 中国医科大学学报, 2013, 42(6): 511-514.
- [29] 何吉洪,杨海洋,龙江. 丹酚酸 B 对缺氧/复糖复氧的体外血脑屏障模型的影响[J]. 重庆医学, 2015, 44(33): 4611-4614.
- [30] 范崇桂,邢娟. 红景天苷对大鼠脑出血后血脑屏障损伤的保护作用研究[J]. 中国社区医师, 2013, 15(10): 5-7.
- [31] 张乐裕,刘晨阳,于顾然. 黄芪甲苷对 $A\beta_{1-42}$ 诱导的体外血脑屏障模型损伤的影响及机制探究[J]. 中草药, 2018, 49(17): 4099-4105.
- [32] 张继州,钟志凤,胡娟,等. 娑罗子提取物改善大鼠脑缺血再灌注后的神经功能评分并保护血脑屏障的作用研究[J]. 海峡药学, 2018, 30(4): 32-34.
- [33] 郭虹,史芳,王少峡,等. 千叶素 A 对缺氧损伤下血脑屏障通透性的影响及其机制研究[J]. 中草药, 2013, 44(16): 2278-2281.
- [34] 甘文忠,张盛. 当归多糖对脑梗死模型大鼠血脑屏障通透性的影响[J]. 中医学报, 2016, 3(31): 402-404.
- [35] 闫安,谢云亮. 当归多糖对脑缺血再灌注损伤大鼠脑组织氧化应激水平及炎症因子表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(2): 123-127.
- [36] 刘晨阳,白宽,于顾然. 金丝桃苷对 $A\beta_{1-42}$ 介导的血脑屏障体外模型损伤的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(17): 138-143.
- [37] 徐玮,梁文意,郭彩娟,等. 白果内酯通过 Nrf2/HO-1 信号通路改善氧化应激所致体外血脑屏障损伤的研究[J]. 广东药科大学学报, 2019, 35(1): 69-75.
- [38] 丁玲,胡毅,刘洁,等. 知母皂苷对大鼠局灶性脑缺血/再灌注损伤的保护作用[J]. 中国现代应用药学, 2018, 35(12): 1821-1825.
- [39] 葛建彬,宋新建,陈丹丹,等. 紫菜多糖对脑缺血再灌注损伤小鼠血脑屏障的保护作用[J]. 中国临床药理学杂志, 2018, 34(19): 2291-2294.
- [40] 刘晨阳,于顾然. 芍药苷对纤维状 $A\beta_{1-42}$ 介导的血脑屏障体外模型损伤的影响[J]. 辽宁中医杂志, 2018, 45(1): 163-166, 226.
- [41] 王一凡,杨霄鹏,曾志磊,等. 姜黄素对脑缺血再灌注损伤大鼠 MMP-2 活性和血脑屏障通透性的影响[J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(2): 280-282.
- [42] 赵祯,薛一雪. 绿茶多酚对脑缺血大鼠血脑屏障通透性的影响[J]. 解剖科学进展, 2016, 22(1): 60-64.
- [43] 顾民华,洪文,唐传其,等. 芒柄花素保护前脑缺血再灌注损伤中的血脑屏障并抑制神经炎症[J]. 暨南大学学报: 自然科学与医学版, 2015, 36(1): 34-39.
- [44] 李文君,徐振田,索大琴,等. 天麻素对大鼠局灶性脑缺血损伤的保护作用研究[J]. 中国生化药物杂志, 2014, 34(5): 40-43.
- [45] 张亚洲,何前松,胡斐然,等. 锦鸡儿总黄酮预处理对局灶性脑缺血再灌注损伤模型大鼠血脑屏障通透性的影响及机制研究[J]. 中国药房, 2018, 29(13): 1793-1797.
- [46] 陈杰,袁捷,韩祖成,等. 三七总皂苷对脑缺血-再灌注损伤大鼠神经的保护作用及机制[J]. 中国药业, 2015, 24(24): 23-25.
- [47] 刘仰斌,张志花,陈亚运. 苦菜总黄酮对脑缺血再灌注损伤大鼠血脑屏障的保护作用[J]. 宜春学院学报, 2015, 37(6): 21-23.
- [48] 张高炼,贺启荣,梁建平,等. 黄芪对创伤性脑损伤大鼠脑紧密连接相关蛋白表达及血脑屏障通透性的影响[J]. 广西医学, 2015, 37(3): 310-312.
- [49] 于淼,周喜燕,崔焕新. 星萎承气汤对脑出血大鼠模型血脑屏障通透性及神经损害、神经营养的影响[J]. 海南医学院学报, 2018, 24(14): 1387-1390.
- [50] 赵金生,孟凡征,韵殷,等. “活血开窍汤”对 MCAO 模型大鼠血脑屏障通透性的时效性影响[J]. 天津中医药, 2015, 32(11): 679-683.
- [51] 袁有才,张效科,问莉娜,等. 新葛根苓连汤对糖尿病脑病大鼠血脑屏障通透性及 occludin/Claudins-5 蛋白表达的影响[J]. 时珍国医国药, 2018, 29(9): 2108-2111.
- [52] 张运克,车志英,李可. 补阳还五汤联合骨髓间充质干细胞对脑缺血大鼠血脑屏障通透性的影响[J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(7): 1548-1553.
- [53] 刘亚芳,汪宁. 通窍活血汤对脑缺血再灌注小鼠血脑屏障通透性及脑内单胺类神经递质含量的影响[J]. 安徽医药, 2015, 19(5): 842-845.
- [54] 唐冰镕,李花,刘旺华,等. 加味四君子汤对脑缺血大鼠脑组织 Occludin, ZO-1, Claudin-1 蛋白及其 mRNA 表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(15): 57-63.
- [55] 胡康丽,李花,刘旺华,等. 四君子汤加减对脑缺血/再灌注损伤大鼠脑组织 ERK1/2, Akt, Bax 表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(13): 152-158.
- [56] 兰瑞,张勇,马云枝,等. 小续命汤对急性脑缺血再灌注损伤 BDNF, GDNF 表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(15): 149-154.
- [57] 王俊杰,楼琦,汤娟娟,等. 地黄饮子对脑缺血再灌注损伤大鼠保护作用及其机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(4): 42-48.
- [58] 别晓东,李敏,虞立,等. 复方红花饮对大鼠脑挫裂伤后血脑屏障通透性和 SOD, MDA 水平影响的实验研究[J]. 中国中医急症, 2016, 25(11): 2036-

- 2038,2080.
- [59] 朱文锐. 安宫牛黄丸对脑外伤后血脑屏障损伤及脑水肿作用机制的研究[J]. 中国药物经济学, 2012(6):38-39.
- [60] 张楠, 黄鑫, 戴雨霖, 等. 人参三七配伍对脑缺血再灌注损伤小鼠血脑屏障通透性及脑组织炎症反应的影响[J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(7): 1580-1583.
- [61] 李敏, 王斌, 曹慧, 等. 基于 AQP-4、P-gp 黄芩苷、栀子苷配伍对缺血/再灌注损伤大鼠血脑屏障保护机制研究[J]. 中国药理学通报, 2017, 33(3): 443-444.
- [62] 姚洪武, 王建, 刘岩, 等. 麝香与冰片不同配比对急性脑缺血模型小鼠血脑屏障通透性的影响[J]. 成都中医药大学学报, 2011, 34(4): 62-64, 80.
- [63] 王丹丹, 史国娟, 于顾然. 补肾益精方含药血清对 β -淀粉样蛋白干预血脑屏障体外模型渗透性的影响[J]. 江苏中医药, 2015, 47(10): 72-74.
- [64] 张晓杰, 费洪新, 刘得水, 等. 丹溪痛风方对阿尔茨海默病小鼠血脑屏障通透性和海马 β 淀粉样蛋白-(1-40) 的影响及机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(22): 118-123.
- [65] 李花, 刘旺华, 周小青, 等. 健脾补土法对脑缺血再灌注大鼠脑组织 MMP-2 的表达及血脑屏障通透性的影响[J]. 湖南中医杂志, 2013, 29(2): 115-117.
- [66] 任立军, 李净, 何玲, 等. 益气活血法对脑缺血再灌注大鼠血脑屏障通透性及 t-PA/PAI 的影响[J]. 包头医学院学报, 2018, 34(4): 94-96.
- [67] WU T, ZHANG A, LU H, et al. The role and mechanism of borneol to open the blood-brain barrier [J]. Integr Cancer Ther, 2018, 17(3): 806-812.
- [68] 吴引萍, 郭树林. 冰片对血脑肿瘤屏障开放程度及紧密连接蛋白表达的影响[J]. 癌症进展, 2016, 14(10): 986-992.
- [69] APARICIO-BLANCO J, ROMERO IA, MALE D K, et al. Cannabidiol enhances the passage of lipid nanocapsules across the blood-brain barrier both *in vitro* and *in vivo*[J]. Mol Pharm, 2019, 16(5):1999-2010.
- [70] 董小平, 阮鸣, 喻斌, 等. 不同剂量冰片对栀子苷在大鼠脑内浓度的影响[J]. 中草药, 2012, 43(7): 1366-1370.
- [71] 杨乐, 吴军勇, 胡雄彬, 等. 冰片对葛根素透过体外模拟血脑屏障的影响[J]. 中草药, 2017, 48(16): 3408-3411.
- [72] 汤丹丹, 张焦, 王计瑞, 等. 冰片促进葛根素和梓醇口服收入脑的研究[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(14): 2720-2726.
- [73] 王刚, 曾南, 王建, 等. 合成冰片影响血脑屏障开放促槲皮素脑吸收的研究[J]. 中药药理与临床, 2012, 28(1): 65-68.
- [74] 侯天衡, 李晓波, 彭崇胜. 冰片对积雪草苷透过大鼠血脑屏障的影响[J]. 中国药房, 2016, 27(28): 3939-3941.
- [75] 任赵燕, 张卫国, 杨莹, 等. 冰片对苯妥英钠血药及血脑浓度影响的实验研究[J]. 山东中医杂志, 2015, 34(8): 605-617.
- [76] 刁尧, 刘新宁, 王瓯越, 等. 冰片对 MnTBAP 透过大鼠血脑屏障的影响[J]. 解剖科学进展, 2013, 19(5): 410-412.
- [77] 黄丽平, 马阮昕, 冯真英, 等. 石菖蒲挥发油有效成分联合左旋多巴对 6-羟基多巴诱导帕金森病模型大鼠血脑屏障的影响[J]. 时珍国医国药, 2017, 28(1): 59-62.
- [78] 刘萍, 于绍帅, 何新荣. MD-HPLC 联用研究中药苏合香对西药舒必利脑药和血药浓度的影响[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(21): 3307-3311.

[责任编辑 周冰冰]