

文章编号:1003-2754(2020)11-1004-07

doi:10.19845/j.cnki.zfysjbbz.2020.0507

脂肪酸结合蛋白7对脑缺血再灌注大鼠血脑屏障通透性的影响

陈丽, 折霞, 谷超超, 张晓辉, 赵嘉欣, 袁蕊, 李锐

摘要: 目的 探究脂肪酸结合蛋白7(FABP7)对脑缺血再灌注(I/R)大鼠血脑屏障(BBB)通透性的影响,及其涉及的机制。方法 将大鼠脑微血管内皮细胞和星形胶质细胞共培养以建立BBB细胞模型。用氧葡萄糖剥夺再复氧(OGD/R)方式建立I/R损伤BBB模型;用FABP7重组蛋白(rh-FABP7)单独处理,或与S7155共处理此细胞模型。采用ENDOHM仪器、Western blotting法、流式细胞术分别测定细胞跨内皮电阻(TEER)、FABP7和紧密连接(TJ)以及基质金属蛋白酶(MMP)蛋白表达、细胞凋亡。建立大鼠脑I/R模型,腹腔注射rh-FABP7,采用神经功能评分法、湿重和干重法、伊文思蓝染色法分别测定大鼠神经功能、脑含水量、BBB通透性。结果 过表达FABP7逆转OGD/R诱导的FABP7和TJ蛋白表达、及TEER的下调,以及MMP2/9表达和细胞凋亡的上调($P < 0.05$)。S7155处理促进FABP7对MMP2/9和TJ蛋白表达、TEER、以及细胞凋亡的作用($P < 0.05$)。过表达FABP7逆转I/R诱导的大鼠神经功能评分、脑含水量、BBB通透性上调及FABP7蛋白表达下调($P < 0.05$)。结论 FABP7通过抑制MMP2/9,减轻脑I/R对BBB完整性的破坏。

关键词: FABP7; 血脑屏障; MMP2/9; 脑缺血再灌注

中图分类号:R743.3

文献标识码:A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Effect of fatty acid binding protein 7 (FABP7) on the permeability of blood-brain barrier in rats with cerebral ischemia-reperfusion CHEN Li, ZHE Xia, GU Chaochao, et al. (The Third Department of Neurology, Shanxi Provincial People's Hospital, Xi'an 710068, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effect of fatty acid binding protein 7 (FABP7) on blood-brain barrier (BBB) permeability in cerebral ischemia/reperfusion (I/R) rats and the mechanisms involved. **Methods** BBB cell model was established by co-culture of rat brain microvascular endothelial cells and astrocytes. The BBB model of I/R injury was established by using oxygen-glucose deprivation and reoxygenation (OGD/R) method. This model was treated with the FABP7 recombinant protein (rh-FABP7) alone or together with S7155. ENDOHM instrument, Western blotting and flow cytometry were used to determine the transendothelial electrical resistance (TEER), FABP7, TJ and matrix metalloproteinase (MMP) protein levels, and apoptosis. The rat brain I/R model was established, and rh-FABP7 was injected intraperitoneally. The neurological function score, wet and dry weight method, and Evans blue staining were used to determine the neurological function, brain water content, and BBB permeability of rats. **Results** FABP7 overexpression reversed the OGD/R-induced down-regulation of TEER, and FABP7 and TJ protein expression, as well as the up-regulation of MMP2/9 expression and apoptosis ($P < 0.05$). S7155 treatment promoted the effect of FABP7 on MMP2/9 and TJ protein levels, TEER, and apoptosis ($P < 0.05$). Moreover, FABP7 overexpression reversed the I/R-induced increase of neural function score, brain water content, and BBB permeability and decrease of FABP7 protein level in rats ($P < 0.05$). **Conclusion** FABP7 alleviated the damage of brain I/R to BBB integrity by inhibiting MMP2/9.

Key words: FABP7; Blood-brain barrier; MMP2/9; Cerebral ischemia/reperfusion

急性缺血性脑卒中可导致神经元损伤,而恢复缺血区域的血流会部分加重缺血性脑损伤,使病情恶化,这种病理过程称为脑缺血/再灌注(ischemia/reperfusion, I/R)^[1]。I/R损伤是一个复杂的病理过程,其机制尚不完全清楚。血脑屏障(blood brain barrier, BBB)主要由毛细血管内皮细胞,基底膜,星形胶质细胞足突和连续的紧密连接(tight junction, TJ)组成^[2]。BBB通透性增加导致其功能障碍是出

血性转化和I/R损伤的重要机制^[3,4]。因此,深入了解血脑屏障破坏所致脑损伤的机制具有重要意义

收稿日期:2020-07-08;修订日期:2020-09-26

基金项目:陕西省自然科学基金重点项目:TREM2/mTORC1/TFEB介导小胶质细胞衰老的研究(2019JZ-51)

作者单位:(陕西省人民医院神经内三科,陕西 西安 710068)

通讯作者:折霞, E-mail: youlanlana@126.com

义。

脂肪酸结合蛋白(Fatty acid-binding proteins, FABP7)表达于发育和成熟大脑的星形胶质细胞中,可作为亲脂性分子的细胞伴侣^[5]。最近的研究显示 FABP7 对脊髓损伤、活性氧毒性等导致的中枢神经系统损伤有保护作用^[6,7]。Rui 等证明 FABP7 通过微囊蛋白 1(caveolin-1)/MMP 信号通路保护创伤性脑损伤后的 BBB 完整性^[8]。本研究主要探讨 FABP7 在 I/R 损伤诱导的 BBB 障碍中的作用,及其涉及的主要机制。

1 材料和方法

1.1 主要材料和仪器 雄性 Sprague-Dawley 大鼠(250~280 g)购自于西安交通大学医学院实验动物中心,所有动物实验均得到西安交通大学医学院实验动物管理委员会的批准。大鼠脑微血管内皮细胞(Rat brain microvascular endothelial cells, RBMEC)、大鼠星形胶质细胞(Rat astrocytes, RA)购自于上海细胞生物研究所。人重组 FABP7(recombinant human fatty acid-binding protein 7, rh-FABP7)购自于美国 Proteintech 公司。聚偏二氟乙烯膜购自于美国 Costar Corning 公司。IV 型胶原购自于美国 BD Bioscience 公司。胎牛血清、DMEM(dulbecco's modified eagle medium)购自于美国 Gibco 公司。S7155、伊文思蓝(Evans blue, EB)染料、二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)购自于中国大连 Takara 公司。凋亡检测试剂盒购自于美国 Sigma 公司。CellLytic MEM 蛋白提取试剂盒购自于美国 Sigma-Aldrich 公司。辣根过氧化物酶标记的二抗购自于中国碧云天公司。FABP7(1:800)、Claudin-5(1:400)、Occludin(1:400)、MMP-2/9(matrix metalloproteinase-2/9; 1:800)抗体均购自美国 Abcam 公司。ENDOHM 仪器购自于美国 World Precision Instruments 公司。凝胶成像仪购自于美国 CARE-STREAM Gel Logic 公司。酶标仪、CO₂ 细胞恒温培养箱购自于美国 Thermo 公司。超净工作台购自于中国海尔。流式细胞仪购自于德国 Thermo Fisher 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 RBMEC 和 RA 细胞置于含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基,并于含 5% CO₂ 的 37 °C 培养箱中培养。rh-FABP7 溶于 DMSO,保存于 -80 °C 备用。

1.2.2 血脑屏障(blood brain barrier, BBB)细胞模型建立 用聚酯膜(孔径:0.4 μm 或 12 μm;插入直径:12 或 24 mm)进行共培养实验。将 IV 型胶

原涂于聚酯膜上表面,RA 细胞(1×10^4)接种于下表面。6 h 后,将聚酯膜翻转,并于六孔板中培养。RBMEC 细胞以每平方厘米 2.5×10^4 的密度接种于上表面。将共培养细胞置于含 95% 空气、5% CO₂ 的常氧条件下培养。共培养 4~7 d 后可用于后续实验。

1.2.3 缺血再灌注(ischemia reperfusion, I/R)损伤的细胞模型建立 RA/RBMEC 共培养物受到氧葡萄糖剥夺(oxygen-glucose deprivation, OGD)损伤。将共培养物置于无葡萄糖和血清的 DMEM 培养基中,并于 37 °C 低氧培养箱(5% CO₂, 95% N₂)中培养 5 h。OGD 处理结束后,在常氧条件下,将细胞置于含葡萄糖和 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基中复氧 24 h。正常条件下培养的细胞作为对照。

1.2.4 细胞处理 Control 组:正常培养 BBB 细胞模型;OGD/R 组:用 OGD 处理 BBB 细胞模型 5 h,再恢复正常培养 24 h;OGD/R + rh-FABP7 组:OGD/R 处理 BBB 细胞模型结束后,将 100 ng/mL rh-FABP7 与损伤后细胞共孵育 24 h;OGD/R + rh-FABP7 + S7155 组:OGD/R 处理 BBB 细胞模型结束后,用 100 ng/mL rh-FABP7 和 4 nM S7155 共同处理损伤细胞 24 h。

1.2.5 跨内皮电阻(transendothelial Electrical Resistance, TEER)测定 已建立的共培养物电阻用 ENDOHM 仪器测定。最终的 TEER 值是用测量值减去空白过滤器的电阻值。每组实验重复 3 次。

1.2.6 细胞凋亡检测 使用 Annexin V-FITC/PI 双染法测定 RBMEC 细胞凋亡。使用冷的 PBS 洗涤细胞(两次),并重悬于含 10 μl Annexin V-FITC 和 10 μl PI 的结合缓冲液中。室温避光孵育 15 min 后,用流式细胞仪检测凋亡。

1.2.7 Western blotting 测定 CellLytic MEM 蛋白提取试剂盒用于提取 RBMEC 细胞中膜蛋白。RIPA 裂解液用于提取 RBMEC 细胞总蛋白。10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶用于分离 40 μl 蛋白样品,电泳在 120 V 恒压下进行 2 h。在 250 mA 恒流下将蛋白样品转至聚偏二氟乙烯膜。将膜置于 5% 脱脂奶粉并于室温孵育 2 h,然后与稀释后的一抗在 4 °C 过夜孵育。洗膜 3 次后,将膜与稀释后的二抗在室温孵育 2 h。再次洗膜 3 次,使用增强型化学发光试剂检测蛋白印迹,并用 Quantity One 软件进行密度分析。

1.2.8 大鼠脑 I/R 模型建立 用 10% 水合氯醛(350 mg/kg)麻醉大鼠,将 4-0 单丝尼龙缝合线通过颈外动脉残端,插入颈内动脉,并轻轻向前以阻塞

大脑中动脉。在大脑中动脉闭塞 2 h 后,将缝合线移除以恢复血流。整个手术过程用直肠探针监测体温,并将体温保持在 $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 。分组处理如下: Sham 组:大鼠进行手术过程,但不阻塞大脑中动脉。I/R 组:大鼠动脉闭塞 2 h 后恢复血流。I/R + DMSO 组:I/R 模型建立 1 h 后,大鼠腹腔注射 DMSO ($30 \mu\text{g}/\text{Kg}$)。I/R + rh-FABP7 组:I/R 模型建立 1 h 后,大鼠腹腔注射 rh-FABP7 ($30 \mu\text{g}/\text{kg}$)。神经功能在 I/R 模型建立后 7 d 进行评估。脑含水量、EB 外渗在 I/R 模型建立后 24 h 进行测定。

1.2.9 神经功能评分 以姿势反射测试中的评分量表评估大鼠的神经功能缺损:0 级 = 无可见功能障碍;1 级 = 前肢屈曲;2 级 = 动物尾巴被拉动时单向旋转;3 级 = 圆周和滚动运动;4 级 = 意识水平下降;5 级 = 死亡。

1.2.10 脑含水量测定 用湿重和干重法测定大鼠脑含水量。动物处理完成后,将大脑分为同侧半球(I/R 侧)和对侧半球。同侧半球称重以获得湿重,然后在 110°C 干燥 24 h 以获得干重。同侧半球脑含水量计算如下: $[(\text{湿重} - \text{干重})/\text{湿重}] \times 100\%$ 。

1.2.11 EB 外渗测定 在大鼠处死前 2 h,将 2% EB 染料($2 \text{ mL}/\text{Kg}$)通过尾静脉注射到大鼠体内。2 h 后,将脑组织取出称重, 37°C 下用甲酰胺孵育 24 h。然后,以 2000 g 离心 10 min,收集上清。最后测量 632 nm 处的光密度。

1.3 统计学分析 使用 SPSS 22.0 进行统计分析。所有数据以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示。Student's *t* 检验和单因素方差分析用于分析统计差异。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 OGD/R 处理后 BBB 完整性、FABP7 蛋白表达和细胞凋亡变化 与 Control 组相比,OGD/R 组的 TEER 值显著下降($P < 0.01$,见图 1A)。TJ 蛋白(Claudin-5、Occludin)的表达与 Control 组相比也显著下调($P < 0.05$,见图 1B),差异有统计学意义,表明 OGD/R 处理破坏 BBB 的完整性。FABP7 蛋白水平在 OGD/R 处理后下调($P < 0.05$,见图 1C),而细胞凋亡在 OGD/R 处理后显著上调($P < 0.01$,见图 1D),差异有统计学意义。

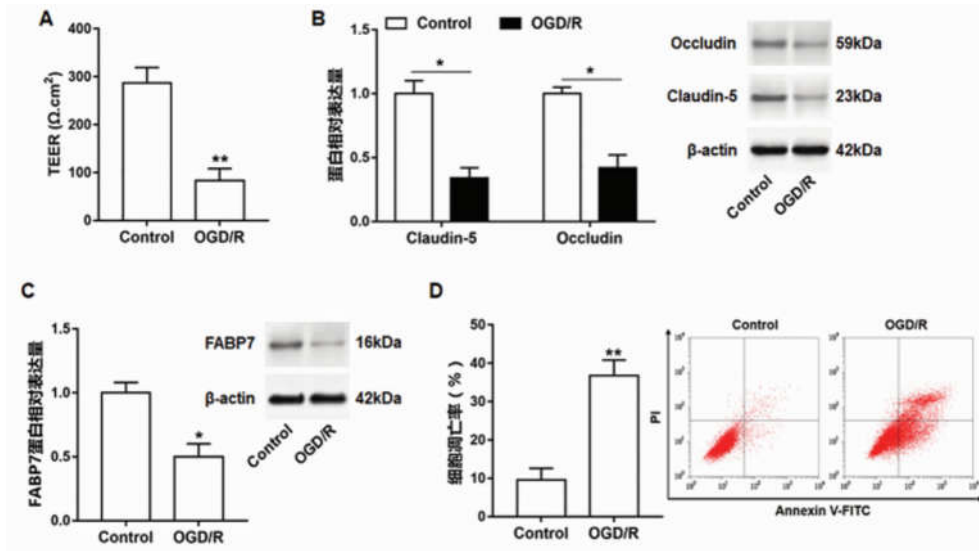
2.2 过表达 FABP7 减轻 OGD/R 处理对 BBB 完整性的破坏 与 Control 组相比,OGD/R 组 FABP7 蛋白表达减少($P < 0.05$,见图 2A),而 OGD/R + rh-FABP7 组的 FABP7 蛋白水平较 OGD/R 组

显著上调($P < 0.01$,见图 2A),差异具有统计学意义。OGD/R 组 TEER 值及 Claudin-5、Occludin 蛋白表达较 Control 组显著下调,而细胞凋亡较 Control 组增加($P < 0.01$,见图 2B-2D)。与 OGD/R 组相比,OGD/R + rh-FABP7 组的 TEER 值及 TJ 蛋白表达显著增高,细胞凋亡显著降低($P < 0.05$,见图 2B-2D),差异具有统计学意义。

2.3 过表达 FABP7 逆转 OGD/R 处理诱导的 MMP2/9 表达增加 与 Control 组相比,OGD/R 组 MMP2、MMP-9 蛋白水平显著上升($P < 0.01$,见图 3),差异有统计学意义。而 OGD/R + rh-FABP7 组的 MMP2/9 蛋白水平较 OGD/R 组显著下降($P < 0.05$,见图 3),差异有统计学意义。

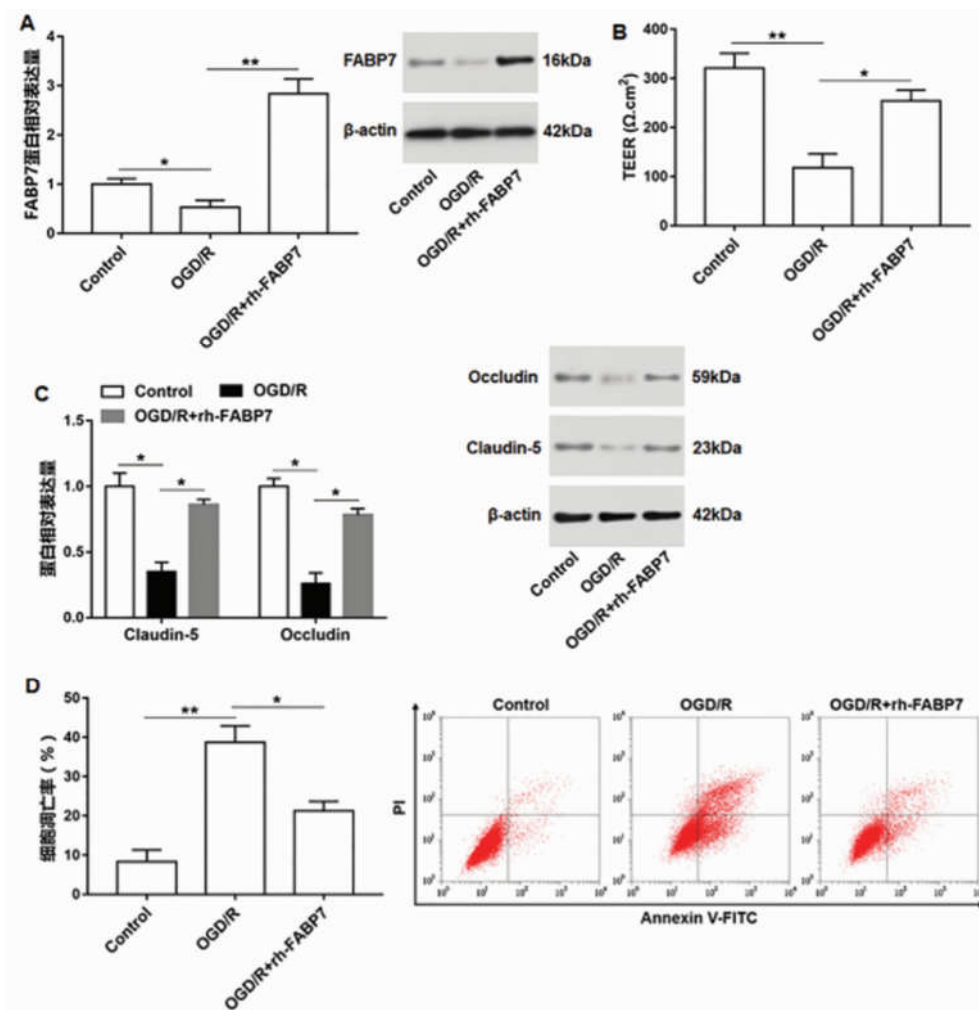
2.4 FABP7 通过抑制 MMP2/9 减轻 OGD/R 处理对 BBB 完整性的破坏 S7155 是一种有效的 MMP 抑制剂。与 OGD/R + DMSO 组相比,OGD/R + rh-FABP7 组 MMP2/9 蛋白水平显著减少($P < 0.05$,见图 4A)。OGD/R + rh-FABP7 + S7155 组 MMP2/9 蛋白水平较 OGD/R + rh-FABP7 组显著减少($P < 0.05$,见图 4A),差异有统计学意义。OGD/R + rh-FABP7 组 TEER 值及 Claudin-5、Occludin 蛋白表达较 OGD/R + DMSO 组显著上调,而细胞凋亡较 OGD/R + DMSO 组显著下降($P < 0.05$,见图 4B-4D)。与 OGD/R + rh-FABP7 组相比,OGD/R + rh-FABP7 + S7155 组 TEER 值及 TJ 蛋白表达显著升高,细胞凋亡显著下降($P < 0.05$,见图 4B-4D),差异有统计学意义。

2.5 过表达 FABP7 缓解 I/R 诱导的大鼠神经功能和 BBB 完整性的损伤 与 Sham 组相比,I/R 组大鼠脑组织中 FABP7 蛋白水平降低($P < 0.05$,见图 5A),而 I/R + rh-FABP7 组 FABP7 蛋白表达较 I/R + DMSO 组显著升高($P < 0.01$,见图 5A),差异有统计学意义。与 Sham 组相比,I/R 组大鼠神经功能评分明显增高($P < 0.01$,见图 5B),而 I/R + rh-FABP7 组大鼠神经功能评分较 I/R + DMSO 组显著减少($P < 0.05$,见图 5B),差异有统计学意义。I/R 组大鼠脑含水量较 Sham 组显著上调($P < 0.01$,见图 5C),而与 I/R + DMSO 组相比,I/R + rh-FABP7 组大鼠脑含水量显著下调($P < 0.05$,见图 5C),差异有统计学意义。I/R 组大鼠 BBB 通透性较 Sham 组显著增高($P < 0.01$,见图 5D),而与 I/R + DMSO 组相比,I/R + rh-FABP7 组大鼠 BBB 通透性显著下降($P < 0.05$,见图 5D),差异有统计学意义。



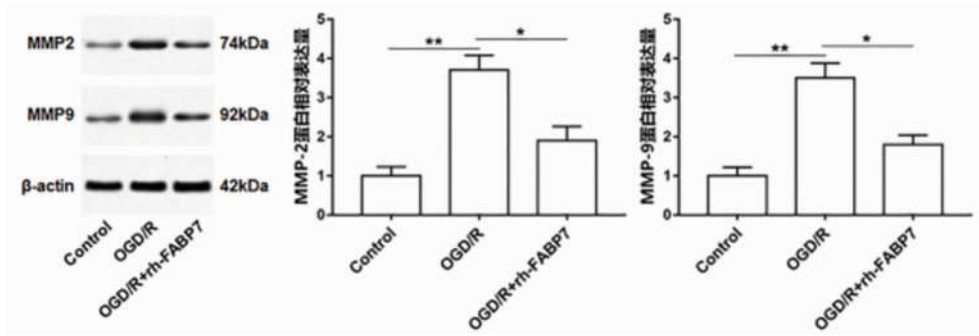
A: OGD/R 处理 BBB 细胞模型,用 ENDOHM 仪器测定 TEER 值;B: OGD/R 处理 BBB 细胞模型,Western blotting 检测 RBMEC 细胞 Claudin-5、Occludin 蛋白表达;C: OGD/R 处理 BBB 细胞模型,Western blotting 检测 RBMEC 细胞 FABP7 蛋白表达;D: OGD/R 处理 BBB 细胞模型,流式细胞术检测 RBMEC 细胞凋亡。* $P < 0.05$

图 1 OGD/R 处理对 BBB 通透性、FABP7 蛋白表达和细胞凋亡的影响

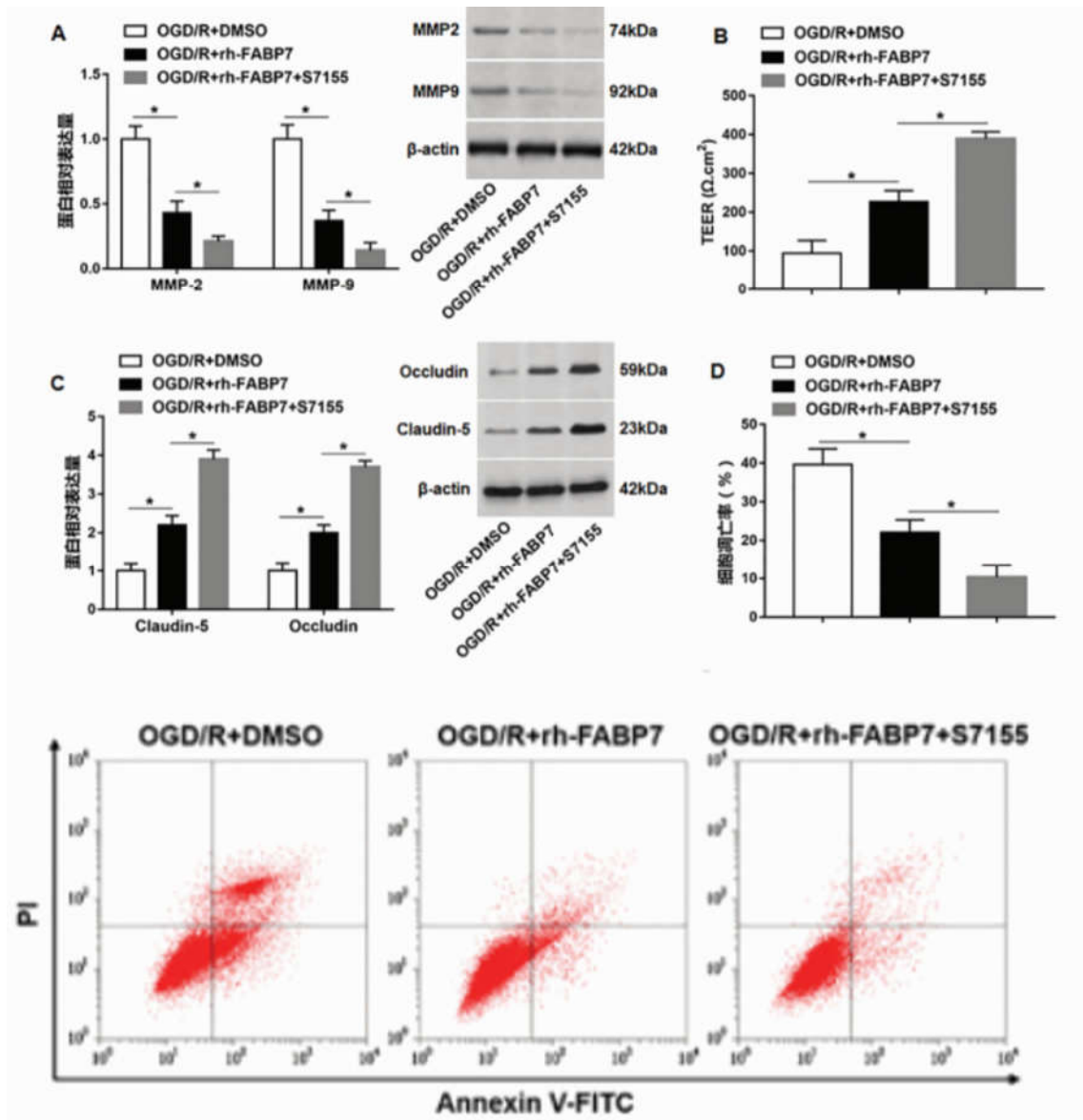


A: 用 rh-FABP7 (100 ng/mL) 处理 OGD/R 损伤 BBB 模型,Western blotting 检测 FABP7 蛋白表达;B: 用 rh-FABP7 (100 ng/mL) 处理 OGD/R 损伤 BBB 模型,ENDOHM 仪器测定 TEER 值;C: 用 rh-FABP7 (100 ng/mL) 处理 OGD/R 损伤 BBB 模型,Western blotting 检测 Claudin-5、Occludin 蛋白表达;D: 用 rh-FABP7 (100 ng/mL) 处理 OGD/R 损伤 BBB 模型,流式细胞术检测细胞凋亡。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

图 2 过表达 FABP7 对 OGD/R 损伤细胞 BBB 通透性、FABP7 蛋白表达和凋亡的影响

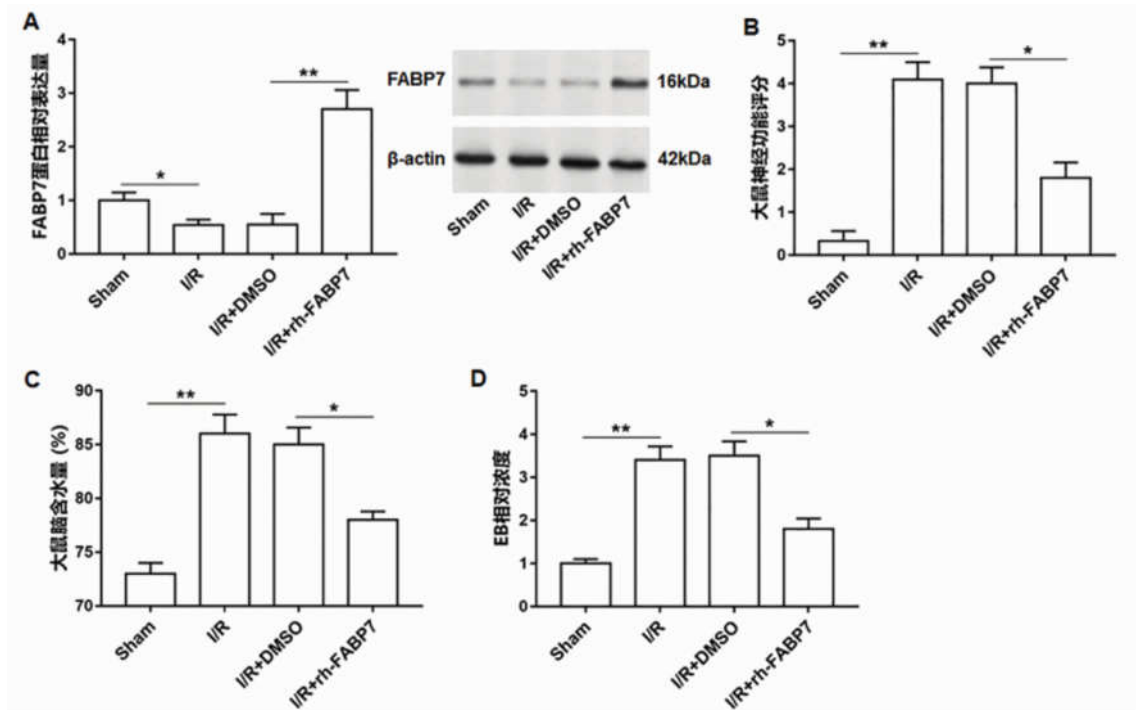


用 rh-FABP7(100 ng/mL)处理 OGD/R 损伤 BBB 模型,Western blotting 检测 MMP-2/9 蛋白表达。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$
图3 过表达 FABP7 对 OGD/R 损伤细胞 MMP2/9 蛋白水平的影响



A:用 rh-FABP7(100 ng/mL)单独处理或与 MMP 抑制剂(S7155,4 nM)共同处理 OGD/R 损伤 BBB 模型,Western blotting 检测 MMP-2/9 蛋白表达;B:用 rh-FABP7(100 ng/mL)单独处理或与 S7155(4 nM)共同处理 OGD/R 损伤 BBB 模型,ENDOHM 仪器测定 TEER 值;C:用 rh-FABP7(100 ng/mL)单独处理或与 S7155(4 nM)共同处理 OGD/R 损伤 BBB 模型,Western blotting 检测 Claudin-5、Occludin 蛋白表达。D:用 rh-FABP7(100 ng/mL)单独处理或与 S7155(4 nM)共同处理 OGD/R 损伤 BBB 模型,流式细胞术检测细胞凋亡。* $P < 0.05$

图4 S7155 处理促进 FABP7 对 MMP-2/9 和 BBB 完整性的影响



A: 在 I/R 大鼠模型腹腔注射 DMSO(30 $\mu\text{g}/\text{Kg}$) 或 rh-FABP7(30 $\mu\text{g}/\text{kg}$), Western blotting 检测 FABP7 蛋白表达; B: 在 I/R 大鼠模型腹腔注射 DMSO(30 $\mu\text{g}/\text{Kg}$) 或 rh-FABP7(30 $\mu\text{g}/\text{kg}$), 以姿势反射测试中的评分量表评估大鼠神经功能; C: 在 I/R 大鼠模型腹腔注射 DMSO(30 $\mu\text{g}/\text{Kg}$) 或 rh-FABP7(30 $\mu\text{g}/\text{kg}$), 用湿重和干重法测定大鼠脑含水量; D: 在 I/R 大鼠模型腹腔注射 DMSO(30 $\mu\text{g}/\text{Kg}$) 或 rh-FABP7(30 $\mu\text{g}/\text{kg}$), 用 EB 染色法测定 BBB 通透性。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

图5 过表达 FABP7 对 I/R 大鼠模型神经功能和 BBB 完整性的影响

3 讨论

缺血性卒中是常见的脑血管疾病,其特征是阻塞脑动脉,减少对大脑的氧气和葡萄糖供应并造成脑细胞损害^[9]。恢复大脑的血流在缺血性脑卒中的治疗中至关重要,但再灌注本身可引起额外的损害,称为 I/R 损伤^[10]。脑 I/R 损伤是神经系统的重要病理过程^[11]。缺血性脑卒中是全球死亡和致残的第三大原因^[12]。目前,缺血性脑卒中的治疗手段十分有限,主要是药物治疗、溶栓、血管内治疗和症状管理^[13]。因此,确定 I/R 损伤的潜在机制并找到应对措施具有重要意义。

I/R 损伤涉及多个病理过程,但一个关键后果是 BBB 功能障碍。BBB 是一种动态、复杂的结构,可防止大脑受损并控制大脑和血液之间的离子和分子交换^[14]。脑微血管内皮细胞与 TJ 蛋白,周细胞,星形细胞足突,神经元和细胞外基质紧密结合,形成 BBB 的神经血管单位^[15]。据报道, BBB 障碍在 I/R 的病理生理中起至关重要的作用^[1]。随着血脑屏障通透性的增加,脑血栓促进脑水肿的形成,增加颅内压并促进脑疝^[16]。TJs 包括 Occludin, Claudin-5 和连接粘附分子-1(junction adhesion molecules-1, JAM-1) 3 种跨膜蛋白。多项研究表明, TJ 蛋白,包括 Oc-

cludin, Claudin-5, 都参与了缺血性脑病的发病^[17]。对脑 I/R 动物模型的研究表明, TJ 相关蛋白表达降低可导致 BBB 功能障碍^[16]。本研究中,我们使用 RBMEC 和 RA 细胞共培养的方法建立 BBB 细胞模型,并使用 OGD/R 处理建立 I/R 损伤 BBB 细胞模型,结果显示 OGD/R 损伤组的 TEER 值和 TJ 蛋白表达显著下调,而细胞凋亡显著上调。接下来我们建立 I/R 大鼠模型,发现模型组大鼠的神经功能评分、脑含水量、BBB 通透性都较 Sham 组显著升高。这些结果显示 I/R 发生后,大鼠 BBB 完整性受到破坏。我们还发现不论在 I/R 损伤 BBB 细胞模型,还是 I/R 大鼠模型, FABP7 蛋白表达都较对照组下调,显示 FABP7 可能参与 I/R 诱导 BBB 损伤的进程。

FABP7 是低分子量蛋白(约 15 kDa),可在多种细胞和器官中充当疏水分子的细胞伴侣。FABP7 通过控制脂肪酸的摄取和细胞内分布,参与代谢、信号转导、基因调控^[18]。在受伤的大脑中, FABP7 在星形胶质细胞中表达增加,被称作参与星形细胞分化和迁移的营养因子,为血管形态和功能提供必要支持^[19]。FABP7 与许多神经疾病有关。Senbokuya 等表明 FABP7 具有神经保护作用,可能与脊髓损伤后星形胶质细胞的调节有关^[1]。Ariful Islam 等报道,

FABP7 通过脂滴的形成保护星形胶质细胞免受活性氧的毒害^[7]。Rui 等证明星状细胞来源的 FABP7 通过 caveolin-1/MMP 通路保护创伤性脑损伤后的血脑屏障完整性^[8]。本研究中,我们使用 rh-FABP7 在 I/R 损伤 BBB 细胞模型中过表达 FABP7,结果发现过表达 FABP7 逆转 OGD/R 诱导的 TEER 值和 TJ 蛋白表达的减少,及细胞凋亡的增加。接下来我们在 I/R 大鼠模型中过表达 FABP7,发现大鼠神经功能评分、脑含水量、BBB 通透性都有一定程度的下降。显示 FABP7 对 I/R 诱导的 BBB 损伤有一定保护作用。

MMPs 是体内最重要的细胞外基质降解酶,在 I/R 中起重要作用。当 MMP-9 在缺血性脑组织中的表达和活性增加时,它通过降解细胞外基质提高 BBB 的通透性,促进血管源性脑水肿,增加炎症细胞浸润,促进炎症反应和细胞凋亡,从而加剧 I/R 损伤。因此,通过抑制 MMP-9 的表达和活性,可部分缓解 BBB 功能障碍和缺血性脑损伤^[1]。我们的结果表明 OGD/R 诱导可促进 BBB 细胞模型中 MMP-2/9 的蛋白表达,而过表达 FABP7 可抑制这种作用。此外,FABP7 与 MMP 抑制剂共处理,可增强 FABP7 对 TEER 和 TJ 蛋白表达的促进作用,和对细胞凋亡的抑制作用,显示 FABP7 可能通过抑制 MMP-2/9,发挥保护 BBB 完整性的作用。

总之,我们证明在 BBB 细胞模型中,FABP7 通过抑制 MMP-2/9 逆转 OGD/R 诱导的 TEER 和 TJ 蛋白表达下调,细胞凋亡上调。此外,过表达 FABP7 可减轻脑 I/R 诱导的大鼠神经功能和 BBB 通透性的破坏。我们的结果表明 FABP7 通过抑制 MMP-2/9,保护 BBB 完整性免受 I/R 损伤的破坏,为治疗脑 I/R 提供新的思路。

[参考文献]

- [1] Guo P, Jin Z, Wu H, et al. Effects of irisin on the dysfunction of blood-brain barrier in rats after focal cerebral ischemia/reperfusion [J]. *Brain and Behavior*, 2019, 9(10): e01425.
- [2] Yang Z, Huang C, Wu Y, et al. Autophagy protects the blood-brain barrier through regulating the dynamic of Claudin-5 in short-term starvation [J]. *Frontiers in Physiology*, 2019, 10: 2-12.
- [3] Krueger M, Hrtig W, Frydrychowicz C, et al. Stroke-induced blood-brain barrier breakdown along the vascular tree-No preferential affection of arteries in different animal models and in humans [J]. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 2017, 37(7): 2539-2554.
- [4] Li Y, Zhong W, Jiang Z, et al. New progress in the approaches for blood-brain barrier protection in acute ischemic stroke [J]. *Brain Research Bulletin*, 2019, 144(1): 46-57.
- [5] Zhang W, Chen R, Yang T, et al. Fatty acid transporting proteins: Roles in brain development, aging, and stroke [J]. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 2018, 136(1): 35-45.
- [6] Senbokuya N, Yoshioka H, Yagi T, et al. Effects of FABP7 on functional recovery after spinal cord injury in adult mice [J]. *Journal of Neurosurgery: Spine*, 2019, 31(2): 291-297.
- [7] Islam A, Kagawa Y, Miyazaki H, et al. FABP7 Protects Astrocytes Against ROS Toxicity via Lipid Droplet Formation [J]. *Molecular Neurobiology*, 2019, 56(8): 5763-5779.
- [8] Rui Q, Ni H, Lin X, et al. Astrocyte-derived fatty acid-binding protein 7 protects blood-brain barrier integrity through a caveolin-1/MMP signaling pathway following traumatic brain injury [J]. *Exp Neurol*, 2019, 322: 113044-113055.
- [9] Li WH, Cheng X, Yang YL, et al. Kaempferol attenuates neuroinflammation and blood brain barrier dysfunction to improve neurological deficits in cerebral ischemia/reperfusion rats [J]. *Brain Res*, 2019, 1722: 146361-146371.
- [10] Wicha P, Tocharus J, Janyou A, et al. Hexahydrocurcumin alleviated blood-brain barrier dysfunction in cerebral ischemia/reperfusion rats [J]. *Pharmacological Reports*, 2020, 13: 659-671.
- [11] Sui R, Zang L, Bai Y. Administration of troxerutin and cerebroprotein hydrolysate injection alleviates cerebral ischemia/reperfusion injury by down-regulating caspase molecules [J]. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2019, 15(1): 2345-2352.
- [12] Mukherjee A, Sarkar S, Jana S, et al. Neuro-protective role of nano-capsulated curcumin against cerebral ischemia-reperfusion induced oxidative injury [J]. *Brain Res*, 2019, 1704(1): 164-173.
- [13] Xiang B, Zhong P, Fang L, et al. miR-183 inhibits microglia activation and expression of inflammatory factors in rats with cerebral ischemia reperfusion via NF-kappaB signaling pathway [J]. *Exp Ther Med*, 2019, 18(4): 2540-2546.
- [14] Haddad-Tóvölli R, Dragano NR, Ramalho AF, et al. Development and function of the blood-brain barrier in the context of metabolic control [J]. *Frontiers in Neuroscience*, 2017, 11(1): 224.
- [15] Gong P, Zhang Z, Zou C, et al. Hippo/YAP signaling pathway mitigates blood-brain barrier disruption after cerebral ischemia/reperfusion injury [J]. *Behav Brain Res*, 2019, 356(1): 8-17.
- [16] Jin J, Ke J, Guo P, et al. Quercetin improves blood-brain barrier dysfunction in rats with cerebral ischemia reperfusion via Wnt signaling pathway [J]. *American Journal of Translational Research*, 2019, 11(8): 4683-4695.
- [17] Li J, Liu Y, Zhang X, et al. Di-3-N-Butylphthalide Alleviates the Blood-Brain Barrier Permeability of Focal Cerebral Ischemia Reperfusion in Mice [J]. *Neuroscience*, 2019, 413: 99-107.
- [18] Kwong SC, Jamil AHA, Rhodes A, et al. Metabolic role of fatty acid binding protein 7 in mediating triple-negative breast cancer cell death via PPAR- α signaling [J]. *Journal of Lipid Research*, 2019, 60(11): 1807-1817.
- [19] Kato T, Yoshioka H, Owada Y, et al. Roles of Fatty Acid Binding Protein 7 in Ischemic Neuronal Injury and Ischemia-induced Neurogenesis after Transient Forebrain Ischemia [J]. *Brain Research*, 2020, 1736: 146795.