

电针对脑微血管内皮细胞紧密连接调节作用研究进展

赖佳薇, 赵逸彬, 焦俊玥, 张江松, 林咸明

浙江中医药大学第三临床医学院, 浙江 杭州 310053

[摘要] 脑微血管内皮细胞 (Brain microvessel endothelia cells, BMECs) 间紧密连接 (Tight junction, TJ) 是血脑屏障 (Blood-brain barrier, BBB) 维持脑内外环境稳定的重要结构基础, 同时, 这一特殊结构也给许多中枢治疗药进入 BBB 带来一定的困难。电针作为临床治疗中枢神经疾病的重要手段, 其对 BBB 通透性的影响尤其是对 TJ 的调节作用备受关注。本文综述了近 10 年电针对 TJ 的调节效应、调节机制的报道, 为针药结合治疗中枢神经疾病提供一定的理论依据。

[关键词] 电针; 血脑屏障 (BBB); 紧密连接 (TJ); 调控机制; 综述

[中图分类号] R245.31*9 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2019) 02-0229-04

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2019.02.070

Research Progress on Electroacupuncture Regulating Tight Junction in Brain Microvessel Endothelial Cells

LAI Jiawei, ZHAO Yibin, JIAO Junyue, ZHANG Jiangsong, LIN Xianming

Abstract: Tight junction (TJ) among brain microvessel endothelial cells (BMECs) is the essential structural basis of blood-brain barrier (BBB) for maintaining stability of the intracerebra and extracerebral environment, while this special structure also makes it relatively difficulty for many medicines for treating central nervous system diseases to enter BBB. As a significant method for clinically treating central nervous system diseases, the effect of electroacupuncture on the permeability of BBB, especially its regulatory effect on TJ, has drawn much attention. This article reviewed the reports of the regulatory effect of electroacupuncture on TJ and its regulation mechanism in recent 10 years, thus to provide some theoretical reference for the combined treatment of electroacupuncture and medicine for central nervous system diseases.

Keywords: Electroacupuncture; Blood-brain barrier (BBB); Tight junction (TJ); Regulation mechanism; Review

血脑屏障 (Blood-brain barrier, BBB) 是由脑微血管内皮细胞 (Brain microvessel endothelia cells, BMECs) 通过各种连接蛋白彼此紧密相连 (Tight junction, TJ), 并与周细胞 (Pericytes, PCs) 和星形胶质细胞 (Astrocytes, AS) 相互作用形成的特殊屏障系统^[1]。正常生理情况下, BBB 的极低通透性能维持脑内外微环境稳态, 其通透性的改变可影响许多中枢神经系统 (Central nervous system, CNS) 疾病的发生发展。TJ 作为 BBB 的结构基础, 使 BMECs 紧密相连发挥 BBB 的屏障作用。

针灸疗法中电针醒脑开窍针法治疗 CNS 疾病已取得确切的临床疗效^[2]。目前, 电针对 BBB 通透性的影响, 尤其是对 TJ 的调节效应及机制的研究, 已成为研究热点。本文通过电针对 TJ 调节效应、调节机制相关研究报道的整理, 为针药结合治疗 CNS 疾病提供理论支持。

1 BBB 在 CNS 调节中的重要性

BBB 能控制脑内物质交换, 维持脑内微环境稳态, 保证 CNS 功能的正常发挥, 多种 CNS 疾病的发生都伴随着 BBB 结构、功能的损伤。同时, BBB 的低通透性也是神经营养药物入脑的天然屏障, 如何增加药物脑内浓度是 CNS 疾病的研究重点。由此可见, BBB 对于 CNS 的稳定及 CNS 疾病的诊疗都有重要意义。TJ 作为 BBB 结构、功能的基础, 严格限制了药物透过 BBB 的主要途径——细胞旁运输^[3], 因而, 对 TJ 的研究显得尤为重要。

2 TJ 的结构特点及作用

电镜下的 TJ 成线性交织成网, 带状环绕在相邻细胞连接面上, 将相邻 BMECs 的 2 层质膜紧密相连成一个整体, 调控物质向对侧运输。TJ 蛋白主要由闭合蛋白 (Claudin)、咬合蛋白

[收稿日期] 2018-06-02

[基金项目] 国家自然科学基金项目 (81774407); “十三五”浙江省中医药 (中西医结合) 重点学科建设计划项目 (2017XKA18)

[作者简介] 赖佳薇 (1993-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 针刺治疗脑病的临床与基础。

[通信作者] 林咸明, E-mail: linxianming66@126.com。

(Occludin)、带状闭合蛋白(Zona occludens, ZO)、细胞黏附分子(Junctional adhesion molecule, JAM)等组成,其表达数量、结构排列及位置改变都能影响 TJ 的开放^[4]。

2.1 Claudin Claudin 是 TJ 的主要组成部分,有 2 个细胞外环,第 1 个细胞外环对离子通透选择性具有重要作用,第 2 个细胞外环负责 BMECs 的连接。Claudin 家族中的每个成员都有其独特的细胞旁离子通透选择性,因此在不同组织上的分布及功能各不相同, Claudin-3、Claudin-5、Claudin-12 在 BBB 中发挥重要作用,其中, Claudin-5 在 BBB 上的表达远高于外周,有维持 BBB 稳定性及低通透性的作用^[5-6]。

2.2 Occludin Occludin 在 BMECs 上的表达明显高于非神经组织,虽然不是构成屏障的必要蛋白,但其可在细胞间形成同源连接,控制通透性,这是 BBB 通透性极低的重要原因之一^[7]。跨内皮电阻检测 BBB 通透性时发现:跨内皮电阻高时, BBB 通透性低, Occludin 蛋白含量增高;跨内皮电阻低时, BBB 通透性增大, Occludin 蛋白含量降低。研究表明, Occludin 的转录和翻译水平受到抑制会导致 TJ 开放, BBB 通透性增高^[8]。

2.3 ZO ZO 是与 TJ 功能相关的胞质蛋白,和跨膜蛋白和骨架蛋白相连接,调控其精确空间定位并传导各类信号^[9]。其中, ZO-1 的 PDZ-1 结构域与 Claudin 的 C 端相连, PDZ-2、3 与 JAM 相连,鸟苷酸激酶样(Guanylatekinase-like, GK)结构域与 Occludin 相连,其 C 端与肌动蛋白相连,在维持 TJ 的结构、功能稳定性上有重要作用。ZO-2 与 ZO-1 具有同源性,并且有相同功能,可在一定程度上替代 ZO-1。

2.4 JAM JAM 属于免疫球蛋白家族成员,包括 JAM-1、JAM-2、JAM-3、JAM-4,几乎所有上皮、内皮细胞表面均有 JAM。其中, JAM-1 在 BMECs 上高表达, JAM-1/2/3 在维持屏障功能上都起重要作用。近来发现的 JAM-4 在 BMECs 上也有表达,其功能主要是调节淋巴细胞的浸润及细胞旁运输。

3 电针对 TJ 的调节作用

3.1 电针对 TJ 蛋白的调节 电针治疗 CNS 疾病在临床上已取得确切疗效。电针可减轻急性发作期的临床症状,此时电针主要对脑组织起保护作用,这是通过调节 TJ 蛋白而降低 BBB 通透性、调整 BMECs 损伤状态实现的。邹蓉等^[10]发现电针百会穴可上调 Claudin-5 蛋白、Occludin 蛋白的表达;电针也能够调节 JAM 的表达,发挥保护 BBB 的作用^[11];另外,张丽娜等^[12]发现迷走神经电刺激(Vagusnerve stimulation, VNS)干预能减少 Occludin 的降解,达到减轻脑水肿的作用。

在后遗症期,实验证明电针能增加 BBB 的通透性以促进神经营养药物的入脑。张丽平等^[13]发现醒脑开窍针法可提高内源性 NRG-1 及其受体 Erb B4 在脑内的表达。林成明等^[14]发现穴位注射冰片液和电针刺激均为促 BBB 通透性增高的有效手段。其根据“病变在脑,首取督脉”原则,以 100 Hz, 2 mA 电针刺激百会、哑门穴,发现电针结合外源性 NGF 与单纯

NGF 相比,脑缺血再灌注大鼠学习、记忆能力显著增强,提示连续波不仅能增加脑血流量,还能增加 NGF 脑内含量,并且电针的促透效应可能与电针的刺激参数、持续时间相关^[15]。

以上研究均表明电针对 BBB 具有双向调节作用,且这一双向调节作用可能都是通过 TJ 蛋白实现的,但其调节机制尚不明确,下面就电针调节 TJ 蛋白的可能机制进行进一步探讨。

3.2 电针调节 TJ 蛋白的可能机制 TJ 是一个动态结构,接受多方调节,组织胺、血管舒缓激肽、血管内皮生长因子(Vascular endothelial growth factor, VEGF)等都可影响 TJ 蛋白的分泌。如缓激肽可诱发 TNF- α 的产生,导致 Occludin 的表达减少^[16]; VEGF 可使 VE-cadherin 磷酸化增加,降低 Claudin-5 的表达^[17],同时针刺内关穴可促进 VEGF 和 VEGF mRNA 增多^[18]。

电针通过刺激 AS 调节 TJ 蛋白。研究证实, AS 能分泌多种因子,如转化生长因子- β 、碱性成纤维细胞生长因子、神经胶质源性神经营养因子等,来调节 TJ 的结构和功能^[19]。AS 调节 TJ 蛋白可能途径有:① AS 能分泌 Sonic hedgehog(Shh)蛋白,促进 Claudin-5、ZO-1 的表达^[20]。② AS 分泌的视黄酸(RA)能上调 VE-cadherin 的表达,形成粘附连接,促进 Claudin-5 的表达和上膜来构成 TJ^[21]。③ AS 作为 BMECs 间的联系的通讯基础,能响应神经活动,调节 BMECs 进而调节 TJ。

实验研究证实电刺激百会穴能激活功能低下的神经纤维和神经元细胞^[22],同时 AS 对于不同刺激有异质性,低频电针(2 Hz、15 Hz)可使脑缺血大鼠脑内 AS 活化^[23],促进损伤的 BBB 修复,但过度活化的 AS 可使 TJ 蛋白表达下降^[24]。若给予 AS 一定的电针刺激,使 AS 过度活化,从而调节 TJ 蛋白,可达到促透作用。

电针通过刺激 PCs 调节 TJ 蛋白。PCs 与 BMECs 间可通过一些 TJ 黏合斑及可溶因子进行交流^[25]。实验表明,大鼠血管原代 PCs 与 BMECs 一起培养,能诱导 TJ 形成,这可能与 PCs 能释放血管生成素-1(Angiopoietin-1, Ang-1),调节微血管的通透性及血管重塑有关。另外, Ang-1 通过与特异性酪氨酸激酶受体(Tyrosine Kinase Receptors 2, Tie-2)结合,诱导 BMECs 上 Occludin 的表达,说明 PCs 能参与 TJ 蛋白的调节^[26]。同时,电针能调节 Ang-1 的释放,目前电针与 PCs 的关系尚无研究报道,但存在电针通过刺激 PCs,从而调节 TJ 蛋白的可能性。

电针通过刺激 BMECs 调节 TJ 蛋白。小窝蛋白(Caveolin)是 BMECs 上的标志性蛋白,脑组织中, Caveolin-1、Caveolin-2 主要分布于 BMECs, Caveolin-3 则分布于 ACS。Song L 等^[27]用单核细胞趋化蛋白-1(Monocyte chemotactic protein-1, MCP-1)刺激 BMECs 后, Caveolin-1、ZO-1、Occludin 表达降低;用腺病毒载体向 BMECs 释放 Caveolin-1 siRNA,则 Caveolin-1 和 ZO-1, Occludin 表达均降低,同时 Occludin 与细胞骨架解离,黏附连接蛋白也发生改变, BMECs 间隙增宽。且实验证明 Caveolin-1 在细胞旁运输及跨细胞途径中都有重要作用。这些结果表明 Caveolin-1 可以调节 BMECs 间 TJ 蛋白的表达。电针

百会穴可调节 Claudin-5、Occludin、P-caveolin-1 的表达,且3者趋势相同。电针可能通过调节 Caveolin-1 的表达,实现对 TJ 蛋白的调节作用,但有待今后的进一步研究。

4 小结

电针对 BBB 通透性具有双向调节作用,一方面 CNS 疾病急性发作期时,电针通过调节 TJ 蛋白,如 Claudin-5、Occludin 等,降低 BBB 通透性;另一方面,电针又可在 CNS 疾病恢复期对 BBB 起促透作用。TJ 是电针调节 BBB 通透性的重要途径,电针对 TJ 蛋白的调节可能是通过刺激 AS、PCs、BMECs 等实现的。

本文整理电针调节 TJ 蛋白的相关文献,发现许多问题亟待进一步研究:①电针作用下,TJ 蛋白的表达数量、结构排列及位置分布变化尚不确切;②不同刺激参数、持续时间的电针刺刺激触发的对 TJ 蛋白的调节效应、调节机制是否存在一定的差异性;③AS 对不同刺激频率、强度电针刺刺激的异质性应进一步研究;④电针与 PCs 的关系尚不明确;⑤电针对 Caveolin 的调节机制有待进一步研究。

电针治疗 CNS 疾病已广泛应用于临床,其在急性发作期时的脑保护作用已有一定的理论支持,但电针在恢复期的作用机制少有研究。以 TJ 为靶点促进细胞旁运输,能大大提高药物的脑内浓度,能使 CNS 疾病有更佳的治疗效果。因此,明确电针对 TJ 蛋白的调节机制,可为针药结合治疗 CNS 疾病提供更好的理论支持。

[参考文献]

- [1] 许兵,张俞,杜久林. 血脑屏障的研究进展[J]. 生理学报, 2016, 68(3): 306-322.
- [2] Liu HF, Shen XY, Tang HT, et al. Using microPET imaging in quantitative verification of the acupuncture effect in ischemia stroke treatment[J]. Sci Rep, 2013, 3: 1070.
- [3] Obermeier B, Daneman R, Ransohoff RM. Development, maintenance and disruption of the blood-brain barrier[J]. Nat Med, 2013, 19(12): 1584-1596.
- [4] Tao XG, Shi JH, Hao SY, et al. Protective effects of calpain inhibition on neurovascular unit injury through downregulating nuclear factor- κ B-related inflammation during traumatic brain injury in mice[J]. Chin Med J(Engl), 2017, 130(2): 187-198.
- [5] Sadana P, Coughlin L, Burke J, et al. Mdzinarishvili A. Anti-edema action of thyroid hormone in MCAO model of ischemic brain stroke: possible association with AQP4 modulation[J]. J Neurol Sci, 2015, 354(1-2): 37-45.
- [6] Miao YS, Zhao YY, Zhao LN, et al. MiR-18a increased the permeability of BTB via RUNX1 mediated down-regulation of ZO-1, occludin and claudin-5[J]. Cell Signal, 2015, 27(1): 156-167.
- [7] 王静娥,田国萍,周进,等. 大鼠脑缺血时紧密连接相关蛋白 occludin 和 claudin-5 表达的变化[J]. 解剖科学进展, 2010, 16(2): 149-152.
- [8] 孙伟,杨鲲鹏,盛利,等. 大鼠局灶性脑缺血再灌注血脑屏障超微结构及紧密连接蛋白 Occludin 变化的研究[J]. 中风与神经疾病杂志, 2007, 24(4): 425-427.
- [9] Hawkins BT, Davis TP. The blood-brain barrier/neurovascular unit in health and disease[J]. Pharmacol Rev, 2005, 57(2): 173-185.
- [10] 邹蓉. 电针预处理对脑缺血一再灌注大鼠脑内小窝蛋白-1 以及血脑屏障通透性的影响[D]. 南京: 南京中医药大学, 2014.
- [11] 张慧敏. 头针对局灶性脑缺血微血管内皮细胞 ICAM-1 影响的动态观察[J]. 现代生物医学进展, 2007, 7(5): 682-688.
- [12] 张丽娜. 迷走神经电刺激对大鼠 MCAO/再灌注损伤的保护作用及机制探讨[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2017.
- [13] 张丽丽,刘宝山,褚芹. 基于 NRG-1 及其受体 ErbB4 探讨醒脑开窍针法在缺血性中风中的作用[J]. 针灸临床杂志, 2013, 29(2): 54-57.
- [14] 林咸明,陈华德,严建伟,等. 穴位注射“冰片液”对血脑屏障通透性的影响[J]. 针刺研究, 2003, 28(2): 99-101.
- [15] 林咸明,谭克平,张爱军,等. 电针诱导神经生长因子透血脑屏障效应及其机制分析[J]. 针刺研究, 2009, 34(2): 110-113.
- [16] 秦丽娟,薛一雪,谷艳婷,等. 缓激肽开放血肿瘤屏障的作用及其与 TNF- α 、MAPK 以及 NF- κ B 的关系研究[J]. 中国药理学通报, 2012, 28(9): 1276-1280.
- [17] Dejana E, Orsenigo F, Lampugnani MG. The role of adherens junctions and VE-cadherin in the control of vascular permeability[J]. J Cell Sci 2008, 121(13): 2115-2122.
- [18] 郭义. 实验针灸学[M]. 中国中医药出版社, 2012: 197-198.
- [19] Abbott NJ, Ronnback L, Hansson E. Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier[J]. Nat Rev Neurosci, 2006, 7(1): 41-53.
- [20] Alvarez JI, Dodelet-Devillers A, Kebir H, et al. The Hedgehog pathway promotes blood-brain barrier integrity and CNS immune quiescence[J]. Science, 2011, 334(6063): 1727-1731.
- [21] Taddei A, Giampietro C, Conti A, et al. Endothelial adherens junctions control tight junctions by VE-cadherin-mediated upregulation of claudin-5[J]. Nat Cell Biol, 2008, 10

- (8): 923-934.
- [22] 董治君, 李进蜜. 针刺“百会”和“四神聪”治疗脑卒中的体会[J]. 甘肃中医, 2006, 19(12): 29.
- [23] 王媛. 针刺对 MCAO 大鼠星形胶质细胞调节神经-血管功能 deep 影响及机制研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2013.
- [24] Mizee MR, Nijland PG, van der Pol SM, et al. Astrocyte derived retinoic acid: a novel regulator of blood-brain barrier function in multiple sclerosis [J]. Acta Neuropathol, 2014, 128(5): 691-703.
- [25] 董小平, 喻斌, 金路, 等. 血脑屏障细胞组成研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(8): 281-284.
- [26] 蒋福林, 艾冬青, 官秋玥. 周细胞概念及在血管形成信号转导通路研究中的进展[J]. 中国组织工程研究, 2015, 19(46): 7504-7508.
- [27] Song L, Pachter JS. Monocyte chemoattractant protein-1 alters expression of tight junction-associated proteins in brain microvascular endothelial cells [J]. Microvasc Res, 2004, 67(1): 78-89.

(责任编辑: 冯天保, 钟志敏)

神阙穴贴敷大黄防治中风偏瘫合并便秘临床研究

鲁丛丛, 崔建华

南阳南石医院, 河南 南阳 473000

[摘要] 目的: 观察大黄神阙穴贴敷对中风后偏瘫患者合并便秘的预防效果。方法: 选取中风后偏瘫合并便秘的患者共 102 例作为研究对象, 随机分成观察组与对照组各 51 例; 对照组患者采取常规护理方式, 观察组患者在对照组干预的基础之上采用大黄神阙穴贴敷, 疗程均为 7 天; 观察 2 组治疗后便秘临床疗效, 患者 7 天内排便情况及便秘发生情况。结果: 便秘总有效率观察组为 94.12%, 对照组为 64.71%, 2 组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。治疗干预后, 观察组出现大便干结、需要缓泻剂、排便费时、排便有残留感等症状的病例均少于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。护理干预后第 1~7 天, 观察组便秘发生率均低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论: 大黄神阙穴贴敷对中风偏瘫后便秘患者有较好的防治效果, 临床上可根据实际情况合理应用。

[关键词] 便秘; 中风; 偏瘫; 神阙穴; 贴敷; 大黄

[中图分类号] R442.2; R248.1

[文献标志码] A

[文章编号] 0256-7415 (2019) 02-0232-03

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2019.02.071

Clinical Study on Radix et Rhizoma Rhei Application at Shenque Acupoint in Prevention and Treatment for Stroke-induced Hemiplegia Complicated with Constipation

LU Congcong, CUI Jianhua

Abstract: Objective: To observe the preventive effect of Radix et Rhizoma Rhei (Dahuang) application at Shenque acupoint for patients with stroke-induced hemiplegia complicated with constipation. **Methods:** Selected 102 cases of patients with stroke-induced hemiplegia complicated with constipation as the study subjects, and randomly divided them into the observation group (51 cases) and the control group (51 cases). The control group received routine nursing methods, and the observation group was additionally given Radix et Rhizoma Rhei (Dahuang) application at Shenque acupoint for intervention. The course for both groups lasted for 7 days. Observed the clinical effect on constipation after 72 hours of intervention, defecation

[收稿日期] 2018-05-15

[作者简介] 鲁丛丛 (1988-), 女, 主管护师, 主要从事神经内科护理工作。