

钟高亮,张晶晶. 多物种血脑屏障结构与功能研究进展[J]. 中国实验动物学报, 2020, 28(5): 702-707.

Zhong GL, Zhang JJ. Research progress on the structural and functional studies of blood brain barrier in different species [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2020, 28(5): 702-707.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2020.05.017

多物种血脑屏障结构与功能研究进展

钟高亮,张晶晶*

(广东医科大学附属第一医院,广东 湛江 524001)

【摘要】 血脑屏障是血液和脑组织间进行物质交换的屏障,同时也能通过其特殊的细胞间连接方式达到阻止有害物质入脑、维持脑内环境稳态的目的。近年来,不同物种间血脑屏障结构和功能的研究取得了重要的进展,这对揭示血脑屏障起源及了解血脑屏障具体调控机制有重要的作用。本文将对近年来鱼类、鸟类、哺乳类等物种的血脑屏障结构和功能研究进展进行综述。

【关键词】 血脑屏障;发育;超微结构;中枢神经系统

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2020) 05-0702-06

Research progress on the structural and functional studies of blood brain barrier in different species

ZHONG Gaoliang, ZHANG Jingjing*

(Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang 524001, China)

Corresponding author: ZHANG Jingjing. E-mail: jingjing.zhang@live.com

【Abstract】 As a physiological barrier for restricting material exchange between blood and brain, blood brain barrier prevents harmful substances from entering the brain and maintains the stability of the central nervous system. In recent years, researches on the structure and function of the blood brain barrier among different species has progressed largely, which help to reveal the evolution of the blood brain barrier and to understand the specific mechanism regulating. This article will review the structure and function of the blood brain barrier of multiple animals including fish, birds, and mammals in recent studies.

【Keywords】 blood-brain barrier; development; ultra microstructure; central nervous system

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

脑屏障是机体抵抗外来有害物质(特别是细菌、病毒等微生物)进入脑组织的重要结构,分为血-脑屏障、血-脑脊液屏障和脑-脑脊液屏障。其中血-脑屏障是血浆和脑组织之间,由脑微血管内皮细胞、基膜、神经胶质细胞、周细胞以及小胶质细胞所组成的屏障结构,内皮细胞间的紧密连接结构可使血浆中的物质有选择性地入脑,以此来达到脑内

环境的相对稳定,同时也能保证脑组织不被血浆中的毒素、微生物侵入,维持中枢神经系统的正常生理状态。与之相对的,血脑屏障也会不同程度地阻碍药物进入。因此,研究物种间血脑屏障的结构功能的差异,有助于我们发现其在进化中的保守特征,对血脑屏障障碍疾病以及神经系统药物的研发有着重要的启示作用。本文将对不同物种间血脑

【基金项目】 国家自然科学基金(31970777,31771628)。

Funded by National Natural Science Foundation of China(31970777,31771628).

【作者简介】 钟高亮(1995—),男,硕士研究生,研究方向:发育神经生物学。Email: zgl10309@163.com

【通信作者】 张晶晶,博士,教授,博士生导师,研究方向:发育神经生物学。Email: jingjing.zhang@live.com

屏障结构和功能的异同进行综述。

1 血脑屏障的发现和发

1880 年,来自 Leipzig University 的 Ehrlich^[1] 向外周静脉注射染料,发现除了脑和脊髓,其余器官均可检测到染料的吸收,认为这是中枢神经系统对染料缺乏亲和力导致的。不久后,Ehrlich 的学生 Edwin E. Goldman 将染料注射入脑脊液,发现神经组织被染色,而外周组织中未发现染料,对此,Edwin E. Goldman 给出的解释是脑周边细密的血管形成的一种屏障样结构影响了染料在中枢神经系统与外周间的扩散作用,这也是血脑屏障概念的雏形。到了 1890 年,Lewandowsky^[2] 首先把这个屏障命名为 Blood-Brain Barrier,血脑屏障也因此得名。

随着扫描电子显微镜的广泛应用,研究者们对血脑屏障的探索也进入了超微结构的层面。1967 年,Reese 等^[3] 将辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase,HRP)作为示踪剂注入外周血,用电镜观察 HRP 在脑组织周围的扩散情况,发现 HRP 在内皮处被阻断,于是把血脑屏障定位到脑微血管内皮细胞。而后,周细胞、神经胶质细胞等血脑屏障的重要组成部分也被相继发现,紧密连接蛋白的发现也丰富了研究者对血脑屏障功能上的认识^[4]。研究者对血脑屏障的研究不止于哺乳动物,研究表明,除板鳃亚纲和软骨硬鳞亚纲存在的屏障结构主要是由血管周围的胶质细胞构成外,所有的有颌类脊椎动物均具有由内皮细胞形成的血脑屏障结构。

2 血脑屏障的基本结构

血脑屏障是以脑微血管内皮细胞及其紧密连接作为结构基础,周细胞,基底膜,星形胶质细胞和小胶质细胞则负责诱导和维持血脑屏障基本功能。他们所形成的的联合体通过相互作用,严格调节血液与中枢神经系统之间的分子、离子和细胞的运动,使血脑屏障能够严格调节中枢神经系统稳态^[5-6],这对于维持神经元生理功能以及保护中枢神经系统免受毒素,病原体,炎症,损伤的影响都有着重要的作用。下面将以哺乳动物的血脑屏障为例,对血脑屏障的基本结构进行综述。

2.1 紧密连接结构

紧密连接结构是构成哺乳类动物血脑屏障的基础,内皮细胞间通过紧密连接结构形成一道物理屏障,并通过紧密连接相关蛋白如 Claudin,对细胞

间的分子、离子形成高电阻的细胞旁屏障。Claudin 蛋白家族作为紧密连接结构中最为重要的蛋白,拥有 4 个跨膜区,其第 1 个胞外环具有特征性的 W-GLW-CC 结构域^[7],上面的氨基酸残基决定了细胞接头内孔的大小和电荷选择性^[8],使紧密连接结构能够选择性地渗透不同大小的非带电分子^[9]。除此之外,还有其他重要的紧密连接蛋白,包括 Occludin、连接黏附分子(junction adhesion molecules,JAMs)、ZO-1 等^[10]。紧密连接结构的分子机制及血脑屏障通透性改变时紧密连接蛋白的变化仍是血脑屏障功能研究中的重点。

2.2 内皮细胞

毛细血管主要分为三类:毛细血管细胞连接处存在较大间隙,具有不完整基底膜(basement membrane, BM)的;连续但具有隔膜状窗孔的,如肠绒毛毛细血管,还有连续无孔,具有完整基底膜的,如脑微血管。毛细血管是由一个到多个内皮细胞自身折叠而成,其中脑微血管内皮细胞很薄,比肌肉内皮细胞薄 39%^[11]。与其他组织相比,除室周器(circumventricular organs)外^[12],中枢神经系统内皮细胞(endothelial cells, EC)通过其特殊的紧密连接结构连接在一起^[13-14],且转胞吞作用较弱,这些特性使得血脑屏障极大地限制了溶质的细胞旁通量,以此来维持中枢神经系统内环境的稳定^[15]。

2.3 周细胞

周细胞(pericytes, PC)位于微血管内皮细胞背腔面,嵌入血管基底膜中。周细胞中含有收缩蛋白,通过蛋白的收缩控制毛细血管腔直径^[16-17]。大部分周细胞都不直接接触内皮细胞,而是通过钙黏蛋白 N-cadherin 的介导,与内皮细胞的“离散点”,即基底膜未包绕的部位,以“嵌合连接”(peg-and-socket junction)的方式相连^[18]。中枢神经系统周细胞的覆盖率比外周高^[19],这使得周细胞在调节血管生成,细胞外基质沉积,免疫细胞的浸润,以及通过神经调节血流量方面发挥着重要作用,也有研究表明周细胞与维持成熟血脑屏障功能有密切关系^[20]。目前,应用最为广泛的标志物是血小板源生长因子受体- β (PDGFR- β)和神经胶质抗原-2(NG2),有文献表明二者分别参与不同环境下血管新生的周细胞招募过程^[21],但尚未发现有仅表达周细胞的特异性标志物,因此,目前尚未清楚已发现的功能是否均来自于周细胞,故寻找周细胞特异性标志物十分重要。

2.4 基底膜

基底膜(basement membrane, BM)分为两层,内层由内皮细胞以及周细胞分泌,称为血管基底膜,外层由星形胶质细胞分泌,称为实质基底膜,两层分别由不同成分的分泌蛋白组成^[22-23],位于血管的腔面及背腔面。基底膜为血管系统的许多信号的传递过程提供了锚点,同时也能作为溶质在进入神经组织之前的另一道屏障。另外,一些基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase)对基底膜有破坏作用,这会使得血脑屏障功能障碍以及白细胞浸润,这个现象能在某些中枢神经系统疾病中得到印证。同时,也有研究者利用这一点制造血脑屏障破坏的体外模型。

2.5 星形胶质细胞

星形胶质细胞(astrocyte)是中枢神经系统中最主要的细胞类型,其延伸出的细胞突起包绕填充在神经突触或血管壁基底膜处^[24],参与支持和分隔神经细胞。星形胶质细胞在神经元和血管间形成的这种神经血管偶联能够传递神经元的信号活动^[25-26],包括调节血管平滑肌细胞以及周细胞的收缩/扩张。在血脑屏障定位到内皮细胞前,就已有研究表明,星形胶质细胞通过对内皮细胞产生影响以维持血脑屏障功能^[27]。Janzer 等^[28]在移植实验中,将胚胎鼠脑中的星形胶质细胞移植至鼠眼前房细胞中,使之拥有了血脑屏障的特性。另一方面,Abbott 等^[24]通过体外共培养内皮细胞的实验,也证明了星形胶质细胞对血脑屏障存在诱导作用。除此之外,研究者解剖啮齿动物胚胎后发现,血脑屏障在星形胶质细胞生成前就已经形成了,故星形胶质细胞不参与血脑屏障的初始诱导,而是在成熟血脑屏障系统中参与调节和维持。

2.6 免疫细胞

中枢神经系统免疫细胞主要为管周巨噬细胞(perivascular macrophages)及小胶质细胞(microglial cells)。管周巨噬细胞属于单核细胞谱系,位于血管周围间隙(virchow-robin space, VRS)^[29-30],来源于血源性巨噬细胞,能够吞噬细胞碎片,行使先天免疫功能。对于小胶质细胞的来源,较多学者认可的是来源于卵黄囊祖细胞,并于胚胎发育过程中进入中枢神经系统^[31],参与调节神经元的发育、先天免疫应答和伤口愈合,并可以在适应性免疫中充当抗原呈递细胞^[32-33]。

3 不同进化物种间血脑屏障结构和功能的异同及其研究进展

生物在不断进化过程中,各器官的结构功能也是在不断进化的,血脑屏障作为一个十分重要的功能结构,在进化过程中的保守与否也是研究者们一直在探究的问题。通过研究不同物种间血脑屏障结构和功能,进行横向对比,就能够找出其较为保守的部分,为深入研究血脑屏障的功能打定基础。下文将对鱼类、鸟类、哺乳类血脑屏障结构和功能的研究进展进行介绍。

3.1 鱼类血脑屏障

鲟鱼(sturgeons)属于辐鳍鱼纲(osteichthyes)中的软骨硬鳞亚纲(chondrostei),与板鳃亚纲(elasmobranchii)相同,主要由胶质细胞构成脑屏障。电镜水平下,鲟鱼的脑内皮是连续的,可见明显的小窝和囊泡,偶尔有较大直径的内陷,被隔膜封闭,相邻的内皮细胞通过2~3个点状紧密连接样的接触连接,并由50~80 nm厚的基底膜覆盖,没有观察到典型的周细胞。毛细血管被几何状排列的多层胶质细胞所包围,毛细血管周围神经胶质细胞之间是典型的间隙连接,故对菊粉和葡聚糖等非电解质也具有非常高的渗透性^[34]。在注射HRP后观察渗漏情况,可见HRP并没有进入脑实质,但可在血管外与脑实质间的部分观察到,在电镜下观察这一部分,发现HRP在内皮间连接区处渗漏,并终止于基底膜背腔侧与神经胶质细胞接触处。由此可见,血管周围神经胶质层是鲟鱼血液与大脑之间的主要扩散屏障,并且此屏障的连接方式并不如内皮屏障紧密。鲟鱼的神经胶质屏障的连接方式并不是经典紧密连接^[35],而是由多个神经胶质片重叠而成,这些薄片之间的间隙连接状接触的延伸区域也作为神经胶质屏障的一部分,这与无脊椎动物乌贼(*Sepia officinalis*)的脑屏障有一定的相似之处。

肺鱼(lungfish)属于肉鳍鱼纲(dipnomorpha),电镜水平下可观察到肺鱼的脑微血管内皮细胞之间的裂口被精细的紧密连接所密封,并由多个点状膜接触/融合,可见小窝和囊泡。基底膜较厚,约80~100 nm,周围包绕致密、不完整的周细胞层,周细胞间的接合部分可见内皮细胞与基底膜直接接触。毛细血管周围神经胶质细胞层不完整,可观察到无髓神经纤维与周细胞、内皮细胞的接触。其中,脑微血管壁细胞的结构与哺乳动物的细胞结构略有不同,虽未能观察到清晰的周细胞,但是内皮基底

层之外存在一种电子较为致密的细胞,通过基底膜的断裂处与内皮紧密接触,这与哺乳动物中内皮细胞和肌内皮交界处的接触类型相似^[36-37],但由于这层电子致密细胞和神经胶质细胞之间缺乏基底层,提示它们可能是为神经胶质细胞。注射 HRP 后,在大脑的毛细血管腔和内皮内囊泡中观察到 HRP 反应产物,但在五个循环过后,在任一水平都未在内皮的脑侧检测到 HRP 反应产物,说明肺鱼的脑微血管内皮细胞是主要的扩散屏障^[38]。

虽与鲟鱼一样同为辐鳍鱼纲,多鳍鱼的血脑屏障却与肺鱼和硬骨鱼更相似,内皮连续且具有比周围神经纤维细胞更高的电子密度。在整个进化树中,从无颌脊椎动物到有颌类脊椎动物,除了鲟鱼和板鳃亚纲外,均由血管内皮细胞担任主要的扩散屏障。一方的观点认为,血脑屏障最早便是内皮屏障,鲟鱼和板鳃亚纲的鱼类都属于另一方向的次级发育,是发育过程中的异常发展^[39]。而另一方的研究者在哺乳动物胚胎的大脑中发现,室管膜和胶质细胞组成的胶质屏障能在早期将发育中的神经系统与脉管系统分隔,而这一屏障会在血管进入脑组织之后消失,且在成年的无颌脊椎动物七鳃鳗中仍可见到胶质屏障^[40]。这些证据都使得他们认为,脊椎动物祖先的屏障是神经胶质,后来又进化出了内皮屏障。后者也是目前研究者们较为认可的观点。

鱼类中血脑屏障研究最为透彻的是斑马鱼 (*Danio rerio*),作为新兴且研究热度逐渐上升的模式动物,斑马鱼因其体外受精、繁殖能力强、早期胚胎透明等优点,被广泛应用于发育生物学的研究。斑马鱼属于硬骨鱼,其血脑屏障结构与肺鱼类似,具有内皮细胞构成的紧密连接结构,放射状的胶质细胞不完整地包绕在基底膜背腔面,其功能类似于哺乳动物星形胶质细胞^[41]。利用斑马鱼进行血脑屏障研究的优势在于,斑马鱼的血脑屏障在受精后 3 ~ 10 d 形成^[42],此时胚胎仍透明,利用转基因技术以及活体成像技术,可实现对斑马鱼血脑屏障早期发育以及基因缺陷背景下血脑屏障异常发育的实时监测。

3.2 鸟类血脑屏障

鸡 (*Gallus domesticus*) 作为鸟类中应用较为广泛的模式动物,常被用于研究鸟类的生物学特征,但在对鸟类血脑屏障方面的研究却颇为匮乏。在电镜下分别观察成年与胚胎期鸡的血脑屏障超微结构可发现,脑毛细血管均被基底膜上连续、无孔

的内皮细胞包绕,紧密连接可见于内皮细胞间的接触点;周细胞嵌入基底膜中,并在基底膜不连续的部分与内皮细胞相关联;星形胶质细胞末端与基底膜背腔面相接触,但胶质细胞间连接的紧密性随发育时期而改变。L' Abbate 等^[43]通过向外周循环中注射 HRP 的方式检测不同发育时期鸡视顶盖血脑屏障的通透性,发现在孵化后 6 d 仍可见普遍的血管外定位,在内皮相接触的区域可见示踪剂充满整个间隙;从 6 d 起,屏障逐渐形成,10 d 可见侧支血管相互连接,在套层内形成大血管网,HRP 仅出现在深部神经丛周围的血管外,14 d 后,透过视顶盖的 HRP 更少,仅在内皮间点状接触的区域发现散在的示踪剂痕迹;到 18 d,仅局限于毛细血管内,内皮细胞间紧密连接结构可见。除屏障的通透性会随发育时间逐渐成熟外,成年鸡脑微血管内皮细胞中的线粒体与胞质的比例也比胚胎期的要高(成年 0.059,胚胎 0.036),游离核糖体的数目也比胚胎期少。另外,哺乳动物的中枢神经系统中,有几种与屏障功能相关的酶比外周其他组织细胞含量高,如碱性磷酸酶、丁酰胆碱酯酶、芳香氨基酸脱氢酶^[44],而在鸡中,仅发现碱性磷酸酶的含量显著高于中枢神经系统外的组织细胞。

研究表明,鸟类脊髓的腰骶部的菱形窦 (*sinus rhomboidalis*) 处存在一富含糖原的胶质细胞团—胶质体 (*corpus gelatinosum*),胶质体由一些特化的神经胶质细胞构成,包绕脊髓中央管中心的室管膜。胶质体处于中枢神经系统的液体环境中,但位于菱形窦内,与脑内神经元、星形胶质细胞无直接接触,其营养有很大可能是通过类似血脑屏障的结构来与周围血管进行物质交换,对此, Möller 等^[45]通过注射 HRP 示踪以及检测紧密连接蛋白及相关酶含量的方法,证实了胶质体与周围血管间的确存在血脑屏障。除胶质体外,位于视神经入口处的眼梳膜 (*pecten oculi*) 同样也可以作为血脑屏障的研究模型^[46]。

3.3 哺乳类血脑屏障

小鼠 (*Mus musculus*) 作为近一个世纪来应用最为广泛的模式动物,其血脑屏障结构的研究也更为透彻。观察小鼠血脑屏障的超微结构,可见在出生后 1 d,小鼠脑微血管的管壁厚,管腔不规则,未发现基膜样物质,血管外周可见少量胶质细胞的突起;28 d 基膜已经完整清晰,星形胶质细胞末端已膨大形成脚板,相邻星形胶质相互作用形成胶质膜并逐

渐包绕基底膜;42 d 时,血脑屏障进一步发育,内皮细胞核多质少,基底膜密度更高,胶质膜包绕约 80%的基底膜^[47]。小鼠成熟血脑屏障的结构与人类似,但人的星形胶质细胞终足对基底膜的包绕更为密集。血脑屏障发育成熟后,其结构也并非一成不变,通过 24 个月的小鼠与 6 个月小鼠血脑屏障超微结构的对比可发现,年老小鼠的毛细血管轮廓较不规则,基底膜更厚,周细胞存在更多的脂褐素^[48]。

因小鼠与人类的基因同源性高,也有着许多较为成熟的疾病模型构建方法,故近年来有研究者利用小鼠来探究一些疾病,如脑卒中^[49]、多发性硬化^[50]、阿尔茨海默病^[51]等与血脑屏障之间的相互影响,因小鼠为体内受精发育,故较少以小鼠作为模型进行血脑屏障的早期发育研究。

4 应用展望

血脑屏障作为生物脑组织中与外界进行物质交换、抵御有害物质侵犯的重要结构,在物种间是较为保守的。板鳃亚纲和鲟鱼的脑屏障构成与无颌脊椎动物相似,通过神经胶质细胞间形成的间隙连接行使屏障功能,除此之外,鱼类、鸟类及哺乳类动物的血脑屏障均由内皮细胞及其紧密连接结构作为基础,鱼类的神经胶质细胞呈放射状,可见神经纤维与内皮细胞的直接接触,而鸟类、哺乳类的星形胶质细胞则完全包绕基底膜,这些结构上的差异对血脑屏障功能的影响也在渗透试验中被证明。在血脑屏障的研究中,应用最多的模式动物分别是斑马鱼和小鼠,它们与人类的基因同源性高,能够一定程度上模拟人类的血脑屏障功能,结合较为成熟的基因编辑技术,可从基因层面可视化地研究血脑屏障。除此之外,其他模式动物在研究血脑屏障方面也有其特殊的优势,相信随着培育方式的不断优化以及造模技术的逐渐成熟,我们也可以通过更多的模式动物从各种不同的方面剖析血脑屏障的结构和功能。

参 考 文 献(References)

- [1] Ehrlich P. Das sauerstoffbedürfnis des organismus [A]. Eine Farbanalytische Studie [C]. Hirschwald, Berlin. 1885.
- [2] Lewandowsky M. Zur lehre der zerebrospinalflüssigkeit [J]. Z Klin Med, 1890, 40: 480-494.
- [3] Reese TS, Karnovsky MJ. Fine structural localization of a blood-brain barrier to exogenous peroxidase [J]. J Cell Biol, 1967, 34: 207-217.
- [4] Nitkunan A, Lanfrancioni S, Charlton RA, et al. Brain atrophy and cerebral small vessel disease: a prospective follow-up study [J]. Stroke, 2011, 42(1): 133-138.
- [5] Zlokovic BV. The blood-brain barrier in health and chronic neurodegenerative disorders [J]. Neuron, 2008, 57(2): 178-201.
- [6] Daneman R. The blood-brain barrier in health and disease [J]. Ann Neurol, 2012, 72(5): 648-672.
- [7] Gupta IR, Ryan AK. Claudins: unlocking the code to tight junction function during embryogenesis and in disease [J]. Clin Genet, 2010, 77(4): 314-325.
- [8] Colegio OR, Van IC, Rahner C, et al. Claudin extracellular domains determine paracellular charge selectivity and resistance but not tight junction fibril architecture [J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2003, 284(6): C1346-C1354.
- [9] Van Itallie CM, Holmes J, Bridges A, et al. The density of small tight junction pores varies among cell types and is increased by expression of claudin-2 [J]. J Cell Sci, 2008, 121(Pt 3): 298-305.
- [10] Furuse M. Molecular basis of the core structure of tight junctions [J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2010, 2(1): a002907.
- [11] Coomber BL, Stewart PA. Morphometric analysis of CNS microvascular endothelium [J]. Microvasc Res, 1985, 30(1): 99-115.
- [12] Ufnal M, Skrzypecki J. Blood borne hormones in a cross-talk between peripheral and brain mechanisms regulating blood pressure, the role of circumventricular organs [J]. Neuropeptides, 2014, 48(2): 65-73.
- [13] Brightman MW, Reese TS. Junctions between intimately apposed cell membranes in the vertebrate brain [J]. J Cell Biol, 1969, 40(3): 648-677.
- [14] Westergaard E, Brightman MW. Transport of proteins across normal cerebral arterioles [J]. J Comp Neurol, 1973, 152(1): 17-44.
- [15] Betz AL, Goldstein GW. Polarity of the blood-brain barrier: neutral amino acid transport into isolated brain capillaries [J]. Science, 1978, 202(4364): 225-227.
- [16] Peppiatt CM, Howarth C, Mobbs P, et al. Bidirectional control of CNS capillary diameter by pericytes [J]. Nature, 2006, 443(7112): 700-704.
- [17] Hall CN, Reynell C, Gesslein B, et al. Capillary pericytes regulate cerebral blood flow in health and disease [J]. Nature, 2014, 508(7494): 55-60.
- [18] Gerhardt H, Wolburg H, Redies C. N-cadherin mediates pericytic-endothelial interaction during brain angiogenesis in the chicken [J]. Dev Dyn, 2000, 218(3): 472-479.
- [19] Shepro D, Morel NM. Pericyte physiology [J]. Faseb J, 1993, 7(11): 1031-1038.
- [20] Daneman R, Zhou L, Kebede AA, et al. Pericytes are required for blood-brain barrier integrity during embryogenesis [J]. Nature, 2010, 468(7323): 562-566.
- [21] Armulik A, Genové G, Betsholtz C. Pericytes: developmental, physiological, and pathological perspectives, problems, and

- promises[J]. Dev Cell, 2011, 21(2): 193-215.
- [22] Wu C, Ivars F, Anderson P, et al. Endothelial basement membrane laminin alpha5 selectively inhibits T lymphocyte extravasation into the brain[J]. Nat Med, 2009, 15(5): 519-527.
- [23] Sorokin L. The impact of the extracellular matrix on inflammation [J]. Nat Rev Immunol, 2010, 10(10): 712-723.
- [24] Abbott NJ, Rönnbäck L, Hansson E. Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier [J]. Nat Rev Neurosci, 2006, 7(1): 41-53.
- [25] Atwell D, Buchan AM, Charpak S, et al. Glial and neuronal control of brain blood flow[J]. Nature, 2010, 468(7321): 232-243.
- [26] Gordon GR, Howarth C, MacVicar BA. Bidirectional control of arteriole diameter by astrocytes[J]. Exp Physiol, 2011, 96(4): 393-399.
- [27] Oldendorf WH, Cornford ME, Brown WJ. The large apparent work capability of the blood-brain barrier: a study of the mitochondrial content of capillary endothelial cells in brain and other tissues of the rat[J]. Ann Neurol, 1977, 1(5): 409-417.
- [28] Janzer RC, Raff MC. Astrocytes induce blood-brain barrier properties in endothelial cells[J]. Nature, 1987, 325(6101): 253-257.
- [29] Hickey WF, Kimura H. Perivascular microglial cells of the CNS are bone marrow-derived and present antigen *in vivo* [J]. Science, 1988, 239(4837): 290-292.
- [30] Polfliet MM, Zwijnenburg PJ, van Furth AM, et al. Meningeal and perivascular macrophages of the central nervous system play a protective role during bacterial meningitis[J]. J Immunol, 2001, 167(8): 4644-4650.
- [31] Ginhoux F, Greter M, Leboeuf M, et al. Fate mapping analysis reveals that adult microglia derive from primitive macrophages [J]. Science, 2010, 330(6005): 841-845.
- [32] Streit WJ, Conde JR, Fendrick SE, et al. Role of microglia in the central nervous system's immune response[J]. Neurol Res, 2005, 27(7): 685-691.
- [33] Ajami B, Bennett JL, Krieger C, et al. Local self-renewal can sustain CNS microglia maintenance and function throughout adult life[J]. Nat Neurosci, 2007, 10(12): 1538-1543.
- [34] Cserr HF, Berman BJ. Iodide and thiocyanate efflux from brain following injection into rat caudate nucleus[J]. Am J Physiol, 1978, 235(4): F331-F337.
- [35] Lane NJ, Abbott NJ. Freeze-fracture evidence for a novel restricting junction at the blood-brain barrier of the cuttlefish *Sepia officinalis*[J]. J Neurocytol, 1992, 21(4): 295-303.
- [36] Allt G, Lawrenson JG. Pericytes: cell biology and pathology[J]. Cells Tissues Organs, 2001, 169(1): 1-11.
- [37] Rhodin JA. The ultrastructure of mammalian arterioles and precapillary sphincters [J]. J Ultrastruct Res, 1967, 18(1): 181-223.
- [38] Bundgaard M, Abbott NJ. All vertebrates started out with a glial blood-brain barrier 4-500 million years ago[J]. Glia, 2008, 56(7): 699-708.
- [39] Cserr HF, Bundgaard M. Blood-brain interfaces in vertebrates: a comparative approach[J]. Am J Physiol, 1984, 246(3 Pt 2): R277-R288.
- [40] Fraher J, Cheong E. Glial-Schwann cell specialisations at the central-peripheral nervous system transition of a cyclostome: an ultrastructural study[J]. Acta Anat (Basel), 1995, 154(4): 300-314.
- [41] O' Brown NM, Pfau SJ, Gu C. Bridging barriers: a comparative look at the blood-brain barrier across organisms[J]. Genes Dev, 2018, 32(7-8): 466-478.
- [42] Jeong JY, Kwon HB, Ahn JC, et al. Functional and developmental analysis of the blood-brain barrier in zebrafish [J]. Brain Res Bull, 2008, 75(5): 619-628.
- [43] L' Abbate N, Virgintino D, Ribatti D, et al. Effetti del carbaryl sulla morfogenesi degli arti negli embrioni di pollo [Effects of carbaryl on the morphogenesis of the extremities in chick embryos][J]. G Ital Med Lav, 1986, 8(3-4): 123-126.
- [44] Kabat EA, Moore DH, Landow H. An electrophoretic study of the protein components in cerebrospinal fluid and their relationship to the serum proteins[J]. J Clin Invest, 1942, 21(5): 571-577.
- [45] Möller W, Kummer W. The blood-brain barrier of the chick glycogen body (corpus gelatinosum) and its functional implications[J]. Cell Tissue Res, 2003, 313(1): 71-80.
- [46] Gerhardt H, Liebner S, Wolburg H. The pecten oculi of the chicken as a new *in vivo* model of the blood-brain barrier [J]. Cell Tissue Res, 1996, 285(1): 91-100.
- [47] 陈凤钦, 徐剑文, 周琳琳. 小鼠血脑屏障发育的超微结构观察[J]. 实用儿科临床杂志, 2011, 26(24): 1887-1889.
Chen FQ, Xu JW, Zhou LY. Ultrastructural investigations of development of blood-brain barrier in mice [J]. Appl Clin Pediatr, 2011, 26(24): 1887-1889.
- [48] Ceafalan LC, Fertig TE, Gheorghie TC, et al. Age-related ultrastructural changes of the basement membrane in the mouse blood-brain barrier [J]. J Cell Mol Med, 2019, 23(2): 819-827.
- [49] Brown RC, Davis TP. Calcium modulation of adherens and tight junction function: a potential mechanism for blood-brain barrier disruption after stroke[J]. Stroke, 2002, 33(6): 1706-1711.
- [50] Juhler M, Barry DI, Offner H, et al. Blood-brain and blood-spinal cord barrier permeability during the course of experimental allergic encephalomyelitis in the rat[J]. Brain Res, 1984, 302(2): 347-355.
- [51] Butter C, Baker D, O'Neill JK, et al. Mononuclear cell trafficking and plasma protein extravasation into the CNS during chronic relapsing experimental allergic encephalomyelitis in Biozzi AB/H mice[J]. J Neurol Sci, 1991, 104(1): 9-12.