

Col003 对大鼠脑缺血再灌注损伤后血脑屏障的保护作用

谢育良,周克剑,邓梦雨,谢晓云,梁婷婷,李浩英,刘竞丽

(广西医科大学第一附属医院神经内科,南宁 530021)

摘要 目的:探讨热休克蛋白 47 (HSP47)抑制剂 Col003 对大鼠脑缺血再灌注损伤后血脑屏障(BBB)的保护作用及其可能机制。**方法:**将大鼠随机分成假手术组、模型组、丁苯酞组、Col003 组,采用线栓法构建大鼠大脑中动脉栓塞(MCAO)模型模拟脑缺血再灌注损伤,拔除线栓后丁苯酞组大鼠经腹腔注射丁苯酞(5 mg/kg),Col003 组大鼠经尾静脉注射 Col003(50 μ mol/L),两种药物的给药频次和持续时间均为每天 1 次,连续 3 d,假手术组仅分离颈总动脉。采用蛋白免疫印迹法(western blotting)检测 HSP47 在大鼠脑缺血再灌注损伤后脑组织中的表达水平。通过 TTC 染色、神经运动功能评分、伊文思蓝渗透性实验评估大鼠脑功能障碍及 BBB 的损伤程度。通过 western blotting 检测大鼠脑组织中紧密连接蛋白(ZO-1、Occludin、Claudin5)以及间充质标志蛋白(α -SMA、Collagen I)的表达来观察 Col003 对大鼠脑缺血再灌注诱导的内皮-间质转化(EndMT)的影响,以进一步探讨 Col003 影响大鼠脑缺血再灌注后 BBB 损伤的可能机制。**结果:**在大鼠脑缺血再灌注后 24 h、72 h, HSP47 在脑组织中的表达水平均显著高于假手术组($P<0.000 1$)。与模型组比较,丁苯酞组和 Col003 组 MCAO 大鼠的神经功能评分($P<0.05$)和运动功能评分($P<0.01$)均得到显著改善,脑梗死面积均显著减小($P<0.000 1$),伊文思蓝渗透性均显著降低($P<0.000 1$)。与模型组比较,Col003 组大鼠脑组织中紧密连接蛋白的表达显著增高($P<0.01$),间充质标志蛋白的表达显著降低(均 $P<0.01$)。**结论:**Col003 可改善脑缺血再灌注后 BBB 的损伤,具有保护 BBB 的作用,其对 BBB 的保护作用可能是通过抑制 EndMT 实现。

关键词 热休克蛋白 47; Col003; 缺血性卒中; 缺血再灌注损伤; 血脑屏障; 内皮-间质转化

中图分类号:R743.3 **文献标志码:**A **文章编号:**1005-930X(2025)02-0202-08

DOI:10.16190/j.cnki.45-1211/r.2025.02.006

Protective effect of Col003 on the blood-brain barrier after cerebral ischemia-reperfusion injury in rats

XIE Yuliang, ZHOU Kejian, DENG Mengyu, XIE Xiaoyun, LIANG Tingting, LI Haoying, LIU Jingli. (Department of Neurology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

Abstract Objective: To investigate the protective effect of Col003, an inhibitor of heat shock protein 47 (HSP47) on the blood-brain barrier (BBB) after cerebral ischemia-reperfusion injury in rats and its possible mechanism. **Methods:** The rats were randomly divided into sham group, model group, butylphthalide group, and Col003 group. The middle cerebral artery occlusion (MCAO) model in rats was constructed using the suture occlusion method to simulate cerebral ischemia-reperfusion injury. After removing the suture, the rats in the butylphthalide group were intraperitoneally injected with butylphthalide (5 mg/kg). The rats in the Col003 group were injected with Col003 (50 μ mol/L) through the tail vein, and the frequency and duration of administration of both drugs were once a day for 3 consecutive days. In the sham group, only the common carotid artery was isolated. Western blotting was used to detect the expression level of HSP47 in the brain tissues of rats after cerebral ischemia-reperfusion injury. The degree of brain dysfunction and BBB damage was assessed using TTC staining, neurological motor function scores, and Evans blue permeability assays. The effects of Col003 on endothelial-mesenchymal transformation (EndMT) induced by cerebral ischemia-reperfusion in rats were evaluated by detecting the expression of tight junction proteins (ZO-1, Occludin, Claudin5) and mesenchymal marker proteins

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No.82160236);广西自然科学基金资助项目(No.2023GXNSFDA026017)

[通信作者] 刘竞丽, E-mail: lilicomet@163.com

[收稿日期] 2025-01-19

(α -SMA, Collagen I) in rat brain tissues by using western blotting, so as to further explore the possible mechanism of Col003 affecting BBB injury after cerebral ischemia-reperfusion in rats. **Results:** At 24 h and 72 h after cerebral ischemia-reperfusion, the expression level of HSP47 in the brain tissue of rats was significantly higher than that in the sham group ($P < 0.0001$). Compared with the model group, the neurological function scores ($P < 0.05$) and motor function scores ($P < 0.01$) of MCAO rats in butylphthalide group and Col003 group were significantly improved, the cerebral infarction area was significantly reduced ($P < 0.0001$), and the Evans blue permeability was significantly decreased ($P < 0.0001$). Compared with the model group, the expression of tight junction protein in the brain tissue of Col003 group was significantly increased ($P < 0.01$), and the expression of mesenchymal marker protein was significantly decreased (all $P < 0.01$). **Conclusion:** Col003 can improve BBB injury after cerebral ischemia-reperfusion, and has a protective effect on BBB. Its protective effect on BBB may be achieved by inhibiting EndMT.

Keywords heat shock protein 47; Col003; ischemic stroke; ischemia-reperfusion injury; blood-brain barrier; endothelial-mesenchymal transition

缺血性脑卒中是全球范围内导致死亡和残疾的主要疾病之一,但其治疗和干预措施却十分有限^[1]。血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)损伤是急性缺血性卒中的主要病理改变,内皮细胞作为BBB的核心构成,其功能障碍后紧密连接蛋白的破坏是导致卒中后BBB通透性增高的关键因素,恢复内皮细胞功能是减轻缺血性卒中后BBB损伤的一项有效策略^[2]。缺血、缺氧、炎症等刺激对内皮细胞具有“重塑性”,此时内皮细胞丧失了原有的功能(如细胞间紧密连接的丢失)而获得间质细胞的特性(如 α -SMA表达及胶原合成增多),即发生了内皮-间质转化(endothelial mesenchymal transition, EndMT)^[3]。在缺血性卒中等疾病的动物模型中,研究者发现,阻断EndMT可以恢复内皮细胞功能,上调紧密连接蛋白的表达,降低BBB通透性,改善疾病的临床预后^[4-5]。

热休克蛋白47(heat shock protein 47, HSP47)是一种参与胶原成熟的伴侣蛋白^[6],在器官的缺血再灌注后内皮损伤导致的EndMT扮演着重要的角色^[7-8]。在大鼠中,脑缺血后2 h、4 h、8 h、16 h、24 h和48 h,大脑皮层中的HSP47 mRNA表达上调,提示HSP47与脑缺血存在着密切联系^[9],HSP47可能同样参与了脑缺血再灌注损伤诱导的EndMT。Col003是HSP47的特异性抑制剂,可以通过竞争性结合HSP47上的胶原结合位点,有效抑制HSP47与胶原的相互作用^[10]。本课题组先前的研究表明,Col003可以抑制胶原诱导的血小板聚集,减轻大脑中动脉栓塞(MCAO)模型大鼠的脑缺血再灌注损

伤^[11],具有神经保护的作用。然而,Col003对于脑缺血再灌注损伤后BBB的作用仍未明确。结合文献及前期研究,推测Col003可能通过抑制EndMT改善脑缺血再灌注后BBB的损伤。本研究通过构建大鼠MCAO模型,探讨HSP47在脑缺血再灌注后的表达量变化及其抑制剂Col003对脑缺血再灌注后BBB及EndMT的影响,旨在探讨Col003在保护缺血性卒中后BBB的作用。

1 材料与方法

1.1 药品与实验试剂

HSP47抑制剂Col003(MedChem Express,美国);丁苯酞(石药集团恩必普药业有限公司,中国);2% TTC染色液(北京索莱宝科技有限公司,中国);伊文思蓝、三氯乙酸(上海阿拉丁生化科技股份有限公司,中国);一抗:鼠抗HSP47(Novus Biologicals,美国)、兔抗ZO-1(Proteintech,中国)、兔抗Occludin(Cell Signaling Technology,美国)、兔抗Claudin5(Novus Biologicals,美国)、兔抗 α -SMA(Signalway Antibody,美国)、Collagen I(Affinity Biosciences,中国)、鼠抗 β -Tubulin(Abmart,中国);二抗:山羊抗兔IgG HRP、山羊抗小鼠IgG HRP(Signalway Antibody,美国)。

1.2 实验动物及分组

健康的雄性SD大鼠,SPF级别,体重250~270 g,购自广西医科大学实验动物中心,严格按照SPF级实验室的各项操作规程和饲养方法,分笼饲养,每

笼3~5只,饲养环境安静、12 h的明暗循环。室内湿度控制在55%~65%,温度保持在22~24℃。将大鼠随机分成假手术组、模型组、丁苯酞组、Col003组,每组4只。假手术组仅分离颈总动脉,模型组在插入线栓堵塞大脑中动脉2 h后拔除线栓,丁苯酞组于造模成功拔除线栓后经腹腔注射丁苯酞(5 mg/kg),Col003组于造模成功拔除线栓后经尾静脉注射Col003(50 μ mol/L),两种药物的给药频次和持续时间均为每天1次,连续3 d。本实验研究均符合广西医科大学实验动物伦理委员会的要求(No.202304005)。

1.3 大鼠MCAO模型的建立

参照文献[12],采用线栓法制备大鼠大脑MCAO模型:大鼠麻醉后取仰卧位,沿颈部正中切开,分离并结扎颈外动脉(ECA),将线栓通过颈总动脉插入颈内动脉,阻断大脑中动脉(MCA)的起始部,插入线栓长度18~22 mm,固定线栓尾部,缝合皮肤。大鼠脑缺血2 h后拔出线栓。假手术组仅分离出颈部血管。待大鼠完全清醒时采用Longa 5分制法进行神经功能缺失体征评分,剔除造模后评分为0分和4分的大鼠,评分1~3分且存活24 h的大鼠为MCAO模型成功大鼠。假手术组仅分离颈动脉。

1.4 大鼠神经运动功能测试

在成功建立MCAO模型后的第3天,参照文献[13-14]对各组大鼠的神经和运动功能进行评估。神经功能评分方法(采用Bederson test):抓住尾部提起大鼠至一定高度,或者将大鼠放置于地面上,观察其反应,具体评分标准:0分表示提起尾部后大鼠前爪伸直且无神经功能缺损;1分表示提起尾部后大鼠脑部病变对侧上肢的腕、肘关节屈曲,肩关节内收屈曲;2分表示在1分基础上,向病灶侧推阻力下降,但无转圈现象;3分表示大鼠在地面上活动时向病灶侧转圈。运动功能评分方法(采用Grip test):选取一根长度50 cm、直径3 cm的麻绳,麻绳两端固定并拉直,高于地面约40 cm。将大鼠放置在绳上并观察其运动表现,评分标准:0分表示大鼠无法抓住麻绳并掉落;1分表示大鼠可用两只前爪抓住麻绳;2分表示大鼠能够用两只前爪抓住麻绳并试图往上爬;3分表示大鼠用两只前爪和一只或两只后爪抓住麻绳;4分表示大鼠前爪、后爪抓住麻绳,同时尾巴缠绕住麻绳;5分表示大鼠成功通过麻

绳从一端逃脱到另一端。

1.5 TTC染色及脑梗死面积测量

末次给药结束24 h后,处死大鼠,快速分离大脑,切成6个2 mm厚的冠状面。立即在37℃下将大脑切片浸入2% TTC染色液中孵育20 min。随后拍摄切片,并使用Image J软件计算各组大鼠脑组织的梗死面积,结果以脑梗死面积占总大脑半球面积的百分比来表示。

1.6 伊文思蓝渗透性实验测定BBB通透性

取材前2~6 h,经尾静脉向大鼠体内注射2%伊文思蓝染料,剂量为4 mL/kg,待染料充分经体循环后可见大鼠皮肤黏膜呈现蓝色,麻醉大鼠,剪开胸腔,经心脏灌入PBS,确认灌流成功后断头取脑,先将大脑切成6个2 mm厚的冠状面并进行拍摄,接着分出左右半球,称重后放置于研磨管中,加入50%三氯乙酸溶液,充分研磨后放置于预冷好的离心机中,设置条件为4℃,12 000 r/min离心20 min,取上清液,制作标准曲线,测量每组样本在632 nm处的吸光度(OD)值,代入标准曲线换算出伊文思蓝的含量,并进行比较。

1.7 蛋白免疫印迹法(western blotting)检测大鼠脑组织中紧密连接蛋白和间充质标志蛋白的表达量

每组样本取50 mg大鼠脑组织,加入含蛋白酶抑制剂的裂解液,充分匀浆后置于冰上裂解30 min,加入蛋白上样缓冲液,100℃加热10 min使蛋白变性。取适量蛋白样品在聚丙烯酰胺凝胶上进行电泳,并转印到PVDF膜上。使用快速封闭液室温封闭15 min后,用TBST溶液洗涤3次,将膜放入含有ZO-1(1:1 000)、Occludin(1:1 000)、Claudin5(1:1 000)、 α -SMA(1:1 000)、Collagen I(1:1 000)和 β -Tubulin(1:20 000)的一抗稀释液中4℃孵育过夜,用TBST溶液洗涤3次后,加入二抗稀释液(1:10 000)室温孵育1 h,经TBST洗涤3次后进行扫膜,获取条带成像,Image J软件对条带进行半定量分析。

1.8 统计学方法

采用GraphPad Prism 9.0对所有数据进行统计分析。计量资料采用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用Tukey多重比较检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

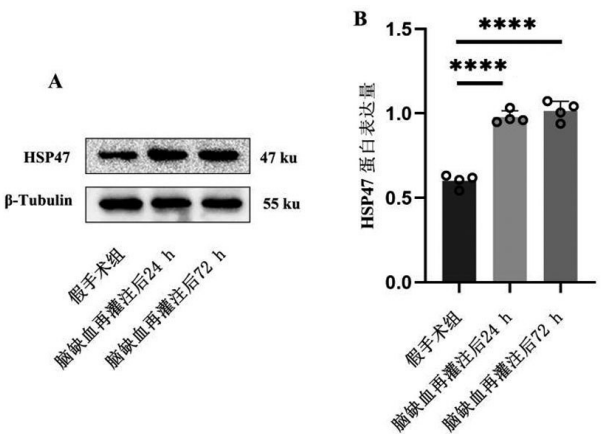
2 结 果

2.1 HSP47在大鼠脑缺血再灌注后24 h、72 h脑组织中的表达水平

模型组HSP47在大鼠脑缺血再灌注后24 h、72 h的表达水平显著高于假手术组($P<0.0001$),见图1。

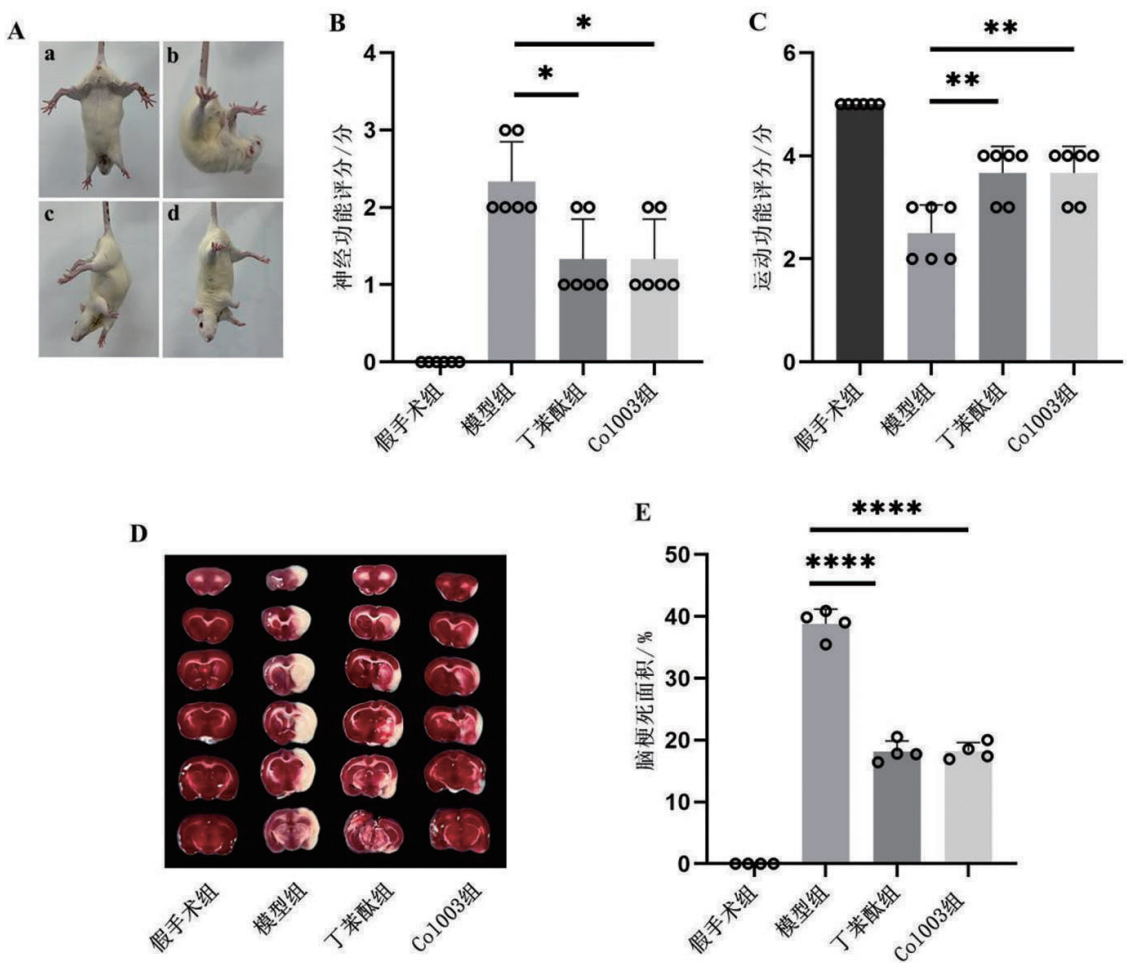
2.2 HSP47抑制剂Col1003对MCAO大鼠神经运动功能及脑梗死面积的作用

与模型组的大鼠比较,丁苯酞组和Col1003组大鼠脑梗死面积显著减小($P<0.0001$),神经功能和运动功能都得到了显著改善(神经功能评分, $P<0.05$;运动功能评分, $P<0.01$),提示Col1003具有神经保护作用,见图2。



A:HSP47 western blotting蛋白条带图;B:HSP47蛋白表达量统计分析图;组间比较,**** $P<0.0001$ 。

图1 HSP47在大鼠脑缺血再灌注后24 h、72 h脑组织中的表达水平



A:各组大鼠神经功能对应图(a:假手术组;b:模型组;c:丁苯酞组;d:Col1003组);B:神经功能评分;C:运动功能评分;D:TTC染色图;E:脑梗死面积;组间比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$,**** $P<0.0001$ 。

图2 HSP47抑制剂Col1003对MCAO大鼠神经运动功能及脑梗死面积的作用

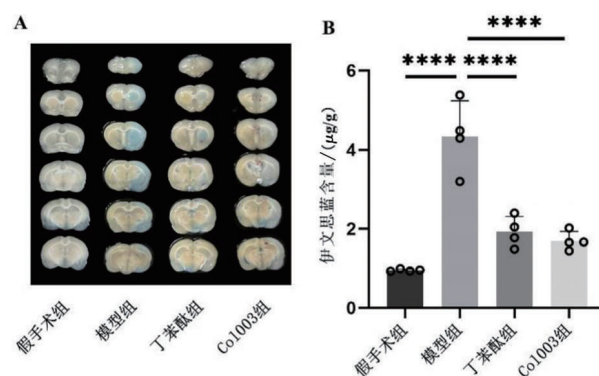
2.3 HSP47抑制剂 Col003 对 MCAO 大鼠 BBB 通透性的作用

与假手术组比较,模型组的大鼠脑切片伊文思蓝渗透性显著增高($P<0.001$),提示 BBB 通透性增加。与模型组比较,丁苯酞组和 Col003 组的伊文思蓝渗透性均显著降低($P<0.0001$),提示两种药物对于 MCAO 大鼠的 BBB 具有保护作用;进一步比较丁苯酞组和 Col003 组的伊文思蓝渗透性,两组比较差异无统计学意义($P>0.05$),提示这两种药物对于 MCAO 大鼠的治疗效果相同,见图 3。

2.4 HSP47 抑制剂 Col003 对 MCAO 大鼠紧密连接蛋白及间充质标志蛋白的表达水平的影响

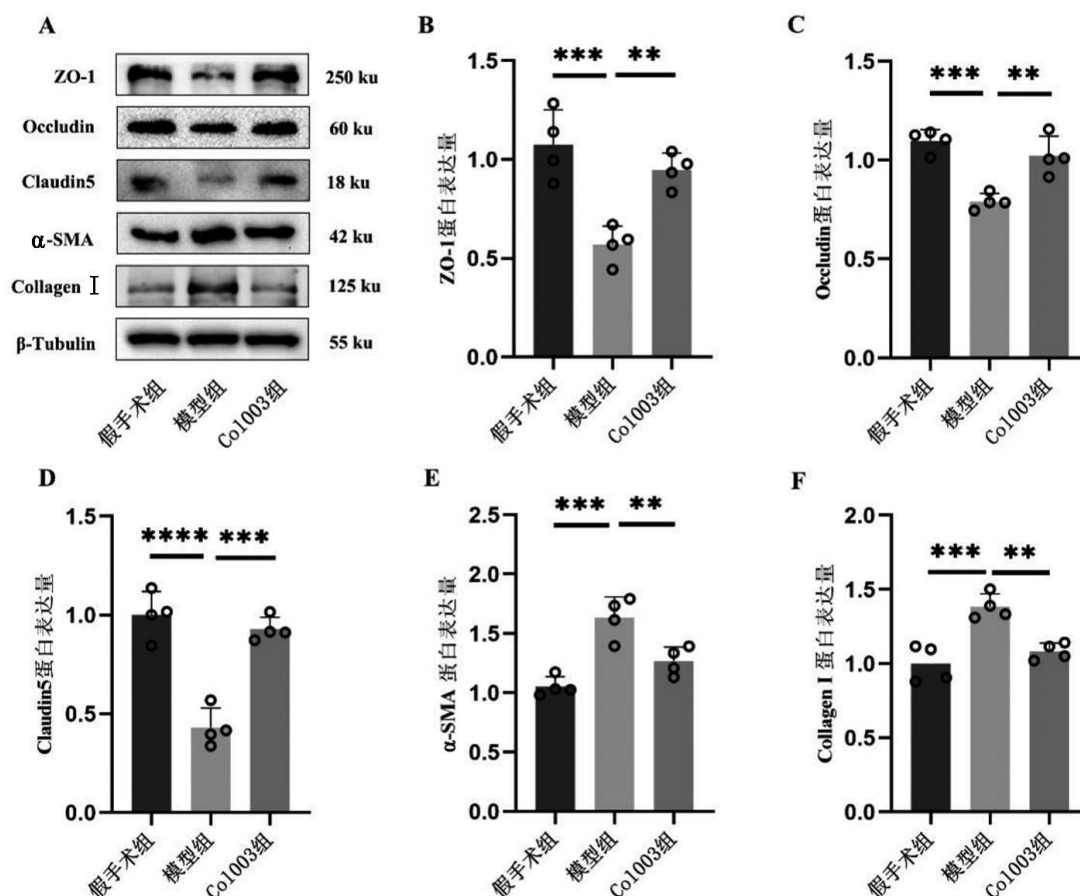
与模型组比较,Col003 组大鼠缺血半球梗死周边区紧密连接蛋白 ZO-1 ($P<0.01$)、Occludin ($P<0.01$)、Claudin5 ($P<0.001$) 的表达增高,间充质标志蛋白 α -SMA ($P<0.01$) 和 Collagen I ($P<0.01$) 的表

达降低,提示 Col003 可能通过抑制 EndMT 实现其对 MCAO 大鼠 BBB 的保护作用,见图 4。



A: 伊文思蓝染色图; B: 伊文思蓝含量统计分析图; 各组间比较, **** $P<0.0001$ 。

图3 HSP47抑制剂 Col003 对 MCAO 大鼠 BBB 通透性的作用



A: 各组 western blotting 蛋白条带图; B~F: 各组蛋白表达量统计分析图; 组间比较, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, **** $P<0.0001$ 。

图4 HSP47抑制剂 Col003 对 MCAO 大鼠紧密连接蛋白及间充质标志蛋白的表达水平的影响

3 讨 论

BBB的破坏是缺血性卒中的关键病理改变,维护BBB的完整性对改善脑梗死患者的预后非常重要^[15]。缺血性卒中时间一进程相关研究表明,在大鼠MCAO模型中,缺血性卒中后出现双相BBB完整性破坏,涉及缺血和再灌注两个因素:第一次发生在再灌注后6~12 h,而第2次发生在再灌注后72 h^[16]。缺血性卒中后启动的病理生理事件,包括兴奋性毒性、氧化应激、炎症和细胞凋亡等导致的级联反应可能是BBB结构和功能出现变化的重要因素^[17]。BBB保护作为急性缺血性卒中的治疗策略,其完整性破坏的时间变化对临床用药有着重要的参考价值。内皮细胞是BBB的主要结构,在正常生理条件下,相邻的内皮细胞及细胞之间紧密连接使大多数分子不能自由地通过BBB,对于维持BBB的完整性以及中枢神经系统内环境的稳态有重要作用^[18]。缺血性卒中发生后,缺氧、炎症因子等病理因素的刺激会诱导EndMT的发生,内皮细胞间的紧密连接结构被破坏, α -SMA、Collagen I等间充质标志蛋白表达增多,导致内皮功能障碍,BBB完整性被破坏,进一步加重卒中后的脑损伤^[4, 19-20]。在短暂大脑中动脉栓塞(tMCAO)小鼠模型中,Chen等^[19]和Bai等^[4]均证实了通过脑缺血再灌注后会发生EndMT,抑制EndMT可以恢复内皮细胞功能,减少BBB渗漏,改善tMCAO小鼠的预后。由此可见,抑制EndMT可以作为一种可行的干预途径,可用于保护BBB的完整性。

HSP47是一种应激诱导的胶原特异性分子伴侣,参与前胶原的加工和(或)分泌^[21]。此外,HSP47在缺血、缺氧、压力过载等各种因素刺激导致的心脏、肾脏等器官内皮细胞损伤中所扮演的角色也引起了研究者的重视^[22-23]。Hemanthakumar等^[24]发现,TGF- β 和ROS等炎症介质可诱导人心脏内皮细胞中HSP47表达增多,过表达HSP47会增加人心脏内皮细胞应激纤维的形成,并且减弱了细胞间细胞连接,同时还促进间充质相关基因的表达;而沉默HSP47不仅可抑制胶原沉积,同时也减少了获得间充质特征的内皮细胞数量,表明HSP47可以作为调控EndMT过程、恢复内皮细胞功能的靶点。在本研

究发现在脑缺血再灌注损伤后72 h,HSP47在MCAO大鼠的梗死周边区表达水平仍持续增高,这与先前提到的缺血性卒中后BBB损伤的持续时间一致,鉴于HSP47与内皮损伤后EndMT的密切联系,因此可以推测HSP47在脑缺血再灌注后的EndMT中同样扮演着重要作用。Col003作为HSP47的特异性抑制剂,可能可以通过抑制EndMT改善脑缺血再灌注后BBB损伤。

首先,本研究通过TTC实验、神经运动功能评分以及伊文思蓝渗透性实验确定Col003是否可以减轻MCAO大鼠BBB损伤。丁苯酞在临床上常用于治疗急性缺血性卒中,对BBB具有保护作用,故本研究选择丁苯酞作为阳性对照药。实验结果显示,经Col003治疗后,与模型组比较,MCAO大鼠的梗死面积减小,神经运动功能、BBB的渗透性均得到改善,与丁苯酞的治疗效果相当。其次,为了进一步探讨Col003对于MCAO大鼠BBB的保护机制,通过western blotting实验我们观察到在缺血再灌注后MCAO大鼠脑组织中紧密连接蛋白(ZO-1、Occludin、Claudin5)表达降低,间充质标志蛋白(α -SMA、Collagen I)表达增加,表明脑缺血再灌注导致了EndMT,这与上述文献的结果一致;使用Col003干预MCAO大鼠后紧密连接蛋白的表达增高,间充质标志蛋白表达降低,表明Col003对MCAO大鼠BBB的保护作用机制可能通过抑制EndMT实现,初步验证了本课题组的猜想。

Wnt/ β -catenin信号通路在中枢神经系统BBB的形成和维持中起着关键的调节作用^[25]。糖原合成酶激酶3 β (GSK3 β)是Wnt/ β -catenin信号通路的重要调控因子,GSK3 β 的磷酸化可抑制其活性,从而促进 β -catenin的稳定并激活Wnt/ β -catenin信号通路^[26]。研究表明,银杏内酯B、甲磺酸盐等药物能够通过上调GSK3 β 的磷酸化水平抑制其活性,进而激活Wnt/ β -catenin信号通路,改善小鼠脑缺血再灌注后BBB的损伤^[27-28]。此外,GSK3 β 的磷酸化水平可通过调控下游转录因子(如Snail、Slug等)的表达,影响EndMT的发生^[3]。前期研究发现,Col003可以影响GSK3 β 的磷酸化水平,抑制胶原诱导的血小板活化。基于上述研究结果,推测Col003可能通过调控GSK3 β 的磷酸化水平,进而激活Wnt/ β -catenin信号通路抑制EndMT,发挥保护BBB的作用,但其确

切的分子机制仍需通过后续的实验加以证实。

综上,HSP47抑制剂Col003可以改善脑缺血再灌注后BBB的损伤,具有保护BBB的作用,可能是通过抑制EndMT实现。因此,本研究为Col003用于改善脑缺血再灌注后BBB损伤提供理论依据,为缺血性卒中急性期新药的开发提供实验依据,但其确切的保护机制仍需进一步探讨。

参考文献:

- [1] ZERNA C, THOMALLA G, CAMPBELL B C V, et al. Current practice and future directions in the diagnosis and acute treatment of ischaemic stroke[J]. *Lancet*, 2018, 392(10154):1247-1256.
- [2] PAUL S, CANDELARIO-JALIL E. Emerging neuroprotective strategies for the treatment of ischemic stroke: An overview of clinical and preclinical studies[J]. *Experimental neurology*, 2021,335:113518.
- [3] PIERA-VELAZQUEZ S, JIMENEZ S A. Endothelial to mesenchymal transition: role in physiology and in the pathogenesis of human diseases[J]. *Physiological reviews*, 2019,99(2):1281-1324.
- [4] BAI Y, ZHANG Y, HAN B, et al. Circular RNA DLGAP4 ameliorates ischemic stroke outcomes by targeting miR-143 to regulate endothelial-mesenchymal transition associated with blood-brain barrier integrity[J]. *Journal of neuroscience*, 2018,38(1):32-50.
- [5] LUO Y S, YANG H, WAN Y K, et al. Endothelial ETS1 inhibition exacerbate blood-brain barrier dysfunction in multiple sclerosis through inducing endothelial-to-mesenchymal transition[J]. *Cell death disease*, 2022,13(5):462.
- [6] SAUK J J, NIKITAKIS N, SIAVASH H. Hsp47 a novel collagen binding serpin chaperone, autoantigen and therapeutic target[J]. *Frontiers in bioscience*, 2005,10:107-118.
- [7] XIE S Y, XING Y, SHI W K, et al. Cardiac fibroblast heat shock protein 47 aggravates cardiac fibrosis post myocardial ischemia-reperfusion injury by encouraging ubiquitin specific peptidase 10 dependent Smad4 deubiquitination[J]. *Acta pharmaceutica sinica B*, 2022,12(11):4138-4153.
- [8] XU-DUBOIS Y C, PELTIER J, BROCHERIOU I, et al. Markers of endothelial-to-mesenchymal transition: evidence for antibody-endothelium interaction during antibody-mediated rejection in kidney recipients[J]. *Journal of American society of nephrology*, 2016,27(1):324-332.
- [9] HIGASHI T, TAKECHI H, UEMURA Y, et al. Differential induction of mRNA species encoding several classes of stress proteins following focal cerebral ischemia in rats[J]. *Brain research*, 1994,650(2):239-248.
- [10] ITO S, OGAWA K, TAKEUCHI K, et al. A small-molecule compound inhibits a collagen-specific molecular chaperone and could represent a potential remedy for fibrosis[J]. *Journal of biological chemistry*, 2017,292(49):20076-20085.
- [11] WU S, LIANG C W, XIE X Y, et al. Hsp47 inhibitor Col003 attenuates collagen-induced platelet activation and cerebral ischemic-reperfusion injury in rats[J]. *Frontiers in pharmacology*, 2022,12:792263.
- [12] ZHANG D Y, JIN W D, LIU H L, et al. ENT1 inhibition attenuates apoptosis by activation of cAMP/pCREB/Bcl2 pathway after MCAO in rats[J]. *Experimental neurology*, 2020,331:113362.
- [13] BEDESON J B, PITTS L H, TSUJI M, et al. Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurologic examination[J]. *Stroke*, 1986, 17(3): 472-476.
- [14] MORAN P M, HIGGINS L S, CORDELL B, et al. Age-related learning deficits in transgenic mice expressing the 751-amino acid isoform of human β -amyloid precursor protein[J]. *Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America*, 1995, 92(12): 5341-5345.
- [15] SIFAT A E, VAIDYA B, ABBRUSCATO T J. Blood-brain barrier protection as a therapeutic strategy for acute ischemic stroke[J]. *Aaps journal*, 2017,19(4):957-972.
- [16] KANG M, YAO Y. Basement membrane changes in ischemic stroke[J]. *Stroke*, 2020,51(4):1344-1352.
- [17] SANDOVAL K E, WITT K A. Blood-brain barrier tight junction permeability and ischemic stroke[J]. *Neurobiology of disease*, 2008,32(2):200-219.
- [18] OBERMEIER B, DANEMAN R, RANSOHOFF R M. Development, maintenance and disruption of the blood-brain barrier[J]. *Nature medicine*, 2013,19(12):1584-1596.
- [19] CHEN D Q, LI L, WANG Y, et al. Ischemia-reperfusion injury of brain induces endothelial-mesenchymal transition and vascular fibrosis via activating let-7i/TGF- β R1 double-negative feedback loop[J]. *Federation of American societies for experimental biology*, 2020,34(5):7178-7191.
- [20] SUN D L, MA J, DU L Y, et al. Fluid shear stress induced-

- endothelial phenotypic transition contributes to cerebral ischemia-reperfusion injury and repair[J]. *APL bioengineering*, 2024,8(1):016110.
- [21] BELLAYE P S, BURG Y O, BONNIAUD P, et al. HSP47: a potential target for fibrotic diseases and implications for therapy[J]. *Expert opinion on therapeutic targets*, 2021, 25(1):49-62.
- [22] KATO T, SEKIGUCHI A, SAGARA K, et al. Endothelial-mesenchymal transition in human atrial fibrillation[J]. *Journal of cardiology*, 2017,69(5):706-711.
- [23] LOUIS K, HERTIG A, TAUPIN J L, et al. Markers of graft microvascular endothelial injury may identify harmful donor-specific anti-HLA antibodies and predict kidney allograft loss[J]. *American journal of transplantation*, 2019,19(9):2434-2445.
- [24] HEMANTHAKUMAR K A, FANG S T, ANISIMOV A, et al. Cardiovascular disease risk factors induce mesenchymal features and senescence in mouse cardiac endothelial cells[J]. *Elife*, 2021,10: e62678.
- [25] STENMAN J M, RAJAGOPAL J, CARROLL T J, et al. Canonical wnt signaling regulates organ-specific assembly and differentiation of CNS vasculature[J]. *Science*, 2008, 322(5905): 1247-1250.
- [26] LIU J Q, XIAO Q, XIAO J N, et al. Wnt/ β -catenin signaling: function, biological mechanisms, and therapeutic opportunities[J]. *Signal transduction and targeted therapy*, 2022, 7(1):3.
- [27] FEI Y X, ZHU J P, ZHAO B, et al. XQ-1H regulates Wnt/GSK3 β / β -catenin pathway and ameliorates the integrity of blood brain barrier in mice with acute ischemic stroke[J]. *Brain research bulletin*, 2020,164: 269-288.
- [28] FEI Y X, LI T, WU R Y, et al. Se-(Methyl)-selenocysteine ameliorates blood-brain barrier disruption of focal cerebral ischemia mice via ferroptosis inhibition and tight junction upregulation in an Akt/GSK3 β -dependent manner [J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2024,241(2):379-399.

本文引用格式:

谢育良, 周克剑, 邓梦雨, 等.Col003对大鼠脑缺血再灌注损伤后血脑屏障的保护作用 [J]. *广西医科大学学报*, 2025,42(2):202-209.DOI:10.16190/j.cnki.45-1211/r.2025.02.006

XIE Y L, ZHOU K J, DENG M Y, et al. Protective effect of Col003 on the blood-brain barrier after cerebral ischemia-reperfusion injury in rats[J]. *Journal of Guangxi medical university*, 2025, 42(2): 202-209.DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2025.02.006