

DOI:10.16781/j.CN31-2187/R.20210759

· 综 述 ·

血脑屏障动物模型的研究进展

王晓航^{1,2}, 陈 洋^{1,2}, 戚中田¹, 朱勇喆^{1*}

1. 海军军医大学(第二军医大学)海军医学系生物医学防护教研室, 上海 200433

2. 海军军医大学(第二军医大学)基础医学院, 上海 200433

[摘要] 血脑屏障(BBB)是中枢神经血管单元的重要结构,通过紧密连接及转运蛋白阻止神经毒性物质与病原体入侵,维护中枢神经系统内环境稳定。相较于体外模型,理想的动物模型可更好地模拟BBB生理机制,在血流动力学、屏障完整性、信号转导和物质交换等研究中起重要作用。在BBB动物模型评价方法的研究中,减少创伤、动态评估成为评价方法的重要需求;BBB动物模型的构建由经典模型动物(果蝇、非人灵长类动物)转变为转基因、人源化动物(斑马鱼、小鼠),说明在新技术发展下,与人类蛋白表达相近、适合高通量筛选的BBB动物模型是该领域的主流发展趋势。

[关键词] 血脑屏障;动物模型;评价方法;转基因动物模型;人源化动物模型

[中图分类号] R-332 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2097-1338(2022)03-0314-06

Animal models of blood-brain barrier: research progress

WANG Xiao-hang^{1,2}, CHEN Yang^{1,2}, QI Zhong-tian¹, ZHU Yong-zhe^{1*}

1. Department of Biomedical Defense, Faculty of Naval Medicine, Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China

2. College of Basic Medical Sciences, Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China

[Abstract] Blood-brain barrier (BBB) is an important structure of the neurovascular unit, and it can prevent the invasion of neurotoxic substances and pathogens through tight junctions and transporting proteins, maintaining the stability of the environment in the central nervous system. Compared with the BBB models *in vitro*, the ideal animal models can better simulate the physiological mechanism of BBB and play an important role in studying hemodynamics, barrier integrity, signal transduction, material exchange and so on. Reducing trauma and dynamic evaluation have become important needs in evaluating BBB models. The BBB model animals have changed from classical model animals (fruit flies and non-human primates) to transgenic and humanized animals (zebrafish and mice). With the development of new technology, BBB animal models with humanized protein expression and high-throughput screening are becoming the mainstream trend in this field.

[Key words] blood-brain barrier; animal models; evaluation method; transgenic animal model; humanized animal model

[Acad J Naval Med Univ, 2022, 43(3): 314-319]

血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)是中枢神经血管单元(neurovascular unit, NVU)的重要组成部分,由脑微血管内皮细胞、紧密连接蛋白、周细胞、神经胶质细胞和基底膜共同构成^[1]。BBB对维持中枢神经系统(central nervous system, CNS)内环境稳态起重要作用^[2]。BBB

的特殊结构可阻止有害物质进入CNS,但同时也导致大多数药物无法穿透BBB而影响对CNS疾病的治疗。因此,研究BBB生理及病理功能十分重要。虽然已有多种体外模型用于BBB结构及机制研究,但这些体外模型均难以模仿NVU内复杂的分子转运及细胞间相互作用机制^[3-5]。BBB动物模

[收稿日期] 2021-08-03 **[接受日期]** 2022-03-02

[基金项目] 国家自然科学基金(31770181, 31770187),海军军医大学(第二军医大学)创新能力培养计划(FH2019060)。Supported by National Natural Science Foundation of China (31770181, 31770187) and Innovation Training Project of Naval Medical University (Second Military Medical University) (FH2019060)。

[作者简介] 王晓航. E-mail: heart_swarm@126.com

*通信作者(Corresponding author). E-mail: zhuyongzhe1984@sina.com

型具有生理近似性,可更加准确地模拟人类BBB的生理结构及功能。理想的动物模型不仅可以研究BBB的外排机制、物质交换功能及信号转导功能,还可用于筛选治疗CNS疾病的新型药物,预测其在人体中的作用效果。近年来,随着基因敲除和动物模型人源化技术的迅速发展,利用动物模型进行研究并在此基础上预测人类BBB作用机制的想法得以实现。本文就BBB动物模型的研究进展进行综述,主要介绍模型的评价方法及常用模型的特点及其应用。

1 BBB动物模型的评价方法

1.1 伊文思蓝渗透法 BBB可调控血浆中各种溶质的通透性,当溶质分子量大于450时便难以穿过^[6]。伊文思蓝作为一种生物染料,理化性质稳定,分子量为961,易与血浆中的白蛋白结合为高分子量(69 000)蛋白示踪剂,极难透过正常生理状态下的BBB^[7]。因此,检测一定时间内伊文思蓝渗入脑组织的剂量,可作为BBB完整性的评价指标,研究中常使用该方法检测BBB完整性及紧密连接蛋白分布^[8]。伊文思蓝渗透法操作便捷、准确、安全且性价比高,可通过测定匀浆组织的光密度或显微镜观察染色切片2种方式来评定染料渗透结果^[9]。但该方法仅能检测BBB的总体完整性,无法反映某种蛋白缺失对通透性的具体影响。

1.2 免疫荧光成像法 免疫荧光技术是利用抗原抗体结合原理,在已知抗体上连接荧光分子,使抗体作为探针与组织内对应抗原结合后,应用显微镜观察荧光分布。免疫荧光成像可以检测特定蛋白,直观反映静态BBB的完整性^[10]。采用动物BBB离体毛细血管进行蛋白荧光定量显微图像分析,可动态显示BBB对特定化合物的吸收和转运过程^[11]。然而,免疫荧光技术易发生非特异性染色,难以客观评价结果,技术程序也较为复杂,限制了其在实验研究中的应用。

1.3 脑微透析法 脑微透析是一种有创脑化学采样技术,具有较高的时间与空间分辨率,现多采用微透析探针-液相二级质谱仪耦合系统进行高精度分析,可动态监控BBB对特定分子的转运情况^[12]。脑微透析探针尖端通道可进行采样,外部的半透析膜用于物质交换,不同孔径的探针可以限定采集物质的分子量大小,在探针出口端直接取样分析。该

技术广泛应用于BBB动物模型药代动力学研究,如监测脑肿瘤药物递送情况、脑损伤后神经毒性物质变化水平等^[13-14]。但脑微透析技术易受多种因素影响(包括透析膜的面积、回收率、截留分子量、脑血流灌注速度、探头放置位置和大脑损伤程度等)^[15],且实验操作复杂、价格昂贵,限制了该技术的进一步应用。

1.4 无创成像分析法 MRI、PET-CT及单光子发射计算机断层扫描(single-photon emission computed tomography, SPECT)均可通过无创手段监测BBB完整性,用以研究脑血流动力学、脑摄取动力学和脑外排机制^[16]。这3种技术都能做到对BBB功能的无创动态评估,可使用无创方法对BBB的结构和功能进行分析。MRI技术具有较高的图像分辨率,对结构测量准确;PET-CT及SPECT技术则具有较高的图像分辨率,对结构动态变化敏感。但这3种无创成像分析法都存在价格昂贵、操作复杂等问题。此外,PET-CT及SPECT存在示踪剂分解干扰现象,无法对BBB进行长效研究,而MRI成像时间长,较难进行BBB实时动态观察,这些因素限制了无创成像技术的推广应用。

2 常用BBB动物模型

开发BBB动物模型是为了研究人类BBB的生理和病理变化,为临床治疗和药物开发提供经验。因此,理想的BBB动物模型生理结构及蛋白表达应与人类近似,且适用于现有评价方法。此外,用于药物筛选开发的模型还应具有易于繁殖、性价比高的特点。本文按照与人类亲缘关系的远近,介绍几种广泛应用的BBB动物模型。

2.1 果蝇模型 在果蝇动物模型中,其脑-血淋巴屏障是由鞘内神经胶质细胞、副鞘内神经胶质细胞、神经板脂肪体层共同构成^[17]。果蝇的基因组较小,基因操作技术简单成熟,突变体易于成活,实验中常使用引导编辑技术研究特定基因在BBB中的作用^[18];果蝇的繁殖周期短,培养成本低,可多代育种,适合进行CNS药物开发的高通量实验^[19]。然而,果蝇与哺乳动物属于不同的门类,BBB生理功能及药代动力学都与人类存在差异,实验结果类推至临床存在较大困难,限制了该模型的进一步应用。

2.2 斑马鱼模型 斑马鱼BBB结构与人类有许多

相似之处,由紧密连接的内皮细胞及周细胞构成。现已开发出终生透明的斑马鱼品系,便于观测动态发育变化,可用于体内复杂系统的直视研究^[20]。此外,斑马鱼易于培育繁殖,适用于高通量检测实验。因此,幼年及成年斑马鱼被广泛应用于CNS研究,并针对脑部疾病开发了多种BBB模型,可分类为野生型斑马鱼模型、转基因斑马鱼模型、人源化斑马鱼模型。

2.2.1 野生型斑马鱼模型 野生型斑马鱼幼鱼在发育的前14 d通体透明,仅有少量色素表达,可通过光学手段观察体内BBB变化。野生型斑马鱼可大量繁殖后代,其幼鱼长度约几毫米,可在每孔体积约100 μL 的96孔板内存活,适合进行高通量化合物筛选。有研究表明,斑马鱼拥有与哺乳动物相似的BBB结构及神经递质调控机制^[21]。因此,通过斑马鱼筛选获得的结果有很大潜力向临床转化。然而,目前对于斑马鱼BBB转运蛋白的研究并不充分。虽然斑马鱼BBB中存在许多人类转运蛋白同源物,但其具体功能尚不明确^[22]。

2.2.2 转基因斑马鱼模型 转基因斑马鱼常用于构建CNS肿瘤BBB模型,研究各种CNS肿瘤发生、发展过程中的BBB特定变化,并通过模型进行高通量筛选,开发新的抗肿瘤疗法。通过化学物质诱变或基因操作,以转基因斑马鱼为基础构建的模型可以用于模拟基因突变造成的原发性CNS肿瘤BBB^[23]。此外,通过干扰特定基因,可在斑马鱼中构建癫痫、焦虑症、阿尔茨海默病等多种CNS病变,并通过高通量实验筛选有效药物^[24-25],有助于药物研发。

2.2.3 人源化斑马鱼模型 人源化动物模型携带有可表达人类功能的基因、细胞、组织、器官或免疫系统,适用于生物学研究及临床治疗药物开发。构建人源化肿瘤细胞脑转移模型的前提是癌细胞成功定位并穿过BBB,但人类肿瘤细胞异种移植后难以追踪,植入后不易定位至脑部,且内环境变化可导致细胞无法穿过BBB。这些问题使得脑转移模型在大多数动物中难以构建。通过在斑马鱼中植入肿瘤细胞建立的人源化斑马鱼模型可一定程度上解决上述问题,无论采取皮下注射还是循环系统输注,都可以做到单细胞分辨率下动态观察肿瘤细胞生长进展。研究发现人源化斑马鱼巨噬细胞可通过细胞物质传递,增加人类黑色素瘤细胞的运动和传播^[26]。

另一项研究显示,输注人类嗜脑性肿瘤细胞后,肿瘤细胞在人源化斑马鱼中存在脑靶向性,提示人源化斑马鱼体内环境具有影响病变发展的特性,可引导嗜脑性肿瘤细胞向BBB的增殖、运动、定位、停滞或凋亡^[27]。移植肿瘤细胞的人源化斑马鱼模型为肿瘤疾病脑转移的发病机制和临床治疗提供了有效的研究平台。

2.3 小鼠模型 小鼠模型常用于研究BBB通透性及分子转运功能。小鼠亲缘关系与人类更近,闭合循环系统与人类相似,可提供多种药物输注途径;小鼠BBB转运蛋白表达量高,可模拟人类复杂的BBB分子转运机制。

2.3.1 野生型小鼠模型 野生型小鼠BBB与人类结构相似,由脑微血管内皮细胞、神经胶质细胞、周细胞、神经末梢构成,可用于模拟人类BBB生理结构及转运功能,进行CNS药物转运及BBB促炎-抗炎机制研究^[28-29]。但是,野生型小鼠模型在血管周径^[30]、信号转导^[31]、免疫活化^[32]、受体表达及底物代谢^[33]方面与人类存在较大差异,这为实验结果临床化造成了阻碍。因此,了解人类与啮齿类动物间的遗传、分子、免疫差异,构建精确模拟人类BBB的小鼠模型十分重要。

2.3.2 转基因小鼠模型 哺乳动物BBB大量表达药物转运蛋白,将小分子底物泵回血液,导致CNS内环境无法达到治疗浓度。转基因小鼠模型可研究BBB蛋白在限制药物脑渗透方面的作用,评估小分子的BBB通透性。Kikuchi等^[34]利用聚合酶 δ 相互作用蛋白基因杂合小鼠证明该种蛋白缺失可减轻脂多糖造成的BBB损伤。Robey等^[35]对基因缺陷小鼠的研究发现,同时抑制ATP结合盒亚家族B成员1及ATP结合盒亚家族G成员2转运蛋白才能明显改善CNS治疗药物效果,证明转运蛋白在多重靶向疗法中具有协同作用。由此可见,转基因小鼠模型的应用研究可为现有CNS治疗方案提供新的思路。不过,现有检测方法均无法准确测定大分子的BBB通透性。大分子半衰期长、转运慢,不适用于抗体检测(抗体无法透过BBB)、无创成像(血液中存在大量未清除分子)及脑微透析技术(半透膜无法单独滤过大分子),目前转基因小鼠模型难以对BBB的生物大分子转运进行评估。

2.3.3 人源化小鼠模型 野生型和转基因型小鼠与人类间存在的种间差异造成了靶向受体、转运蛋

白、细胞分布模式和BBB转运蛋白丰富度差异^[36],这对小鼠模型的实验结果整合并外推至临床造成了影响。通过人源化操作在小鼠体内整合人类蛋白或免疫系统,构建人源化小鼠模型有助于解决上述问题^[37]。Main等^[38]使用人源化载脂蛋白E4 (apolipoprotein E4, APOE4)小鼠对创伤性脑损伤进行研究,确认APOE4蛋白参与BBB修复过程。人源化小鼠模型可鉴定并分析BBB主动转运蛋白,研究人类的BBB免疫反应及药物动力学代谢变化,减少动物实验与临床间的预测差异,从而提供具有成本效益的临床前平台。但也有文献报道,一些人源化小鼠模型存在人源化蛋白表达量减少、功能降低及鼠源表达物无法完全抑制等问题^[39]。

转基因和人源化小鼠可以减少动物模型与人类的差异,但也使模型的应用成本高昂且更具挑战性,难以用于高通量分析。因此,开发成本更低廉、人源化程度更高的模型是完善小鼠BBB动物模型的主要任务。

2.4 非人灵长类动物模型 灵长类动物与人类在进化关系上最为接近,其生理结构和基因序列具有高度相似性。非人灵长类动物BBB由内皮细胞、周细胞、星形胶质细胞和基底膜构成;相邻内皮细胞之间存在紧密连接,并在内皮细胞表面极化表达不同的转运蛋白^[40]。这为非人灵长类动物模型模拟人类BBB生理和病理机制提供了有利条件。

由于非人灵长类动物与人类的相似性,许多嗜神经病原体以人畜共患病的方式感染非人灵长类动物,发病过程的BBB生理病理变化与人类相似^[41]。猕猴常用于构建乙型肝炎、脊髓灰质炎和朊病毒等CNS疾病的病理模型,研究病原体通过BBB侵犯CNS机制。Obregon-Perko等^[42]使用幼猴研究HIV感染造成的儿童CNS受损,发现该模型可较好地模拟HIV穿过BBB侵犯CNS的发病过程。Samiotaki等^[43]应用恒河猴模型研究聚焦超声对BBB通透性的影响,认为聚焦超声可诱导人类BBB开放,为CNS疾病治疗提供新的策略。应用非人灵长类动物BBB模型开展生理变化及发病机制研究,可用于改进诊断及治疗方法,并开发新型药物。不过,使用非人灵长类动物模型研究受到成本高昂、难以大规模实验、饲养条件苛刻及伦理问题约束等限制,这些因素阻碍了非人灵长类动物模型的推广与发展。

3 小 结

CNS对人类生命活动至关重要。BBB作为人类神经系统的重要组成部分,能够阻止神经毒性物质进入并维持内环境稳定,从而保证CNS发挥正常生理功能。然而,治疗CNS疾病时BBB的屏障功能成为CNS内环境药物输送的最大阻碍。这对建立合适的BBB模型以研究其生理病理机制提出了迫切要求。

体外模型难以研究复杂的CNS内环境,相较之下,动物模型可在血流动力学、屏障完整性、蛋白表达、分子转运、免疫转导和物质交换等方面模拟人类BBB功能。利用BBB动物模型可研究CNS生理功能及疾病发生机制,改进诊断和治疗方法,为新型CNS治疗药物提供实验平台。过去主要通过非人灵长类动物模型研究BBB,不过因其饲养成本昂贵,存在伦理问题约束,现已较少应用。果蝇模型易于繁殖,可进行高通量筛选实验,但与人类生理机制差异大,现已被转基因及人源化斑马鱼模型取代。小鼠模型在BBB研究中应用广泛,其与人类相似的生理结构常用于研究BBB发病机制及药物转运功能。然而,BBB动物模型与人类存在基因表达与生理结构差异,导致实验结果与临床应用存在偏差,因此需要通过构建转基因及人源化BBB动物模型以获得更准确的预测结果。今后,构建与人类BBB生理功能及基因表达相近、可进行CNS药物开发实验、适合药物高通量筛选的转基因或人源化BBB动物模型将是该领域的发展方向。

[参 考 文 献]

- [1] VILLABONA-RUEDA A, ERICE C, PARDO C A, STINS M F. The evolving concept of the blood brain barrier (BBB): from a single static barrier to a heterogeneous and dynamic relay center [J/OL]. *Front Cell Neurosci*, 2019, 13: 405. DOI: 10.3389/fncel.2019.00405.
- [2] SWEENEY M D, ZHAO Z, MONTAGNE A, NELSON A R, ZLOKOVIC B V. Blood-brain barrier: from physiology to disease and back[J]. *Physiol Rev*, 2019, 99: 21-78.
- [3] SIVANDZADE F, CUCULLO L. *In-vitro* blood-brain barrier modeling: a review of modern and fast-advancing technologies[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2018, 38: 1667-1681.

- [4] CHEN X, LIU C, MUOK L, ZENG C, LI Y. Dynamic 3D on-chip BBB model design, development, and applications in neurological diseases[J/OL]. *Cells*, 2021, 10: 3183. DOI: 10.3390/cells10113183.
- [5] LU T M, HOUGHTON S, MAGDELDIN T, DURÁN J G B, MINOTTI A P, SNEAD A, et al. Pluripotent stem cell-derived epithelium misidentified as brain microvascular endothelium requires ETS factors to acquire vascular fate[J/OL]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2021, 118: e2016950118. DOI: 10.1073/pnas.2016950118.
- [6] BENZ F, LIEBNER S. Structure and function of the blood-brain barrier (BBB)[J/OL]. *Handb Exp Pharmacol*, 2020. DOI: 10.1007/164_2020_404.
- [7] GOLDIM M, DELLA GIUSTINA A, PETRONILHO F. Using Evans blue dye to determine blood-brain barrier integrity in rodents[J/OL]. *Curr Protoc Immunol*, 2019, 126: e83. DOI: 10.1002/cpim.83.
- [8] GOODALL E F, WANG C, SIMPSON J E, BAKER D J, DREW D R, HEATH P R, et al. Age-associated changes in the blood-brain barrier: comparative studies in human and mouse[J]. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2018, 44: 328-340.
- [9] WICK M J, HARRAL J W, LOOMIS Z L, DEMPSEY E C. An optimized Evans blue protocol to assess vascular leak in the mouse[J/OL]. *J Vis Exp*, 2018: 57037. DOI: 10.3791/57037.
- [10] IM K, MARENINOV S, DIAZ M F P, YONG W H. An introduction to performing immunofluorescence staining[J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 1897: 299-311.
- [11] MILLER D S, NOBMANN S N, GUTMANN H, TOEROEK M, DREWE J, FRICKER G. Xenobiotic transport across isolated brain microvessels studied by confocal microscopy[J]. *Mol Pharmacol*, 2000, 58: 1357-1367.
- [12] SPENCER P, JIANG Y H, LIU N, HAN J R, LI Y D, VODOVOZ S, et al. Update: microdialysis for monitoring cerebral metabolic dysfunction after subarachnoid hemorrhage[J/OL]. *J Clin Med*, 2020, 10: 100. DOI: 10.3390/jcm10010100.
- [13] PIERCE C F, KWASNICKI A, LAKKA S S, ENGELHARD H H. Cerebral microdialysis as a tool for assessing the delivery of chemotherapy in brain tumor patients[J]. *World Neurosurg*, 2021, 145: 187-196.
- [14] NYGAARD K H, HAVELUND J F, NIELSEN T H, NORDSTRÖM C H, FÆRGEMAN N J, POULSEN F R, et al. Ethyl pyruvate increases post-ischemic levels of mitochondrial energy metabolites: a ¹³C-labeled cerebral microdialysis study[J/OL]. *Metabolites*, 2020, 10: 287. DOI: 10.3390/metabo10070287.
- [15] BENVENISTE H. Brain microdialysis[J]. *J Neurochem*, 1989, 52: 1667-1679.
- [16] PANDEY P K, SHARMA A K, GUPTA U. Blood brain barrier: an overview on strategies in drug delivery, realistic *in vitro* modeling and *in vivo* live tracking[J/OL]. *Tissue Barriers*, 2015, 4: e1129476. DOI: 10.1080/21688370.2015.1129476.
- [17] BENMIMOUN B, PAPASTEFANAKI F, PÉRICHON B, SEGKLIA K, ROBY N, MIRIAGOU V, et al. An original infection model identifies host lipoprotein import as a route for blood-brain barrier crossing[J/OL]. *Nat Commun*, 2020, 11: 6106. DOI: 10.1038/s41467-020-19826-2.
- [18] BOSCH J A, BIRCHAK G, PERRIMON N. Precise genome engineering in *Drosophila* using prime editing[J/OL]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2021, 118: e2021996118. DOI: 10.1073/pnas.2021996118.
- [19] OKAMOTO N, YAMANAKA N. Steroid hormone entry into the brain requires a membrane transporter in *Drosophila*[J/OL]. *Curr Biol*, 2020, 30: 359-366.e3. DOI: 10.1016/j.cub.2019.11.085.
- [20] LV P, MA D Y, GAO S, ZHANG Y F, BAE Y K, LIANG G X, et al. Generation of foxn1/Casper mutant zebrafish for allograft and xenograft of normal and malignant cells[J]. *Stem Cell Reports*, 2020, 15: 749-760.
- [21] SALEEM S, KANNAN R R. Zebrafish: a promising real-time model system for nanotechnology-mediated neurospecific drug delivery[J/OL]. *Nanoscale Res Lett*, 2021, 16: 135. DOI: 10.1186/s11671-021-03592-1.
- [22] FISCHER S, KLÜVER N, BURKHARDT-MEDICKE K, PIETSCH M, SCHMIDT A M, WELLNER P, et al. Abcb4 acts as multixenobiotic transporter and active barrier against chemical uptake in zebrafish (*Danio rerio*) embryos[J/OL]. *BMC Biol*, 2013, 11: 69. DOI: 10.1186/1741-7007-11-69.
- [23] SPITSBERGEN J M, BUHLER D R, PETERSON T S. Neoplasia and neoplasm-associated lesions in laboratory colonies of zebrafish emphasizing key influences of diet and aquaculture system design[J]. *ILAR J*, 2012, 53: 114-125.
- [24] RABANEL J M, PIEC P A, LANDRI S, PATTEN S A, RAMASSAMY C. Transport of PEGylated-PLA nanoparticles across a blood brain barrier model, entry into neuronal cells and *in vivo* brain bioavailability[J]. *J Control Release*, 2020, 328: 679-695.
- [25] TAPIA-ARELLANO A, GALLARDO-TOLEDO E, ORTIZ C, HENRÍQUEZ J, FEIJÓO C G, ARAYA E, et al. Functionalization with PEG/Angiopep-2 peptide to improve the delivery of gold nanoprisms to central nervous system: *in vitro* and *in vivo* studies[J/OL]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2021, 121: 111785. DOI: 10.1016/j.msec.2020.111785.

- [26] ROH-JOHNSON M, SHAH A N, STONICK J A, POUDEL K R, KARGL J, YANG G H, et al. Macrophage-dependent cytoplasmic transfer during melanoma invasion *in vivo*[J/OL]. *Dev Cell*, 2017, 43: 549-562.e6. DOI: 10.1016/j.devcel.2017.11.003.
- [27] PAUL C D, BISHOP K, DEVINE A, PAINE E L, STAUNTON J R, THOMAS S M, et al. Tissue architectural cues drive organ targeting of tumor cells in zebrafish[J/OL]. *Cell Syst*, 2019, 9: 187-206.e16. DOI: 10.1016/j.cels.2019.07.005.
- [28] STANIMIROVIC D B, BANI-YAGHOUB M, PERKINS M, HAQQANI A S. Blood-brain barrier models: *in vitro* to *in vivo* translation in preclinical development of CNS-targeting biotherapeutics[J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2015, 10: 141-155.
- [29] DA FONSECA A C C, MATIAS D, GARCIA C, AMARAL R, GERALDO L H, FREITAS C, et al. The impact of microglial activation on blood-brain barrier in brain diseases[J/OL]. *Front Cell Neurosci*, 2014, 8: 362. DOI: 10.3389/fncel.2014.00362.
- [30] SANO Y, MIZUNO T, MOCHIZUKI T, UCHIDA Y, UMETSU M, TERASAKI T, et al. Evaluation of organic anion transporter 1A2-knock-in mice as a model of human blood-brain barrier[J]. *Drug Metab Dispos*, 2018, 46: 1767-1775.
- [31] SINGH V B, SINGH M V, GORANTLA S, POLUEKTOVA L Y, MAGGIRWAR S B. Smoothed agonist reduces human immunodeficiency virus type-1-induced blood-brain barrier breakdown in humanized mice[J/OL]. *Sci Rep*, 2016, 6: 26876. DOI: 10.1038/srep26876.
- [32] PAIS T F, PENHA-GONÇALVES C. Brain endothelium: the “innate immunity response hypothesis” in cerebral malaria pathogenesis[J/OL]. *Front Immunol*, 2019, 9: 3100. DOI: 10.3389/fimmu.2018.03100.
- [33] MUNJI R N, SOUNG A L, WEINER G A, SOHET F, SEMPLE B D, TRIVEDI A, et al. Profiling the mouse brain endothelial transcriptome in health and disease models reveals a core blood-brain barrier dysfunction module[J]. *Nat Neurosci*, 2019, 22: 1892-1902.
- [34] KIKUCHI D S, CAMPOS A C P, QU H Y, FORRESTER S J, PAGANO R L, LASSÈGUE B, et al. Poldip2 mediates blood-brain barrier disruption in a model of sepsis-associated encephalopathy[J/OL]. *J Neuroinflammation*, 2019, 16: 241. DOI: 10.3389/fimmu.2018.03100.
- [35] ROBEY R W, PLUCHINO K M, HALL M D, FOJO A T, BATES S E, GOTTESMAN M M. Revisiting the role of ABC transporters in multidrug-resistant cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2018, 18: 452-464.
- [36] CHU X Y, BLEASBY K, EVERS R. Species differences in drug transporters and implications for translating preclinical findings to humans[J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2013, 9: 237-252.
- [37] MASSE-RANSON G, MOUQUET H, DI SANTO J P. Humanized mouse models to study pathophysiology and treatment of HIV infection[J]. *Curr Opin HIV AIDS*, 2018, 13: 143-151.
- [38] MAIN B S, VILLAPOL S, SLOLEY S S, BARTON D J, PARSADANIAN M, AGBAEGBU C, et al. Apolipoprotein E4 impairs spontaneous blood brain barrier repair following traumatic brain injury[J/OL]. *Mol Neurodegener*, 2018, 13: 17. DOI: 10.1186/s13024-018-0249-5.
- [39] KROHN M, WANEK T, MENET M C, NOACK A, DECLÈVES X, LANGER O, et al. Humanization of the blood-brain barrier transporter ABCB1 in mice disrupts genomic locus—lessons from three unsuccessful approaches[J]. *Eur J Microbiol Immunol (Bp)*, 2018, 8: 78-86.
- [40] CHAVES C, DO T M, CEGARRA C, ROUDIÈRES V, TOLOU S, THILL G, et al. Non-human primate blood-brain barrier and *in vitro* brain endothelium: from transcriptome to the establishment of a new model[J/OL]. *Pharmaceutics*, 2020, 12: 967. DOI: 10.3390/pharmaceutics12100967.
- [41] GARDNER M B, LUCIW P A. Macaque models of human infectious disease[J]. *ILAR J*, 2008, 49: 220-255.
- [42] OBREGON-PERKO V, BRICKER K, CHAHROUDI A. The brain retains: nonhuman primate models for pediatric HIV-1 in the CNS[J]. *Curr HIV/AIDS Rep*, 2020, 17: 343-353.
- [43] SAMIOTAKI G, KARAKATSANI M E, BUCH A, PAPADOPOULOS S, WU S Y, JAMBAWALIKAR S, et al. Pharmacokinetic analysis and drug delivery efficiency of the focused ultrasound-induced blood-brain barrier opening in non-human primates[J]. *Magn Reson Imaging*, 2017, 37: 273-281.

[本文编辑] 魏学丽