

DOI: 10.13376/j.cblls/2019148

文章编号: 1004-0374(2019)11-1200-06

# 甲基苯丙胺与HIV-Tat蛋白协同损伤血脑屏障的研究进展

黄 俭<sup>1</sup>, 何永旺<sup>1</sup>, 李 娟<sup>2</sup>, 杨根梦<sup>1</sup>, 许 悦<sup>1</sup>, 李媛媛<sup>1</sup>, 刘 柳<sup>1</sup>, 曾晓锋<sup>1\*</sup>, 李 桢<sup>1\*</sup>

(1 昆明医科大学法医学院, 昆明 650500; 2 昆明医科大学基础医学院, 昆明 650500)

**摘 要:** 血脑屏障 (blood brain barrier, BBB) 是维持中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 内外环境稳定的结构, 在保护 CNS 免受外界危险因素刺激中发挥着重要作用。甲基苯丙胺 (methamphetamine, METH) 滥用对人类免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus, HIV) 感染者的 BBB 具有协同损害作用, 极大提高了艾滋病相关神经认知障碍 (HIV-associated neurocognitive disorders, HAND) 及艾滋病痴呆 (HIV-associated dementia, HAD) 的发生率。现将对 METH 与 HIV-Tat 蛋白损伤 BBB 的研究进展进行综述, 旨在为进一步研究两者协同损伤 BBB 提供参考, 并为相关治疗药物的研发提供依据。

**关键词:** 甲基苯丙胺; HIV-Tat 蛋白; 血脑屏障; 氧化应激; 神经炎症

**中图分类号:** R338 **文献标志码:** A

## Research progress in synergistic damage of blood brain barrier induced by methamphetamine and HIV-Tat protein

HUANG Jian<sup>1</sup>, HE Yong-Wang<sup>1</sup>, LI Juan<sup>2</sup>, YANG Gen-Meng<sup>1</sup>, XU Yue<sup>1</sup>,  
LI Yuan-Yuan<sup>1</sup>, LIU Liu<sup>1</sup>, ZENG Xiao-Feng<sup>1\*</sup>, LI Zhen<sup>1\*</sup>

(1 School of Forensic Medicine, Kunming Medical University, Kunming 650500, China;

2 School of Basic Medicine, Kunming Medical University, Kunming 650500, China)

**Abstract:** The blood brain barrier (BBB) is a structure for maintaining the stability of the internal and external environment of the central nervous system (CNS). It plays an important role in protecting the CNS from the stimulation of external risk factors. Methamphetamine (METH) abuse has synergistic damage effects on BBB of human immunodeficiency virus (HIV) infected people, greatly increasing the incidence of HIV-associated neurocognitive disorders (HAND) and HIV-associated dementia (HAD). Therefore, the research progress of the damage of BBB by METH and HIV-Tat protein was summarized in this paper, so as to provide reference for the further study of the synergic damage of BBB by METH and HIV-Tat protein, and provide basis for the research of related therapeutic drugs.

**Key words:** methamphetamine; HIV-Tat protein; blood brain barrier; oxidative stress; neuroinflammation

甲基苯丙胺 (methamphetamine, METH) 是一种精神依赖性极强的安非他明类新型合成毒品, 具有神经毒性大、中枢兴奋性强和复吸率高等特点, 目前在世界范围内被广泛滥用。关于 METH 引起的

神经毒性, 大量研究证实其涉及多巴胺能神经末梢损伤、神经元兴奋性毒性、线粒体功能障碍、内质网应激、胶质细胞活化、氧化应激等调控机制<sup>[1-4]</sup>。

METH 滥用者往往因共用注射器和不洁性行

收稿日期: 2019-08-21; 修回日期: 2019-09-28

基金项目: 国家自然科学基金地区基金项目(81560303, 81660310, 81960340); 云南省教育厅科学研究基金项目(2018Y043); 昆明医科大学硕士研究生创新基金项目(2019S077)

\*通信作者: E-mail: zxf2004033@163.com (曾晓锋); lizhenlaura@126.com (李桢)

为造成人类免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus, HIV) 的感染和传播, 导致滥用者出现严重身心损害。HIV-Tat 蛋白是 HIV 基因编码的反式转录激活因子, 由感染了 HIV 病毒的 T 细胞及单核、巨噬细胞应答释放, 其能穿过细胞膜到达血清和中枢神经系统 (central nervous system, CNS), 改变非感染细胞的结构和功能, 不仅能促进获得性免疫缺陷综合征 (acquired immune deficiency syndrome, AIDS) 的发生和发展<sup>[5]</sup>, 还能通过神经元兴奋性毒性、线粒体功能障碍、内质网应激、胶质细胞活化、氧化应激等途径引起神经毒性作用<sup>[5-7]</sup>。

METH 与 HIV-Tat 蛋白进入 CNS 造成神经毒性, 首先要突破血脑屏障 (blood brain barrier, BBB)。研究表明, METH 与 HIV-Tat 蛋白均能损伤 BBB。而且, METH 滥用对 HIV 感染者的 BBB 具有协同损害作用, 极大提高了艾滋病相关神经认知障碍 (HIV-associated neurocognitive disorders, HAND) 及艾滋病痴呆 (HIV-associated dementia, HAD) 的发生率<sup>[8-9]</sup>。但两者协同损伤 BBB 的机制尚未阐明。故本文将对近年来两者损伤 BBB 的研究进展进行综述, 为相关治疗药物的研发提供参考依据。

## 1 BBB简介

BBB 从内向外依次由脑微血管内皮细胞 (brain microvascular endothelial cells, BMEC)、BMEC 间的紧密连接 (tight junctions, TJ)、周细胞、基底膜以及星形胶质细胞终足构成。BMEC 膜上有多种蛋白表达, 如葡萄糖转运体 (glucose transporter protein, GLUT)、氨基酸转运体、P 糖蛋白 (P-glycoprotein, P-gp) 转运体, 前两者能摄取葡萄糖、氨基酸, 具有维持 CNS 能量代谢、促进 CNS 生长发育的作用; 后者通过消耗 ATP 将多种神经毒素排出 BMEC, 具有保护 CNS 免受外来有害分子入侵的分子泵功能<sup>[5,10-12]</sup>。TJ 是 BBB 的物理屏障, 主要由闭合小环蛋白 1 (zonula occludens 1, ZO-1)、连接黏附分子 A (junctional adhesive molecule-A, JAMA)、咬合蛋白 (Occludin) 和闭合蛋白 (Claudin) 等组成。周细胞与内皮细胞相互作用可调节 BBB 通透性、TJ 表达和囊泡转运<sup>[13]</sup>, 星形胶质细胞则具有支持 BBB 的作用。作为一种保护性和选择渗透性屏障, 水、葡萄糖、氨基酸及一些脂溶性分子可以穿透 BBB, 而潜在的神经毒性物质会被限制通过 BBB, 可见 BBB 在保护 CNS 免受循环血液有毒物质刺激, 维持大脑稳态中起至关重要的作用<sup>[7]</sup>。

## 2 METH损伤BBB的机制

### 2.1 METH损伤BMEC

BMEC 是 BBB 的主要结构, METH 可以损伤 BMEC 造成 BBB 结构完整性被破坏。Qie 等<sup>[4]</sup>使用 1 mmol/L METH 处理脑内皮细胞 24 h 后, 促凋亡蛋白 CCAAT/增强结合蛋白同源蛋白 (CCAAT/enhancer-binding protein homologous protein, CHOP) 表达显著升高, 细胞活性显著下降, 伴随大量凋亡细胞的出现。原代大鼠 BMEC 经 100 μmol/L METH 处理 24 h 后, 促凋亡相关蛋白 caspase-3 水平及细胞凋亡率均明显升高<sup>[11,14]</sup>。METH 还能影响内皮细胞中整合素连接激酶 (integrin-linked kinase, ILK) 的表达, 造成丝切蛋白及肌动蛋白丝排列紊乱, 破坏内皮细胞骨架结构<sup>[15-16]</sup>。此外, METH 可以上调大鼠海马、原代大鼠 BMEC 及小鼠永生内皮细胞中基质金属蛋白酶 -9 (matrix metalloproteinase 9, MMP-9) 的表达, MMP-9 过表达会降解 TJ 蛋白、血管基底膜和细胞基质, 不仅造成内皮细胞直接损伤, 还会引起 BBB 塌陷<sup>[3,14-16]</sup>。除了损伤 BMEC, METH 还会影响 BMEC 膜上相关蛋白及 TJ 蛋白的表达和功能。METH 能抑制 BMEC 膜上 GLUT1、GLUT3 表达, 造成细胞摄取葡萄糖的能力减弱, 引起能量代谢障碍, 使 BMEC 难以维持正常功能<sup>[10]</sup>; 可以降低 BMEC 膜上 P-gp 转运体的表达, 导致外来有害分子积聚, 引起内皮毒性, 同时破坏 BMEC 间的 TJ<sup>[11]</sup>; 可以减少 ZO-1、JAMA、Occludin 和 Claudin 等 TJ 蛋白的表达<sup>[3-4,8,10,15-17]</sup>, 降低 BMEC 跨内皮阻抗<sup>[4,10-11,14]</sup>, 引起 BBB 完整性受损、通透性增加。值得注意的是, 上述研究中 METH 的给药方案并不相同, 这些给药方案主要是基于细胞增殖毒性实验数据、研究指标的变化情况 (如目的蛋白的表达) 及预实验的结果而确定的。

### 2.2 METH损伤周细胞及星形胶质细胞

周细胞是 BBB 的组成部分, 它的绝对覆盖能调节血管相对通透性, 有助于维持 BBB 结构完整性和功能稳定性<sup>[13,18]</sup>。Zhang 等<sup>[18]</sup>发现, 100 μmol/L METH 可诱导 C3H/10T1/2 周细胞和原代脑血管周细胞迁徙。他们采用各种抑制剂进一步研究证实, METH 是通过激活 Sigma-1 受体、丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) / 磷脂酰肌醇 3- 激酶 (phosphatidylinositol-3 kinase, PI3K) / 蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB) 信号通路, 增加 P53 上调凋亡调节因子 (P53 up-regulated modulator of

apoptosis, PUMA) 表达, 进而激活整合素和酪氨酸激酶, 诱导周细胞从微血管壁迁移, 引起周细胞与基底膜分离, 破坏 BBB 完整性<sup>[18]</sup>。

星形胶质细胞也是 BBB 的组成部分, 具有支持 BBB、为神经组织提供营养物质及修复大脑瘢痕的作用。Wnt/ $\beta$ -连环蛋白信号通路是调控星形胶质细胞生存过程的关键途径, 具有抗炎反应、促神经发生、稳定肌动蛋白细胞骨架、介导细胞黏附、调节突触强度等神经保护作用<sup>[19]</sup>。研究表明, 0.05 mmol/L METH 即可减弱星形胶质细胞中  $\beta$ -连环蛋白信号, 1 mmol/L METH 作用星形胶质细胞 24 h 后,  $\beta$ -连环蛋白信号下降更为明显, 伴随其下游效应器淋巴样增强因子-1 (lymphoid enhancer factor-1, LEF-1) mRNA 水平显著下降, 提示 METH 通过下调 Wnt/ $\beta$ -连环蛋白信号, 降低 LEF-1 表达, 破坏星形胶质细胞完整性, 改变星形胶质细胞黏附特性, 进而破坏其支持 BBB、维持 CNS 稳态的能力<sup>[19]</sup>。

### 2.3 METH 诱导氧化应激及神经炎症损伤 BBB

生理状态下, 机体在谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 等抗氧化酶作用下, 氧化应激水平较弱。然而, METH 强烈的促氧化作用将引起机体氧化应激损伤。1 mmol/L METH 作用内皮细胞 6 h 后, 细胞内活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 水平显著升高, 线粒体膜电位显著下降, 伴随大量细胞色素 C 从线粒体释放至细胞质<sup>[4]</sup>。Jumnongprakhon 等<sup>[11,14]</sup> 研究发现, METH 可以激活 NADPH 氧化酶 2 (NADPH oxidase 2, NOX2), 引起细胞内 ROS 聚集, 进而抑制核因子红细胞 2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid-2-related factor 2, Nrf2) 进入细胞核, 导致多种抗氧化酶表达下降。此外, Li 等<sup>[8]</sup> 证实, METH 可以通过下调 GSH、SOD, 上调丙二醛 (malonaldehyde, MDA) 表达, 降低 TJ 蛋白表达, 提高大鼠 BBB 通透性。由此可见, METH 可诱导 ROS 异常增加, 抑制 Nrf2 信号通路的抗氧化防御作用, 提高 MDA 表达, 降低 GSH-Px、SOD 等水平, 导致氧化应激水平激增和 BMEC 线粒体功能紊乱, 从而损伤 BBB。

大量研究证实, METH 损伤 BBB 还与神经炎症反应密切相关。Goncalves 等<sup>[3]</sup> 发现, METH 不仅能提高大鼠海马及纹状体中内皮细胞血管细胞黏附分子 1 (vascular cell adhesion molecule 1, VCAM-1)、细胞间黏附分子 1 (intercellular adhesion molecule 1, ICAM-1) 和 T 细胞抗原 CD4 蛋白水平, 还会增加

组织巨噬细胞标志物 CD169 阳性细胞的数量; 同时, 诱导大鼠海马及纹状体小胶质细胞活化, 星形胶质细胞增多, 肿瘤坏死因子  $\alpha$  (tumor necrosis factor alpha, TNF- $\alpha$ )、白细胞介素 (interleukin, IL)-1 $\beta$  等促炎介质大量释放, 引起 BBB 功能障碍。METH 也可以通过激活 NOX2, 上调核因子  $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) 信号, 诱导 ICAM-1、VCAM-1、一氧化氮合酶 (nitric oxide synthase, iNOS)、一氧化氮 (nitric oxide, NO)、活性氮 (reactive nitrogen species, RNS) 上调, 引起大鼠原代 BMEC 凋亡、通透性升高<sup>[14]</sup>。此外, METH 引起肝脏、肾脏等周围器官损伤时, 循环血液及大脑中氨浓度会增加, 氨可以通过氧化应激、兴奋性毒性、神经炎症反应等方式诱导 BBB 损伤<sup>[2]</sup>。

## 3 HIV-Tat 蛋白损伤 BBB 的机制

### 3.1 HIV-Tat 蛋白损伤 BMEC

研究表明, Tat 蛋白可以损伤 BMEC。Li 等<sup>[8]</sup> 每天使用 50 ng Tat 蛋白处理 SD 大鼠, 7 d 后观察到 BMEC 出现大量水肿, BBB 通透性显著升高。200 ng/mL Tat 蛋白作用于人 BMEC 36 h 后, 细胞活性显著降低, 而凋亡水平显著升高, 此过程涉及线粒体损伤、内质网应激以及 CHOP 和 caspase-12 激活等调控机制<sup>[6]</sup>。Tat 蛋白还能激活黏着斑位点上的黏着斑激酶, 影响 BMEC 黏着斑复合物装配, 导致细胞骨架重排、细胞迁移、细胞通透性改变<sup>[20]</sup>。Tat 蛋白也能诱导 MMP 表达, Xu 等<sup>[21]</sup> 使用 200 ng/mL Tat clade B 蛋白处理人 BMEC, 1 h 后检测到 MMP-9 mRNA 水平及其活性均显著升高; 500 ng/mL Tat 作用于人星形胶质细胞 12 h 或 24 h, 同样诱导了 MMP-9 表达上调<sup>[22]</sup>。此外, Tat 蛋白也能损伤 BMEC 间的 TJ 蛋白, 降低 BMEC 跨内皮阻抗<sup>[23]</sup>。Tat 蛋白可以通过激活 Ras 信号通路诱导 BMEC 中 ZO-1 功能障碍<sup>[24]</sup>, 通过 RhoA/Rho 激酶 (Rho-associated coiled kinase, ROCK) 信号通路抑制 Occludin mRNA 和蛋白质表达<sup>[21]</sup>。Tat 蛋白也能抑制大鼠脑中 Occludin、JAM-A、Claudin-5、ZO-1 的表达<sup>[8]</sup>。总之, Tat 蛋白通过诱导凋亡、破坏细胞骨架、上调 MMP、影响 TJ 蛋白的表达和分布等途径损伤 BMEC, 进而引起 BBB 损伤。

### 3.2 HIV-Tat 蛋白损伤周细胞及星形胶质细胞

在 HAND、艾滋病脑炎等疾病病理进程中, 常出现 BBB 完整性被破坏的情况, 而周细胞的减少是其 BBB 损伤的原因之一<sup>[25]</sup>。Niu 等<sup>[25]</sup> 证实, 重

组 Tat101 能通过刺激细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinases, ERK) 和 c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK) 通路, 刺激 NF- $\kappa$ B 进入核内, 引起血小板源生长因子 BB (platelet-derived growth factor-BB, PDGF-BB) 表达升高, 后者通过自分泌的形式作用于周细胞膜上的 PDGF $\beta$  受体, 受体被磷酸化激活后发挥调控原代人脑血管周细胞和 C3H/10T1/2 周细胞迁移的作用。在 HIV Tg26 小鼠 (Tat 蛋白转基因小鼠) 脑组织及艾滋病脑炎人体脑组织中, 他们也发现了周细胞标记蛋白 NG2 表达显著下降、PDGF-BB 表达显著升高<sup>[25]</sup>。由此可见, Tat 蛋白可以通过上述途径诱导周细胞迁移, 导致 BBB 中周细胞丧失、周细胞覆盖率下降, 最终引起 BBB 缺口。

目前也有一些关于 Tat 蛋白损伤星形胶质细胞的研究。Sharma 等<sup>[19]</sup> 使用 Tat cDNA 转染星形胶质细胞 24 h 后,  $\beta$ -连环蛋白活性的下降程度约为对照组的 1.5 倍; 他们进一步检测发现  $\beta$ -连环蛋白下游的 T 细胞转录因子 4 (T cell factor 4, TCF-4) mRNA 水平同样下降。因此, Tat 蛋白也能调控  $\beta$ -连环蛋白信号, 从而影响星形胶质细胞, 最后引起 BBB 完整性被破坏。

### 3.3 HIV-Tat蛋白诱导氧化应激及神经炎症损伤 BBB

SH-SY5Y 细胞经 100 nmol/L Tat 蛋白处理 24 h 后, 细胞内 ROS 水平显著升高, 细胞表达 GSH-Px、SOD 的水平则显著下降<sup>[9]</sup>。而 100 nmol/L Tat<sub>1-72</sub> 蛋白处理 BMEC 2 h 即可诱导大量 ROS 产生, 24 h 后 GSH 含量出现明显下降<sup>[26]</sup>。Ma 等<sup>[6]</sup> 使用 200 ng/mL Tat 蛋白处理 BMEC, 15 min 即出现了 ROS 的明显升高, 24 h 后细胞出现了严重的线粒体损伤。Tat 蛋白还能降低 SD 大鼠脑中 GSH、GSH-Px、SOD 的水平<sup>[8-9]</sup>, 升高 MDA 水平<sup>[8]</sup>, 诱导氧化应激损伤。Banerjee 等<sup>[17]</sup> 每天使用 50 ng Tat 蛋白处理 CD1 小鼠, 5 d 后检测到小鼠大脑中 GSH 含量下降, 伴随着蛋白质和脂质氧化修饰显著升高。所以 Tat 蛋白能通过诱导氧化应激损伤, 引起 BBB 的 TJ 蛋白表达减少、通透性增加, 而提前使用抗氧化剂 NACA 干预后, 各项指标均有所改善<sup>[17]</sup>。

Leibrand 等<sup>[27]</sup> 利用转基因小鼠模型研究了 Tat<sub>1-86</sub> 表达对 BBB 完整性的影响, 发现 Tat 蛋白增加了尾状核 / 壳核吞噬性血管周围巨噬细胞和小胶质细胞的含量, 且显著提升了 BBB 的通透性, 破坏了 BBB 的完整性。而 Tat<sub>1-72</sub> 不仅可以刺激 BMEC, 激

活 NF- $\kappa$ B, 还能显著升高小鼠脑组织中 MCP-1 mRNA 水平、脑内皮细胞 MCP-1 蛋白水平<sup>[26]</sup>。Tat 蛋白还可以激活星形胶质细胞中 NADPH 氧化酶, 诱导大量 ROS 聚集, 进而上调 VCAM-1 和 ICAM-1 等黏附分子表达, 增加单核细胞与星形胶质细胞黏附; 也可以激活星形胶质细胞 MAPK 及 NF- $\kappa$ B 信号通路, 诱导 TNF- $\alpha$ 、IL-6、MCP-1、IL-8 等促炎性因子表达<sup>[22]</sup>。因此, Tat 蛋白在体内和体外均可诱导神经炎症反应, 产生大量炎症介质和细胞因子, 这些变化可直接造成 BBB 损伤。

## 4 METH与HIV-Tat蛋白协同损伤BBB的机制

### 4.1 METH与HIV-Tat蛋白协同损伤BMEC

合用 10 mg/kg METH 和 50 ng/只 Tat 蛋白处理 SD 大鼠 7 d 后, 大脑皮质区 BMEC 水肿明显, 伴随大量吞饮小泡出现, 采用尾静脉注射伊文思蓝 (Evans blue, EB) 示踪剂检测 BBB 通透性时, 发现脑组织中 EB 大量富集, 以上结果提示 BBB 的内皮细胞损伤; 继续检测大脑 TJ 蛋白发现, Occludin、JAM-A、Claudin-5、ZO-1 水平均显著下降<sup>[8]</sup>。Patel 等<sup>[23]</sup> 发现, 虽然 10  $\mu$ mol/L METH 与 100 nmol/L Tat 蛋白共同处理 BMEC 24 h 后, 它们下调 P-gp 的作用并不明显, 但是两者可以协同抑制 P-gp 的分子泵功能。此外, METH 与 Tat 蛋白可以协同抑制 GLUT1 表达, 进而调节大鼠 BBB 的通透性<sup>[28]</sup>。由此可见, METH 与 Tat 蛋白不仅可以协同损伤 BMEC, 还能协同破坏 BMEC 膜上的 GLUT、P-gp 及 BMEC 间的多种 TJ 蛋白, 导致 BBB 功能障碍。

### 4.2 METH与HIV-Tat蛋白协同损伤周细胞及星形胶质细胞

一项研究使用梯度浓度 (0.01、0.05、0.1、0.5、1 mmol/L) METH 联合 Tat cDNA 转染处理 U87MG 星形胶质细胞 24 h 后, 发现所有浓度 METH 联用 Tat cDNA 转染均能显著降低  $\beta$ -连环蛋白信号活性; 继续使用 1 mmol/L METH 联合 Tat cDNA 转染处理细胞,  $\beta$ -连环蛋白信号下游效应器 LEF-1 的 mRNA 水平同样下降<sup>[19]</sup>。可见 METH 与 Tat 蛋白能协同下调  $\beta$ -连环蛋白信号, 影响星形胶质细胞, 进而影响 BBB 功能。然而, 关于 METH 与 Tat 蛋白协同损伤周细胞的研究较为少见。Sajja 等<sup>[12]</sup> 综述了精神刺激剂与 HIV 感染对 BBB 完整性的协同病理影响, 在此背景下, 他们推测 METH、可卡因等精神刺激剂也可能通过加重周细胞功能的丧失而加重 Tat 蛋白诱导的 BBB 破坏。

### 4.3 METH与HIV-Tat蛋白协同诱导氧化应激及神经炎症损伤BBB

对SD大鼠连续7 d每天给药10 mg/kg METH和(或)50 ng/kg Tat蛋白后,大鼠纹状体的GSH-Px1、SOD1水平显著下降<sup>[9]</sup>。Li等<sup>[8]</sup>也发现合用METH和Tat蛋白可诱导SD大鼠脑中GSH、SOD表达下降,而MDA表达升高。Banerjee等<sup>[17]</sup>连续5 d每天联合使用50 ng/只Tat蛋白、200 ng/只gp120蛋白、10 mg/kg METH给药CD1小鼠,小鼠脑中GSH、GSH-Px、MDA出现了上述相同改变,同时出现蛋白质羰基化水平升高,ZO-1表达下降,Occludin及Claudin 5氧化性修饰增加,BBB通透性升高。这证实METH与Tat蛋白可以协同诱导氧化应激,从而抑制TJ蛋白表达、改变TJ蛋白组装,最终损伤BBB<sup>[8,17]</sup>。

METH与Tat蛋白可以协同激活胶质细胞,分泌多种细胞因子、化学物质、神经毒性分子等,诱导神经炎症反应。Wires等<sup>[29]</sup>利用HIV长末端重复序列(long terminal repeat, LTR)基因启动子和Tat基因共转染原代人小胶质细胞后,再用500 μmol/L METH处理细胞24 h,发现LTR和NF-κB均被激活;此外,METH也能激活HIV阳性的小胶质细胞中的NF-κB信号通路。在另一项使用人神经元/星形胶质细胞共培养模型的研究中,合用500 μmol/L METH与100 nmol/L Tat蛋白处理细胞24 h后,检测发现培养基中尿激酶纤溶酶原激活物(urokinase plasminogen activator, uPA)和MMP-1的含量均显著升高,其中uPA正是MMPs的激活物<sup>[30]</sup>,MMP的激活、释放增加也会引起CNS炎症反应。METH与Tat蛋白也可以协同诱导SD大鼠纹状体表达大量MCP-1、IL-1α、金属蛋白酶组织抑制因子1(tissue inhibitor of metalloproteinase-1, TIMP-1)、中性粒细胞趋化因子3(cytokine-induced neutrophil chemoattractant-3, CINC-3)、巨噬细胞炎症蛋白3α(macrophage inflammatory protein-3 alpha, MIP-3α)<sup>[31]</sup>。由此推测,METH与Tat蛋白可以通过协同诱导神经炎症反应,促进BBB结构破坏、功能紊乱<sup>[12]</sup>。

## 5 小结与展望

目前新型合成毒品METH的滥用趋势逐渐严峻,不仅导致滥用者出现身心损害、形成暴力倾向,同时还增加了HIV的感染、传播,给公共卫生和社会治安带来严重的负面影响。METH滥用的HIV感染者常出现严重的BBB损伤,极大提高了罹患

HAND及HAD的几率。本文对近年来有关METH与HIV-Tat蛋白损伤BBB的研究进行了综述,当METH或HIV-Tat蛋白单独使用时,它们可以通过对BMEC、周细胞、星形胶质细胞造成损伤,引起BBB结构破坏、功能障碍,也能通过诱导氧化应激及神经炎症,导致BBB损伤;而当两者合用时,上述反映BBB损伤的指标变得更加严重,提示METH与HIV-Tat蛋白对BBB造成了协同损伤作用。笔者通过总结METH与HIV-Tat蛋白损伤BBB的相关机制,希望能为相关治疗药物的研发提供参考。

### [参 考 文 献]

- [1] Yang X, Wang Y, Li Q, et al. The main molecular mechanisms underlying methamphetamine-induced neurotoxicity and implications for pharmacological treatment. *Front Mol Neurosci*, 2018, 11: 186
- [2] Northrop NA, Yamamoto BK. Methamphetamine effects on blood-brain barrier structure and function. *Front Neurosci*, 2015, 9: 69
- [3] Goncalves J, Leitao RA, Higuera-Matas A, et al. Extended-access methamphetamine self-administration elicits neuroinflammatory response along with blood-brain barrier breakdown. *Brain Behav Immun*, 2017, 62: 306-17
- [4] Qie X, Wen D, Guo H, et al. Endoplasmic reticulum stress mediates methamphetamine-induced blood-brain barrier damage. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 639
- [5] McRae M. HIV and viral protein effects on the blood brain barrier. *Tissue Barriers*, 2016, 4: e1143543
- [6] Ma R, Yang L, Niu F, et al. HIV Tat-mediated induction of human brain microvascular endothelial cell apoptosis involves endoplasmic reticulum stress and mitochondrial dysfunction. *Mol Neurobiol*, 2016, 53: 132-42
- [7] Atluri VS, Hidalgo M, Samikkannu T, et al. Effect of human immunodeficiency virus on blood-brain barrier integrity and function: an update. *Front Cell Neurosci*, 2015, 9: 212
- [8] Li J, Zeng B, Hu X, et al. Protective effects of ginsenoside Rb1 against blood-brain barrier damage induced by human immunodeficiency virus-1 Tat protein and methamphetamine in sprague-dawley rats. *Am J Chin Med*, 2018, 46: 551-66
- [9] Zeng XF, Li Q, Li J, et al. HIV-1 Tat and methamphetamine co-induced oxidative cellular injury is mitigated by N-acetylcysteine amide (NACA) through rectifying mTOR signaling. *Toxicol Lett*, 2018, 299: 159-71
- [10] Abdul Muneer PM, Alikunju S, Szlachetka AM, et al. Impairment of brain endothelial glucose transporter by methamphetamine causes blood-brain barrier dysfunction. *Mol Neurodegener*, 2011, 6: 23-35
- [11] Jumnonprakhon P, Sivasinprasasn S, Govitrapong P, et al. Activation of melatonin receptor (MT1/2) promotes P-gp transporter in methamphetamine-induced toxicity on primary rat brain microvascular endothelial cells. *Toxicol In Vitro*, 2017, 41: 42-8
- [12] Sajja RK, Rahman S, Cucullo L. Drugs of abuse and

- blood-brain barrier endothelial dysfunction: a focus on the role of oxidative stress. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2016, 36: 539-54
- [13] Daneman R, Zhou L, Kebede AA, et al. Pericytes are required for blood-brain barrier integrity during embryogenesis. *Nature*, 2010, 468: 562-6
- [14] Jumnongprakhon P, Govitrapong P, Tocharus C, et al. Melatonin promotes blood-brain barrier integrity in methamphetamine-induced inflammation in primary rat brain microvascular endothelial cells. *Brain Res*, 2016, 1646: 182-92
- [15] Fernandes S, Salta S, Bravo J, et al. Acetyl-L-carnitine prevents methamphetamine-induced structural damage on endothelial cells via ILK-related MMP-9 activity. *Mol Neurobiol*, 2016, 53: 408-22
- [16] Xue Y, He JT, Zhang KK, et al. Methamphetamine reduces expressions of tight junction proteins, rearranges F-actin cytoskeleton and increases the blood brain barrier permeability via the RhoA/ROCK-dependent pathway. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 509: 395-401
- [17] Banerjee A, Zhang X, Manda KR, et al. HIV proteins (gp120 and Tat) and methamphetamine in oxidative stress-induced damage in the brain: potential role of the thiol antioxidant N-acetylcysteine amide. *Free Radic Biol Med*, 2010, 48: 1388-98
- [18] Zhang Y, Zhang Y, Bai Y, et al. Involvement of PUMA in pericyte migration induced by methamphetamine. *Exp Cell Res*, 2017, 356: 28-39
- [19] Sharma A, Hu XT, Napier TC, et al. Methamphetamine and HIV-1 Tat down regulate  $\beta$ -catenin signaling: implications for methamphetamine abuse and HIV-1 co-morbidity. *J Neuroimmune Pharmacol*, 2011, 6: 597-607
- [20] Avraham HK, Jiang S, Lee TH, et al. HIV-1 Tat-mediated effects on focal adhesion assembly and permeability in brain microvascular endothelial cells. *J Immunol*, 2004, 173: 6228-33
- [21] Xu R, Feng X, Xie X, et al. HIV-1 Tat protein increases the permeability of brain endothelial cells by both inhibiting occludin expression and cleaving occludin via matrix metalloproteinase-9. *Brain Res*, 2012, 1436: 13-9
- [22] Song HY, Ju SM, Seo WY, et al. Nox2-based NADPH oxidase mediates HIV-1 Tat-induced up-regulation of VCAM-1/ICAM-1 and subsequent monocyte adhesion in human astrocytes. *Free Radic Biol Med*, 2011, 50: 576-84
- [23] Patel S, Leibbrand CR, Palasuberniam P, et al. Effects of HIV-1 Tat and methamphetamine on blood-brain barrier integrity and function *in vitro*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2017, 61: AAC.01307-17
- [24] Jiang W, Huang W, Chen Y, et al. HIV-1 transactivator protein induces ZO-1 and nephrilysin dysfunction in brain endothelial cells via the Ras signaling pathway. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 2017: 1-10
- [25] Niu F, Yao H, Zhang W, et al. Tat 101-mediated enhancement of brain pericyte migration involves platelet-derived growth factor subunit B homodimer: implications for human immunodeficiency virus-associated neurocognitive disorders. *J Neurosci*, 2014, 34: 11812-25
- [26] Toborek M, Lee YW, Pu H, et al. HIV-Tat protein induces oxidative and inflammatory pathways in brain endothelium. *J Neurochem*, 2003, 84: 169-79
- [27] Leibbrand CR, Paris JJ, Ghandour MS, et al. HIV-1 Tat disrupts blood-brain barrier integrity and increases phagocytic perivascular macrophages and microglia in the dorsal striatum of transgenic mice. *Neurosci Lett*, 2017, 640: 136-43
- [28] 张冬先, 曾柏瑞, 何永旺, 等. GLUT1 在甲基苯丙胺与 HIV -Tat 蛋白协同诱导大鼠血脑屏障通透性改变中的作用研究. *河南科技大学学报(医学版)*, 2019, 37: 146-9
- [29] Wires ES, Alvarez D, Dobrowolski C, et al. Methamphetamine activates nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF- $\kappa$ B) and induces human immunodeficiency virus (HIV) transcription in human microglial cells. *J Neurovirol*, 2012, 18: 400-10
- [30] Conant K, St Hillaire C, Anderson C, et al. Human immunodeficiency virus type 1 Tat and methamphetamine affect the release and activation of matrix-degrading proteinases. *J Neurovirol*, 2004, 10: 21-8
- [31] Theodore S, Cass WA, Maragos WF. Involvement of cytokines in human immunodeficiency virus-1 protein Tat and methamphetamine interactions in the striatum. *Exp Neurol*, 2006, 199: 490-8