



脑血管发育与相关疾病研究进展

马骏驰¹, 闵晓黎², 吴媚^{1*}, 张晶晶^{1*}

1. 广东医科大学附属医院, 湛江市斑马鱼发育与疾病动物模型重点实验室, 湛江 524001;

2. 昆明医科大学第二附属医院神经内科, 昆明 650106

* 联系人, E-mail: jingjing.zhang@live.com; zwumei1991@163.com

收稿日期: 2023-07-13; 接受日期: 2023-09-05; 网络版发表日期: 2023-12-18

国家自然科学基金(批准号: 32222028, 31970777)资助

摘要 脑血管网络拥有独特的解剖结构、生理功能和稳态维持机制, 有序并高效地维持着大脑正常发育和运转。脑血管网络的形成受到多种分子的调控, 如VEGF, NRP-1, TGF- β 等。脑血管发育异常或受损将导致多种脑血管疾病和神经退行性病变, 如脑动静脉畸形、阿尔茨海默症。尽管多年来大家对各类脑血管疾病的了解日渐完善, 但仍有很多疾病的发病机制尚未被完全揭示, 因此亟待开发针对这些疾病的更加安全高效的治疗策略。此外, 目前聚焦脑血管发育与疾病研究的多种动物模型已成为探索中枢神经系统疾病发病机制与病理、生理特点的重要工具。本文主要综述脑血管发育及其分子调控机制、脑血管疾病以及脑血管疾病研究模型的最新进展, 为涉及脑血管的基础和临床研究提供重要参考。

关键词 脑血管发育, 分子调控, 脑动静脉畸形, 阿尔茨海默症, 脑血管疾病模型

大脑是人体最消耗能量的器官之一, 每天要消耗300千卡左右, 相当于功能活动所需总能量的20%。由于大脑没有储存营养物质的能力, 因此大脑血流量通常与其代谢率成正比。营养物质需要通过400千米长的毛细血管和微血管网络以供应1000亿个神经元所需的能量^[1]。脑血管在胚胎期和出生后的发育期间逐渐形成一个复杂的血管网络, 这个过程主要通过两种不同的方式来实现。一种是血管发生, 即新血管从头开始形成; 另一种方式是血管新生, 即从已经存在的血管上形成新的血管。这些过程都是由多种不同的因素控制的, 其中包括促血管生成因子和抗血管生成因子, 这些因子可以促进或抑制血管生成, 从而影响脑血管

网络的形成和发育^[2,3]。脑血管系统中的毛细血管是血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)的关键组成部分, 通过调节化学波动, 运输免疫细胞以及抵御毒素和病原体的侵入, 严密控制脑微环境稳态^[4,5]。在全球范围内, 脑血管疾病仍然是造成死亡的主要原因^[6]。因此, 明确脑血管发育过程中的分子及其调控机制将有助于筛选脑血管相关疾病的治疗靶点, 提供有效的预防策略和治疗手段。

1 脑血管形成模式

血管的形成过程分为血管发生和血管新生两个阶

引用格式: 马骏驰, 闵晓黎, 吴媚, 等. 脑血管发育与相关疾病研究进展. 中国科学: 生命科学, 2024, 54: 369–382

Ma J C, Min X L, Wu M, et al. The development of cerebral vasculature and related diseases (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2024, 54: 369–382, doi: 10.1360/SSV-2023-0092

段. 血管发生是指血管从无到有的形成过程, 即在原肠胚形成后不久开始. 该过程始于中胚层的成血管细胞, 在受到血管生成因子如血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的刺激后分化为内皮细胞(endothelial cells, ECs), 在胚外卵黄囊中聚集成血岛, 融合形成初级血管网络^[2,7]. 此时血管发生中止, ECs进入相对静止的状态. 随着发育的进行, 原有的血管网络已经不能供给组织足够的氧气, 组织缺氧会释放VEGF等血管生成因子, 并刺激新血管从已有的血管上生成, 这个过程被称为血管新生^[3,8]. 血管新生的生长方式有三种: 出芽式、非出芽式和套叠式. 在生理状态下, 脑血管主要通过出芽式血管新生来实现新血管的形成. 在促血管生成信号的驱动下, ECs开始变得活跃, 血管出芽依赖于ECs特定亚型(尖端细胞和柄细胞). 其中, 尖端细胞(tip cells)是新生毛细血管最前端具有丝状伪足的特化内皮细胞, 而柄细胞(stalk cells)可以在尖端细胞的引导下, 迅速增殖并延长血管, 直到与邻近的新生血管吻合, 腔化形成新的血管分支^[4]. 新生血管最初是脆弱的, 将在募集星形胶质细胞和壁细胞(周细胞或血管平滑肌细胞)后具有稳定的结构和功能^[9]. 出芽过程会反复发生直到成熟的血管系统被建立, 促血管生成信号减弱^[10].

2 脑血管网络的形成

在小鼠中, 脑血管化通常始于胚胎期7.5~8.5天(E7.5~8.5), 通过腹侧神经管的血管形成周围神经血管丛(perineural vascular plexus, PNVP)^[11]. 脑膜血管的发育没有特定的时间或空间模式, 而脑内血管则是由脑外血管出芽逐渐向神经组织深处生长. 在E9.5时, 来自PNVP的血管芽侵入CNS实质并通过血管出芽形成神经内血管丛(intraneural vascular plexus, INVP), 随着神经组织的生长, 进一步形成巨大的血管网络, 随后重塑为具有动脉、静脉和毛细血管层次的血管树. 脑微血管内皮细胞(brain microvascular endothelial cells, BMECs)招募周细胞, 并且被周细胞包裹, 与星形胶质细胞共同组成BBB功能单位, BMECs通过复杂的紧密连接(tight junction, TJ)相互连接, 从而调节或抑制水溶性分子的细胞旁扩散^[4,9]. 脑血管网络的构建完成, 意味着脑血管已经处于稳定状态. 在生理条件下, 成熟的脑血管不再形成新的血管或修剪已有的血管^[12].

3 多种信号通路参与脑血管发育的调控

发育过程中脑血管的结构和功能是动态变化的, 在多种信号通路的共同作用下促进脑血管网络的生成(图1). VEGF是血管形成的主要驱动因素^[13]. Wnt(wingless-type MMTV integration site family)信号在血管生成和血管重构中发挥重要作用^[14,15]. 其他如神经纤毛蛋白(neuropilins, NRPs)、转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF- β)超家族等信号通路都参与脑血管发育以及功能的调控.

VEGF(现在被称为VEGF-A)是包括VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E(病毒编码)和胎盘生长因子(placental growth factor, PLGF)在内的蛋白质家族的成员. VEGF-A信号通路主要由VEGFR-2介导, VEGFR-2是血管生成所需的“主调控因子”^[13]. VEGF-B通过VEGFR-1和Neuropilin-1在BBB形成和脑血管维持中发挥作用^[16]. VEGF-C和VEGF-D主要与VEGFR-3/FLT4相互作用, 促进淋巴管生成, VEGF-C对胚胎淋巴细胞的发育至关重要, 而VEGF-D则对炎症性淋巴细胞的生长和对脑损伤的反应至关重要^[17,18]. 然而, 在斑马鱼中, Vegfc和Vegfd的作用尚不明确, 血管新生和面部淋巴管生成需要Vegfd, 而Vegfc驱动的Vegfr3信号在主干血管生成中发挥作用^[19].

Notch信号通路是一种重要的细胞信号传递机制, 由Notch受体和其配体Delta及Jagged等组成, 当配体与受体结合时, 会激活Notch受体内部的酶切作用, 进而释放具有转录调节活性的Notch胞内结构域(Notch intracellular domain, NICD), NICD可以进入细胞核, 与转录因子结合并参与基因转录调控^[20]. VEGF信号传导导致Notch配体Delta-like 4(DLL4)上调, 从而激活相邻柄细胞上的Notch1受体. Notch1信号抑制ECs中VEGFR2的表达, 不仅通过抵消VEGF信号来调控尖/柄细胞的分化, 还可以通过磷酸酯酶与张力蛋白同源物(phosphatase and tensin homolog, PTEN)抑制细胞增殖, 以及通过上调SMAD6从而阻断骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMPs)信号传导^[21-23]. Notch3在哺乳动物血管完整性和血脑屏障功能中起到关键作用. Notch3敲除小鼠表现出血管完整性和血脑屏障的功能受损^[24]. 同样的, 在斑马鱼Notch3突变体中也表现出周细胞缺失以及血脑屏障功能受损^[25]. 最新研究表明, Notch3基因突变会导致常染色体显性遗

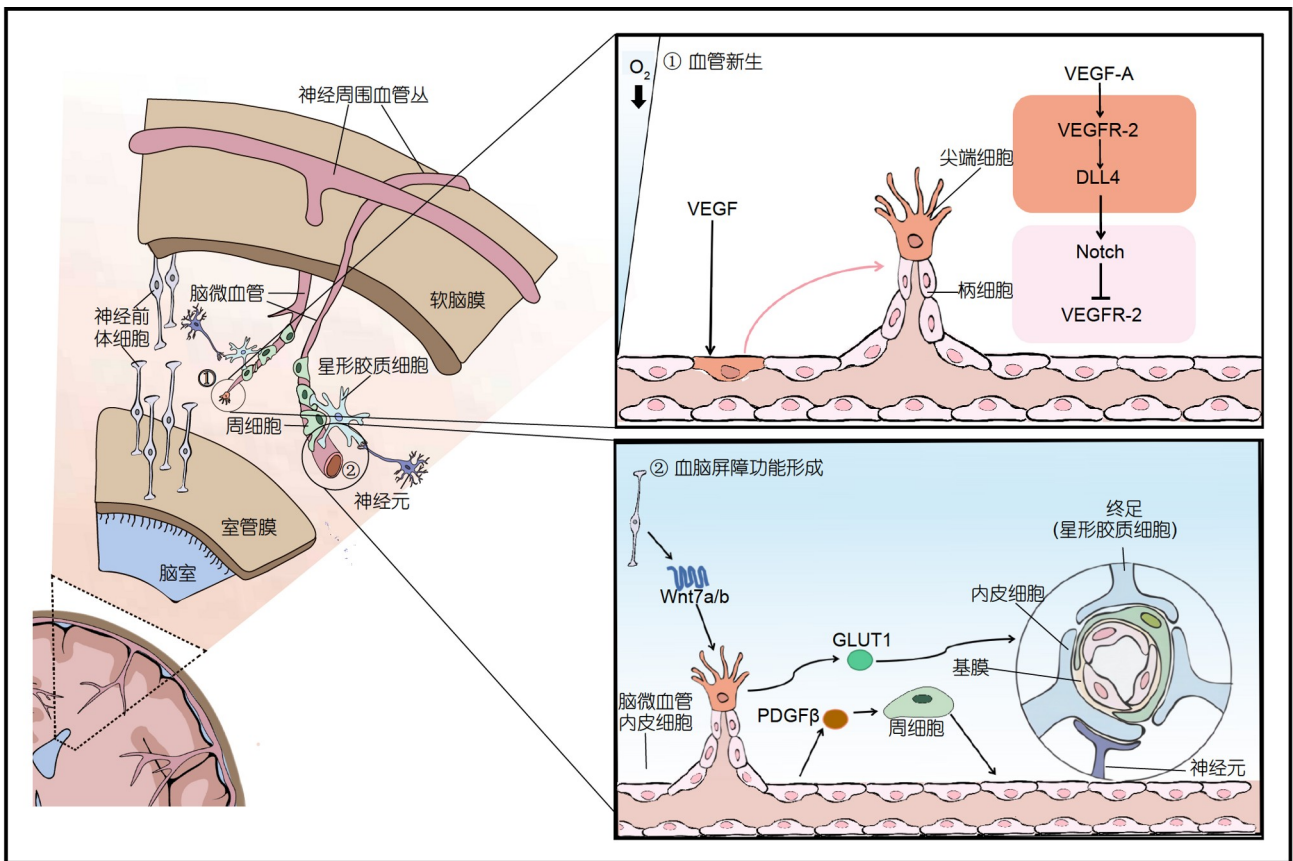


图 1 脑血管发育模式。脑微血管内皮细胞通过血管新生从神经周围血管丛侵入脑实质。其中, 血管新生和血脑屏障功能的形成主要由非CNS特异性信号通路(如VEGF-A/VEGFR2)和CNS特异性信号通路(如Wnt7a/b)调控。在发育早期, 神经元来源的VEGF-A促进血管生成, 而出生后, 微血管周围的星形胶质细胞成为VEGF-A的主要来源。VEGF信号传导导致Notch配体DLL4的上调, 从而激活相邻柄细胞上的Notch1受体。BMECs释放血小板衍生生长因子 β , 以招募周细胞并在胚胎发育过程中启动BBB的形成。神经前体细胞释放Wnt配体(Wnt7a和Wnt7b), 引导BMECs出芽并通过表达GLUT1诱导BBB形成

Figure 1 The pattern of cerebrovascular development. Brain microvascular endothelial cells invade the brain parenchyma from the peripheral vascular plexus through sprouting angiogenesis. Angiogenesis and the formation of blood-brain barrier function are mainly regulated by non-CNS specific signaling pathways (VEGF-A/VEGFR2) and CNS specific signaling pathways (such as Wnt7a/b). In early development, neuron-derived VEGF-A promotes angiogenesis, while after birth, perivascular astrocytes become the main source of VEGF-A. VEGF signaling leads to the upregulation of Notch ligand DLL4, which activates Notch1 receptors on adjacent stalk cells. BMECs release platelet-derived growth factor β (PDGF- β) to recruit pericytes and initiate BBB formation during embryonic development. Neural precursor cells release Wnt ligands (Wnt7a and Wnt7b), which guide BMECs budding and induce BBB formation by expressing GLUT1

传脑动脉病伴皮质下梗死及白质脑病(cerebral autosomal dominant arteriopathy-subcortical infarcts-leukoencephalopathy, CADASIL), 它是一种遗传性脑小血管病, 在CADASIL小鼠模型中减少Notch3沉积的治疗性研究, 将为进一步开发用于CADASIL患者的临床应用提供支持^[26]。

Wnt信号在血管生成和血管重构中发挥重要作用(图1)。Wnts主要由神经元和星形胶质细胞分泌, 并充当细胞特异性配体, 在发育中调节广泛的生物过程。血脑屏障的成熟受Wnt7a/b配体调控。最近的一项研究发

现, 经过改造的Wnt7a蛋白K190A具有选择性结合G蛋白偶联受体124/Reck(Gpr124/Reck)复合物的能力, 可以作为高度特异的Gpr124/Reck激动剂发挥作用, 减少在其他组织中激活Wnt信号的影响, 从而保护血脑屏障的功能, 能够缓解小鼠胶质母细胞瘤的扩散和缺血性卒中梗死^[27]。Wnt通路还可以抑制早期鞘氨醇-1-磷酸受体(sphingosine-1-phosphate receptor, S1PR)信号传导, 从而调控血脑屏障的成熟和血管内皮钙黏蛋白(VE-cadherin)的稳定^[28]。

NRP是高度保守的I型膜糖蛋白, 可作为VEGF

的受体, 与VEGF受体酪氨酸激酶VEGFR1和VEGFR2 (CD309)相互作用, 在心血管、神经元发育以及免疫系统调节中发挥重要作用^[29]。NRP-1在动脉中表达并促进动静脉分离, NRP-2在静脉和淋巴管中表达^[30]。与NRP-2相比, 近年来NRP-1在脑血管发育和疾病中研究得更多。NRP-1是VEGF、整合素(integrin)、神经丛蛋白(plexin)的共同受体, 也是Notch在血管生成过程中尖/茎细胞分化中的关键下游因子, 可以通过抑制Alk5和Alk1的表达调控血管出芽^[31]。最新研究表明, NRP-1在COVID-19和急性缺血性脑卒中(acute ischemic stroke, AIS)的发病机制中具有重要作用, 可能是COVID-19中AIS病理发展过程中的潜在生物学标志物^[32]。

转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF- β)是一类多效性细胞因子, 在细胞增殖、分化、免疫调节以及机体稳态维持等方面均具有重要的作用。TGF- β 超家族包含30多个成员, 包括TGF- β 1、活化素(activin)、抑制素(inhibin)和BMP1~20等, 它们可以与几类受体结合, 如激活蛋白受体样激酶(activin receptor-like kinase 1, ALKs)、TGF- β 受体(TGF- β receptors, TGFBRs)和BMP受体(BMP receptors, BMPRs)^[33]。脉络丛以及星形胶质细胞、小胶质细胞和内皮细胞是大脑中TGF- β 1的主要来源, TGF- β 1调节血管生成、BBB完整性、神经炎症、神经可塑性和神经元功能^[34]。ALK1信号传导是TGF- β 超家族的典型途径之一, 在血管形态发生中起着关键作用, BMP9/ALK1信号通路可以通过调控血管静止、细胞连接、剪切应力响应和壁细胞募集来调节血管生成, 通路异常将导致血管发育异常并引发血管疾病^[35]。

4 脑血管异常将导致多种脑血管疾病

充足的血液供应和完整的血管结构是维持大脑正常功能的关键, 脑血管结构、功能的异常以及血流动力学的改变会导致多种脑血管疾病(图2), 如脑动静脉畸形(brain arteriovenous malformations, bAVMs)、脑海绵状血管畸形(cerebral cavernous malformations, CCM)、遗传性出血性毛细血管扩张症(hereditary hemorrhagic telangiectasia, HHT)。这些疾病常常导致血管的扩张或狭窄, 进而发展成为出血性或缺血性脑卒中, 并伴随癫痫和神经功能障碍。脑血管疾病通常由

环境因素和遗传因素共同决定。目前, 侵入性手术治疗仍是脑血管疾病的主要治疗方法, 因此脑血管病遗传学的研究对于预防和治疗相关疾病尤为重要^[36]。

bAVMs是一种以直接分流为特征的破坏性神经血管疾病, 导致扭曲的高流量血管缠结成病灶, 将供血动脉直接连接到引流静脉, 扩张的动脉连接到由动脉化静脉引流的畸形血管巢进而在动脉和静脉系统之间形成一个高流量、低阻力的异常分流, 因此bAVM中异常的血管极易发生破裂, 导致颅内出血(intracerebral hemorrhage, ICH)。约2%的患者与某些综合征相关, 常见的有Osler-Weber-Rendu综合征(也称为遗传性出血性毛细血管扩张症)中, 其他与bAVM相关的综合征包括Cobb综合征和累及面部和脑部的动静脉同色异构综合征、Wyburn-Mason综合征和Bonnet-Dechaume-Blanc综合征^[37~39]。最近, 在bAVM患者样本中发现KRAS(*KRAS*^{G12V})的体细胞激活突变将引发更高的患病率^[40]。体内实验证实, *KRAS*/*kras*突变可驱动小鼠和斑马鱼模型的异常血管形态和AVM发展^[41,42]。另一项近期实验发现, 在*Notch4*表达上调引发的bAVM小鼠中敲除内皮*Notch*下游转录因子激活信号因子*Rbpj*后, 脑血管结构和微循环恢复正常^[43], 为靶向下游分子治疗bAVM提供了理论支撑。目前bAVM的治疗主要是控制症状、侵入性阻断血流和手术切除, 针对bAVM的药物仍在研发中。

遗传性出血性毛细血管扩张症, 也称为Osler-Weber-Rendu综合征, 全世界每5000~8000人中约有1人受到影响^[44]。在大约90%的病例中, 这种疾病是由内皮糖蛋白(endoglin, *ENG*)基因或*ALK1/ACVRL1*的杂合突变引起的, 位于9号染色体(9q3.3-q3.4)上的*ENG*基因突变导致1型HHT(HHT1), 而位于1号染色体(12q12)上的*ALK1/ACVRL1*基因突变导致2型HHT(HHT2)^[45]。在其余10%的患者中发现基因*SMAD4*(SMAD family member 4)的突变^[46]。最新研究表明, 以AVM和HHT为特征的重叠综合征(overlap syndrome, OS), 患者存在*BMP9*突变, 表明该因素与AVM的形成有关^[47]。利用*Alk1*突变的bAVM小鼠模型, 通过使用HHT临床药物沙利度胺或者过表达血小板衍生生长因子B(platelet derived growth factor subunit B, PDGFB)均可以增加*Alk1*缺失中血管周细胞的覆盖率并减少出血, 表明*Alk1*突变内皮细胞中PDGFB表达的减少可能是导致bAVM血管中壁细胞覆盖丧失的原因^[48]。目前针对HHT的治疗药物

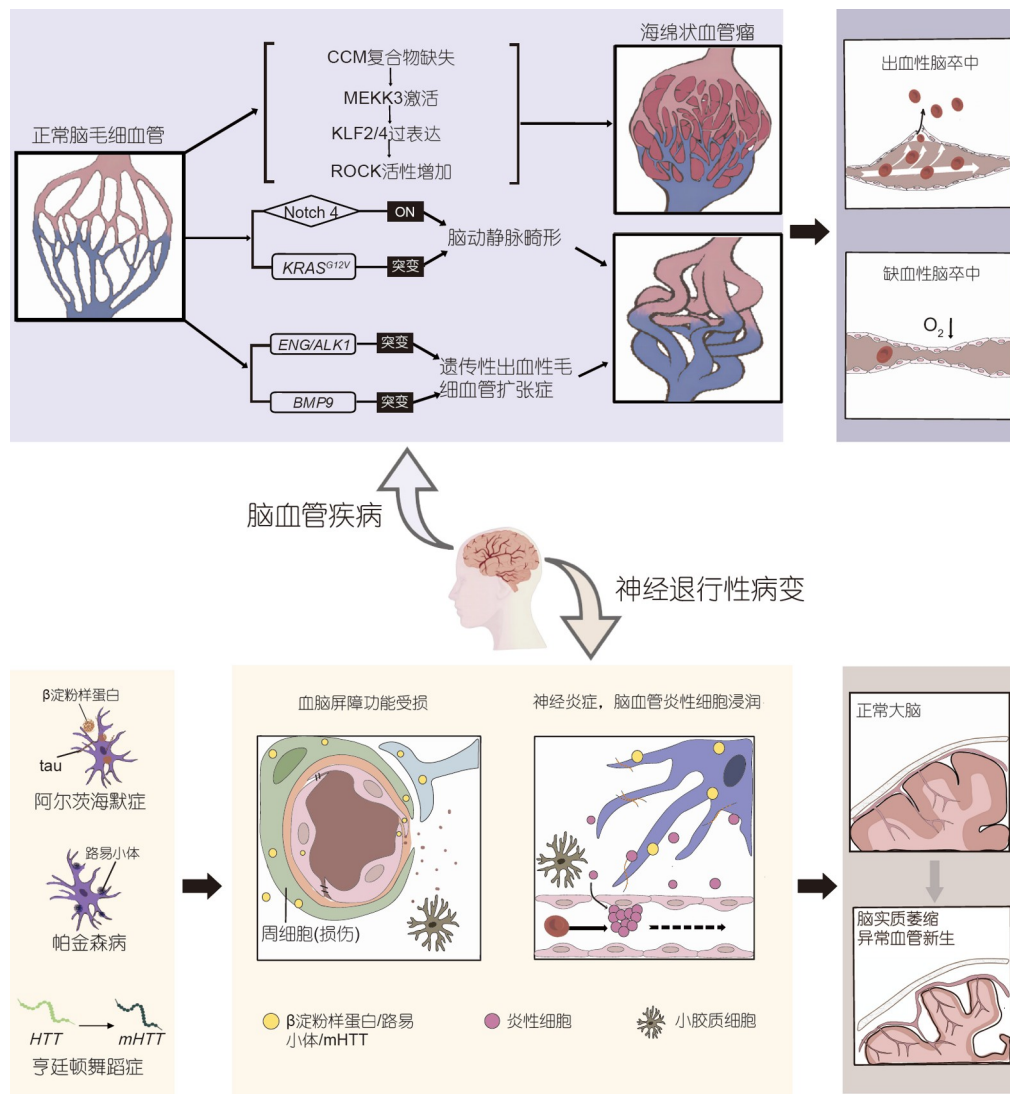


图 2 脑血管相关疾病, 包括脑血管疾病和神经退行性病变。脑血管疾病中, 脑海绵状血管畸形主要是由CCM基因发生突变, 导致CCM复合物发生缺陷时, MEKK3-KLF2/4-ROCK信号通路会被激活, 进而导致肌动蛋白应激纤维增加、细胞黏附性降低以及血管通透性增加。脑动静脉畸形主要由于Notch4的启动和 $KRAS^{G12V}$ 突变导致, 表现为动脉化静脉引流的畸形血管巢, 进而在动脉和静脉系统之间形成一个高流量、低阻力的异常分流。遗传性出血性毛细血管扩张症可由 $ENG/ALK1$ 和 $BMP9$ 的突变导致, 且出现bAVM脑血管病理表现。随着这些疾病的进展, 若血管扩张, 血管内皮细胞破裂出血, 则引发出血性脑卒中, 若血管狭窄, 血流异常, 则引发缺血性脑卒中。神经退行性病变中, 阿尔茨海默症的主要致病因素为淀粉样蛋白 β 和tau, 帕金森病中主要的病理沉积物为路易小体, 而亨廷顿舞蹈症则由聚集在神经系统中的突变亨廷顿蛋白导致。这些病变会引发血脑屏障功能破坏和神经炎症, 从而引发脑血流量不足, 导致脑实质萎缩和脑血管过度新生。

Figure 2 Cerebrovascular-related diseases, including cerebrovascular diseases and neurodegenerative diseases. In cerebrovascular diseases, cerebral cavernous vascular malformations are mainly caused by the mutation of the CCM gene, which leads to the defect of the CCM protein complex. Then the MEKK3-KLF2/4-ROCK signaling pathway is activated, leading to increased actin stress fibers, reduced cell adhesion, and increased vascular permeability. Cerebral arteriovenous malformations are mainly caused by Notch4 activation and $KRAS^{G12V}$ mutation, which are manifested as an abnormal vascular nest of arterialized venous drainage, then an abnormal shunt of high flow and low resistance between the arterial and venous systems is formed. Hereditary hemorrhagic telangiectasia is caused by mutations of $ENG/ALK1$ and $BMP9$, with pathological manifestations of bAVM. When these diseases progress, the vessels might dilate, and endothelial cells might rupture and bleed, which result in hemorrhagic stroke. Another situation is that the vessels become narrow and blood flow becomes abnormal, which result in ischemic stroke. In neurodegenerative diseases, the main pathogenic factors of Alzheimer's disease are amyloid beta and tau, the main pathological deposits of Parkinson's disease are Lewy bodies, and Huntington's disease is caused by aggregation of mutant Huntingtin protein (mHTT) in the nervous system. These lesions cause the disruption of blood-brain barrier function and neuroinflammation, which result in insufficient cerebral blood flow, atrophy of brain parenchyma, and excessive brain angiogenesis.

主要包括抗VEGF抗体(贝伐珠单抗)、VEGFR2酪氨酸激酶抑制剂(VEGFR2-TKI, 如帕唑帕尼), 其他治疗药物, 如ALK1/ALK3信号传导的激活剂(他克莫司和西罗莫司)、抗血管生成素2(angiotensin 2, ANGPT2)抗体和磷脂酰肌醇3-激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)抑制剂仍在临床试验中^[49,50]。

脑海绵状血管畸形(cerebral cavernous malformations, CCM)/颅内海绵状血管瘤(intracranial cavernous angioma)是指由众多薄壁血管组成的海绵状异常血管团, 这些畸形血管紧密相贴, 血管间没有或极少有脑实质组织, 出血性卒中风险高。CCM的疾病表现可分为散发性CCM(sporadic CCM, SCCM)和家族性CCM(familial CCM, FCCM)两种形式。在FCCM中, 疾病与染色体7q的CCM1(也称KRIT1 ankyrin repeat containing, KRIT1)、染色体7p的CCM2(也称oncostatin M, OSM)以及染色体3q的CCM3(也称programmed cell death 10, PDCD10)基因的相关性已经得到证实^[51]。CCM1~3在脑血管中均有表达, CCM蛋白相互作用所形成的蛋白质复合物, 即CSC(CCM signaling complex), 是有丝分裂原活化蛋白激酶激酶激酶3(mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase kinase kinase 3, MEKK3)级联反应的抑制因子。通过小鼠CCM疾病模型发现MEKK3靶基因Krüppel样因子(Krüppel-like factors, KLFs)2和4的表达以及Rho(Ras homolog gene family)和金属蛋白酶域蛋白(a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs, ADAMTS)酶活性在早期CCM病变的内皮细胞中增加。与小鼠实验一致, 在人类家族性和散发性CCM病变中KLF2和KLF4的内皮表达升高^[51,52]。当CCM基因发生突变, 导致CSC蛋白质发生缺陷时, MEKK3-KLF2/4-Rho激酶(Rho-associated kinase, ROCK)信号通路会被激活, 进而导致肌动蛋白应激纤维增加、细胞黏附性降低以及血管通透性增加(图2), 并且内皮Mek3, Klf2或Klf4的特异性缺失可显著逆转病变的形成并降低死亡率^[51,52]。因此, 在临床药物开发中CCM-MEEK3-KLF2/4-ROCK通路已经成为开发药物的关键靶标^[51,53]。

5 神经退行性疾病中的脑血管变化

神经退行性疾病的特征是功能性神经元的逐渐丧失和大脑功能受损。神经变性和正常的脑老化有共同

的病理过程, 包括氧化应激、线粒体功能障碍和蛋白质毒性。然而, 神经退行性疾病也具有高度异质性, 具有独特的危险因素(环境和遗传)、组织病理学特征(特定脑区域的神经元丧失和蛋白质聚集的形成)和临床表现。尽管发病机制不同, 但是现有的研究表明, 神经退行性变与脑血管变化有关(图2)。越来越多的证据表明, 在阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD), 帕金森病(Parkinson's disease, PD), 亨廷顿舞蹈症(Huntington's disease, HD)等神经退行性病变发病过程中, 神经炎症以及血脑屏障功能的损伤通常先于行为异常和智力减退等临床症状出现^[54]。

AD是老年人认知障碍的主要原因, 目前普遍认为β样淀粉样蛋白(amyloid-β, Aβ)的细胞外沉积和微管相关蛋白tau(microtubule-associated protein tau)在细胞内聚集形成的神经原纤维缠结(neurofibrillary tangle, NFT)共同作用所导致的神经血管功能障碍是AD的早期致病因素^[55,56]。且越来越多的证据表明, 脑部微循环系统的改变可能在AD中发挥作用, AD患者中Aβ的积累同时伴有脑小血管损伤的发生, 表明脑血管损伤与Aβ积累可能存在协同作用^[57]。Aβ是阿尔茨海默病的关键致病因素, 通过先天免疫受体CD36诱导神经血管调节的改变, 这反过来又激活含有烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸盐的NADPH氧化酶异构体2(NADPH oxidase 2, NOX2), 导致脑血管氧化应激^[58]。在Aβ积累的小鼠模型中, 中性粒细胞阻断毛细血管可导致脑血流(cerebral blood flow, CBF)减少和认知障碍^[59]。Aβ还可能通过破坏周细胞功能限制毛细血管网络高效输送氧气, 导致学习和记忆障碍^[36,60]。脑血管异常是阿尔茨海默病和额颞痴呆症的临床前表现, 与tau蛋白过度磷酸化形式的积累有关, 目前尚不清楚tau是否有助于这些独立于神经变性的神经血管改变, 但是有研究报道, tau突变小鼠脑血流量增加, 可能是tau诱导的神经元型一氧化氮合酶(neuronal nitric oxide synthase, nNOS)与突触后密度蛋白95(postsynaptic density protein-95, PSD95)的解离导致神经血管耦合的失败, 作为血管扩张剂的一氧化氮产生减少导致血管扩张受到抑制, 从而影响脑血流量^[61]。虽然近几十年来对于AD的研究从未停止, 但是目前AD的治疗仍然局限于对症治疗^[62,63]。而随着人们对AD中脑血管病变的研究加深, 越来越多的药物开始以脑血管为靶点进行研发和筛选。阿西替尼, 是一种靶向血管内皮生长因子受体的小分

子酪氨酸激酶抑制剂,通过抑制促血管生成途径,显著减少了脑血管新生,恢复了BBB完整性,减少了斑块中的A β 沉积,有效恢复了AD小鼠模型的认知障碍^[64]。另一种药物,碳酸酐酶抑制剂(carbonic anhydrase inhibitors, CAIs)已在临床用于青光眼和高原反应的治疗。最近的一项研究发现,两种CAI(醋甲唑胺和乙酰唑胺)显著减少了小鼠AD模型脑血管、胶质细胞中A β 的沉积和半胱天冬酶的激活,抑制了神经胶质增生并改善认知功能,同时CAI还能诱导小胶质细胞碎片清除途径,减少A β 沉积,改善AD脑淀粉样血管病(cerebral amyloid angiopathy, CAA)^[64,65]。

PD是一种常见的神经退行性疾病,PD的组织病理学特征是脑干黑质内多巴胺能神经元缺失^[66]。此外,路易小体(主要由 α -突触核蛋白/ α -synuclein聚集而成)在大脑区域的特定神经元的细胞质中形成。在PD患者中,衰老过程中 α -synuclein降解障碍可能导致多巴胺能神经元缺失和下游运动障碍^[67]。与PD相关的脑血管改变包括血管变性和血管新生,PD相关血管变性类似于AD,形态学改变包括BMEC变性和微血管密度下降,以及BBB中TJ的减少。然而,有研究发现PD相关脑区新血管生成增加,微血管密度无明显变化。因此,PD有可能在患者中建立了促血管生成的环境,血管生成标志物的提高证明了这一点^[68]。此外,PD患者特定脑区灌注不足与运动功能障碍相关。最近有报道称,接受脑深部刺激(deep brain stimulation, DBS)治疗的帕金森病患者的微血管可塑性增强,与年龄匹配的对照组相比,DBS治疗的帕金森病患者的微血管密度、内皮紧密连接蛋白和内皮血管内皮生长因子表达均上调^[69]。DBS促进神经活动,增加VEGF和脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)的产生^[70]。而对于PD的治疗目前公认最有效的依旧是左旋多巴,但是并没有相关研究表明其改善PD血管病变的有效性^[71]。BBB限制了神经血管系统疾病中药物有效传递,因此对于PD以及此类疾病的治疗方向主要是提高药物利用率,其中,五味子酯甲(schisantherin A),为中医治疗PD的常用药物,并且已经有研究证明其对于PD的治疗有综合疗效^[72]。但是对于脑血管病变的改善仍旧少有研究。

HD亨廷顿病是一种常染色体显性遗传的神经退行性疾病,症状包括舞蹈病和肌张力障碍、肢体不协调、认知能力下降和行为困难^[73]。HD是由编码亨廷

顿蛋白(huntingtin, HTT)的HTT基因的第一个外显子的CAG重复扩增形成的突变型亨廷顿蛋白(mutant huntingtin, mHTT)在脑内积累导致的^[74]。mHTT由神经元和星形胶质细胞产生,聚集在脑实质、微血管基膜和神经细胞中^[75]。正常HTT功能的丧失和mHTT功能的获得会导致纹状体、皮质和海马体等区域神经元的渐进式丧失,并伴随着认知和运动功能的下降^[76]。星形胶质细胞被认为参与调控脑微血管发育及功能,近来利用HD小鼠模型(R6/2)发现mHTT在星形胶质细胞和神经元中的表达增加且星形胶质细胞中VEGF-A增多,导致内皮细胞的异常增殖致使HD小鼠的脑血管密度明显增大,该表型与人类HD患者一致^[77]。此外,星形胶质细胞介导炎症反应降低周细胞的存活率,使得HD大脑中血管的周细胞覆盖率降低^[78]。最近的研究表明,与正常BMECs相比,HD患者BMECs诱导的多能干细胞表现出血管生成亢进和血脑屏障功能缺陷^[79]。目前尚没有有效药物阻断HD的进程,利用转基因失活mHTT从而逆转HD的进展及利用锌指蛋白转录因子降低mHTT表达将成为治疗HTT的潜在方法^[80]。

6 脑血管发育与疾病动物模型

大鼠和小鼠由于与人类相似的神经解剖结构、完善的基因组图谱和成熟的遗传学实验技术而被广泛用于脑血管发育的研究。作为长期应用于脑血管发育研究的模式动物,出生后1~5天(P1~P5)的啮齿动物大脑大致相当于人类发育中妊娠期的23~32周。啮齿动物的P10大致相当于人类发育中妊娠期的40周^[81]。因此,出生后前2周的啮齿动物模型在人类产前和新生儿大脑的一系列发育相关事件的研究中得到了广泛的应用。利用小鼠模型研究脑血管生成主要通过构建转基因或突变体小鼠,根据研究的需要构建所需品系。如前文提到过的,通过使用靶向脑内皮细胞的腺病毒(AAV-BR1)诱导KRAS^{G12V}突变,使小鼠脑血管出现缠结病灶并出现脑血管结构异常和脑出血,成功构建bAVM小鼠模型并验证KRAS突变通过MEK/ERK途径促进bAVM的发展^[42]。同样的,通过使用AAV-BR1诱导MAP3K3^{I441M}突变可引起小鼠CCM样病变,为CCM的进一步机制和治疗研究提供临床前模型^[82]。此外,研究发现,通过使用双侧颈总动脉狭窄(bilateral common carotid artery stenosis, BCAS)构建小鼠脑慢性低灌注

(chronic cerebral hypoperfusion, CCH)模型来研究血管性痴呆(vascular dementia, VD)对于固有免疫反应的影响,发现炎症小体复合物中干扰素诱导蛋白AIM2(absent in melanoma 2)的激活促进了慢性脑血管低灌注诱导脑损伤的病理生理学进程,预测可作为研发VD治疗药物的有效靶标^[83,84]。

斑马鱼作为脊椎动物模型,跟人类有相似的脑血管结构及发育调控通路,且体外受精、胚胎透明,结合光学成像技术可以实现体内活体成像观察脑血管发育的动态过程,因此在过去几十年中被广泛应用于脑血管发育和功能的研究中^[85]。在血管特异性转基因荧光斑马鱼中,实现了脑血管高分辨率成像,并监测血管生长和重塑,可进行长期跟踪、重复成像。其中常用于脑血管发育及疾病观察的转基因品系有*Tg(kdr1:eGFP)*, *Tg(plvap:eGFP)*, *Tg(fli1a:eGFP)*, *Tg(pdgrfb:DsRed)*等。斑马鱼模型已广泛应用于脑血管发育与疾病的研究中。斑马鱼脑屏障的结构和功能与哺乳动物具有高度保守性,因此血管转基因斑马鱼适用于研究早期血管发育以及屏障功能的评估。利用*Tg(kdr1:eGFP)*血管内皮细胞绿色荧光蛋白转基因斑马鱼品系,通过血管造影和光学成像技术,验证了Claudin-5a在斑马鱼血脑屏障和血脑脊液屏障的功能形成中的重要作用^[86]。而在另一项研究中,利用血管红细胞双转基因斑马鱼*Tg(flk1:GFP;gatal:dsRed)*,发现镉诱导的血脑屏障功能障碍取决于活性氧(reactive oxygen species, ROS)介导的斑马鱼蛋白酪氨酸磷酸酶(protein tyrosine phosphatases, PTPs)活性的抑制,表明BBB是镉毒性的关键靶标,在斑马鱼BBB模型中提供了镉诱导的神经血管疾病的体内病因学证据^[87]。水中充入高纯氮气构建斑马鱼急/慢性缺氧模型诱导斑马鱼BBB损伤,通过本模型证明了自噬在BBB完整性上的保护作用,为BBB损伤相关的脑血管疾病提供了潜在的治疗策略^[88,89]。斑马鱼也常用于脑血管遗传疾病的研究,以颅内动脉瘤(intracranial aneurysm, IA)为例,通过全外显子组测序(whole exome sequencing, WES)在IA患者中筛选出显著富集的突变基因*PPIL4*,通过构建斑马鱼*ppil4*突变体,发现在突变体发育早期,脑血管内皮细胞受损并出现脑出血表型,与IA临床表现一致,并且人类*PPIL4* mRNA可以拯救斑马鱼突变体的表型,因此斑马鱼*ppil4*突变体可以作为IA疾病模型,为IA病理生理学和临床研究提供诊断和治疗切入点^[90]。在另一

项研究中,利用乙酰基亚硝基脲(N-nitroso-N-ethylure, ENU)诱导的*fn40a*基因突变体,构建斑马鱼脑出血模型,利用此模型验证咪康唑通过下调斑马鱼pERK-MMP9轴来保护血管免受出血,揭示了斑马鱼在筛选脑血管相关药物方面的巨大潜力^[91]。

其他动物模型,如猪、绵羊、食蟹猴等也广泛应用于脑血管发育与疾病的研究中。研究人员利用绵羊和猪的胎儿生长受限(fetal growth restriction, FGR)疾病模型,模拟人类FGR脑血管发育异常以及BBB功能受损等病理表现,进而研究布洛芬、内皮集落形成细胞(endothelial colony-forming cells, ECFC)对于FGR的改善作用^[92,93]。而非人灵长类动物,如食蟹猴,近年来也逐渐应用于脑血管的研究中,通过对其解剖结构以及生理功能的研究,表明食蟹猴适用于研究脑血管发育与疾病^[94],其中,利用低压舱模拟高海拔环境构建的食蟹猴低压缺氧(hypobaric hypoxia, HH)模型,出现与人类急性高原反应相似的脑血管损伤及脑水肿表现,提供了近千种与HH相关的调控基因,并验证了黄体酮(progesterone, PROG)和5 α -雄甾烷-3 β ,5,6 β -三醇(5 α -androst-3 β ,5,6 β -triol, TRIOL)等神经保护甾体对急性HH诱导的脑损伤和行为缺陷起到显著的治疗作用^[95]。

7 新型脑血管发育与疾病模型

为了模拟脑血管发育体内环境,研究人员一直在开发新的实验技术来构建脑血管复杂的三维立体结构。类器官技术是由人多能干细胞(embryonic stem cells/induced pluripotent stem cells, ESCs/iPSCs)诱导,旨在通过体外培养技术构建与人类体内环境更加接近的体外模型^[96]。Lancaster等人^[97]开发了类脑器官3D培养模型,其具有大脑多种细胞和组织,可以一定程度上模拟大脑的结构和功能。但是目前的类脑器官系统缺乏神经系统微环境、神经元回路、血管循环和免疫系统。由于血管对于氧、营养物质的供应以及神经祖细胞的分化起到重要作用,组织缺氧会导致类器官的坏死,干扰其正常发育和潜在的神经元迁移途径^[98,99]。因此,血管化对于人脑类器官的发展尤为重要。Gage团队^[100]通过将人脑类器官移植到成年小鼠大脑中来实现类器官的血管化,改善了神经发生并且提高了神经元的存活率。Cho等人^[101]通过脑细胞外基

质(brain extracellular matrix, BEM)和动态微流体系统模拟3D大脑微环境作为人脑类器官的新策略, BEM改善了神经发生, 而微流体技术精准调控液体流动提供氧、营养物质以及信号因子的有效交换进一步改进类脑器官微环境. 另外, 罗振革团队^[102]报道将血管类器官与脑类器官分别培养, 再在一个时间节点将两种类器官共同培养, 发现血管侵入类脑器官并与神经组织紧密连接. 这一关键技术的突破将为研究大脑和脑血管的发育、疾病以及药物的筛选提供新的研究方法和策略.

最近, Pellegrini等人建立了具有选择性屏障和脑脊液样液体分泌的人类脉络丛类器官模型, 称为脉络丛-脑脊液(choroid plexus-cerebrospinal fluid, ChP-CSF)类器官, 这种体外屏障表现出与体内相同的小分子选择性, 并且可以预测新型化合物的CNS渗透性, 此外, ChP-CSF类器官的转录组和蛋白质组学特征显示出与人脑和小鼠模型的高度相似性, 可作为脑脉络丛-血脑脊液屏障发育与疾病以及药物研发和筛选的重要体外模型^[103,104]. 目前, 人脑类器官已经开始应用于临床疾病的研究中. COVID-19主要以呼吸系统症状为主要临床表现, 但是在死亡患者的脑组织中发现了微血管异常以及局灶性梗死, 这表明SARS-CoV-2神经侵袭会影响脑血管的正常功能. 结合人脑类细胞体外实验以及小鼠体内实验, 研究人员发现, 与猜想一致, 在患者以及不同的疾病模型中均出现了血管异常, 该研究表明, 神经元作为SARS-CoV-2感染的目标之一, 将造成脑部局部缺血和细胞死亡的破坏性后果^[105]. 脑类器官还被用于脑型疟疾(cerebral malaria, CM)模型的构建, 目的是研究CM脑血管系统中BBB相关的分子改变, 表征由恶性疟原虫激活的人脑微血管内皮细胞中的特定基因表达谱, 可作为CM以及此类

脑寄生虫病的可靠体外模型, 并应用于发病机制、脑血管损伤及功能障碍的临床研究中^[106]. 人脑类器官当前并没有广泛应用于临床疾病的研究, 但是可以确定的是, 人脑类器官将成为脑血管研究中的重要实验模型. 此外, 人脑类器官移植也有潜力成为脑血管疾病的治疗手段. 比如, 通过以大鼠大脑中动脉闭塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)脑卒中模型为宿主进行脑类器官移植, 可显著减少大鼠脑梗死的面积并且改善运动神经功能, 提示脑类器官移植作为脑卒中治疗方法的可行性、有效性^[107], 具有良好的应用前景.

8 总结与展望

脑血管的发育是一个复杂的生物学过程, 涉及血管发生和血管新生等多种生物学事件. 在此过程中, 多种分子和信号通路相互作用, 使得脑血管网络逐渐形成. 脑血管结构和功能的异常会导致血流动力学的改变和血脑屏障功能的障碍, 从而直接或间接地促成多种脑血管疾病和神经退行性病变的发生. 尽管目前对于脑血管发育和疾病已经取得了可观的研究成果, 但仍有许多相关机制尚未阐明. 因此, 深入研究脑血管发育及相关调控机制, 不仅可以完善人们对脑血管发育过程的了解, 还可以推动脑血管疾病的基础研究以及临床研究, 为脑血管疾病提供新的治疗手段和预防策略. 在脑血管未来的研究中, 需要更加深入挖掘相关分子和信号通路以及它们之间的相互作用, 以便更好地了解脑血管发育的机制. 此外, 还需要进一步研究脑血管疾病的发病机制, 以便寻找更有效的治疗方法. 这些研究成果将为预防和治疗脑血管疾病提供重要的理论和实践指导.

参考文献

- 1 Zlokovic B V, Zlokovic B V, Apuzzo M L J. Strategies to circumvent vascular barriers of the central nervous system. *Neurosurgery*, 1998, 43: 877–878
- 2 Risau W, Flamme I. Vasculogenesis. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 1995, 11: 73–91
- 3 Senger D R, Davis G E. Angiogenesis. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2011, 3: a005090
- 4 Wälchli T, Wacker A, Frei K, et al. Wiring the vascular network with neural cues: a CNS perspective. *Neuron*, 2015, 87: 271–296
- 5 Zhu Y, Zhang Y Y, Dong E D. Development, injury and repair of vasculature—homeostasis and remodeling (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2022, 52: 603–605 [朱毅, 张幼怡, 董尔丹. 血管发育、损伤与修复——稳态与重构. *中国科学: 生命科学*, 2022, 52: 603–605]
- 6 Tu W J, Zhao Z, Yin P, et al. Estimated burden of stroke in China in 2020. *JAMA Netw Open*, 2023, 6: e231455

- 7 Potente M, Mäkinen T. Vascular heterogeneity and specialization in development and disease. [Nat Rev Mol Cell Biol](#), 2017, 18: 477–494
- 8 Pauty J, Usuba R, Cheng I G, et al. A vascular endothelial growth factor-dependent sprouting angiogenesis assay based on an *in vitro* human blood vessel model for the study of anti-angiogenic drugs. [Ebiomedicine](#), 2018, 27: 225–236
- 9 Wälchli T, Bisschop J, Carmeliet P, et al. Shaping the brain vasculature in development and disease in the single-cell era. [Nat Rev Neurosci](#), 2023, 24: 271–298
- 10 Fernández-Chacón M, García-González I, Mühleder S, et al. Role of Notch in endothelial biology. [Angiogenesis](#), 2021, 24: 237–250
- 11 Fantin A, Vieira J M, Plein A, et al. The embryonic mouse hindbrain as a qualitative and quantitative model for studying the molecular and cellular mechanisms of angiogenesis. [Nat Protoc](#), 2013, 8: 418–429
- 12 Li X, Sun X, Carmeliet P. Hallmarks of endothelial cell metabolism in health and disease. [Cell Metab](#), 2019, 30: 414–433
- 13 Melincovici C S, Bosca A B, Susman S, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF)—key factor in normal and pathological angiogenesis. [Rom J Morphol Embryol](#), 2018, 59: 455–467
- 14 Olsen J J, Pohl S O, Deshmukh A, et al. The role of Wnt signalling in angiogenesis. [Clin Biochem Rev](#), 2017, 38: 131–142
- 15 Reis M, Liebner S. Wnt signaling in the vasculature. [Exp Cell Res](#), 2013, 319: 1317–1323
- 16 Jensen L D, Nakamura M, Bräutigam L, et al. VEGF-B-Neuropilin-1 signaling is spatiotemporally indispensable for vascular and neuronal development in zebrafish. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2015, 112: E5944–E5953
- 17 Lin Q Y, Zhang Y L, Bai J, et al. VEGF-C/VEGFR-3 axis protects against pressure-overload induced cardiac dysfunction through regulation of lymphangiogenesis. [Clin Transl Med](#), 2021, 11: e374
- 18 Stacker S A, Achen M G. Emerging roles for VEGF-D in human disease. [Biomolecules](#), 2018, 8: 1
- 19 Bower N I, Vogrin A J, Le Guen L, et al. Vegfd modulates both angiogenesis and lymphangiogenesis during zebrafish embryonic development. [Development](#), 2017, 144: 507–518
- 20 Hasan S S, Fischer A. Notch signaling in the vasculature: angiogenesis and angiocrine functions. [Cold Spring Harb Perspect Med](#), 2023, 13: a041166
- 21 Mouillesseaux K P, Wiley D S, Saunders L M, et al. Notch regulates BMP responsiveness and lateral branching in vessel networks via SMAD6. [Nat Commun](#), 2016, 7: 13247
- 22 Serra H, Chivite I, Angulo-Urarte A, et al. PTEN mediates Notch-dependent stalk cell arrest in angiogenesis. [Nat Commun](#), 2015, 6: 7935
- 23 Mack J J, Iruela-Arispe M L. NOTCH regulation of the endothelial cell phenotype. [Curr Opin Hematol](#), 2018, 25: 212–218
- 24 Henshall T L, Keller A, He L, et al. Notch3 is necessary for blood vessel integrity in the central nervous system. [Arterioscler Thromb Vasc Biol](#), 2015, 35: 409–420
- 25 Wang Y, Pan L, Moens C B, et al. Notch3 establishes brain vascular integrity by regulating pericyte number. [Development](#), 2014, 141: 307–317
- 26 Oliveira D V, Coupland K G, Shao W, et al. Active immunotherapy reduces NOTCH3 deposition in brain capillaries in a CADASIL mouse model. [EMBO Mol Med](#), 2023, 15: e16556
- 27 Martin M, Vermeiren S, Bostaille N, et al. Engineered Wnt ligands enable blood-brain barrier repair in neurological disorders. [Science](#), 2022, 375: eabm4459
- 28 Hübner K, Cabochette P, Diéguez-Hurtado R, et al. Wnt/ β -catenin signaling regulates VE-cadherin-mediated anastomosis of brain capillaries by counteracting S1pr1 signaling. [Nat Commun](#), 2018, 9: 4860
- 29 Marone G, Granata F. Angiogenesis, lymphangiogenesis and clinical implications. Preface. [Chem Immunol Allergy](#), 2014, 99: XI–XII
- 30 Kofler N M, Simons M. Angiogenesis versus arteriogenesis: neuropilin 1 modulation of VEGF signaling. [F1000Prime Rep](#), 2015, 7: 26
- 31 Aspalter I M, Gordon E, Dubrac A, et al. Alk1 and Alk5 inhibition by Nrp1 controls vascular sprouting downstream of Notch. [Nat Commun](#), 2015, 6: 7264
- 32 Al-Thomali A W, Al-kuraishy H M, Al-Gareeb A I, et al. Role of neuropilin 1 in COVID-19 patients with acute ischemic stroke. [Biomedicines](#), 2022, 10: 2032
- 33 Wheeler S E, Lee N Y. Emerging roles of transforming growth factor β signaling in diabetic retinopathy. [J Cell Physiol](#), 2017, 232: 486–489
- 34 Kandasamy M, Anusuyadevi M, Aigner K M, et al. TGF- β signaling: a therapeutic target to reinstate regenerative plasticity in vascular dementia? [Aging Dis](#), 2020, 11: 828–850
- 35 Medina-Jover F, Riera-Mestre A, Viñals F. Rethinking growth factors: the case of BMP9 during vessel maturation. [Vascular Biol](#), 2022, 4: R1–R14

- 36 Chen J Y, Liu C, Luo L F. The cellular and molecular mechanisms of cerebrovascular regeneration and repair (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2022, 52: 618–632 [陈静影, 刘赤, 罗凌飞. 脑血管再生修复的细胞基础和分子调控机制. 中国科学: 生命科学, 2022, 52: 618–632]
- 37 Chen W, Choi E J, McDougall C M, et al. Brain arteriovenous malformation modeling, pathogenesis, and novel therapeutic targets. *Transl Stroke Res*, 2014, 5: 316–329
- 38 Shaligram S S, Winkler E, Cooke D, et al. Risk factors for hemorrhage of brain arteriovenous malformation. *CNS Neurosci Ther*, 2019, 25: 1085–1095
- 39 Lawton M T, Rutledge W C, Kim H, et al. Brain arteriovenous malformations. *Nat Rev Dis Primers*, 2015, 1: 15008
- 40 Nikolaev S I, Fish J E, Radovanovic I, et al. Somatic activating *KRAS* mutations in arteriovenous malformations of the brain. *N Engl J Med*, 2018, 378: 1561–1562
- 41 Gao S, Nelson J, Weinsheimer S, et al. Somatic mosaicism in the MAPK pathway in sporadic brain arteriovenous malformation and association with phenotype. *J Neurosurg*, 2022, 136: 148–155
- 42 Park E S, Kim S, Huang S, et al. Selective endothelial hyperactivation of oncogenic *KRAS* induces brain arteriovenous malformations in mice. *Ann Neurol*, 2021, 89: 926–941
- 43 Nielsen C M, Zhang X, Raygor K, et al. Endothelial *Rbpj* deletion normalizes Notch4-induced brain arteriovenous malformation in mice. *J Exp Med*, 2023, 220: e20211390
- 44 Viteri-Noël A, González-García A, Patier J L, et al. Hereditary hemorrhagic telangiectasia: genetics, pathophysiology, diagnosis, and management. *J Clin Med*, 2022, 11: 5245
- 45 Zarrabeitia R, Fariñas-Álvarez C, Santibáñez M, et al. Quality of life in patients with hereditary haemorrhagic telangiectasia (HHT). *Health Qual Life Outcomes*, 2017, 15: 19
- 46 Robert F, Desroches-Castan A, Bailly S, et al. Future treatments for hereditary hemorrhagic telangiectasia. *Orphanet J Rare Dis*, 2020, 15: 4
- 47 Wooderchak-Donahue W L, McDonald J, O’Fallon B, et al. *BMP9* mutations cause a vascular-anomaly syndrome with phenotypic overlap with hereditary hemorrhagic telangiectasia. *Am J Hum Genet*, 2013, 93: 530–537
- 48 Zhu W, Chen W, Zou D, et al. Thalidomide reduces hemorrhage of brain arteriovenous malformations in a mouse model. *Stroke*, 2018, 49: 1232–1240
- 49 Thalgott J H, Dos-Santos-Luis D, Hosman A E, et al. Decreased expression of vascular endothelial growth factor receptor 1 contributes to the pathogenesis of hereditary hemorrhagic telangiectasia type 2. *Circulation*, 2018, 138: 2698–2712
- 50 Ruiz S, Zhao H, Chandakkar P, et al. A mouse model of hereditary hemorrhagic telangiectasia generated by transmammary-delivered immunoblocking of *BMP9* and *BMP10*. *Sci Rep*, 2016, 6: 37366
- 51 Zhou Z, Tang A T, Wong W Y, et al. Cerebral cavernous malformations arise from endothelial gain of *MEKK3-KLF2/4* signalling. *Nature*, 2016, 532: 122–126
- 52 Cuttano R, Rudini N, Bravi L, et al. *KLF4* is a key determinant in the development and progression of cerebral cavernous malformations. *EMBO Mol Med*, 2016, 8: 6–24
- 53 Fisher O S, Deng H, Liu D, et al. Structure and vascular function of *MEKK3-cerebral cavernous malformations 2* complex. *Nat Commun*, 2015, 6: 7937
- 54 Nation D A, Sweeney M D, Montagne A, et al. Blood-brain barrier breakdown is an early biomarker of human cognitive dysfunction. *Nat Med*, 2019, 25: 270–276
- 55 Cortes-Canteli M, Iadecola C. Alzheimer’s disease and vascular aging: *JACC* focus seminar. *J Am Coll Cardiol*, 2020, 75: 942–951
- 56 Iturria-Medina Y, Sotero R C, Toussaint P J, et al. Early role of vascular dysregulation on late-onset Alzheimer’s disease based on multifactorial data-driven analysis. *Nat Commun*, 2016, 7: 11934
- 57 Nowotny K, Schröter D, Schreiner M, et al. Dietary advanced glycation end products and their relevance for human health. *Ageing Res Rev*, 2018, 47: 55–66
- 58 Park L, Uekawa K, Garcia-Bonilla L, et al. Brain perivascular macrophages initiate the neurovascular dysfunction of Alzheimer A β peptides. *Circ Res*, 2017, 121: 258–269
- 59 Cruz Hernández J C, Bracko O, Kersbergen C J, et al. Neutrophil adhesion in brain capillaries reduces cortical blood flow and impairs memory function in Alzheimer’s disease mouse models. *Nat Neurosci*, 2019, 22: 413–420
- 60 Østergaard L. Blood flow, capillary transit times, and tissue oxygenation: the centennial of capillary recruitment. *J Appl Physiol*, 2020, 129:

- 1413–1421
- 61 Park L, Hochrainer K, Hattori Y, et al. Tau induces PSD95-neuronal NOS uncoupling and neurovascular dysfunction independent of neurodegeneration. *Nat Neurosci*, 2020, 23: 1079–1089
- 62 Fish P V, Steadman D, Bayle E D, et al. New approaches for the treatment of Alzheimer's disease. *BioOrg Medicinal Chem Lett*, 2019, 29: 125–133
- 63 Xu J, Shi H P. Nutritional interventions for brain health in patients with Alzheimer's disease: an expert consensus (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2021, 51: 1762–1788 [徐俊, 石汉平. 阿尔茨海默病脑健康营养干预专家共识. 中国科学: 生命科学, 2021, 51: 1762–1788]
- 64 Singh C S B, Choi K B, Munro L, et al. Reversing pathology in a preclinical model of Alzheimer's disease by hacking cerebrovascular neoangiogenesis with advanced cancer therapeutics. *Ebiomedicine*, 2021, 71: 103503
- 65 Mai J W, Zhang J X, Dou F. Treatment of Alzheimer's disease by promoting the aggregation of small β -amyloid peptides (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2022, 52: 1184–1191 [麦季玮, 张健翔, 窦非. 促进 β -淀粉样肽聚集为目标的阿尔茨海默病治疗新策略探讨. 中国科学: 生命科学, 2022, 52: 1184–1191]
- 66 Poewe W, Seppi K, Tanner C M, et al. Parkinson disease. *Nat Rev Dis Primers*, 2017, 3: 17013
- 67 Kaushik S, Cuervo A M. Proteostasis and aging. *Nat Med*, 2015, 21: 1406–1415
- 68 Janelidze S, Lindqvist D, Francardo V, et al. Increased CSF biomarkers of angiogenesis in Parkinson disease. *Neurology*, 2015, 85: 1834–1842
- 69 Pienaar I S, Lee C H, Elson J L, et al. Deep-brain stimulation associates with improved microvascular integrity in the subthalamic nucleus in Parkinson's disease. *Neurobiol Dis*, 2015, 74: 392–405
- 70 Gondard E, Chau H N, Mann A, et al. Rapid modulation of protein expression in the rat hippocampus following deep brain stimulation of the fornix. *Brain Stimul*, 2015, 8: 1058–1064
- 71 Narasimhan M, Schwartz R, Halliday G. Parkinsonism and cerebrovascular disease. *J Neurol Sci*, 2022, 433: 120011
- 72 Chen T, Li C, Li Y, et al. Small-sized mPEG-PLGA nanoparticles of schisantherin a with sustained release for enhanced brain uptake and anti-Parkinsonian activity. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2017, 9: 9516–9527
- 73 Stoker T B, Mason S L, Greenland J C, et al. Huntington's disease: diagnosis and management. *Pract Neurol*, 2022, 22: 32–41
- 74 Leavitt B R, Kordasiewicz H B, Schobel S A. Huntingtin-lowering therapies for Huntington disease: a review of the evidence of potential benefits and risks. *JAMA Neurol*, 2020, 77: 764–772
- 75 Drouin-Ouellet J, Sawiak S J, Cisbani G, et al. Cerebrovascular and blood-brain barrier impairments in Huntington's disease: potential implications for its pathophysiology. *Ann Neurol*, 2015, 78: 160–177
- 76 Tabrizi S J, Estevez-Fraga C, van Roon-Mom W M C, et al. Potential disease-modifying therapies for Huntington's disease: lessons learned and future opportunities. *Lancet Neurol*, 2022, 21: 645–658
- 77 Brandebura A N, Paumier A, Onur T S, et al. Astrocyte contribution to dysfunction, risk and progression in neurodegenerative disorders. *Nat Rev Neurosci*, 2023, 24: 23–39
- 78 Hsiao H Y, Chen Y C, Huang C H, et al. Aberrant astrocytes impair vascular reactivity in Huntington disease. *Ann Neurol*, 2015, 78: 178–192
- 79 Lim R G, Quan C, Reyes-Ortiz A M, et al. Huntington's disease iPSC-derived brain microvascular endothelial cells reveal WNT-mediated angiogenic and blood-brain barrier deficits. *Cell Rep*, 2017, 19: 1365–1377
- 80 Zeitler B, Froelich S, Marlen K, et al. Allele-selective transcriptional repression of mutant HTT for the treatment of Huntington's disease. *Nat Med*, 2019, 25: 1131–1142
- 81 Semple B D, Blomgren K, Gimlin K, et al. Brain development in rodents and humans: identifying benchmarks of maturation and vulnerability to injury across species. *Prog Neurobiol*, 2013, 106–107: 1–16
- 82 Huo R, Yang Y, Sun Y, et al. Endothelial hyperactivation of mutant *MAP3K3* induces cerebral cavernous malformation enhanced by *PIK3CA* GOF mutation. *Angiogenesis*, 2023, 26: 295–312
- 83 Poh L, Fann D Y, Wong P, et al. AIM2 inflammasome mediates hallmark neuropathological alterations and cognitive impairment in a mouse model of vascular dementia. *Mol Psychiatry*, 2021, 26: 4544–4560
- 84 Poh L, Razak S M B A, Lim H M, et al. AIM2 inflammasome mediates apoptotic and pyroptotic death in the cerebellum following chronic hypoperfusion. *Exp Neurol*, 2021, 346: 113856
- 85 Chico T J A, Kugler E C. Cerebrovascular development: mechanisms and experimental approaches. *Cell Mol Life Sci*, 2021, 78: 4377–4398
- 86 Li Y, Wang C, Zhang L, et al. Claudin-5a is essential for the functional formation of both zebrafish blood-brain barrier and blood-cerebrospinal

- fluid barrier. [Fluids Barriers CNS](#), 2022, 19: 40
- 87 Zhang T, Xu Z, Wen L, et al. Cadmium-induced dysfunction of the blood-brain barrier depends on ROS-mediated inhibition of PTPase activity in zebrafish. [J Hazard Mater](#), 2021, 412: 125198
- 88 Yang Z, Lin P, Chen B, et al. Autophagy alleviates hypoxia-induced blood-brain barrier injury via regulation of CLDN5 (claudin 5). [Autophagy](#), 2021, 17: 3048–3067
- 89 Yu P, Li Y, Zhong G, et al. Claudin-5 affects endothelial autophagy in response to early hypoxia. [Front Physiol](#), 2021, 12: 737474
- 90 Barak T, Ristori E, Ercan-Sencicek A G, et al. *PPIL4* is essential for brain angiogenesis and implicated in intracranial aneurysms in humans. [Nat Med](#), 2021, 27: 2165–2175
- 91 Yang R, Zhang Y, Huang D, et al. Miconazole protects blood vessels from MMP9-dependent rupture and hemorrhage. [Dis Model Mech](#), 2017, 10: 337–348
- 92 Bell A, Watt A P, Dudink I, et al. Endothelial colony forming cell administration promotes neurovascular unit development in growth restricted and appropriately grown fetal lambs. [Stem Cell Res Ther](#), 2023, 14: 29
- 93 Chand K K, Miller S M, Cowin G J, et al. Neurovascular unit alterations in the growth-restricted newborn are improved following ibuprofen treatment. [Mol Neurobiol](#), 2022, 59: 1018–1040
- 94 Tsuji K, Nakamura S, Aoki T, et al. The cerebral artery in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). [Exp Anim](#), 2022, 71: 391–398
- 95 Zhang P, Chen J S, Li Q Y, et al. Neuroprotectants attenuate hypobaric hypoxia-induced brain injuries in cynomolgus monkeys. [Zool Res](#), 2020, 41: 3–19
- 96 Aerts L, Miccoli B, Delahanty A, et al. Do we still need animals? Surveying the role of animal-free models in Alzheimer's and Parkinson's disease research. [EMBO J](#), 2022, 41: e110002
- 97 Lancaster M A, Renner M, Martin C A, et al. Cerebral organoids model human brain development and microcephaly. [Nature](#), 2013, 501: 373–379
- 98 Giandomenico S L, Lancaster M A. Probing human brain evolution and development in organoids. [Curr Opin Cell Biol](#), 2017, 44: 36–43
- 99 Yin X, Mead B E, Safaei H, et al. Engineering stem cell organoids. [Cell Stem Cell](#), 2016, 18: 25–38
- 100 Mansour A A F, Gonçalves J T, Bloyd C W, et al. An *in vivo* model of functional and vascularized human brain organoids. [Nat Biotechnol](#), 2018, 36: 432–441
- 101 Cho A N, Jin Y, An Y, et al. Microfluidic device with brain extracellular matrix promotes structural and functional maturation of human brain organoids. [Nat Commun](#), 2021, 12: 4730
- 102 Sun X Y, Ju X C, Li Y, et al. Generation of vascularized brain organoids to study neurovascular interactions. [eLife](#), 2022, 11: e76707
- 103 Pellegrini L, Bonfio C, Chadwick J, et al. Human CNS barrier-forming organoids with cerebrospinal fluid production. [Science](#), 2020, 369: eaaz5626
- 104 Lu X, Yang J, Xiang Y. Modeling human neurodevelopmental diseases with brain organoids. [Cell Regen](#), 2022, 11: 1
- 105 Song E, Zhang C, Israelow B, et al. Neuroinvasion of SARS-CoV-2 in human and mouse brain. [J Exp Med](#), 2021, 218: e20202135
- 106 Silva-Pedrosa R, Campos J, Fernandes A M, et al. Cerebral malaria model applying human brain organoids. [Cells](#), 2023, 12: 984
- 107 Wang S N, Wang Z, Xu T Y, et al. Cerebral organoids repair ischemic stroke brain injury. [Transl Stroke Res](#), 2020, 11: 983–1000

The development of cerebral vasculature and related diseases

MA JunChi¹, MIN XiaoLi², WU Mei¹ & ZHANG JingJing¹

1 Affiliated Hospital of Guangdong Medical University & Zhanjiang Key Laboratory of Zebrafish Model for Development and Disease, Zhanjiang 524001, China;

2 Department of Neurology, Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650106, China

The maintenance of normal brain development and function is attributed to the unique anatomical structure, physiological function, and homeostasis maintenance mechanism of the cerebral vascular network. This network is regulated by various molecules, such as VEGF, NRP1, and TGF- β . Cerebrovascular diseases and neurodegenerative diseases (e.g., cerebral arteriovenous malformation and Alzheimer's disease) can occur due to abnormal or impaired cerebrovascular development. The understanding of these diseases has improved in the past decades, but their pathogenesis remains unclear, therefore safer and more effective treatment strategies for these diseases are urgent to be developed. Animal models have become a crucial tool for exploring the pathogenesis and physiological characteristics of central nervous system diseases. This review focuses on the latest progress on cerebrovascular development and its regulation mechanism, cerebrovascular diseases, and cerebrovascular diseases models, which will provide valuable reference for basic and clinical research involving cerebrovascular diseases.

cerebrovascular development, molecular regulation, cerebral arteriovenous malformation, Alzheimer's disease, cerebrovascular disease model

doi: [10.1360/SSV-2023-0092](https://doi.org/10.1360/SSV-2023-0092)



张晶晶, 广东医科大学附属医院教授, 博士生导师. 曾获国家自然科学基金优秀青年科学基金、广东省杰出青年科学基金、科技部“发育编程与代谢调控”重点研发项目等资助. 主要利用斑马鱼和小鼠等模式动物, 开展血脑屏障的发育调控及脑血管类疾病致病机理的研究. 近年来以通讯作者或共同通讯作者在*Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *The EMBO Journal*, *Autophagy*等期刊发表多篇原创性论文, 揭示了周细胞与内皮细胞等神经血管单元互作在血脑屏障发育中的重要作用、自噬在中枢神经系统疾病血脑屏障损伤中的保护机理等. 目前兼任中国动物学会斑马鱼分会常务委员、中国细胞生物学学会发育生物学分会委员、中国生理学会转化神经科学专业委员会委员等.