脑科学与神经精神系统疾病前沿 DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.004050

甲状腺激素受体相互作用蛋白6参与抑郁症进展中BMVECs功能和血脑屏障功能紊乱调控的探究

余寿芬，李小飒，王 蓉，刘军昌
（空军军医大学西京医院心身科，西安 710032）

【摘 要】目的：探讨甲状腺激素受体相互作用蛋白6（thyroid hormone receptor interactor 6，TRIP6）在重症抑郁症（major depressive disorder，MDD）进展过程中的调控作用和机制。**方法：**将20只小鼠随机分为2组：对照组和慢性不可预知应激（chronic unpredictable mild stress，CUMS）组，每组10只。模型组使用CUMS方法构建MDD小鼠模型，随后进行行为学实验。取出各组小鼠的脑组织，通过分离培养得到原代脑微血管内皮细胞（brain microvascular endothelial cells，BMVECs），之后使用脂多糖（lipopolysaccharide，LPS）诱导BMVECs作为体外MDD模型。通过实时荧光定量聚合酶链式反应（quantitative real-time polymerase chain reaction，qRT-PCR）和蛋白免疫印迹法检测TRIP6在小鼠脑组织以及LPS诱导的BMVECs中的表达。四唑盐比色法（methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide，MTT）实验和流式细胞术分别检测LPS诱导的BMVECs的活力和凋亡。随后，使用Transwell小室构建了血脑屏障（blood-brain barrier，BBB）体外共培养模型，分析BBB共培养系统中的BBB渗透性、跨内皮电阻（transendothelial electrical resistance，TEER）以及BMVECs紧密连接蛋白的表达。**结果：**强迫游泳实验（forced swim test，FST）和悬尾实验（tail suspension test，TST）结果表明，CUMS组小鼠的静止时间（TST和FST）均明显高于对照组（$P<0.05$）；CUMS组小鼠的蔗糖偏好、中心区域停留时间则明显低于对照组（$P<0.05$），而2组间小鼠的总体运动距离差异无统计学意义（$P>0.05$）。进一步研究表明TRIP6在MDD小鼠脑组织和BMVECs中的表达明显降低（$P<0.05$）。此外，TRIP6过表达提高LPS诱导的BMVECs的细胞活力和迁移并抑制细胞凋亡（$P<0.05$）。同时，过表达TRIP6降低了BBB渗透性，并提高BBB系统的TEER跨膜电阻并促进闭合蛋白（occludin，OCLN）、靠停蛋白5（claudin5，CLDN5）、紧密连接蛋白-1（zonula occludens-1，ZO-1）的表达（$P<0.05$）。**结论：**过表达TRIP6缓解了LPS诱导的BMVECs细胞功能损伤，并降低了BBB的渗透性，改善了紧密连接能力，说明TRIP6是调控MDD病理进程中BBB稳定性的关键调节因子。

【关键词】甲状腺激素受体相互作用蛋白6；抑郁症；血脑屏障；脑微血管内皮细胞
【中图分类号】R749 **【文献标志码】**A

Role of TRIP6 in the progression of depression: regulating the function of brain microvascular endothelial cells and blood-brain barrier dysfunction

Yu Shoufen, Li Xiaosa, Wang Rong, Liu Junchang
(*Department of Psychiatry, Xijing Hospital of Air Force Military Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To explore the role of thyroid hormone receptor interactor 6 (TRIP6) in the progression of major depressive disorder (MDD) and the underlying mechanisms. ***Methods*:** Twenty mice were randomly divided into control group and model group, with 10 mice in each group. In the model group, a mouse MDD model was prepared using the chronic unpredictable mild stress method, followed by behavioral experiments for verification. The brain tissue of each mouse was obtained to isolate and culture primary brain microvascular endothelial cells (BMVECs). An *in vitro* MDD model was established using lipopolysaccharide (LPS)-induced BMVECs. The expression of TRIP6 in mouse brain tissue and LPS-induced BMVECs was measured by quantitative real-time PCR and Western blot. The viability and apoptosis of LPS-induced BMVECs were assessed by MTT assay and flow cytometry, respectively. Subsequently, an *in vitro* co-culture-based blood-brain barrier (BBB) model was constructed using Transwell chambers. The permeability, transepithelial-transendothelial electrical resistance (TEER), and expression of tight junction proteins of the BBB system were measured. ***Results*:** In both the forced swim test and tail suspension test, the resting time was significantly longer in the model group than in the control group ($P<0.05$). The model group showed a significantly lower sucrose preference level and a significantly shorter time spent

作者介绍：余寿芬，Email：sfenysf@126.com，
研究方向：精神病学机制研究、精神病学神经递质、精神疾病的临床研究、物理治疗。
通信作者：刘军昌，Email：singcjljc@126.com。
优先出版：https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20260226.1140.008（2026-02-26）

in the central zone than the control group（$P<0.05$），with no significant difference in the total distance traveled between the two groups（$P>0.05$）. The expression of TRIP6 was significantly reduced in the brain tissue and BMVECs of MDD mice（$P<0.05$）. TRIP6 overexpression significantly increased the viability and migration and inhibited the apoptosis of LPS-induced BMVECs（$P<0.05$）. Meanwhile，for the BBB system，overexpressing TRIP6 significantly reduced its permeability，significantly increased TEER，and significantly upregulated the expression of tight junction proteins including occludin，claudin5，and zonula occludens-1（$P<0.05$）. ***Conclusion***：TRIP6 overexpression alleviates the functional damage of LPS-induced BMVECs，reduces the permeability of BBB，and improves the tight junction of BBB，indicating that TRIP6 is a key regulatory factor for BBB stability in the pathological process of MDD.

【Key words】thyroid hormone receptor interactor 6；depression；blood-brain barrier；brain microvascular endothelial cells

重度抑郁症（major depressive disorder，MDD）是由于患者个体遗传因素存在异常，或后天环境的巨变所引起的一种情绪性功能障碍，主要症状以持久自发性的情绪低落为主[1]。研究发现精神疾病和神经炎症之间具有相关性。有报道称炎症因子水平的升高在应激反应和抑郁障碍中起重要作用，特别是与抑郁共病的身体障碍[2]。研究认为，神经组织中不同类型的细胞间相互作用异常对抑郁症的发生发展具有关键的影响。

血脑屏障（blood-brain barrier，BBB）是保护大脑的重要结构，主要功能是保护中枢神经系统免受有害物质的侵害，并维持脑内环境的稳定状态[3]。BBB功能障碍与多种神经系统疾病有关，包括阿尔茨海默病、帕金森病、亨廷顿病、肌萎缩侧索硬化症等[4]。现有的证据表明神经系统疾病可能存在一种常见的BBB破坏机制（如神经炎症）。由此可见，维持BBB的完整性对抑郁症的治疗具有重要意义[5]。

甲状腺激素受体相互作用蛋白6（thyroid hormone receptor interactor 6，TRIP6）是LIM结构域斑联蛋白家族的成员之一，是一种局灶性黏附蛋白。TRIP6在癌症疾病中被研究，可作为一个关键的致癌因子参与肿瘤的生长和发展[6]。此外，研究发现TRIP6与神经调节密切相关：TRIP6调节出生后哺乳动物脑室下区神经干细胞的维持，在神经系统的生理进展和功能维持中具有潜在的调控作用[7]。然而，目前TRIP6在抑郁症病理过程中的表达及作用仍需要进一步探究。

本研究的目的是探究TRIP6在抑郁症病理过程中的异常表达及其对脑微血管内皮细胞（brain microvascular endothelial cells，BMVECs）功能的调控作用，同时分析其与BBB紧密连接性的调控关系，以期为抑郁症的病理发展、治疗提供理论基础和可用的生物治疗靶点。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 本研究从武汉云克隆动物有限公司购置20只6~7周龄C57BL/6小鼠，在温度（22±1）℃、相对湿度55%~65%的环境中饲养。所有小鼠均自由摄食饮水，昼夜采用12 h/12 h光暗循环。实验方案经空军军医大学第一附属医院动物伦理委员会批准（编号：251530）。

1.1.2 主要试剂 pcDNA3.1-TRIP6过表达质粒及空载质粒（上海吉玛制药技术有限公司）；胰蛋白酶-EDTA消化液（美国赛默飞世尔科技公司）；磷酸盐缓冲盐溶液（phosphate buffered saline，PBS）（北京索莱宝科技有限公司）；ECL化学发光检测试剂盒（上海碧云天生物技术有限公司）；trizol试剂（美国赛默飞世尔科技公司）；RevertAid First Strand cDNA Synthesis试剂盒（美国赛默飞世尔科技公司，）；放射免疫沉淀试验（radio immunoprecipitation assay，RIPA）裂解液、二喹啉甲酸测定法（bicinchoninic acid assay，BCA）蛋白浓度测定试剂盒、脱脂奶粉和十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳（sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis，SDS-PAGE）凝胶超快速配制试剂盒（上海碧云天生物技术有限公司）；四唑盐比色法（methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide，MTT）（上海碧云天生物技术有限公司）；TRIP6抗体、细胞间黏附分子-1（intercellular cell adhesion molecule-1，ICAM-1）抗体、血管内皮生长因子（Avascular endothelial growth factor A，VEGFA）抗体、脑源性神经营养因子（brain-derived neurotrophin factor，BDNF）抗体、闭合蛋白（occludin，OCLN）抗体、紧密连接蛋白5（claudin5，CLDN5）抗体、紧密连接蛋白-1（zonula occludens-1，ZO-1）抗体和甘油醛-3-磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase，GAPDH）抗体（美国艾博抗公司）；酶联免疫吸附试验（enzyme-linked immunosorbent assay，ELISA）试剂盒（武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司）。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及处理 将小鼠随机分为2组：对照组和慢性不可预知应激（chronic unpredictable mild stress，CUMS）组。CUMS组采用前人的构建CUMS法建立MDD小鼠模型[8]，具体操作如下：小鼠每天暴露于2种随机压力源，包括24 h的食物剥夺、24 h的水分剥夺、12 h的湿垫、30°的笼子倾斜24 h、6 h的身体限制、在4 ℃水中强迫游泳2 min、120 r/min水平摇晃30 min或过夜光照，持续2周。对照组小鼠则在标准条件下饲养。

1.2.2 BMVECs的分离及培养 于无菌环境下分离各组小鼠脑组织并切成小块。加入胰蛋白酶消化液后放入37 ℃的水浴锅中消化15 min，随后加入完全培养基终止消化，用细胞网过滤得到单细胞悬液。将得到的原代BMVECs继续培养，之后使用脂多糖（lipopolysaccharide，LPS）（100 ng/mL）诱导正常的BMVECs作为体外MDD细胞损伤模型[9]。为了进一步探究TRIP6对BMVECs细胞功能的影响，将细胞分为以下4组：对照组、LPS处理组、LPS+pcDNA3.1空载质粒转染组（LPS+pc-NC）及LPS+pcDNA3.1-TRIP6过表达质粒转染组（LPS+pc-TRIP6）。各组均基于经LPS刺激的BMVECs进行相应质粒转染处理。

1.2.3 强迫游泳实验（forced swim test，FST） 将小鼠放入1个直径20 cm、高度40 cm的透明丙烯酸圆柱体中，在19 cm深的地方装满水，持续6.5 min。水温保持在22 ℃。最后，分析5 min内不动的总持续时间。

1.2.4 悬尾实验（tail suspension test，TST） 用胶带悬挂小鼠尾巴，用Smart 3.0视频记录系统记录其表现6.5 min。分析小鼠在测试最后5 min的总静止时间。

1.2.5 实时荧光定量聚合酶链式反应（quantitative real-time polymerase chain reaction，qRT-PCR） 细胞转染24 h后，提取总RNA，反转录得到cDNA，以cDNA为模板，采用RT-PCR法检测待测基因的mRNA相对表达量。从仪器软件中输出Ct值，采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$计算相对表达量。

1.2.6 蛋白免疫印迹（Western blot） 收集各组细胞，用细胞裂解液裂解细胞，12 000 ×*g* 4 ℃离心15 min，收集上清。用BCA试剂盒测定提取蛋白浓度，取50 μg蛋白进行SDS-PAGE电泳分离，将分离的蛋白电转移至聚偏二氟乙烯膜（polyvinylidene difluoride membrane，PVDF）上。在抗体孵育盒中加3 mL的5%脱脂奶粉封闭液，在室温条件下于摇床上封闭1 h，Tris缓冲盐溶液（tris-buffered saline，TBS）溶液清洗膜3次，每次10 min；分别加入TRIP6、ICAM-1、VEGFA、BDNF、Occludin、Claudin5和ZO-1的一抗（1∶1 000），4 ℃孵育过夜，回收一抗，TBS溶液清洗膜3次，每次10 min；加入二抗（1∶2 000），室温孵育1 h。最后，取适量发光液（A和B液等体积混匀），孵育膜3 min，凝胶成像系统中曝光，Quantity-One软件分析蛋白含量，以GAPDH作为内参。

1.2.7 四唑盐比色法（methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide，MTT） 胰蛋白酶消化处于对数生长期的细胞，制成细胞悬浮液。随后，细胞悬浮液以2×10⁴个/孔的密度均匀分布在96孔板中。孵育72 h后，向每个孔中加入20 μL MTT。最后，每24 h测量1次490 nm处的吸光度，直至96 h。

1.2.8 细胞凋亡实验 将收集到的各组细胞用磷酸缓冲盐溶液（phosphate-buffered saline，PBS）冲洗2次，随后1 000 r/min离心5 min，吸除PBS缓冲液。加入195 μL异硫氰酸荧光素标记的膜联蛋白V（annexin V-fluorescein isothiocyanate conjugate，Annexin V-FITC）结合液重悬细胞，接着加入5 μL的Annexin V-FITC和10 μL碘化丙啶染色液，轻轻混匀，在室温下避光反应15 min，用流式细胞仪检测细胞凋亡率。

1.2.9 划痕实验 将细胞以1×10⁴个/孔的密度接种在12孔板中，于37 ℃，5% CO_2培养箱中培养24 h，吸去上清液；将培养好的细胞接种于6孔板，1×10⁵个/孔（预先在板的背面用记号笔划5~6道平行的横线），37 ℃ 5% CO_2培养箱24 h；待细胞到指数生长期，此刻应该覆盖90%，利用刮子划痕，与预先的横线要垂直，并用PBS洗细胞3次，去除划下的细胞，加入无血清培养基；37 ℃ 5% CO_2培养箱培养，分别于0、6、12 h及24 h时间点取样并进行图像采集。

1.2.10 跨内皮电阻（transendothelial electrical resistance，TEER） 将待测细胞以1×10⁵个/孔的密度接种于96孔板中，于37 ℃，体积分数5% CO_2培养箱中培养24 h。取出准备好的电极，将电极插入培养皿中并连接到切换装置上。启动细胞跨膜电阻仪，并按照设备说明进行电极校正和电流校正操作。

1.2.11 白蛋白含量的测定 提取液体积（mL）为1∶5~1∶10的比例加入提取液（建议称取0.1 g样本，加入1.0 mL提取液），冰浴匀浆后，于4 ℃，8 000×*g*，离心10 min，弃沉淀，取上清液置于冰上待测。酶标仪预热30 min以上，调节波长至630 nm，可见分光光度计蒸馏水调零。

1.2.12 BBB渗透性的测定 小鼠腹腔注射10 mg荧光素钠或异硫氰酸荧光素-葡聚糖（40 kDa）。然后用戊巴比妥钠麻醉小鼠，收集血清。随后，用0.9%生理盐水经心灌注小鼠，分离海马体，称重并均质化。匀浆用2%三氯乙酸按1∶1的比例稀释，在4 ℃下孵育过夜，以3 000 r/min离心10 min。然后用0.05 mol/L硼酸盐缓冲液按1∶1的比率稀释上清液。最后，将标准品和样品加入96孔板中，使用微孔板读数器测量荧光强度。BBB通透性计算为脑区与血清荧光强度的比值，并表示为与对照组小鼠的通透性相比的倍数增加。

1.3 统计学方法

本研究的统计分析及图表绘制均采用GraphPad Prism 9软件（GraphPad Software，USA）完成。计量资料经Shapiro-Wilk检验证实符合正态分布，以均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示。2组之间的比较采用独立样本*t*检验；单因素方差分析用于比较多组实验结果。每项实验均进行3次重复实验，检验水准α=0.05。

2 结 果

2.1 构建MDD小鼠模型

本研究使用CUMS方法构建MDD小鼠模型，随后进行行为学实验。结果表明，CUMS组小鼠的静止时间（TST和FST）均显著高于对照组（TST：t=14.207，P<0.001；FST：t=14.207，P<0.001；图1A和1E）；CUMS组小鼠的蔗糖偏好（t=14.981，P<0.001；图1B）中心区域停留时间则显著低于对照组（t=24.844，P<0.001；图1C）；而2组小鼠的总体运动距离未存在明显差异（t=0.354，P=0.728；图1D）。总的来说，CUMS引起了小鼠行为认知能力异常，而未影响其基本运动能力。以上结果说明，MDD小鼠模型构建成功。

2.2 TRIP6在MDD小鼠组织和BMVECs中的表达显著降低

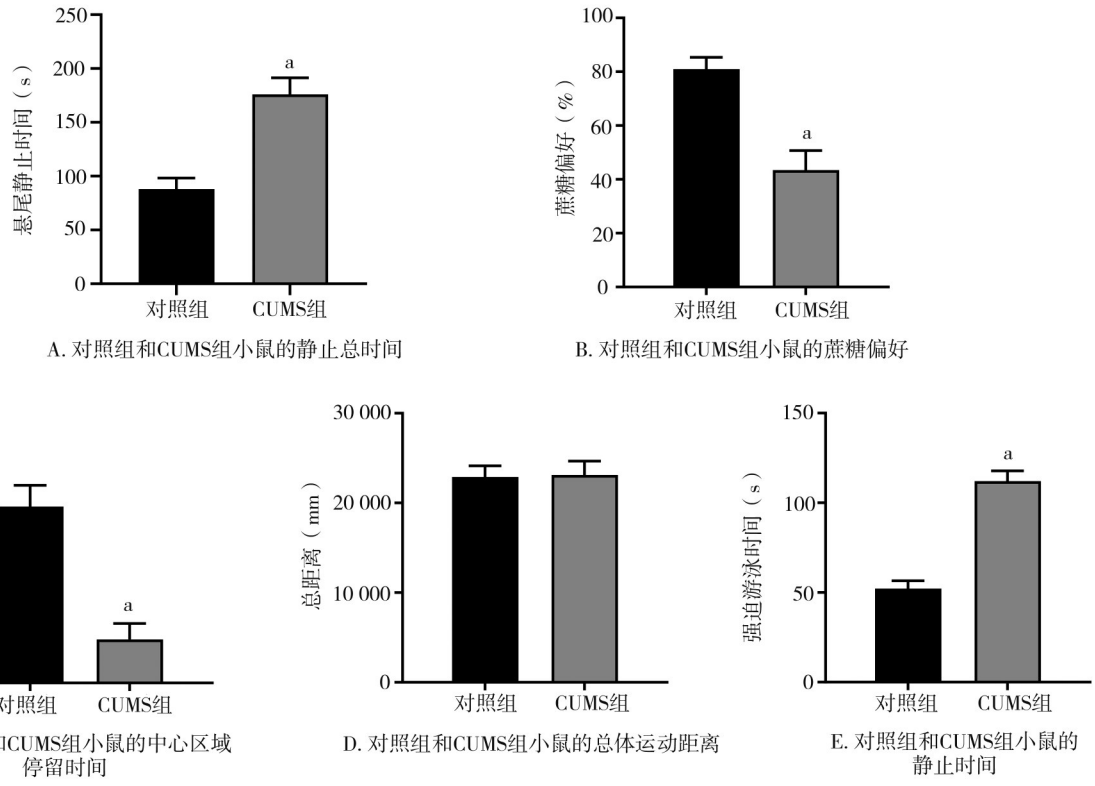
接下来，取出小鼠的脑组织，分离培养得到原代BMVECs，之后使用LPS诱导正常的BMVECs。实时荧光定量PCR及蛋白免疫印迹检测结果显示，CUMS组小鼠脑组织中TRIP6的表达水平显著低于对照组（mRNA：t=17.294，P<0.001；蛋白：t=10.140，P<0.001；图2A、B）。此外，与对照组相比，BMVECs中TRIP6的mRNA和蛋白水平表达在CUMS组显著下调（mRNA：t=14.284，P<0.001；蛋白：t=6.146，P=0.004；图2C、D）。同时，与对照组相比，LPS处理显著抑制了BMVECs中TRIP6的表达（mRNA：t=12.559，P<0.001；蛋白：t=6.905，P=0.002；图2E、F）。

2.3 TRIP6显著提高LPS诱导的BMVECs的细胞活力和迁移并抑制细胞凋亡

构建并合成TRIP6的过表达载体质粒并转染进BMVECs中，之后检测各项细胞功能指标。结果显示，与LPS处理组相比，转染pcDNA3.1-TRIP6过表达质粒可显著逆转LPS诱导的TRIP6表达下调（mRNA：F=143.278，P<0.001；蛋白：F=183.100，P<0.001；图3A、B）。与对照组相比，LPS组BMVECs的细胞活力（F=47.747，P<0.001；图3C）和迁移能力（F=105.262，P<0.001；图3E）显著降低，而细胞凋亡水平则明显升高（F=270.948，P<0.001；图3D）。此外，与LPS+pc-NC组相比，LPS+pc-TRIP6组的细胞活力（F=47.747，P=0.006；图3C）和迁移能力（F=105.262，P<0.001；图3E）显著提高，而凋亡水平（F=270.948，P<0.001；图3D）则明显降低。

2.4 TRIP6在影响BBB稳定性中的关键作用

本课题组分析了CUMS组小鼠的BBB渗透性、脑组织白蛋白渗透以及TEER跨膜电阻，以此说明MDD病理进程中的BBB功能异常。结果表明，CUMS组小鼠BBB渗透能力明显高于对照组（t=11.530，P<0.001；图4A），且脑组织中白蛋白渗透显著增多（t=20.190，P<0.001；图4B），而TEER则有所下降（t=8.926，P<0.001；图4C）。随后，使用Transwell小室构建了三重BBB体外共培养模型，LPS诱导



A. 对照组和CUMS组小鼠的静止总时间

B. 对照组和CUMS组小鼠的蔗糖偏好

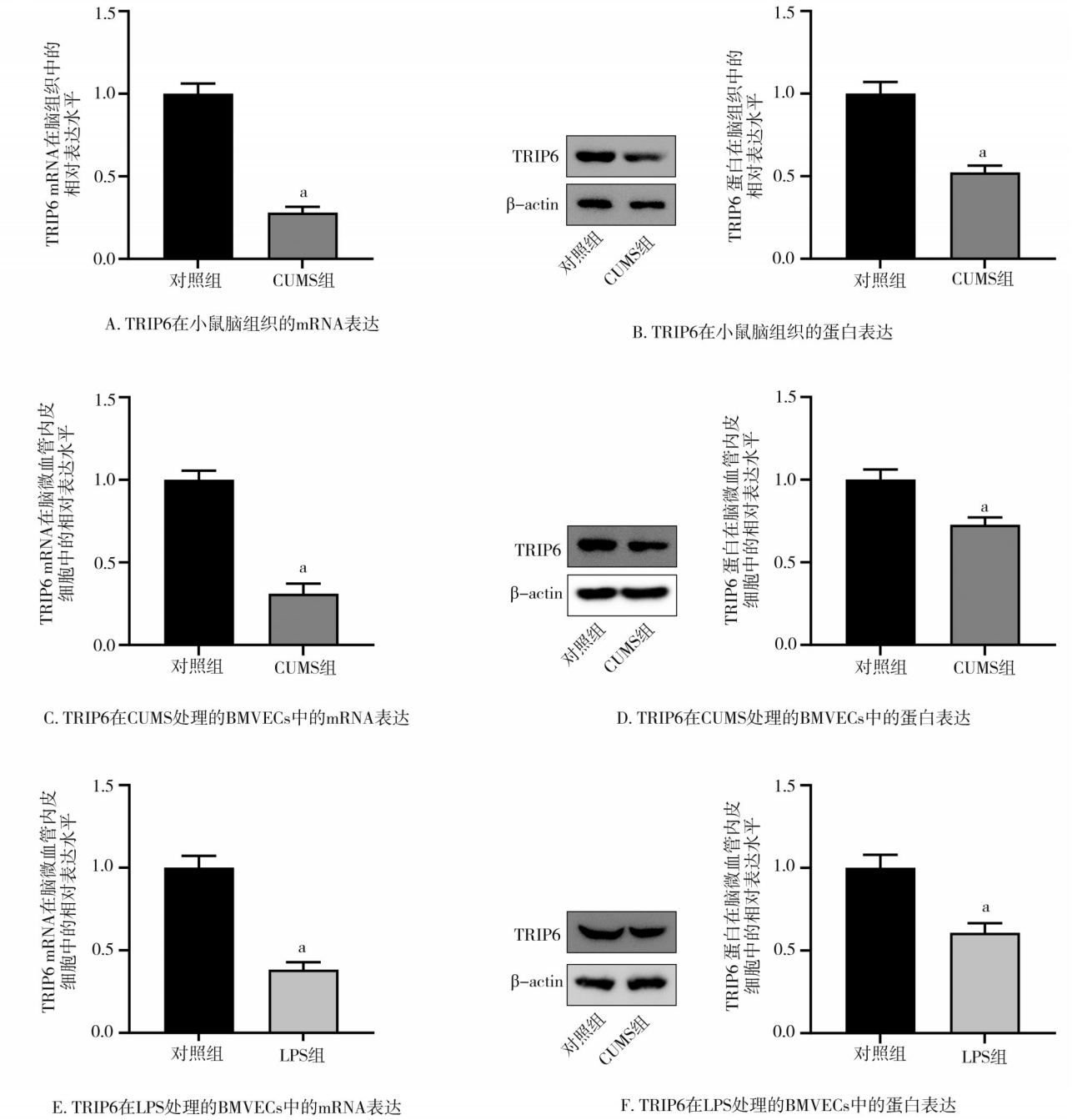
C. 对照组和CUMS组小鼠的中心区域停留时间

D. 对照组和CUMS组小鼠的总体运动距离

E. 对照组和CUMS组小鼠的静止时间

注：a，与对照组比较，P<0.05

图1 对照组和CUMS组小鼠的行为学实验



A. TRIP6在小鼠脑组织的mRNA表达

B. TRIP6在小鼠脑组织的蛋白表达

C. TRIP6在CUMS处理的BMVECs中的mRNA表达

D. TRIP6在CUMS处理的BMVECs中的蛋白表达

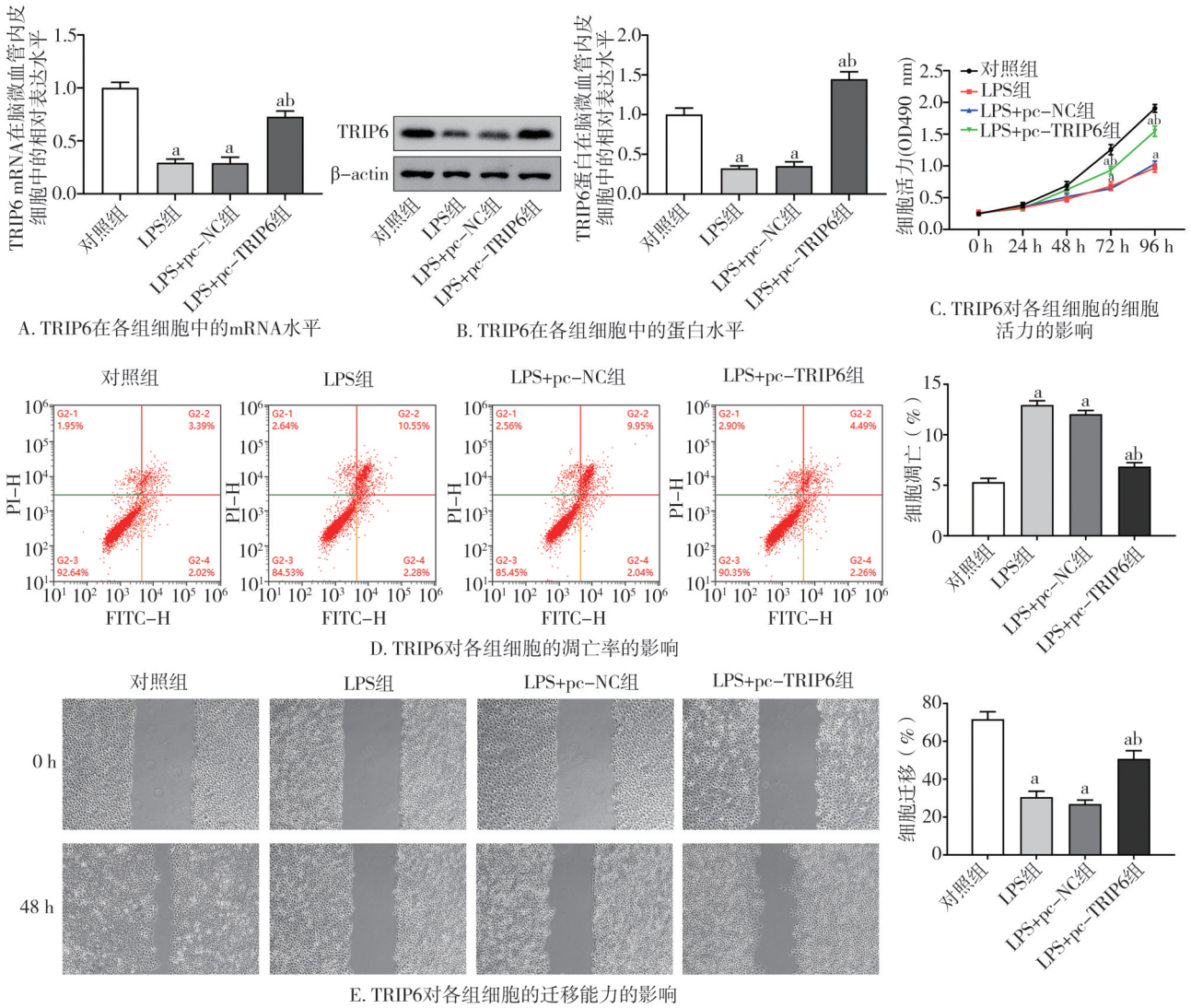
E. TRIP6在LPS处理的BMVECs中的mRNA表达

F. TRIP6在LPS处理的BMVECs中的蛋白表达

注：a，与对照组比较 $P<0.05$

图2　TRIP6在MDD小鼠组织和BMVECs中的表达

的神经元与BMVECs共培养以模拟体外MDD条件（图4D）。结果显示，LPS引起BMVECs中神经功能相关因子（ICAM-1、VEGFA和BDNF）明显下调，而过表达TRIP6逆转了LPS诱导的BMVECs中3种蛋白的表达下调（ICAM-1：$F=10.180$，$P=0.002$；VEGFA：$F=10.180$，$P<0.001$；BNDF：$F=10.180$，$P<0.001$；图4E）。BBB共培养系统的渗透能力在LPS组明显强于对照组（$F=205.609$，$P<0.001$；图4F），而LPS+pc-TRIP6组则明显弱于LPS+pc-NC组（$F=205.609$，$P<0.001$；图4F）。本课题组检测了BBB共培养系统中紧密连接蛋白的表达情况。LPS组Occludin、Claudin5和ZO-1蛋白表达水平均显著低于对照组（Occludin：$F=10.760$，$P=0.010$；Claudin5：$F=10.760$，$P=0.006$；ZO-1：$F=10.760$，$P=0.002$；图4G），而LPS+pc-TRIP6组的Occludin、Claudin5和ZO-1蛋白水平相比于LPS+pc-NC组则显著上调（Occludin：$F=10.760$，$P=0.014$；Claudin5：$F=10.760$，$P=0.008$；ZO-1：$F=10.760$，$P<0.001$；图4G）。LPS同样引起了BBB系统TEER的降低，该现象在BMVECs经过TRIP6过表达后得到了缓解（$F=92.027$，$P<0.001$；图4H）。



A. TRIP6在各组细胞中的mRNA水平　B. TRIP6在各组细胞中的蛋白水平　C. TRIP6对各组细胞的细胞活力的影响

D. TRIP6对各组细胞的凋亡率的影响

E. TRIP6对各组细胞的迁移能力的影响

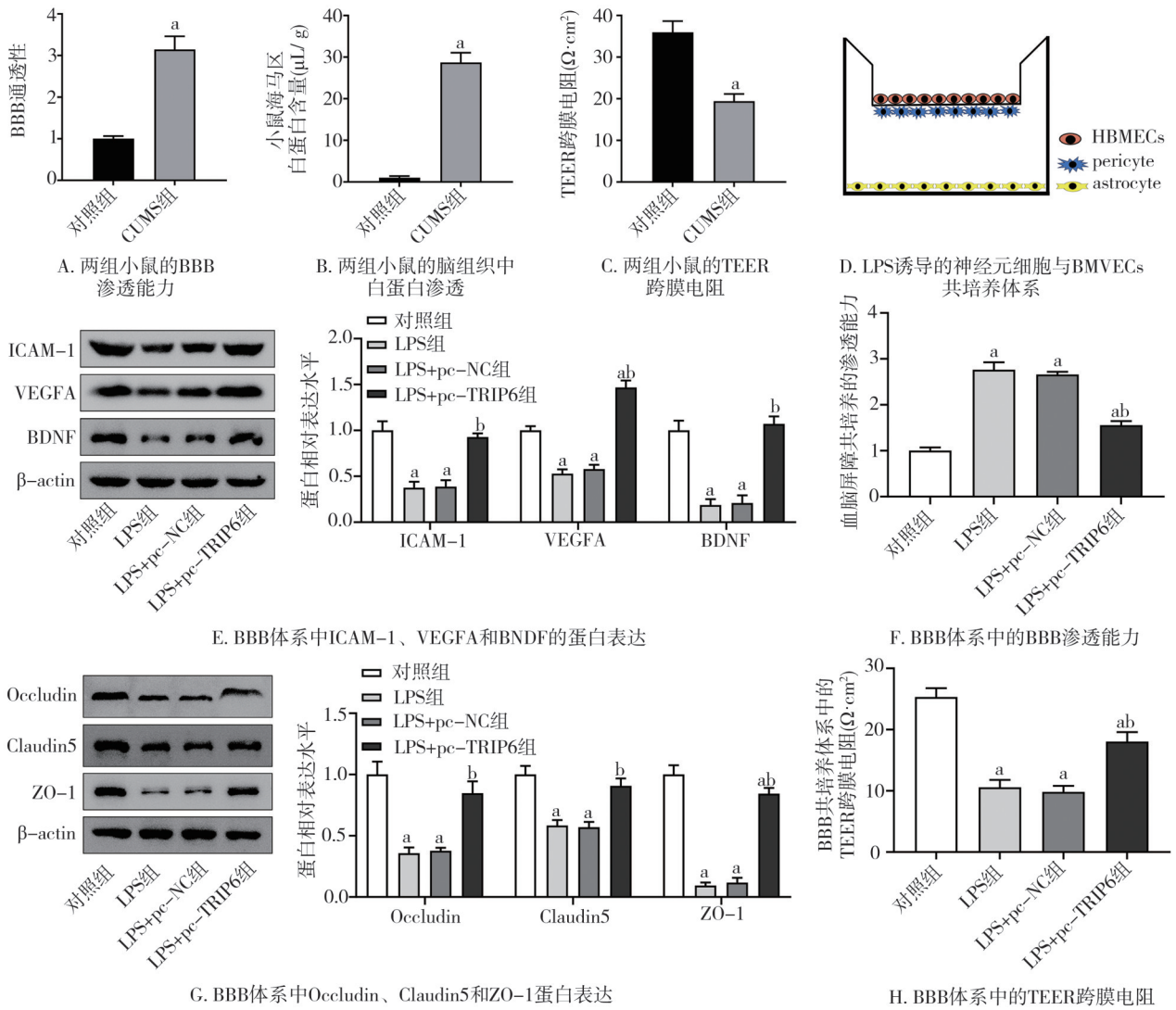
注：a，与对照组比较，$P<0.05$；b，与LPS+pc-NC组比较，$P<0.05$

图3　分析TRIP6调控LPS诱导的BMVECs功能障碍中的关键作用

3　讨　论

病理状态下，BBB结构完整性遭到破坏，导致其通透性增强，有害物质进入大脑引起一系列中枢神经系统疾病[10-11]。研究人员通过对大鼠脑组织内血管内皮细胞培养研究发现，肿瘤坏死因子-α可以引起血管内皮细胞电阻下降，从而导致BBB完整性受损[12]。BBB的破坏或转运系统的改变在许多中枢神经系统疾病[人类免疫缺陷病毒1型（human immunodeficiency virus-1 encephalitis，HIV-1）脑炎、阿尔茨海默病、缺血、肿瘤、多发性硬化症和帕金森病]的发病机制中起重要作用[13]。先前的研究发现，血脑屏障通透性的增加可能是MDD的重要病理机制。目前，研究报道在抑郁症患者脑组织中观察到BBB的破坏，抑郁症、压力和炎症等因素在破坏BBB完整性方面发挥关键作用[14]。当BBB通透性增高时，炎症因子也会或主动或被动地进入中枢，从而导致抑郁症的发生或加重其症状[3]。此外，有报道称，血管内皮生长因子（血管生成和BBB通透性的关键介质）及其受体通过增加BBB通透性来促进抑郁症的进展[15]。本研究结果表明BBB渗透能力明显升高，且脑组织中白蛋白渗透增多，而TEER则有所下降，以此说明MDD病理进程中的BBB功能受损。

BMVECs是构成BBB的重要成分，与其他类型的细胞（如周细胞和星形胶质细胞）紧密协作，



A. 两组小鼠的BBB渗透能力　B. 两组小鼠的脑组织中白蛋白渗透　C. 两组小鼠的TEER跨膜电阻　D. LPS诱导的神经元细胞与BMVECs共培养体系

E. BBB体系中ICAM-1、VEGFA和BNDF的蛋白表达　F. BBB体系中的BBB渗透能力

G. BBB体系中Occludin、Claudin5和ZO-1蛋白表达　H. BBB体系中的TEER跨膜电阻

注：a，与对照组比较，$P<0.05$；b，与LPS+pc-NC组比较，$P<0.05$

图4　TRIP6对LPS诱导的神经元细胞与BMVECs共培养体系中的BBB稳定性的影响

共同维护BBB的完整性[16]。此外，BMVECs分泌的促炎因子和特定疾病相关蛋白介导BBB功能障碍[17]。Cheng ZH等[18]报道，脑缺血再灌注损伤后BMVECs出现功能障碍导致BBB损伤，与炎症有关的神经毒性物质会释放到外周血循环，从而介导外周免疫细胞及促炎细胞因子如肿瘤坏死因子、白细胞介素-1β等过度表达加重脑水肿以及中枢神经系统疾病的发生。此外，Liu QL等[19]发现BMVECs中铁死亡促进缺氧诱导的BBB损伤。本研究结果表明BMVECs的功能异常导致MDD系统中BBB的渗透性增大、紧密连接能力减弱。

在先前的报道中，TRIP6在多种细胞功能中具有重要作用，包括但不限于细胞黏附、细胞迁移和信号转导过程。因此，TRIP6蛋白在介导和调节广泛的细胞活动和过程中起着关键作用[20-21]。不过，在早年的研究中，TRIP6已被发现对神经元细胞中的肌动蛋白组装和重组至关重要。近期的研究表明，TRIP6在小鼠海马神经元中表达并促进树突形态发生，调节F-actin组织[22]。此外，TRIP6在胚胎和成年前脑中由神经干细胞表达，并且是自我更新、增殖和抑制分化所必需的[23]。同时，有研究发现，小鼠TRIP6的缺失揭示了大脑的一种功能：室管膜和脉络丛上皮细胞携带的纤毛出乎意料地更少、更短，分化较差，同时小鼠出现脑积水，这表明TRIP6促进发育中小鼠脑室管膜的分化[24]。以上研究均说明，TRIP6在神经系统的生理进展和功能维持中具有潜在的调控作用，但就目前来看，其在病理条件下的研究十分少见。

本研究结果发现，过表达TRIP6明显改善了BMVECs的细胞功能以及细胞黏附性，并改善了MDD系统中BBB的渗透性和紧密连接能力，由此说明TRIP6是调控MDD病理进程中BBB稳定性和正常功能的关键调节因子。

综上所述，本研究发现在MDD病理进展中，过表达TRIP6明显改善了LPS处理条件下BMVECs的细胞功能以及细胞黏附性，并且缓解MDD系统中BBB的渗透性增大、紧密连接能力减弱。以上结果说明TRIP6是调控MDD病理进程中BBB稳定性和正常功能的关键调节因子。本研究为抑郁症的病理发展提供理论基础和可用的生物治疗靶点。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突

作者贡献声明 余寿芬：研究方案设计、论文撰写；李小飒：实验技术指导、分析数据；王蓉：数据收集、实施研究；刘军昌：研究方案设计、论文修改

参 考 文 献

[1] Trivedi MH. Major depressive disorder in primary care: strategies for identification[J]. J Clin Psychiatry, 2020, 81(2): 265-270.

[2] Ting EY, Yang AC, Tsai SJ. Role of interleukin-6 in depressive disorder[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(6): 2194.

[3] Sun ZW, Wang X, Zhao Y, et al. Blood-brain barrier dysfunction mediated by the EZH2-Claudin-5 axis drives stress-induced TNF-α infiltration and depression-like behaviors[J]. Brain Behav Immun, 2024, 115: 143-156.

[4] Sweeney MD, Sagare AP, Zlokovic BV. Blood-brain barrier breakdown in Alzheimer disease and other neurodegenerative disorders[J]. Nat Rev Neurol, 2018, 14(3): 133-150.

[5] Medina-Rodriguez EM, Beurel E. Blood brain barrier and inflammation in depression[J]. Neurobiol Dis, 2022, 175: 105926.

[6] Gou HY, Wong CC, Chen HR, et al. TRIP6 disrupts tight junctions to promote metastasis and drug resistance and is a therapeutic target in colorectal cancer[J]. Cancer Lett, 2023, 578: 216438.

[7] Lai Y-J, Li M-Y, Yang C-Y, et al. TRIP6 regulates neural stem cell maintenance in the postnatal mammalian subventricular zone[J]. Dev Dyn, 2014, 243(9): 1130-1142.

[8] Wang L, Li X-X, Chen X, et al. Antidepressant-like effects of low- and high-molecular weight FGF-2 on chronic unpredictable mild stress mice[J]. Front Mol Neurosci, 2018, 11: 377.

[9] Wang XY, Liu LL, Zhang L, et al. Circ_0057583 facilitates brain microvascular endothelial cell injury through modulating miR-204-5p/NR4A1 axis[J]. Metab Brain Dis, 2022, 37(2): 501-511.

[10] Cuevas E, Rosas-Hernandez H, Burks SM, et al. Amyloid Beta 25-35 induces blood-brain barrier disruption *in vitro*[J]. Metab Brain Dis, 2019, 34(5): 1365-1374.

[11] 苏钰雯，修建波，许 琪. 血脑屏障体外细胞模型的建立与比较[J]. 基础医学与临床，2022，42(5)：714-720.
Su YW, Xiu JB, Xu Q. Establishment and comparison of *in vitro* blood-brain barrier cell models[J]. Basic Clin Med, 2022, 42(5): 714-720.

[12] Chen AQ, Fang Z, Chen XL, et al. Microglia-derived TNF-α mediates endothelial necroptosis aggravating blood brain-barrier disruption after ischemic stroke[J]. Cell Death Dis, 2019, 10(7): 487.

[13] Wang PN, Ren QQ, Shi MT, et al. Overexpression of mitochondrial ferritin enhances blood-brain barrier integrity following ischemic stroke in mice by maintaining iron homeostasis in endothelial cells[J]. Antioxidants, 2022, 11(7): 1257.

[14] Yamada MK. Angiogenesis in refractory depression: a possible phenotypic target to avoid the blood brain barrier[J]. Drug Discov Ther, 2016, 10(2): 74-78.

[15] 徐婉婷，何宇航，章震东，等. 抑郁症患者认知功能损害的静息态脑电微状态特征及研究进展[J]. 中国神经精神疾病杂志，2025，51(12)：758-762.
Xu WT, He YH, Zhang ZD, et al. Resting-state EEG microstate characteristics and research progress of cognitive impairment in patients with depression[J]. Chin J Nerv Ment Dis, 2025, 51(12): 758-762.

[16] Miller DW. Immunobiology of the blood-brain barrier[J]. J Neurovirol, 1999, 5(6): 570-578.

[17] Persidsky Y, Ramirez SH, Haorah J, et al. Blood-brain barrier: structural components and function under physiologic and pathologic conditions[J]. J Neuroimmune Pharmacol, 2006, 1(3): 223-236.

[18] Cheng ZH, Zheng YY, Yang W, et al. Pathogenic bacteria exploit transferrin receptor transcytosis to penetrate the blood-brain barrier[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2023, 120(39): e2307899120.

[19] Liu QL, Song TJ, Chen B, et al. Ferroptosis of brain microvascular endothelial cells contributes to hypoxia-induced blood-brain barrier injury[J]. FASEB J, 2023, 37(5): e22874.

[20] Yang F, Li L, Zhang JH, et al. TRIP6 accelerates the proliferation and invasion of cervical cancer by upregulating oncogenic YAP signaling [J]. Exp Cell Res, 2020, 396(1): 112248.

[21] Liu XS, Chen YX, Wan HB, et al. TRIP6 a potential diagnostic marker for colorectal cancer with glycolysis and immune infiltration association[J]. Sci Rep, 2024, 14: 4042.

[22] Lv KS, Chen L, Li YJ, et al. Trip6 promotes dendritic morphogenesis through dephosphorylated GRIP1-dependent myosin VI and F-actin organization[J]. J Neurosci, 2015, 35(6): 2559-2571.

[23] Li M-Y, Yang X-L, Chung CC, et al. TRIP6 promotes neural stem cell maintenance through YAP-mediated Sonic Hedgehog activation[J]. FASEB J, 2024, 38(5): e23501.

[24] Shukla S, Haenold R, Urbánek P, et al. TRIP6 functions in brain ciliogenesis[J]. Nat Commun, 2021, 12: 5887.

（收稿：2025-06-09；修回：2026-01-16；录用：2026-01-19）

（责任编辑：周一青）

本文引用格式：

余寿芬，李小飒，王 蓉，等. 甲状腺激素受体相互作用蛋白6参与抑郁症进展中BMVECs功能和血脑屏障功能紊乱调控的探究[J]. 重庆医科大学学报，2026，51(4)：451-458.