论著·癫痫精准治疗与脑保护专题

过表达Claudin 11能减轻幼鼠惊厥持续状态后髓鞘超微结构损伤及空间认知障碍

王静蕾,岑 玲,程 莉,陈恒胜,李 雪,蒋 莉 重庆医科大学附属儿童医院神经内科,儿童少年健康与疾病国家临床医学研究中心,儿童发育疾病研究教育部重点实验室,重庆

[摘要] **目的** 儿童惊厥持续状态(status epilepticus, SE)常伴随脑白质髓鞘超微结构损伤。紧密连接蛋白11(Claudin 11)作为维持髓鞘径向紧密连接的关键分子,其功能缺失可显著降低神经传导速度并引发行为异常。基于此,本研究旨在探究过表达Claudin 11对小鼠SE后髓鞘结构损伤及空间认知功能的影响及其潜在保护作用。**方法** 将18只21日龄雄性C57BL/6J小鼠(体质量9~11 g)按随机数字表法分为2组(n=9):SE组[腹腔注射7.5 mg/kg红藻氨酸(kainic acid, KA, 2 mg/mL)以建立SE模型]和Ctrl组(腹腔注射等体积生理盐水)。建模后20 d,小鼠生长至41日龄,体质量16~26 g,开展指标检测:①采用Western blotting检测各组小鼠海马区Claudin 11及髓鞘碱性蛋白(myelin basic protein, MBP)表达水平(n=6/组);②采用免疫荧光染色观察小鼠海马组织Claudin 11蛋白分布特征(n=3)。另选用16日龄雄性C57BL/6J小鼠,体质量6~9 g,共40只,采用随机数字表法将小鼠分为4组(n=10),CV+SE组:经侧脑室(intracerebroventricular, ICV)注射过表达Claudin 11腺相关病毒ScAAV2/9-CV-CLDN11-ZsGreen(病毒滴度:0.8×10^{13} vg/mL),病毒干预5 d后(21日龄)给予同剂量KA造模;NV+SE组:经ICV注射阴性空载体病毒ScAAV2/9-CMS-ZsGreen(病毒滴度:1.1×10^{13} vg/mL),干预5 d后(21日龄)给予同剂量KA造模;SE组:腹腔注射7.5 mg/kg KA(2 mg/mL);Ctrl组:腹腔注射等量生理盐水。建模后20 d,小鼠生长至41日龄,体质量16~26 g时,开展指标检测:①采用透射电镜观察各组小鼠海马髓鞘超微结构(n=3/组);②采用旷场实验、高架十字迷宫、Y迷宫及Morris水迷宫评估小鼠焦虑样行为及空间学习记忆能力(n=7)。**结果** ①Western blotting检测显示,与Ctrl组比较,SE组小鼠海马中Claudin 11蛋白(P=0.007 7)与MBP表达均显著下降(P=0.033 6);②免疫荧光结果显示,在Ctrl组和SE组中,Claudin 11/MBP双阳性细胞数量均显著高于Claudin 11/PDGFR-α及Claudin 11/Olig2双阳性细胞数(P<0.000 1)。③透射电子显微镜观察发现,过表达Claudin 11后,CV+SE组髓鞘G-ratio值较SE组明显改善(P<0.000 1)。④Morris水迷宫及Y迷宫实验结果显示,与SE组比较,CV+SE组小鼠Morris水迷宫逃避潜伏期显著缩短(P=0.021 2),Y迷宫自发交替率显著升高(P=0.006 7);⑤旷场实验中心区域停留时间、中心区域进入次数百分比及高架十字迷宫开放臂停留时间百分比、开放臂进入次数百分比等差异无统计学意义。**结论** 过表达Claudin 11可减轻小鼠SE后髓鞘结构损伤,并部分改善空间认知功能障碍,提示Claudin 11对SE后髓鞘损伤具有保护作用。

[关键词] 惊厥持续状态;紧密连接蛋白11;髓鞘;空间认知能力

[中图法分类号] R322.81;R341;R741 [文献标志码] A

[基金项目] 重庆市自然科学基金博士后科学基金项目(CSTB2023NSCQ-BHX0115);中国博士后科学基金项目(2024MD754033)

[通信作者] 蒋 莉,E-mail:jiangli@email.com

李 雪,E-mail:xue.pedneurology@hospital.cqmu.edu.cn

2097-0927/Copyright © 2026, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循CC BY许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

引用格式:王静蕾,岑玲,程莉,等. 过表达Claudin 11能减轻幼鼠惊厥持续状态后髓鞘超微结构损伤及空间认知障碍[J]. 陆军军医大学学报,2026,48(10):1326-1338. DOI:10.16016/j.2097-0927.202604060.

Citation: WANG J L, CEN L, CHENG L, *et al*. Claudin 11 overexpression attenuates myelin ultrastructural damage and spatial cognitive impairment in neonatal rats following status epilepticus[J]. J Army Med Univ, 2026, 48(10): 1326-1338. DOI: 10.16016/j.2097-0927.202604060.

Claudin 11 overexpression attenuates myelin ultrastructural damage and spatial cognitive impairment in neonatal mice following status epilepticus

WANG Jinglei, CEN Ling, CHENG Li, CHEN Hengsheng, LI Xue, JIANG Li Department of Neurology, Children's Hospital of Chongqing Medical University, National Clinical Research Center for Child and Adolescent Health and Diseases, Key Laboratory of Child Development and Disorders of Ministry of Education, Chongqing, China

[**Abstract**] Objective Status epilepticus (SE) in children frequently induces ultrastructural damage to cerebral white matter myelin. Claudin 11, a key molecule maintaining radial tight junctions in myelin, whose deficiency significantly reduces nerve conduction velocity and causes behavioral abnormalities. This study investigated the effects of Claudin 11 overexpression on myelin structural integrity and spatial cognition post-SE in mice. Methods Eighteen 21-day-old male C57BL/6J mice, weighing 9 to 11 g, were randomly divided into two groups (n=9) using a random number table. The SE group received an intraperitoneal injection of 7.5 mg/kg kainic acid (KA, 2 mg/mL) to induce SE, while the Ctrl group received an equal volume of normal saline. Twenty days after SE induction, when the mice reached 41 days of age and weighed 16 to 26 g, the following assessments were performed: ① Western blotting was used to detect Claudin 11 and myelin basic protein (MBP) protein expression levels in the hippocampus (n=6 per group); ② immunofluorescence staining was employed to observe the distribution of Claudin 11 protein in the hippocampus (n=3). An additional 40 male C57BL/6J mice, 16-day-old and weighing 6 to 9 g, were randomly divided into 4 groups (n=10) using a random number table. The CV+SE group received an intracerebroventricular (ICV) injection of Claudin 11-overexpressing virus ScAAV2/9-CV-CLDN11-ZsGreen (viral titer: 0.8×10^{13} vg/mL), and was given the same dose of KA 5 days after virus intervention (at 21 days of age). The NV+SE group received an ICV injection of negative control empty vector virus ScAAV2/9-CMS-ZsGreen (viral titer: 1.1×10^{13} vg/mL), and was given the same dose of KA 5 days after intervention (at 21 days of age). Mice in the SE group and Ctrl group were housed under the same conditions until 21 days of age for the experiment; the SE group received an intraperitoneal injection of 7.5 mg/kg KA (2 mg/mL), and the Ctrl group received an equal volume of normal saline. Twenty days after SE induction, when the mice reached 41 days of age and weighed 16 to 26 g, the following assessments were performed: ① transmission electron microscopy was used to observe the myelin sheath ultrastructure in the hippocampus (n=3); ② the open field test, elevated plus maze, Y-maze, and Morris water maze were used to evaluate anxiety-like behavior and spatial learning and memory ability (n=7). Results ① Western blot analysis showed that compared with the Ctrl group, Claudin 11 protein (P=0.007 7) and MBP protein expression (P=0.033 6) in the hippocampus of the SE group were significantly decreased. ② Immunofluorescence staining showed that, in both the Ctrl and SE groups, the number of Claudin 11/MBP double-positive cells was significantly higher than that of Claudin 11/PDGFR-α and Claudin 11/Olig2 double-positive cells (P<0.000 1). ③ Transmission electron microscopy revealed that after Claudin 11 overexpression, the myelin G-ratio in the CV+SE group was significantly improved compared with the SE group (P<0.000 1). ④ The Morris water maze and Y-maze tests showed that compared with the SE group, the escape latency in the Morris water maze was significantly shortened (P=0.021 2) and the spontaneous alternation rate in the Y-maze was significantly increased (P=0.006 7) in the CV+SE group. ⑤No statistically significant differences were observed in the time spent in the center zone, the percentage of entries into the center zone in the open field test, or the percentage of time spent and entries into the open arms in the elevated plus maze. Conclusion Claudin 11 overexpression attenuates SE-induced myelin damage and partially ameliorates spatial cognitive impairment, indicating its protective role against post-SE myelination deficits.

[**Key words**] status epilepticus; Claudin 11; myelin sheath; spatial cognitive ability

Supported by the Postdoctoral Science Found of Natural Science Foundation of Chongqing (CSTB2023NSCQ-BHX0115) and the Postdoctoral Science Foundation of China (2024MD754033). Corresponding authors: JIANG Li, E-mail: jiangli@email.com; LI Xue, E-mail: xue.pedneurology@hospital.cqmu.edu.cn

惊厥持续状态(status epilepticus, SE)是儿童常见的神经系统急症,长时程惊厥可遗留显著的神经功能障碍,导致认知损害、情绪障碍、癫痫等后遗症[1],严重影响患儿的生存率和生活质量。临床及实验研究证明,SE不仅可引起以神经元死亡为特征的惊厥性脑损伤,亦可影响少突胶质细胞(oligodendrocyte,OL)分化及成熟,导致髓鞘分化障碍[2]。本课题组前期研究显示,未成熟小鼠SE后脑内髓鞘、轴突和突触结构受损,继而出现惊厥易感性升高、癫痫发作频率增加,并伴有学习记忆功能及情绪障碍[3-4],提示髓鞘损伤可能是SE后神经功能障碍的重要病理基础。

OL由少突胶质前体细胞(oligodendrocyte precursor cell,OPC)分化而来,在中枢神经系统髓鞘损伤修复中起着核心作用[5]。本课题组前期研究发现,SE大鼠海马区成熟少突胶质细胞标记物髓鞘碱性蛋白(myelin basic protein, MBP)表达明显减少,表明SE后海马区存在脱髓鞘和少突胶质细胞丢失[6];同时,OPC标记物表达增加且OPC增殖活跃,提示SE后存在OPC分化障碍[7-8]。由此推测,OPC分化障碍可能是发育期惊厥性脑损伤后髓鞘修复失败的核心问题,但其具体调控机制仍未完全阐明。

课题组对既往蛋白组学与转录组学数据进行联合分析,发现紧密连接蛋白11(Claudin 11)在SE后表达显著异常,且预实验证实其在SE急性期即开始下降,并持续至慢性期,提示Claudin 11可能参与SE后髓鞘损伤的病理进程。Claudin 11是Claudin紧密连接蛋白家族的成员之一,主要在中枢神经系统的少突胶质细胞中表达,是髓鞘的重要组成部分,参与构成髓鞘的径向成分。目前,Claudin 11已被确定为该径向成分形成中不可或缺的蛋白质[9]。此外,研究发现,Claudin 11可通过与OAP-1及β1整合素形成复合物调控少突胶质细胞的增殖与迁移,提示其可能直接参与OPC的分化调控[10-11]。上述研究表明,Claudin 11兼具髓鞘结构支撑与OPC分化调控的双重功能,具备作为SE后髓鞘修复关键调控分子的生物学基础。然而,目前关于Claudin 11在未成熟脑SE后髓鞘修复中的作用研究较少。基于此,本研究拟通过建立小鼠SE模型,初步探究Claudin 11在未成熟脑SE后OL分化、髓鞘形成及认知功能中的作用,以期为阐明发育期惊厥性脑损伤的病理生理机制提供新的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 本研究所用SPF级雄性C57BL/6J小鼠均购自重庆医科大学实验动物中心[许可证号:SCXK(渝)2022-0010]。其中16日龄小鼠体质量6~9 g,21日龄小鼠体质量9~11 g,41日龄取材时小鼠体质量16~26 g。本研究涉及的所有动物实验已经重庆医科大学附属儿童医院实验动物福利伦理审查委员会批准(IACUC-CQMU-2024-03138)。实验动物饲养于重庆医科大学附属儿童医院SPF级动物实验室,温度维持在20~25 ℃,日温差≤3 ℃,相对湿度为40%~60%,通风次数≥8次/h,光照周期为12 h明/12 h暗。动物饲养于独立通气笼具中,可自由摄食和饮水,每笼动物数量符合国家相关标准。所有可能引起疼痛的操作在麻醉镇痛下进行:侧脑室注射、取材等手术操作采用戊巴比妥钠(7.5 mg/kg)腹腔注射深度麻醉;红藻氨酸(kainic acid, KA)诱导惊厥持续状态30 min后,立即腹腔注射地西泮(1 mg/kg)止惊;所有动物采用颈椎脱臼法处死,确保最大限度减少动物痛苦。实验过程中密切观察,并建立人道终点,当动物出现以下情况之一时实施安乐死:①持续3 d以上体质量下降超过20%;②无法自主进食饮水、严重脱水或濒死状态;③持续惊厥发作超过1 h且地西泮(Diazepam)干预无效;④出现严重运动障碍无法正常活动。

1.1.2 试剂与仪器 KA购自美国Cayman公司;地西泮购自重庆沐菲生物有限公司;过表达Claudin 11腺相关病毒ScAAV2/9-CV-CLDN11-ZsGreen(NM_008770)及空载体对照病毒购自纽赫生物科技(上海)有限公司;总蛋白提取试剂盒购自南京峰峰生物医药科技有限公司;12.5%PAGE凝胶快速制备试剂盒购自上海雅酶生物医药科技有限公司;抗Claudin 11小鼠单克隆抗体购自美国Santa公司;抗MBP兔多克隆抗体、Olig2兔多克隆抗体等购自美国GeneTex公司;β-肌动蛋白兔单克隆抗体(β-actin)、黏着斑蛋白(Vinculin)重组兔单克隆抗体、山羊抗兔IgG、山羊抗小鼠IgG、PDGFR-α兔单克隆抗体均购自成都正能生物技术有限责任公司;山羊抗兔荧光二抗、山羊抗小鼠荧光二抗购自英国abcam公司;OCT冰冻切片包埋剂购自日本樱花公司;HEK293T细胞购自中国科学院细胞库。立体定位仪购自深圳市瑞沃德生命科技有限公司;ChemiDoc Touch成像系统购自美国Bio-Rad公司;冰冻切片机购自德国Leica公司;激光扫描共聚焦显微镜购自日本尼康公司;透射电子显微镜购自日

本Hitachi公司;旷场箱、高架十字迷宫、水迷宫、Y迷宫均购自江苏赛昂斯生物科技有限公司。

1.2　方法

1.2.1　实验动物分组　　将18只21日龄健康雄性C57BL/6J小鼠按随机数字表法分为对照组(Ctrl组)和SE组,每组9只。SE组腹腔注射KA建立SE模型[3],Ctrl组注射等体积生理盐水,于SE后20 d(即41日龄)取材,Ctrl组取同龄对照。另将40只16日龄健康雄性C57BL/6J小鼠按随机数字表法分为Ctrl组、SE组、CV+SE组及NV+SE组,每组10只。CV+SE组和NV+SE组小鼠分别于16日龄时侧脑室注射ScAAV2/9-CV-CLDN11-ZsGreen和空载体对照病毒,注射后第5天(即21日龄)经腹腔注射KA建立SE模型;SE组小鼠于21日龄时经腹腔注射KA建立SE模型;各组均于SE后20天(即41日龄)进行检测,Ctrl组注射等量生理盐水后,取同龄对照。若造模失败或动物死亡导致样本不足,按初始随机化原则从同批次备用动物中随机补充至预定样本量,补充动物的纳入标准、饲养条件及实验操作与正式实验动物完全一致。

1.2.2　小鼠SE模型构建　　选用21日龄雄性C57BL/6J小鼠,参照文献构建SE模型[12-13]。按7.5 mg/kg剂量经小鼠腹腔注射KA(2 mg/mL)诱发SE,注射后开始计时,若30 min内无惊厥发作或未达到Racine分级(Ⅰ级:凝视,口面部痉挛,包括眨眼、抖须、节律性咀嚼等;Ⅱ级:Ⅰ级基础上出现头颈部阵挛,表现为节律性点头;Ⅲ级:Ⅱ级基础上出现单侧或双侧前肢阵挛;Ⅳ级:Ⅲ级基础上出现直立体位;Ⅴ级:全面性强直阵挛发作,并失去体位控制)Ⅳ级及以上发作,则追加同剂量KA,追加3次后仍未达Racine Ⅳ级的小鼠视为模型建立失败,予以淘汰(图1)。成功诱发惊厥Racine分级Ⅳ级及以上时,开始记录时间,若持续30 min,视为成功建立SE模型,随后予腹腔注射地西泮(1 mg/kg)止惊,复温箱复温。对照组腹腔注射等量生理盐水。

1.2.3　构建过表达Claudin 11双链腺相关病毒(self-complementary adeno-associated virus,ScAAV)　ScAAV2/9-CV-CLDN11-ZsGreen腺相关病毒(NM_008770)血清型为AAV2/9,携带CMV启动子调控小鼠*Claudin 11*基因与ZsGreen荧光报告基因。病毒经三质粒共转染HEK293T细胞包装,并采用碘克沙醇密度梯度超速离心纯化。采用RT-qPCR检测病毒滴度≥1×10^{13} vg/mL,SDS-PAGE银染、透射电镜分别检测病毒纯度及空壳率,均符合实验标准。无菌PBS稀释病毒至终浓度为2×10^{12} vg/mL,分装后-80 ℃避光保存。

1.2.4　侧脑室注射(intracerebroventricular injection,ICV)过表达Claudin 11 ScAAV及分组　　CV+SE组和NV+SE组小鼠于16日龄时经腹腔注射戊巴比妥钠(2 mg/mL,7.5 mg/kg)麻醉后,固定于立体定位仪。头顶部备皮消毒,沿中线切开皮肤暴露前囟,确定右侧脑室注射坐标:前囟后0.4 mm,中线右侧旁开1.1 mm,深度2.2 mm[3]。以5 μL Hamilton微量注射器吸取ScAAV2/9-CV-CLDN11-ZsGreen病毒液或空载体对照病毒1 μL(病毒滴度:CV组为0.8×10^{13} vg/mL;NV组为1.1×10^{13} vg/mL),连接微量注射泵,以0.25 μL/min速度匀速注射。注射完成后留针5 min,缓慢退针,缝合头皮并用碘伏消毒。术后将小鼠置于恒温加热垫上复苏,待完全清醒后返回笼中。病毒注射后第5天(即21日龄),CV+SE组、NV+SE组及SE组小鼠均经腹腔注射KA以建立SE模型,Ctrl组腹腔注射等量生理盐水。各组均于SE后20 d(即41日龄)进行行为学检测及取材。若造模失败或动物死亡导致样本不足,按随机原则补充至预定数量。

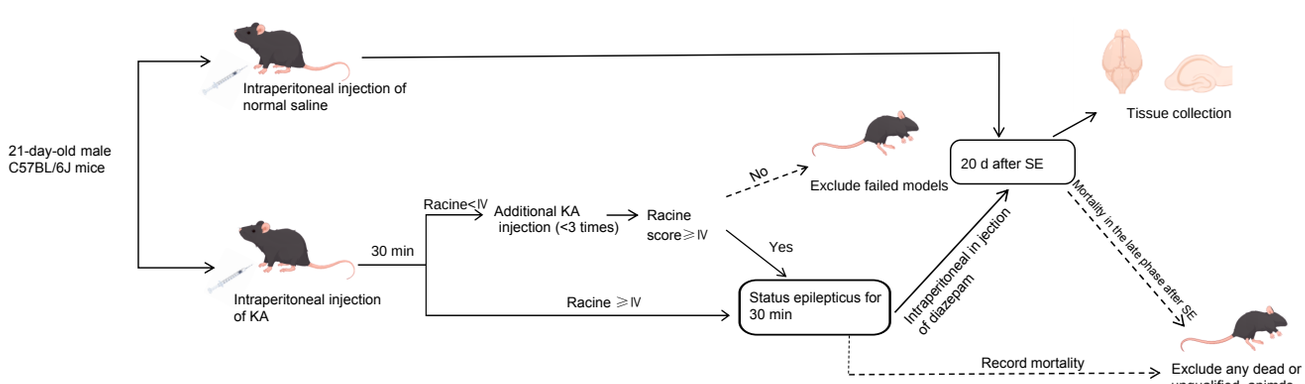


图1　KA诱导SE模型构建与采样流程示意图

Figure 1　Schematic diagram of KA-induced SE model establishment and sample collection

1.2.5 Western blotting检测小鼠海马内蛋白表达情况 小鼠采用腹腔注射戊巴比妥钠进行麻醉(7.5 mg/mL,0.05 mL/10 g),于冰上解剖后,取出其双侧海马并立即在液氮中冷冻(n=6)。采用总蛋白提取试剂盒提取蛋白质样品,并使用蛋白质检测试剂盒测定蛋白质浓度。将含有40 μg蛋白质样品通过12.5%聚丙烯酰胺凝胶电泳分离。使用以下一抗4 ℃孵育过夜:抗Claudin 11小鼠单克隆抗体(1∶1 000)、抗MBP兔多克隆抗体(1∶10 000)、β-肌动蛋白兔单克隆抗体(1∶10 000),Vinculin重组兔单克隆抗体(1∶10 000)。然后采用相应的二抗孵育60 min:山羊抗兔IgG(1∶5 000)、山羊抗小鼠IgG(1∶5 000)。使用Bio-Rad ECL电化学发光底物对蛋白质条带进行可视化。以β-actin作为第一部分实验(SE模型比较)中Claudin 11和MBP的内参;采用Vinculin作为第二部分实验(病毒干预后)中Claudin 11的内参,两种不同类型的内参更能确保Western blotting定量的准确性和可重复性。使用Image J软件进行蛋白表达标准化分析。

1.2.6 免疫荧光染色观察小鼠海马内Claudin 11分布情况 小鼠经腹腔注射戊巴比妥钠进行麻醉后,采用60 mL PBS溶液冲净血液,而后采用4%多聚甲醛(paraformaldehyde,PFA)进行心脏灌注固定(n=3)。灌注后取出大脑,将大脑放在4%多聚甲醛中固定24 h,而后在蔗糖溶液中梯度脱水(15% 蔗糖溶液脱水2 d,30% 蔗糖溶液脱水1 d),直至脑组织完全沉底。使用冰冻切片机切片(厚度为30 μm),切片后立即放置于冰冻保护液中,于4 ℃冰箱保存。切片孵育一抗18 h,次日室温孵育二抗2 h,贴片后在共聚焦显微镜下曝光(500×)捕获图像。使用的一抗包括:Claudin 11小鼠单克隆抗体(1∶100)、MBP兔多克隆抗体(1∶200)、Olig2兔多克隆抗体(1∶200)、PDGFR-α兔单克隆抗体(1∶200);使用的二抗有山羊抗兔(1∶1 000)和山羊抗小鼠(1∶1 000)。显微镜下采集小鼠海马全区图像后,使用Image J软件对采集的图片进行分析,并对每个视野中的共定位双阳性细胞计数。

1.2.7 透射电子显微镜(transmission electron microscopy,TEM)观察小鼠惊厥后髓鞘超微结构 小鼠采用腹腔注射戊巴比妥钠进行麻醉后,以0.9%氯化钠进行灌流冲净血液,再用4%多聚甲醛和0.5%戊二醛的混合固定液完成灌注固定(n=3)。将小鼠大脑胼胝体组织块离体取下后,立即投入含有电镜固定液的培养皿内,用手术刀在培养皿中将其切割成1 mm^3的小组织块。而后在0.1 mol/L PBS中冲洗3次,每次15 min,采用1%锇酸(0.1 mol/L PBS,pH=7.4)避光室温固定2 h后,PBS漂洗3次,每次15 min。经乙醇和丙酮系列中常规脱水后,进行环氧树脂渗透、包埋及聚合。使用超微切片机从每个环氧树脂包埋块上切下60 nm超薄切片,然后用醋酸铀饱和溶液、2.6%枸橼酸铅染色,在TEM下观察,以评估髓鞘形态变化情况。对于每个部分,随机选择5个视野,并以4 000×和20 000×的放大倍率拍摄。使用Image J软件测量统计有髓神经轴突数量、直径及髓鞘厚度,并计算G-ratio值[G-ratio值=轴突直径/(轴突直径+髓鞘厚度)][6]。

1.2.8 Morris水迷宫实验检测惊厥后各组小鼠空间学习与记忆能力 注射腺相关病毒载体并诱导SE后,各组小鼠采用Morris水迷宫实验评估其空间学习与记忆功能(n=7)。测试前2 h,将动物放入水迷宫实验房间以适应环境。实验使用直径200 cm、高60 cm的圆形水池,水池内水深40 cm,水温控制在(22±1) ℃。水池均分为东北(NE)、东南(SE)、西南(SW)、西北(NW)4个象限,将不同的视觉参照物贴在水迷宫四周帘布上作为小鼠空间记忆线索。实验第1天为适应期,使小鼠头朝池壁从4个象限(SW、SE、NE、NW)分别入水自由活动1 min。实验第2天至第6天为定位巡航实验,在水池NW方位放置1个直径12 cm的圆形平台,使平台低于水面约1.5 cm,小鼠每日依次按照不同顺序放入不同方位象限进行测试,记录小鼠找到平台的时间(即逃避潜伏期),1 min内若未找到平台,则对小鼠进行训练引导,使其找到平台并停留10 s,进行记忆强化后放回饲养笼。实验第7天为空间探索实验,将小鼠移出圆形平台,由SE象限放入水中自由活动1 min,记录小鼠穿过平台次数及停留目标象限(NW象限)时长[14]。整个过程被录像并通过ANY-maze动物行为学软件进行自动分析。主要评估指标为:①小鼠1~6 d找到目标平台所用时间;②小鼠实验第7天穿越圆形平台次数;③小鼠第7天于目标象限停留时间。

1.2.9 Y迷宫自发交替实验检测惊厥后小鼠空间工作记忆能力 注射腺相关病毒载体并诱导SE后,各组小鼠采用Y迷宫实验评估其空间学习与记忆功能(n=7)[15]。测试前2 h,将小鼠放在Y迷宫(臂长35 cm×宽5 cm×高15 cm)中心区域,任其自由探索迷宫8 min,在2次实验之间用75%乙醇擦拭箱子,整个过程被录像并通过ANY-maze动物行为学软件进行自动分析。

主要统计指标为:总进臂次数和连续进入3个不同臂的次数,并按公式计算交替率:交替率=连续进入3个不同臂的次数/(总进臂次数-2)×100%[16]。

1.2.10 旷场实验检测SE后小鼠自主活动及焦虑样行为 注射腺相关病毒载体并诱导SE后,各组小鼠采用旷场实验评估其焦虑情绪(n=7)[17]。测试前2 h,将动物放入旷场箱房间以适应环境。旷场箱尺寸为25 cm(长)×25 cm(宽)×30 cm(高),顶部带有摄像头,箱底自动划分为9个区域。依次将小鼠放入中央区域任其自由活动5 min,在2次实验之间用75%乙醇擦拭箱子,整个过程被录像并通过ANY-maze动物行为学软件进行自动分析。主要统计指标为:①各组小鼠进入中心区域次数;②各组小鼠进入中心区域时间。

1.2.11 高架十字迷宫实验检测惊厥后小鼠焦虑样行为 注射腺相关病毒载体并诱导SE后,各组小鼠采用高架十字迷宫实验评估其焦虑情绪(n=7)[18]。高架十字迷宫由2个开放臂和2个闭合臂(闭合臂设有20 cm高的墙壁)构成,以直角方式排列(每个臂长50 cm)。在测试期间,小鼠被放置在高于地面100 cm的中心区域(尺寸为10 cm×10 cm)进行5 min的自由探索。在2次实验之间用75%乙醇擦拭箱子,整个过程被录像并通过ANY-maze动物行为学软件进行自动分析。主要统计指标为:①小鼠进入开放臂的次数;②小鼠进入开放臂的停留时间[18]。

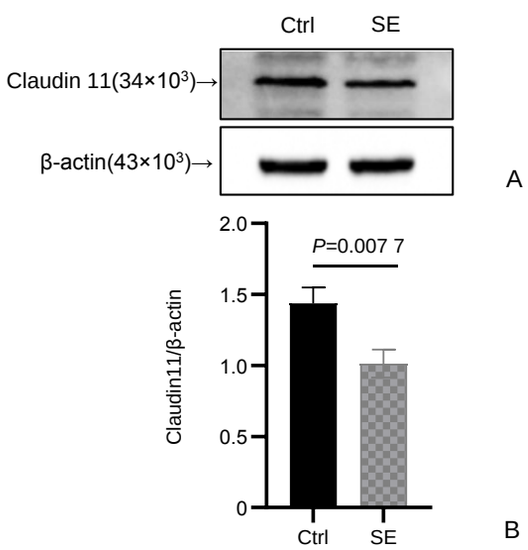
1.3 统计学分析

采用GraphPad Prism 9.0软件对实验数据进行统计分析并制图。通过Shapiro-Wilk检验验证正态性、Levene检验验证方差齐性。计量资料以$\bar{x}\pm s$表示,两组比较用独立样本t检验,多组比较用单因素方差分析(one-way ANOVA),事后用Tukey法校正;水迷宫实验数据(定位航行实验的逃避潜伏期)采用重复测量方差分析(repeated measures ANOVA),进行Mauchly's球形检验,若不符合球形假设,则采用Greenhouse-Geisser法进行自由度校正;事后两两比较采用Bonferroni法校正。P<0.05为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠SE后海马Claudin 11及MBP表达下调

采用Western blotting检测小鼠SE后海马组织中Claudin 11表达量。结果显示,与Ctrl组比较,SE组小鼠海马中Claudin 11的表达水平显著降低(1.47±0.12 *vs* 1.02±0.10,P<0.01,图2),提示SE可导致小鼠海马组织中Claudin 11表达水平显著下调;免疫荧光结果显示,与Ctrl组比较,SE组小鼠Claudin 11/PDGFR-α双阳性细胞数量无明显变化(5.31±0.33 *vs* 3.51±0.55,P>0.05,图3A),Claudin 11/Olig2双阳性细胞(8.37±0.77 *vs* 5.46±0.66,P<0.05,图3B)与Claudin 11/MBP双阳性细胞数量(64.08±3.37 *vs* 27.82±3.22,P<0.000 1,图3C)均显著减少;此外,在Ctrl组和SE组中,Claudin 11/MBP双阳性细胞数量均显著高于Claudin 11/PDGFR-α双阳性细胞数量(Ctrl组:64.08±3.37 *vs* 5.31±0.33,P<0.000 1;SE组:27.82±3.22 *vs* 3.51±0.55,P<0.000 1),也显著高于Claudin 11/Olig2双阳性细胞数量(Ctrl组:64.08±3.37 *vs* 8.37±0.77,P<0.000 1;SE组:27.82±3.22 *vs* 5.46±0.66,P<0.000 1,图3D)。

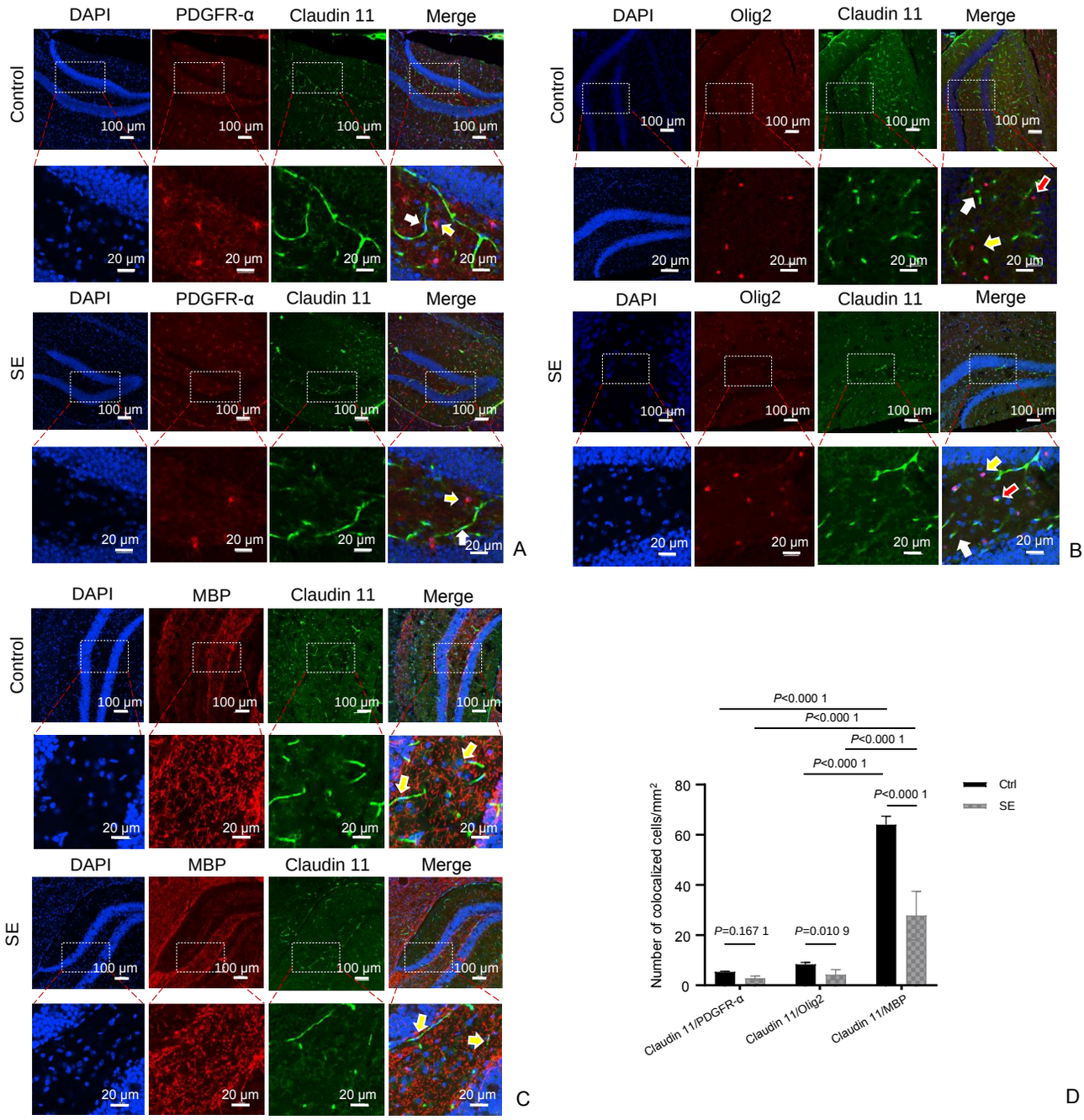


A: Representative Western blot bands of hippocampal Claudin 11 and β-actin internal control in immature mice; B: Quantitative analysis of relative Claudin 11 protein expression

图2 Western blotting检测小鼠SE后20 d海马Claudin 11蛋白相对表达量(n=6, $\bar{x}\pm s$)

Figure 2 Hippocampal Claudin 11 protein expression in mice at 20 d post-SE detected by Western bloting (n=6, $\bar{x}\pm s$)

采用Western blotting检测小鼠海马中MBP表达情况,结果显示,与Ctrl组比较,SE组小鼠海马中MBP的蛋白相对表达量显著降低(1.25±0.14 *vs* 0.86±0.11,P<0.05,图4)。以上结果提示,小鼠SE后海马Claudin 11表达下调可能主要发生于成熟少突胶质细胞,且Claudin 11可能参与幼鼠惊厥后大脑髓鞘损伤过程。



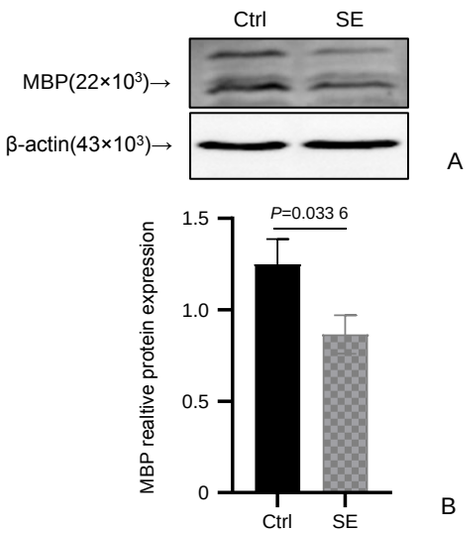
A: Representative immunofluorescence staining of Claudin 11 (green)/PDGFR-α (red)/DAPI (blue) in the hippocampus of immature mice, white arrows indicating Claudin 11 and yellow arrows indicating PDGFR-α; B: Representative immunofluorescence staining of Claudin 11 (green)/Olig2 (red)/DAPI (blue) in the hippocampus of immature mice, white arrows indicating Claudin 11, yellow arrows indicating Olig2 and red arrows indicating Claudin 11/Olig2; C: Representative immunofluorescence staining of Claudin 11 (green)/MBP (red)/DAPI (blue) in the hippocampus of immature mice, yellow arrows indicating Claudin 11/MBP; D: Number of Claudin 11 cells colocalized with oligodendrocyte markers

图3 SE后20 d Claudin 11与不同少突胶质细胞标志物双阳性细胞数量对比(n=3, $\bar{x}\pm s$)

Figure 3 Claudin 11 colocalization with oligodendrocyte markers at 20 d post-SE(n=3, $\bar{x}\pm s$)

2.2 ICV注射ScAAV后第5天小鼠海马Claudin 11显著上调

采用免疫荧光染色法观察ScAAV2/9-CV-CLDN11-ZsGreen是否成功注射到幼鼠脑内。结果显示,ScAAV成功注射并扩散到海马神经元(图5A)。通过Western blotting检测ScAAV注射后海马中的Claudin 11水平,



A: Representative Western blot bands of hippocampal MBP and β-actin internal control in immature mice; B: Quantitative analysis of relative MBP protein expression

图4 Western blotting检测SE后20 d小鼠海马组织MBP的相对蛋白表达量(n=6, $\bar{x}\pm s$)

Figure 4 Western blot analysis of relative MBP protein expression levels in the hippocampus of mice at 20 d after SE (n=6, $\bar{x}\pm s$)

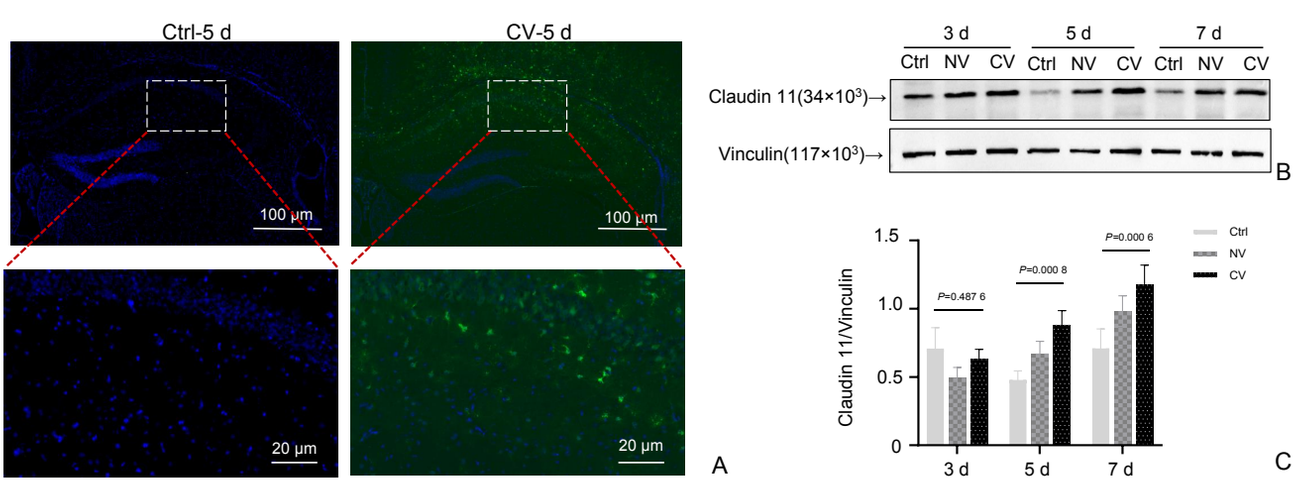
与Ctrl组比较,CV组小鼠海马Claudin 11蛋白相对表达量在ICV注射后第5天显著上升(0.48±0.08 *vs* 0.88±0.10,P<0.001),且持续至第7天稳定表达(0.71±0.14 *vs* 1.18±0.14,P<0.001,图5B、C)。基于上述预实验结果,本研究选择于ICV注射ScAAV后第5天,对小鼠进行SE造模。

2.3 过表达Claudin 11可改善SE后的胼胝体髓鞘结构损伤

采用TEM测量各组小鼠胼胝体有髓神经纤维的G-ratio值,结果显示:在Ctrl组中,胼胝体有髓神经纤维髓鞘表现出规则的厚度和致密的结构(图6A);与Ctrl组比较,SE组胼胝体髓鞘结构出现明显的结构损伤,表现为髓鞘板层显著分层、松解,且伴大量空泡化改变(图6B),其G-ratio值呈显著升高趋势(0.67±0.01 *vs* 0.88±0.01,P<0.000 1);同时NV+SE组髓鞘表现出和SE类似的损伤情况,表明空载体病毒对研究结果无影响(0.88±0.01 *vs* 0.87±0.01,图6E);而CV+SE组髓鞘结构损伤得到明显修复(图6D),且G-ratio值逐步恢复至正常水平(0.88±0.01 *vs* 0.72±0.01,P<0.000 1,图6E)。以上结果提示,SE后可导致幼鼠胼胝体髓鞘超微结构显著损伤,过表达Claudin 11能够有效修复SE所致的髓鞘结构损伤,使G-ratio值趋于正常,提示Claudin 11对SE后髓鞘超微结构损伤具有明确的保护作用。

2.4 过表达Claudin 11可部分改善SE后的小鼠空间记忆障碍

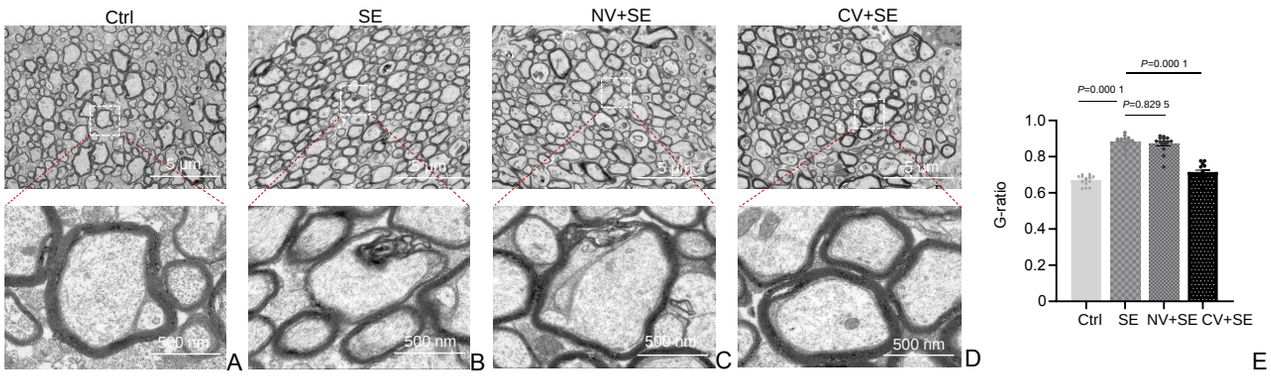
采用水迷宫实验,评估小鼠的学习能力和空间记忆能力,分为定位航行实验和空间探索实验。在定位巡航实验中,随着训练时间的增加,各组小鼠的逃避潜



A: Fluorescent distribution of ICV-injected AAV in juvenile mouse brain; B: Western blotting detection of hippocampal Claudin 11 expression in each group; C: Relative expression of Claudin 11 normalized to Vinculin

图5 侧脑室注射ScAAV后不同时相点各组小鼠海马Claudin 11表达情况(n=6, $\bar{x}\pm$s)

Figure 5 Claudin 11 expression in the hippocampus of immature mice at different time points after ICV injection of ScAAV (n=6, $\bar{x}\pm$s)



A: Ultrastructure of myelin sheaths in the corpus callosum of control mice; B: Ultrastructure of myelin sheaths in the corpus callosum of SE mice; C: Ultrastructure of myelin sheaths in the corpus callosum of NV+SE mice; D: Ultrastructure of myelin sheaths in the corpus callosum of CV+SE mice; E: Quantitative analysis of G-ratio

图6 透射电子显微镜观察Claudin 11干预后各组小鼠髓鞘超微结构变化(n=3, $\bar{x}$±s)

Figure 6 TEM observation of myelin ultrastructural changes in immature mice of each group after Claudin 11 intervention(n=3, $\bar{x}$±s)

伏期逐渐缩短,表示各组小鼠均具有学习能力(图7A)。在训练的第1~5天,与Ctrl组比较,SE组小鼠的逃避潜伏期明显延长(P<0.01);与SE组比较,CV+SE组逃避潜伏期明显缩短(P<0.01,图7B)。在空间探索实验中,与Ctrl组比较,SE组小鼠跨越平台次数和目标象限停留时间都呈减少趋势[(5.29±0.56)s *vs* (2.14±0.70)s,(14.99±1.36)s *vs* (6.44±1.89)s];与SE组比较,CV+SE组小鼠跨越平台次数和目标象限停留时间呈增加趋势[(2.14±0.70)s *vs* (4.86±0.51)s,(6.44±1.89)s *vs* (10.67±0.89)s,图7C、D],但差异无统计学意义。Y迷宫实验发现,与Ctrl组比较,SE组小鼠的自发交替率百分比有所降低[(54.99±3.80)% *vs* (37.41±3.03)%,P<0.01,图7E、F];与SE组比较,CV+SE组自发交替率百分比有所提升[(37.41±3.03)% *vs* (53.56±2.93)%,P<0.01,图7F]。此外,SE组和NV+SE组所有结果保持高度一致,表明阴性病毒并未对实验结果产生干扰。综上,SE后幼鼠空间学习记忆能力及工作记忆功能受损,而在幼鼠脑内过表达Claudin 11可明显缩短SE后逃避潜伏期并提升自发交替率,同时对空间探索指标呈改善趋势,提示Claudin 11对SE后的学习记忆功能具有一定保护作用。

2.5 过表达Claudin 11对SE后小鼠焦虑样情绪无明显改善

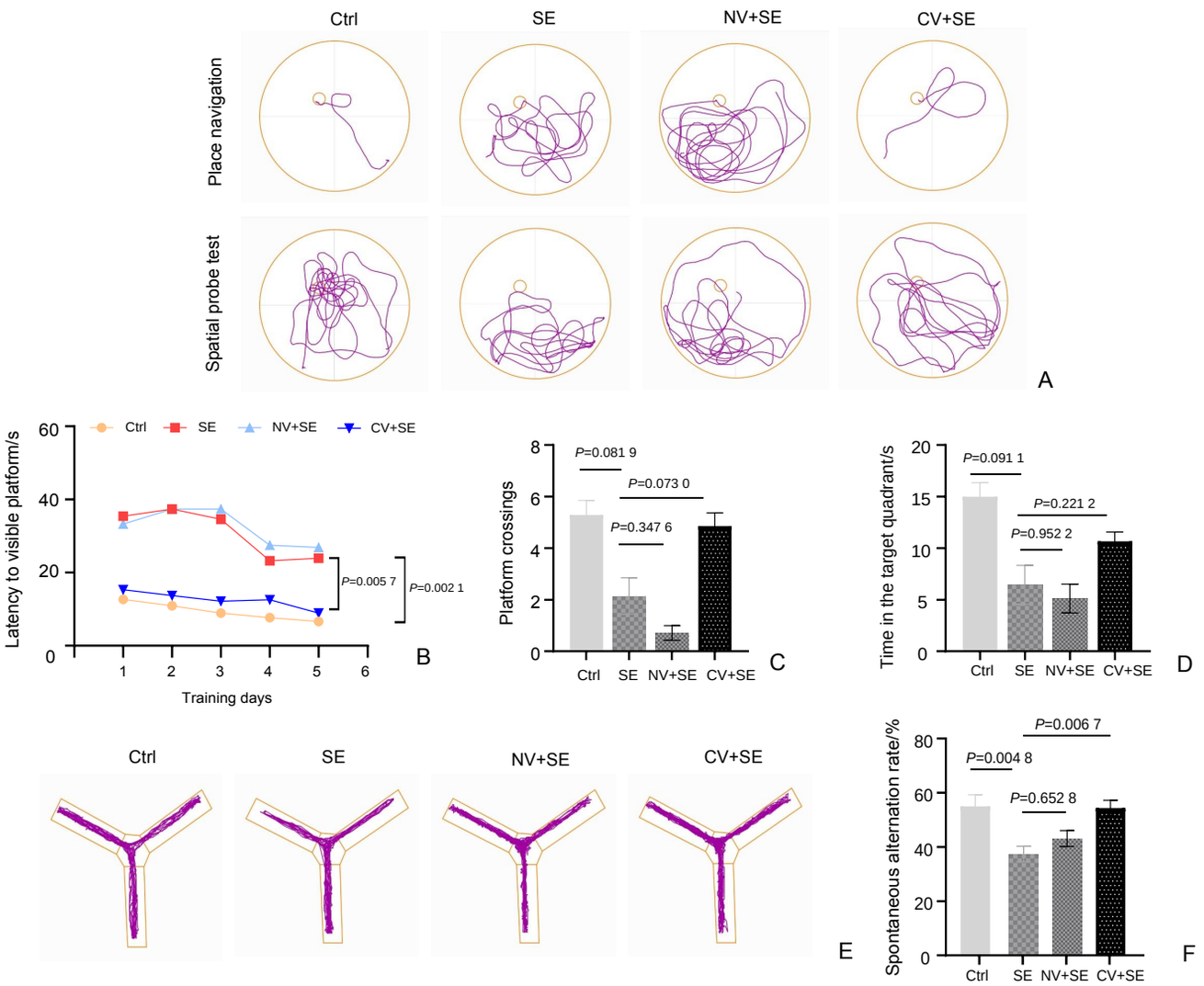
为探究过表达Claudin 11是否对SE小鼠的焦虑情绪产生影响,本研究对各组小鼠进行了旷场实验、高架十字迷宫实验。旷场实验发现,与Ctrl组比较,SE组小鼠进入中心区域次数和时间百分比都有所降低[(46.05±0.73)% *vs* (41.94±0.64)%,(14.01±0.77)% *vs* (10.43±1.13)%,P均<0.05];与SE组比较,CV+SE组小鼠进入中心区域的次数和时间百分比未见明显差异(图8A~C)。而后,本研究进行了高架十字迷宫实验进一步评估小鼠的焦虑状态。结果显示:与Ctrl组比较,SE组小鼠的进入开放臂次数百分数呈现明显下降[(20.35±1.32)% *vs* (14.27±1.66)%,P<0.05],开放臂停留时间百分比呈现出下降趋势,但差异无统计学意义;与SE组比较,CV+SE组小鼠进入开放臂次数及时间百分比略有上升,但差异无统计学意义(图8D、E)。此外,SE组和NV+SE组所有结果保持高度一致,表明阴性病毒并未对实验结果产生干扰。综上,过表达Claudin 11未能显著缓解SE诱导的小鼠焦虑样行为。

3 讨论

SE是儿童期常见的中枢神经系统急症,可导致脑内多种关键蛋白表达谱异常改变[19-20]。约30%的患儿会出现癫痫发作、认知减退及学习障碍等远期神经后遗症[21],其病理机制与SE诱导的髓鞘相关蛋白表达紊乱密切相关[22]。此外,儿童发育期中枢神经系统髓鞘化进程尚未完成,对惊厥所致兴奋性毒性高度敏感,更易出现少突胶质细胞分化障碍与髓鞘结构损伤。然而,其中髓鞘结构损伤相关分子及其与神经功能预后的关系,仍需进一步研究。

3.1 SE后小鼠海马Claudin 11表达减少,与少突胶质细胞成熟及髓鞘损伤密切相关

已有研究表明,Claudin 11对维持髓鞘完整性与神经功能具有重要作用,其表达异常与髓鞘损伤及神

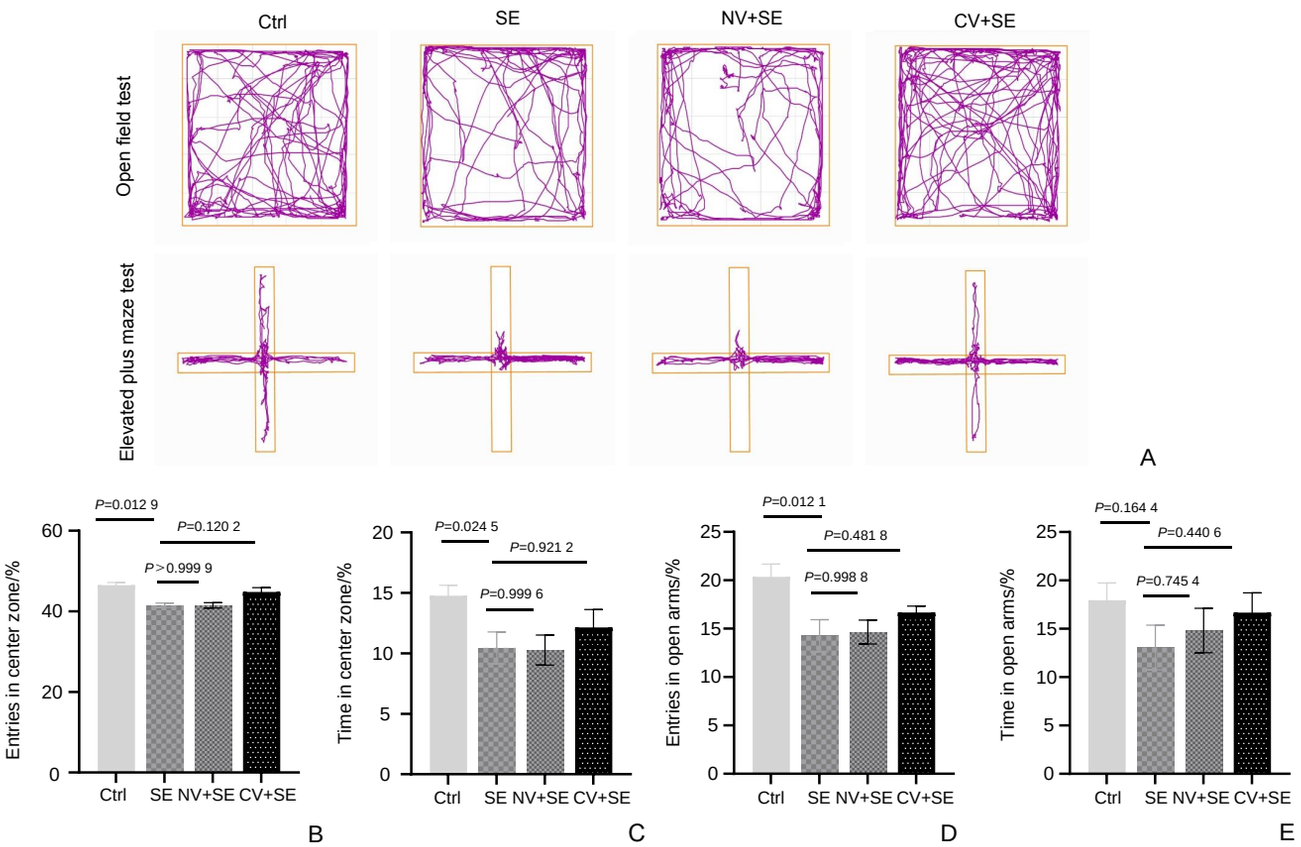


A: Trajectories of mice in each group during the place navigation test and spatial probe test; B: Spatial learning ability detected by MWM place navigation test; C: Platform crossing times in MWM probe test; D: Target quadrant time in MWM probe test; E: Representative trajectories of mice in each group during the Y-maze test; F: Spontaneous alternation rate detected by Y-maze test

图7 水迷宫和Y迷宫实验评估过表达Claudin 11对小鼠学习认知影响（n=7，$\bar{x}\pm s$）

Figure 7 Y-maze and Morris water maze tests for the effects of Claudin 11 overexpression on learning and cognition in mice（n=7，$\bar{x}\pm s$）

经功能紊乱密切相关[10-11]。基于此，本研究检测了小鼠SE后海马区Claudin 11蛋白表达量，发现SE后其表达水平出现显著下降；免疫荧光共定位分析显示，与Ctrl组相比，SE后Claudin 11与PDGFR-α的共定位无明显变化，但与Olig2、MBP的共标率显著降低。这一差异提示随着OPC分化形成髓鞘的过程，Claudin 11在OPC早期和分化中期并无明显表达，仅在OPC分化进入成熟阶段、启动髓鞘形成程序后被大量表达。而前期研究发现，SE后幼鼠海马中Claudin 11的表达降低，可能与新生髓鞘的紧密连接结构与完整性有关，因此表现为Claudin 11与Olig2、MBP的共标细胞数量显著下降。而OPC尚未启动髓鞘形成程序，本身不需要高水平表达Claudin 11，也较少受到髓鞘形成相关损伤通路的影响，所以其与Claudin 11的共定位细胞数量未出现明显改变。此外，本研究还观察到Claudin 11表达主要定位于成熟的MBP中，提示Claudin 11蛋白在小鼠SE后表达量下降很可能与少突胶质细胞的发育状态以及髓鞘的完整性密切相关。基于这一发现，本研究进一步检测了SE后慢性期海马区MBP的表达变化，以验证Claudin 11蛋白的表达减



A: Representative movement trajectories of mice in each group during the open field test and elevated plus maze test; B: Open field test detects center zone entries; C: Open field test detects time spent in center zone; D: Elevated plus maze detects open arm entries; E: Elevated plus maze detects time spent in open arms

图8 旷场实验和高架十字迷宫评估过表达Claudin 11对小鼠焦虑情绪影响(n=7, $\bar{x}\pm s$)

Figure 8 Effects of Claudin 11 overexpression on anxiety-like behaviors in mice assessed by open field test and elevated plus maze test (n=7, $\bar{x}\pm s$)

少是否与MBP蛋白保持一致。结果显示,SE组小鼠海马区MBP的蛋白表达水平较Ctrl组出现了显著的降低,这一变化趋势与Claudin 11的变化完全一致,同时这也与课题组前期在SE大鼠模型中观察到的结果相吻合[6]。提示小鼠SE后OPC分化障碍导致髓鞘修复失败,可能与OPC分化形成髓鞘过程中的Claudin 11丢失有关,且OPC的早期分化并不依赖Claudin 11的调控,即使OPC出现了代偿性的增殖,也无法弥补成熟阶段的Claudin 11不足。综上,小鼠SE后Claudin 11与MBP的共同丢失,可能阻断OPC向成熟髓鞘阶段的分化进程,最终导致髓鞘修复失败及认知功能障碍,但其调控机制尚需进一步验证。

3.2 ICV介导Claudin 11过表达可改善SE后小鼠髓鞘结构损伤及空间认知功能

GOW等[23]构建了*Claudin 11*基因敲除的小鼠模型开展了系统性研究:在电生理检测中发现,与野生型小鼠相比,Claudin 11缺陷小鼠的有髓神经轴突传导速度显著减慢,部分神经纤维的传导效率下降幅度可达60%以上,且行为学实验表明,缺陷型小鼠普遍出现进行性后肢无力症状,表现为站立时后肢支撑不稳、行走时步态蹒跚,且在攀爬网格、跨越障碍物等需要肢体协调的任务中,完成效率显著降低,甚至无法维持正常的探索性活动。本研究采用侧脑室注射AAV病毒来增加小鼠海马区Claudin 11蛋白表达,通过透射电镜观察小鼠胼胝体髓鞘结构改变,发现与SE组小鼠G-ratio值相比,CV+SE组小鼠G-ratio值恢复接近正常水平,提示上调Claudin 11表达可以部分改善小鼠SE后髓鞘结构损伤;同时采用Y迷宫、Morris水迷宫等方法表明过表达Claudin 11可以部分改善小鼠的空间记忆功能。

3.3 过表达Claudin 11对SE后焦虑样行为的影响及其可能原因分析

本研究发现过表达Claudin 11后,各组小鼠焦虑样行为无显著差异。现有研究表明,Claudin 11主要参与髓鞘结构维持,其功能聚焦于髓鞘相关调控,尚无证据表明其参与焦虑情绪调控[9,23]。侧脑室AAV干预后,背侧海马的病毒转导效率明显高于腹侧海马,而空间认知损伤与焦虑行为调控分属不同病理进程,前者与背侧海马损伤相关,后者依赖腹侧海马环路[24],仅上调背侧海马髓鞘结构蛋白,难以逆转焦虑相关突触可塑性及环路功能紊乱。因此,Claudin 11过表达的功能效应主要体现为改善未成熟脑SE后的空间认知功能,对焦虑样行为无明显影响。

然而本研究仍存在一些局限性:①仅在小鼠SE模型中证实了Claudin 11过表达的神经保护效应,后续仍需通过功能缺失实验深入阐释其调控髓鞘发育的分子机制,并扩充髓鞘超微结构量化指标与多脑区髓鞘相关检测,以完善SE后髓鞘损伤与修复的系统评估;②Claudin 11在中枢髓鞘形成与稳态维持中发挥多维度调控作用,可通过与Tspan3/β1整合素、Shroom-2相互作用调控少突胶质细胞增殖分化及髓鞘生成,亦可经ADAM10介导调控Notch信号通路[9,11,25]。本研究发现,SE模型小鼠海马区Claudin 11表达下调,伴随MBP降低与髓鞘超微结构损伤,而Claudin 11过表达可有效改善上述病理改变。因此,可以推测SE后Claudin 11下调并通过破坏Claudin 11-Tspan3复合体功能、阻滞Shroom-2介导的细胞分化,并调控Notch下游信号通路,多环节抑制少突胶质细胞正常分化与髓鞘修复,该分子调控网络在SE病理进程中的时序特征与交互机制仍有待进一步阐明。

综上所述,本研究初步探索了未成熟脑SE模型中Claudin 11的表达变化及过表达效应,证实靶向上调Claudin 11可显著改善SE所致髓鞘结构损伤,恢复受损的空间记忆功能,为发育期惊厥性脑损伤髓鞘修复靶点研究提供了新线索,凸显Claudin 11蛋白潜在治疗价值,也为AAV介导的基因治疗临床转化及改善患儿预后提供了新依据与思路。后续将进一步探究Claudin 11分子调控机制,为SE患儿临床干预提供更坚实的理论支撑。

利益冲突 本文所有作者声明不存在利益冲突

参考文献:

[1] AULICKÁ Š. Current management of generalized convulsive status epilepticus in children[J]. Children, 2022, 9(10): 1586. DOI:10.3390/children9101586.

[2] FOUTCH K, TILTON I, COONEY A, *et al*. Adolescent seizure impacts oligodendrocyte maturation, neuronal-glial circuit formation, and myelination in the mammalian forebrain[J]. Neuroscience, 2025, 564: 144-159. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2024.11.050.

[3] LI X, PAN Y N, GUI J X, *et al*. The role and mechanism of AMIGO3 in the formation of aberrant neural circuits after status convulsion in immature mice[J]. Front Mol Neurosci, 2021, 14: 748115. DOI:10.3389/fnmol.2021.748115.

[4] GOLDSTEIN E Z, PERTSOVSKAYA V, FORBES T A, *et al*. Prolonged environmental enrichment promotes developmental myelination[J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 665409. DOI: 10.3389/fcell.2021.665409.

[5] BUCHANAN J, CHEADLE L. The many lives of an oligodendrocyte precursor cell[J]. Annu Rev Neurosci, 2025, 48: 425-444. DOI: 10.1146/annurev-neuro-112723-025806.

[6] SONG X J, HAN W, HE R, *et al*. Alterations of hippocampal myelin sheath and axon sprouting by status convulsion and regulating lingo-1 expression with RNA interference in immature and adult rats[J]. Neurochem Res, 2018, 43(3): 721-735. DOI:10.1007/s11064-018-2474-2.

[7] WANG L, MA J Q, BIAN Y Q, *et al*. SnRNA-seq interprets mechanisms by which three glial cell types influence myelin regeneration in adult drug-resistant epilepsy-related cognitive impairment[J]. Mol Neurobiol, 2025, 62(11): 14196-14220. DOI:10.1007/s12035-025-05206-8.

[8] GAO Z X, WANG L, LAI Q W, *et al*. Diosgenin promoted OPCs differentiation *via* blocking GLUR2/GAPDH interaction in a pilocarpine rat model of epilepsy[J]. Phytomedicine, 2025, 144: 156921. DOI:10.1016/j.phymed.2025.156921.

[9] GJERVAN S C, OZGOREN O K, GOW A, *et al*. Claudin-11 in health and disease: implications for myelin disorders, hearing, and fertility[J]. Front Cell Neurosci, 2024, 17: 1344090. DOI:10.3389/fncel.2023.1344090.

[10] RIEDHAMMER K M, STOCKLER S, PLOSKI R, *et al*. *De novo* stop-loss variants in *CLDN11* cause hypomyelinating leukodystrophy[J]. Brain, 2021, 144(2): 411-419. DOI: 10.1093/brain/awaa410.

[11] KOBAYASHI S, YOKOI T, OMATA T, *et al*. Claudin-11, a hypomyelinating leukodystrophy 22 (HLD22)-responsible protein, uniquely interacts with shroom-2 to change cell phenotypes[J]. BBA Adv, 2025, 7: 100159. DOI:10.1016/j.bbadva.2025.100159.

[12] CAMPBELL A, MORRIS G, HELLER J P, *et al*. Antagomir-mediated suppression of microRNA-134 reduces kainic acid-induced seizures in immature mice[J]. Sci Rep,

2021, 11: 340. DOI:10.1038/s41598-020-79350-7.

[13] 马梦蝶, 樊敏, 徐松林, 等. 红藻氨酸诱导大鼠癫痫发作及神经精神行为异常的性别差异[J]. 中国实验动物学报, 2024, 32(7): 889-900. DOI: 10.3969/j.issn.1005-4847.2024.07.008.
MA M D, FAN M, XU S L, *et al*. Gender difference in epileptic seizure and neuropsychiatric behavior abnormalities induced by kainic acid in rats[J]. Acta Lab Animalis Sci Sin, 2024, 32(7): 889-900. DOI: 10.3969/j.issn.1005-4847.2024.07.008.

[14] BROMLEY-BRITS K, DENG Y, SONG W H. Morris water maze test for learning and memory deficits in Alzheimer's disease model mice[J]. JoVE, 2011(53): e2920. DOI: 10.3791/2920.

[15] KRAEUTER A K, GUEST P C, SARNYAI Z. The Y-maze for assessment of spatial working and reference memory in mice[M]//Pre-Clinical Models. New York, NY: Springer New York, 2018: 105-111. DOI: 10.1007/978-1-4939-8994-2_10.

[16] ZOU X P, LIU S, ZOU H H, *et al*. Inflammatory mechanisms of *Ginkgo biloba* extract in improving memory functions through lncRNA-COX2/NF-κB pathway in mice with status epilepticus[J]. CNS Neurosci Ther, 2023, 29(1): 471-482. DOI:10.1111/cns.14019.

[17] WU Q, ZIERATH D, KNOX K M, *et al*. Acute dose-related effect of antiseizure medications on open field exploration of male rats with established epilepsy[J]. Epilepsy Behav, 2025, 171: 110583. DOI:10.1016/j.yebeh.2025.110583.

[18] LIU H Y, HUANG X, LI Y H, *et al*. TNF signaling pathway-mediated microglial activation in the PFC underlies acute paradoxical sleep deprivation-induced anxiety-like behaviors in mice[J]. Brain Behav Immun, 2022, 100: 254-266. DOI:10.1016/j.bbi.2021.12.006.

[19] ALSHEHRI R S, ALRAWAILI M S, ZAWAWI B M H, *et al*. Pathophysiology of status epilepticus revisited[J]. Int J Mol Sci, 2025, 26(15): 7502. DOI:10.3390/ijms26157502.

[20] SONI S, LI Y B, WYATT-JOHNSON S K, *et al*. Severity-dependent proteomic alterations in the rat hippocampus following pilocarpine-induced status epilepticus[J]. Mol Cell Neurosci, 2026, 137: 104092. DOI: 10.1016/j.mcn.2026.104092.

[21] TARASCHENKO O, PAVULURI S, SCHMIDT C M, *et al*. Seizure burden and neuropsychological outcomes of new-onset refractory status epilepticus: Systematic review[J]. Front Neurol, 2023, 14: 1095061. DOI: 10.3389/fneur.2023.1095061.

[22] BENCUROVA P, LAAKSO H, SALO R A, *et al*. Infantile status epilepticus disrupts myelin development[J]. Neurobiol Dis, 2022, 162: 105566. DOI: 10.1016/j.nbd.2021.105566.

[23] GOW A, SOUTHWOOD C M, LI J S, *et al*. CNS myelin and Sertoli cell tight junction strands are absent in osp/claudin-11 null mice[J]. Cell, 1999, 99(6): 649-659. DOI:10.1016/S0092-8674(00)81553-6.

[24] STRANGE B A, WITTER M P, LEIN E S, *et al*. Functional organization of the hippocampal longitudinal axis[J]. Nat Rev Neurosci, 2014, 15(10): 655-669. DOI: 10.1038/nrn3785.

[25] LINDSEY R C, XING W R, POURTEYMOOR S, *et al*. Novel role for claudin-11 in the regulation of osteoblasts *via* modulation of ADAM10-mediated Notch signaling[J]. J Bone Miner Res, 2019, 34(10): 1910-1922. DOI:10.1002/jbmr.3763.

(**收稿**:2026-04-17;**修回**:2026-05-02)

(编辑 张艺霖)