

# 大麻二酚对创伤性脑损伤大鼠脑皮质 Occludin、ZO-1 表达水平及血脑屏障通透性的影响

李佳丽<sup>1\*</sup>, 曹艳<sup>1\*</sup>, 凌腾哈<sup>1</sup>, 尹爱平<sup>1</sup>, 李恒希<sup>1</sup>, 李经辉<sup>2</sup>, 张瑞林<sup>3</sup>, 吴海鹰<sup>4</sup>, 李坪<sup>1</sup>

**摘要** 目的 观察创伤性脑损伤(TBI)大鼠血脑屏障(BBB)中紧密连接蛋白闭合蛋白(Occludin)、闭锁小带蛋白1(ZO-1)的表达及变化趋势,探讨大麻二酚(CBD)对BBB的干预作用。方法 采用改良Feeney自由落体法制备大鼠TBI模型,将大鼠随机分为3组:假手术组(Sham组)、模型组(TBI+vehicle组)和CBD干预组(TBI+CBD组),每组24只;每个组又分为损伤后8 h、1、2、3、5和7 d共6个时间点,通过免疫组化和免疫荧光染色,Western blot检测与BBB通透性密切相关的Occludin和ZO-1在不同时间点的表达情况;通过荧光素钠实验检测BBB通透性。结果 免疫组

化实验结果表明,与假手术组相比,TBI后随着时间推移Occludin和ZO-1蛋白阳性表达减少( $P < 0.05$ ),2 d达到最低;CBD干预1 d后Occludin和ZO-1蛋白表达水平均上调( $P < 0.05$ );免疫荧光染色实验与Western blot结果趋势近似,与假手术组相比,TBI后Occludin和ZO-1荧光表达强度及蛋白表达量减少( $P < 0.05$ ),CBD干预2 d后Occludin和ZO-1表达水平上调( $P < 0.05$ );荧光素钠实验结果表明,TBI后脑组织BBB完整性遭到破坏,通透性升高( $P < 0.01$ ),CBD干预后BBB通透性下降( $P < 0.05$ )。结论 TBI后紧密连接蛋白Occludin和ZO-1表达下降,BBB通透性升高,CBD干预可逆转TBI对BBB的破坏。

**关键词** 大麻二酚;创伤性脑损伤;血脑屏障;紧密连接蛋白;大鼠;闭合蛋白;闭锁小带蛋白1

**中图分类号** R 742

**文献标志码** A 文章编号 1000-1492(2024)03-0478-06  
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.03.017

2024-02-23 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:82060241、82260387);云南省科技厅计划项目(编号:202101AY070001-002);昆明医科大学研究生创新基金(编号:2023S133)

作者单位:昆明医科大学<sup>1</sup>人体解剖学与组织胚胎学系、<sup>3</sup>法学院,昆明 650500

昆明医科大学第一附属医院<sup>2</sup>神经外科、<sup>4</sup>急诊科,昆明 650032

作者简介:李佳丽,女,硕士研究生;

吴海鹰,女,主任医师,博士生导师,责任作者,E-mail: why02092022@163.com;

李坪,女,教授,博士生导师,责任作者,E-mail: kyzp@163.com

\*对本文具有同等贡献

创伤性脑损伤(trumatic brain injury, TBI)是一种由于外力作用于大脑而导致的中枢神经系统疾病<sup>[1-2]</sup>。TBI的继发性损伤涉及血脑屏障(blood brain barrier, BBB)受损、水肿、炎症等复杂的级联反应, BBB主要由紧密连接的脑微血管内皮细胞、周细胞、星形胶质细胞足板和基底膜组成,在维持大脑稳态中至关重要。其完整性与紧密连接蛋白密切相

the AS plaque region, and the expression of SPARCL1 protein was also detected in the neutrophils and monocytes of peripheral blood of AS patients and normal controls; SPARCL1 overexpressing and the recombinant adenoviral vectors were constructed to inhibit SPARCL1 overexpression and expression, and the effects of SPARCL1 on cell migration were observed in the cell scratch assay using mouse macrophage cells (J774A.1) as target cells. **Results** Serum SPARCL1 levels in the AS patient group were lower than those in the healthy group ( $P < 0.05$ ); high SPARCL1 expression was detected in AS plaques and was mainly expressed in the cytoplasm of foamy cells; SPARCL1 expression levels in peripheral blood neutrophils and monocytes were lower than those in normal controls in AS patients ( $P < 0.05$ ); recombinant SPARCL1 overexpression and inhibition of expression of adenovirus was successfully constructed; the cell migration rate was decreased in J774A.1 cells that inhibited SPARCL1 expression and increased in J774A.1 cells that overexpressed SPARCL1 ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** SPARCL1 is highly expressed in foam cells at the site of AS lesions, which may result from compensatory recruitment of peripheral blood monocytes and neutrophils, and SPARCL1 may be involved as a protective factors for blood vessels in inhibiting the development of AS plaques.

**Key words** SPARCL1; atherosclerosis; macrophages; SPARCL1 recombinant adenovirus; cell scratching assay

关,主要包括闭合蛋白(Occludin)、密封蛋白和闭锁小带蛋白-1(zonula occluden-1,ZO-1),紧密连接蛋白 Occludin 和 ZO-1 被认为是判断 BBB 完整性的标志物<sup>[3]</sup>。BBB 受损被认为是 TBI 高发病率和高病死率的主要危险因素之一<sup>[4-5]</sup>,因此寻找药物干预 TBI 后 BBB 损伤具有重要意义。大麻二酚(cannabidiol,CBD)是天然植物大麻的主要提取物之一,具有抗氧化应激、抗炎、促进神经细胞增殖以及抑制凋亡等神经保护作用,能够改善脑损伤<sup>[6-7]</sup>。但其是否对紧密连接蛋白 Occludin 和 ZO-1 表达水平产生干预作用以及干预作用是否随着干预时间变化而产生变化尚不明确。因此,该研究旨在探讨 CBD 对 TBI 后紧密连接蛋白 Occludin 和 ZO-1 的表达水平和对 BBB 渗透性的干预作用,从而探索 TBI 潜在治疗药物,以及为 CBD 用药提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 实验动物** SPF 级 SD 雄性大鼠,体质量 260~280 g,共 72 只,由实验动物中心提供。提前 1 周运至实验室,常规饲养(温度 20~25 °C、湿度 55%~65%,给予自由饮食、饮水)。

**1.1.2 主要试剂和仪器** CBD 粉末(云南汉素公司,货号:20200601,纯度 $\geq 99.5\%$ )兔抗大鼠 ZO-1 多克隆抗体(江苏亲科生物研究中心有限公司,货号:AF5145),兔抗大鼠 Occludin 多克隆抗体(货号:27260-1-AP),兔抗大鼠  $\beta$ -actin 多克隆抗体(货号:20536-1-AP),HRP 标记的山羊抗兔 IgG 二抗(货号:SA00001-2)均购自武汉三鹰生物技术有限公司,Cy3 标记的山羊抗兔 IgG 抗体(货号:C2306),含 DAPI 的抗荧光衰减封片剂(货号:F6057)均购自美国 sigma 公司,BCA 蛋白浓度测定试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司,货号:P00010),即用型免疫组化超敏 UltraSensitive™ SP 试剂盒(福州迈新生物技术开发有限公司,货号:KIT-9720),高灵敏化学发光检测试剂盒(北京兰杰柯科技有限公司,货号:BL520A),三氯乙酸(trichloroacetic acid,TCA,上海易恩化学技术有限公司,货号:R050965),氢氧化钠(sodium hydroxide,NaOH,云南景锐科技有限公司,货号:K7-1),多功能酶标仪(美国 Thermo Fisher 公司,型号:Multiskan FC),大鼠脑立体定位仪(深圳瑞沃德生命科技有限公司,型号:68802),VICTOR Nivo™ 多模式微孔板检测仪(美国 Perkin Elmer 公司,型号:VICTOR Nivo™),光学显微镜(德国 Leica

公司,型号:DM4000B),凝胶成像系统(美国 Bio-Rad 公司,型号:Chemi Doc™ XRS+),荧光倒置显微镜(德国 Zeiss 公司,型号:Axio Observer)。

### 1.2 方法

**1.2.1 动物分组及模型制备** SD 大鼠随机分为 3 组:假手术组(Sham 组)、模型组(TBI + vehicle 组)和 CBD 干预组(TBI + CBD 组),每组 24 只大鼠。每个组又分为损伤后 8 h、1、2、3、5 和 7 d 共 6 个时间点,观察 TBI 急性期损伤情况。模型组和 CBD 干预组大鼠的 TBI 模型采用改良“Feeney 自由落体撞击法”制备。大鼠采用 2% 戊巴比妥钠(2 ml/kg)进行腹腔注射麻醉,后固定于脑立体定位仪上,头顶部消毒后,以矢状缝右侧 2.5 mm 和冠状缝下侧 2 mm 为中心,开一个直径约 6 mm 的骨窗。将 40 g 砝码通过铜管从 15 cm 高度落下,打击撞击子至脑组织从而造成 TBI。止血后用骨蜡封闭骨窗并缝合皮肤。假手术组不进行打击,其余步骤相同。CBD 粉末先溶于 DMSO,再使用 2% Tween-80 生理盐水稀释至终浓度为 1%。在 TBI 大鼠造模前 30 min、TBI 造模后 6 h 以及之后每 d 直至取材前 1 d 对 CBD 干预组大鼠进行 CBD(10 mg/kg)<sup>[8]</sup>腹腔注射。模型组注射等体积溶剂(2% Tween-80 生理盐水)。根据免疫组化检测 Occludin 和 ZO-1 蛋白阳性表达的实验结果,以及课题组前期探索出脑损伤高峰期为 2 d,后续模型组使用造模后 2 d(TBI 2d + vehicle 组)大鼠进行后续实验。

**1.2.2 免疫组织化学染色检测脑组织 Occludin、ZO-1 蛋白阳性表达** 3 组大鼠,在 6 个不同时间点处死,提取脑组织经 4% 多聚甲醛固定后进行石蜡包埋,制备厚度为 5  $\mu$ m 的冠状石蜡切片。利用即用型免疫组化超敏 UltraSensitive™ SP 试剂盒进行免疫组织化学染色。切片常规脱蜡至水后,进行高温高压抗原修复,冷却至室温,滴加试剂 1(内源性过氧化物酶阻断剂)室温孵育 10 min,试剂 2(非特异性染色阻断剂)室温孵育 20 min,滴加兔抗大鼠 ZO-1 多克隆抗体或兔抗大鼠 Occludin 多克隆抗体(1:500)于 4 °C 冰箱过夜,次日室温接着孵育 30 min 至室温,滴加试剂 3(生物素标记的羊抗兔 IgG 聚合物)室温孵育 1 h,滴加试剂 4(链霉菌抗生素蛋白-过氧化物酶)室温孵育 15 min,DAB 显色,梯度乙醇脱水、二甲苯透明后使用中性树胶封固切片。采图部位位于打击损伤处靠近中缝的位置,采集大脑损伤侧皮质区染色结果图,每张切片随机选取 5 个视野,使用 ImageJ 软件分析免疫阳性细胞的平均

光密度值。

**1.2.3 免疫荧光染色检测脑组织 Occludin、ZO-1 蛋白阳性表达情况** 石蜡切片抗原修复后,使用 10% 山羊血清室温封闭 1 h,滴加兔抗大鼠 ZO-1 多克隆抗体或兔抗大鼠 Occludin 多克隆抗体 (1:200) 于 4 °C 冰箱过夜,次日室温复温 30 min 后,滴加 Cy3 标记的山羊抗兔 IgG 抗体 (1:200) 室温孵育 1 h,使用含有 DAPI 的抗荧光衰减封片剂封片。采图部位位于打击损伤处靠近中缝的位置,采集大脑损伤侧皮质区染色结果图,每张切片随机选取 5 个视野,使用 ImageJ 软件分析阳性细胞的平均荧光强度。

**1.2.4 Western blot 实验检测脑组织 Occludin、ZO-1 蛋白表达量** 提取各组大鼠损伤侧皮质区脑组织蛋白,通过 BCA 法测定蛋白浓度。每孔取 20 μg 样品蛋白,通过 SDS-PAGE 凝胶电泳将蛋白分离,电转移至 PVDF 膜,室温下用 5% 脱脂牛奶封闭 2 h 后,用 1:1 000 的兔抗大鼠 Occludin 或 ZO-1 多克隆抗体和 1:5 000 的兔抗大鼠 β-actin 多克隆抗体 4 °C 摇床孵育过夜,次日用 1:10 000 的 HRP 标记的山羊抗兔 IgG 二抗室温孵育 1 h。采用高灵敏化学发光检测试剂盒和 ChemiDoc™ XRS + 凝胶成像系统显色并进行采图,使用 ImageJ 软件分析灰度值。

**1.2.5 荧光素钠法检测大鼠 BBB 通透性** 建立荧光素钠溶液浓度为 0~0.05 μg/ml 的荧光强度值标准曲线,  $R^2 = 0.997$ 。3 组大鼠 2 d 后以 2 ml/kg 的剂量腹腔注射荧光素钠溶液 (100 mg/ml, 溶解于 PBS 中),循环 30 min 后麻醉大鼠进行造模,心脏灌注取损伤侧脑皮质组织 100 mg,加入 500 μl 的 7.5% TCA 研磨成匀浆,再加入 500 μl 的 PBS 冲洗混匀,4 °C、10 000 r/min 离心 10 min,收集上清液。黑色 96 孔板中每孔加入 120 μl 上清液和 30 μl 的 5 mol/L NaOH,用多功能酶标仪在 excitation 波长 485 nm 和 emission 波长 530 nm 处测定样本荧光强度值,带入标准曲线算出荧光素钠浓度。

**1.3 统计学处理** 使用 GraphPad Prism 6.0 软件进行统计分析,所有数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。多组间比较采用单因素方差分析进行比较,两组间比较采用 Student's *t* 检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 CBD 干预后上调 TBI 大鼠损伤侧皮质区 Occludin、ZO-1 蛋白阳性表达** 3 组大鼠免疫组化结果显示, Occludin、ZO-1 蛋白阳性表达呈点状及不规

则形状 (图 1A、B)。对 Occludin、ZO-1 蛋白阳性表达进行统计发现,与 Sham 组相比,随着时间推移,不同时间点的 TBI + vehicle 组 Occludin、ZO-1 蛋白阳性表达均下降,其中 2 d 下降最明显 ( $t_{\text{Occludin}} = 3.570、4.053、7.479、5.290、4.590、3.622$ , 均  $P < 0.05$ ;  $t_{\text{ZO-1}} = 2.823、4.112、4.681、3.925、4.924、3.667$ , 均  $P < 0.05$ ); 与 TBI + vehicle 组相比, TBI + CBD 组 Occludin、ZO-1 平均光密度值在 1 d 后均升高 ( $t_{\text{Occludin}} = 4.444、7.699、3.432、4.916、4.194$ , 均  $P < 0.05$ ;  $t_{\text{ZO-1}} = 0.142、2.858、3.251、3.697、2.970、3.406$ , 均  $P < 0.05$ )。见图 1C、D。

**2.2 CBD 干预 TBI 大鼠损伤侧皮质区 Occludin、ZO-1 平均荧光强度值升高** 3 组大鼠免疫荧光实验结果显示, Occludin、ZO-1 阳性表达成点状、条索状或不规则状 (图 2A、B)。对二者阳性表达的平均荧光强度值进行统计发现,与 Sham 组相比, TBI 2 d + vehicle 组 Occludin、ZO-1 平均荧光强度值下降 ( $t = 2.593、3.735$ , 均  $P < 0.05$ ); 与 TBI 2 d + vehicle 组相比, CBD 干预后平均荧光强度值均升高 ( $t = 3.227、3.523$ , 均  $P < 0.05$ )。见图 2C、D。

**2.3 CBD 干预 TBI 大鼠损伤侧皮质区 Occludin、ZO-1 蛋白表达量升高** Western blot 实验结果显示,与 Sham 组相比, TBI 2 d + vehicle 组 Occludin、ZO-1 蛋白表达量下降 ( $t = 4.861、6.048$ , 均  $P < 0.01$ ); 与 TBI 2 d + vehicle 组相比, CBD 干预后 Occludin、ZO-1 蛋白表达量均升高 ( $t = 6.067、4.320$ , 均  $P < 0.05$ ), 见图 3。

**2.4 CBD 干预 TBI 大鼠 BBB 通透性降低** 荧光素钠实验结果显示,与 Sham 组相比, TBI 2 d 后,大鼠脑皮质组织的荧光素钠含量上升 ( $t = 5.156$ ,  $P < 0.01$ ),提示 BBB 通透性升高;与 TBI 2 d + vehicle 组相比, CBD 干预后大鼠脑皮质组织的荧光素钠含量明显下降 ( $t = 2.785$ ,  $P < 0.05$ ),提示 BBB 通透性下降。见图 4。

## 3 讨论

TBI 在全国乃至全球的致残率、致死率仍居高不下, TBI 后 BBB 的破坏是继发性脑损伤的风险之一。BBB 作为维持大脑稳态的关键结构,其完整性具有重要意义。当 BBB 结构遭到破坏,其通透性发生变化,从而导致大脑内环境遭到破坏。本研究结果显示, TBI 后大鼠 Occludin 和 ZO-1 均下降,这与 Yan et al<sup>[9]</sup> 人研究结果一致。同时本研究显示 Occludin 和 ZO-1 在 TBI 后 2 d 表达量最低,证明了紧

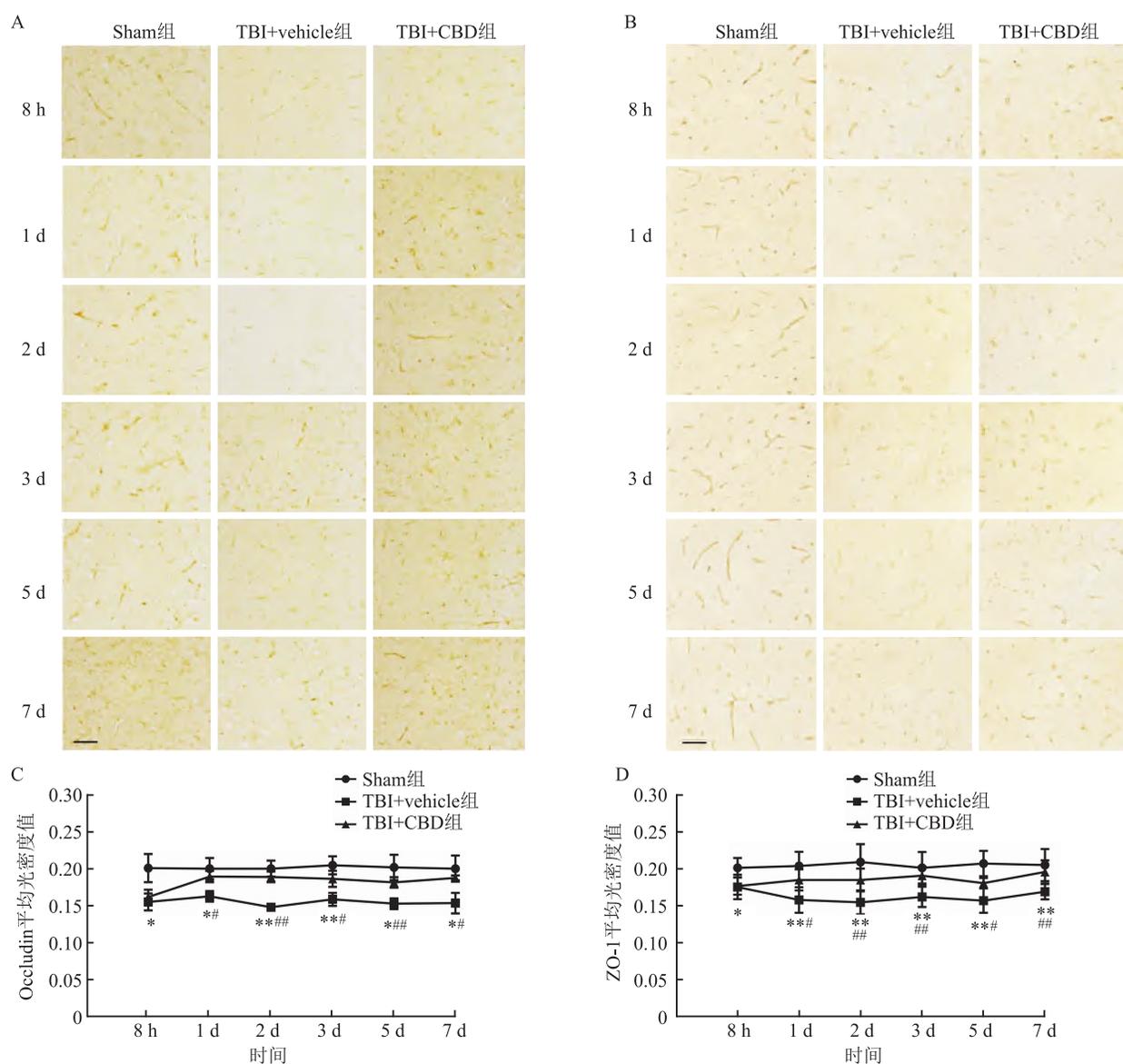


图1 免疫组织化学染色检测各组大鼠紧密连接蛋白 Occludin、ZO-1 阳性表达

A: Occludin 免疫组化图片 ×400; B: ZO-1 免疫组化图片 ×400; C: 各组 Occludin 阳性表达平均光密度值的比较; D: 各组 ZO-1 阳性表达平均光密度值的比较; 与 Sham 组比较: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ ; 与 TBI + vehicle 组比较: #  $P < 0.05$ , ##  $P < 0.01$

密连接蛋白 Occludin 和 ZO-1 参与了 TBI 后病理改变, TBI 后大鼠 BBB 遭到破坏。这与 Fu et al<sup>[10]</sup> 人研究结果近似。另外有研究<sup>[11]</sup> 显示, 大鼠低压缺氧后 7 d 脑组织荧光素钠含量明显升高, 说明 BBB 完整性受损, 通透性升高, 这与本研究结果近似。本研究结果显示 TBI 后 2 d 脑组织荧光素钠含量升高, BBB 通透性升高, CBD 干预后脑组织荧光素钠含量下降, BBB 通透性下降。

CBD 是天然植物大麻的主要提取物之一, 因其不具有精神活性且易穿过 BBB, 在多种中枢系统神经疾病中均发挥神经保护作用, 具有潜在的应用价值<sup>[6-7]</sup>。Belardo et al<sup>[12]</sup> 研究结果发现, 口服 CBD

可减轻 TBI 小鼠的神经功能障碍。本实验结果显示, CBD 干预后 1、2、3、5 和 7 d, 紧密连接蛋白 Occludin 和 ZO-1 阳性表达升高。CBD 干预 2 d 后 Occludin 和 ZO-1 的平均荧光强度以及蛋白表达量都出现升高, 同时 BBB 通透性下降, 以上均提示 CBD 对 TBI 后 BBB 的破坏具有一定的保护作用, 降低了 BBB 通透性, 保护了 BBB 完整性。

综上所述, 本研究显示 TBI 后紧密连接蛋白 Occludin 和 ZO-1 表达下降, BBB 通透性升高, CBD 干预可逆转 TBI 对 BBB 的破坏。本研究为治疗 TBI 提供潜在有效药物, 然而关于 CBD 干预 BBB 通透性的机制还需进一步研究。

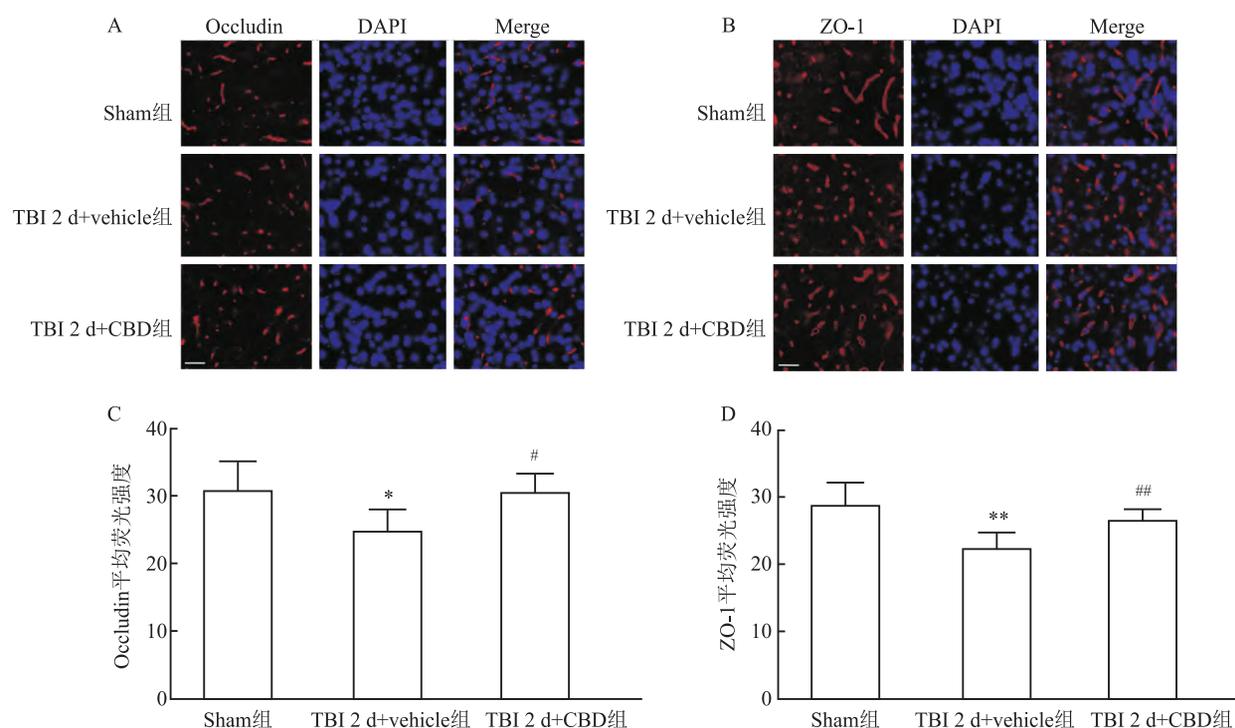


图2 免疫荧光染色检测各组大鼠损伤侧皮质区 Occludin、ZO-1 平均荧光强度表达情况

A:Occludin 免疫荧光图片 ×400;B:ZO-1 免疫荧光图片 ×400;C:各组 Occludin 阳性表达平均荧光强度的比较;D:各组 ZO-1 阳性表达平均荧光强度的比较;与 Sham 组比较: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ ;与 TBI 2 d + vehicle 组比较: #  $P < 0.05$ , ##  $P < 0.01$

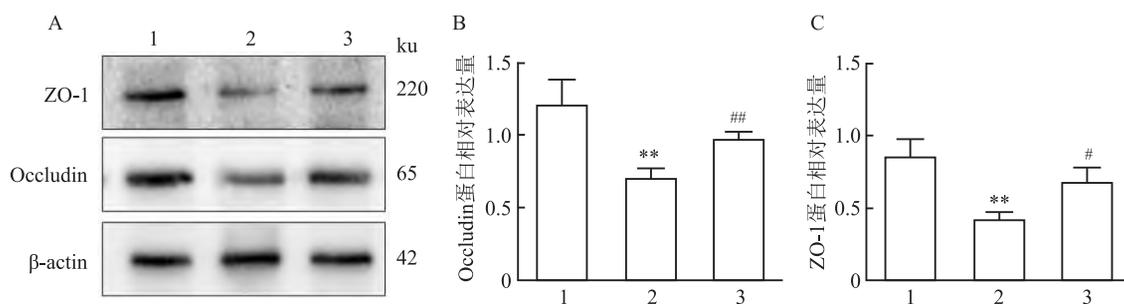


图3 Western blot 检测各组大鼠损伤侧皮质区 Occludin、ZO-1 蛋白表达量

A:Occludin,ZO-1 和 β-actin 蛋白条带图;B:各组 Occludin 蛋白表达的比较;C:各组 ZO-1 蛋白表达的比较;1:Sham 组;2:TBI 2 d + vehicle 组;3:TBI 2 d + CBD 组;与 Sham 组比较: \*  $P < 0.01$ ;与 TBI 2 d + vehicle 组比较: #  $P < 0.05$ , ##  $P < 0.01$

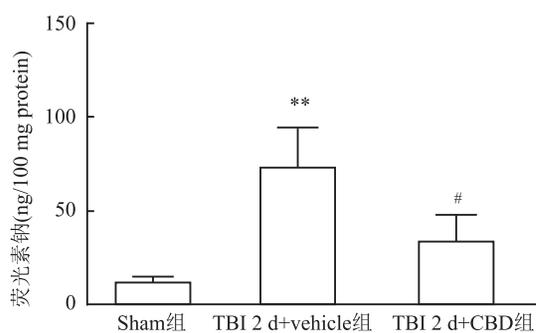


图4 大鼠脑皮质组织荧光素钠荧光强度的比较

与 Sham 组比较: \*\*  $P < 0.01$ ;与 TBI 2 d + vehicle 组比较: #  $P < 0.05$

### 参考文献

- [1] Liu J, Xiong X, Sui Y. Isoliquiritigenin attenuates neuroinflammation in traumatic brain injury in young rats[J]. *Neuroimmunomodulation*,2019,26(2):102 – 10.
- [2] 孙衍昶,徐鹏翔,何青龙,等. 外泌体转运 miR-223 改善创伤性脑损伤的作用和机制[J]. *安徽医科大学学报*,2023,58(7):1111 – 8.
- [3] Wang F, Li R, Tu P, et al. Total glycosides of *Cistanche deserticola* promote neurological function recovery by inducing neurovascular regeneration *via* Nrf-2/Keap-1 pathway in MCAO/R rats [J]. *Front Pharmacol*,2020,11:236.
- [4] Lu Q, Xiong J, Yuan Y, et al. Minocycline improves the functional recovery after traumatic brain injury *via* inhibition of aqua-

- porin-4[J]. *Int J Biol Sci*,2022,18(1):441–58.
- [5] Cash A, Theus M H. Mechanisms of blood-brain barrier dysfunction in traumatic brain injury[J]. *Int J Mol Sci*,2020,21(9):3344.
- [6] Cassano T, Villani R, Pace L, et al. From cannabis sativa to cannabidiol: promising therapeutic candidate for the treatment of neurodegenerative diseases[J]. *Front Pharmacol*,2020,11:124.
- [7] Calapai F, Cardia L, Sorbara E E, et al. Cannabinoids, blood-brain barrier, and brain disposition[J]. *Pharmaceutics*,2020,12(3):265.
- [8] 曹 艳. 创伤性脑损伤中大麻二酚下调星形胶质细胞活化的机制研究[D]. 昆明:昆明医科大学,2022.
- [9] Yan J, Zhang Y, Wang L, et al. TREM2 activation alleviates neural damage *via* Akt/CREB/BDNF signalling after traumatic brain injury in mice[J]. *J Neuroinflammation*, 2022, 19(1):289.
- [10] Fu S L, Zhu L N, Yin H H, et al. Da-Cheng-Qi decoction combined with *Lactobacillus acidophilus* improves gastrointestinal function of traumatic brain-injured model mice[J]. *Chin J Integr Med*,2020,26(10):762–8.
- [11] Liu P, Pan L, Cui L, et al. Cordycepin ameliorates acute hypobaric hypoxia induced blood-brain barrier disruption, and cognitive impairment partly by suppressing the TLR4/NF- $\kappa$ B/MMP-9 pathway in the adult rats[J]. *Eur J Pharmacol*, 2022, 924:174952.
- [12] Belardo C, Iannotta M, Boccella S, et al. Oral cannabidiol prevents allodynia and neurological dysfunctions in a mouse model of mild traumatic brain injury[J]. *Front Pharmacol*,2019, 10:352.

## Effects of cannabidiol on the expression of Occludin and ZO-1 and the permeability of blood-brain barrier in the cerebral cortex of rats with traumatic brain injury

Li Jiali<sup>1</sup>, Cao Yan<sup>1</sup>, Ling Tenghan<sup>1</sup>, Yin Aiping<sup>1</sup>, Li Hengxi<sup>1</sup>, Li Jinghui<sup>2</sup>, Zhang Ruilin<sup>3</sup>, Wu Haiying<sup>4</sup>, Li Ping<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>*Dept of Human Anatomy and Histology & Embryology*, <sup>3</sup>*School of Forensic Medicine, Kunming Medical University, Kunming 650500*; <sup>2</sup>*Dept of Neurosurgery*, <sup>4</sup>*Dept of Emergency, First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032*)

**Abstract Objective** To observe the expression and trends of tight junction proteins Occludin and zonula occluden-1 (ZO-1) in blood-brain barrier (BBB) of rats with traumatic brain injury (TBI), and to explore the intervention effect of cannabidiol (CBD) on the BBB. **Methods** The TBI model of rat was prepared by modified “Feeney free fall method” and randomly divided into three groups: the sham-operated group (Sham group), the model group (TBI + vehicle group) and the CBD intervention group (TBI + CBD group), with 24 rats in each group. Each group was subdivided into six time points: 8 h, 1, 2, 3, 5 and 7 d after injury. The expression of Occludin and ZO-1, which are closely related to the permeability of BBB, was detected by immunohistochemistry, immunofluorescence staining and Western blot at different points. The permeability of BBB was detected by sodium fluorescein assay. **Results** The results of immunohistochemistry showed that compared with Sham group, the positive expression of Occludin and ZO-1 decreased with time after brain trauma ( $P < 0.05$ ), and both reached the lowest level at 2 d. The expression levels of Occludin and ZO-1 were up-regulated after 1 d of CBD intervention ( $P < 0.05$ ). Immunofluorescence staining showed a similar trend to Western blot results, with Occludin and ZO-1 fluorescence expression intensity and protein expression reduced after TBI compared with Sham group ( $P < 0.05$ ). And the expression levels of Occludin and ZO-1 were up-regulated after 2 d of CBD intervention ( $P < 0.05$ ). The results of fluorescein sodium experiment showed that the BBB integrity of brain tissue was destroyed after TBI, and the permeability increased after TBI ( $P < 0.01$ ). The permeability of BBB decreased after CBD intervention ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The expression of tight junction proteins Occludin and ZO-1 decreases after TBI, and the permeability of BBB is disrupted, and CBD intervention reverses the disruption of the BBB by TBI.

**Key words** cannabidiol; traumatic brain injury; blood brain barrier; tight junction protein; rats; Occludin; zonula occluden-1