

文章编号: 1008-1542(2021)04-0400-10

星形胶质细胞线粒体作为缺血性 脑卒中治疗靶点的探讨

苏晓梅¹, 张丹参^{1,2}

(1. 河北医科大学基础医学院, 河北石家庄 050017; 2. 河北科技大学化学与制药工程学院, 河北石家庄 050018)

摘要:缺血性脑卒中是中老年常见的急性脑血管病,是当今世界主要的致死性疾病之一。现有治疗方案有限,仅适用于一小部分中风患者。因此,开发有效的治疗方法以减少脑损伤至关重要。星形胶质细胞(astrocyte, AS)是中枢神经系统的核心组成部分,其线粒体功能障碍是缺血性脑卒中的初始事件,在神经元存活和神经功能改善过程中发挥着重要作用。以 AS 细胞线粒体在缺血性脑卒中发病中的作用机制为切入点,分析讨论了缺血性脑卒中发生时 AS 细胞线粒体的生物能量与动力学变化、细胞之间线粒体的转移以及 AS 细胞线粒体对脑血流的调节作用,提出将 AS 细胞线粒体作为治疗缺血性脑卒中的靶点之一,以更好地了解 AS 细胞线粒体在缺血诱导的神经元死亡过程中的重要作用,为缺血性脑卒中的新型治疗方案提供理论基础。

关键词:神经生物化学;星形胶质细胞;线粒体;缺血性脑卒中;脑损伤

中图分类号:TQ464.51;R963

文献标识码:A

doi:10.7535/hbkd.2021yx04010

Discussion of astrocytic mitochondria as a therapeutic target for ischemic stroke

SU Xiaomei¹, ZHANG Danshen^{1,2}

(1. Pharmacological Division of Basic Medical College, Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei 050017, China; 2. School of Chemical and Pharmaceutical Engineering, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang, Hebei 050018, China)

Abstract: Ischemic stroke is a common acute cerebrovascular disease in the middle-aged and elderly, and one of the most fatal diseases in the world. There are limited treatment options that currently exist and only apply to a small proportion of

收稿日期:2021-04-13;修回日期:2021-05-21;责任编辑:王淑霞

基金项目:河北省重点研发计划项目(20372509D);河北省自然科学基金(H2020208032);河北省高等学校科学技术研究项目(ZD2020117);河北省中医药管理局中医药科研计划项目(2020268);中央财政公共卫生专项“中药资源普查项目”(Z135080000022)

第一作者简介:苏晓梅(1991—),女,河北石家庄人,博士研究生,主要从事神经药理学方面的研究。

通讯作者:张丹参教授。E-mail:zhangds2011@126.com

苏晓梅,张丹参.星形胶质细胞线粒体作为缺血性脑卒中治疗靶点的探讨[J].河北科技大学学报,2021,42(4):400-409.

SU Xiaomei, ZHANG Danshen. Discussion of astrocytic mitochondria as a therapeutic target for ischemic stroke[J]. Journal of Hebei University of Science and Technology, 2021, 42(4): 400-409.

stroke patients, so developing effective treatments to reduce brain damage is critical. Astrocytes are the core components of the central nervous system. Mitochondrial dysfunction is the initial event of ischemic stroke and plays an important role in neuronal survival and neurological function improvement. In this paper, based on the role of astrocytic mitochondria in the pathogenesis of ischemic stroke, the changes of the biological energy and dynamics of astrocytic mitochondria, the functional transfer to neurons and the regulation of astrocytic mitochondria on cerebral blood flow by astrocytic mitochondria were discussed. Emphasized that astrocytic mitochondria can be used as one of the targets for the treatment of ischemic stroke, so as to better understand the role of astrocytic mitochondria in the process of ischemia-induced neuronal death, and to provide a theoretical basis for the new treatment of ischemic stroke.

Keywords: neurobiochemistry; astrocyte; mitochondria; ischemic stroke; brain damage

人类大脑由 2 类细胞组成,一类是神经元,另一类是神经胶质细胞。神经胶质细胞的数量约为神经元的 10 倍,神经胶质细胞在神经元之间充当填充物,同时为神经元提供营养。神经胶质细胞的主要成员是星形胶质细胞(astrocyte, AS), AS 细胞是神经网络的支持基质,作为中枢神经系统功能的核心组成部分,具有缓冲细胞外离子、清除氨基酸神经递质、限制兴奋性毒性、释放神经递质、促进突触发育等作用,对血脑屏障的完整性和控制神经活动至关重要。线粒体是细胞能量来源,其作用包括参与整合细胞功能,调节 Ca^{2+} 信号,协调局部新陈代谢,整合生存、死亡线索等。AS 细胞线粒体对缺血性脑卒中(ischemic stroke, IS)有着独特作用,使 AS 细胞对缺氧环境具有弹性和适应性,并且在 IS 后神经元网络重构中发挥重要调节作用。本文分析了缺血期间 AS 细胞线粒体的生物能量与动力学变化、细胞之间线粒体的转移以及 AS 细胞线粒体对脑血流的调节作用,提出可以通过调节 AS 细胞线粒体以对抗缺血性脑卒中,将 AS 细胞线粒体作为治疗缺血性脑卒中损伤的重要靶点。

1 发病机制概述

脑卒中是由急性发生的血管或血液异常导致脑部血液循环障碍而发生的神经功能缺损综合征,具有高患病率、高复发率、高致残率和高死亡率的特点。脑卒中是全球造成死亡和长期致残的主要原因之一^[1],是中国人死亡的第三大因素,仅次于恶性肿瘤和心脏病^[2],2018 年 157 万人因脑卒中死亡,占全部死亡人数的 22.33%。临床上将脑卒中分为缺血性脑卒中、出血性脑卒中和短暂性脑缺血,其中缺血性脑卒中占比高达 87%,是脑卒中的主要类型,主要由大脑动脉栓塞引起^[3]。大脑血液供应不足会使脑细胞失去必要的葡萄糖和氧气,扰乱细胞内环境平衡,从而触发病理生理过程,包括兴奋性氨基酸毒性、氧化应激、炎症、细胞凋亡和细胞死亡等^[4],并且各种病理机制之间相互关联,构成复杂的信号网络,最终导致级联性脑损伤。短时间缺血时,脑组织血液快速恢复,可以减轻神经元损伤,使其功能得到一定程度的恢复;若缺血时间过长,神经元则出现不可逆损伤,即使血液再灌注也不能促进组织恢复,反而引起继发性损伤,因此缺血的有效治疗方法是尽快恢复缺血组织的血流量^[5]。例如,缺血性脑卒中的标准护理是利用重组组织型纤溶酶原激活剂(recombinant tissue plasminogen activator, t-PA)溶栓或通过血管造影进行血管重建,清除脑动脉阻塞。但 t-PA 治疗窗较窄,需要在脑卒中后 3 h 内静脉注射(某些符合条件的患者可延长至 4.5 h,且患者必须符合多项选择标准,临床上大约只有 8% 的脑卒中患者接受了 t-PA 溶栓治疗^[6])。为了解决目前脑卒中治疗方法的不足,开发新的治疗靶点至关重要。

缺血性脑卒中通常是由动脉栓塞或血栓性阻塞造成的脑血流量减少引起的。实验过程中常用动物的脑缺血再灌注损伤模型模拟缺血性脑卒中,其损伤机制从时间上可分为 3 个阶段:急性缺血带来的氧分压降低及能量剥夺、恢复供血后 Ca^{2+} 超载诱导神经炎症、再灌注后期神经细胞死亡^[7]。线粒体作为能量代谢的重要细胞器,富含大量酶类,这些酶不仅参与细胞氧化磷酸化和 ATP 合成,还调节细胞内 Ca^{2+} 与活性氧(reactive oxygen species, ROS),维持细胞稳态。当缺血性脑卒中发生时,线粒体维持的动态平衡被打破,相关信号通路被激活,最终诱导神经细胞级联性损伤。具体损伤过程如下:脑缺血过程中,神经细胞的生物能量减少,使得 Na^+/K^+ -ATP 酶活性降低,离子稳态失衡,细胞膜去极化,大量 Ca^{2+} 内流, Ca^{2+} 超载则引发神经递质 Glu 过量释放,产生兴奋性氨基酸毒性;而 Glu 可以与 Glu 受体结合进一步促进大量的 Ca^{2+} 内流,造成线粒体功能障碍,导致细胞凋亡;同时在脑梗死过程中,激活巨噬细胞和小胶质细胞,释放血管活性介质和促炎性细胞因子,促进更多白细胞的浸润而引发神经炎症。炎症细胞也能产生 ROS 和活性氮,反过来激活炎症

细胞,导致恶性循环;此外,再灌注过程中,恢复血流和氧气,ROS大量增加引发氧化应激反应,加重炎症反应,损伤血脑屏障,导致不可逆的脑组织损伤^[8]。可见,线粒体功能障碍是缺血性卒中后的初始事件,并与缺血性卒中中紧密联系,靶向线粒体能减轻缺血性脑卒中的破坏性结果,可作为治疗缺血性脑卒中的新方法。综上所述,线粒体在缺血性脑卒中的不同阶段都发挥重要作用,从ATP的合成障碍到氧自由基的生成与释放,再到细胞死亡,线粒体的形态与功能都与脑损伤息息相关。

2 AS细胞线粒体在缺血性脑卒中发病机制中的重要作用

AS细胞是中枢神经系统中含量最丰富的神经胶质细胞,约占脑总体积的50%,其数量远远超过了神经元^[9],主要分布于中枢神经白质和灰质中。AS细胞与神经元之间存在广泛而复杂的信息传递,以直接相互作用的方式与神经元发生联系,在神经系统的发育、突触传递、调控信息处理与信号传递、离子平衡、调节神经和突触的可塑性等方面都发挥重要作用^[10]。在生理情况下,AS细胞对神经元起营养支持作用,在神经损伤后,可参与糖、脂肪和体液代谢,具有神经营养功能^[11];在脑缺血情况下,AS细胞可以储备糖原,为病理期葡萄糖短缺的神经元提供能量,释放神经营养因子,促进神经元再生和修复,维持脑缺血后神经功能的完整性和可塑性^[12]。

线粒体最早在1890年被描述为“原生体”,随后人们在1898年发现了线粒体的各种形态,有时是球形,有时是细长形,由此产生了线粒体这个名字,线粒体由希腊语单词“mitos”(线)和“chondrion”(颗粒)2个词组成^[13]。线粒体作为细胞的动力源,在细胞能量稳态中发挥关键作用,广泛存在于除哺乳动物成熟红细胞以外的所有真核细胞中^[14]。线粒体的主要作用是通过线粒体电子传递链(electron transport chain,ETC)氧化磷酸化,以三磷酸腺苷(adenosine triphosphate,ATP)的形式产生细胞能量,在氧化应激、钙平衡、细胞周期与发育、脂质代谢、信号转导、细胞凋亡等活动中发挥重要作用。与其他脑细胞相比,神经元有更高的能量需求,但由于能量储备不足,其更容易受到缺血环境的影响。AS细胞中的线粒体定位于突触附近,随着神经元的活动而移动。初步研究证明,线粒体使AS细胞面对缺氧环境时具有弹性和适应性。在面临缺血状态时,AS细胞线粒体可以发生生物能量变化和动力学变化,并且可以向神经元发生转移,调节脑血流,对缺血后的神经细胞发挥保护作用。因此,靶向AS细胞线粒体可能是一种新的干预方法,可以减轻缺血性脑卒中损伤和改善临床治疗效果。

2.1 缺血时AS细胞线粒体生物能量的变化

线粒体作为细胞的动力源,在细胞能量稳态中起关键作用。当缺血性脑卒中发生时,大量 Na^+ 流入细胞,刺激 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交换器的反向作用,产生电化学梯度,通过电压依赖性阴离子通道和线粒体 Ca^{2+} 单项转运体,驱动 Ca^{2+} 在线粒体中大量积累,线粒体通透性转变孔(mitochondrial permeability transition pore, MPTP)开放^[15]。MPTP开放后允许小分子物质任意通过,破坏离子梯度,线粒体膜电位($\Delta\psi_m$)丧失,出现渗透压性肿胀,释放细胞色素c和NADH到AS细胞胞浆中,从而引发级联反应导致细胞凋亡。同时,线粒体 Ca^{2+} 升高激活三羧酸循环(tricarboxylic acid cycle, TCA)脱氢酶,产生大量ROS,导致抗氧化通路失效^[16]。反过来,ROS的产生和线粒体膜电位的丢失也可以刺激MPTP开放和线粒体损伤,扰乱ATP合成,能量平衡受到破坏^[17]。在再灌注过程中,神经元释放大量的谷氨酸(glutamate, Glu),AS细胞线粒体固定在Glu转运体和神经元突触附近^[18],促进Glu代谢和ATP的产生,以满足能量需求,如图1所示。

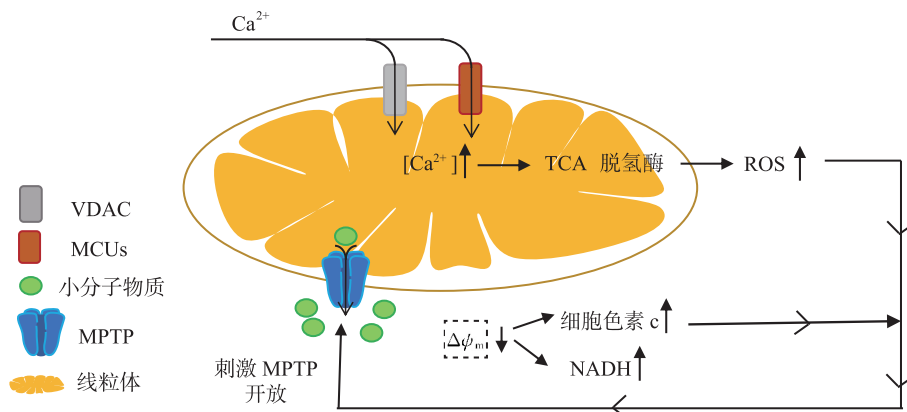


图1 缺血时AS细胞线粒体生物能量的变化

Fig. 1 Diagram of mitochondrial bioenergy changes in response to ischemia

虽然普遍认为线粒体膜电位的崩溃可以导致 AS 细胞不可逆的死亡^[19],但最近研究表明,即使 AS 细胞经历了严重的线粒体去极化和氧化代谢损伤,其仍具有弹性。VOLOBOUEVA 等^[20]用 AS 细胞选择性线粒体呼吸抑制剂氟柠檬酸盐(fluorocitrate,FC)处理 AS 细胞 2 h,线粒体膜电位在 3 h 后才出现下降。将神经元和 AS 细胞共培养时,FC 的作用更快、更强。然而,线粒体膜电位的严重丧失并没有伴随着 AS 细胞的死亡。将 AS 细胞与神经元分别单独培养,随后进行氧糖剥夺(oxygen glucose deprivation,OGD)60~70 min,AS 细胞表现出更强的抗缺血能力,100%的神经元受到不可逆的损伤,随后细胞死亡,而 OGD 进行 4 h 后 AS 细胞才出现死亡^[21]。但当 AS 细胞与神经元共同培养,随后进行 OGD 时,AS 细胞线粒体去极化速度加快,细胞死亡增加。一种假设是,AS 细胞线粒体在 OGD 过程中经历了早期去极化,从有氧代谢转为糖酵解,为能量受损的神经元提供乳酸盐,从而防止神经元死亡,增加自身死亡。然而,这一过程依赖于 AS 细胞的糖原储存过程。因此,需要快速恢复呼吸功能,防止不可逆的中枢神经损伤。值得注意的是,体外培养的 AS 细胞与体内的 AS 细胞有很大不同,体外培养的 AS 细胞具有单层形态,缺乏细胞间的突触和血管接触^[22],这种形态学差别是否影响 AS 细胞线粒体功能,以及一些基于体外培养的细胞是否会对结果产生不同影响,仍需要在体内系统中进行验证。

2.2 缺血时 AS 细胞线粒体的动力学变化

线粒体是一种高度动态的细胞器,能够根据代谢的需要改变其结构,从形态各异的单一小结构跨越到多个星状细胞过程的复杂互连网络^[23]。不同条件下,线粒体通过分裂和融合 2 个相反的过程维持其形态,并进行成分交换,包括线粒体 DNA(mtDNA)、脂质和蛋白质等。分裂过程包括收缩和裂开,可以增加线粒体的数量和分布,有助于线粒体的更新和再分配^[24]。调节线粒体分裂的蛋白主要有:发动蛋白相关蛋白 1(dynamin-related protein 1,Drp1)和线粒体分裂蛋白 1(mitochondrial fission protein 1,Fis1)。其中 Drp1 是分裂的关键调控因子,通过几种受体蛋白从胞质被募集到线粒体外膜,这些受体蛋白包括线粒体动力学蛋白 49,51 kDa(mitochondrial dynamics proteins of 49 and 51 kDa,Mid49 和 Mid51),Fis1/2、线粒体分裂因子(mitochondrial fission factor,Mff)等^[25](见图 2)。融合过程是 2 个相邻线粒体的束缚和连接,伴随线粒体内膜和线粒体外膜的合并。受损线粒体可以得到健康线粒体的遗传物质及维持功能所必须的蛋白质^[26];正常情况下,线粒体融合可以通过成分分布和共享管状网络增加线粒体的完整性,还可以促进各类细胞内信号的传递、膜电位的传导及线粒体脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid,DNA)的互补修复^[27]。调节线粒体融合的蛋白质主要有:线粒体融合蛋白 1 和线粒体融合蛋白 2(mitofusins 1 and 2,Mfn1/2)、视神经萎缩相关蛋白 1(optic atrophy 1,Opal)等^[28](见图 2)。

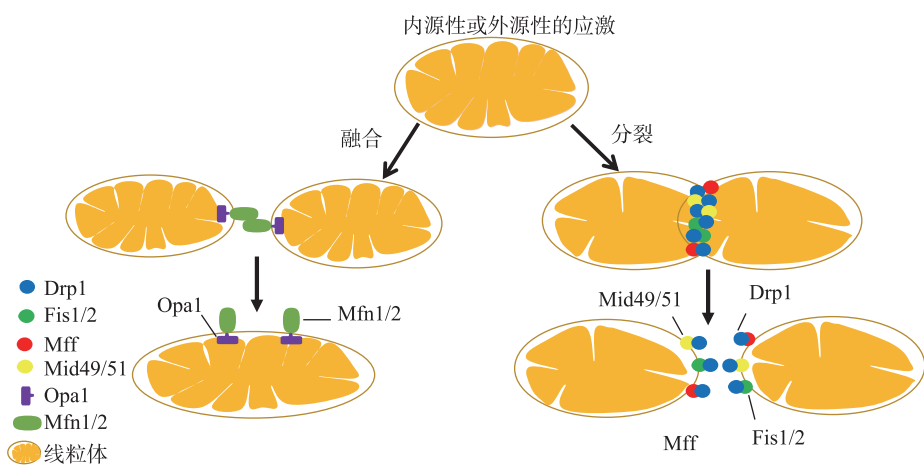


图 2 缺血时星形胶质细胞线粒体动力学变化示意图

Fig. 2 Diagram of mitochondrial dynamics changes in response to ischemia

分裂与融合具有既互补又独立的特性,分裂和融合的相对比率决定了细胞的形状、分布和网络结构。正常情况下,分裂和融合同时进行且速度基本相同,从而保持稳定的细胞形态和功能。线粒体动力学对细胞存活和死亡的调节非常重要,线粒体分裂是脑缺血后神经元死亡的早期上游事件^[29]。研究报道,线粒体在细胞凋亡前,分解成多个小单位,阻碍线粒体分裂,阻止细胞色素 c 的释放和延缓细胞死亡。已有研究表明,Drp1 在缺血性脑卒中发挥重要作用,线粒体氧化应激过程中,Drp1 表达上调,导致线粒体分裂和融合失衡,

线粒体功能障碍和解体,最终细胞死亡^[30]。使用抗氧化剂如维生素 E 或 MitoQ 可降低 Drp1 的表达,减少线粒体分裂^[31]。相反,敲低 Drp1 基因使得线粒体产生的 ROS 减少^[32]。此外,下调 Drp1 蛋白水平还可以减小梗死体积^[33]。体外研究表明,对于 Drp1 突变细胞系,其线粒体分裂和凋亡细胞死亡显著减少^[34]。因此,Drp1 不仅对线粒体分裂至关重要,对细胞命运也至关重要。然而在缺血性脑卒中过程中,关于线粒体融合蛋白的研究较少,在缺氧模型中发现,Mfn2 的表达减少,并且 Mfn2 可能通过恢复线粒体功能发挥抗凋亡作用^[35]。有报道称,在脑缺血损伤中,运动可增加 Opa1 的表达,从而减轻脑水肿^[36]。线粒体融合的潜在益处,尤其是增强 Mfn2 的表达,在脑缺血中的作用仍有待阐明。线粒体在脑缺血疾病中发挥重要作用,可以通过调节线粒体分裂和融合过程中的相关蛋白,改善缺血性脑卒中造成的神经元损伤。

线粒体分布于 AS 细胞整个细胞体最细的分支和末梢,细长的线粒体通常见于胞体和主要的分支内,而长度在 0.2~6.0 μm 之间的细短线粒体主要分布于外围,包括外周神经突起^[37]。OWENS 等^[38]利用荧光标记线粒体的转基因小鼠作为模型,考察双侧颈总动脉阻塞和低血压引起的短暂性脑缺血过程中 AS 细胞和神经元的线粒体形态学变化。结果表明,在缺血早期,神经元的线粒体变小,形状接近球形,管状线粒体开始减少,表明分裂增加;随后,部分球状线粒体出现肿胀,发生不可逆的膜破裂,几天后可见荧光染料渗漏到细胞质中。相似地,AS 细胞线粒体的球形亚群增加,在恢复氧气和葡萄糖 2 h 后,相应的管状线粒体明显减少,表明分裂增加;然而,与神经元不同的是,在复氧 4 h 后,AS 细胞中的管状线粒体增加,表明融合增强。此外,在持续缺血 24 h 情况下,AS 细胞线粒体仍然形态正常,没有明显分裂,与对照组相比,杆状及管状正常线粒体所占比例无显著差异。研究显示,当线粒体受到氧化损伤时,其形态会从杆状或管状变为球状或环状,破坏线粒体表面积和体积比,改变线粒体基质蛋白或 DNA 的正常分布,以及线粒体呼吸链复合体的正常分布,最终影响线粒体的呼吸功能^[39-40]。实验中,实验组与对照组 AS 细胞正常线粒体所占比例相同,表明与神经元相比,AS 细胞线粒体动态修复能力更强,可以从缺血应激中恢复,防止细胞死亡。这是由于 AS 细胞内在的线粒体特性,还是由于 AS 细胞与神经元对缺血的负荷不同,目前尚不清楚。

然而,缺血时线粒体网络的动态重构可能提供了一种适应性机制来维持线粒体和细胞功能。Glu 可能在这一过程中起关键作用,激活 AS 细胞 Glu 转运体可以导致 AS 细胞过程中的线粒体阻滞^[41]。因此,在缺血损伤时神经元释放的 Glu 可能是 AS 细胞线粒体网络动力学的主要调控因子,其能促进 AS 细胞存活,对邻近神经元发挥保护和修复作用,降低不可逆的损伤程度。

2.3 缺血时 AS 细胞线粒体的转移

与神经元不同的是,AS 细胞可以通过糖酵解产生 ATP,使 AS 细胞在面对低氧血症和低血糖时具有弹性^[42]。使用线粒体呼吸链功能必需的 Cox10 基因诱导小鼠 AS 细胞线粒体功能障碍,结果表明有呼吸缺陷的 AS 细胞可以长期存活,且表型和功能正常^[43],但不能维持正常的局部组织和功能^[44]。与正常 AS 细胞相比,基因靶向的 AS 细胞尽管呼吸链功能丢失,但线粒体数量和形态未发生改变,且脑内乳酸增加,证明 AS 细胞单靠延长糖酵解时间可以存活,且缺氧后,AS 细胞可以为邻近神经元提供能量底物(即乳酸)。

AS 细胞除了通过乳酸穿梭为神经元提供能量基质外,还可以直接为神经元提供功能性的线粒体,将神经元从缺血性损伤中拯救出来。线粒体转移是一种保护机制,针对应激级联反应,拯救线粒体功能障碍的受损细胞。细胞间囊泡和细胞器可以通过隧道纳米管或细胞外囊泡进行交换^[45-46],从相邻的健康线粒体转移到含有受损线粒体的细胞。HAYAKAWA 等^[47]报道了在小鼠局灶性脑卒中模型和体外培养的 AS 细胞 OGD 处理后,AS 细胞可以通过 CD38 依赖机制将功能性线粒体转移到神经元中,该过程中细胞外线粒体的生成涉及原代皮质 AS 细胞产生的囊泡或颗粒。在体外实验中,将培养的皮质神经元经 OGD 处理后,加入 AS 细胞培养液(astrocyte-conditioned medium, ACM),受损神经元的 ATP 水平得以恢复,细胞活性增强。用膜电位依赖性荧光染料 MitoTracker Red CMXRos 荧光标记 ACM 中囊泡内的线粒体,将含线粒体的 ACM 加入到 OGD 损伤后的神经元中,发现神经元内可以检测到 AS 细胞线粒体,如果从 ACM 中去除细胞外线粒体,则该神经保护作用消失。同样,在体内实验中,将从 ACM 收集的荧光标记的细胞外线粒体颗粒注射到小鼠梗死周围皮质,24 h 后观察到相邻神经元内存在荧光标记的 AS 细胞线粒体,并且神经元细胞存活相关信号普遍上调,线粒体标志物增加。

在此过程中,将功能性的 AS 细胞线粒体转移到神经元中的关键是 CD38 基因,CD38 缺陷小鼠在脑损伤后表现出功能恢复受损,并且 CD38 突变也是行为功能障碍的危险因素^[48]。用 siRNA-介导敲低 CD38,体外培养的神经元中 AS 细胞线粒体的荧光强度显著降低,神经元内线粒体密度降低,表明 AS 细胞线粒体

向受损神经元的转移减少。在体敲除 CD38 基因并没有改变总的梗死面积,但使得神经元线粒体数量减少,表明 AS 细胞-神经元转移可能受损,该结果在小鼠体内局灶性脑缺血模型中也得到验证,表明 CD38 活性对 AS 细胞支持神经元的功能非常重要。然而,当使用高浓度荧光染料时,有破坏线粒体网络的可能,并从标记细胞中泄漏出来,在悬液中形成荧光微粒,未来对小鼠的研究使用基因方法跟踪和确认线粒体转移,应绕过线粒体染料的毒性问题。

转移过程中,引导线粒体从 AS 细胞释放并进入神经元的特定细胞信号通路,以及细胞外囊泡的传导机制,仍有待进一步阐明。目前,没有证据可以表明含有线粒体的囊泡可以直接将线粒体释放到相邻细胞的细胞质中,如果含有线粒体的微粒通过神经元进行常规内吞作用,则可能会激活破坏囊泡的内吞途径,因此不太可能释放功能性线粒体。故有一种假设,包含线粒体的 ACM 囊泡,仅与神经元连接,而不存在于细胞内。如果 ACM 中的微粒附着于表面,而没有直接将线粒体转移到神经元中,那么 ACM 中的微粒利用自身代谢活性,将释放或转移小分子物质^[49]。其具体过程为:AS 细胞与神经元之间的缝隙连接介导线粒体微粒与质膜连接,从而导致通道形成,小分子物质可以通过 AS 细胞线粒体微粒和神经元质膜上存在的缝隙连接蛋白-43(connexin-43,Cx43)半通道,扩散进入受损神经元(见图 3 B)。在 MCAO 大鼠模型中,注射外源性线粒体被神经元、AS 细胞和小胶质细胞摄取,改善了线粒体功能,提高了大鼠的运动能力^[50]。通过线粒体转移恢复失衡的线粒体动力学,可能是一种减轻由脑卒中引起神经元死亡的潜在方法。

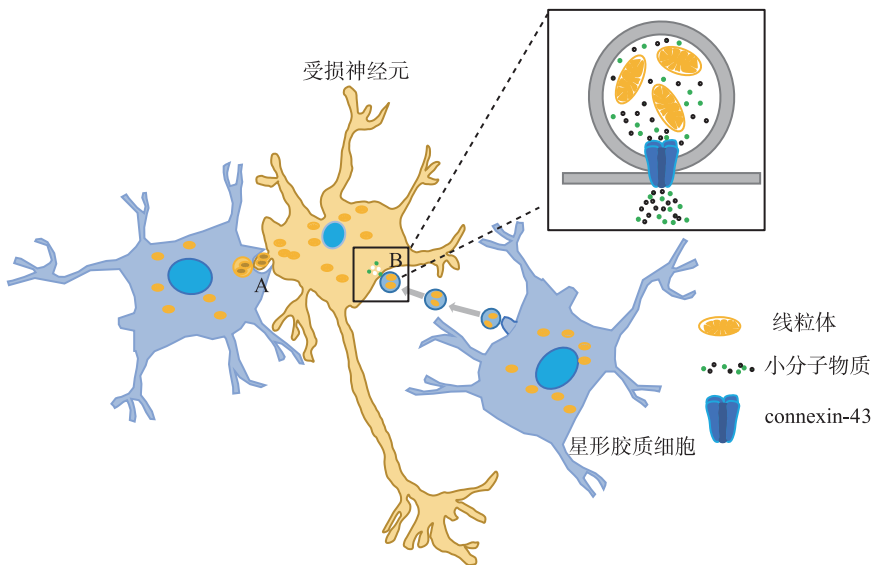


图 3 缺血后星形胶质细胞和神经元之间线粒体转移示意图

Fig. 3 Schematic of mitochondrial transfer between astrocytes and neurons after ischemia

此外,受损细胞的线粒体也能向健康细胞转移,研究报道野生小鼠的视网膜神经节细胞轴突在视神经头(optic nerve head, ONH)脱落线粒体,转移至相邻的 AS 细胞进行内吞和降解,这一过程被称为转移线粒体自噬(见图 3 A),该现象也可能发生在中枢神经系统中的其他位置,因为在大脑皮层的表层中神经轴突周围积累了结构相似的降解线粒体^[51],打破了神经元或其他细胞必须自身降解线粒体的假设。短暂缺血状态下,神经元将损伤的线粒体转移至 AS 细胞进行降解,可以对神经元发挥一定程度的保护作用;相反,不受控制的自噬可能导致神经元线粒体无限降解和死亡。因此,严格控制线粒体转移自噬机制对于维持健康的线粒体网络至关重要。

2.4 缺血时 AS 细胞线粒体对脑血流的调节作用

AS 细胞是脑内最丰富的胶质细胞,AS 细胞粗大突起末端膨大成终足,贴附于毛细血管外周形成胶质膜,包绕了毛细血管 85% 的表面^[52],从而加强了对血脑屏障的调节作用并在脑血液循环动态调节中发挥重要作用。AS 细胞在中枢神经系统内起结构支持作用,中枢神经系统内神经元及其突起间的空隙几乎全部由 AS 细胞充填,这样有益于胶质分离、维持血管、神经元胞体、轴突及突触之间结构的稳定,AS 细胞在维持脑微血管内皮细胞的特异性功能、神经元的正常功能、促进蛋白聚糖合成和维持血脑屏障的完整性等方面起到重要作用^[53]。AS 细胞以终足与中枢神经系统中其他类型细胞相接触,包括微动脉、毛细血管,组成神经血管单元,构成神经胶质-血管系统网状结构^[54],成为神经元网络和血管网络之间的桥梁,发出各种调节信

号,联系神经元和血管系统^[55]。

AS细胞可以通过影响血管直径调节血流,具体过程如图4所示。神经元释放神经递质Glu,AS细胞受体激活,调节转运体摄取,启动细胞内 Ca^{2+} 信号,传递到AS细胞终足。终足上的 Ca^{2+} 信号刺激血管活性因子(包括一氧化氮、前列腺素、花生四烯酸代谢物、腺苷等)释放到大脑血管上^[56],引起血管扩张,从而增加血流量,满足神经元代谢需求。研究表明,刺激诱发AS细胞和血管终足的 Ca^{2+} 信号,可以引起体内血管直径的变化^[57]。 Ca^{2+} 信号的强度也是血管反应极性的决定因素,其中AS细胞 Ca^{2+} 的中度升高可引起血管舒张,而大量升高则可引起血管收缩^[58]。此外,在体外试验中,氧气含量也可以调节血管收缩或扩张,高氧含量(95% O_2 , 5% CO_2)导致海马和新生皮层的AS细胞内 Ca^{2+} 释放,引起血管收缩;而低氧含量(20% O_2 , 5% CO_2)则使管径改变变为扩张。血氧含量的调节是通过细胞外乳酸浓度来改变特定的AA代谢物水平。总之,AS细胞终足可以通过形成 Ca^{2+} 瞬变和释放血管活性脂质,引起周围小动脉直径的扩张或收缩。

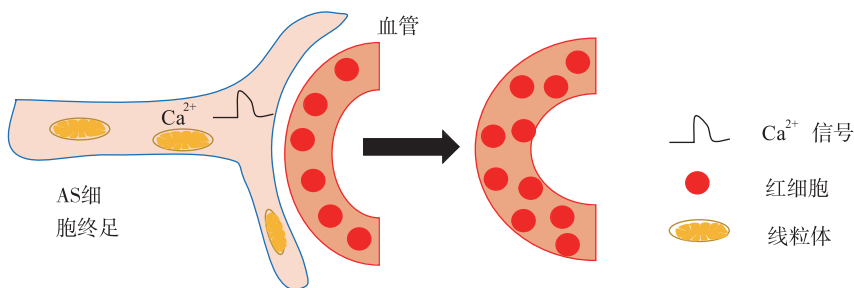


图4 AS细胞终足的线粒体通过 Ca^{2+} 调节神经血管耦合

Fig. 4 Astrocytes mitochondria are enriched within vascular endfeet and play a central role in neurovascular coupling by regulating Ca^{2+} signals

另一种调节血管直径的方法是通过AS细胞线粒体调节 Ca^{2+} 信号。有证据表明AS细胞线粒体通过神经血管耦合发挥作用,用氟代柠檬酸选择性抑制AS细胞线粒体乌头酸酶,引起大鼠视网膜小动脉张力的丧失^[59]。线粒体既是 Ca^{2+} 的来源,也是 Ca^{2+} 缓冲器,此外还调节 Ca^{2+} 瞬变的时空限制和动力学。当OGD后AS细胞过程中线粒体丢失时,AS细胞远端的自发 Ca^{2+} 信号显著增加^[60]。这些数据表明线粒体在AS细胞中促进 Ca^{2+} 信号的形成。 Ca^{2+} 瞬变也由线粒体产生,提示线粒体是 Ca^{2+} 增加的潜在来源。此外,抑制MPTP药物开放可以引起 Ca^{2+} 瞬变减少35%,应用神经元激活剂可以增加其数量和频率。在电镜研究中,通过使用基因编码的线粒体定位荧光蛋白对AS细胞线粒体进行标记,结果表明AS细胞线粒体富集于终足包围的血管中^[61],即AS细胞-血管界面位点,可以调节对神经血管耦合至关重要的 Ca^{2+} 信号,但AS细胞线粒体在反应中的作用机制仍需进一步研究。

此外,TAKANO等^[62]指出,AS细胞控制大脑血液局部微循环,控制着突触传递和神经血管系统的偶联^[63],一个AS细胞的突起能与数万个突触相接触,而且还有其他突起的末梢停留在毛细血管和小动脉上。AS细胞突起末梢中 Ca^{2+} 的变化能引起小动脉扩张或收缩,从而控制大脑微循环。除了对血管系统的作用外,AS细胞能调节神经元的整合作用,并与神经元的功能相协调。大脑的正常功能依赖于氧和葡萄糖的供应,而各种神经血管控制机制保证脑部足够的血液供应。所以,AS细胞能感知神经元的活动,也可以说,神经元活动能控制脑中微循环是依靠AS细胞作为中介完成的。

许多早期的线粒体研究主要集中在生物能量作用上。然而,近几十年来,由于动物模型、成像技术方法的进步,人们对线粒体功能的认识发生了变化,意识到细胞器在细胞功能和信号事件中的重要性,包括与脑血管疾病相关的功能,如凋亡信号、线粒体生物发生、线粒体动力学、线粒体自噬和质量控制,以及在免疫中的新作用。由于神经元突触和树突中需要大量线粒体,干细胞可以作为外源性健康线粒体的供体,因此干细胞治疗成为缺血性脑卒中靶向线粒体的一种替代方法。一些报告显示,利用干细胞作为疾病的治疗剂,在线粒体功能障碍中可发挥重要作用。干细胞可以通过隧道纳米管、细胞外囊泡或简单的细胞融合将线粒体转移到损伤细胞,细胞间线粒体转移可恢复线粒体功能,放大细胞存活信号,重组分化细胞,有助于恢复受体细胞的细胞活力。近年来,在心肌缺血损伤的患者中,线粒体移植已获得成功,研究人员应将重点放在利用干细胞治疗缺血性脑卒中上。然而,线粒体转移的临床实施仍面临挑战,未来仍需要进一步研究。

3 结 语

缺血性脑卒中是中老年常见的急性脑血管病,无论是在发达国家还是在发展中国家,脑卒中都是当今世界主要的致死性疾病之一。脑卒中在中国具有“高发病率、高死亡率、高致残率、高复发率、高经济负担”5大特点。目前的溶栓治疗方案仅适用于一小部分中风患者,因此,开发有效的治疗方法减少脑损伤至关重要。AS细胞是中枢神经系统中数量最多的细胞类型,具有营养、支持和调节神经元活动的作用。其中,AS细胞线粒体在缺血性脑卒中病理过程中发挥着独特作用。缺血时,AS细胞线粒体的生物能量和动力学会发生变化,功能性线粒体向神经元发生转移,并对脑血流进行调节,进而修复受损的神经元。AS细胞线粒体的保护机制,为缺血性脑卒中治疗药物的开发提供了理论基础。

目前对AS细胞线粒体的理解是初步的,未来的研究方向主要包括以下几个方面:

1)比较大脑不同区域的周围半暗区和梗死核心区,在缺血情况下线粒体的动力学和网络结构特征。

2)深入探究供体细胞释放线粒体和受体细胞识别线粒体的主要机制。

3)AS细胞作为逆转缺血性脑卒中损伤的关键,需要明确相关的治疗靶点。在线粒体动力学变化过程中,调节线粒体分裂和融合的相关蛋白、线粒体运输过程中的肌动蛋白重链(KHC)以及作为马达适配器的Miro和milton,均可以作为AS细胞线粒体的治疗靶点。

4)以探讨AS细胞线粒体在缺血时对神经元的保护作用为切入点,全方位评价AS细胞线粒体在缺血性脑卒中的作用,以期为缺血性脑卒中的治疗提供思路和理论基础。

参考文献/References:

- [1] LIU X Y, LI T, DIAO S S, et al. The global burden of cerebral small vessel disease related to neurological deficit severity and clinical outcomes of acute ischemic stroke after IV rt-PA treatment[J]. *Neurological Sciences*, 2019, 40(6): 1157-1166.
- [2] WANG Y J, LI Z X, GU H Q, et al. China stroke statistics 2019: A report from the National center for healthcare quality management in neurological diseases, China National clinical research center for neurological diseases, the Chinese stroke association, National center for chronic and non-communicable disease control and prevention, Chinese center for disease control and prevention and institute for global neuroscience and stroke collaborations[J]. *Stroke and Vascular Neurology*, 2020, 5(3): 211-239.
- [3] SHEHADAH A, FRANKLIN G M, BENSON R T. Global disparities in stroke and why we should care[J]. *Neurology*, 2016, 87(5): 450-451.
- [4] SANGANALMATH S K, GOPAL P, PARKER J R, et al. Global cerebral ischemia due to circulatory arrest: Insights into cellular pathophysiology and diagnostic modalities[J]. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2017, 426(1/2): 111-127.
- [5] 芦颖, 韩化敏. 缺血性脑卒中神经保护剂临床转化研究进展[J]. *中国新药杂志*, 2019, 28(6): 683-688.
LU Ying, HAN Huamin. Progress in the clinical transformation study of neuroprotectants in ischemic stroke[J]. *Chinese Journal of New Drugs*, 2019, 28(6): 683-688.
- [6] CATANESE L, TARSIA J, FISHER M. Acute ischemic stroke therapy overview[J]. *Circulation Research*, 2017, 120(3): 541-558.
- [7] SHEN M H, ZHANG C B, ZHANG J H, et al. Electroacupuncture attenuates cerebral ischemia and reperfusion injury in middle cerebral artery occlusion of rat via modulation of apoptosis, inflammation, oxidative stress, and excitotoxicity[J]. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2016. doi:10.1155/201619438650.
- [8] 张艾嘉, 王爽, 王萍, 等. 缺血性脑卒中的病理机制研究进展及中医药防治[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(5): 227-240.
ZHANG Aijia, WANG Shuang, WANG Ping, et al. Progress in pathological mechanism of ischemic stroke and prevention and treatment of traditional chinese medicine[J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2020, 26(5): 227-240.
- [9] 钱贻崧, 关腾, 汤旭葵, 等. 星形胶质细胞与缺血性脑损伤[J]. *中国新药杂志*, 2008, 17(11): 897-900.
QIAN Yisong, GUAN Teng, TANG Xuzhen, et al. Astrocytes and cerebral ischemic injury[J]. *Chinese Journal of New Drugs*, 2008, 17(11): 897-900.
- [10] 苏晓梅, 张丹参. 星形胶质细胞与神经退行性疾病的相关性[J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2019, 33(10): 868-869.
SU Xiaomei, ZHANG Dancan. Correlation between astrocytes and neurodegenerative diseases[J]. *Chinese Journal of Pharmacology and Toxicology*, 2019, 33(10): 868-869.
- [11] 冯征, 张均田. 神经胶质细胞及其在 Alzheimer's 病中的作用[J]. *中国药学杂志*, 2001, 36(4): 217-220.
FENG Zheng, ZHANG Juntian. Glial cells and their role in Alzheimer's disease[J]. *Chinese Pharmaceutical Journal*, 2001, 36(4): 217-220.
- [12] 程笑, 杨欢, 杨滢霖, 等. 缺血性脑卒中后星形胶质细胞信号通路变化及潜在治疗靶点研究[J]. *中国新药杂志*, 2017, 26(7): 749-754.
CHENG Xiao, YANG Huan, YANG Yinglin, et al. Signaling pathway changes and potential therapeutic targets in astrocytes after ischemic stroke[J]. *Chinese Journal of New Drugs*, 2017, 26(7): 749-754.
- [13] OROURKE B. From bioblasts to mitochondria: Ever expanding roles of mitochondria in cell physiology[J]. *Frontiers in Physiology*, 2010.

doi:10.3389/fphys.2010.00007.

- [14] HO M S. Neuroglial crosstalk by mitochondria[J]. *Neuroscience Bulletin*, 2017, 33(1): 111-112.
- [15] BONDARENKO A, CHESLER M. Calcium dependence of rapid astrocyte death induced by transient hypoxia, acidosis, and extracellular ion shifts[J]. *Glia*, 2001, 34(2): 143-149.
- [16] NICHOLLS D G. Mitochondrial dysfunction and glutamate excitotoxicity studied in primary neuronal cultures[J]. *Current Molecular Medicine*, 2004, 4(2): 149-177.
- [17] BAINES C P. The mitochondrial permeability transition pore and ischemia-reperfusion injury[J]. *Basic Research in Cardiology*, 2009, 104(2): 181-188.
- [18] JACKSON J G, O'DONNELL J C, TAKANO H, et al. Neuronal activity and glutamate uptake decrease mitochondrial mobility in astrocytes and position mitochondria near glutamate transporters[J]. *The Journal of Neuroscience*, 2014, 34(5): 1613-1624.
- [19] DIENEL G A, HERTZ L. Astrocytic contributions to bioenergetics of cerebral ischemia[J]. *Glia*, 2005, 50(4): 362-388.
- [20] VOLOBOUEVA L A, SUH S W, SWANSON R A. Inhibition of mitochondrial function in astrocytes: Implications for neuroprotection[J]. *Journal of Neurochemistry*, 2007, 102(4): 1383-1394.
- [21] GOLDBERG M P, CHOI D W. Combined Oxygen and glucose deprivation in cortical cell culture: Calcium-dependent and calcium-independent mechanisms of neuronal injury[J]. *The Journal of Neuroscience*, 1993, 13(8): 3510-3524.
- [22] LANGE S C, BAK L K, WAAGEPETERSEN HS, et al. Primary cultures of astrocytes: Their value in understanding astrocytes in health and disease[J]. *Neurochemical Research*, 2012, 37(11): 2569-2588.
- [23] PALMER C S, OSELLAME L D, STOJANOVSKID, et al. The regulation of mitochondrial morphology: Intricate mechanisms and dynamic machinery[J]. *Cellular Signalling*, 2011, 23(10): 1534-1545.
- [24] SANTOS R X, CORREIA S C, WANG X L, et al. A synergistic dysfunction of mitochondrial fission/fusion dynamics and mitophagy in Alzheimer's disease[J]. *Journal of Alzheimer's Disease*, 2010, 20 (sup2): S401-S412.
- [25] 王颖, 余剑波. 线粒体抗氧化应激系统与融合-分裂研究进展[J]. *临床麻醉杂志*, 2014, 30(6): 618-619.
WANG Ying, YU Jianbo. Advances in mitochondrial antioxidant stress system and fusion-division[J]. *Journal of Clinical Anesthesiology*, 2014, 30(6): 618-619.
- [26] GONZALEZ-FREIRE M, DE CABO R, BERNIERM, et al. Reconsidering the role of mitochondria in aging[J]. *The Journals of Gerontology: Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, 2015, 70(11): 1334-1342.
- [27] JEZEK P, PLECITÁ-HLAVATÁ L. Mitochondrial reticulum network dynamics in relation to oxidative stress, redox regulation, and hypoxia[J]. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2009, 41(10): 1790-1804.
- [28] 赵光举, 卢中秋, 姚咏明. 哺乳动物细胞线粒体融合-分裂与钙离子信号的关系[J]. *生理科学进展*, 2010, 41(3): 171-176.
ZHAO Guangju, LU Zhongqiu, YAO Yongming. Advances in mitochondrial fusion-fission and Ca²⁺ signaling in mammals[J]. *Progress in Physiological Sciences*, 2010, 41(3): 171-176.
- [29] ZHAO Y X, CUI M, CHEN S F, et al. Amelioration of ischemic mitochondrial injury and Bax-Dependent outer membrane permeabilization by mdivi-1[J]. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 2014, 20(6): 528-538.
- [30] WU Shengnan, ZHOU Feifan, ZHANG Zhenzhen, et al. Mitochondrial oxidative stress causes mitochondrial fragmentation via differential modulation of mitochondrial fission-fusion proteins[J]. *The FEBS Journal*, 2011, 278(6): 941-954.
- [31] FERRARI L F, CHUM A, BOGENO, et al. Role of Drp1, a key mitochondrial fission protein, in neuropathic pain[J]. *The Journal of Neuroscience*, 2011, 31(31): 11404-11410.
- [32] PENG L, MEN X L, ZHANG W J, et al. Dynamin-related protein 1 is implicated in endoplasmic reticulum stress-induced pancreatic β -cell apoptosis[J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2011, 28(2): 161-169.
- [33] GROHM J, KIM S W, MAMRAK U, et al. Inhibition of Drp1 provides neuroprotection in vitro and in vivo[J]. *Cell Death and Differentiation*, 2012, 19(9): 1446-1458.
- [34] FRANK S, GAUME B, BERGMANN-LEITNER E S, et al. The role of dynamin-related protein 1, a mediator of mitochondrial fission, in apoptosis[J]. *Developmental Cell*, 2001, 1(4): 515-525.
- [35] PENG C, RAO W, ZHANG L, et al. Mitofusin 2 ameliorates hypoxia-induced apoptosis via mitochondrial function and signaling pathways [J]. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2015, 69: 29-40.
- [36] ZHANG L, HE Z J, ZHANG Q, et al. Exercise pretreatment promotes mitochondrial dynamic protein OPA1 expression after cerebral ischemia in rats[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2014, 15(3): 4453-4463.
- [37] STEPHEN T L, HIGGS N F, SHEEHAN D F, et al. Miro1 regulates Activity-Driven positioning of mitochondria within astrocytic processes apposed to synapses to regulate intracellular calcium signaling[J]. *The Journal of Neuroscience*, 2015, 35(48): 15996-16011.
- [38] OWENS K, PARK J H, GOURLEY S, et al. Mitochondrial dynamics: Cell-type and hippocampal region specific changes following global cerebral ischemia[J]. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 2015, 47(1/2): 13-31.
- [39] HERTZ L, PENG L, DIENEL G A. Energy metabolism in astrocytes: High rate of oxidative metabolism and spatiotemporal dependence on glycolysis/glycogenolysis[J]. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 2007, 27(2): 219-249.
- [40] MURPHY M P. How mitochondria produce reactive oxygen species[J]. *The Biochemical Journal*, 2009, 417(1): 1-13.
- [41] JACKSON J G, O'DONNELL J C, TAKANO H, et al. Neuronal activity and glutamate uptake decrease mitochondrial mobility in astro-

- cytes and position mitochondria near glutamate transporters[J]. *The Journal of Neuroscience*, 2014, 34(5):1613-1624.
- [42] LEE D R, HELPS S C, GIBBINS I L, et al. Losses of NG2 and NeuN immunoreactivity but not astrocytic markers during early reperfusion following severe focal cerebral ischemia[J]. *Brain Research*, 2003, 989(2):221-230.
- [43] DIAZ F, THOMAS C K, GARCIA S, et al. Mice lacking COX10 in skeletal muscle recapitulate the phenotype of progressive mitochondrial myopathies associated with cytochrome c oxidase deficiency[J]. *Human Molecular Genetics*, 2005, 14(18):2737-2748.
- [44] SUPPLIE L M, DÜKING T, CAMPBELL G, et al. Respiration-Deficient astrocytes survive as glycolytic cells in vivo[J]. *The Journal of Neuroscience*, 2017, 37(16):4231-4242.
- [45] RUSTOM A, SAFFRICH R, MARKOVIC I, et al. Nanotubular highways for intercellular organelle transport[J]. *Science*, 2004, 303(5660):1007-1010.
- [46] MATHIVANAN S, JI H, SIMPSON R J. Exosomes: Extracellular organelles important in intercellular communication[J]. *Journal of Proteomics*, 2010, 73(10):1907-1920.
- [47] HAYAKAWA K, ESPOSITO E, WANG X H, et al. Transfer of mitochondria from astrocytes to neurons after stroke[J]. *Nature*, 2016, 535(7613):551-555.
- [48] HIGASHIDA H, YOKOYAMA S, HUANG J J, et al. Social memory, amnesia, and autism: brain oxytocin secretion is regulated by NAD⁺ metabolites and single nucleotide polymorphisms of CD38[J]. *Neurochemistry International*, 2012, 61(6):828-838.
- [49] BERRIDGE M V, SCHNEIDER R T, MCCONNELL M J. Mitochondrial transfer from astrocytes to neurons following ischemic insult: Guilt by association? [J]. *Cell Metabolism*, 2016, 24(3):376-378.
- [50] HUANG P J, KUO C C, LEE H C, et al. Transferring xenogenic mitochondria provides neural protection against ischemic stress in ischemic rat brains[J]. *Cell Transplantation*, 2016, 25(5):913-927.
- [51] DAVIS C O, KIM K Y, BUSHONG E A, et al. Transcellular degradation of axonal mitochondria[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(26):9633-9638.
- [52] 江荣高, 齐宪荣. 血脑屏障模型及中枢神经系统药物转运的评价[J]. *中国药理学杂志*, 2012, 47(11):880-883.
JIANG Ronggao, QI Xianrong. Blood brain barrier model and the evaluation of drug transport in central nervous system[J]. *Chinese Pharmaceutical Journal*, 2012, 47(11):880-883.
- [53] 聂子涵, 李俊发, 赵丽. 血脑屏障细胞体外培养模型研究进展[J]. *中国药理学杂志*, 2018, 53(3):165-168.
NIE Zihan, LI Junfa, ZHAO Li. Research progress in cell-culture models of blood-brain barrier[J]. *Chinese Pharmaceutical Journal*, 2018, 53(3):165-168.
- [54] 徐伟, 徐钤. 星形胶质细胞的生物学功能[J]. *生命的化学*, 2010, 30(1):12-17.
XU Wei, XU Qian. Biological function of astrocytes[J]. *Chemistry of Life*, 2010, 30(1):12-17.
- [55] VOLTERRA A, MELDOLESI J. Astrocytes, from brain glue to communication elements: The revolution continues[J]. *Nature Reviews Neuroscience*, 2005, 6(8):626-640.
- [56] 熊光仲, 曹美鸿. 星形胶质细胞在大脑血流量调节中的作用[J]. *国外医学. 神经病学神经外科学分册*, 2000(3):124-126.
XIONG Guangzhong, CAO Meihong. The role of astrocytes in the regulation of cerebral blood flow[J]. *Journal of International Neurology and Neurosurgery*, 2000(3):124-126.
- [57] OTSU Y, COUCHMAN K, LYONS D G, et al. Calcium dynamics in astrocyte processes during neurovascular coupling[J]. *Nature Neuroscience*, 2015, 18(2):210-218.
- [58] GIROUARD H, BONEV A D, HANNAH R M, et al. Astrocytic endfoot Ca²⁺ and BK channels determine both arteriolar dilation and constriction[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(8):3811-3816.
- [59] NEWMAN E A. Glial cell regulation of neuronal activity and blood flow in the retina by release of gliotransmitters[J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 2015, 370(1672):20140195.
- [60] O'DONNELL J C, JACKSON J G, ROBINSON M B. Transient Oxygen/glucose deprivation causes a delayed loss of mitochondria and increases spontaneous Calcium signaling in astrocytic processes[J]. *The Journal of Neuroscience*, 2016, 36(27):7109-7127.
- [61] MATHIISEN T M, LEHRE K P, DANBOLT N C, et al. The perivascular astroglial sheath provides a complete covering of the brain microvessels: An electron microscopic 3D reconstruction[J]. *Glia*, 2010, 58(9):1094-1103.
- [62] TAKANO T, TIAN G F, PENG W G, et al. Astrocyte-mediated control of cerebral blood flow[J]. *Nature Neuroscience*, 2006, 9(2):260-267.
- [63] HAYDON P G, CARMIGNOTO G. Astrocyte control of synaptic transmission and neurovascular coupling[J]. *Physiological Reviews*, 2006, 86(3):1009-1031.