DOI:10.12025/j.issn.1008-6358.2019.20181061

·论　　著·

氯胺酮体外对星形胶质细胞表面脑保护相关受体表达的影响

刘邱阿雪，凌晓敏，方　芳*，仓　静*

复旦大学附属中山医院麻醉科，上海　200032

［摘要］ **目的**：观察消旋体氯胺酮体外对星形胶质细胞表面谷氨酸转运体 1(glial glutamate transporter-1，GLT-1)、Na^+-K^+ 泵和生长相关蛋白 43(growth associated protein-43，GAP-43)表达的影响，探讨氯胺酮作用于星形胶质细胞的可能作用机制。**方法**：建立离体培养的原代星形胶质细胞。选取 MK-801 及 AP-5 作为对照药物，采用蛋白质印迹法观察氯胺酮处理不同时间后，星形胶质细胞表面 GLT-1、Na^+-K^+ 泵及 GAP-43 蛋白表达的变化。同时检测星形胶质细胞乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase，LDH)漏出率，观察氯胺酮处理 30 min～24 h 对细胞的毒性作用。**结果**：经氯胺酮处理 30 min、2 h 的星形胶质细胞表面 GLT-1 表达量较空白组明显增加($P<0.05$)。经氯胺酮处理 15、30 min 及 MK-801 处理 6 h 的星形胶质细胞表面 Na^+-K^+ 泵的表达量较空白组明显增加($P<0.05$)。经氯胺酮及 MK-801 处理 6、24 h 的星形胶质细胞表面 GAP-43 表达量较空白组明显减少($P<0.05$)。终浓度分别为 100、1、50 μmol/L 的氯胺酮、MK-801、AP-5 持续作用 24 h 后，离体培养原代星形胶质细胞的 LDH 漏出率与空白组差异无统计学意义。**结论**：消旋体氯胺酮可通过非 N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)途径体外上调星形胶质细胞表面 GLT-1、Na^+-K^+ 泵表达；100 μmol/L 氯胺酮持续作用 24 h 对离体培养的原代星形胶质细胞无明显损伤。

［关键词］ 星形胶质细胞；氯胺酮；谷氨酸转运体 1；Na^+-K^+ 泵；生长相关蛋白 43

［中图分类号］ R 614　　［文献标志码］ A

Effect of ketamine treatment on expression of neuroprotection-related receptors in astrocytes *in vitro* and its mechanism

LIU Qiu-a-xue[1], LING Xiao-min, FANG Fang*, CANG Jing*

Department of Anesthesiology, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China

［**Abstract**］ **Objective**: To investigate the role of racemic ketamine in regulating the expressions of glial glutamate transporter 1 (GLT-1), Na^+-K^+ pump, and growth associated protein-43 (GAP-43) in primary astrocytes, and to explore the possible mechanism of ketamine on astrocytes. **Methods**: The primary astrocytes cultured *in vitro* were established and treated with ketamine. MK-801 and AP-5 were used as the control drugs. The expression of GLT-1, Na^+-K^+ pump, and GAP-43 in primary astrocytes after treatment with different drugs was detected by Western blotting. The leakage rate of lactate dehydrogenase (LDH) was detected to determine the cytotoxicity of ketamine treatment from 30 min to 24 h. **Results**: Compared with the blank control group, the expression of GLT-1 in astrocytes treated with ketamine for 30 min and 2 h was increased ($P<0.05$), the expression of Na^+-K^+ pump in ketamine treatment group for 15 min and 30 min as well as MK-801 treatment group for 6 h was up-regulated ($P<0.05$), while the expression of GAP-43 in ketamine and MK-801 treatment groups for 6-24 h was significantly decreased ($P<0.05$). The leakage rate of LDH in primary astrocytes cultured *in vitro* was not significantly different from that in the blank control group after treatment with ketamine (100 μmol/L), MK-801 (1 μmol/L), or AP-5 (50 μmol/L) for 24 h. **Conclusions**: Racemic ketamine can up-regulate GLT-1 and Na^+-K^+ pump expression possibly *via* a non-N-methyl-D-aspartic acid receptor pathway, and 100 μmol/L ketamine treatment for 24 h shows no cytotoxic effect on the primary astrocytes cultured *in vitro*.

［**Key Words**］ astrocytes; ketamine; glial glutamate transporter 1; Na^+-K^+ pump; growth associated protein-43

近年来，缺血缺氧造成的脑组织损伤由于发生率高、预后差而备受关注。以脑卒中为例，美国 2007 年流行病学资料显示，脑卒中发病率仅次于心脏疾病及癌症；每年约有 100 万例卒中相关病例，其

［收稿日期］ 2018-09-23　　［接受日期］ 2019-03-29

［基金项目］ 上海市科学技术委员会科研计划项目(16ZR1406000). Supported by Research Project of Shanghai Science and Technology Commission (16ZR1406000).

［作者简介］ 刘邱阿雪，博士. E-mail: liu.qax@139.com

*通信作者(Corresponding authors). Tel: 021-64041990, E-mail: jerryfang81@hotmail.com; E-mail: cangjing_zs@sina.com

中 50 万例为新发病例，20 万例为复发病例，24 万例为短暂性脑缺血发作[1]。除脑卒中外，脑缺血缺氧亦是先兆性偏头痛、癫痫、脑外伤及脑出血等疾病的病理生理基础，与这些疾病的预后密切相关[2-3]。

皮质扩散性抑制（cortical spreading depression，CSD）是缺血性脑病中神经损伤发生和发展的关键环节；临床和离体实验证据均提示，氯胺酮可通过抑制 CSD 的发生而降低症状的严重程度及发生频率，从而改善缺血缺氧性脑病的预后[4-7]。而氯胺酮作为一种在临床麻醉中被广泛应用的静脉麻醉药物，具有非竞争性阻断 N-甲基-D-天冬氨酸（N-methyl-D-aspartic acid receptor，NMDA）受体的作用。此外，氯胺酮还对谷氨酸受体、Na^+-K^+泵、钙离子通道及乙酰胆碱受体有阻断作用，对阿片类受体有激动作用，亦可以阻断 5-羟色胺、多巴胺和去甲肾上腺素的重吸收[8]。近年来，研究还发现，在 Na^+-K^+泵等[9]表面受体、生长相关蛋白 43（growth associated protein-43，GAP-43）[10]及以谷氨酸转运体 1（glial glutamate transporter 1，GLT-1）[11]为主要代表的兴奋性氨基酸转运体（excitatory amino acid transporters，EAAT）的参与下，星形胶质细胞对 CSD 发挥促进和抑制的双重作用[12-13]。然而，氯胺酮对 CSD 是否通过星形胶质细胞及其表面的受体等发挥作用，尚不确切。

星形胶质细胞可在脑损伤的急性缺血期及延迟性神经溃变中保护神经元[14]，减轻 CSD 的扩散波强度[9]，帮助 CSD 造成的受损神经元及神经组织重建[15]。在生理情况下以及脑损伤发生早期细胞外钾离子浓度升高时，星形胶质细胞通过 Na^+-K^+泵等表面受体将细胞外积聚的钾离子运送至细胞内中和[9]；同时，由 GAP-43 蛋白形成的星形胶质细胞间隙亦可以通过细胞间联系，发挥中和过多钾离子的作用[10]。过量谷氨酸在细胞外堆积的快速消除主要依赖于 EAAT。目前已发现的 5 种 EAAT 中，主要表达于星形胶质细胞表面的 EAAT2（即 GLT-1）承担脑内约 90%的谷氨酸摄取功能[11]。

本研究以离体培养原代星形胶质细胞为研究对象，采用蛋白质印迹技术探究消旋体氯胺酮对星形胶质细胞表面 3 种脑保护相关蛋白 Na^+-K^+泵、GAP-43 和 GLT-1 的调节作用。同时，本研究选取非竞争性 NMDA 受体阻滞剂 MK-801 和选择性竞争性 NMDA 受体阻滞剂 AP-5 作为对照组，以探讨氯胺酮在离体培养原代星形胶质细胞中的作用是否与 NMDA 受体有关及其作用途径。

1 材料与方法

1.1 *星形胶质细胞的培养与纯度检验* 将新生 SD 大鼠（复旦大学上海医学院动物实验中心提供）进行全身消毒后，在无菌条件下断头取脑，并在显微镜下分离脑皮质。将脑组织剪成体积约 0.1 mm^3 的碎组织块，用胰蛋白酶消化 15 min。用 10% DMEM 培养液反复重悬组织悬液，并收集过滤上清液。以 850 r/min 离心 5 min，弃上清液，并重悬后铺板。24 h 后观察细胞生长情况，并全量换液，此后每 3 d 全量换液 1 次。细胞培养至第 7 天，置于温度 37℃、转速 300 r/min 的条件下，振摇培养板 6 h。吹打后全量换液，细胞培养至第 12 天，弃去培养液，洗涤、固定及打孔后，用 PBS 按 1∶200 稀释偶联有 FITC 的细胞 GFAP 抗体（anti-GFAP，美国 Santa Cruz 公司），每孔加入 200 μL，避光 4℃条件下孵育过夜。用 PBS 按 1∶10 000 稀释荧光染料 DAPI（用于染色细胞核），每孔加入 200 μL，避光室温下孵育 30 min。应用 Nikon Ti-s 倒置荧光显微镜观察免疫荧光显色结果。

1.2 *实验分组* 取培养至第 12 天、生长状态良好的原代培养星形胶质细胞，分组如下：(1)空白对照组，即细胞未经任何药物处理；(2)氯胺酮组，即用 100 μmol/L 消旋体氯胺酮处理细胞 15 min、30 min、2 h、6 h 和 24 h；(3)MK-801 对照组，即用 1 μmol/L MK-801 处理细胞 15 min、30 min、2 h、6 h和 24 h；(4)AP-5 对照组，即用 50 μmol/L AP-5 处理细胞 15 min、30 min、2 h、6 h 和 24 h。各组细胞处理后，分别采用蛋白质印迹法检测细胞表面 Na^+-K^+泵、GAP-43 和 GLT-1 蛋白的表达情况，并用比色法检测乳酸脱氢酶（lactate dehydrogenase，LDH）漏出率。

1.3 *蛋白质印迹法检测目的蛋白表达* 收集各组细胞，提取细胞中总蛋白并使用 BCA 蛋白含量检测试剂盒（中国凯基生物公司）进行蛋白定量，应用 SDS-PAGE 凝胶快速配制试剂盒（中国碧云天生物技术公司）制备 SDS-PAGE 凝胶，根据所测得蛋白浓度在每一泳道中加入合适体积的目标蛋白样品（使目标蛋白含量为 120 μg）进行电泳、转膜及封闭，将所得 NC 膜根据目标条带位置剪裁为合适大

小后，分别置入配制好的 Rabbit anti-EAAT2（英国 Abcam 公司）、Rabbit anti-Na^+-K^+ ATPase（美国 Millipore 公司）、Mouse anti-Connexin-43（美国 BD Bioscience 公司）一抗溶液中孵育过夜后，慢摇床孵育相应二抗（抗兔二抗和抗鼠二抗均购自中国碧云天生物技术公司）45 min，洗膜后使用 Odyssey 双色红外激光成像系统（美国 LI-COR 公司）进行信号显影。

1.4　药物的细胞毒性作用检测　取培养至第 12 天、生长状态良好的原代星形胶质细胞，将细胞培养液换为不含 FBS 的 DMEM 培养液。加药时间以换液后 24 h 作为药物处理终点时间逆推。实验开始前 15 min，向各处理时间所设的对照组中加入裂解液以裂解细胞。收集各孔细胞上清液，300×g 离心 3 min 后，取洁净 96 孔板，每孔中加入 80 μL 上清液，每种上清液复测 3 个孔，并取 6 个空白孔各加入 80 μL 未使用过的、不含 FBS 的 DMEM 液作为背景对照。按照乳酸脱氢酶（LDH）测试盒（德国 Roche 公司）说明书进行反应液和终止液处理，测定光密度（OD）值，重复实验 6 次。计算各给药组相对于空白对照组的 LDH 漏出量的相对百分率，以此反映各药物的细胞毒性。

1.5　统计学处理　采用 Image J 和 Graphpad 软件对各实验检测结果进行统计分析并制图。本研究中所有实验均独立重复 6 次，计量结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示。多组间比较采用重复测量方差分析。检验水准（α）为 0.05。

2　结　果

2.1　原代星形胶质细胞生长状态及纯度　光学显微镜下观察结果显示：大鼠脑组织细胞培养至第 12 天，生长状态良好（图 1A）。以绿色荧光二抗标记细胞中的胶质纤维酸性蛋白（glial fibrillary acidic protein，GFAP；图 1B），以 DAPI 复染细胞核（图 1C），荧光显微镜下可见体外培养体系中 95%以上为星形胶质细胞（图 1D），胞体较大、形状不规则，细胞核明显、折光性良好、以“铺路石”样外观均匀分布。

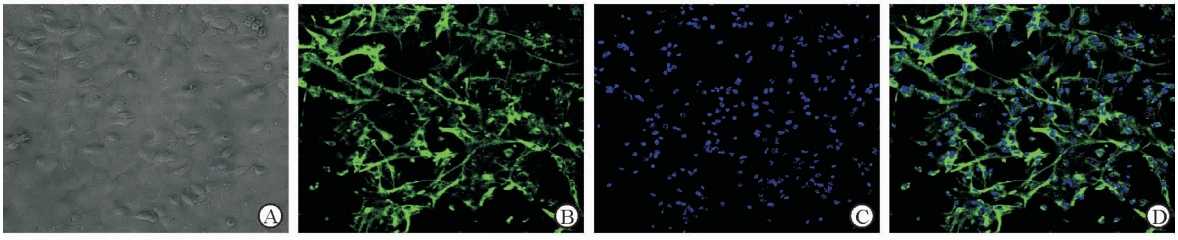

图 1　原代星形胶质细胞的生长状态及纯度检测

A：培养 12 d 后光镜下细胞形态；B：免疫荧光技术检测细胞体分布；C：免疫荧光技术检测细胞核分布；D：免疫荧光技术检测细胞形态及纯度. Original magnification：×200

2.2　氯胺酮对星形胶质细胞表面脑保护相关受体表达的影响

2.2.1　GLT-1　蛋白质印迹法检测结果（图 2）表明：氯胺酮处理 30 min 和 2 h 后，星形胶质细胞表面 GLT-1 的表达较空白对照组增加（$P<0.05$）。对照药物 AP-5 处理 24 h 后，GLT-1 蛋白表达减少（$P<0.05$）；对照药物 MK-801 对 GLT-1 表达无明显影响。

2.2.2　Na^+-K^+ 泵　蛋白质印迹法检测结果（图 3）显示：氯胺酮处理 15 min 和 30 min 后，星形胶质细胞表面 Na^+-K^+ 泵表达较空白对照组增加（$P<0.05$）。对照药物 MK-801 处理 6 h 后，星形胶质细胞表面 Na^+-K^+ 泵的表达上调（$P<0.05$）；对照药物 AP-5 对 Na^+-K^+ 泵无明显影响。

2.2.3　GAP-43　蛋白质印迹法检测结果（图 4）显示：氯胺酮和对照药物 MK-801 处理 6 h 和 24 h 后，星形胶质细胞表面 GAP-43 的表达较空白对照组减少（$P<0.05$）；对照药物 AP-5 对 Na^+-K^+ 泵无明显影响。

2.3　氯胺酮处理对星形胶质细胞的毒性作用　LDH 漏出率检测结果（图 5）表明：持续作用 15 min 至 24 h 情况下，终浓度为 100 μmol/L 的氯胺酮、1 μmol/L的 MK-801 和 50 μmol/L 的 AP-5 均对离体培养的原代星形胶质细胞无损伤作用。

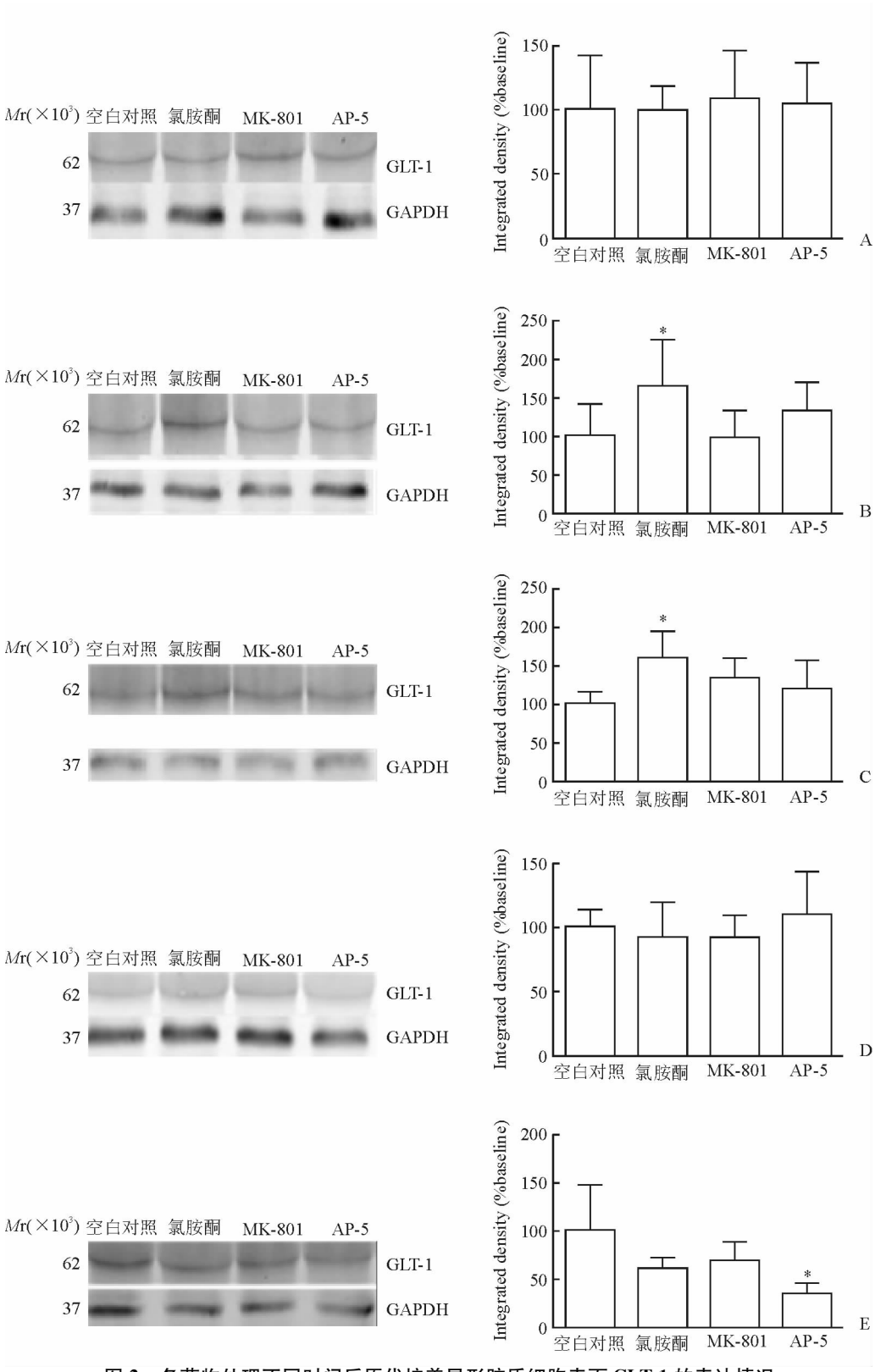

图 2 各药物处理不同时间后原代培养星形胶质细胞表面 GLT-1 的表达情况

A:15 min;B:30 min;C:2 h;D:6 h;E:24 h. * $P<0.05$;$n=6$, $\bar{x}\pm s$

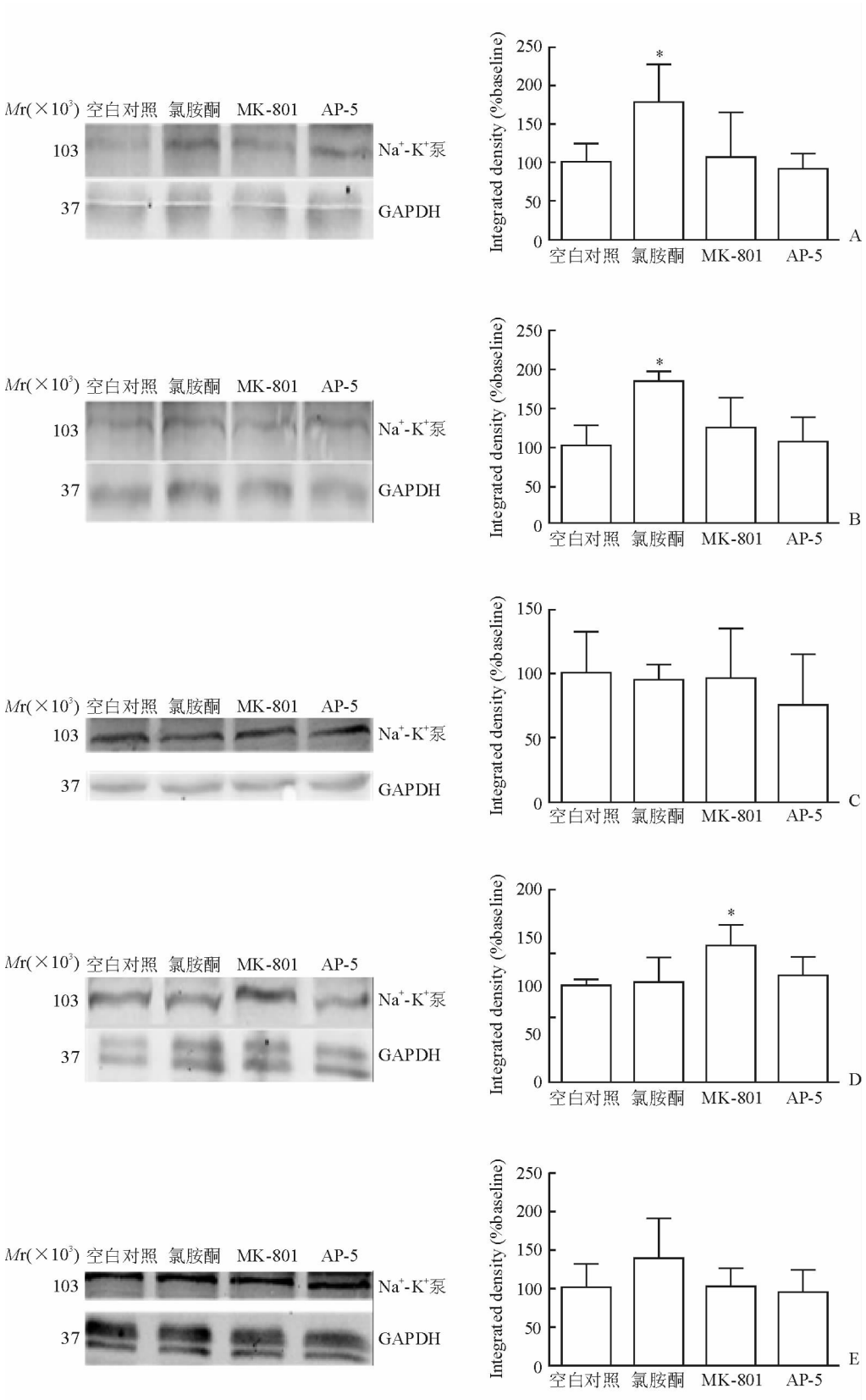

图 3　各药物处理不同时间后原代培养星形胶质细胞表面 Na^+-K^+ 泵的表达情况

A：15 min；B：30 min；C：2 h；D：6 h；E：24 h. * $P<0.05$；$n=6$，$\bar{x}\pm s$

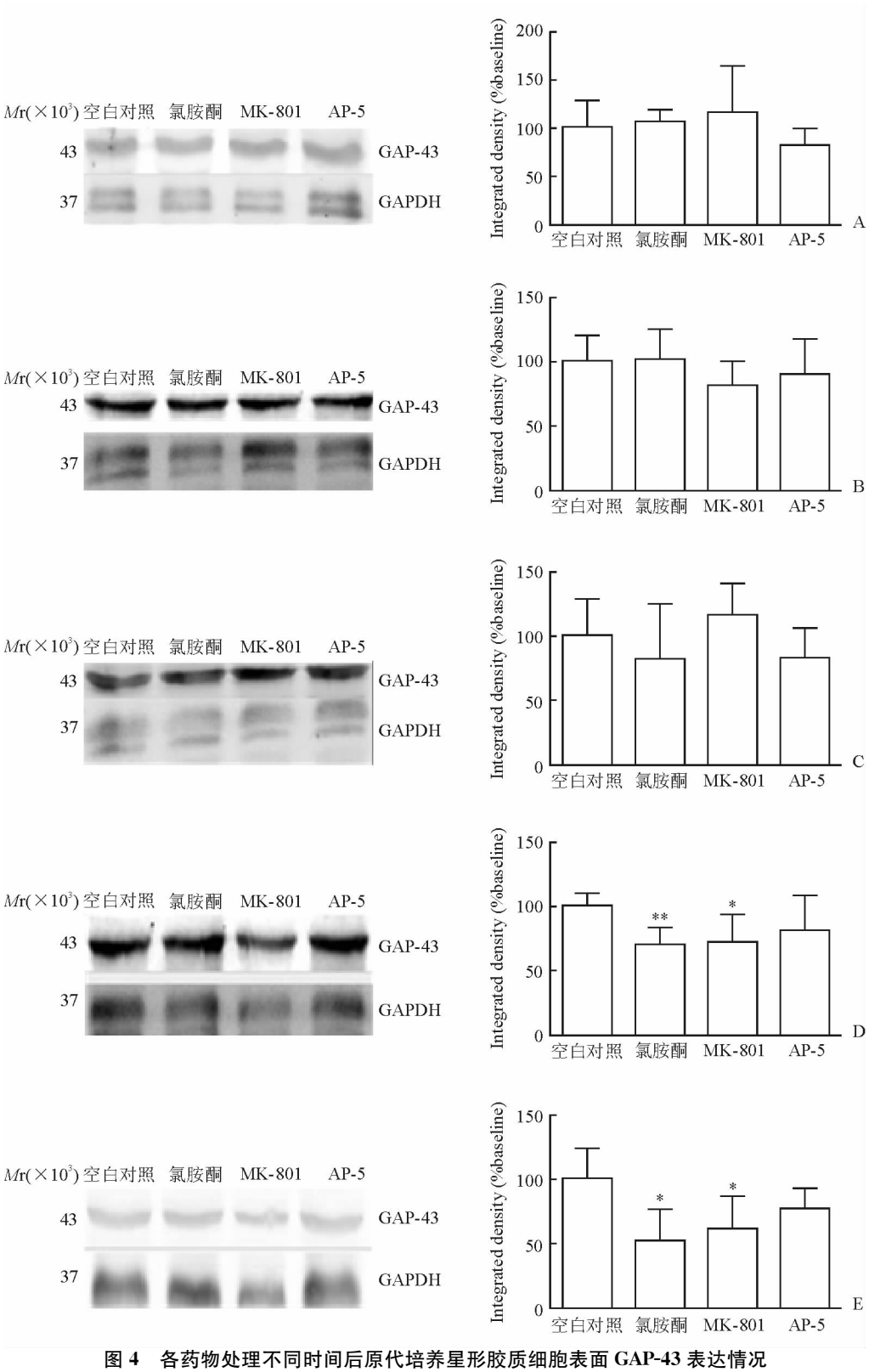

图 4 各药物处理不同时间后原代培养星形胶质细胞表面 GAP-43 表达情况

A:15 min;B:30 min;C:2 h;D:6 h;E:24 h. * $P<0.05$, ** $P<0.01$; $n=6$, $\bar{x}\pm s$

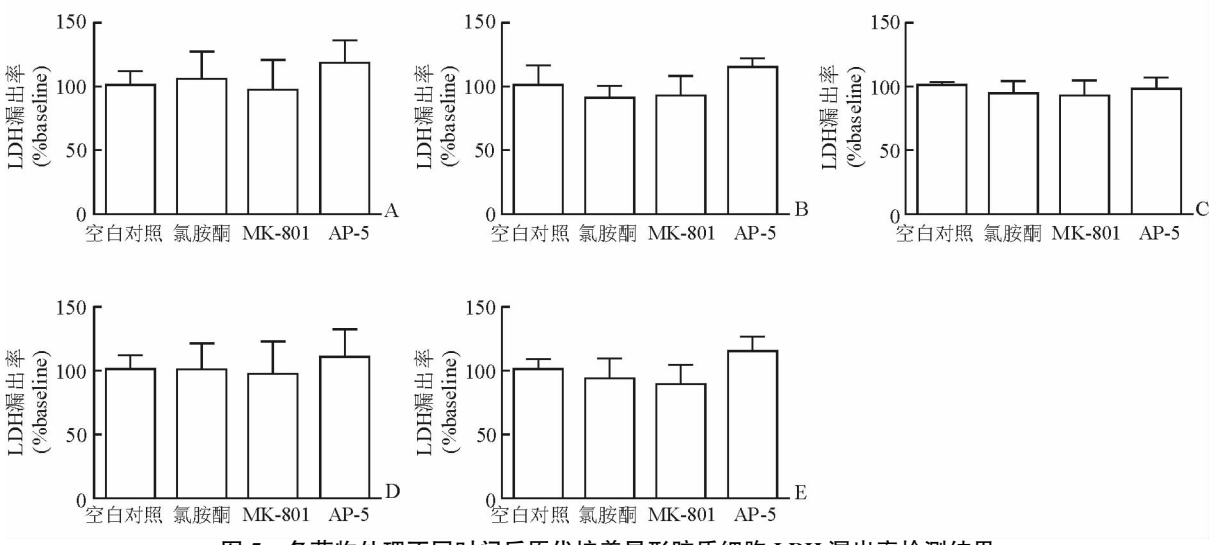

图 5　各药物处理不同时间后原代培养星形胶质细胞 LDH 漏出率检测结果

A:15 min;B:30 min;C:2 h;D:6 h;E:24 h. $n=6$, $\bar{x}\pm s$

3　讨　论

离体培养星形胶质细胞在基因表达、信号转导、代谢和钾离子摄取等方面均与在体星形胶质细胞相似[16]。因此,本研究选择原代培养的星形胶质细胞作为研究对象。在经氯胺酮持续处理 30 min 和 2 h 后,离体培养原代星形胶质细胞表面膜蛋白 GLT-1 的表达量相比于空白对照组明显增加。结果表明,氯胺酮可以通过调节星形胶质细胞表面的 GLT-1 受体发挥脑保护作用,但该保护作用较短,且为一过性,仅出现在氯胺酮持续作用时间为 30 min～2 h 的情况下。

为明确氯胺酮在离体培养原代星形胶质细胞中的作用及其作用受体,本研究选取了两种常见的 NMDA 受体阻滞剂(MK-801 和 AP-5)作为对照。作为最常见的非竞争性 NMDA 受体阻滞剂,MK-801 具有与氯胺酮类似的多受体作用,其不仅可以阻断 NMDA 受体,还对烟碱型乙酰胆碱受体(N 型乙酰胆碱受体)、5-羟色胺受体以及多巴胺受体有阻断作用[8]。而 AP-5 是一种快速起效的选择性、竞争性 NMDA 受体阻滞剂。因此,本研究使用氯胺酮、MK-801 和 AP-5 分别处理星形胶质细胞,检测细胞表面 GLT-1、Na^+-K^+ 泵以及 GAP-43 的表达。结果显示,MK801 及 AP-5 在持续作用 24 h 内均未对 GLT-1 有保护性上调作用,提示氯胺酮可能一过性地通过非 NMDA 受体途径上调星形胶质细胞 GLT-1 的表达。此外,有研究[17]表明,慢性长期使用氯胺酮对 GLT-1 表达有永久性的下调性损伤作用。本研究结果发现,AP-5 在持续作用 24 h 后,GLT-1 表达明显下调。因此,以上结果提示,氯胺酮作用 24 h 并未发生下调 GLT-1 的作用,可能与多途径作用有关。本实验还显示,氯胺酮持续作用 15 min 和 30 min 后,星形胶质细胞表面的 Na^+-K^+ 泵表达量较空白对照组明显增加;MK-801 持续作用 6 h 后,Na^+-K^+ 泵表达也明显增加;AP-5 处理组各时间点,Na^+-K^+ 泵表达均未改变。这些结果提示,氯胺酮对 Na^+-K^+ 泵的作用可能不依赖于 NMDA 受体。

研究[18]表明,细胞间连接蛋白的表达是星形胶质细胞功能正常的充分必要条件,而 GAP-43 是星形胶质细胞中最主要的一种细胞间连接蛋白。本研究显示,氯胺酮持续处理时间≥6 h 时,GAP-43 的表达较空白对照组明显减少。Himmelseher 等[6]用神经元和星形胶质细胞的混合培养模型发现,终浓度为 100 μmol/L 的 S(+)氯胺酮可以上调谷氨酸预处理星形胶质细胞表面 GAP-43 的表达,且这种上调作用可以从给药后 1 h 持续至给药后 7 d,但消旋体氯胺酮在相同的处理方法下并未表现对星形胶质细胞的保护或伤害作用,本研究所使用的氯胺酮为消旋体,结果与之相仿。Viberg 等[19]的动物实验结果也表明,氯胺酮处理 24 h 后,皮质中 GAP-43 蛋白表达水平下降。此外,本实验亦发现,氯胺酮处理 6 h 后星形胶质细胞表面 GAP-43 蛋白表达量减少;与氯胺酮的作用相似,MK-801 的持续作用并未使离体培养原代星形胶质细胞表面 GAP-43 的表达量增加;无论处理时间长短,AP-5 的处理并未对离体培养原代星形胶质细胞表面 GAP-43 表达有明显的作用。

此外,本研究药物在所选浓度和作用时间下均未表现出明显的细胞毒性作用。鉴于 MK-801 除阻断 NMDA 受体以外还可作用于多种其他受体,而 AP-5 是一种选择性 NMDA 受体阻滞剂,提示氯胺酮可能是通过与 MK-801 相似或相同的途径抑制 GAP-43 蛋白的表达,但具体机制有待进一步研究。而且 S(+)氯胺酮对离体培养原代星形胶质细胞表面 GAP-43 蛋白表达的调节作用也须进一步研究证实。

如何预防脑损伤的发生,通过干预脑组织受损程度改善脑损伤相关疾病的预后,探究脑损伤的发生机制,明确已发现有脑保护作用的药物的作用机制和靶点途径,均是临床和科研工作者的关注重点。目前,氯胺酮的脑保护作用已在临床层面、离体脑片层面以及细胞层面(神经元与星形胶质细胞共培养模型及神经元培养模型)被证实,但是其具体作用途径和机制尚不明确。本研究通过探究氯胺酮对原代培养星形胶质细胞中与脑保护密切相关的 3 种蛋白的调节作用及时效性,初步分析氯胺酮作用的可能机制。本研究结果表明,消旋体氯胺酮可以一过性地通过非 NMDA 受体途径,上调星形胶质细胞表面 GLT-1 和 Na^+-K^+ 泵的表达,这为进一步阐明氯胺酮潜在的脑保护作用提供了更多证据和新的思路。

参考文献

[1] ERIC R B, JOSEPH D B, DONALD E C, et al. ACCF/SCAI/SVMB/SIR/ASITN 2007 Clinical Expert Consensus Document On Carotid Stenting: a report of the American College of Cardiology Foundation Task Force on clinical expert consensus documents (ACCF/SCAI/SVMB/SIR/ASITN Clinical Expert Consensus Document Committee on carotid stenting)[J]. J Am Coll Cardiol, 2007, 49(1): 126-170.

[2] ROGAWSKI M A. Common pathophysiologic mechanisms in migraine and epilepsy[J]. Arch Neurol, 2008, 65(6): 709-714.

[3] ENGER R, TANG W, VINDEDAL G F, et al. Dynamics of ionic shifts in cortical spreading depression[J]. Cereb Cortex, 2015, 25(11):4469-4476.

[4] AFRIDI S K, GIFFIN N J, KAUBE H, et al. A randomized controlled trial of intranasal ketamine in migraine with prolonged aura[J]. Neurology, 2013, 80(7):642-647.

[5] HERTLE D N, DREIER J P, WOITZIK J, et al. Effect of analgesics and sedatives on the occurrence of spreading depolarizations accompanying acute brain injury[J]. Brain, 2012, 135(Pt 8): 2390-2398.

[6] HIMMELSEHER S, PFENNINGER E, KOCHS E, et al. S(+)-ketamine up-regulates neuronal regeneration associated proteins following glutamate injury in cultured rat hippocampal neurons[J]. J Neurosurg Anesthesiol, 2000, 12(2):84-94.

[7] LIU F, PATTERSON T A, SADOVOVA N, et al. Ketamine-induced neuronal damage and altered N-methyl-D-aspartate receptor function in rat primary forebrain culture[J]. Toxicol Sci, 2013, 131(2):548-557.

[8] KOHRS R, DURIEUX M E. Ketamine: teaching an old drug new tricks[J]. Anesth Analg, 1998, 87(5):1186-1193.

[9] TORRENTE D, CABEZAS R, AVILA M F, et al. Cortical spreading depression in traumatic brain injuries: is there a role for astrocytes?[J]. Neurosci Lett, 2014, 565:2-6.

[10] SIUSHANSIAN R, BECHBERGER J F, CECHETTO D F, et al. Connexin43 null mutation increases infarct size after stroke[J]. J Comp Neurol, 2001, 440(4):387-394.

[11] TANAKA K, WATASE K, MANABE T, et al. Epilepsy and exacerbation of brain injury in mice lacking the glutamate transporter GLT-1[J]. Science, 1997, 276(5319): 1699-1702.

[12] AGUIRRE-RUEDA D, GUERRA-OJEDA S, ALDASORO M, et al. Astrocytes protect neurons from Abeta1-42 peptide-induced neurotoxicity increasing TFAM and PGC-1 and decreasing PPAR-gamma and SIRT-1[J]. Int J Med Sci, 2015, 12(1):48-56.

[13] GIORDANO G, KAVANAGH T J, COSTA L G. Mouse cerebellar astrocytes protect cerebellar granule neurons against toxicity of the polybrominated diphenyl ether (PBDE) mixture DE-71[J]. Neurotoxicology, 2009, 30(2):326-329.

[14] SIDORYK-WEGRZYNOWICZ M, WEGRZYNOWICZ M, LEE E, et al. Role of astrocytes in brain function and disease[J]. Toxicol Pathol, 2011, 39(1):115-123.

[15] XUE J H, YANAMOTO H, NAKAJO Y, et al. Induced spreading depression evokes cell division of astrocytes in the subpial zone, generating neural precursor-like cells and new immature neurons in the adult cerebral cortex[J]. Stroke, 2009, 40(11):e606-e613.

[16] HERTZ L, CHEN Y, SONG D. Astrocyte cultures mimicking brain astrocytes in gene expression, signaling, metabolism and K uptake and showing astrocytic gene expression overlooked by immunohistochemistry and in situ hybridization[J]. Neurochem Res, 2017, 42(1):254-271.

[17] FEATHERSTONE R E, LIANG Y, SAUNDERS J A, et al. Subchronic ketamine treatment leads to permanent changes in EEG, cognition and the astrocytic glutamate transporter EAAT2 in mice[J]. Neurobiol Dis, 2012, 47(3):338-346.

[18] DONG L, YANG X, GU W, et al. Connexin 43 mediates PFOS-induced apoptosis in astrocytes[J]. Chemosphere, 2015, 132:8-16.

[19] VIBERG H, PONTÉN E, ERIKSSON P, et al. Neonatal ketamine exposure results in changes in biochemical substrates of neuronal growth and synaptogenesis, and alters adult behavior irreversibly[J]. Toxicology, 2008, 249(2/3): 153-159.

[本文编辑] 叶 婷,张艺鸣