

## 谷氨酸转运体 - 1 在 H<sub>2</sub>S 保护 PC12 细胞 对抗化学性低氧损伤中的作用

叶裕良<sup>1</sup>, 兰爱平<sup>2</sup>, 林琳<sup>3</sup>, 袁福利<sup>3</sup>, 周舸<sup>3</sup>, 张莉莉<sup>3</sup>, 莫利求<sup>3</sup>, 陈培熹<sup>2</sup>, 冯鉴强<sup>2</sup>

(1. 东莞市横沥医院内科, 广东 东莞 523460; 2. 中山大学中山医学院 生理学教研室;  
3. 中山大学附属第一医院黄埔院区 麻醉科)

**摘要:** **目的** 探讨谷氨酸转运体 - 1 (GLT - 1) 在硫化氢 (H<sub>2</sub>S) 保护 PC12 细胞对抗化学性低氧损伤中的作用。**方法** 应用化学性低氧模拟剂氯化钴 (CoCl<sub>2</sub>) 处理 PC12 细胞建立化学性低氧损伤模型作为研究对象。实验分为 6 组, 正常对照组; 未经任何药物处理的 PC12 细胞; CoCl<sub>2</sub> 处理组; PC12 细胞用 600 μmol/L 的 CoCl<sub>2</sub> 处理 24 h 或 48 h; H<sub>2</sub>S 单独处理组; H<sub>2</sub>S 预处理组; 400 μmol/L NaHS (H<sub>2</sub>S 的供体) 提前 30 min 作用 PC12 细胞, 然后与 CoCl<sub>2</sub> 一起再作用 24 h 或 48 h; DHK (一种 GLT - 1 抑制剂) 单独处理组; DHK 阻断组; 在 NaHS 预处理前 30 min, 给以 400 μmol/L DHK, 然后按 H<sub>2</sub>S 预处理组继续处理。应用蛋白免疫印迹法 (Western bolt) 检测 GLT - 1 蛋白表达; CCK - 8 比色法测定细胞存活率; Hoechst33258 核染色法检测细胞凋亡的形态学改变及数量改变; 罗丹明 123 (Rh123) 染色及荧光显微镜照相测定线粒体膜电位 (MMP)。**结果** 600 μmol/L CoCl<sub>2</sub> 处理 PC12 细胞 24 h 可使 GLT - 1 表达明显减少; 在 CoCl<sub>2</sub> 处理 PC12 细胞前应用 400 μmol/L NaHS 预处理 30 min 能明显地阻断 CoCl<sub>2</sub> 对 GLT - 1 表达的抑制作用; 400 μmol/L 的 GLT - 1 抑制剂 DHK 能阻断 H<sub>2</sub>S 保护 PC12 细胞对抗 CoCl<sub>2</sub> 诱导的损伤作用, 使细胞存活率降低, 凋亡细胞数量及 MMP 丢失增多。**结论** 上调 GLT - 1 表达可能是 H<sub>2</sub>S 保护 PC12 细胞对抗 CoCl<sub>2</sub> 损伤的作用机制之一。

**关键词:** 谷氨酸转运体 - 1; 硫化氢; PC12 细胞; 活性氧; 低氧

中图分类号: R338 文献标识码: A 文章编号: 2095 - 1116 (2011) 04 - 0380 - 05

## Role of Glutamate Transporter - 1 in the Protection of Hydrogen Sulfide Against Chemical Hypoxia-induced Injury in PC12 Cells

YE Yu-liang, LAN Ai-ping, LIN Lin, et al

(Department of Medicine, Hengli Hospital of Dongguan City, Dongguan, Guangdong 523460, China)

**Abstract:** **Objective** To explore the role of glutamate transporter - 1 (GLT - 1) in the protective effect of hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) against chemical hypoxia-induced injury in PC12 cells. **Methods** PC12 cells were exposed to cobalt chloride (CoCl<sub>2</sub>), so as to establish a chemical hypoxia-induced cellular insult model. PC12 cells were divided into 6 groups, control group, CoCl<sub>2</sub>-treated group, H<sub>2</sub>S group, H<sub>2</sub>S-protected group, DHK (dihydrokainic acid, a GLT - 1 inhibitor) group and DHK-prevented group. The expression of GLT - 1 was measured by Western bolt assay. Cell viability was detected by cell counter kit (CCK - 8); The changes in morphology and amount of apoptotic cells were observed by Hoechst 33258 staining; Mitochondria membrane potential (MMP) was tested by rhodamine 123 (Rh123) staining and photofluorograph. **Results** Treatment of PC12 cells with 600 μmol/L CoCl<sub>2</sub> for 24h significantly reduced expression of GLT - 1. Pretreatment of cells with 400 μmol/L NaHS (a donor of H<sub>2</sub>S) for 30min prior to exposure to CoCl<sub>2</sub> markedly blocked the inhibitory effect of CoCl<sub>2</sub> on expression of GLT - 1. DHK (400 μmol/L) inhibited the protective effect of H<sub>2</sub>S against CoCl<sub>2</sub>-induced

PC12 cells injuries, resulting in a decrease in cell viability, an increase in apoptotic cells, and a loss of MMP. **Conclusions** Upregulating the expression of GLT-1 may be one of the mechanisms responsible for protection of H<sub>2</sub>S against CoCl<sub>2</sub>-induced injury in PC12 cells.

**Key words:** glutamate transporter-1; hydrogen sulfide; PC12 cells; reactive oxygen species; hypoxia

长期以来,硫化氢(hydrogen sulfide, H<sub>2</sub>S)被认为是外界环境中的一种有毒气体,可损伤脑和肺等重要器官。近年的研究证实体内的组织细胞能生成内源性 H<sub>2</sub>S,并被认为是—种气体递质,与—氧化氮(NO)和—氧化碳(CO)构成体内的气体递质家族。随着研究的深入,发现生理浓度的 H<sub>2</sub>S 能增强 NMDA(N-methyl-D-aspartate)受体的活动及海马长时程增强(LTP)的诱导<sup>[1]</sup>。在星形胶质细胞和小胶质细胞, H<sub>2</sub>S 能引起钙波<sup>[2]</sup>。H<sub>2</sub>S 也能保护神经细胞对抗氧化应激引起的损伤<sup>[3,4]</sup>。因此, H<sub>2</sub>S 也被认为是—种神经调质。

最近,本研究小组观察到, H<sub>2</sub>S 能保护具有神经元形态结构和功能特征的 PC12 细胞对抗氯化钴(CoCl<sub>2</sub>)引起的损伤<sup>[5,6]</sup>。CoCl<sub>2</sub> 是—种公认的化学性低氧模拟剂,能在多种细胞引起缺氧/缺血性损伤,如增加活性氧(reactive oxygen species, ROS)生成,引起细胞毒性及细胞凋亡等<sup>[5-7]</sup>。近年, Sun 等<sup>[8]</sup>报道, ROS 能损伤谷氨酸转运体(glutamate transporter, GLT)的功能。GLT 属于膜蛋白家族,在整个中枢神经系统都有表达。GLT 的主要功能是从细胞外液中摄取谷氨酸,使其浓度降低,以免引起神经兴奋性毒性作用。此外, GLT 也参与神经分化、存活、突触传递、突触可塑性及神经元与胶质细胞之间的相互作用<sup>[9]</sup>。GLT 功能受损可导致谷氨酸在突触间隙内过量积聚,从而引起兴奋性毒性及神经损伤。另一方面,有研究指出, H<sub>2</sub>S 可通过增加 GLT 对谷氨酸摄取保护星形胶质细胞对抗 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 引起的损伤<sup>[10]</sup>。因此,本研究将探讨 GLT 是否参与 H<sub>2</sub>S 保护 PC12 细胞对抗 CoCl<sub>2</sub> 引起的损伤。

## 1 材料与方—法

### 1.1 材料

CoCl<sub>2</sub>, NaHS, Hoechst33258 购自美国 sigma Aldrich 公司, CCK-8 试剂盒购自日本 Dojindo Lab, DMEM-F12 培养基购自 Gibco 公司, 抗 GLT-1 抗体购自 Abcam 公司, Western blot 检测试剂盒购自 Cell signaling Technology Inc (CST)。DHK (GLT-1 抑制剂) 购自碧云天生物技术研究所(中国, 海门市)。

### 1.2 细胞培养与实验分组

PC12 细胞由中山大学实验动物中心提供,置于含 10% 新生牛血清的 DMEM 高糖培养基中,于 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 条件下培养,选取对数生长期细胞进行实验。实验分为 6 组,正常对照组:未经任何药物处理的 PC12 细胞; CoCl<sub>2</sub> 处理组: PC12 细胞用 600 μmol/L 的 CoCl<sub>2</sub> 处理 24 h 或 48 h; H<sub>2</sub>S 单独处理组; H<sub>2</sub>S 预处理组: 400 μmol/L NaHS (H<sub>2</sub>S 的供体)提前 30 min 作用 PC12 细胞,然后与 CoCl<sub>2</sub> 一起再作用 24 h 或 48 h; DHK (dihydrokainic acid, —种 GLT-1 抑制剂)单独处理组; DHK 阻断组:在 NaHS 预处理前 30 min, 给以 400 μmol/L DHK, 然后按 H<sub>2</sub>S 预处理组继续处理。

### 1.3 细胞存活率的测定

PC12 细胞取对数生长期细胞,以 1 × 10<sup>5</sup>/L 接种于 96 孔板, 100 μL/孔。在 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 条件下常规培养过夜后,按实验要求给予不同处理,每孔设 8 个平行孔,处理完后,每孔加入 10 μL 的 CCK-8, 37℃ 继续孵育 4 h,用酶标仪(450 nm)记录各孔的吸光度(OD),取四孔 OD 值的平均数,按下列公式计算细胞存活率:细胞存活率(%) = 处理组 OD/对照组 OD × 100%, 重复 3 次。

### 1.4 Hoechst33258 核染色检测细胞凋亡

将 PC12 细胞(1 × 10<sup>7</sup>/L)接种于 35 mm 的小号培养皿中,各实验组按—要求给予不同的处理因素后,加入新鲜配置的 4% 多聚甲醛(pH = 7.4)4℃ 固定细胞 10 min,用 PBS 洗两次,加入 5 mg/L Hoechst33258 染色液染色 10 min,用 PBS 洗两遍,加入适量的 PBS 后用荧光显微镜观察,摄片。正常细胞核出现弥散均匀的低密度荧光;细胞核呈固缩形态或颗粒状荧光,计为凋亡细胞。

### 1.5 细胞线粒体膜电位(MMP)的测定

Rh123 是—种能够被线粒体所吸收的荧光染料,线粒体对其摄取能力取决于其跨膜电位。根据荧光强度可以间接反映 MMP 的高低,将细胞接种于 35 mm 的培养皿中,各实验组给予不同的处理因素后,倒掉培养液,用不含血清的低糖培养液洗两次,随后在含 100 μg/L Rh123 的无血清的培养基中 37℃ 孵育 45 min,在荧光显微镜下随机选取不重复的区域摄片,细胞核周围的绿色亮点即为摄取了

Rh123 的线粒体。用 Image J1.41. 软件的 COLOR Histogram 模块计算出 5 个视野绿色荧光强度的平均值,再对各组的样本进行统计分析。

### 1.6 Western bolt 法测定 GLT-1 的表达

PC12 细胞接种于 60 mm 培养皿中,各实验组给予不同的处理因素后,用预冷的 PBS 洗两次,加入细胞裂解液,4℃静置 30 min,12 000 r/min 离心 10 min,取上清,采用 BCA 法进行蛋白定量。总蛋白经 SDS-PAGE 分离后,转移到 PVDF 膜上。用 5% 脱脂奶粉封闭 1.5 h,随后加入兔抗大鼠 GLT-1 抗体(1:500),4℃过夜,用 TBST 洗三次,10 min/次。ECL 法显色,曝光到 X 光片上,凝胶成像系统扫描分析结果。

### 1.7 统计学处理

全部实验数据经 SPSS13.0 软件进行统计学分析,所有结果以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较用单因素方差分析(one-way ANOVA)检验,用 LSD 进行均数之间的比较, $P < 0.05$  为差异有显著性。

## 2 结果

### 2.1 CoCl<sub>2</sub>抑制 PC12 细胞的 GLT-1 表达

GLT-1 为 GLT 的一个亚型,在神经元和胶质细胞(主要)均有表达。图 1 显示,在正常 PC12 细胞,GLT-1 表达较多。600  $\mu\text{mol/L}$  CoCl<sub>2</sub> 处理 PC12 细胞 24 h 可使 GLT-1 表达明显减少,与正常对照组比较,差异有显著性( $P < 0.01$ )。

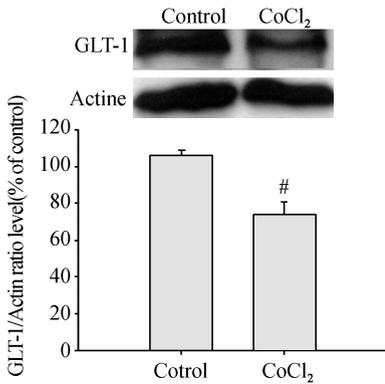


图 1 CoCl<sub>2</sub> 抑制 PC12 细胞的 GLT-1 表达  
与正常对照组比较(control),<sup>#</sup> $P < 0.01$

### 2.2 NaHS 阻止 CoCl<sub>2</sub> 抑制 PC12 细胞 GLT-1 表达

图 2 显示,在应用 600  $\mu\text{mol/L}$  CoCl<sub>2</sub> 作用 PC12 细胞之前,应用 400  $\mu\text{mol/L}$  NaHS 预处理 30 min 可明显地对抗 CoCl<sub>2</sub> 对 GLT-1 表达的抑制作用,使 GLT-1 表达增多,与 CoCl<sub>2</sub> 处理组相比较,差异有

显著性( $P < 0.01$ )。

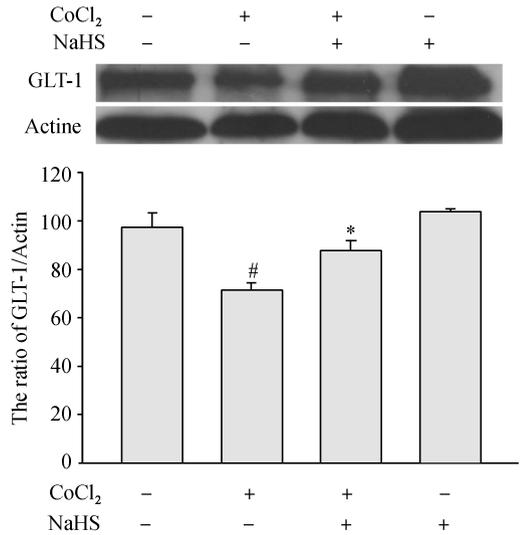


图 2 H<sub>2</sub>S 减轻 CoCl<sub>2</sub> 对 PC12 细胞 GLT-1 表达的抑制作用

与正常对照组比较,<sup>#</sup> $P < 0.01$ ;与 CoCl<sub>2</sub> 处理组比较,<sup>\*</sup> $P < 0.01$

### 2.3 GLT-1 抑制剂 DHK 阻断 H<sub>2</sub>S 抑制 CoCl<sub>2</sub> 的细胞毒性

图 3 显示,600  $\mu\text{mol/L}$  CoCl<sub>2</sub> 处理 PC12 细胞 24 h 可引起细胞毒性作用,使细胞的存活率降低至 42%  $\pm$  2.1%,与对照组比较差异有显著性( $P < 0.01$ )。400  $\mu\text{mol/L}$  NaHS 预处理 30 min 能明显地对抗 CoCl<sub>2</sub> 诱导的细胞毒性,使细胞存活率升高至 63%  $\pm$  1.2%,与 CoCl<sub>2</sub> 处理组比较差异有显著性( $P < 0.01$ )。400  $\mu\text{mol/L}$  DHK 预处理能阻断 NaHS 对 CoCl<sub>2</sub> 细胞毒性的抑制作用,使细胞存活率下降到 50%  $\pm$  2.4%,与 NaHS 预处理组比较,差异有显著性( $P < 0.01$ )。

### 2.4 GLuT-1 抑制剂 DHK 阻断 H<sub>2</sub>S 拮抗 CoCl<sub>2</sub> 诱导 PC12 细胞凋亡

图 4 显示,正常对照组的细胞凋亡率为 5%  $\pm$  1.8%;600  $\mu\text{mol/L}$  CoCl<sub>2</sub> 处理 PC12 细胞 48 h 可显著引起细胞凋亡,细胞凋亡率增加至 42%  $\pm$  1.2%,与正常对照组比较,差异有显著性( $P < 0.01$ )。400  $\mu\text{mol/L}$  NaHS 预处理 30 min 能显著地抑制 CoCl<sub>2</sub> 引起的细胞凋亡,细胞凋亡率降至 21%  $\pm$  2.2%,与 CoCl<sub>2</sub> 处理组比较差异有显著性( $P < 0.01$ )。然而 400  $\mu\text{mol/L}$  DHK(GLT-1 抑制剂)预处理 PC12 细胞 30 min 能对抗 400  $\mu\text{mol/L}$  NaHS 的抗凋亡作用,使细胞凋亡率升高至 35%  $\pm$  1.7%,与 NaHS 保护组比较,差异有显著性( $P < 0.01$ )。

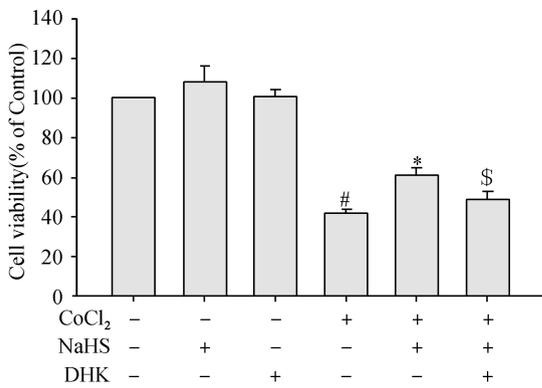


图3 GLT-1 抑制剂 DHK 拮抗 H<sub>2</sub>S 的抗 CoCl<sub>2</sub> 损伤 PC12 细胞的作用

与正常对照组比较, #*P* < 0.01; 与 CoCl<sub>2</sub> 处理组比较, \**P* < 0.01; 与 H<sub>2</sub>S 预处理组比较, <sup>\$</sup>*P* < 0.01

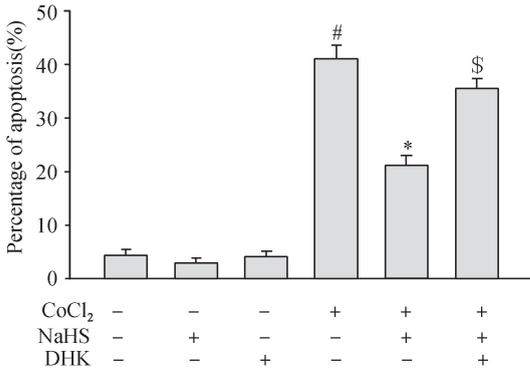
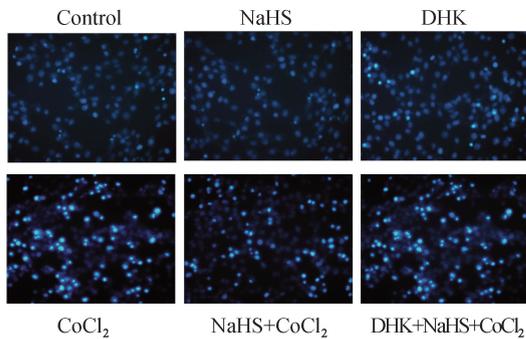


图4 GLT-1 抑制剂 DHK 阻断 H<sub>2</sub>S 拮抗 CoCl<sub>2</sub> 诱导 PC12 细胞凋亡

与正常对照组比较, #*P* < 0.01; 与 CoCl<sub>2</sub> 处理组比较, \**P* < 0.01; 与 H<sub>2</sub>S 预处理组比较, <sup>\$</sup>*P* < 0.01

### 2.5 GLuT-1 抑制剂 DHK 阻断 H<sub>2</sub>S 的线粒体保护作用

图5显示 600 μmol/L CoCl<sub>2</sub> 处理 PC12 细胞 24 h, 使胞内 Rh123 平均荧光强度明显减弱, 表明 MMP 降低, 线粒体功能受损, 与正常对照组比较, 差异有显著性 (*P* < 0.01, 图5)。400 μmol/L NaHS 能明显对抗 CoCl<sub>2</sub> 对线粒体的损伤作用, MMP 明显升高, 与 CoCl<sub>2</sub> 处理组比较, 差异有显著性 (*P* < 0.01,

图5)。400 μmol/L DHK 预处理明显地拮抗 NaHS 的线粒体保护作用, MMP 丢失增多, 与 NaHS 预处理组比较, 差异有显著性 (*P* < 0.01)。

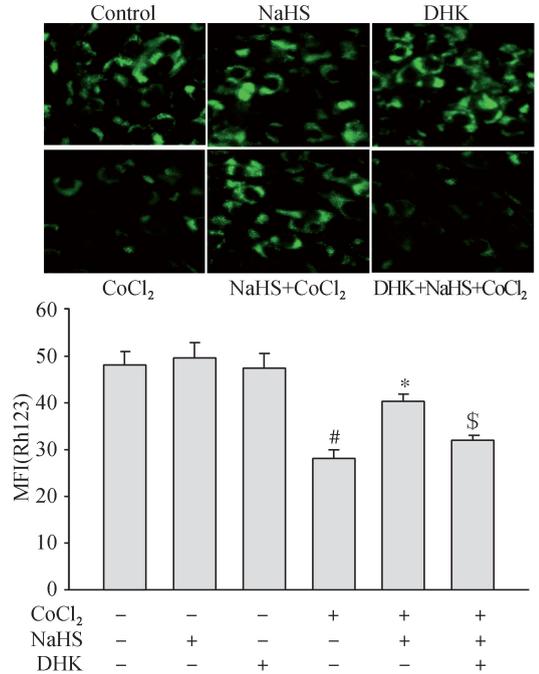


图5 GLT-1 抑制剂 DHK 阻断 H<sub>2</sub>S 的线粒体保护作用 与正常对照组比较, #*P* < 0.01; 与 CoCl<sub>2</sub> 处理组比较, \**P* < 0.01; 与 H<sub>2</sub>S 预处理组比较, <sup>\$</sup>*P* < 0.01

## 3 讨论

CoCl<sub>2</sub> 是一种化学性低氧模拟剂, 能在许多方面模拟低氧反应。另外, 由于 Co(II) 能与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 产生反应而生成 ROS, 所以 CoCl<sub>2</sub> 也被认为是一种氧化应激诱导因子。近年, 本实验室与其他学者均已证实 CoCl<sub>2</sub> 能增加 PC12 细胞内 ROS 生成, 这是其引起细胞损伤的机制之一<sup>[4-7]</sup>。本文进一步证实, CoCl<sub>2</sub> 在引起细胞毒性与细胞凋亡及损伤线粒体功能的同时, 能明显地抑制 GLT-1 表达, 提示抑制 GLT-1 表达可能是 CoCl<sub>2</sub> 损伤细胞的另一机制。

本研究发现 H<sub>2</sub>S 可减轻 CoCl<sub>2</sub> 诱导的细胞毒性和细胞凋亡, 表明 H<sub>2</sub>S 对 CoCl<sub>2</sub> 引起的缺氧性损伤具有拮抗作用, 进一步证实了原来的发现<sup>[5,6]</sup>。线粒体是凋亡过程中一个非常重要的调控器, 多数凋亡发生过程都伴有 MMP 的异常<sup>[11]</sup>。本文结果显示 CoCl<sub>2</sub> 可显著降低 PC12 细胞 MMP, H<sub>2</sub>S 可显著减轻 CoCl<sub>2</sub> 对细胞 MMP 的破坏作用, 表明 H<sub>2</sub>S 对 CoCl<sub>2</sub> 损伤神经元的保护作用可能与其稳定 MMP 有关。

Jayakumar 等<sup>[12]</sup>人证实,氧化应激减弱 GLT 的活性,抗氧化剂能逆转这一损伤作用,然而,有关 GLT-1 在缺氧/缺血中的作用的报道并不一致的。在成年雄性大鼠,压迫性脊髓损伤可导致 GLT-1 表达降低约 80%,雌激素(17- $\beta$ -oestradiol)可通过上调 GLT-1 表达减小脊髓损伤所致的星形细胞丢失<sup>[13]</sup>。在大鼠短暂大脑中动脉阻塞(MCAO)模型,阻断 GLT-1 后增加梗塞容积及死亡率<sup>[14]</sup>,提示 GLT-1 具有神经保护作用。另一方面,有报道指出,GLT-1 拮抗剂能减少大鼠大脑皮层缺血诱导的谷氨酸释放<sup>[15]</sup>,提示 GLT-1 可能参与缺血引起的大脑皮层兴奋性毒性损伤。因此,本研究将探讨 GLT-1 在 H<sub>2</sub>S 拮抗 CoCl<sub>2</sub> 损伤 PC12 细胞中的意义。本文观察到,NaHS 预处理在保护 PC12 细胞对抗 CoCl<sub>2</sub> 引起的损伤的同时,能部分阻断 CoCl<sub>2</sub> 对 GLT-1 表达的抑制作用,提示 GLT-1 可能介导 H<sub>2</sub>S 的神经保护作用。这一推论得到以下实验结果的支持:(1) DHK 能减弱 H<sub>2</sub>S 的抗细胞毒性作用,使细胞存活率降低;(2) GLT-1 抑制剂 DHK 能明显地阻断 H<sub>2</sub>S 的抗凋亡作用,使凋亡细胞数目增多;(3) DHK 能拮抗 H<sub>2</sub>S 的线粒体保护功能,使 MMP 丢失增多。最近,Sun 等<sup>[8]</sup>人报道,ATP 敏感性钾通道开放剂通过促进 GLT 摄取谷氨酸保护星形胶质细胞对抗 MPP<sup>+</sup> (1-methyl-4-phenylpyridinium)引起的损伤。由于 H<sub>2</sub>S 是 ATP 敏感性钾通道的开放剂,所以 Sun 等人的结果为本文提供了有力的支持。Lu 等<sup>[10]</sup>人也证实,H<sub>2</sub>S 能保护原代培养的大鼠大脑星形胶质细胞对抗 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 引起的损伤,此保护作用与其促进 GLT-1 对谷氨酸摄取有关,这与本文的结果相一致。

综上所述,本文证实下调 GLT-1 表达可能是 CoCl<sub>2</sub> 诱导 PC12 细胞损伤的机制之一;GLT-1 表达上调可能在 H<sub>2</sub>S 保护 PC12 细胞对抗化学性低氧损伤中起着重要的作用。本文为深入阐明 CoCl<sub>2</sub> 的神经细胞损伤作用及 H<sub>2</sub>S 的神经细胞保护机制提供了新颖的实验依据。

#### 参考文献:

[1] Abe K, Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator[J]. *J Neurosci*, 1996, 16: 1066-1076.

[2] Lee SW, Hu YS, Hu LF, et al. Hydrogen sulphide regulates calcium homeostasis in microglial cells[J]. *Glia*, 2006, 54: 116-124.

[3] Kimura Y, Kimura H. Hydrogen sulfide protects neurons from oxidative stress[J]. *Faseb J*, 2004, 18(3-4): 1165-1167.

[4] Tang XQ, Yang CT, Chen J, et al. Effect of hydrogen sulphide on beta-amyloid-induced damage in PC12 cell[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2008, 35(2): 180-186.

[5] Meng JL, Mei WY, Dong YF, et al. Heat shock protein 90 mediates cytoprotection by H<sub>2</sub>S against chemical hypoxia-induced injury in PC12 cells[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2011, 38(1): 42-49.

[6] 兰爱平,梅卫义,孟金兰,等. 硫化氢通过抑制 p38MAPK 保护 PC12 细胞对抗化学性缺氧损伤[J]. *中国药理学通报*, 2010, 26(10): 1339-1343.

[7] Zou W, Yan M, Xu W, et al. Cobalt Chloride induces PC12 cells apoptosis through reactive oxygen species and accompanied by AP-1 activation[J]. *J Neurosci Res*, 2001, 64(6): 646-653.

[8] Sun XL, Zeng XN, Zhou F, et al. KATP channel openers facilitate glutamate uptake by GLuTs in rat primary cultured astrocytes[J]. *Neuropsychopharmacology*, 2008, 33: 1336-1342.

[9] Matsunami TR, Tane mura K, Mieda M, et al. From the Cover: Indispensability of the glutamate transporter GLAST and GLT1 to brain development[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 12161-12166.

[10] Lu M, Hu LF, Hu G, et al. Hydrogen sulfide protects astrocytes against H(2)O(2)-induced neural injury via enhancing glutamate uptake[J]. *Free Radical Biol Med*, 2008, 45: 1705-1713.

[11] Nieminen AL, Saylor AK, Tesfai SA, et al. Contribution of the mitochondrial permeability transition to lethal injury after exposure of hepatocytes to t-butyl-hydroperoxide[J]. *Biochem J*, 1995, 307(Pt 1): 99-106.

[12] Jayakumar AR, Panickar KS, Murthy ChR, et al. Oxidative stress and mitogen-activated protein kinase phosphorylation mediate ammonia-induced cell swelling and glutamate uptake inhibition in cultured astrocytes[J]. *J Neurosci*, 2006, 26: 4774-4784.

[13] Olsen ML, Campbell SC, McFerrin MB, et al. Spinal cord injury causes a wide-spread, persistent loss of kir4.1 and glutamate transporter 1; benefit of 17 beta-oestradiol treatment[J]. *Brain*, 2010, 133: 1013-1025.

[14] Rao VL, Doqan A, Todd KG, et al. Antisense knockdown of the glial glutamate transporter GLT-1, but not the neuronal glutamate transporter EAAC1, exacerbates transient focal cerebral ischemia-induced neuronal damage in rat brain[J]. *J Neurosci*, 2001, 21: 1876-1883.

[15] Phillis JW, Ren J, O'Regan MH. Transporter reversal as a mechanism of glutamate release from the ischemic rat cerebral cortex: studies with DL-threo-beta-benzoyloxyaspartate[J]. *Brain Res*, 2000, 868: 105-112.

(此文编辑 蒋湘莲)