

星形胶质细胞微域钙活动研究进展

丁伏生^{1,2,#},杨思思^{4,#},郑亮^{1,2},穆丹¹,黄祝^{1,2,*},张健雄^{3,*}

¹安庆师范大学生命科学学院,安徽省皖西南生物多样性保护与特色资源利用重点实验室,安庆 246133;²安庆师范大学药 用资源靶向开发协同创新中心,安庆 246133;³陆军军医大学基础医学院脑科学研究室,重庆 400038;⁴陆军军医大学第一 附属医院眼科,重庆 400038

摘要: 星形胶质细胞是中枢神经系统中重要的一种胶质细胞,不仅能维持大脑稳态,还能主动参与大脑的信息传递。星形 胶质细胞结构复杂,包括胞体、各级突起和终足。随着基因编码钙指示剂和成像技术的发展,研究人员在星形胶质细胞的 细小突起或者终足上发现了许多局限的、微小的钙活动,这些钙活动简称为微域钙活动,它们与胞体钙活动存在很大差异,能够影响局部神经元、突触和血管的活动。本文阐述了微域钙活动的检测和分析、特点、来源以及功能,并总结了衰老和 神经退行性疾病对微域钙活动的影响,以期更好地理解星形胶质细胞在大脑中的作用,为脑疾病的治疗提供新思路。

关键词:星形胶质细胞;微域;钙活动

Research progress on calcium activities in astrocyte microdomains

DING Fu-Sheng^{1, 2, #}, YANG Si-Si^{4, #}, ZHENG Liang^{1, 2}, MU Dan¹, HUANG Zhu^{1, 2, *}, ZHANG Jian-Xiong^{3, *} ¹Key Laboratory of Biodiversity Conservation and Characteristic Resources Utilization in Southwest Anhui, School of Life Science, Anqing Normal University, Anqing 246133, China; ²Collaborative Innovation Center of Targeted Development of Medicinal Resources, Anqing Normal University, Anqing 246133, China; ³Brain Research Center, School of Basic Medicine, Army Medical University, Chongqing 400038, China; ⁴Ophthalmology Department of the First Affiliated Hospital of Army Medical University, Chongqing 400038, China

Abstract: Astrocytes are a crucial type of glial cells in the central nervous system, not only maintaining brain homeostasis, but also actively participating in the transmission of information within the brain. Astrocytes have a complex structure that includes the soma, various levels of processes, and end-feet. With the advancement of genetically encoded calcium indicators and imaging technologies, researchers have discovered numerous localized and small calcium activities in the fine processes and end-feet. These calcium activities were termed as microdomain calcium activities, which significantly differ from the calcium activities in the soma and can influence the activity of local neurons, synapses, and blood vessels. This article elaborates the detection and analysis, characteristics, sources, and functions of microdomain calcium activities, and discusses the impact of aging and neurodegenerative diseases on these activities, aiming to enhance the understanding of the role of astrocytes in the brain and to provide new insights for the treatment of brain disorders.

Key words: astrocyte; microdomain; calcium activities

星形胶质细胞是大脑中分布最广、数量最多、 体积最大的一类胶质细胞。与神经元不同,它们没

有动作电位。在静息或者外界刺激下,星形胶质细 胞胞质内钙离子浓度会发生变化,我们称之为钙信

This work was supported by the Key Project of Natural Science Research in Universities of Anhui Province (No. 2024AH051082, 2024AH051118) and Open Fund Project of Key Laboratory of Biodiversity Conservation and Characteristic Resource Utilization in Southwest Anhui (No. Wxn202404).

[#]These authors contributed equally to this work.

*Corresponding author. HUANG Zhu: E-mail: huangzhu@xmu.edu.cn; ZHANG Jian-Xiong: E-mail: jianxiong_zhang1988@ tmmu.edu.cn

号。星形胶质细胞钙信号对于大脑的功能至关重 要[1]。星形胶质细胞微域钙活动指的是发生于星形 胶质细胞细小突起或者终足上局限的、微小的钙活 动^[2,3]。微域钙活动最早由Grosche等人提出,他们 发现在Bergmann细胞(小脑中的一种特殊类型的星 形胶质细胞)细小突起上存在局部钙信号,这种钙信 号对于神经元和胶质细胞的交流至关重要[4]。随着 基因编码钙指示剂 (genetically encoded calcium indicator, GECI)的出现和成像技术的发展,很多实 验室在星形胶质细胞的细小突起或者终足上发现了 大量局部的钙活动,这些钙活动与胞体的钙活动具 有很大差别[5-10]。本文主要探讨了微域钙活动的检 测技术、特性、机制及其生理功能,并分析了衰老 与神经退行性疾病对其的影响,以期更好地理解星 形胶质细胞在大脑中的作用,为脑部疾病的治疗提 供新的思路。

1 微域钙活动的检测和分析

1.1 钙指示剂

通过钙指示剂进行钙成像实验是检测活细胞内 钙活动的有力手段。钙指示剂包括化学钙指示剂和 GECI两大类^[11]。膜通透性化学钙指示剂操作方便, 但是只能检测胞体和主干枝上的钙活动。非膜通透 性化学钙指示剂(如Fluo-4)能够通过全细胞膜片钳 的方法,很好地检测到海马星形胶质细胞细小突起 上的局部钙活动^[12-14]。但是,化学钙指示剂没有细 胞特异性,需要通过其他标记物(如SR101)进行共 标。另外,这种方式具有破坏性,且标记的细胞数 量有限^[15,16]。

GECI克服了化学钙指示剂的以上缺点,是目前微域钙活动检测的常用方法。GECI通常由钙结 合域和1~2个荧光蛋白组成,这些荧光蛋白的性质 受Ca²⁺调节,荧光激发/发射波长,强度或福斯特共 振能量转移会出现变化。GECI主要包括单荧光型 和双荧光型(基于福斯特共振能量转移)两大类。 GECI可以结合带有星形胶质细胞特异性启动子(如 GFAP、GfaABC1D、ALDH1L1等)的腺相关病毒 (adeno-associated virus, AAV),通过病毒注射的方式 特异性地标记某个脑区的星形胶质细胞,或者采用 Cre 依赖的转基因动物的方式标记整个大脑^[15,16]。

1.2 分析方法

对于微域钙信号的分析,主要包括基于感兴趣 区域(region of interest, ROI)的方法和基于钙事件的 方法两大类。早期手动圈ROI的方法主观性大,后 来很多团队开发了半自动或自动圈ROI的方法,例 如 GECIquant^[17], CaSCaDe^[8]等。GECIquant 以半 自动化的方式检测超过阈值的ROI,获取每个检测 到的ROI的幅度和频率等附加特征^[17]。CaSCaDe的 关键特征是基于机器学习的算法来识别活跃的微 域,能够显示出表现动态荧光变化的区域,并提供 关于频率、数量、时间过程和振幅的信息^[8]。基于 ROI的方法实施起来比较简便,考虑了星形胶质细 胞的特定形态特征,但是没有考虑到钙活动在细胞 内部或细胞之间传播。2019年, Wang等人开发的 AQuA开创了基于钙事件分析的先河,这种方法将 每次荧光强度的增加作为一个独特的事件,可以分 析其动态特性,如大小、形状、传播方向、持续时 间、频率和振幅^[18]。近来,还有一些分析方法结合 了 ROI 和钙事件的理念,如 Begonia,这个软件包 括一个自动的、基于事件的算法,输入参数较少, 可以捕捉到具有高度时空复杂性的星形胶质细胞钙 信号^[19]。Astral 使用基于事件的阈值方法,不仅可 以测量单个钙事件的参数,还能评估星形胶质细胞 网络中邻近细胞之间的钙事件传播[20]。表1列举了 目前微域钙活动分析的一些主要软件包。

2 微域钙活动的特点

微域钙活动具有很大的异质性。它们可以自发 产生,这些自发钙活动与周围神经元活动无 关^[5,14,17,21]。微域自发钙活动的频率一般高于胞 体^[5,7,14],幅度和持续时间各不相同:海马CA3透明 层星形胶质细胞突起上的自发钙活动幅度在0.4 df/f 左右,持续时间在6s左右,与胞体上的钙活动无差 异^[21];然而在体感皮层,突起上自发钙活动的幅度 明显高于胞体,持续时间低于胞体^[5];Kanemaru等 人通过YC-Nano50转基因小鼠,发现体感皮层微域 上的自发钙活动持续时间长达80 s,他们称为 "Ca²⁺ twinkle"^[9]。这些差异可能与研究的脑区、采 用的钙指示剂和分析的方法不同有关。

在外界刺激或者神经递质作用下,活跃的微域 数量增多、面积增加,钙活动的幅度增大,持续时 间变长,且同步性增加^[5,8,22-26]。这些钙活动大部分 反应时间很慢,但是也存在反应时间在毫秒级别的 钙活动,即在外界刺激后毫秒时间内即可出现,这 与神经元钙活动的时间尺度一致^[22]。

以上研究均在哺乳动物上进行,除了哺乳动

		Table	1. Major software pack	rages for microdomani calcium activity analysis	
软件名称	基于	基于钙	使用平台	输出参数	主要参
	ROI	事件			考文献
GECIquant	\checkmark		ImageJ 和	选取 Microdomains 钙活动的频率、幅度和持续时间	[17]
			MATLAB		
CaSCaDe	\checkmark		MATLAB	选取Microdomains上钙活动的频率、幅度和持续时间	[8]
AQuA		\checkmark	ImageJ 和	钙事件的频率、幅度、面积和持续时间;	[18]
			MATLAB	钙事件的传播方向,上升/衰减时间,与"地标"的接近程度等	
Astral		\checkmark	Apache airflow	钙事件的频率、幅度、面积和持续时间	[20]
Begonia	\checkmark	\checkmark	MATLAB	选取ROI上钙活动的频率、幅度和持续时间;钙事件的数据	[19]

表1. 微域钙活动分析的主要软件

物,非哺乳动物的星形胶质细胞微域上也存在钙活动^[27-29]。例如,在果蝇的腹侧神经索(ventral nerve cord, VNC),星形胶质细胞微域钙活动自发产生,具有不同的波形^[29],特征与哺乳动物类似^[8]。而在斑马鱼脊髓星形胶质细胞微域上也存在自发钙活动,这些钙活动出现的范围、幅度和持续时间差异很大。去甲肾上腺素(norepinephrine, NE)会引起微域钙活动数量和持续时间增加,但不改变钙信号的面积^[28]。

3 微域钙活动的来源

3.1 胞内来源

早期认为微域中没有细胞器,通过连续块面扫 描电子显微镜(serial block face scanning electron microscopy, SBFSEM)发现,皮层中约40%的突触周 围星形胶质细胞突起(perisynaptic astrocytic processes, PAP)上具有内质网和线粒体^[30],这提示内质网和线 粒体可能是微域钙活动的来源(图1)。

3.1.1 内质网

众所周知,内质网上的肌醇 1,4,5-三磷酸 (inositol 1,4,5-trisphosphate, IP₃) 2型受体(IP₃R2)介导 的钙活动是胞体钙活动的重要来源^[31]。研究发现, IP₃R2缺失的动物,微域上自发钙活动的数量和幅 度有所减少^[5,8,9,17,21,32],这说明 IP₃R2 介导的内质网 Ca²⁺释放也是微域自发钙活动的来源。对于诱发的 钙信号,Stobart等人发现在麻醉状态下,胡须刺激 后,IP₃R2缺失动物微域钙活动频率相比于野生型 动物下降,进一步研究发现,这些钙活动局限于感 觉皮层第II/III层的多峰类型的信号^[5]。Srinivasan等 人发现清醒小鼠视觉皮层星形胶质细胞微域上诱发 的钙信号包括两个阶段——快速的信号和延迟的信 号, IP₃R2 缺失动物快速信号消失,但是延迟的信号没有变化^[17]。同样在视觉皮层, Agarwal等人发现强制运动后, IP₃R2 缺失动物微域钙活动的频率和幅度都有所减少^[8]。这说明 IP₃R2 介导的内质网 Ca²⁺释放与微域诱发钙信号的形成也有关系。

Okubo等人通过内质网钙指示剂G-CEPIA1er检测内质网释放钙离子的情况。他们发现,对于 IR₃R2缺失的星形胶质细胞,NE作用后,内质网仍 然存在Ca²⁺的释放^[33]。这说明除了IP₃R2,内质网上 其他受体也介导了Ca²⁺的释放。Sherwood等人通过 药理学和遗传学手段,发现海马微域上局限的钙活 动由内质网上的IP₃R1和IP₃R3所介导^[34]。最近研究 发现,兰尼碱受体(ryanodine receptors, RyRs)激动剂 caffeine 能增加微域自发和诱发钙活动,而RyRs 阻 断剂 ryanodine 可以减少微域自发和诱发钙活动^[25], 此研究通过胞内给药的方式避免了神经元RyRs 的 干扰。所以,RyRs介导的Ca²⁺致Ca²⁺释放(Ca²⁺-induced Ca²⁺ release, CICR)也是微域钙活动的重要来源。

3.1.2 线粒体

线粒体与细胞生存、代谢、氧化及钙稳态密切 相关。星形胶质细胞的线粒体数量与神经元相 当^[35]。早期研究发现,线粒体与胞体钙活动有 关^[36]。在大鼠海马器官型脑片培养中,微域上几乎 所有的自发钙活动都与线粒体共定位,采用药物或 者光切除破坏线粒体可以导致微域钙活动增加,说 明线粒体能调节微域钙活动^[37]。O'Donnell等在氧糖 剥夺模型中也证明了上述结论^[38]。进一步研究发现, 微域钙活动与线粒体通透性转换孔(mitochondrial permeability transition pore, mPTP)的瞬时开放有关, 活性氧(reactive oxygen species, ROS)或者超氧化物 歧化酶1 (superoxide dismutase 1, SOD1)的突变会通 丁伏生等: 星形胶质细胞微域钙活动研究进展

过mPTP导致微域钙活动增加^[8]。

3.2 胞外来源

除了细胞内的来源,细胞外的Ca²⁺流入也参与 微域钙活动形成^[14, 17, 39, 40]。细胞膜上很多受体和通 道介导了胞外Ca²⁺的流入^[3](图1)。

3.2.1 瞬时受体电位锚蛋白1型(transient receptor potential ankyrin 1, TRPA1)

TRPA1通道属于TRP家族,是一种非选择性阳 离子通道,对Ca²⁺具有较好的通透性^[41]。在星形胶 质细胞中,TRPA1通道主要分布在微域中^[42]。早 期, Shigetomi等人在细胞水平发现 TRPA1 通道特 异性阻断剂HC 030031 能够导致微域上自发钙活动 几乎全部消失(~99%), 靶向干扰 Trpal 基因也会使 自发钙信号的数量减少^[43]。后续在海马CA1区域急 性培养和器官型培养的脑片中,也发现HC 030031 会减少微域上自发钙活动的频率和幅度[37,44]。这说 明微域上自发钙信号的产生与TRPA1通道介导的 Ca²⁺内流有关。但是,也有研究发现HC 030031对 微域自发钙活动没有任何影响,这可能是由于他们 采用的指示剂是化学钙指示剂或者胞质型 GECI, 无法检测到细胞膜附近的钙活动[14,21,40]。另外,星 形胶质细胞具有脑区异质性^[45,46], Haustein等人检 测的是海马CA3区域的星形胶质细胞^[21],与CA1区 域有所不同。

在病理情况下,微域钙信号的异常也与TRPA1 通道有关。在阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD) 模型动物中,微域钙活动的异常增加与TRPA1通道 过表达有关。药物阻断TRPA1通道,不仅能够缓解 AD模型动物微域钙活动的异常增加^[40],还能恢复 其认知功能^[47],这为AD的预防和治疗提供了新的 靶点。

3.2.2 瞬时受体电位香草素4型(transient receptor potential vanilloid 4, TRPV4)

TRPV4 通道也属于 TRP 家族, 星形胶质细胞 TRPV4 通道在大脑生理和病理过程中发挥重要作 用^[48]。研究发现,选择性 TRPV4 通道激动剂 GSK1016790A 能够增加终足上自发钙活动的频率和 幅度,但是 TRPV4 通道阻断剂 HC-067047 对终足自 发钙活动没有影响,所以 TRPV4 通道不是终足自发 钙活动所必需的^[10]。但是,在外部刺激下,HC-067047 能减少终足上的钙活动^[10]。这说明终足诱发 钙活动与 TRPV4 介导的 Ca²⁺内流有关。后续多项研 究证明了这一结论:血管收缩会引起终足钙活动增 加,在这种背景下,GSK1016790A能增加终足钙活动,HC-067047能减少终足钙活动^[49,50,51];在低渗情况下,星形胶质细胞终足上钙活动增加也由TRPV4通道介导^[52]。TRPV4引起局部的钙活动,可以通过CICR途径激活IP₃Rs,导致ER释放Ca²⁺,钙活动在星形胶质细胞中得以放大和传播^[10]。

3.2.3 *N*- 甲基 -*D*- 天冬氨酸 (*N*-methyl-*D*-aspartic acid, NMDA)受体

NMDA受体是一种离子型谷氨酸受体,早期研 究发现,NMDA受体与胞体钙活动有关^[53,54]。对于 微域钙活动, NMDA 受体拮抗剂 APV 不会改变海 马星形胶质细胞微域自发钙活动的频率、幅度及动 力学特征^[21],说明微域自发钙活动与NMDA受体无 关。胡须刺激会引起微域上快速或者延迟的钙活 动,NMDA受体拮抗剂可以大大减少这些钙活动的 幅度^[55,56],这说明微域的诱发钙活动与NMDA受体 介导的Ca²⁺内流有关。以上均采用药理学的方法, 特异性不强,所得到的结论不够严谨。近期, Ahmadpour 等人通过 AAV 病毒和 RNA 干扰技术, 特异性减少了皮层星形胶质细胞的NMDA受体的表 达。他们发现,星形胶质细胞NMDA受体表达减少 对微域的自发钙活动没有影响,但是会减少微域上 诱发钙活动的幅度和频率,对快速反应的钙信号和 延迟钙信号均有影响[57],这证实了以上结论。

3.2.4 钠钙交换体(Na⁺/Ca²⁺ exchangers, NCX)

NCX 是一种膜转运蛋白,在星形胶质细胞集中 分布于突触周围的突起上,对胞质内 Na⁺和 Ca²⁺的 调节具有重要的作用。大部分情况下,NCX 介导 3 个 Na⁺顺着电化学梯度进入胞内,1个 Ca²⁺排出胞 外。神经元活动时会释放γ-氨基丁酸(GABA)、谷 氨酸等神经递质,星形胶质细胞通过神经递质的转 运体转运这些神经递质,这个过程与 Na⁺的进入相 耦合,会导致星形胶质细胞 Na⁺上升。而在高 Na⁺情 况下,NCX 反向转运,将 Na⁺排出胞外,同时 Ca²⁺ 进入胞内,引起了微域的钙活动,这说明细胞之间 的局部相互作用也会引起星形胶质细胞局部钙活动 的变化,很多研究都证实了这个结果^[58-61]。

3.2.5 电压门控Ca²⁺通道(voltage-gated Ca²⁺ channel, VGCC)

星形胶质细胞虽然不具备电兴奋性,但也表达 少量 VGCC^[3,62]。Rungta 等人通过遗传学或者药理 学实验,发现 VGCC 对于星形胶质细胞细小突起上 的自发钙活动没有作用^[14]。但是,当局部神经元持



图 1. 微域钙活动的来源

Fig. 1. Source of microdomain calcium activities. Mt: mitochondrion; mPTP: mitochondrial permeability transition pore; ER: endoplasmic reticulum; NCX: Na⁺/Ca²⁺ exchangers; NMDAR: *N*-methyl-*D*-aspartic acid receptor; TRPA1: transient receptor potential ankyrin 1; TRPV4: transient receptor potential vanilloid 4; VGCC: voltage-gated Ca²⁺ channels; GPCR: G protein-coupled receptor; IP3: inositol 1,4,5-trisphosphate; IP3R: IP3 receptor; RyR: ryanodine receptor.

续活动时,细胞外K⁺浓度增加,星形胶质细胞去极 化,这会导致VGCC的激活^[61,63]。但是,这些结果 都是基于离体水平的研究,目前还缺少在活体水平 特异性地操控VGCC的研究。

4 微域钙活动的功能

4.1 调节神经元和突触活动

微域钙活动能调节周围神经元的活动。在果蝇 中,增加星形胶质细胞微域的钙活动会抑制神经元 的活动,导致动物瘫痪[27]。最近文献报道,减少小 鼠皮层星形胶质细胞微域钙活动,导致神经元自发 的钙活动增加,诱发的钙活动同步性下降,这与星 形胶质细胞分泌的ATP减少有关^[57]。微域钙活动还 能影响神经元兴奋性。Deemyad等人发现星形胶质 细胞钙活动能通过释放谷氨酸,导致中间神经元产 生持续性动作电位^[61]。微域钙活动能导致ATP的释 放,ATP转变为腺苷后,可以影响神经元轴突始端 (axon initial segment, AIS)的兴奋性以及动作电位的 传播速度[64]。但是也有研究通过药物抑制星形胶质 细胞微域钙活动,发现神经元的自发和诱发缓慢去 极化内向电流(slow depolarizing inward currents, SIC) 没有变化,说明神经元活动与星形胶质细胞微域钙 活动无关^[39]。但是在这项研究中,他们采用的钙指 示剂是 cyto-GCaMP3, cyto-GCaMP3 无法检测到细 胞膜上局部的钙信号,无法排除细胞膜上局部钙信

号对神经元SIC的影响。

微域钙活动与突触的功能密切相关。微域钙活 动能调节突触传递。对于兴奋性突触,抑制微域钙 活动会导致兴奋性突触后电流(excitatory postsynaptic currents, EPSCs)的失败率增加,但不影响EPSCs的 幅度,这与星形胶质细胞局部释放嘌呤,激活突触 前的A₂₄受体有关^[12,13]。对于抑制性突触,微域钙 活动增加会引起星形胶质细胞 ATP 的分泌, ATP 转 化为腺苷,作用于生长抑素中间神经元A₁受体,增 加锥体神经元的抑制性突触后电流 (inhibitory postsynaptic currents, IPSCs) 幅 度^[65]。 另 外, Shigetomi等人发现抑制微域钙活动会引起星形胶质 细胞 GABA 转运蛋白-3 (GABA transporter type 3, GAT-3)表达减少, 胞外GABA积聚, 最终导致中间 神经元微小抑制性突触后电流(miniature inhibitory postsynaptic currents, mIPSCs)幅度减少,降低抑制 性突触的传递效率[43]。

微域钙活动还与突触可塑性密切相关。突触可 塑性是指突触的结构、功能、强度根据神经活动发 生改变的能力,是学习记忆活动的细胞水平的生物 学基础。长期突触可塑性主要表现形式为长时程增 强(long-term potentiation, LTP)和长时程抑制(longterm depression, LTD)。*D*-丝氨酸是 NMDA 受体的协 同激动剂,减少微域钙活动可以导致局部*D*-丝氨酸 释 放 减 少 ,损害 NMDA 受体 依 赖的 LTP^[34,44]。 Piezo1受体介导的微域钙活动会通过ATP的释放, 影响海马的LTP^[66]。最近研究发现,微域钙活动能 够通过CICR途径激活内质网的RyRs,引起ATP和 谷氨酸的释放,导致邻近的锥体神经元产生短暂的 嘌呤能和谷氨酸能电流,影响突触LTP^[25]。增加微 域的钙信号可以引起ATP的分泌,激活神经元的 P2X受体,通过α-氨基-3-羟基-5-甲基-4-异唑丙酸(αamino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole-propionic acid, AMPA)受体内化机制,导致LTD^[26]。

4.2 调节脑血流量

星形胶质细胞终足上的钙活动可以通过改变血 管的舒缩从而调节脑血流量。早期,研究人员通过 化学钙指示剂在离体脑片或者活体水平发现终足钙 活动增加,可以释放花生四烯酸衍生的血管活性物 质,导致血管舒张或者收缩[67-69]。血管不同的反应 取决于氧分压和终足局部Ca²⁺水平^[70,71]。但有学者 对终足钙活动对血管的作用提出了质疑。原因包 括: 首先, Sharma等人发现感觉刺激会导致血管舒 张,但不会影响终足钙活动^[72]。而通过化学遗传学 或者光遗传学刺激G蛋白耦联受体(G proteincoupled receptor, GPCR)会导致终足钙活动增加, 但不会明显改变血管直径[73,74]。这说明终足钙活动 与血管舒张之间没有直接联系。但是值得注意的 是, Sharma 等人^[72]所采用的记录频率是 3.91 Hz, 选取ROI完全靠肉眼,这可能会漏掉一部分信号。 另外,如前所述,终足钙活动不完全来源于 GPCR 介导内质网的Ca²⁺释放。其次,与血管反应速度相 比,终足上钙活动的反应时间较为延迟^[60,75]。但 是也有研究发现终足上存在快速的钙信号,出现在 血管舒张之前[56]。最近一项研究发现,小鼠清醒状 态下,星形胶质细胞存在快速和延迟两种钙活动, 在功能性充血诱导和维持血管舒张中起到不同的 作用[76]。

4.3 其他功能

在果蝇上,气管是一系列相互连通的管道,遍 布果蝇全身组织,用于气体交换。气管会延伸或者 缩回,形成气管丝状伪足。微域钙活动可以促进气 管丝状伪足收缩,进而调节中枢神经系统的气体交 换^[29]。同样在果蝇中,微域钙活动还与睡眠相关, 增加微域钙活动会引起II型酪氨酸受体(tyrosinemia type II, TyrR II)上调,分泌 Spatzle,作用于神经元 的 Toll 样受体(Toll-like receptors, TLRs),引起睡眠 行为^[77]。但是对于哺乳动物,微域钙信号对于睡眠 的作用还有待进一步研究。

5 衰老和神经退行性疾病对微域钙活动的 影响

5.1 衰老

衰老会导致认知能力下降,增加神经退行性疾 病发生的风险[78,79]。衰老不仅会影响胞体钙活 动^[80, 81],还会影响微域钙活动。我们通过双光子显 微镜及 GECI, 在活体水平对不同月龄动物感觉皮 层星形胶质细胞各亚细胞区域自发钙活动进行了记 录。结果发现,衰老会导致细小突起钙活动增加, 终足钙活动减少,但对胞体钙活动基本没有影 响^[82]。这说明衰老对不同亚细胞区域自发钙活动的 影响具有异质性,且相比于胞体,微域和终足受衰 老的影响更大。 Zarate 等人对外侧纹状体 (dorsolateral striatum, DLS)脑区进行了研究,他们发 现衰老会影响终足自发钙活动,导致其频率下降, 幅度和持续时间增加。进一步研究发现,衰老还会 导致终足的自发钙活动更依赖于内质网的Ca²⁺释 放^[83]。衰老对微域诱发钙活动的影响目前还没有 报道。

5.2 神经退行性疾病

神经退行性疾病包括AD、帕金森病 (Parkinson's disease, PD)、亨廷顿氏病(Huntington's disease, HD)、肌萎缩侧索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis, ALS)、亚历山大病 (Alexander disease, AxD)等,这些疾病会影响星形胶质细胞微 域钙活动。AD是最常见的神经退行性疾病,β-淀 粉样蛋白(amyloid β-protein, Aβ)在胞外积聚形成的 老年斑(senile plaque, SP)是AD的典型病理特征之 一。Lines等人发现,在斑块形成后,APP/PS1小鼠 在麻醉状态下感觉皮层突起自发钙活动增加,诱发 钙活动反应时间变慢,且与斑块的密度和到斑块的 距离有关^[84]。但Åbjørsbråten等人在动物清醒状态 下进行实验,得到了不同的结果。他们发现,在没 有刺激的情况下,15月龄tg-ArcSwe小鼠感觉皮层 突起和终足上自发钙活动没有变化,且与到斑块距 离无关。而在运动情况下, tg-ArcSwe小鼠突起钙 活动减少,与瞳孔反应失去偶联^[85]。其实,在斑块 沉积之前, AD 模型小鼠微域钙活动就已经出现异 常^[40, 47, 86]。Albrieux团队发现3月龄APP/PS1小鼠海 马微域钙活动增加,可能与大脑中可溶性 Αβ 有 关^[40, 47]。但Lia等人却发现6月龄PS2APP小鼠感觉 皮层微域上自发钙活动和诱发钙活动数量减少,频率和幅度也明显下降^[86]。还有研究发现3月龄 AppNL-F小鼠扣带皮层远端突起上的自发钙活动没 有变化^[87]。我们推测这些不同结果出现的原因可能 与研究的脑区和AD模型不同有关。

HD与纹状体的萎缩密切相关,HD模型小鼠纹 状体的星形胶质细胞微域自发钙活动减少,但是诱 发钙活动增加^[32,88]。ALS是一种运动神经元疾病, ALS模型小鼠运动皮层微域的自发钙活动增加^[8]。 AxD是一种罕见的神经退行性疾病,由胶质纤维酸 性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)基因的功 能突变引起。AxD模型小鼠星形胶质细胞会出现异 常巨大的钙活动,这些钙活动的面积超过300 µm², 在野生小鼠中很少出现^[89]。PD是由于黑质多巴胺能 神经元的丢失引起,多巴胺会导致星形胶质细胞突 起钙活动增加^[90]。近期,Evans等人通过光纤记录 的方法发现 PD模型星形胶质细胞整体钙活动减 少^[91]。但目前关于 PD对星形胶质细胞微域钙活动 的影响还尚无报道。

6 展望

目前,对于微域钙活动的研究还存在一些问 题。第一,对于微域钙活动的定义不明确。大部分 研究采用的是基于ROI的分析方法,这种方法无法 确定钙活动是否会发生传播,这里的"微域"其实 指的是星形胶质细胞形态结构上的区域(例如突起和 终足)。但是,也有少量文献在胞体中也使用了"微 域"这个概念[6,32],这里的微域强调了钙活动的特 点。那么, 微域钙活动究竟是指星形胶质细胞某些 结构上的钙活动还是指局限的、不传播的钙活动? 有待进一步探讨。第二,对于相同钙活动,不同钙 指示剂检测到的钙动力学特征不同(表2),这可能与 钙指示剂的Kd值、浓度和结合部位不同有关。化 学钙指示剂和 GECI 各有利弊, 后续还需开发新的 钙指示剂,以便更好地检测微域钙活动,反映其真 实特点。第三,对于微域钙活动的研究,目前大部 分采用的动物都是小鼠。大鼠和小鼠是不同物种, 针对大鼠微域钙活动的特性,目前的结论是否成 立?现有药理或者遗传学干预方法在大鼠中是否适 用?这还有待进一步研究。第四,相同物种不同品

沙 博症活动	征指示刘	七 松	参考
1成现行伯约	771日小川	山权	文献
海马星形胶质细胞枝上 的自发钙活动	Fluo-4 AM; cyto-GCaMP3; Lck-GCaMP3	GECI比Fluo-4AM更稳定,GECI检测的钙活动频率更高,幅度 更大 相比于 cyto-GCaMP3,Lck-GCaMP3检测到的钙活动幅度大20%	[7]
感觉皮层星形胶质细胞 细小突起上的自发钙 活动	OGB-1 AM; YC-Nano50	OGB-1 AM无法检测,YC-Nano50可以检测,这些钙活动称为 "Ca ²⁺ twinkles"	[9]
终足上由于血管收缩产 生的钙活动	Fluo-4; Lck-GCaMP6f	Lck-GCaMP6f检测到的钙活动频率很高,持续时间短,而采用化学 钙指示剂Fluo-4检测到的钙活动却呈现"平台"样	[15]
海马透明层星形胶质细 胞枝上的自发钙活动	cyto-GCaMP3; cyto-GCaMP6f; Lck-GCaMP3	cyto-GCaMP6f检测到的信号的幅度是cyto-GCMP3的3倍,数量是 cyto-GCaMP3的2倍,持续时间没有差异。 Lck-GCaMP3检测到的钙活动数量少于cyto-GCaMP3	[21]
海马细小突起的自发钙 活动	Fluo-4; Calcium Green-1 dextran; GCaMP3	基本无差异	[14]
胡须刺激引起的桶状皮 层微域的钙活动	cyto-GCaMP6s; Lck-GCaMP6f	Lck-GCaMP6f检测的"repeated response scores"高 Lck-GCaMP6f能检测出刺激后的快速反应的钙活动(反应时间小 于1.098 s)	[22]
刺激引起的桶状皮层突 起和终足的钙活动	OGB-1/AM; GCaMP6f	GCaMP6f检测的钙活动幅度较小,频率较慢,但反应的时间尺度 相同	[56]

表 2. 不同钙指示剂对于相同微域钙活动的检测结果比较 Table 2. Comparison of the results of different calcium indicators for the same microdomain calcium activity

GECI: genetically encoded calcium indicator,基因编码钙指示剂。

系的动物也具有不同的遗传背景,这些差异会导致 星形胶质细胞的基因表达谱不同^[92]。很多研究构建 了不同的转基因小鼠,这些转基因小鼠的来源品系 不同(如C57BL/6、FVB/N、SJL等),这会导致钙信 号的特性出现差异。第五,目前很多研究对钙活动的 操控无特异性。与传统药理学实验相比,通过化学 遗传学^[74]、光遗传学^[73]、iβARK (inhibitory peptide from β-adrenergic receptor kinase 1)^[93]及 CalEx^[88]对 钙活动的操控虽然具有细胞特异性,但是大部分都 是基于对 G_q GPCR 通路的调节,如前文所述,钙活 动的形成可能存在多种来源。只有特异性调控微域 钙活动才能更好地了解其独特功能,那么如何特异 性调控微域的钙活动?这也是今后需要研究的 方向。

参考文献

- Semyanov A, Henneberger C, Agarwal A. Making sense of astrocytic calcium signals - from acquisition to interpretation. Nat Rev Neurosci 2020; 21(10): 551-564.
- 2 Lia A, Henriques VJ, Zonta M, Chiavegato A, Carmignoto G, Gómez-Gonzalo M, Losi G. Calcium signals in astrocyte microdomains, a decade of great advances. Front Cell Neurosci 2021; 15: 673433.
- 3 Ahmadpour N, Kantroo M, Stobart JL. Extracellular calcium influx pathways in astrocyte calcium microdomain physiology. Biomolecules 2021; 11(10): 1467.
- 4 Grosche J, Matyash V, Möller T, Verkhratsky A, Reichenbach A, Kettenmann H. Microdomains for neuron-glia interaction: parallel fiber signaling to Bergmann glial cells. Nat Neurosci 1999; 2(2): 139-143.
- 5 Stobart JL, Ferrari KD, Barrett MJP, Stobart MJ, Looser ZJ, Saab AS, Weber B. Long-term *in vivo* calcium imaging of astrocytes reveals distinct cellular compartment responses to sensory stimulation. Cereb Cortex 2018; 28(1): 184-198.
- 6 Shigetomi E, Kracun S, Sofroniew MV, Khakh BS. A genetically targeted optical sensor to monitor calcium signals in astrocyte processes. Nat Neurosci 2010; 13(6): 759-766.
- 7 Shigetomi E, Bushong EA, Haustein MD, Tong X, Jackson-Weaver O, Kracun S, Xu J, Sofroniew MV, Ellisman MH, Khakh BS. Imaging calcium microdomains within entire astrocyte territories and endfeet with GCaMPs expressed using adeno-associated viruses. J Gen Physiol 2013; 141(5): 633-647.
- 8 Agarwal A, Wu PH, Hughes EG, Fukaya M, Tischfield MA, Langseth AJ, Wirtz D, Bergles DE. Transient opening of the mitochondrial permeability transition pore induces microdomain calcium transients in astrocyte processes. Neuron 2017; 93(3): 587-605.e7.

- 9 Kanemaru K, Sekiya H, Xu M, Satoh K, Kitajima N, Yoshida K, Okubo Y, Sasaki T, Moritoh S, Hasuwa H, Mimura M, Horikawa K, Matsui K, Nagai T, Iino M, Tanaka KF. In vivo visualization of subtle, transient, and local activity of astrocytes using an ultrasensitive Ca²⁺ indicator. Cell Rep 2014; 8(1): 311-318.
- 10 Dunn KM, Hill-Eubanks DC, Liedtke WB, Nelson MT. TRPV4 channels stimulate Ca²⁺-induced Ca²⁺ release in astrocytic endfeet and amplify neurovascular coupling responses. Proc Natl Acad Sci U S A 2013; 110(15): 6157-6162.
- Grienberger C, Konnerth A. Imaging calcium in neurons. Neuron 2012; 73(5): 862-885.
- 12 Panatier A, Vallée J, Haber M, Murai KK, Lacaille JC, Robitaille R. Astrocytes are endogenous regulators of basal transmission at central synapses. Cell 2011; 146(5): 785-798.
- 13 Di Castro MA, Chuquet J, Liaudet N, Bhaukaurally K, Santello M, Bouvier D, Tiret P, Volterra A. Local Ca²⁺ detection and modulation of synaptic release by astrocytes. Nat Neurosci 2011; 14(10): 1276-1284.
- 14 Rungta RL, Bernier LP, Dissing-Olesen L, Groten CJ, Le-Due JM, Ko R, Drissler S, MacVicar BA. Ca²⁺ transients in astrocyte fine processes occur via Ca²⁺ influx in the adult mouse hippocampus. Glia 2016; 64(12): 2093-2103.
- 15 Gorzo KA, Gordon GR. Photonics tools begin to clarify astrocyte calcium transients. Neurophotonics 2022; 9(2): 021907.
- 16 Tong X, Shigetomi E, Looger LL, Khakh BS. Genetically encoded calcium indicators and astrocyte calcium microdomains. Neuroscientist 2013; 19(3): 274-291.
- 17 Srinivasan R, Huang BS, Venugopal S, Johnston AD, Chai H, Zeng H, Golshani P, Khakh BS. Ca²⁺ signaling in astrocytes from Ip3r2^{-/-} mice in brain slices and during startle responses *in vivo*. Nat Neurosci 2015; 18(5): 708-717.
- 18 Wang Y, DelRosso NV, Vaidyanathan TV, Cahill MK, Reitman ME, Pittolo S, Mi X, Yu G, Poskanzer KE. Accurate quantification of astrocyte and neurotransmitter fluorescence dynamics for single-cell and population-level physiology. Nat Neurosci 2019; 22(11): 1936-1944.
- 19 Bjørnstad DM, Åbjørsbråten KS, Hennestad E, Cunen C, Hermansen GH, Bojarskaite L, Pettersen KH, Vervaeke K, Enger R. Begonia-A two-photon imaging analysis pipeline for astrocytic Ca²⁺ signals. Front Cell Neurosci 2021; 15: 681066.
- 20 Dzyubenko E, Prazuch W, Pillath-Eilers M, Polanska J, Hermann DM. Analysing intercellular communication in astrocytic networks using "Astral". Front Cell Neurosci 2021; 15: 689268.
- 21 Haustein MD, Kracun S, Lu XH, Shih T, Jackson-Weaver O, Tong X, Xu J, Yang XW, O'Dell TJ, Marvin JS, Ellisman

MH, Bushong EA, Looger LL, Khakh BS. Conditions and constraints for astrocyte calcium signaling in the hippocampal mossy fiber pathway. Neuron 2014; 82(2): 413-429.

- 22 Stobart JL, Ferrari KD, Barrett MJP, Glück C, Stobart MJ, Zuend M, Weber B. Cortical circuit activity evokes rapid astrocyte calcium signals on a similar timescale to neurons. Neuron 2018; 98(4): 726-735.e4.
- 23 Asada A, Ujita S, Nakayama R, Oba S, Ishii S, Matsuki N, Ikegaya Y. Subtle modulation of ongoing calcium dynamics in astrocytic microdomains by sensory inputs. Physiol Rep 2015; 3(10): e12454.
- 24 Otsu Y, Couchman K, Lyons DG, Collot M, Agarwal A, Mallet JM, Pfrieger FW, Bergles DE, Charpak S. Calcium dynamics in astrocyte processes during neurovascular coupling. Nat Neurosci 2015; 18(2): 210-218.
- 25 Lalo U, Pankratov Y. Astrocyte ryanodine receptors facilitate gliotransmission and astroglial modulation of synaptic plasticity. Front Cell Neurosci 2024; 18: 1382010.
- 26 Lalo U, Pankratov Y. Role for astrocytes in mGluRdependent LTD in the neocortex and hippocampus. Brain Sci 2022; 12(12): 1718.
- 27 Zhang YV, Ormerod KG, Littleton JT. Astrocyte Ca²⁺ influx negatively regulates neuronal activity. eNeuro 2017; 4(2): ENEURO.0340-16.2017.
- 28 Chen J, Poskanzer KE, Freeman MR, Monk KR. Liveimaging of astrocyte morphogenesis and function in zebrafish neural circuits. Nat Neurosci 2020; 23(10): 1297-1306.
- 29 Ma Z, Freeman MR. TrpML-mediated astrocyte microdomain Ca²⁺ transients regulate astrocyte-tracheal interactions. Elife 2020; 9: e58952.
- 30 Aboufares El Alaoui A, Jackson M, Fabri M, de Vivo L, Bellesi M. Characterization of subcellular organelles in cortical perisynaptic astrocytes. Front Cell Neurosci 2020; 14: 573944.
- 31 Bazargani N, Attwell D. Astrocyte calcium signaling: the third wave. Nat Neurosci 2016; 19(2): 182-189.
- 32 Jiang R, Diaz-Castro B, Looger LL, Khakh BS. Dysfunctional calcium and glutamate signaling in striatal astrocytes from Huntington's disease model mice. J Neurosci 2016; 36 (12): 3453-3470.
- 33 Okubo Y, Kanemaru K, Suzuki J, Kobayashi K, Hirose K, Iino M. Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor type 2-independent Ca²⁺ release from the endoplasmic reticulum in astrocytes. Glia 2019; 67(1): 113-124.
- 34 Sherwood MW, Arizono M, Hisatsune C, Bannai H, Ebisui E, Sherwood JL, Panatier A, Oliet SH, Mikoshiba K. Astrocytic IP₃ Rs: Contribution to Ca²⁺ signalling and hippocampal LTP. Glia 2017; 65(3): 502-513.
- 35 Chen L, Yang W, Yang F, Xu T, Yu Y, Wu Q, Han Y. Astrocyte mitochondria: Potential therapeutic targets for epilepsy. Heliyon 2024; 10(9): e29950.

- 36 Reyes RC, Parpura V. Mitochondria modulate Ca²⁺-dependent glutamate release from rat cortical astrocytes. J Neurosci 2008; 28(39): 9682-9691.
- 37 Jackson JG, Robinson MB. Reciprocal regulation of mitochondrial dynamics and calcium signaling in astrocyte processes. J Neurosci 2015; 35(45): 15199-15213.
- 38 O'Donnell JC, Jackson JG, Robinson MB. Transient oxygen/glucose deprivation causes a delayed loss of mitochondria and increases spontaneous calcium signaling in astrocytic processes. J Neurosci 2016; 36(27): 7109-7127.
- 39 Gómez-Gonzalo M, Zehnder T, Requie LM, Bezzi P, Carmignoto G. Insights into the release mechanism of astrocytic glutamate evoking in neurons NMDA receptor-mediated slow depolarizing inward currents. Glia 2018; 66(10): 2188-2199.
- 40 Bosson A, Paumier A, Boisseau S, Jacquier-Sarlin M, Buisson A, Albrieux M. TRPA1 channels promote astrocytic Ca²⁺ hyperactivity and synaptic dysfunction mediated by oligomeric forms of amyloid-β peptide. Mol Neurodegener 2017; 12(1): 53.
- 41 Talavera K, Startek JB, Alvarez-Collazo J, Boonen B, Alpizar YA, Sanchez A, Naert R, Nilius B. Mammalian transient receptor potential trpa1 channels: from structure to disease. Physiol Rev 2020; 100(2): 725-803.
- 42 Oh SJ, Lee JM, Kim HB, Lee J, Han S, Bae JY, Hong GS, Koh W, Kwon J, Hwang ES, Woo DH, Youn I, Cho IJ, Bae YC, Lee S, Shim JW, Park JH, Lee CJ. Ultrasonic neuromodulation via astrocytic TRPA1. Curr Biol 2019; 29(20): 3386-3401.e8.
- 43 Shigetomi E, Tong X, Kwan KY, Corey DP, Khakh BS. TRPA1 channels regulate astrocyte resting calcium and inhibitory synapse efficacy through GAT-3. Nat Neurosci 2011; 15(1): 70-80.
- 44 Shigetomi E, Jackson-Weaver O, Huckstepp RT, O'Dell TJ, Khakh BS. TRPA1 channels are regulators of astrocyte basal calcium levels and long-term potentiation via constitutive D-serine release. J Neurosci 2013; 33(24): 10143-10153.
- 45 Khakh BS, Sofroniew MV. Diversity of astrocyte functions and phenotypes in neural circuits. Nat Neurosci 2015; 18 (7): 942-952.
- 46 Cheng YT, Woo J, Deneen B. Sculpting astrocyte diversity through circuits and transcription. Neuroscientist 2023; 29 (4): 445-460.
- 47 Paumier A, Boisseau S, Jacquier-Sarlin M, Pernet-Gallay K, Buisson A, Albrieux M. Astrocyte-neuron interplay is critical for Alzheimer's disease pathogenesis and is rescued by TRPA1 channel blockade. Brain 2022; 145(1): 388-405.
- 48 Tureckova J, Hermanova Z, Marchetti V, Anderova M. Astrocytic TRPV4 channels and their role in brain ischemia. Int J Mol Sci 2023; 24(8): 7101.

- 49 Diaz JR, Kim KJ, Brands MW, Filosa JA. Augmented astrocyte microdomain Ca²⁺ dynamics and parenchymal arteriole tone in angiotensin II-infused hypertensive mice. Glia 2019; 67(3): 551-565.
- 50 Haidey JN, Peringod G, Institoris A, Gorzo KA, Nicola W, Vandal M, Ito K, Liu S, Fielding C, Visser F, Nguyen MD, Gordon GR. Astrocytes regulate ultra-slow arteriole oscillations via stretch-mediated TRPV4-COX-1 feedback. Cell Rep 2021; 36(5): 109405.
- 51 Boily M, Li L, Vallerand D, Girouard H. Angiotensin II disrupts neurovascular coupling by potentiating calcium increases in astrocytic endfeet. J Am Heart Assoc 2021; 10 (17): e020608.
- 52 Eilert-Olsen M, Hjukse JB, Thoren AE, Tang W, Enger R, Jensen V, Pettersen KH, Nagelhus EA. Astroglial endfeet exhibit distinct Ca²⁺ signals during hypoosmotic conditions. Glia 2019; 67(12): 2399-2409.
- 53 Palygin O, Lalo U, Verkhratsky A, Pankratov Y. Ionotropic NMDA and P2X1/5 receptors mediate synaptically induced Ca²⁺ signalling in cortical astrocytes. Cell Calcium 2010; 48 (4): 225-231.
- 54 Palygin O, Lalo U, Pankratov Y. Distinct pharmacological and functional properties of NMDA receptors in mouse cortical astrocytes. Br J Pharmacol 2011; 163(8): 1755-1766.
- 55 Tran CHT, Peringod G, Gordon GR. Astrocytes integrate behavioral state and vascular signals during functional hyperemia. Neuron 2018; 100(5): 1133-1148.e3.
- 56 Lind BL, Jessen SB, Lønstrup M, Joséphine C, Bonvento G, Lauritzen M. Fast Ca²⁺ responses in astrocyte end-feet and neurovascular coupling in mice. Glia 2018; 66(2): 348-358.
- 57 Ahmadpour N, Kantroo M, Stobart MJ, Meza-Resillas J, Shabanipour S, Parra-Nuñez J, Salamovska T, Muzaleva A, O'Hara F, Erickson D, Di Gaetano B, Carrion-Falgarona S, Weber B, Lamont A, Lavine NE, Kauppinen TM, Jackson MF, Stobart JL. Cortical astrocyte N-methyl-D-aspartate receptors influence whisker barrel activity and sensory discrimination in mice. Nat Commun 2024; 15(1): 1571.
- 58 Héja L, Kardos J. NCX activity generates spontaneous Ca²⁺ oscillations in the astrocytic leaflet microdomain. Cell Calcium 2020; 86: 102137.
- 59 Wade JJ, Breslin K, Wong-Lin K, Harkin J, Flanagan B, Van Zalinge H, Hall S, Dallas M, Bithell A, Verkhratsky A, McDaid L. Calcium microdomain formation at the perisynaptic cradle due to NCX reversal: A computational study. Front Cell Neurosci 2019; 13: 185.
- 60 Brazhe AR, Verisokin AY, Verveyko DV, Postnov DE. Sodium-calcium exchanger can account for regenerative Ca²⁺ entry in thin astrocyte processes. Front Cell Neurosci 2018; 12: 250.
- 61 Deemyad T, Lüthi J, Spruston N. Astrocytes integrate and

drive action potential firing in inhibitory subnetworks. Nat Commun 2018; 9(1): 4336.

- 62 Latour I, Hamid J, Beedle AM, Zamponi GW, Macvicar BA. Expression of voltage-gated Ca²⁺ channel subtypes in cultured astrocytes. Glia 2003; 41(4): 347-353.
- 63 Wu YW, Gordleeva S, Tang X, Shih PY, Dembitskaya Y, Semyanov A. Morphological profile determines the frequency of spontaneous calcium events in astrocytic processes. Glia 2019; 67(2): 246-262.
- 64 Lezmy J, Arancibia-Cárcamo IL, Quintela-López T, Sherman DL, Brophy PJ, Attwell D. Astrocyte Ca²⁺-evoked ATP release regulates myelinated axon excitability and conduction speed. Science 2021; 374(6565): eabh2858.
- 65 Matos M, Bosson A, Riebe I, Reynell C, Vallée J, Laplante I, Panatier A, Robitaille R, Lacaille JC. Astrocytes detect and upregulate transmission at inhibitory synapses of somatostatin interneurons onto pyramidal cells. Nat Commun 2018; 9(1): 4254.
- 66 Chi S, Cui Y, Wang H, Jiang J, Zhang T, Sun S, Zhou Z, Zhong Y, Xiao B. Astrocytic Piezo1-mediated mechanotransduction determines adult neurogenesis and cognitive functions. Neuron 2022; 110(18): 2984-2999.e8.
- 67 Zonta M, Angulo MC, Gobbo S, Rosengarten B, Hossmann KA, Pozzan T, Carmignoto G. Neuron-to-astrocyte signaling is central to the dynamic control of brain microcirculation. Nat Neurosci 2003; 6(1): 43-50.
- 68 Takano T, Tian GF, Peng W, Lou N, Libionka W, Han X, Nedergaard M. Astrocyte-mediated control of cerebral blood flow. Nat Neurosci 2006; 9(2): 260-267.
- 69 Mulligan SJ, MacVicar BA. Calcium transients in astrocyte endfeet cause cerebrovascular constrictions. Nature 2004; 431(7005): 195-199.
- 70 Gordon GR, Choi HB, Rungta RL, Ellis-Davies GC, MacVicar BA. Brain metabolism dictates the polarity of astrocyte control over arterioles. Nature 2008; 456(7223): 745-749.
- 71 Girouard H, Bonev AD, Hannah RM, Meredith A, Aldrich RW, Nelson MT. Astrocytic endfoot Ca²⁺ and BK channels determine both arteriolar dilation and constriction. Proc Natl Acad Sci U S A 2010; 107(8): 3811-3816.
- 72 Sharma K, Gordon GRJ, Tran CHT. Heterogeneity of sensory-induced astrocytic Ca²⁺ dynamics during functional hyperemia. Front Physiol 2020; 11: 611884.
- 73 Ozawa K, Nagao M, Konno A, Iwai Y, Vittani M, Kusk P, Mishima T, Hirai H, Nedergaard M, Hirase H. Astrocytic GPCR-induced Ca²⁺ signaling is not causally related to local cerebral blood flow changes. Int J Mol Sci 2023; 24 (17): 13590.
- 74 Bonder DE, McCarthy KD. Astrocytic Gq-GPCR-linked IP3R-dependent Ca²⁺ signaling does not mediate neurovascular coupling in mouse visual cortex *in vivo*. J Neurosci

2014; 34(39): 13139-13150.

- 75 Gu X, Chen W, Volkow ND, Koretsky AP, Du C, Pan Y. Synchronized astrocytic Ca²⁺ responses in neurovascular coupling during somatosensory stimulation and for the resting state. Cell Rep 2018; 23(13): 3878-3890.
- 76 Institoris A, Vandal M, Peringod G, Catalano C, Tran CH, Yu X, Visser F, Breiteneder C, Molina L, Khakh BS, Nguyen MD, Thompson RJ, Gordon GR. Astrocytes amplify neurovascular coupling to sustained activation of neocortex in awake mice. Nat Commun 2022; 13(1): 7872.
- 77 Blum ID, Keleş MF, Baz ES, Han E, Park K, Luu S, Issa H, Brown M, Ho MCW, Tabuchi M, Liu S, Wu MN. Astroglial calcium signaling encodes sleep need in *Drosophila*. Curr Biol 2021; 31(1): 150-162.e7.
- 78 Bieri G, Schroer AB, Villeda SA. Blood-to-brain communication in aging and rejuvenation. Nat Neurosci 2023; 26(3): 379-393.
- 79 Li J (黎健). New strategies for targeting brain aging intervention. Chin J Clin Healthcare (中国临床保健杂志) 2022; 25(4): 438-445 (in Chinese).
- 80 Popov A, Brazhe A, Denisov P, Sutyagina O, Li L, Lazareva N, Verkhratsky A, Semyanov A. Astrocyte dystrophy in ageing brain parallels impaired synaptic plasticity. Aging Cell 2021; 20(3): e13334.
- 81 Lalo U, Palygin O, North RA, Verkhratsky A, Pankratov Y. Age-dependent remodelling of ionotropic signalling in cortical astroglia. Aging Cell 2011; 10(3): 392-402.
- 82 Ding F, Liang S, Li R, Yang Z, He Y, Yang S, Duan Q, Zhang J, Lyu J, Zhou Z, Huang M, Wang H, Li J, Yang C, Wang Y, Gong M, Chen S, Jia H, Chen X, Liao X, Fu L, Zhang K. Astrocytes exhibit diverse Ca²⁺ changes at subcellular domains during brain aging. Front Aging Neurosci 2022; 14: 1029533.
- 83 Zarate SM, Huntington TE, Bagher P, Srinivasan R. Aging reduces calreticulin expression and alters spontaneous calcium signals in astrocytic endfeet of the mouse dorsolateral striatum. NPJ Aging 2023; 9(1): 5.
- 84 Lines J, Baraibar AM, Fang C, Martin ED, Aguilar J, Lee MK, Araque A, Kofuji P. Astrocyte-neuronal network interplay is disrupted in Alzheimer's disease mice. Glia 2022; 70 (2): 368-378.
- 85 Åbjørsbråten KS, Skaaraas G, Cunen C, Bjørnstad DM, Binder KMG, Bojarskaite L, Jensen V, Nilsson LNG, Rao SB, Tang W, Hermansen GH, Nagelhus EA, Ottersen OP, Torp R, Enger R. Impaired astrocytic Ca²⁺ signaling in

awake-behaving Alzheimer's disease transgenic mice. Elife 2022; 11.

- 86 Lia A, Sansevero G, Chiavegato A, Sbrissa M, Pendin D, Mariotti L, Pozzan T, Berardi N, Carmignoto G, Fasolato C, Zonta M. Rescue of astrocyte activity by the calcium sensor STIM1 restores long-term synaptic plasticity in female mice modelling Alzheimer's disease. Nat Commun 2023; 14(1): 1590.
- 87 Shah D, Gsell W, Wahis J, Luckett ES, Jamoulle T, Vermaercke B, Preman P, Moechars D, Hendrickx V, Jaspers T, Craessaerts K, Horré K, Wolfs L, Fiers M, Holt M, Thal DR, Callaerts-Vegh Z, D'Hooge R, Vandenberghe R, Himmelreich U, Bonin V, De Strooper B. Astrocyte calcium dysfunction causes early network hyperactivity in Alzheimer's disease. Cell Rep 2022; 40(8): 111280.
- 88 Yu X, Taylor AMW, Nagai J, Golshani P, Evans CJ, Coppola G, Khakh BS. Reducing astrocyte calcium signaling *in vivo* alters striatal microcircuits and causes repetitive behavior. Neuron 2018; 99(6): 1170-1187.e9.
- 89 Saito K, Shigetomi E, Yasuda R, Sato R, Nakano M, Tashiro K, Tanaka KF, Ikenaka K, Mikoshiba K, Mizuta I, Yoshida T, Nakagawa M, Mizuno T, Koizumi S. Aberrant astrocyte Ca²⁺ signals "AxCa signals" exacerbate pathological alterations in an Alexander disease model. Glia 2018; 66 (5): 1053-1067.
- 90 Corkrum M, Covelo A, Lines J, Bellocchio L, Pisansky M, Loke K, Quintana R, Rothwell PE, Lujan R, Marsicano G, Martin ED, Thomas MJ, Kofuji P, Araque A. Dopamineevoked synaptic regulation in the nucleus accumbens requires astrocyte activity. Neuron 2020; 105(6): 1036-1047.e5.
- 91 Evans WR, Baskar SS, Costa A, Ravoori S, Arigbe A, Huda R. Functional activation of dorsal striatum astrocytes improves movement deficits in hemi-parkinsonian mice. bioRxiv [Preprint]. 2024 Apr 2: 2024.04.02.587694. doi: 10.1101/2024.04.02.587694.
- 92 Kim JW, Nam SM, Yoo DY, Jung HY, Hwang IK, Seong JK, Yoon YS. Strain-specific differential expression of astrocytes and microglia in the mouse hippocampus. Brain Behav 2018; 8(5): e00961.
- 93 Nagai J, Bellafard A, Qu Z, Yu X, Ollivier M, Gangwani MR, Diaz-Castro B, Coppola G, Schumacher SM, Golshani P, Gradinaru V, Khakh BS. Specific and behaviorally consequential astrocyte G_q GPCR signaling attenuation *in vivo* with iβARK. Neuron 2021; 109(14): 2256-2274.e9.