

文章编号: 1004-0374(2009)02-0246-07

· 评述与综述 ·

中枢神经系统谷氨酸转运体的研究进展

程肖蕊, 周文霞*, 张永祥

(军事医学科学院毒物药物研究所, 北京 100850)

摘要: 在中枢神经系统, 谷氨酸转运体在谷氨酸-谷氨酰胺循环中发挥着重要作用。谷氨酸转运体有高亲和力转运体, 即兴奋性氨基酸转运体(excitatory amino acid transporters, EAATs)和低亲和力转运体, 即囊泡谷氨酸转运体(vesicular glutamate transporters, VGLUTs)两种类型。其中, VGLUTs的功能是特异地将突触囊泡外的谷氨酸转运进入突触囊泡内, 它包括三个成员, 分别是VGLUT1、VGLUT2和VGLUT3。一方面, VGLUT1和VGLUT2标记了所有的谷氨酸能神经元, 是谷氨酸能神经元和它们轴突末端高度特异的标志; 另一方面, VGLUT1标志着皮质-皮质投射, 而VGLUT2则标志着丘脑-皮层投射, VGLUT3则位于抑制性突触末端。

关键词: 囊泡谷氨酸转运体; 谷氨酸能神经元; 皮质-皮质投射; 皮层-丘脑投射

中图分类号: R266; Q426 **文献标识码:** A

Glutamate transporters in central nervous system

CHENG Xiao-rui, ZHOU Wen-xia*, ZHANG Yong-xiang

(Beijing Institute of Pharmacology and Toxicology, Beijing 100850, China)

Abstract: Glutamate transporters play the key role in the glutamate cycle of glutamate-glutamine in the central nervous system. Glutamate transporters include excitatory amino acid transporters (EAATs) and vesicular glutamate transporters (VGLUTs). VGLUTs package specifically glutamate into synaptic vesicles in the presynaptic terminal for subsequent release into the synaptic cleft. VGLUT1, VGLUT2 and VGLUT3 are three subtypes of VGLUTs. VGLUT1 and VGLUT2 together label all glutamatergic neurons. VGLUT1 and VGLUT2 are highly specific markers of glutamatergic neurons and their axon terminals. VGLUT1 and VGLUT2 are respectively the neurochemical marker of cortico-cortical projection and thalamo-cortical projection. VGLUT3 locates on the inhibitory synapse terminals.

Key words: vesicular glutamate transporters; glutamatergic neuron; cortico-cortical projection; thalamo-cortical projection

早在1984年, 谷氨酸(glutamic acid, Glu)作为中枢神经系统的神经递质就已经被广泛接受^[1]。目前认为Glu是哺乳动物中枢神经系统最重要的兴奋性氨基酸类神经递质, 大约40%的突触以Glu为递质。在脑内合成Glu的途径有4条^[2]: (1) α -酮戊二酸接受氨基产生Glu; (2) γ -氨基丁酸(γ -amino-butyric acid, GABA)经GABA转氨酶形成Glu; (3) 鸟氨酸在鸟氨酸转氨酶的作用下产生谷氨酸半醛, 后者进一步生成Glu; (4) 谷氨酰胺在谷氨酰胺酶的作用下水解成Glu。而其中只有第4条途径来源的Glu

发挥神经递质的作用。

神经胶质细胞具有很强的Glu摄取能力, 并含有谷氨酰胺合成酶, 能将Glu转变成谷氨酰胺, 再转运至突触前神经末梢胞质中, 经谷氨酰胺酶脱氨生成Glu。接着, Glu通过位于囊泡上的谷氨酸转

收稿日期: 2008-10-16; 修回日期: 2008-11-17

基金项目: “973”项目(2004CB518907); “863”计划(2007AA02Z400); 国家自然科学基金(30600760); 北京市科技新星计划(2007A061)

*通讯作者: zhouwx@nic.bmi.ac.cn

运体将其转位进入囊泡内腔, 并储存于囊泡中。在静息神经元(resting neuron)中, Glu在神经末梢的突触囊泡内以很小的膜结合细胞器形式储存, 并通过突触囊泡和质膜融合而从神经元释放(即胞吐作用)。释放至突触间隙内的Glu在激活谷氨酸受体的同时, 通过向周围弥散, 并被突触前神经末梢和毗邻的胶质细胞摄取, 迅速终止其作用。由此形成神经元和胶质细胞之间的“谷氨酸-谷氨酰胺循环”(图1)。从谷氨酸-谷氨酰胺循环中可以看到, 谷氨酸转运体发挥着重要作用。现在已知谷氨酸转运体有两种类型: 高亲和力转运体(也称为兴奋性氨基酸转运体, excitatory amino acid transporters, EAATs)和低亲和力转运体(也称为囊泡膜谷氨酸转运体, vesicular glutamate transporters, VGLUTs)。由于EAATs早有研究并被研究者所熟知, 而VGLUTs为近来所发现并在神经科学领域掀起研究热潮, 所以下面在简要介绍EAATs的基础上, 重点综述VGLUTs的特性及其研究进展。

1 高亲和力谷氨酸转运体

由于细胞外不存在Glu的代谢酶系统, 因此细胞外过量Glu的清除主要由高亲和力转运体摄取, 它们分布于星型胶质细胞和神经元的细胞膜结构中。神经末梢去极化将Glu释放到突触间隙, 进而

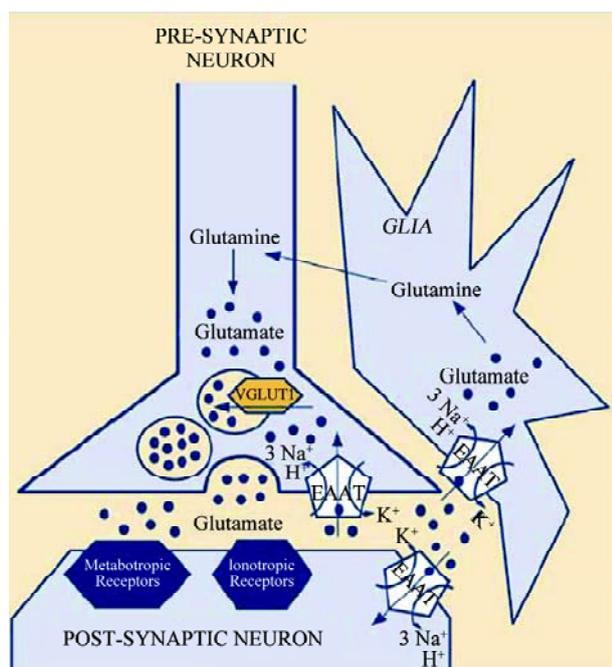


图1 脑中谷氨酸释放和结合及重摄取过程

(摘自: Curr Top Med Chem, 2006, 6 (8): 823-47)

激活位于突触前膜和胶质细胞膜上的高亲和力转运体, 使其将细胞外的Glu摄入, Glu在胶质细胞中的谷氨酰胺合成酶的作用下形成谷氨酰胺, 后者重新回到突触前神经元, 在神经元内的谷氨酰胺酶的作用下变为Glu, 参与其再循环(图1), 并成为合成抑制性神经递质 γ -氨基丁酸的前体。目前已知的位于细胞膜的高亲和力转运体有5种, 分别为: GLAST(EAAT1)、GLT(EAAT2)^[3,4]、EAAC1(EAAT3)、EAAT4^[5,6]和EAAT5^[7]。其中EAAT1和EAAT2主要在星型胶质细胞表达, 在终止谷氨酸能神经传递、维持细胞外液Glu浓度处于低水平、防止其兴奋性毒性作用以及对过量Glu的转运中发挥着主要作用^[8]。在突触间隙中的Glu浓度受其严密控制, 其转运具有 Na^+ 依赖性。其中, EAAT1可将Glu分拣到质膜。EAAT3是神经元型转运体, 它在谷氨酸能和非谷氨酸能神经元上表达, 包括GABA能小脑Purkinje细胞, 位于突触前、后膜上, 它转运Glu的能力比胶质细胞谷氨酸转运体低, 具有维持GABA浓度的功能。EAAT4主要表达于神经元, 但仅局限于小脑, 在Purkinje细胞树突的突触后表达。EAAT5主要在视网膜中表达, 表达于光感受器、双极细胞、无长突细胞和胶质细胞。在正常情况下, 胞外Glu与EAAT结合后, 顺着 Na^+ 的浓度梯度共同转运至胞内, EAAT每摄取1个 Glu^- 同时摄入2个 Na^+ 和1个 H^+ , 并排出1个 K^+ 和1个 OH^- (或 HCO_3^-), 从而产生内向电流, 因此转运是生电过程。 Na^+-K^+ 泵来维持细胞内外 Na^+ 、 K^+ 的正常浓度, 因此EAAT转运Glu是一种离子依赖性的耗能过程, 整个转运过程是可逆的, 根据离子的需要, EAAT可进行双向操作^[9]。

2 低亲和力谷氨酸转运体

低亲和力谷氨酸转运体VGLUTs分布于囊泡膜上, 它能够特异地将突触囊泡外的Glu转运进入突触囊泡内^[10-12]。VGLUTs与EAATs生理作用不同, 其Glu的摄取由横跨囊泡膜并由空泡型三磷酸腺苷酶(vacuolar-type ATPase)产生的质子依赖的电化学梯度(proton dependent electrochemical gradient)所驱动, 并具有严格的底物特异性(对L-Glu高度特异)和相对低的亲和力($K_m = 1 - 3\text{mmol/L}$), 主要依赖于囊泡膜电位梯度的存在, 而不是pH梯度。对于它的最大活性来说, 低浓度的氯化物(2 - 5mmol/L)是必要的^[13](图2左)。VGLUTs具有两个独立的转运活性: 依赖于 H^+ 和 Cl^- 的谷氨酸转运; Na^+ 依赖的无机磷转

运^[14] (图 2 右)。目前 VGLUTs 有 3 种: I 型囊泡谷氨酸转运体 (VGLUT1)、II 型囊泡谷氨酸转运体 (VGLUT2) 和 III 型囊泡谷氨酸转运体 (VGLUT3)。

2.1 VGLUTs 的基因和蛋白 VGLUTs 的基因和蛋白的基本特性可总结成表 1。VGLUT1 基因与分化相关的钠依赖的无机磷协同转运蛋白有 82% 的同源性。VGLUT2 和 VGLUT1 有 82% 的序列同源性。VGLUT3 基因和 VGLUT1 的同源性为 72.5%，和 VGLUT2 的同源性为 72%。

2.2 VGLUTs 的表达 VGLUT1 基因的 mRNA 主要在脑中表达，在神经元富集区，如杏仁核和海马中丰度最高。在神经胶质富集区，如胼胝体的表达丰度中等，在黑质、下丘脑核和丘脑的表达较少。采用原位杂交组织化学方法研究揭示，该基因的

mRNA 在大脑皮层和海马的锥体神经元、齿状回的颗粒神经元中相对高水平表达，与成年人相比，其在胎脑中的表达水平很低，提示该基因的表达受发育调节。VGLUT1 基因在脊椎动物进化过程中高度保守，每一个基因大多是一个拷贝^[15]。

在人体，VGLUT2 在髓质、黑质、丘脑下核和丘脑中表达最高，而在小脑和海马中表达相对较低^[16]。在鼠中主要表达于神经元富集区如大脑皮层、海马、下丘脑和丘脑^[18]。

VGLUT3 在人体的杏仁核、髓质、脊索中表达最高，在海马、丘脑和小脑中表达较低^[17]。

2.3 VGLUT1 和 VGLUT2 是谷氨酸能神经元和它们轴突末端的特异标志 对于谷氨酸能突触来说，其囊泡由 VGLUTs 运载的 Glu 所充满，当提高 VGLUTs

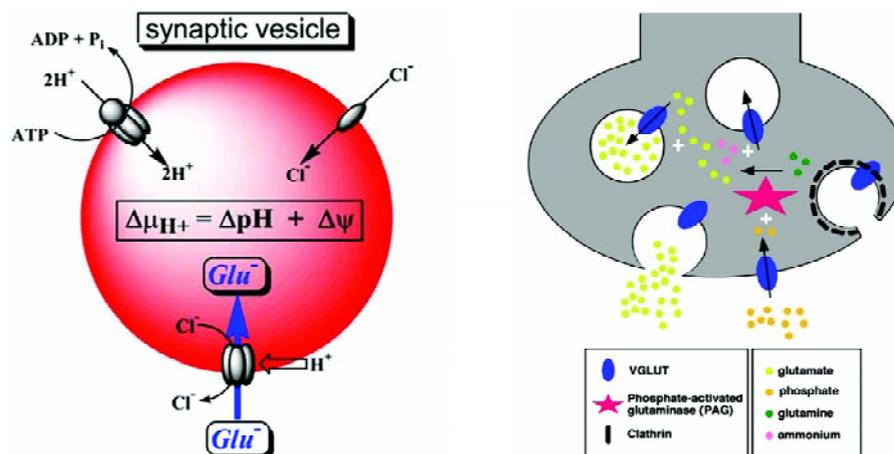


图2 低亲和力谷氨酸转运体 (VGLUTs) 的功能特性

(摘自: Curr Med Chem, 2005, 12(18): 2041-56)

表 1 VGLUTs 的基因和蛋白的基本特性

	VGLUT1	VGLUT2	VGLUT3
首次克隆	1996年 ^[15]	2000年 ^[16]	2002年 ^[17]
基因名称	SLC17A7	SLC17A6	SLC17A8
别名	BNPI	DNPI	
基因外显子数目	12	12	12
基因全长	20kb	40kb	80kb
开放阅读框	148 到 1 830bp	414 到 2 162bp	177 到 1 946bp
染色体位置	19q13	11p14.3	12q23.1
组成蛋白的氨基酸残基数	560AA	582AA	589AA
蛋白相对分子质量	61 613	64 392	64 991
蛋白结构	12 个 TM 结构域, 推测有 6 到 8 个跨膜片段	12 个 TM 结构域, 推测有 8 个跨膜片段	10 个 TM 结构域, 8 个跨膜片段和一个长的 C 末端

的表达时,会增加囊泡的体积。研究表明,一个独立的功能单位转运体对于完成一个囊泡的填充是必要和充分的,而没有VGLUTs的囊泡是空的,这提示囊泡的填充和/或转运体的水平是囊泡大小的一个重要决定因子^[19]。每个囊泡中转运体蛋白的数量和囊泡外Glu浓度决定了Glu进入囊泡的流速,影响着囊泡内神经递质的最高水平^[20,21]。一方面,当VGLUTs在神经细胞质膜上瞬时表达时,VGLUTs可介导不依赖于Ca²⁺的Glu外流;另一方面,当胞吐作用依赖于Ca²⁺外排Glu时,VGLUTs可将Glu包装进入突触囊泡^[22]。因此,VGLUTs的数量和功能活性对于突触间隙Glu的含量水平具有重要的调节作用。

EAATs和VGLUT1转运Glu时的一个非常重要的区别就是EAATs依赖钠离子的存在,而VGLUT1发挥其转运Glu的功能则低浓度的氯化物是必要的。和EAATs相比,VGLUT1的表面亲和力实质上较低。EAATs识别天冬氨酸和Glu,并以两者作为底物,而VGLUT1不识别天冬氨酸^[12]。VGLUT1能够将Glu转运进入突触囊泡,并具有能量依赖性和底物特异性,由这种特性可以推断,VGLUT1作为囊泡谷氨酸转运体,其表达可定义神经元的谷氨酸能表型,即可以作为谷氨酸能神经元的标志^[11]。

VGLUT2也在谷氨酸能兴奋性神经传递中担当非常重要的作用。研究表明,大多数VGLUT2蛋白都在胞内表达,只有少数在质膜上表达。VGLUT2可激活Glu转运的两个独立模式,即将Glu摄入胞内细胞器和使Glu外流出质膜。非洲蟾蜍卵母细胞中VGLUT2的表达刺激了L-Glu而不是D-天冬氨酸内流入洋地黄皂甙透化处理(digitonin-permeabilized)的卵母细胞,也刺激L-Glu而不是L-天冬氨酸从卵母细胞外流,说明了VGLUT2转运Glu的底物特异性^[22]。

在成年脑中VGLUT1和VGLUT2有着独特的分布,VGLUT1和VGLUT2在中枢神经系统呈现互补性分布,VGLUT1主要表达在低释放几率的神经元中,而VGLUT2则主要表达在高释放几率的神经元中^[10]。成人中,VGLUT1的基因失活可沉默一系列兴奋性神经元,然而在生命的早期,兴奋性神经元则呈现出不依赖VGLUT1的递质传递。正在发育的海马神经元则明显的以不同的短期可塑性和独特的突触位点来共表达VGLUT2和VGLUT1^[23]。VGLUT1和VGLUT2特异的转运Glu进入突触囊泡^[10,12],而且

这两个转运体皆与建立不对称突触的神经末梢的突触囊泡相关^[10];VGLUT1和VGLUT2转染进非谷氨酸能神经元即足以允许Glu的突触释放^[11]。由此证明了VGLUT1和VGLUT2是谷氨酸能神经元和它们轴突末端高度特异的标志。

VGLUT3出现在大鼠海马和新皮质GABA能抑制性突触末端^[24],同时也在外周组织中出现。在大鼠脑中,VGLUT3出现在包括胆碱能纹状体中间神经元和5-羟色胺(5-hydroxytryptamine,5-HT)能轴突末端以及海马GABA能神经元中^[25]。研究表明,尽管大鼠中脑脊核中所有的5-HT能神经元都表达VGLUT3,但是VGLUT3阳性5-HT纤维却仅在大脑皮层和海马中出现。进一步研究表明,VGLUT3阳性5-HT纤维通常在前脑中很少,尤其是在侧嗅束(lateral olfactory tract,LOT)核则完全没有VGLUT3阳性5-HT纤维,但是在侧中隔的背侧而不是腹侧则含有大量VGLUT3阳性5-HT纤维。该研究结果表明,中脑脊(midbrain raphe)中源于5-HT的纤维可依前脑中VGLUT3的共表达分为两类,即VGLUT3阳性5-HT纤维和VGLUT3阴性5-HT纤维^[26]。在孤束核(nucleus of the solitary tract,NTS)中,含有VGLUT3的神经元和纤维与那些含有神经一氧化氮合酶(neuronal nitric oxide synthase,nNOS)的神经元和纤维位置相同^[27]。VGLUT3和nNOS在NTS一些并列纤维(apposing fibers)中共定位^[28]。这样,虽然VGLUT3同VGLUT1和VGLUT2一样具有转运Glu进而突触囊泡的功能,但是由于VGLUT3表达和分布的特性使得其不能成为谷氨酸能神经元的合适标志。因此,VGLUT1和VGLUT2而不是VGLUT3就成了谷氨酸能末端的可靠标志物。

VGLUT1主要分布在脑、大脑皮层以及海马和丘脑中,VGLUT2则被大多数皮层下兴奋性神经元所利用。尽管VGLUT1和VGLUT2一起标记了所有的谷氨酸能神经元,但是因为它们在脑中各自独特的表达模式,从而界定了VGLUT1标记皮层谷氨酸能系统,而VGLUT2则标记皮层下谷氨酸能系统。

2.4 VGLUT1和VGLUT2分别是皮质-皮质和丘脑-皮层投射的特异标志

孤束由初级内脏传入纤维组成,来自面神经、舌咽神经和迷走神经的传入纤维,终止于孤束核(NTS)。这些传入纤维从位于心脏血管、呼吸和消化系统的不同部分的感觉末梢来传达信息。NTS也从几个包括室周区、弓状下丘脑核、杏仁核的中央核、中前额和岛皮质在内的后

脑和前脑区域接收投射。无数体内和体外的药理学实验证实了 Glu 是 NTS 中主要的兴奋性神经递质。VGLUT1 和 VGLUT2 选择性位于典型的谷氨酸能神经末端, 特异的转运 Glu 进入突触囊泡, 且与建立不对称突触的神经末梢的突触囊泡相关^[10]; NTS 包含 VGLUT1 和 VGLUT2^[28], 而没有 VGLUT3, 同时, VGLUT1 和 VGLUT2 在 NTS 分布是不相同的, VGLUT1 主要分布于核侧部(the lateral part of the nucleus)即腹外侧(ventrolateral subdivisions)、间隙(interstitial subdivisions)和中间(intermediate subdivisions)部分; VGLUT2 则遍及 NTS^[29]。大鼠内嗅皮层(entorhinal cortex, EC)含有表达钙结合蛋白钙视网膜蛋白(calretinin, CR)的密集纤维, 一些 CR 纤维含有 VGLUT2。CR-VGLUT2 共表达纤维可以是外起源的, 如来源于中线丘脑核连结(midline thalamic nucleus reuniens)或者皮层中间神经元(cortical interneurons)。研究表明, EC 区中 CR-VGLUT2 表达的轴突末端属于两个来源: 即从丘脑来源的投射纤维和中间神经元的轴突来源的投射纤维, 而且丘脑 CR-VGLUT2 投射神经元和内嗅区 CR-VGLUT2 中间神经元可被认为是兴奋性神经元^[30]。这些研究结果表明, 不是 VGLUT3, 而是 VGLUT1 和 VGLUT2 位于不对称突触, VGLUT1 特异分布于皮层, 而 VGLUT2 既可在皮层又可在丘脑分布。

VGLUT1 和 VGLUT2 在脑中的分布呈现一种互补的表达模式。但是另有研究表明, 在纹状体中, VGLUT1 和 VGLUT2 的表达则呈现选择性, 即选择性地分别在皮层纹状体和丘脑纹状体传入纤维中表达^[31, 32]。至少在 mRNA 水平上, VGLUT2 仅仅在中线和板内核的丘脑纹状体投射神经元表达, 而从腹侧丘脑核神经支配的纹状体神经元则既表达 VGLUT1, 也表达 VGLUT2。实际上, 编码 VGLUT1 和 VGLUT2 的 mRNA 在产生丘脑纹状体投射的腹侧丘脑核神经元中呈现鲜明的互补亚细胞区分布。VGLUT1 和 VGLUT2 的不同分布说明, 丘脑纹状体通路是一个双向系统, 一个系统是由从中线和板内核产生的主要投射组成, 并由 VGLUT2 作为谷氨酸转运体; 另一个系统是由腹侧丘脑交接核产生的纹状体传入投射组成, 则同时含有 VGLUT1 和 VGLUT2^[33]。

纹状体接收两个主要的谷氨酸能传入通路: 皮质-纹状体通路, 由 VGLUT1 标记, 并主要和 GABA 能介质有棘神经元的树突棘头接触; 丘脑-纹状体

通路, 由 VGLUT2 标记, 从中等大小的投射神经元的板内、腹侧运动核和末端发起的兴奋性输入^[34]。被 VGLUT1 和 VGLUT2 阳性末端标记的纹状体神经元的神经分布模式提示, VGLUT1 和 VGLUT2 分别是皮层纹状体和丘脑纹状体传入神经的选择性标志物。

在学习记忆中, 夹骨/肌后皮层占据着一个中心位置, 并和海马生成、新皮质和丘脑相连。在很早期 AD 患者中, 夹骨/肌后皮层发生特异代谢减退, 并可能导致记忆损坏^[35]。颗粒状夹骨/夹肌皮层(granular retrosplenial cortex, GRS)的结构是非常鲜明的模式结构, 尤其在 I 层。在 II 层和细小白蛋白免疫反应区, 树突从骀体投射至锥体神经元, 在 II 和 III 层的 GABA 能神经元形成 30—100 μm 宽的束。在 GRS 模式结构发育中, 一方面存在着这些树突束从前丘脑选择性接收投射; 另一方面存在着皮质-皮质投射(cortico-cortical projection), 树突束内空间和皮质-皮质投射相关, 并被从 III 和 V 层里神经元来的顶树突所占据。这两个投射成员普遍的标志物分别是 VGLUT2 和 VGLUT1^[36, 37]。这些研究结果表明, GLUT1 标志着皮质-皮质投射; VGLUT2 标志着丘脑-皮层投射(thalamo-cortical projection)^[38], 影响着突触可塑性和这种模式结构的发育。

此外, 研究表明, 一方面 GABA_b 受体亚基 GABA_{b1} 和 GABA_{b2} 位于谷氨酸能轴突末端, 而该轴突末端表达 VGLUT1 或 VGLUT2; 另一方面由于 VGLUT1 和 VGLUT2 分别是皮层纹状体和丘脑纹状体传入神经的选择性标志物, 因此, 在皮层和丘脑中, 突触前 GABA_b 自身受体(heteroreceptors)可调节两个主要的兴奋性输入到纹状体棘投射神经元(striatal spiny projection neurons), 突触前 GABA_b 自身受体(autoreceptors)出现在刺投射神经元和(或)纹状体 GABA_b 能中间神经元的末端, 该研究结果提示 GABA 可通过突触后 GABA_b 受体影响纹状体神经元的兴奋性^[36]。

综上所述, VGLUT1 和 VGLUT2 是谷氨酸能神经元和它们轴突末端高度特异的标志, 位于谷氨酸能神经末梢, 建立不对称接触。同时, 尽管 VGLUT1 和 VGLUT2 标记了所有的谷氨酸能神经元, 但是 VGLUT1 标志着皮质-皮质投射, 而 VGLUT2 则标志着丘脑-皮层投射。

3 结语

EAATs 的发现在当时使得人们在神经科学的研

究中对Glu的传递和神经突触可塑性的深入研究获得了突飞猛进的进展,已被普遍认识和接受。而近来随着VGLUTs的发现和功能的揭示,使得人们对中枢神经系统中兴奋性神经递质Glu的精细调控的理解更深入一步,同时它们作为标志物的特性则为人们探索中枢神经系统重要高级功能,如认知功能等提供了准确和有力的工具,在严重影响人类健康的中枢神经系统疾病,如阿尔茨海默病(Alzheimer's disease)、帕金森病(Parkinson's disease)、抑郁症、精神分裂症、癫痫症、神经性耳聋等疾病的发病机制研究中已经得到比较广泛的应用,由此可以推断,随着VGLUTs结构和功能的不断深入揭示,谷氨酸转运体在中枢神经系统中调节最主要的兴奋性神经递质Glu的摄取和释放,从而对突触可塑性的影响以及在神经系统疾病发病和防治中发挥的重要角色将会引发科研工作者浓厚的兴趣和研究热潮,尤其是作为药物靶标用于开发治疗谷氨酸能系统相关疾病的药物具有重要价值。

[参 考 文 献]

- [1] Fonnum F. Glutamate: a neurotransmitter in mammalian brain. *J Neurochem*, 1984 42(1): 1-11
- [2] 朱长庚 主编. 神经解剖学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 290
- [3] Lehre KP, Levy LM, Ottersen OP, et al. Differential expression of two glial glutamate transporters in the rat brain: quantitative and immunocytochemical observations. *J Neurosci*, 1995, 15(3 Pt 1): 1835-53
- [4] Ullensvang K, Lehre KP, Storm-Mathisen J, et al. Differential developmental expression of the two rat brain glutamate transporter proteins GLAST and GLT. *Eur J Neurosci*, 1997, 9(8): 1646-55
- [5] Otis TS, Bransjo G, Dzubay JA, et al. Interactions between glutamate transporters and metabotropic glutamate receptors at excitatory synapses in the cerebellar cortex. *Neurochem Int*, 2004, 45(4): 537-44
- [6] Yamada K, Watanabe M, Shibata T, et al. EAAT4 is a postsynaptic glutamate transporter at Purkinje cell synapses. *Neuroreport*, 1996, 7(12): 2013-7
- [7] Arriza JL, Eliasof S, Kavanaugh MP, et al. Excitatory amino acid transporter 5, a retinal glutamate transporter coupled to a chloride conductance. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94(8): 4155-60
- [8] Gadea A, Lopez-Colome AM. Glial transporters for glutamate, glycine and GABA I. Glutamate transporters. *J Neurosci Res*, 2001, 63(6): 453-60
- [9] Bridges RJ, Esslinger CS. The excitatory amino acid transporters: pharmacological insights on substrate and inhibitor specificity of the EAAT subtypes. *Pharmacol Ther*, 2005, 107(3): 271-85
- [10] Fremereau RT, Troyer MD, Pahner I, et al. The expression of vesicular glutamate transporters defines two classes of excitatory synapse. *Neuron*, 2001, 31: 247-60
- [11] Takamori S, Rhee JS, Rosenmund C, et al. Identification of a vesicular glutamate transporter that defines a glutamatergic phenotype in neurons. *Nature*, 2000, 407(6801): 189-94
- [12] Bellocchio EE, Reimer RJ, Fremereau RT, et al. Uptake of glutamate into synaptic vesicles by an inorganic phosphate transporter. *Science*, 2000, 289(5481): 957-60
- [13] Takamori S. VGLUTs: 'Exciting' times for glutamatergic research? *Neurosci Res*, 2006, 55(4): 343-51
- [14] Juge N, Yoshida Y, Yatsushiro S, et al. Vesicular glutamate transporter contains two independent transport machineries. *J Biol Chem*, 2006, 281(51): 39499-506
- [15] Ni B, Du Y, Wu X, et al. Molecular cloning, expression, and chromosomal localization of a human brain-specific Na⁺-dependent inorganic phosphate cotransporter. *J Neurochem*, 1996, 66(6): 2227-38
- [16] Aihara Y, Mashima H, Onda H, et al. Molecular cloning of a novel brain-type Na⁺-dependent inorganic phosphate cotransporter. *J Neurochem*, 2000, 74(6): 2622-5
- [17] Takamori S, Malherbe P, Broger C, et al. Molecular cloning and functional characterization of human vesicular glutamate transporter 3. *EMBO Rep*, 2002, 3(8): 798-803
- [18] Bai LQ, Xu H, Collins JF, et al. Molecular and functional analysis of a novel neuronal vesicular glutamate transporter. *J Biol Chem*, 2001, 276(39): 36764-9
- [19] Daniels RW, Collins CA, Chen KY, et al. A single vesicular glutamate transporter is sufficient to fill a synaptic vesicle. *Neuron*, 2006, 49(1): 11-6
- [20] Wilson NR, Kang J, Hueske EV, et al. Presynaptic regulation of quantal size by the vesicular glutamate transporter VGLUT1. *J Neurosci*, 2005, 25(26): 6221-34
- [21] Ishikawa T, Sahara Y, Takahashi T. A single packet of transmitter does not saturate postsynaptic glutamate receptors. *Neuron*, 2002, 34(14): 613-21
- [22] Mackenzie B, Illing AC, Morris ME, et al. Analysis of a vesicular glutamate transporter (VGLUT2) supports a cell-leakage mode in addition to vesicular packaging. *Neurochem Res*, 2008, 33(2): 238-47
- [23] Fremereau RT, Kam K, Qureshi T, et al. Vesicular glutamate transporters 1 and 2 target to functionally distinct synaptic release sites. *Science*, 2004, 304(5678): 1815-9
- [24] Somogyi J, Baude A, Omori Y, et al. GABAergic basket cells expressing cholecystokinin contain vesicular glutamate transporter type 3 (VGLUT3) in their synaptic terminals in hippocampus and isocortex of the rat. *Eur J Neurosci*, 2004, 19(3): 552-69
- [25] Fremereau RT, Burman J, Qureshi T, et al. The identification of vesicular glutamate transporter 3 suggests novel modes of signaling by glutamate. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(22): 14488-93
- [26] Shutoh F, Ina A, Yoshida S, et al. Two distinct subtypes of serotonergic fibers classified by co-expression with vesicular glutamate transporter 3 in rat forebrain. *Neurosci Lett*, 2008, 432(2): 132-6
- [27] Lin LH, Talman WT. Nitroxidergic neurons in rat nucleus tractus solitarius express vesicular glutamate transporter 3. *J*

- Chem Neuroanat, 2005, 29(3): 179-91
- [28] Lin LH, Edwards RH, Fremeau RT, et al. Localization of vesicular glutamate transporters colocalizes with and neuronal nitric oxide synthase in rat nucleus tractus solitarius. *Neuroscience*, 2004, 123(1): 247-55
- [29] Lachamp P, Crest M, Kessler JP. Vesicular glutamate transporters type 1 and 2 expression in axon terminals of the rat nucleus of the solitary tract. *Neuroscience*, 2006, 137(1): 73-81
- [30] Wouterlood FG, Aliane V, Boekel AJ, et al. Origin of calretinin-containing, vesicular glutamate transporter 2-coexpressing fiber terminals in the entorhinal cortex of the rat. *J Comp Neurol*, 2008, 506(2): 359-70
- [31] Jean-Jacques B, Philippe K, Lydia K-LG, et al. Intralaminar thalamic nuclei lesions: widespread impact on dopamine denervation-mediated cellular defects in the rat basal ganglia. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2004, 63(1): 20-31
- [32] Fujiyama F, Kuramoto E, Okamoto K, et al. Presynaptic localization of an AMPA type glutamate receptor in corticostriatal and thalamostriatal axon terminals. *Eur J Neurosci*, 2004, 20(12): 3322-30
- [33] Barroso-Chinea P, Castle M, Aymerich MS, et al. Expression of vesicular glutamate transporters 1 and 2 in the cells of origin of the rat thalamostriatal pathway. *J Chem Neuroanat*, 2008, 35(1): 101-7
- [34] Smith Y, Raju DV, Pare JF, et al. The thalamostriatal system: a highly specific network of the basal ganglia circuitry. *Trends Neurosci*, 2004, 27(9): 520-7
- [35] Nestor PJ, Fryer TD, Ikeda M, et al. Retrosplenial cortex (BA 29/30) hypometabolism in mild cognitive impairment (prodromal Alzheimer's disease). *Eur J Neurosci*, 2003, 18(9): 2663-7
- [36] Lacey C J, Boyes J, Gerlach O, et al. GABA_B receptors at glutamatergic synapses in the rat striatum. *Neuroscience*, 2005, 136(4): 1083-95
- [37] Kaneko T, Fujiyama F. Complementary distribution of vesicular glutamate transporters in the central nervous system. *Neurosci Res*, 2002, 42(4): 243-50
- [38] Miró-Bernié N, Ichinohe N, Pérez-Clausell J, et al. Zinc-rich transient vertical modules in the rat retrosplenial cortex during postnatal development. *Neuroscience*, 2006, 138(2): 523-35