

• 神经内科专栏 •

# 内质网应激和缺血性脑卒中相关性的研究进展

陈治任, 黄泽花(综述), 杨梅芳, 王培安\*(审校)

(徐州医科大学徐州临床学院, 江苏 徐州 221000)

**[摘要]** 缺血性脑卒中(ischemic stroke, IS)是一种在中老年人群中常见的脑血管疾病,具有复杂的病理机制。内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)可以通过激活多种信号通路,显著影响IS神经细胞的功能,其中未折叠蛋白质反应(unfolded protein response, UPR)会受ERS的持续时间和应激强度影响,最终决定细胞的生存与死亡。本综述详细阐述ERS在疾病中通过调节炎症、氧化应激和细胞凋亡机制所发挥的双重调控作用,并探讨ERS和UPR信号通路作为IS治疗靶点的潜力,旨在为IS治疗提供新的策略。

**[关键词]** 卒中;内质网应激;炎症反应;氧化应激 doi:10.3969/j.issn.1007-3205.2025.05.007

**[中图分类号]** R743 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-3205(2025)05-0532-07

缺血性脑卒中(ischemic stroke, IS)是一种常见且致命的脑血管疾病。其发病机制复杂,是神经科学领域研究的重点。近年来,研究发现,内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)是IS发病中不可忽视的重要调控因子。ERS通过未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR)调控炎症反应、氧化应激以及细胞凋亡的关键信号通路,显著影响神经细胞的生存与死亡。然而,目前关于ERS在IS中的具体机制及其作为治疗靶点的潜力仍缺乏系统性的总结。本文旨在全面阐述ERS在IS中的双重调控作用,重点分析UPR信号通路对神经细胞命运的影响,探索ERS相关靶点的治疗潜力,以期为未来临床干预提供新的理论依据。

## 1 ERS和UPR的机制

内质网是一个多功能细胞器,在蛋白的生成、存储、折叠、转运及质量控制方面发挥重要作用,同时也是钙离子( $Ca^{2+}$ )的浓度调节和脂质合成中的对接关键点,对于维持内质网的稳定性和下游信号通路的传导至关重要。其中蛋白质的正常折叠是一个复杂且精细的过程,它涉及多种伴侣蛋白、折叠酶和

辅助因子的介导,包括糖调节蛋白78(glucose-regulated protein 78, Bip/GRP78)、糖调节蛋白94(glucose-regulated protein 94, GRP94)都有利于内质网腔内的 $Ca^{2+}$ 缓冲,保持蛋白质的正常折叠<sup>[1]</sup>。ER腔的氧化环境促进二硫键的形成,以允许复杂的分泌和跨膜蛋白折叠。

**1.1 UPR的启动与信号通路的激活** 当发生IS时,缺血、缺氧和高血压等有毒刺激对 $Ca^{2+}$ 稳态的破坏,导致ERS,内质网蛋白折叠能力的破坏导致内质网蛋白的积聚,蛋白质错误折叠,使存在危险中的细胞处于病理状态。UPR通过抑制蛋白转录和促进错误折叠蛋白降解如内质网相关降解(endoplasmic reticulum-associated degradation, ERAD)和溶酶体来维持内质网稳态。内质网伴侣蛋白和折叠酶增加,增强折叠能力并减轻蛋白质负担。正常条件下,UPR处于非激活状态。但在缺氧、炎症等脑梗死应激条件下,未折叠蛋白积累触发UPR通路以恢复细胞稳态<sup>[2]</sup>。UPR的激活涉及3种信号通路,都来自于内质网膜上面的跨膜感受器:肌醇需要酶1(inositol-requiring enzyme 1, IRE1)、蛋白激酶RNA样内质网激酶(protein kinase RNA-like endoplasmic reticulum kinase, PERK)和活化转录因子6(activating transcription factor 6, ATF6),当未折叠蛋白或错误折叠蛋白积聚增多,三种跨膜感受器便会开始激活下游信号通路。它们在将蛋白质折叠恢复至非应激细胞的正常水平方面发挥关键作用。IRE1是研究较为成熟的跨膜受体,能调节细胞的生存或凋亡。细胞通过IRE1介导的机制来应对ERS:通过X-box结合蛋白1(X-box binding protein 1, XBP1)信使核糖核酸的非常规剪

[收稿日期]2024-06-15

[基金项目]徐州市卫健委科技面上项目(XWKYHT20230081);徐州市科技局基础研究计划面上项目(KC23072);江苏省重点高校实验室开放研究项目(XZSYSKF2023039);江苏省研究生科研创新计划项目(SJXCX24\_1550);医疗质量(循证)管理研究项目(YLZLXZ24K008)

[作者简介]陈治任(1999-),男,江苏徐州人,徐州医科大学徐州临床学院医学硕士研究生,从事脑梗死损伤机制研究。

\*通信作者。E-mail:302303121267@stu.xzhu.edu.cn

接增强蛋白质处理能力,通过内质网相关降解相关的核糖核苷酸分解,减少内质网中的蛋白质负担,以及在持续性应激情况下,通过激活细胞凋亡通路:IRE1-真核翻译起始因子 2 $\alpha$  亚基 (eukaryotic translation initiation factor 2 alpha, eIF2 $\alpha$ )-ATF4-C/EBP 同源蛋白 (C/EBP homologous protein, CHOP) 来避免神经细胞整体性损伤。在内质网正常稳定状态下,其分子伴侣 BiP (GRP78) 通过与新合成的或未正确折叠的蛋白质的管腔结构域结合,但是,如果 BiP 从内质网中解离就意味着发生了内质网的应激状态。当发生 ERS 而错误折叠蛋白积聚增多时,IRE1 会通过其自身的磷酸化和二聚化来实现激活,以此维持 ERS 状态下的稳定,这一通路涉及酵母和哺乳动物种 HAC1 或 XBP1 的剪接体独立剪接。剪接后,信使核糖核苷酸 (messenger RNA, mRNA) 会编码一个不同的蛋白质,这个蛋白质有助于细胞应对 ERS,帮助恢复内质网稳态功能。在极端应激情况下,持续激活的 IRE1 还通过激活 c-Jun 氨基端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK) 信号通路和剪切其他 mRNAs,可能导致细胞凋亡。这种细胞凋亡机制作为一种保护性措施,有助于清除无法恢复正常功能的细胞,维持组织健康。随着 ERS 稳定后,IRE1 的激活会被磷酸酶 PTC2 的调整逐渐恢复正常,并且阻止未合成蛋白反应通路的信号调控,使神经细胞恢复稳定状态。这对于 ERS 后 IRE1 去磷酸化的作用途径提供了巨大的帮助。最近的研究强调了调节 IRE1 通路的治疗在 IS 背景下的神经保护效果。相关研究显示 1 $\alpha$ -25(OH)D<sub>3</sub> 在急性脑梗死治疗过程中可以通过调节 IRE1 信号通路减少炎症和神经炎症反应,这包括在神经元和星形胶质细胞中减少 IRE1 的磷酸化,表明 ERS 减少<sup>[3]</sup>。

ATF6 是单链跨膜蛋白,在未折叠蛋白积累时被转运至高尔基体并裂解,释放细胞质域以激活 UPR 基因表达,缓解 ERS。其活化过程与脑缺血/再灌注损伤 (cerebral ischemia-reperfusion injury, CIRI) 的神经保护效果密切相关。激活后的 ATF6 作为转录因子进入核内,与 ERS 响应元件结合,调节和激活多种分子如 BiP、GRP94 和 calnexin 的表达,从而启动 UPR<sup>[4]</sup>。然而,如果 ERS 未能解除,激活的 ATF6 通过增加 CHOP 的表达推动细胞凋亡,此举可以移除受损细胞,防止其进一步损害邻近健康细胞。近年研究显示,ATF6 表达的增加可以调节 ERS 并减少细胞损伤。基础实验中小鼠脑缺血预处理可以诱导 ATF6 的表达,减少 ERS,最终发挥神经保护作用。ATF6 激活后能改善 CIRI 的

结果,表明 ATF6 通路的激活有助于改善脑功能损伤<sup>[5]</sup>。此外,有研究发现,在脑缺血动物模型和再氧化细胞模型中,牛磺酸可以抑制 ATF6 的激活,减少细胞凋亡,对脑缺血/再灌注损伤后的神经保护作用具有潜在的治疗意义。

PERK 是具有丝氨酸/苏氨酸细胞质结构域的 I 型 ER 跨膜受体。静息状态下,GRP78 与 PERK 结合,维持 PERK 管腔结构域的激酶活性,使其处于不活跃状态。ERS 条件下,GRP78 蛋白从 PERK 管腔结构域解离,导致 PERK 结构域磷酸化。活化的 PERK 使 eIF2 $\alpha$  磷酸化,激活 ATF4 和 CHOP<sup>[6-7]</sup>。磷酸化的 eIF2 $\alpha$  使内质网中新合成的蛋白质速度减慢合成,最终减轻 UPR 的压力,从而减缓内质网负担。而 ATF4 和 CHOP 的最终激活,两者的平衡状态决定了神经细胞能否恢复正常功能或走向程序性死亡。这一通路的探究,对于研究 ERS 失常状态下的脑梗死治疗提供了参考。同时,PERK 还和其他两种跨膜感受器蛋白 ATF6、IRE1 存在于内质网与线粒体之间的内质网相关线粒体膜 (mitochondrial membrane, MAM) 上,MAM 介于两种细胞器之间,作为炎症小体的组装平台和凋亡信号的传递平台,调节炎症和凋亡,并于这三种跨膜蛋白发生紧密联系和相互作用<sup>[8]</sup>。MAM 定位的 PERK 与线粒体融合蛋白 2 (mitofusin 2, Mfn2) 相互作用,来增强 MAM 周围区域的形成稳定性,从而影响相关的细胞过程,调节线粒体活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 诱导的凋亡,对于细胞健康状态的稳定,和疾病的预防发挥重要影响。一旦 Mfn2 枯竭,PERK 就会被激活,通过 PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4-CHOP 通路触发 ERS 信号,进而间接影响脑梗死的相关细胞的存活或死亡。随着肠道微生物学、免疫学和“脑-肠-菌群”轴的研究不断深入,肠道菌群代谢产物三甲胺-N-氧化物 (trimethylamine-N-oxide, TMAO) 作为影响 PERK 的直接来源,PERK 可以承接 TMAO 通过氧化应激、炎症反应和 ERS 加重脑梗死损伤。已经被证实通过参与诱导 ERS,调节 NOD 样受体蛋白 3 (NOD-like receptor protein 3, NLRP3) 炎症小体,并释放炎症性体白细胞介素 1 $\beta$  (interleukin-1 beta, IL-1 $\beta$ ) 间接参与急性脑梗死的发生发展中。PERK 的激活可以影响细胞的转录和代谢功能,例如可以激活叉头框蛋白 O1 (forkhead box O1, FOXO1) 的功能,进而影响细胞的代谢状态。这种相互作用在代谢性疾病的调控中具有重要意义,特别是在应对 ERS 和维持细胞代谢平衡的过程中<sup>[7]</sup>。

## 1.2 适应性或不适应性 UPR 对于脑组织的影响

适应性或不适应性 UPR 对于脑组织产生了相反的影响,一方面适应性 UPR 保护脑组织免受 ERS 的轻度刺激影响,脑梗死初期,细胞激活信号通路如 IRE1,剪切 XBP1 mRNA 生成功能性蛋白,恢复蛋白正常折叠。这种保护措施能够使脑组织在短暂的 ERS 维持下快速恢复到正常功能<sup>[9]</sup>。另一方面,如果 ERS 长时间维持,使细胞应激进入后期,那么不适应 UPR 的启动伴随着 ERS 的持续刺激,通常激活凋亡通路使神经细胞走向凋亡。例如,PERK-eIF2 $\alpha$ -CHOP 通路在 ERS 中的不适应性 UPR 中最常见,CHOP 是一种促凋亡的转录因子,其过表达会诱导氧化应激反应和减少抗凋亡蛋白 B 细胞淋巴瘤因子 2(B-cell lymphoma 2, Bcl-2)的表达,导致细胞走向死亡,以此加剧了脑组织的神经退行性病变<sup>[9-10]</sup>,尽管这看似不利于 IS 的预后,但实际上,这种程序性细胞死亡可能具有保护性作用。不适应性 UPR 导致的神经元和胶质细胞凋亡,有助于限制损伤的进一步扩散。与坏死相比,凋亡不会导致细胞内容物的泄露,从而减少炎症介质的释放和炎症反应的扩散。这种控制有序的细胞死亡过程,虽然在短期内导致细胞丧失,但有可能在长期内保护脑组织免受更广泛的损伤。

通过对 ERS 及其相关 UPR 信号通路的阐述,明确了 IRE1、PERK 和 ATF6 三条信号通路在维持细胞内稳态和应对应激中的核心作用。这些机制为我们理解 ERS 如何影响细胞存活与死亡提供了基础。

## 2 ERS 与 IS 发病机制和危险因素的相关性

IS 由于血管长时间堵塞、缺氧大脑无法获得足够的氧气和葡萄糖,ATP 的快速消耗导致兴奋性神经元的去氧化和 Ca<sup>2+</sup>内流。Ca<sup>2+</sup>的失衡和 ATP 的不足逐渐引起 ERS,细胞为积极应对缺血缺氧带来的损伤,产生炎症反应、氧化应激、缺血再灌注损伤(cerebral ischemia-reperfusion injury, CIRI)、细胞的各种死亡方式等一系列相关发病机制和病理机制。

### 2.1 ERS 与细胞死亡和细胞存活的相关性

细胞的存活与死亡参与脑梗死的发病机制中,其中细胞的死亡方式可以分为多种形式:凋亡(apoptosis)、自噬(autophagy)、坏死(necrosis)、焦亡(pyroptosis)以及程序性坏死(programmed necrosis)等。随着 IS 的发生和进展,内质网上 3 个跨膜蛋白感受器:PERK、IRE1、ATF6 通过激活相关的信号通路缓解 UPR 减轻内质网膜的负担,但是,如果 ERS 持续存在,会让细胞由存活状态逐渐走向死亡,细胞凋亡是

一种程序性细胞死亡,是一种受严格调控的细胞死亡形式,它控制细胞的生长、发育和更新以维持体内平衡<sup>[11]</sup>。细胞凋亡与 ERS 的关系主要通过 PERK 和 IRE1 途径的介导。然而,持续的 IRE1 活性也可以通过激活 JNK 等信号通路,促进细胞凋亡。另外在 PERK 和 ATF6 中的促凋亡途径也随 ERS 的发生而存在。PERK 和 ATF6 的激活最终都会激活 CHOP 蛋白,下调抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达,降低细胞内谷胱甘肽水平,促进活性氧中间体的生成,导致神经元凋亡<sup>[12-13]</sup>。此外,CHOP 蛋白的过表达可通过 BCL-2 抑制的机制诱导细胞凋亡<sup>[14]</sup>。Bcl-2 仅针对内质网,其抗凋亡作用受到更多限制,选择性地抑制 ERS 剂诱导的细胞死亡,而不能抑制通过线粒体依赖途径的各种其他刺激诱导的细胞死亡<sup>[15]</sup>。长期的细胞凋亡最终加剧神经毒性反应的刺激,更多的炎症反应参与其中,神经细胞在 ERS 刺激下向细胞坏死发展,并且出现许多的病理性现象,它是一种炎症反应长期刺激下的病理状态。处于非程序性细胞死亡<sup>[16]</sup>。ERS 通过调节 Ca<sup>2+</sup>浓度和 Bcl-2 蛋白家族等线粒体途径触发细胞坏死<sup>[17]</sup>。细胞的自噬同样参与到 ERS 状态下的脑梗死有关的发病机制调节当中,自噬的发生按照程度的不同对于脑梗死的发病具有保护和损伤两种情况,其中过度 ERS 的自噬会导致 II 型细胞死亡(自噬死亡),而早期的保护作用,帮助内质网减轻压力,分解 ERS 带来的未折叠蛋白。因此目前的研究热衷于掌握 ERS 状态下自噬状态的调控<sup>[18]</sup>,通过解析在 IS 的具体应用,帮助开发新的治疗。

### 2.2 ERS 与炎症反应相关性

炎症是缺血缺氧等病理刺激的免疫反应机制,并在心脑血管疾病和代谢疾病中起重要作用<sup>[19]</sup>。核苷酸结合寡聚化结构域样受体家族 pyrin 结构域-3(NOD-like receptor family pyrin domain-containing 3, NLRP3)在 ERS 下可以感知微生物感染和细胞损伤信号,形成称为“炎性体”的多蛋白复合物,诱导炎症反应。NLRP3 炎性体由 NLRP3 受体蛋白、含有 CARD 结构域的凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD, ASC)和效应分子半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 1 前体(pro-cysteine-aspartic acid protease 1, pro-caspase1)三部分构成。当产生过度的 ERS,内质网与线粒体之间异常的 Ca<sup>2+</sup>运输可导致线粒体损伤、ROS 产生、mtDNA 暴露等,然后诱导 NLRP3 炎性体的激活。同时, NLRP3 与 ASC 共同转移到 MAM 位点,这表明 NLRP3 策略性地聚集在 MAM,以感知线粒体损伤,并解释线粒体损伤与炎症之间的可能关联。因

此, NLRP3 炎症体在感知 ERS 导致的线粒体损伤和激活炎症反应之间起着桥梁作用。炎症对于脑缺血性损伤的影响取决于 ERS 的应激持续时间和应激强度, 在短期 ERS 下, 炎症信号有助于减轻细胞损伤, 而长期应激将炎症与细胞死亡直接联系起来<sup>[20]</sup>。脑缺血炎症信号通路包括 Toll 样受体 (Toll-like receptor, TLR) 信号通路、丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 信号通路和核因子  $\kappa$ B (nuclear factor kappa-B, NF- $\kappa$ B) 信号通路, 后两者主要由 ERS 下的 UPR 驱动。缺血状态下, NF- $\kappa$ B 是 ERS 诱导炎症通路的重要支点<sup>[21]</sup>。NF- $\kappa$ B 受蛋白激酶 B (protein kinase B, AKT) 的激活和抑制性核因子  $\kappa$ B 抑制蛋白 (inhibitor of nuclear factor kappa B, I- $\kappa$ B) 蛋白的抑制所控制, NF- $\kappa$ B 和肿瘤坏死因子  $\alpha$  (tumor necrosis factor-alpha, TNF- $\alpha$ ) 相互促进恶性循环的炎症反应; 除 NF- $\kappa$ B 外, IRE1 $\alpha$ -TRAF2-JNK 轴诱导炎症因子的释放也是脑缺血损伤机制的关键部分。实际上, ERS 的炎症信号传导是双向的, 而不是单向的, 炎症介质如 IL-6 和 TNF- $\alpha$  的释放也会加速 UPR 的激活——释放更多的炎症因子, 产生恶性循环的炎症反应, 其机制可能与超载  $\text{Ca}^{2+}$  引起的级联事件有关, 包括线粒体功能障碍和错误折叠的积累内质网管腔蛋白<sup>[19, 22]</sup>。随着 ERS 下 UPR 的启动, 由于 PERK 磷酸化 eIF2 $\alpha$  降低了整体蛋白的合成, 细胞中检测到 I- $\kappa$ B 和活化的 NF- $\kappa$ B 的表达减少, 这表明 eIF2 $\alpha$  磷酸化通过抑制 I- $\kappa$ B 的水平来激发 NF- $\kappa$ B。另一方面, 内质网  $\text{Ca}^{2+}$  通过 NADPH 氧化酶 2 (nox2) 依赖性外排, 随后激活钙依赖性蛋白激酶 (calcium-dependent protein kinase, CaMK II), 导致 ROS 的产生。在短暂性大脑中动脉闭塞模型 (Transient Middle Cerebral Artery Occlusion, tMCAO) 模型中, 用 Xylometazolin B (Xyl-B) 治疗脑缺血可显著减少脑组织中 ROS 的过量产生, 抑制 NF- $\kappa$ B 和诱导型一氧化氮合酶的表达, 下调 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6 和干扰素  $\gamma$  (interferon-gamma, IFN- $\gamma$ ) 等促炎细胞因子的 mRNA 水平。大量证据表明, 脑缺血后关注 NF- $\kappa$ B 的抗炎治疗需要关注 UPR 和  $\text{Ca}^{2+}$  稳态的调节<sup>[23]</sup>。

**2.3 ERS 与氧化应激相关性** 氧化应激在细胞老化和参与 ERS 过程中扮演着重要角色。它是由体内活性氧自由基 (reactive oxygen species, ROS) 和活性氮自由基 (reactive nitrogen species, RNS) 产生过多, 超出氧化物清除能力, 导致氧化系统和抗氧化系统失衡的状态。氧化应激产生的自由基可以直接或间接氧化或损伤 DNA、蛋白质和脂质, 引起基因突

变、蛋白质变性和脂质过氧化, 从而诱发关于神经细胞和组织的生理和病理反应。氧化应激与炎症反应在 ERS 发生发展中相互影响, 炎症环境可进一步加剧氧化应激, 形成恶性循环, 导致组织损伤和细胞衰老。研究已表明: 在慢性的 ERS 和 UPR 被激活中, 可能导致钙和氧化还原稳态的损害, 通过蛋白质过载产生氧化应激, 进而影响线粒体功能, 继而内质网释放的  $\text{Ca}^{2+}$  增加了线粒体 ROS 的产生, 由此发生的氧化应激通过炎症或线粒体功能障碍产生的 ROS, 可能加速内质网功能障碍, 逐渐形成 ERS-氧化应激的恶性循环。另一方面, 蛋白抑制和 PERK 的作用也被进一步解释为与氧化应激和小胶质细胞激活有关。小胶质细胞是中枢神经系统的主要免疫细胞, 它们在神经炎症和神经退行性疾病中扮演着重要角色。在氧化应激的情况下, 小胶质细胞可能会激活并参与到清除受损细胞和组织的免疫反应中<sup>[24]</sup>。同时, PERK 通过减少蛋白质合成, 帮助细胞应对由于氧化应激导致的蛋白质损伤和错误折叠的问题。

**2.4 ERS 与缺血/再灌注损伤的相关性** 大量研究表明, 急性脑梗死的 CIRI 使细胞进入 ERS<sup>[25]</sup>。因为缺血和再灌注导致的内质网中的氧化应激、炎症反应与  $\text{Ca}^{2+}$  转移失衡, 从而激活 ERS, 细胞为应对病理机制产生了 2 种途径, 即介导凋亡途径使细胞死亡, 和通过保护机制应对 UPR 中的重度蛋白折叠压力。实际上 CIRI 引起的 ERS 与上述 ERS 发病机制的相关因素具有相关性, 其中最重要的因素就是炎症反应。炎症反应参与到 CIRI 的病理机制当中, 最终导致细胞死亡。所以控制炎症反应可能成为治疗脑梗死 ERS 的关键措施之一。近一项关于 CIRI 的研究表明局部炎症是 ERS 的主要原因之一。脑缺血/再灌注后, 小胶质细胞释放 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 TNF- $\alpha$ 。这些促炎细胞因子促进炎症细胞聚集, 产生更多炎症细胞因子, 进一步加重脑功能损伤<sup>[26]</sup>, 从而刺激引起 ERS, 形成 ERS 与 CIRI 的一个恶性循环。另外, 在脑组织缺血早期, 主要的病理改变以 ERS、炎症反应、细胞通透性为主, 再灌注后, 血液循环恢复, 氧和中性粒细胞到达缺血组织。然而, 部分组织坏死, 导致中性粒细胞聚集加重, 产生 ROS 依赖性介质, 这些介质可促进白细胞黏附于毛细血管壁后静脉, 进入组织, 加重损伤<sup>[26]</sup>。TNF- $\alpha$ 、IL-6 和 IL-8 的激活进一步诱导 ERS<sup>[27]</sup>。有研究已表明: 核因子 NF- $\kappa$ B 在免疫应答中起关键作用, 通过调节炎症反应介导 ERS, 影响 CIRI。NF- $\kappa$ B 是炎症相关的细胞因子, 可促进炎症反应, 导致 iNOS、IL-1 $\beta$  和 IL-6 的过度表达, 加重 CIRI。反过来,

ERS也可以通过NF- $\kappa$ B信号通路调节。在CIRI的过程发生后,通过鞘氨醇激酶1(sphingosine kinase 1,SPHK1):是一种新的ERS调控因子,SPHK1可激活NF- $\kappa$ B通路,引起ERS<sup>[28]</sup>。

自由基包含ROS和氮自由基(nitrogen-centered free radical,NOX),尤其是ROS可以诱导细胞的氧化应激。这种氧化应激会影响到内质网。当内质网中的蛋白质因氧化损伤而无法正常折叠时,就会导致ERS。自由基也和CIRI的发生存在相关性。在脑缺血再灌注阶段,NOX酶通过NADPH将氧作为最终的电子受体,导致立即产生O<sup>2-</sup>,参与NO的降解和蛋白酪氨酸硝化<sup>[29]</sup>。这个过程不仅降解了一氧化氮,减少了其对血管的保护作用,还通过蛋白酪氨酸的硝化导致进一步的细胞损伤。这些生化变化加剧了脑缺血再灌注损伤的严重性。在CIRI损伤过程中,过多的ROS可通过自噬、坏死和凋亡等方式导致细胞死亡,ROS可有效触发ERS,严重ERS可导致CIRI期间细胞凋亡<sup>[30]</sup>。

### 2.5 ERS标志物在IS中的表达与意义

ERS标志物如GRP78、CHOP、ATF6等,是IS发生发展中的关键靶点蛋白,其表达变化决定细胞的生存或凋亡。GRP78,作为ERS的一个主要指示器,其在脑梗死中的作用主要表现在早期防御反应中。GRP78有助于维持蛋白质的正确折叠,防止错误折叠蛋白质的积累,从而保护细胞免受初期缺血损害。研究表明,缺血预处理可以诱导GRP78的表达,从而在一定程度上减轻缺血/再灌注(I/R)损伤<sup>[31]</sup>。CHOP是ERS引发的细胞凋亡路径中的一个关键介导者。在IS的不适应性反应阶段,CHOP的表达显著增加,它通过促进氧化应激和降低抗氧化防御系统的能力来加剧细胞死亡。CHOP的过表达促使细胞走向凋亡,增加脑组织损伤的严重性<sup>[32]</sup>。ATF6是ERS中的一个转录因子,其在细胞应对蛋白质折叠紊乱中起重要作用。在脑缺血后,ATF6通过诱导多种细胞保护性基因的表达来增强细胞的抗应激能力。已有研究表明,通过调节ATF6的活性可以增强神经细胞对缺血性损伤的耐受性<sup>[33]</sup>。PERK通路在ERS中也起着关键作用。其激活导致全局蛋白质合成的抑制,此外,PERK通过磷酸化转录因子eIF2 $\alpha$ 来调节细胞命运,其激活状态与IS后细胞存活率的增加有关<sup>[34]</sup>。IRE1作为ERS的核心传感器之一,其活化可以促进细胞适应ERS的恶劣环境。这些ERS标志物的表达和调控不仅为理解IS的病理机制提供了重要见解,而且为开发新的治疗策略提供了可能的靶点。

通过分析ERS如何通过炎症反应、氧化应激和细胞死亡等途径参与IS的发病机制,揭示了ERS在调控脑卒中病理过程中的双重作用:既可能通过适应性机制保护脑组织,又可能因应激的持续存在加剧神经细胞损伤。这为进一步探索ERS在脑梗死治疗中的潜力提供了新思路。

### 3 UPR和ERS在IS治疗中的潜在应用

IS目前的治疗策略主要是在有限的治疗时间窗下及时地取栓和溶栓,但是缺血之后的再灌注会再次引起CIRI的损伤<sup>[9]</sup>。由于CIS的主要病理机制起始表现在未折叠蛋白的堆叠和错误蛋白的折叠。同时,ER对于蛋白质的存储、转运、折叠和加工运输具有重要作用,ERS的发生会关乎于神经细胞死亡/存活以及蛋白折叠反应的一系列重要病理机制,决定着脑梗死疾病的发生发展方向。IS治疗的目的是保存缺血半暗带的神经元,尽可能地恢复神经元功能<sup>[9]</sup>。目前针对ERS和UPR的专项治疗研究较少,同时,药物大多数仍处于临床前开发阶段,其在脑梗死治疗中的应用还需要更多的研究来验证其安全性和有效性。因此,本节探讨解决UPR和抗ERS在IS中治疗的应用。

#### 3.1 恢复内质网蛋白质稳态的策略

恢复内质网蛋白质稳态是细胞正常运作的基础和维持脑梗死治疗的潜力措施。近年来,研究集中在开发能够优化内质网蛋白质折叠负担的策略上。例如,使用小分子助折叠剂和化学伴侣如牛磺熊去氧胆酸(tauroursodeoxycholic acid, TUDCA)和4-苯基丁酸(4-phenylbutyric acid, 4-PBA),这些化合物主要在细胞层面和动物模型上进行了研究,它们能帮助蛋白质正确折叠,减少不正确折叠蛋白质的积累<sup>[35-36]</sup>。蛋白酶体激活剂能够增强蛋白酶体的功能,促进错误折叠蛋白的降解,如硼替佐米已在细胞层面和小鼠模型上显示出能够增强蛋白酶体功能,促进错误折叠蛋白的降解,减轻ERS。另一策略是利用基因编辑技术,如CRISPR-Cas9系统已经在实验室研究中心针对性地调节那些在ERS应答中起核心作用的基因。例如,调整UPR路径中关键因子的表达,如ATF6和XBP1,以增强细胞应对ERS的抵抗能力<sup>[37-38]</sup>,从而恢复脑梗死中神经细胞的蛋白质稳态。

#### 3.2 抗ERS策略药物治疗

现有对抗ERS持续发生的治疗方法,包括抗氧化应激(通过抗氧化作用,减少ERS引起的氧化应激)、调节免疫反应(通过抑制ERS的炎症反应减少炎症,从而减弱ERS)、调节细胞凋亡途径和使用化学伴侣药物4-苯基丁

酸盐(可以减轻 ERS,恢复蛋白质折叠和细胞内钙稳态)。最近的研究表明:吩噻嗪类或氯丙嗪+异丙嗪联合治疗可以防止 ROS 的产生和维持  $Ca^{2+}$  的稳态,通过抑制 ERS 介导的自噬,在脑卒中治疗中起着至关重要的作用,从而减少细胞凋亡,增强神经保护<sup>[39]</sup>。另一方面,抗氧化治疗通过抗氧化剂直接清除自由基,或增强细胞内的抗氧化防御机制,从而降低由 ERS 引起的氧化应激。例如,N-乙酰半胱氨酸在动物模型中,被证明可以减轻由缺血/再灌注引起的脑损伤,其机制可能涉及减少 ERS 和维护细胞抗氧化防御系统的平衡<sup>[40]</sup>。此外,一些药物如 ISRIB 在体外细胞实验中可以通过调节 eIF2 $\alpha$  的磷酸化状态来减轻 ERS<sup>[41]</sup>。

通过探讨针对 ERS 和 UPR 的治疗策略,包括化学伴侣、抗氧化应激药物及基因编辑技术等手段。这些策略在恢复内质网稳态、缓解 ERS 引发的炎症和氧化应激方面展现了巨大的临床潜力,为未来脑卒中的精准治疗提供了新方向。

#### 4 结论与展望

本综述主要探讨了脑梗死发病后 ERS 中的相关通路和主要病理机制与脑梗死神经细胞的相互作用,其中脑梗死的发病机制影响 ERS 中复杂的相关通路变化和对蛋白稳态的调节。而 ERS 反过来调控炎症、氧化和能量代谢决定神经细胞的生存与死亡。通过 ERS 产生的发病机制,本研究进一步引出相关的抗 ERS 的药物与维持蛋白稳定的治疗措施,旨在为临床上治疗脑梗死提供最新的研究进展。但是,目前的研究还存在一些不足和亟待解决的问题:①ERS 对不同类型的细胞的作用是否相同,除了考虑神经元的机制和治疗效果外,还应该关注其他细胞群,如小胶质细胞,不同细胞群对脑缺血的治疗和机制不应局限于神经元。②此外,关于 ERS 分子机制的研究较多,但关于 ERS 与炎症反应、线粒体功能障碍之间相互作用的研究较少。目前炎症反应的具体机制有待进一步明确,同时 MAM 介于内质网与线粒体细胞器之间,为沟通两者相互作用的重要节点,对于  $Ca^{2+}$  调节和转运在 ERS 的研究中至关重要,MAM 正逐渐成为脑梗死和缺血再灌注损伤的潜在治疗靶点。未来研究应着重探索以下方向:①针对 MAM 在炎症反应、 $Ca^{2+}$  转运和线粒体功能障碍中的作用,阐明其对 ERS 介导的神经损伤的具体机制;②基于 ERS 标志物开发精准治疗方法,并加速其在临床前阶段的转化研究;③在多细胞群体协同研究的基础上,采用动态成像和单细胞测序等前沿技术,揭示 ERS 在缺血性脑卒中各阶段的

特异性调控作用。总之,通过进一步的深入研究,有望揭示 ERS 与 IS 之间更复杂的作用关系,为未来临床治疗提供科学依据和创新方案。

#### [参考文献]

- [1] Lim D, Tapella L, Dematteis G, et al. The endoplasmic reticulum stress and unfolded protein response in Alzheimer's disease: A calcium dyshomeostasis perspective[J]. *Ageing Res Rev*, 2023, 87: 101914.
- [2] Read A, Schröder M. The unfolded protein response: an overview[J]. *Biology (Basel)*, 2021, 10(5): 384.
- [3] Wang YH, Liao JM, Chen KM, et al. Lumbrokinase regulates endoplasmic reticulum stress to improve neurological deficits in ischemic stroke [J]. *Neuropharmacology*, 2022, 221: 109277.
- [4] Wang L, Liu Y, Zhang X, et al. Endoplasmic reticulum stress and the unfolded protein response in cerebral ischemia/reperfusion injury[J]. *Front Cell Neurosci*, 2022, 16: 864426.
- [5] He SN, Han XW, Pan Q, et al. Eye acupuncture improves cerebral ischemia reperfusion injury by improving autophagy via ATF6 pathway in cerebral ischemia reperfusion injury rats [J]. *Zhen Ci Yan Jiu*, 2022, 47(10): 859-865.
- [6] Li X, Zheng J, Chen S, et al. Oleandrin, a cardiac glycoside, induces immunogenic cell death via the PERK/eIF2 $\alpha$ /ATF4/CHOP pathway in breast cancer[J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(4): 314.
- [7] Pan S, Zhao D, Duan S, et al. The role of gut-dependent molecule trimethylamine N-oxide as a novel target for the treatment of chronic kidney disease[J]. *Int Urol Nephrol*, 2023, 55(7): 1747-1756.
- [8] Yu X, Dang L, Zhang R, et al. Therapeutic potential of targeting the PERK signaling pathway in ischemic stroke[J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2024, 17(3): 353.
- [9] Wang L, Liu Y, Zhang X, et al. Endoplasmic reticulum stress and the unfolded protein response in cerebral ischemia/reperfusion injury[J]. *Front Cell Neurosci*, 2022, 16: 864426.
- [10] Xie XW, Xu Q, Zhou DZ. Sirtuin-3 activates the mitochondrial unfolded protein response and reduces cerebral ischemia/reperfusion injury[J]. *Int J Biol Sci*, 2023, 19(13): 4327-4339.
- [11] Jiang RQ, Li QQ, Sheng R. Mitochondria associated ER membranes and cerebral ischemia: Molecular mechanisms and therapeutic strategies[J]. *Pharmacol Res*, 2023, 191: 106761.
- [12] Saaoud F, Liu L, Xu K, et al. Aorta- and liver-generated TMAO enhances trained immunity for increased inflammation via ER stress/mitochondrial ROS/glycolysis pathways[J]. *JCI Insight*, 2023, 8(1): e158183.
- [13] Sun J, Chen W, Li S, et al. Nox4 promotes RANKL-induced autophagy and osteoclastogenesis via activating ROS/PERK/eIF-2 $\alpha$ /ATF4 pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 751845.
- [14] McCullough KD, Martindale JL, Klotz LO, et al. Gadd153 sensitizes cells to endoplasmic reticulum stress by down-regulating Bcl2 and perturbing the cellular redox state[J]. *Mol Cell Biol*, 2001, 21(4): 1249-1259.

- [15] Syed Abd Halim SA, Abd Rashid N, Woon CK, et al. Natural products targeting PI3K/AKT in myocardial ischemic reperfusion injury: A scoping review [J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2023, 16(5):739.
- [16] Zhang GJ, Guo J, Yang N, et al. Endoplasmic reticulum stress-mediated cell death in liver injury[J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(12):1051.
- [17] An Y, Wang X, Guan X, et al. Endoplasmic reticulum stress-mediated cell death in cardiovascular disease[J]. *Cell Stress Chaperones*, 2024, 29(1):158-174.
- [18] Baek AR, Hong J, Song KS, et al. Spermidine attenuates bleomycin-induced lung fibrosis by inducing autophagy and inhibiting endoplasmic reticulum stress (ERS)-induced cell death in mice[J]. *Exp Mol Med*, 2020, 52(12):2034-2045.
- [19] Li W, Cao T, Luo C, et al. Crosstalk between ER stress, NLRP3 inflammasome, and inflammation[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2020, 104(14):6129-6140.
- [20] Mo Y, Sun YY, Liu KY. Autophagy and inflammation in ischemic stroke [J]. *Neural Regen Res*, 2020, 15(8):1388-1396.
- [21] Yu H, Lin L, Zhang Z, et al. Targeting NF- $\kappa$ B pathway for the therapy of diseases: mechanism and clinical study [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5(1):209.
- [22] Xiao J, Huang J, Jian X, et al. IRE1 $\alpha$  arm of unfolded protein response in muscle-specific TGF- $\beta$  signaling-mediated regulation of muscle cell immunological properties [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2023, 28(1):15.
- [23] Li W, Jin K, Luo J, et al. NF- $\kappa$ B and its crosstalk with endoplasmic reticulum stress in atherosclerosis [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2022, 9:988266.
- [24] Samidurai M, Palanisamy BN, Barges-Carot A, et al. PKC Delta activation promotes endoplasmic reticulum stress (ERS) and NLR family pyrin domain-containing 3 (NLRP3) inflammasome activation subsequent to asynuclein-induced microglial activation: involvement of thioredoxin-interacting protein (TXNIP)/thioredoxin (Trx) redoxosome pathway [J]. *Front Aging Neurosci*, 2021, 13:661505.
- [25] Guo MM, Qu SB, Lu HL, et al. Biochanin A alleviates cerebral ischemia/reperfusion injury by suppressing endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis and p38MAPK signaling pathway in vivo and in vitro [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2021, 12:646720.
- [26] Mo ZT, Liao YL, Zheng J, et al. Icairiin protects neurons from endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis after OGD/R injury via suppressing IRE1 $\alpha$ -XBP1 signaling pathway [J]. *Life Sci*, 2020, 255:117847.
- [27] Efferth T, Oesch F. The immunosuppressive activity of artemisinin-type drugs towards inflammatory and autoimmune diseases [J]. *Med Res Rev*, 2021, 41(6):3023-3061.
- [28] Zhang M, Zhou D, Ouyang Z, et al. Sphingosine kinase 1 promotes cerebral ischemia-reperfusion injury through inducing ER stress and activating the NF- $\kappa$ B signaling pathway [J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(10):6605-6614.
- [29] Ming S, Tian J, Ma K, et al. Oxalate-induced apoptosis through ERS-ROS-NF- $\kappa$ B signalling pathway in renal tubular epithelial cell [J]. *Mol Med*, 2022, 28(1):88.
- [30] Zeng X, Zhang YD, Ma RY, et al. Activated Drp1 regulates p62-mediated autophagic flux and aggravates inflammation in cerebral ischemia-reperfusion via the ROS-RIP1/RIP3-exosome axis [J]. *Mil Med Res*, 2022, 9(1):25.
- [31] Zhang B, Wan S, Liu H, et al. Naringenin alleviates renal ischemia reperfusion injury by suppressing ER stress-induced pyroptosis and apoptosis through activating Nrf2/HO-1 signaling pathway [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022:5992436.
- [32] Li Y, Guo Y, Wu D, et al. Phenylbutyric acid inhibits hypoxia-induced trophoblast apoptosis and autophagy in preeclampsia via the PERK/ATF-4/CHOP pathway [J]. *Mol Reprod Dev*, 2024, 91(4):e23742.
- [33] Wiseman RL, Mesgarzadeh JS, Hendershot LM. Reshaping endoplasmic reticulum quality control through the unfolded protein response [J]. *Mol Cell*, 2022, 82(8):1477-1491.
- [34] Zhu Y, Yu J, Gong J, et al. PTP1B inhibitor alleviates deleterious microglial activation and neuronal injury after ischemic stroke by modulating the ER stress-autophagy axis via PERK signaling in microglia [J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13(3):3405-3427.
- [35] Tang W, Cai D, Fu Y, et al. 4-phenylbutyric acid re-trafficking hERG/G572R channel protein by modulating the endoplasmic reticulum stress-associated chaperones and endoplasmic reticulum-associated degradation gene [J]. *J Thorac Dis*, 2023, 15(8):4472-4485.
- [36] Zhou X, Xu Y, Gu Y, et al. 4-Phenylbutyric acid protects islet  $\beta$  cell against cellular damage induced by glucocorticoids [J]. *Mol Biol Rep*, 2021, 48(2):1659-1665.
- [37] Sethi Y, Mahtni AU, Khehra N, et al. Gene editing as the future of cardiac amyloidosis therapeutics [J]. *Curr Probl Cardiol*, 2023, 48(8):101741.
- [38] Xiao W, Yang W, Zhang X, et al. Endoplasmic reticulum stress and the lysosomal pathway play crucial roles in the progression of  $\beta$ 2-crystallin mutation-induced congenital cataracts in mice [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2023, 64(4):34.
- [39] Lv S, Geng X, Yun HJ, et al. Phenothiazines reduced autophagy in ischemic stroke through endoplasmic reticulum (ER) stress-associated PERK-eIF2 $\alpha$  pathway [J]. *Exp Neurol*, 2023, 369:114524.
- [40] Wu J, Cui D, Li H, et al. Protective effects of NAC and salubrinal on apoptosis of retinal pigment epithelial cells induced by all-trans retinoic acid [J]. *Eur J Ophthalmol*, 2022, 32(1):395-401.
- [41] Marciniak SJ, Chambers JE, Ron D. Pharmacological targeting of endoplasmic reticulum stress in disease [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2022, 21(2):115-140.