

JNK在脑缺血再灌注损伤细胞凋亡中的作用

王海鹏¹, 于 群², 王明山^{3*}

¹青岛大学青岛医学院, 山东 青岛

²潍坊医学院麻醉学院, 山东 潍坊

³青岛大学附属青岛市市立医院麻醉科, 山东 青岛

Email: 1220909489@qq.com, 422262015@qq.com, *wmsqingdao@163.com

收稿日期: 2021年4月11日; 录用日期: 2021年4月25日; 发布日期: 2021年5月17日

摘 要

缺血性脑卒中发病率逐年增高, 严重威胁人们的健康与生活质量, 脑缺血/再灌注损伤(CIRI)是其发病及治疗过程中常见的不良后果之一。c-jun氨基末端激酶(JNK)信号转导通路在CIRI中起着重要的调控作用, 参与介导了神经元凋亡等病理生理过程, 是防治CIRI的重要靶点。许多研究提示, JNK抑制剂可以减少CIRI引起的细胞凋亡, 发挥神经保护作用, 可为临床上缺血性脑卒中的治疗提供新的思路, 同时对寻找新的药物靶点和筛选新药都具有重要的理论意义。

关键词

脑缺血/再灌注损伤, JNK信号通路, 细胞凋亡, 抑制剂

The Role of JNK in Apoptosis after Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury

Haipeng Wang¹, Qun Yu², Mingshan Wang^{3*}

¹Qingdao Medical College, Qingdao University, Qingdao Shandong

²College of Anesthesiology, Weifang Medical University, Weifang Shandong

³Department of Anesthesiology, Qingdao Municipal Hospital Affiliated to Qingdao University, Qingdao Shandong

Email: 1220909489@qq.com, 422262015@qq.com, *wmsqingdao@163.com

Received: Apr. 11th, 2021; accepted: Apr. 25th, 2021; published: May 17th, 2021

*通讯作者。

文章引用: 王海鹏, 于群, 王明山. JNK 在脑缺血再灌注损伤细胞凋亡中的作用[J]. 临床医学进展, 2021, 11(5): 2111-2119. DOI: 10.12677/acm.2021.115302

Abstract

The incidence rate of ischemic stroke is increasing year by year, which seriously threatens people's health and quality of life. Cerebral ischemia/reperfusion injury (CIRI) is one of the common adverse consequences in the course of its onset and treatment. C-Jun N-terminal kinase (JNK) signal transduction pathway plays an important role in the regulation of CIRI. It participates in the pathophysiological processes such as neuronal apoptosis, and is an important target for the prevention and treatment of CIRI. Many studies suggest that JNK inhibitors can reduce the apoptosis induced by CIRI and play a neuroprotective role, which can provide a new idea for the treatment of ischemic stroke in clinic. At the same time, it has important theoretical significance for finding new drug targets and screening new drugs.

Keywords

Cerebral Ischemia/Reperfusion Injury, JNK Signaling Pathway, Apoptosis, Inhibitor

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

脑卒中位于冠心病和癌症之后,是西方国家人口的第三大死因[1]。在中国脑卒中已超过心脏病成为导致死亡和成人残疾的首要病因[2],其中缺血性脑卒中是最常见的类型,占比 69.6%~70.8% [3] [4]。缺血性脑卒中的治疗原则是尽快恢复缺血区的血液灌注,以减轻脑组织损伤,但是在抢救和治疗过程中,发现快速恢复血液供应反而使组织损伤及功能障碍进一步加重,即 CIRI [5]。CIRI 的发生和发展是一个复杂的病理生理过程,目前认为主要与能量代谢障碍、氧化应激、钙超载、炎症因子及一氧化氮合成释放过多、兴奋性氨基酸的神经毒性等密切相关[6]。众多研究表明,JNK 信号通路及其抑制剂在 CIRI 诱导的细胞凋亡中起重要的调控作用。现就 CIRI 中 JNK 介导神经细胞凋亡的机制及 JNK 抑制剂的应用展开综述。

2. JNK 信号通路概述

促分裂原活化蛋白激酶(MAPKs)是在哺乳动物细胞内广泛存在且进化保守的丝/苏氨酸(Ser/Thr)蛋白激酶类信号分子家族,主要成员有四种:细胞外信号调节激酶(ERK)、c-Jun 氨基末端激酶(JNK)、p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38 MAPK)以及细胞外信号调节蛋白激酶 5(ERK5)。这些激酶的信号通路高度保守,均通过三级酶促磷酸化级联反应将细胞外信号传递到细胞质与细胞核,即 MAPK 激酶的激酶(MAPKKK/MEKK)-MAPK 激酶(MAPKK/MEK)-MAPK。不同激酶的信号通路相对独立,介导的效应因细胞类型、刺激种类和方式的不同而有很大的差异,ERK 通路优先传递有丝分裂原和生长因子产生的刺激信号,p38 和 JNK 通路对紫外线照射、渗透压改变、热休克及炎症细胞因子等物理和化学环境应激具有更强的选择性,ERK5 则可被高渗透压、低氧、氧化剂和流体切应力等激活。

JNK 于上世纪九十年代初在紫外线照射细胞的研究中被发现,哺乳动物中有 3 个基因型,即 JNK1, JNK2 和 JNK3,经过选择性剪切可以编码 10 种异构体,包括分子量 46 kDa 的 JNK1 α 1、JNK1 β 1、JNK2 α 1、

JNK2 β 1, 55 kDa 的 JNK1 α 2、JNK1 β 2、JNK2 α 2、JNK2 β 2, 48 kDa 的 JNK3 α 1 以及 57 kDa 的 JNK3 α 2, 亚型间的同源性可达 85% 以上, 所有亚型的亚结构域Ⅷ中都含有保守的 Thr-Pro-Tyr 序列, 其上的苏氨酸(Thr)/酪氨酸(Tyr)的双重磷酸化介导 JNK 的激活。JNK1 和 JNK2 在组织中广泛表达, 而 JNK3 有一个与甲硫氨酸残基相融合的扩展 N 端, 仅选择性表达于脑、心脏和睾丸等部位。有研究发现[7], JNK1 和 JNK2 在神经发育中起着重要作用, JNK3 则与应激诱导的神经细胞凋亡密切相关。

JNK 信号通路可对多种胞外刺激作出应答, 如膜受体相关的细胞因子(TNF α 、IL-1)和生长因子(EGF、TGF- β 、PDGF)以及非受体途径的热休克、电离辐射、紫外线照射、渗透压、缺血再灌注和氧化损伤等环境应激因素[8]。胞外刺激进一步激活了 JNK 的上游级联激酶, 即 MAPKKK-MAPKK, MAPKKK 类激酶主要包括 MEKK1-4、DLK、Tpl-2、ASK1-2、MLK1-3、TAK1 和 TAO1-2 等, MLK2/3 还可受到 Rho 家族小 GTP 酶 Rac1、Cdc42 的调控, MAPKKK 因其亚型的多样性而有助于 JNK 通路对胞外刺激信号的特异性应答; MAPKK 类激酶包括 MEK4 和 MEK7, 是 JNK 的特异性激酶, 通过对 Thr-Pro-Tyr 序列中 Thr183 和 Tyr185 位点双磷酸化而激活 JNK, MEK4 优先磷酸化 Tyr185, 而 MEK7 优先磷酸 Thr183 [9]。双重特异性磷酸酶(DUSPs)作为受 JNK 调控的下游靶蛋白, 可通过去磷酸化负反馈抑制使 JNK 及时失活[10]。在静止的细胞中, JNK 主要定位于细胞浆, 激活后部分转入细胞核内, 使转录因子 c-Jun 氨基末端 63 和 73 位丝氨酸残基发生磷酸化激活, 增强其转录活性, 促进转录激活蛋白-1 (AP-1)复合体的形成, 后者结合到许多基因启动子区的 AP-1 位点, 调控基因的表达与蛋白质合成。JNK 的下游底物除了细胞核内众多的转录因子(c-jun、JunB、JunD、ATF2、P53、Elk-1、STAT1、STAT3、Smad4、c-myc、NFATc1-3 和 HSF-1 等), 还包含一些细胞质成分, 如细胞骨架蛋白(DCX、Tau、WDR62)、凋亡相关蛋白 Bcl-2 家族成员(Bcl-2、Bcl-xl、Bim、Bad)等。此外 JNK 调控路径上还包含一些重要的支架蛋白, 如 JIP、JLP、 β -arrestin、CrkII、JAMP、POSH 等, 能与特定的 MEKK、MEK、JNK 结合形成功能性复合体, 调节它们的细胞内定位和活性, 对信号传递的特异性及效率起到重要的调节作用[11]。JNK 磷酸化下游底物, 涉及复杂的蛋白质相互作用, 参与细胞增殖、分化、形态维持、骨架构建、凋亡、DNA 损伤修复等多种生物学反应[12], JNK 信号通路功能失调则与神经退行性疾病、脑卒中、糖尿病、慢性炎症、癌症等多种疾病的发生密切相关。

3. JNK 信号通路与脑缺血再灌注损伤细胞凋亡

细胞凋亡是一种不同于细胞坏死的, 由基因精确调控的程序性死亡方式, 是一种重要的机体自稳态调控机制。JNK 作为 MAPK 信号级联途径中的重要一环, 在 CIRI 诱导的神经细胞凋亡过程中发挥着重要的调控作用[13]。ZHU 等[14]发现短暂性全脑缺血再灌注引起大鼠海马 CA1 区 GluK6 的泛素化水平持续升高, 使其与 MLK3 的结合增加, 下游 JNK3 被过度激活, 可能是缺血再灌后神经元凋亡的原因。ZHEN 等[15]通过缺血 2 h、再灌注 22 h 构建了小鼠局灶性 CIRI 模型, 发现假手术组 p-JNK 表达很低, CIRI 组大脑皮质和海马区 p-JNK 表达急剧上升, 抑制 JNK 的激活可改善 CIRI 大鼠的神经行为功能, 缩减脑组织的梗死面积。这些结果表明, JNK 信号通路的激活参与了 CIRI, 但具体机制尚未阐述透彻。目前的研究表明 CIRI 通过 JNK 信号通路诱导神经元凋亡主要涉及三条路径: 线粒体途径、死亡受体途径、内质网途径。

3.1. 线粒体途径

JNK 可通过非转录依赖的方式直接调控细胞质内靶蛋白的活性而介导细胞凋亡。一部分活化的 JNK 留在细胞质中, 通过磷酸化 Bcl-2 家族成员而介导线粒体途径细胞凋亡的发生, 此过程并不促进基因的转录表达。Bcl-2 家族成员根据其结构和功能的差异性可分为 3 类, 即 Bcl2、Bcl-xl、Bcl-w 等抗凋亡蛋

白, Bax、Bak、Bok 等促凋亡蛋白以及 Bid、Bim、Bad、Puma 等 BH3-only 蛋白。其中 Bax 是线粒体通路的主要效应者。活性 JNK 能磷酸化直接激活 Bax, 也能磷酸化接头蛋白 14-3-3 和 Bcl-2 家族的 Bcl-2、Bim、Bid、Bad 等成员而间接激活 Bax。活化的 Bax 发生构象改变形成寡聚体并整合到线粒体外膜上, 使之通透性增加, 释放位于线粒体双层膜间的细胞色素 C (CytC)、细胞凋亡诱导因子(AIF)、Smac/DIABLO、核酸内切酶 G (EndoG)等促凋亡的线粒体蛋白。在 ATP/dATP 存在的情况下, CytC 与凋亡蛋白酶活化因子(Apaf-1)形成多聚复合体, 通过 Apaf-1 氨基端的 Caspase 募集结构域(CARD)募集胞质中的 Caspase-9 前体, 经过其自身剪切活化并启动 Caspase 级联反应, 激活下游的 Caspase-3 和 Caspase-7, 完成其相应底物的剪切, 引起细胞调。Smac/DIABLO 可解除凋亡抑制蛋白 IAPs 对 Caspase 的抑制, 启动 caspase 依赖的线粒体途径的细胞凋亡。AIF 和 EndoG 则能入核直接裂解 DNA 并引起染色质凝聚, 通过非 caspase 依赖的线粒体途径介导细胞凋亡。

WANG 等[16]构建了大鼠短暂性全脑缺血再灌注模型, 发现活化的 JNK1/2 会诱导 Bad 丝氨酸 128 位点发生磷酸化, 导致与接头蛋白 14-3-3 的结合减弱, 游离的 Bad 与线粒体膜上 Bcl-XL 结合, 使 Bim 等 BH3-only 蛋白得到释放, 最后激活 Bax 而改变线粒体膜结构引起凋亡。CHO 等[17]构建了沙土鼠短暂性全脑缺血再灌注模型, 运用 TUNEL、Western blot、免疫组织化学染色和免疫荧光等技术检测沙土鼠的组织标本。结果显示伴随 caspase-3、Bax 表达增加, 海马 CA1 区 TUNEL 阳性细胞比例增多, 同时 Bcl-2 表达下降。ZHANG 等[18]用脑血管平滑肌细胞(HBVSMC)构建了缺氧/复氧(H/R)模型, 得到了相似的结果, 从体外验证了 H/R 同样可以启动线粒体途径介导的细胞凋亡。

3.2. 死亡受体通路

JNK 通过转录依赖的方式介导死亡受体途径及线粒体途径的细胞凋亡。活化的 JNK 从细胞质转移入核, 通过磷酸化激活 c-Jun、c-Fos、Elk-1、ATF-2 等转录因子而实现对凋亡相关基因的表达调控。活化的 JNK 入核后激活相关转录因子诱导肿瘤坏死因子(TNF)、FasL 等死亡配体的表达而启动死亡受体通路的细胞凋亡: ① TNF→肿瘤坏死因子受体(TNFR)→肿瘤坏死因子受体 I 型相关死亡结构域蛋白(TRADD)→含有死亡结构域的 Fas 相关蛋白(FADD)→caspase8→细胞凋亡, ② FasL→Fas→死亡诱导信号复合物(DISC)→caspase8→caspase3→细胞凋亡; 活性 JNK 入核后也能激活相关转录因子诱导 Bim、Bid、DP5 等 BH3-only 蛋白的表达, 进一步激活 Bax 等促凋亡效应蛋白, 从而启动线粒体通路的细胞凋亡。

Yu 等[19]发现大鼠局灶性脑缺血灌注会诱导 GluR6-PSD95-MLK3 信号传导模块的组装, 促进 JNK 激活, 从而上调 FasL 的转录表达, 同时也促使 Bax 向线粒体移位, 引起细胞色素 C 的释放和 caspase-3 的激活, 最终引起海马 CA1 区的神经细胞凋亡。抑制 FasL/Fas 信号通路的基因表达可以减轻脑缺血再灌注带来的损伤[20]。GUAN 等[21]在大鼠全脑缺血再灌注损伤模型中发现海马 CA1 区 DP5 蛋白的表达水平提高, 免疫共沉淀显示 Bcl-2 与 DP5 结合增强, 而与 Bax 的结合减弱, 推测活化的 JNK 通过促进 DP5 的表达, 解除了 Bcl-2 对 Bax 的结合抑制, 使 Bax 转移至线粒体引起细胞凋亡。

3.3. 内质网通路

近年越来越多研究表明, 内质网应激(ERS)参与缺血性脑卒中的发生发展。内质网是真核细胞内合成及修饰蛋白质、脂类及糖类, 贮存和释放钙离子的重要场所。正常情况下, 内质网应激作为一种适应性保护反应可被诸多物理、化学及生物性刺激触发, 并引起未折叠蛋白反应(UPR), 进一步激活蛋白激酶 R 样内质网激酶(PERK)、需肌醇激酶 1 (IRE1)、活化转录因子 6 (ATF6)三条信号通路, 减少蛋白质的合成, 加速未折叠蛋白的降解及正确折叠以减轻内质网压力, 恢复内质网稳态, 促进细胞存活[22]。但是脑缺血再灌注后, 神经细胞内钙超载、兴奋性氨基酸细胞毒性作用、大量自由基生成及炎症反应等持久强烈的

病理性因素诱发过度的 ERS 并进一步激活细胞的程序性死亡途径,引起细胞凋亡,加重缺血缺氧损伤。对此,ZHAO 等[23]研究证实 ERS 参与了脑缺血再灌注后 JNK 介导的神经元凋亡。

众多研究表明需肌醇酶 1 (IRE1)-肿瘤坏死因子相关因子 2 (TRAF2)-细胞凋亡信号调节激酶 1 (ASK1)-JNK 信号通路在内质网应激介导细胞凋亡中发挥重要作用,过强的内质网应激反应激活 IRE1,活化的 IRE1 又募集 TRAF2,然后与 ASK1 形成 IRE1-TRAF2-ASK1 复合物,激活 JNK 诱导细胞凋亡[24]。CHEN 等[25]采用双侧颈总动脉结扎法诱导大鼠 CIRI,经过蛋白质组学分析,发现神经元的凋亡与 IRE1/TRAF2 复合体的形成以及 JNK1/2 的持续激活密切相关。

葡萄糖调节蛋白(GRP78)是重要的内质网伴侣分子,对维持内质网稳态具有重要作用。正常情况下,GRP78 与 IRE1、ATF-6、PERK 结合而处于无活性状态,发生 ERS 时,与三者解离转而结合未折叠蛋白,协助蛋白质的正确折叠。脑缺血早期 UPR 介导的 GRP78 表达增加,对神经细胞具有保护作用,诱导 GRP78 的表达可以减轻神经元的凋亡[26]。长期过强的应激使内质网自稳功能失调,GRP78 合成减少,细胞发生凋亡[27]。李建民等[28]缺血再灌注早期 GRP78 与 JNK 表达趋势一致,后期出现 GRP78 表达持续下降,而 JNK 表达依然增高,应用 SP600125 抑制 JNK 活性后,GRP78 表达增加。推测持久过强的 ERS 降低了 GRP78 的表达,释放出大量游离的 IRE-1,促使 IRE1-TRAF-2-ASK1 复合体形成,激活 JNK,介导细胞凋亡。

4. JNK 抑制剂在脑缺血再灌注损伤中的作用

脑缺血再灌注时,JNK 受到激活,使其抑制剂的筛选和应用成为了缺血性脑卒中防治研究的热点,在众多临床前动物实验中 JNK 抑制剂表现出良好的治疗潜能。

4.1. SP600125

SP600125 是 2001 年发现的一种 JNK 特异性可逆的小分子抑制剂,不溶于水,可溶解于二甲基亚砜。通过与 JNK1、JNK2、JNK3 的 ATP 结合位点竞争性结合发挥抑制作用,对 JNK 的抑制要比对 ERK1 和 p38 强 300 多倍,可显著抑制 c-Jun 磷酸化,抑制肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、干扰素 γ (IFN- γ)、环加氧酶 2 (COX-2)和白介素 2 (IL-2)等的表达。近年来被广泛应用于脑缺血再灌注损伤的研究。

GAO 等[29]采用小鼠局灶性脑缺血再灌注模型,探讨 JNK 活化在神经元凋亡中的作用,在缺血后的 0.5~24 小时 JNK 活性被诱导提高,进一步用免疫共沉淀法检测发现 JNK 的激活引起接头蛋白 14-3-3 磷酸化,促使 Bax 与 14-3-3 解离并移位到线粒体,介导线粒体途径的神经元凋亡。而通过尾静脉全身应用 SP600125 可降低 p-JNK、Bim、DP5 和 Fas 的表达,并抑制 Bax 的易位,减少细胞色素 C 和 Smac 从线粒体中释放以及下游 caspase-9 和 caspase-3 的激活,并呈剂量依赖性地缩小梗死体面积。GUAN 等[30]证实 SP600125 能抑制海马 CA1 区 FasL 的表达,同时抑制 Bcl-2 磷酸化和 Bax 从 Bcl-2/Bax 异二聚体释放。表明 SP600125 通过抑制死亡受体和线粒体两条途径促进神经元存活,而且缺血之前之后前后给药表现出相同的神经保护作用。MURATA 等[31]构建了大鼠短暂局灶性脑缺血再灌注模型,分别于再灌注后 10 分钟和 7 天后给予 SP600125,发现了明显的疗效差异,早期治疗可以减少梗死面积,延迟治疗则会产生恶化作用。

4.2. AS601245

AS601245 具有与 SP600125 相似的作用机制,不同的是前者对 JNK3 有更高的选择性。CARBONI 等[32]在沙土鼠短暂性全脑缺血再灌注模型和大鼠局短暂灶性缺血再灌注两种模型中,都证实了 AS601245 可以通过抑制 JNK,减少 c-Jun 的表达和磷酸化,发挥对海马 CA1 区神经元的保护作用。后续

研究[33]采用沙土鼠短暂性全脑缺血再灌注模型,发现死亡受体途径于缺血再灌注后早期(2天)激活,而线粒体途径的激活出现在第5~7天,且两条途径皆被AS601245所抑制。当剂量为80 mg/kg时,AS601245可使神经轴突损伤减少67%,星形胶质细胞活化减少84%,说明AS601245不仅能减少全脑缺血后神经元损伤,同时也抑制星形胶质细胞增生,并改善脑缺血引起的长期记忆障碍[34]。转录因子FOXO3a与细胞凋亡、衰老、增殖、代谢、分化和肿瘤发生等密切相关,FOXO3a被Akt磷酸化时,FOXO3a与街头蛋白14-3-3结合定位于细胞质中。JNK的激活导致14-3-3丝氨酸184位点磷酸化,使FOXO3a/14-3-3复合体发生解离,FOXO3a转移入核,诱导促凋亡蛋白Bim等表达。最近LI等[35]采用新生7日大鼠模拟新生儿缺氧缺血(HI)性脑损伤,发现JNK的激活伴随着细胞质中FOXO3a的去磷酸化,使后者核内移位增多,并引起促凋亡蛋白Bim和caspase-3的表达增加。JNK特异性抑制剂AS601245可提高FOXO3a的磷酸化水平,减少HI后FOXO3a的核内易位,使Bim和caspase-3表达降低,最终表现为抑制神经元的凋亡和缩小脑梗死面积。

4.3. IQ-1S

在脑缺血再灌注早期,神经型一氧化氮合酶(nNOS)来源的一氧化氮(NO)促进GluR6与MLK3发生S-亚硝化,增加了GluR6-PSD95-MLK3信号模块的组装,引起JNK激活[36],同样ASK1也受到内源性NO的诱导发生S-亚硝基化[37]。外源性NO供体可抑制nNOS的激活,使再灌注早期S-亚硝化的GluR6、MLK3以及ASK1水平下降,对缺血性脑损伤起到保护作用。提示外源性NO供体可以通过调节MLK和ASK1活性减轻脑缺血再灌注的早期损伤。

PEI等[38]在大鼠全脑缺血再灌注损伤模型中,发现nNOS催化合成的内源性NO可通过S-亚硝基化促进JNK3的激活,而外源性NO供体(硝普钠)可抑制JNK3的S-亚硝基化来逆转内源性NO的作用。最近SCHEPETKIN等[39]筛选出了一种新型JNK特异性抑制剂IQ-1S,对JNK3具有较高的选择性。ATOCHIN等[40]采用小鼠局灶性缺血再灌注模型,发现IQ-1S不仅是JNK抑制剂,还可作为外源性NO的供体,降低脑神经功能评分、减少脑梗死面积发挥脑保护作用。PLOTNIKOV等[41]最新一项关于IQ-1S对大鼠全脑缺血再灌注损伤保护作用的研究发现,IQ-1S的神经保护特性可能是通过改善大脑微循环来介导的,表现为血管舒张增强,血液粘度降低,内皮功能障碍减轻,脑组织脂质过氧化受到抑制。

5. 结语

JNK作为参与CIRI的重要分子靶点,在过去十几年中其相关研究取得了长足的进步,多种JNK抑制剂的脑保护作用在细胞和动物模型中得到验证,然而JNK介导的生理功能的多样性以及与其他信号通路的间的串扰限制了各种抑制剂的全身应用。选择性干扰单个JNK亚型(比如大脑中表达的JNK3)或靶向JNK依赖性特定分子的结构域,增强抑制剂的特异性与针对性,可能是未来药物开发的主要方向,同时可为临床上CIRI的预防和治疗提供新的思路。

基金项目

青岛市民生科技计划项目(19-6-1-50-nsh)。

参考文献

- [1] Feigin, V.L., Krishnamurthi, R.V., Parmar, P., Norrving, B., Mensah, G.A., Bennett, D.A., *et al.* (2015) Update On the Global Burden of Ischemic and Hemorrhagic Stroke in 1990-2013: The GBD 2013 Study. *Neuroepidemiology*, **45**, 161-176. <https://doi.org/10.1159/000441085>
- [2] Liu, L., Wang, D., Lawrence Wong, K.S. and Wang, Y. (2011) Stroke and Stroke Care in China: Huge Burden, Significant Workload, and a National Priority. *Stroke*, **42**, 3651-3654. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.111.635755>

- [3] Wang, W., Jiang, B., Sun, H., Ru, X., Sun, D., Wang, L., *et al.* (2017) Prevalence, Incidence, and Mortality of Stroke in China: Results From a Nationwide Population-Based Survey of 480687 Adults. *Circulation*, **135**, 759-771. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.116.025250>
- [4] Wang, D., Liu, J., Liu, M., Lu, C., Brainin, M. and Zhang, J. (2017) Patterns of Stroke between University Hospitals and Nonuniversity Hospitals in Mainland China: Prospective Multicenter Hospital-Based Registry Study. *World Neurosurgery*, **98**, 258-265. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2016.11.006>
- [5] Eltzschig, H.K. and Eckle, T. (2011) Ischemia and Reperfusion—From Mechanism to Translation. *Nature Medicine*, **17**, 1391-1401. <https://doi.org/10.1038/nm.2507>
- [6] 王道合, 拜承萍, 赵秀丽. 脑缺血再灌注损伤的防治方法与机制研究进展[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2019, 22(17): 1958-1965.
- [7] Coffey, E.T. (2014) Nuclear and Cytosolic JNK Signalling in Neurons. *Nature Reviews. Neuroscience*, **15**, 285-299. <https://doi.org/10.1038/nrn3729>
- [8] Cargnello, M. and Roux, P.P. (2011) Activation and Function of the MAPKs and their Substrates, the MAPK-activated Protein Kinases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **75**, 50-83. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00031-10>
- [9] Haeusgen, W., Herdegen, T. and Waetzig, V. (2011) The Bottleneck of JNK Signaling: Molecular and Functional Characteristics of MKK4 and MKK7. *European Journal of Cell Biology*, **90**, 536-544. <https://doi.org/10.1016/j.ejcb.2010.11.008>
- [10] Patterson, K.I., Brummer, T., O'Brien, P.M. and Daly, R.J. (2009) Dual-Specificity Phosphatases: Critical Regulators with Diverse Cellular Targets. *The Biochemical Journal*, **418**, 475-489. <https://doi.org/10.1042/BJ20082234>
- [11] Engström, W., Ward, A. and Moorwood, K. (2010) The Role of Scaffold Proteins in JNK Signalling. *Cell Proliferation*, **43**, 56-66. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2184.2009.00654.x>
- [12] Sabapathy, K. (2012) Role of the JNK Pathway in Human Diseases. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, **106**, 145-169. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-396456-4.00013-4>
- [13] Ma, S., Liu, X., Cheng, B., Jia, Z., Hua, H. and Xin, Y. (2019) Chemical Characterization of Polysaccharides Isolated From *Scrophularia Ningpoensis* and its Protective Effect on the Cerebral Ischemia/Reperfusion Injury in Rat Model. *International Journal of Biological Macromolecules*, **139**, 955-966. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.040>
- [14] Zhu, Q.J., Xu, Y., Du, C.P. and Hou, X.-Y. (2012) SUMOylation of the Kainate Receptor Subunit GluK2 Contributes to the Activation of the MLK3-JNK3 Pathway Following Kainate Stimulation. *FEBS Letters*, **586**, 1259-1264. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2012.03.048>
- [15] Zhen, Y., Ding, C., Sun, J., Wang, Y., Li, S. and Dong, L. (2016) Activation of the Calcium-Sensing Receptor Promotes Apoptosis by Modulating the JNK/p38 MAPK Pathway in Focal Cerebral Ischemia-Reperfusion in Mice. *American Journal of Translational Research*, **8**, 911-921.
- [16] Wang, X.T., Pei, D.S., Xu, J., Guan, Q.-H., Sun, Y.-F., Liu, X.-M., *et al.* (2007) Opposing Effects of Bad Phosphorylation at Two Distinct Sites by Akt1 and JNK1/2 on Ischemic Brain Injury. *Cellular Signaling*, **19**, 1844-1856. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2007.04.005>
- [17] Cho, Y.S., Shin, M.S., Ko, I.G., Kim, S.-E., Kim, C.-J., Sung, Y.-H., *et al.* (2015) Ulinastatin Inhibits Cerebral Ischemia-Induced Apoptosis in the Hippocampus of Gerbils. *Molecular Medicine Reports*, **12**, 1796-1802. <https://doi.org/10.3892/mmr.2015.3612>
- [18] Zhang, J., Xia, Y., Xu, Z. and Deng, X. (2016) Propofol Suppressed Hypoxia/Reoxygenation-Induced Apoptosis in HBVSMC by Regulation of the Expression of Bcl-2, Bax, Caspase3, Kir6.1, and p-JNK. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2016**, Article ID: 1518738. <https://doi.org/10.1155/2016/1518738>
- [19] Yu, C.Z., Li, C., Pei, D.S., Zong, Y.-Y., Shi, Q., Wen, X.-R., *et al.* (2009) Neuroprotection against Transient Focal Cerebral Ischemia and Oxygen-Glucose Deprivation by Interference with GluR6-PSD95 Protein Interaction. *Neurochemical Research*, **34**, 2008-2021. <https://doi.org/10.1007/s11064-009-9990-z>
- [20] Xiao, B., Bi, F.F., Hu, Y.Q., Tian, F.-F., Wu, Z.-G., Mujilli, H.M., *et al.* (2007) Edaravone Neuroprotection Effected by Suppressing the Gene Expression of the FAS Signal Pathway Following Transient Focal Ischemia in Rats. *Neurotoxicity Research*, **12**, 155-162. <https://doi.org/10.1007/BF03033912>
- [21] Guan, Q.H., Pei, D.S., Xu, T.L. and Zhang, G.-Y. (2006) Brain Ischemia/Reperfusion-Induced Expression of DP5 and Its Interaction with Bcl-2, Thus Freeing Bax From Bcl-2/Bax Dimmers Are Mediated by c-Jun N-terminal Kinase (JNK) Pathway. *Neuroscience Letters*, **393**, 226-230. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2005.09.075>
- [22] Almanza, A., Carlesso, A., Chinthia, C., Creedican, S., Doultinos, D., Leuzzi, B., *et al.* (2019) Endoplasmic Reticulum Stress Signalling—From Basic Mechanisms to Clinical Applications. *The FEBS Journal*, **286**, 241-278. <https://doi.org/10.1111/febs.14608>
- [23] Zhao, Y.N., Li, J.M., Chen, C.X., Zhang, P. and Li, S.X. (2015) Hypertension-Mediated Enhancement of JNK Activa-

- tion in Association with Endoplasmic Reticulum Stress in Rat Model Hippocampus with Cerebral Ischemia-Reperfusion. *Genetics and Molecular Research*, **14**, 10980-10990. <https://doi.org/10.4238/2015.September.21.10>
- [24] Chen, H., Yang, H., Pan, L., Wang, W., Liu, X., Ren, X., *et al.* (2016) The Molecular Mechanisms of XBP-1 Gene Silencing On IRE1 α -TRAF2-ASK1-JNK Pathways in Oral Squamous Cell Carcinoma Under Endoplasmic Reticulum Stress. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **77**, 108-113. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2015.12.010>
- [25] Chen, J.H., Kuo, H.C., Lee, K.F. and Tsai, T.-H. (2015) Global Proteomic Analysis of Brain Tissues in Transient Ischemia Brain Damage in Rats. *International Journal of Molecular Sciences*, **16**, 11873-11891. <https://doi.org/10.3390/ijms160611873>
- [26] Ye, Z., Wang, N., Xia, P., Wang, E., Liao, J. and Guo, Q. (2013) Parecoxib Suppresses CHOP and Foxo1 Nuclear Translocation, but Increases GRP78 Levels in a Rat Model of Focal Ischemia. *Neurochemical Research*, **38**, 686-693. <https://doi.org/10.1007/s11064-012-0953-4>
- [27] Kaufman, R.J., Scheuner, D., Schröder, M., Shen, X., Lee, K., Liu, C.Y., *et al.* (2002) The Unfolded Protein Response in Nutrient Sensing and Differentiation. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, **3**, 411-421. <https://doi.org/10.1038/nrm829>
- [28] 李建民, 赵雅宁, 刘乐, 常学优, 陈长香, 李淑杏. 高血压大鼠全脑缺血再灌注后海马区 c-Jun 氨基末端激酶激活与 GRP78 表达的关系[J]. 医学研究生学报, 2014, 27(5): 473-477.
- [29] Gao, Y., Signore, A.P., Yin, W., Cao, G., Yin, X.-M., Sun, F., *et al.* (2005) Neuroprotection against Focal Ischemic Brain Injury by Inhibition of c-Jun N-terminal Kinase and Attenuation of the Mitochondrial Apoptosis-Signaling Pathway. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, **25**, 694-712. <https://doi.org/10.1038/sj.jcbfm.9600062>
- [30] Guan, Q.H., Pei, D.S., Zhang, Q.G., Hao, Z.-B., Xu, T.-L. and Zhang, G.-Y. (2005) The Neuroprotective Action of SP600125, a New Inhibitor of JNK, On Transient Brain Ischemia/Reperfusion-Induced Neuronal Death in Rat Hippocampal CA1 via Nuclear and Non-Nuclear Pathways. *Brain Research*, **1035**, 51-59. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2004.11.050>
- [31] Murata, Y., Fujiwara, N., Seo, J.H., Yan, F., Liu, X., Terasaki, Y., *et al.* (2012) Delayed Inhibition of c-Jun N-terminal Kinase Worsens Outcomes after Focal Cerebral Ischemia. *The Journal of Neuroscience*, **32**, 8112-8115. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0219-12.2012>
- [32] Carboni, S., Hiver, A., Szyndralewicz, C., Gaillard, P., Gotteland, J.-P. and Vitte, P.-A. (2004) AS601245 (1,3-Benzothiazol-2-Yl (2-[[2-(3-Pyridinyl) Ethyl] Amino]-4 Pyrimidinyl) Acetonitrile): A c-Jun NH₂-terminal Protein Kinase Inhibitor with Neuroprotective Properties. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **310**, 25-32. <https://doi.org/10.1124/jpet.103.064246>
- [33] Carboni, S., Antonsson, B., Gaillard, P., Gotteland, J.-P., Gillon, J.-Y. and Vitte, P.-A. (2005) Control of Death Receptor and Mitochondrial-Dependent Apoptosis by c-Jun N-terminal Kinase in Hippocampal CA1 Neurons Following Global Transient Ischaemia. *Journal of Neurochemistry*, **92**, 1054-1060. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2004.02925.x>
- [34] Carboni, S., Boschert, U., Gaillard, P., Gotteland, J.-P., Gillon, J.-Y. and Vitte, P.-A. (2008) AS601245, a c-Jun NH₂-Terminal Kinase (JNK) Inhibitor, Reduces Axon/Dendrite Damage and Cognitive Deficits after Global Cerebral Ischaemia in Gerbils. *British Journal of Pharmacology*, **153**, 157-163. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707574>
- [35] Li, D., Li, X., Wu, J., Li, J., Zhang, L., Xiong, T., *et al.* (2015) Involvement of the JNK/FOXO3a/Bim Pathway in Neuronal Apoptosis after Hypoxic-Ischemic Brain Damage in Neonatal Rats. *PLoS ONE*, **10**, e0132998. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132998>
- [36] Hu, S.Q., Ye, J.S., Zong, Y.Y., Sun, C.-C., Liu, D.-H., Wu, Y.-P., *et al.* (2012) S-Nitrosylation of Mixed Lineage Kinase 3 Contributes to its Activation after Cerebral Ischemia. *The Journal of Biological Chemistry*, **287**, 2364-2377. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.227124>
- [37] Liu, D.H., Yuan, F.G., Hu, S.Q., Diao, F., Wu, Y.-P., Zong, Y.-Y., *et al.* (2013) Endogenous Nitric Oxide Induces Activation of Apoptosis Signal-Regulating Kinase 1 via S-Nitrosylation in Rat Hippocampus during Cerebral Ischemia-Reperfusion. *Neuroscience*, **229**, 36-48. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.10.055>
- [38] Pei, D.S., Song, Y.J., Yu, H.M., Hu, W.-W., Du, Y. and Zhang, G.-Y. (2008) Exogenous Nitric Oxide Negatively Regulates c-Jun N-terminal Kinase Activation via Inhibiting Endogenous NO-Induced S-Nitrosylation during Cerebral Ischemia and Reperfusion in Rat Hippocampus. *Journal of Neurochemistry*, **106**, 1952-1963. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2008.05531.x>
- [39] Schepetkin, I.A., Kirpotina, L.N., Khlebnikov, A.I., Hanks, T.S., Kochetkova, I., Pascual, D.W., *et al.* (2012) Identification and Characterization of a Novel Class of c-Jun N-terminal Kinase Inhibitors. *Molecular Pharmacology*, **81**, 832-845. <https://doi.org/10.1124/mol.111.077446>
- [40] Atochin, D.N., Schepetkin, I.A., Khlebnikov, A.I., Seledtsov, V.I., Swanson, H., Quinn, M.T., *et al.* (2016) A Novel Dual NO-Donating Oxime and c-Jun N-terminal Kinase Inhibitor Protects Against Cerebral Ischemia-Reperfusion In-

jury in Mice. *Neuroscience Letters*, **618**, 45-49. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2016.02.033>

- [41] Plotnikov, M.B., Chernysheva, G.A., Aliev, O.I., Smol'iakova, V.I., Fomina, T.I., Osipenko, A.N., *et al.* (2019) Protective Effects of a New C-Jun N-Terminal Kinase Inhibitor in the Model of Global Cerebral Ischemia in Rats. *Molecules*, **24**, Article No. 1722. <https://doi.org/10.3390/molecules24091722>