

X-盒结合蛋白1在脑缺血中的作用

闫文静^{1,2} 吴凡^{1,2} 王锦坤^{1,2} 赵航^{1,2} 李钊朋^{1,2} 覃雪莲^{1,2} 何治^{1,2*}

(¹三峡大学国家中医药管理局中药药理科研三级实验室, 宜昌 443002; ²三峡大学基础医学院, 宜昌 443002)

摘要 X-盒结合蛋白(X-box binding protein 1, XBP1)是碱性亮氨酸拉链结构蛋白, 在脑缺血引起的内质网应激反应中扮演着重要角色。XBP1在非内质网应激时以未剪接的X-盒结合蛋白1(X-box binding protein 1-unspliced, XBP1-u)的形式表达, 在内质网应激期间表现为剪接的X-盒结合蛋白(X-box binding protein 1-spliced, XBP1-s)的形式。为了充分了解XBP1, 该文将从XBP1的两种异构体的结构、分布、定位以及病理生理功能等方面进行综述, 并重点探讨XBP1-s在脑缺血后激活氧连-N-乙酰葡萄糖胺修饰和葡萄糖调节蛋白-78表达以减少氧化应激损伤、促进缺血组织中的内皮细胞增殖保护脑微血管内皮细胞损伤以及调节细胞焦亡等方面的作用。

关键词 X-盒结合蛋白1; 脑缺血; 未折叠蛋白反应; 内质网应激

Role of X-Box Binding Protein 1 in Cerebral Ischemia

YAN Wenjing^{1,2}, WU Fan^{1,2}, WANG Jinkun^{1,2}, ZHAO Hang^{1,2}, LI Yipeng^{1,2}, QIN Xuelian^{1,2}, HE Zhi^{1,2*}

(¹Third-Grade Pharmacological Laboratory on Traditional Chinese Medicine, State Administration of Traditional Chinese Medicine, China Three Gorges University, Yichang 443002, China;

²Basic Medical College, China Three Gorges University, Yichang 443002, China)

Abstract XBP1 (X-box binding protein 1) is a basic leucine zipper structural protein, which plays an important role in the endoplasmic reticulum stress response after cerebral ischemia. XBP1 is expressed in the form of XBP1-u (X-box binding protein 1-unspliced) during non-ER (endoplasmic reticulum) stress, and in the form of XBP1-s (X-box binding protein 1-spliced) during ER stress. In order to fully understand XBP1, this article will review the structure, distribution, localization and pathophysiological functions of the two isomers of XBP1, and focus on the role of XBP1-s in activating the modification of oxo-N-acetylglucosamine, the expression of glucose regulatory protein-78 after cerebral ischemia to reduce oxidative stress damage, the injury of cerebral microvascular endothelial cells and cell apoptosis during cerebral ischemia.

Keywords XBP1; cerebral ischemia; unfolded protein reaction; endoplasmic reticulum stress

缺血性卒中是由脑血流中断或脑血管阻塞导致局部脑组织或全脑组织损伤的一种疾病^[1-2], 是全世界常见的致残和致死原因之一, 以“四高”, 即患病率高、复发率高、致残率高和死亡率高为主要特点^[3-4]。2020年美国心脏协会的报告显示, 缺血性卒中占所有卒中的87%^[5]。目前临床上对缺血性卒中的治疗

手段一般为通过药物溶栓或介入治疗以恢复缺血区域的血流供应, 然而由于血管再通效率低、时间窗有限并且这些治疗手段无法将损伤区域完全修复^[6], 因此迫切需要治疗缺血性卒中的新方案以缓解治疗压力。

X-盒结合蛋白1(X-box binding protein 1, XBP1)

收稿日期: 2022-09-30 接受日期: 2022-11-21

国家自然科学基金面上项目(批准号: 82073824)资助的课题

*通讯作者。Tel: 17852274519, E-mail: 1131505883@qq.com

Received: September 30, 2022 Accepted: November 21, 2022

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.82073824)

*Corresponding author. Tel: +86-17852274519, E-mail: 1131505883@qq.com

是碱性亮氨酸拉链(basic leucine zipper, bZIP)结构蛋白^[7],属于环腺苷酸应答元件连接蛋白/激活因子家族中的重要转录因子^[8]。在1990年筛选调节主要组织相容性复合物II类分子的关键基因时,它们首次发现并证明其在B细胞中充当转录因子^[9]。2003年利用C57小鼠和Wistar大鼠分别建立局灶性脑缺血和短暂性全脑缺血模型,PASCHEN等^[10]首次发现*XBPI* mRNA水平在局灶性和短暂性全脑缺血后显著增加。在此之后,IBUKY等^[11]于2012年的研究表明,海马原代神经元氧糖剥夺(oxygen and glucose deprivation, OGD)引起内质网应激(endoplasmic reticulum stress response, ERS),导致剪接的X-盒结合蛋白1(X-box binding protein 1-spliced, XBPI-s)水平增加,但可能由于OGD诱导了严重的蛋白质合成障碍,导致在氧糖剥夺再复氧(oxygen and glucose deprivation/reoxygenation, OGD/R)初期XBPI-s水平降低,然而在OGD/R一段时间之后XBPI的重新激活可能对OGD/R后的神经元具有保护作用,且XBPI-s过表达可以保护大鼠原代海马神经元免受OGD/R应激的影响。因此, XBPI可能成为脑缺血再灌注(ischemia/reperfusion, I/R)损伤治疗的潜在靶点^[11]。

在现有研究的基础上,本文简要介绍了XBPI的两种异构体的结构、分布、定位以及病理生理功能,并重点探讨了XBPI-s在脑缺血中的作用。

1 X-盒结合蛋白1

1.1 XBPI的结构

*XBPI*基因位于22号染色体^[12],包含6 010个碱基对,可转录为含有5个外显子的*XBPI-u* mRNA,然而在发生内质网应激时,*XBPI-u* mRNA会被剪接形成*XBPI-s* mRNA,这两种mRNA最终分别被翻译成XBPI-u蛋白和XBPI-s蛋白(图1)。XBPI-u的N-端包括核定位序列(nuclear localization sequence, NLS)和DNA结构域,C-端包括核输出序列(nuclear output sequence, NES)和可触发其蛋白酶体剪接的降解域^[8]。因存在降解域,所以XBPI-u非常不稳定,容易被蛋白酶体迅速降解^[13]。与XBPI-u不同,XBPI-s的C末端形成转录激活子结构域,可以作为转录因子调节靶基因表达(图1)。综上,XBPI-u和XBPI-s的C末端的结构差异导致它们具有不同的生物学功能^[8]。

1.2 XBPI的分布及定位

哺乳动物XBPI蛋白在胎儿外分泌腺细胞、成

骨细胞、肝细胞以及各种癌症的细胞中呈高水平表达^[14],后续研究发现,XBPI蛋白还表达于大脑皮层、海马、下丘脑、小脑和脑中^[15]。其两种蛋白亚型在细胞中的表达位点不同,XBPI-u主要存在于细胞质和细胞核中,而XBPI-s仅定位于细胞核中。这种定位差异主要因为其结构不同所致:XBPI-u同时存在强核排斥信号和核定位序列,但其C-端的降解域可以减弱NLS的活性,因此XBPI-u可以在细胞核和细胞质中来回穿梭。而XBPI-s因其C-端经过剪接形成转录激活子结构域,无法减弱其核定位功能,因此仅存在于细胞核。此外,XBPI-s和XBPI-u结合后可以以复合物的形式从细胞核输出到细胞质,且XBPI-u C末端降解域的作用,使得该复合物比XBPI-s更易被蛋白酶体降解,从而以降解复合物的形式降低细胞内XBPI-s的水平^[13]。因此在XBPI-s存在过多的情况下,XBPI-u可作为XBPI-s的负反馈调节器发挥作用^[16]。

1.3 XBPI的病理生理功能

XBPI-s可以作为重要的转录因子调节机体代谢过程,在胰岛素缺乏和胰岛素抵抗的小鼠中XBPI-s与叉头盒转录因子O1(forkhead box O1, FoxO1)相互作用可以减弱糖异生基因磷酸烯醇丙酮酸羧激酶和葡萄糖-6-磷酸酶的表达作用,抑制葡萄糖的产生从而降低血糖^[17-18]。与此同时,XBPI-s可以调节胰岛素和胰高血糖素的分泌^[19],以及诱导脂肪^[20]和胆固醇的合成^[21]。另有研究表明,XBPI-s还可以参与免疫细胞的生成以及抗体的产生过程^[22],还参与巨噬细胞的成熟过程^[23-24]以及CD8⁺ T细胞分化^[25]。

由于现在对XBPI-u病理生理功能的研究十分有限,XBPI-u在内质网应激过程中被剪接为XBPI-s发挥作用,自发现以来其一直被认为是XBPI-s的前体。然而,最近研究报道了XBPI-u独特且独立于内质网应激的特定功能。例如:在谷氨酰胺缺乏时,细胞外调节蛋白激酶会催化XBPI-u发生磷酸化,磷酸化的XBPI-u会进一步与FoxO1结合并促使其降解,从而降低FoxO1的活性,最终抑制细胞的自噬过程^[26]。XBPI-u被报道还具有维持血管平滑肌收缩表型^[27]、保持血管稳态^[28]及保护细胞免受氧化应激损伤^[16]等作用。

2 XBPI在内质网中剪切生成

研究发现内质网(endoplasmic reticulum, ER)中高质量的蛋白质折叠对于细胞存活和功能以及维持

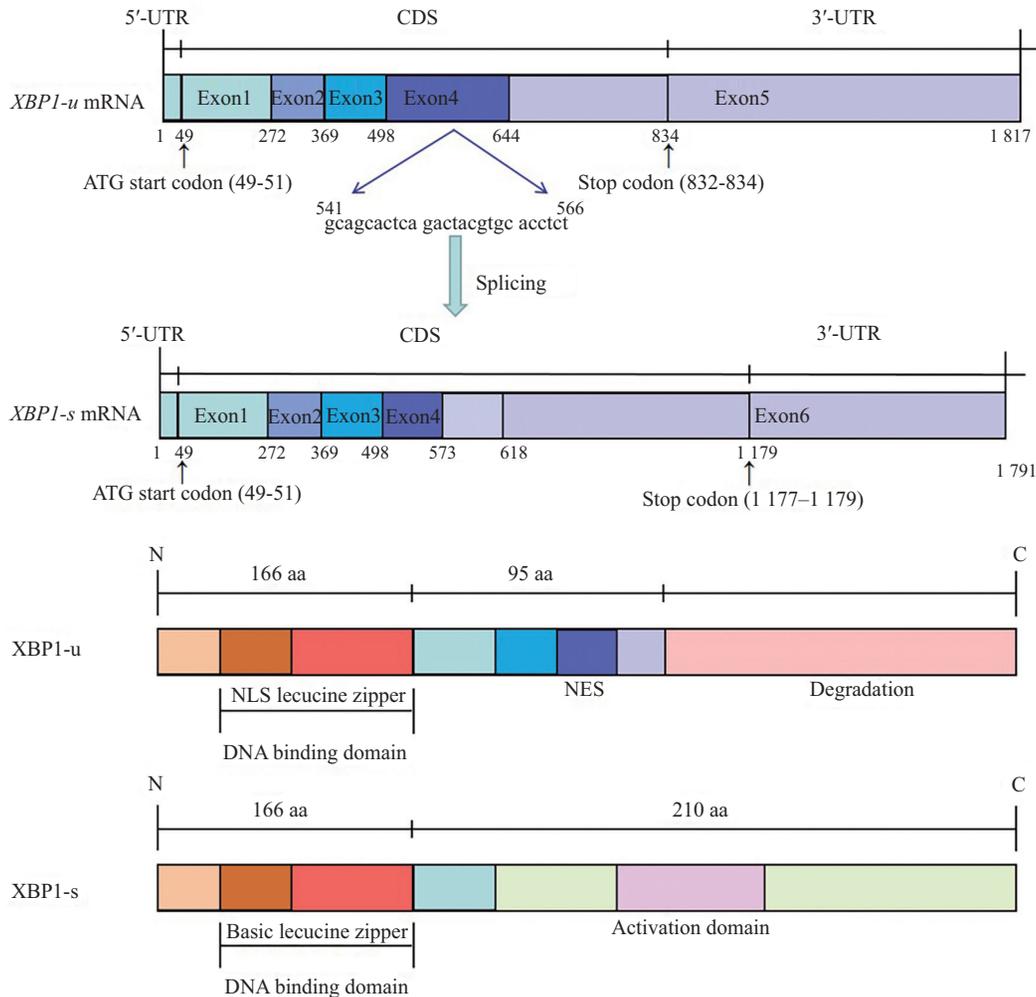


图1 XBPI-u和XBPI-s的核酸序列和氨基酸序列之间的差异

Fig.1 The difference between the nucleic and amino acid sequences of XBPI-u and XBPI-s

正常机体稳态十分重要^[29]。当机体稳态发生改变时,例如脑血流中断,可引起缺血区域神经元去极化,激活ER上的电压门控钙通道,致使ER中钙离子流失,ER中分子伴侣、钙连蛋白等钙依赖蛋白的功能受损,引发未折叠或错误折叠的蛋白在ER腔中积聚,导致内质网应激。ERS主要包括3种类型的反应,但通常所指的ERS多为未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR)^[30]。该反应会减轻未折叠或错误折叠蛋白质的负荷并恢复内质网稳态^[31]。

未折叠蛋白反应涉及3种充当内质网应激传感器的内质网跨膜蛋白,即肌醇依赖酶1 α (inositol requiring enzyme 1 alpha, IRE1 α)、蛋白激酶R样ER激酶(PKR-like ER kinase, PERK)和激活转录因子6(activating transcription factor 6, ATF6)^[32]。在ER稳态条件下,葡萄糖调节蛋白-78(glucose-regulated protein 78, GRP78)与IRE1- α 这些传感器结合并使它们保持

在非活动状态,在ERS期间GRP78会与IRE1- α 这些传感器分离,使得传感器被激活进一步诱导未折叠蛋白反应。XBPI作为UPR相关信号通路的重要组件之一^[33],由于XBPI-s在C-端存在转录激活子结构域,因此XBPI-s本身是一种活性转录因子,可以进入到细胞核与IRE1 α 结合形成信号途径。该信号途径是未折叠蛋白质反应中的重要通路之一^[34]。后期研究发现该信号通路可以促进细胞分泌大量的蛋白质^[29,35],并在肝脏脂肪生成^[36]、缺氧反应^[37]、血管生成^[38]、动脉粥样硬化^[39]、抗肿瘤免疫^[40-41]、镇痛^[42]等方面起重要作用。

IRE1 α 是一种I型内质网跨膜蛋白激酶/核糖核酸内切酶,在未折叠蛋白反应中,通过自身寡聚化及磷酸化,激活其核糖核酸酶(RNase)活性^[31]。活化的IRE1 α 能够从XBPI-u mRNA上切除一个含有26个核苷酸的内含子(位于+541-+566),并导致剪接位点

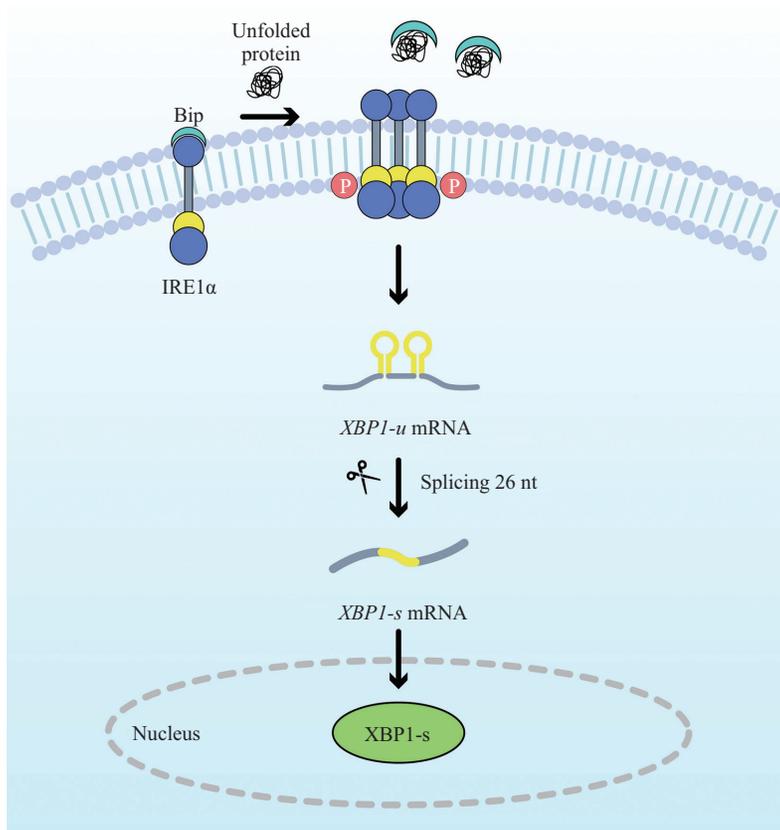


图2 XBP1与IRE1α之间的关系
Fig.2 The relationship between XBP1 and IRE1α

后的核苷酸移位, 使得其编码序列移码, 从而改变翻译开放阅读框产生新的 mRNA, 该新生成的 mRNA 虽然在剪接位点之前具有与 *XBP1-u* mRNA 完全相同的核苷酸序列, 但由于其剪接位点之后的编码序列移位还将终止密码子的位置由 +832-834 改变为 +1 177-+1 179, 因此该新产生的 mRNA 最终被翻译为比 XBP1-u 更大的 XBP1-s^[8]。该 mRNA 的剪接过程主要发生于细胞质中, 方式为非常规 mRNA 剪接, 与发生在细胞核内依赖于剪接体的传统剪接方式不同, 该方式主要是由 IRE1α 和特定的 RNA 连接酶催化, 由于不依赖剪接体的作用, 所以其剪接速率较高, 能够以省时节能的方式快速生产^[43], 基于此种高效生产方式, 在内质网应激时, 大量的 XBP1-s 可以进入细胞核从而促进 UPR 相关基因编码 ER 伴侣和折叠酶的转录, 以此增强 ER 的蛋白质折叠能力(图 2)。此外 XBP1-s 可以根据细胞类型调节特定的基因转录, 来控制多种细胞功能^[44]。

3 XBP1-s 在脑缺血后的变化

由于 ERS 后产生的 XBP1-s 在恢复内质网应激

的过程中起主要作用, 因此现有对脑缺血后 XBP1 的研究多针对 XBP1-s。大鼠原代海马神经元 OGD 处理后, XBP1-s 蛋白水平增加, 这表明 OGD 后 IRE1α-XBP1 信号通路被立刻激活, 但在复氧 3 h 后 XBP1-s 蛋白水平明显降低, 而在复氧 20 h 后, XBP1-s 蛋白的表达水平再次升高, 这可能是由于氧糖剥夺再复氧前期, 蛋白酶体失活, 导致 IRE1α 活性被抑制, *XBP1* mRNA 的剪接受到影响, 再复氧一段时间后蛋白酶体活性部分恢复, 因此 XBP1-s 表达水平会再次升高^[11,45]。在短暂性全脑缺血 30 min 再灌注 2~24 h 的大鼠模型中研究发现: 再灌注 2 h 左右, 大脑皮层、海马和纹状体中 *XBP1-s* mRNA 的水平明显升高; 再灌注 4 h 后, 大脑皮层中 *XBP1-s* mRNA 的表达仍保持较高水平, 而在海马和纹状体中已经明显降低; 但再灌注 24 h 后这三个脑区中 *XBP1-s* mRNA 的水平出现再次增多的趋势。另外, 在短暂性局灶性脑缺血模型中, 再灌注 1 h 后, *XBP1-s* mRNA 的水平增加约 35 倍, 且再灌注 6 h 后仍显著增加, 但是 XBP1-s 蛋白的水平在再灌注 6 h 后才会增加。这些研究表明, 脑缺血再灌注损伤早期 *XBP1* mRNA 的剪接被激活但其翻译受到严重阻滞,

因此XBP1-s蛋白的表达被抑制^[10]。然而,脑缺血后引起XBP1-s表达变化的具体机制仍有待研究。

4 XBP1-s在脑缺血中的作用

4.1 XBP1-s调节脑缺血后氧连-N-乙酰葡萄糖胺修饰

研究表明,脑缺血后IRE1 α -XBP1通路被激活,产生大量XBP1-s, XBP1-s可以激活编码己糖胺生物合成途径(hexosamine biosynthetic pathway, HBP)中一些酶的基因表达,进一步增加HBP的通量和促进氧连-N-乙酰葡萄糖胺(O-linked-N-acetyl-glucosamine, O-GlcNAc)修饰^[46]。O-GlcNAc修饰是蛋白质转录和翻译后产生的一种特殊蛋白质修饰方式,该修饰过程在缺血再灌注损伤的过程中具有重要作用^[47]。XBP1-s可以直接促进编码谷氨酰胺-6-磷酸果糖酰胺转移酶1(glutamine fructose amidotransferase 1, *GFAT1*)基因的转录,该酶为控制HBP通量的限速酶,可以增加HBP的活性,从而促进O-GlcNAc修饰^[48]。除此之外, XBP1-s还可以激活HBP内另外两个酶编码基因,即葡萄糖胺-磷酸-N-乙酰基转移酶1(glucosamine-phosphate N-acetyltransferase 1, *GPNAT1*)和磷酸葡萄糖酶(phosphoglucosyl-mutase 3, *PGM3*)的转录^[49]。在HBP中, *GFAT1*将氨基葡萄糖-6-磷酸(fructose-6-phosphate, Fru-6-P)转化为葡萄糖-6-磷酸(glucosamine-6-phosphate, GlcN-6P),随后GlcN-6P乙酰化和尿苷二磷酸-N-乙酰氨基葡萄糖(uridine 5'-diphosphate-N-acetylglucosamine, UDP-GlcNAc),该蛋白质为O-GlcNAc修饰的供体底物^[50],以上即为XBP1-s/HBP/O-GlcNAc轴的作用途径^[51]。JIANG等^[46]研究表明该轴在脑缺血后神经元中起保护作用,脑缺血后XBP1-s通过激活缺血半暗带区的O-GlcNAc修饰,降低氧化应激的损伤,减小梗死体积,且前脑神经元中XBP1的缺失会导致卒中的结局更差。此外,老年大鼠大脑中的UDP-GlcNAc水平较低,并且缺血后进一步下降。在短暂性和永久性缺血性卒中模型证实了维持或增加UDP-GlcNAc可以促进O-GlcNAc修饰,以恢复缺血性卒中导致神经功能缺损^[51],这进一步证实了IRE1 α /XBP1-s/HBP/O-GlcNAc轴可能是中风治疗中的潜在靶点。

4.2 XBP1-s调节脑缺血后葡萄糖调节蛋白-78的表达

GRP78可以作为内质网的分子伴侣,主要参

与蛋白质的折叠、组装、降解错误折叠的蛋白酶体以及激活跨膜ER压力传感器^[52],在生理状态下,GRP78通过其管腔结构域与内质网跨膜蛋白结合,从而抑制UPR信号转导^[53],UPR的主要目标就是通过诱导合成大量的GRP78以重新折叠错误折叠和未折叠的蛋白质恢复内质网功能^[54]。研究发现脑缺血时大量未折叠或错误折叠的蛋白质在内质网腔中积聚导致内质网功能障碍,为了重新折叠这些未折叠或错误折叠的蛋白质,GRP78与内质网跨膜蛋白分离,而与这些蛋白质结合来发挥其功能。GRP78与IRE1 α 的解离会触发IRE1 α 的激活,将*XBP1-u* mRNA剪接形成*XBP1-s* mRNA,产生的XBP1-s易位进入细胞核作为活性转录因子发挥作用,诱导GRP78的表达恢复内质网功能^[55]。在短暂性脑缺血中,*XBP1-s* mRNA水平的升高而*GRP78* mRNA水平没有显著增加,这表明ER应激严重抑制了蛋白质的合成,从而限制了*XBP1-s* mRNA的翻译,导致无法产生足够的XBP1-s蛋白激活GRP78的表达^[10],在此基础上,研究表明在小鼠大脑中动脉闭塞后GRP78的增多,可避免ER应激引起的神经元损伤^[56]。此外,GRP78的表达能降低海马神经元的兴奋性毒性和氧化损伤的程度,并且会抑制氧自由基的积累,减少氧化应激给细胞带来的损伤,同时稳定线粒体的功能,从而抑制内质网应激后海马神经元的细胞凋亡^[57-58]。

4.3 XBP1-s调节脑缺血后血管内皮细胞的损伤

血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial cell growth factor, VEGF)是介导内皮细胞(endothelial cell, ECs)增殖的主要因子之一, XBP1-s可以调节其信号转导从而有助于缺血组织中的ECs增殖、迁移和血管生成^[38,59-60],且XBP1缺乏可能通过抑制ECs增殖来影响血管生成过程^[38]。研究表明,VEGF同时也可以与IRE1 α -XBP1信号通路相互作用,促进XBP1-s的产生^[61]。XBP1-s与磷脂酰肌醇-3激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)和丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶(serine/threonine kinase, AKT)形成复合物,活化的AKT导致糖原合成酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β)的磷酸化,并促使 β -连环蛋白的核转位以及核转录因子E2F2(一种常见的促血管生长因子)的表达水平增多,从而促进血管内皮细胞的增殖和迁移^[38,62]。脑微血管内皮细胞(brain microvascular endothelial cells, BMECs)是血脑屏障的细胞成分之一,可以充当物理和代谢屏障,在脑缺

血后保护大脑免受血液中有毒物质的侵害^[63], SHI等^[64]进一步证明, XBP1-s通过激活PI3K/AKT和ERK信号通路, 诱导缺氧诱导因子-1 α /VEGF信号通路活化, 从而维持脑缺血后BMECs的存活并促进脑缺血后血管生成。这些研究表明, 脑缺血后XBP1-s的表达可以通过促进血管生成来改善脑缺血的预后。

4.4 XBP1-s调节脑缺血后细胞焦亡

细胞焦亡是新发现的一种程序性死亡形式, 主要由炎症半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶caspase-1介导GSDMD(Gasdermin-D)参与脑缺血再灌注的损伤过程。研究证明, NLRP3炎症小体在诱导细胞焦亡并促进炎症反应的过程中扮演重要角色^[65]。脑缺血后细胞内Ca²⁺浓度变化、线粒体功能障碍和跨膜孔形成等导致NLRP3炎症小体激活。激活的NLRP3炎症小体, 产生自体水解化反应形成活化的caspase-1^[66], 活化的caspase-1可以导致GSDMD蛋白裂解, 进而形成膜孔并介导细胞因子的释放, 导致细胞肿胀、膜破裂最后裂解细胞^[67]。ZHANG等^[1]发现使用siRNA抑制XBP1-s的表达能够抑制OGD/R诱导的NLRP3炎症小体活化和细胞死亡, 并进一步证明下调XBP1-s可以通过NLRP3/caspase-1/GSDMD途径挽救脑缺血再灌注诱导的神经元损伤。该研究第一次证明了XBP1与细胞焦亡之间的关系, 但对于XBP1-s在脑缺血中的作用还有待进一步考量。

5 结语与展望

随着社会的发展, 尽管医疗水平在逐渐提高, 但是世界范围内脑缺血的发病率和致死率仍逐年上升, 这意味着迫切需要新的治疗策略来遏制脑缺血的发生, 以及最大限度减少中风后脑损伤。脑缺血可引起内质网应激导致XBP1-u剪接成XBP1-s发挥其转录因子的作用, 并且已经确定神经元中XBP1-s水平的升高可以保护神经元免受内质网应激的损伤, 但也有研究表明, 敲除XBP1基因却不足以保护少突胶质前体细胞免受缺血性损伤^[68]。目前针对XBP1的研究大多限于其在内质网应激中发挥作用, 且在脑缺血方面的研究仍有待补充。作为一个新的潜在的重要靶点, XBP1蛋白能够为缺血性中风的诊断和治疗提供更多的可能性。目前针对XBP1的探索可以有以下几点。(1) 进一步研究XBP1的两种异构体在脑缺血中的作用。(2) 探究XBP1的两种异构体在脑缺血调节过程中触发内质网应激反应的具体机

制, 以及其独立于内质网应激外是否还会对脑缺血后神经元有一定的保护作用。(3) 进一步探寻XBP1的激动剂和抑制剂。(4) 利用临床前证据进一步探究XBP1更深入的作用机制, 从而提供更可靠的临床证据。

参考文献 (References)

- [1] ZHANG Y, YAO Z, XIAO Y, et al. Downregulated XBP-1 rescues cerebral ischemia/reperfusion injury-induced pyroptosis via the NLRP3/Caspase-1/GSDMD axis [J]. *Mediators Inflamm*, 2022, 2022: 8007078.
- [2] 童英, 段小花, 杨丽萍, 等. 脑缺血再灌注损伤与线粒体凋亡的研究进展[J]. *医学综述*(TONG Y, DUAN X H, YANG L P, et al. Research progress of cerebral ischemia-reperfusion injury and mitochondrial apoptosis [J]. *Medical Recapitulate*), 2022, 28(14): 2705-10.
- [3] VASUDEVA K, DUTTA A, MUNSHI A. Role of lncRNAs in the development of ischemic stroke and their therapeutic potential [J]. *Mol Neurobiol*, 2021, 58(8): 3712-28.
- [4] 章霞, 陈冰, 李敏, 等. 脑缺血再灌注损伤涉及的信号通路研究进展[J]. *浙江医学*(ZHANG X, CHEN B, LI M. et al. Research progress of signal pathways involved in cerebral ischemia/reperfusion injury [J]. *Zhejiang Medical Journal*), 2022, 44(5): 557-62.
- [5] VIRANI S S, ALONSO A, BENJAMIN E J, et al. Heart disease and stroke statistics-2020 update: a report from the american heart association [J]. *Circulation*, 2020, 141(9): e139-596.
- [6] TUO Q Z, ZHANG S T, LEI P. Mechanisms of neuronal cell death in ischemic stroke and their therapeutic implications [J]. *Med Res Rev*, 2022, 42(1): 259-305.
- [7] ZHONG Y, YAN W, RUAN J, et al. A novel XBP1 variant is highly enriched in cancer tissues and is specifically required for cancer cell survival [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021, 562: 69-75.
- [8] LUO X, ALFASON L, WEI M, et al. Spliced or unspliced, that is the question: the biological roles of XBP1 isoforms in pathophysiology [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(5): 2746.
- [9] LIOU H C, BOOTHBY M R, FINN P W, et al. A new member of the leucine zipper class of proteins that binds to the HLA DR alpha promoter [J]. *Science*, 1990, 247(4950): 1581-4.
- [10] PASCHEN W, AUFENBERG C, HOTOP S, et al. Transient cerebral ischemia activates processing of xbp1 messenger RNA indicative of endoplasmic reticulum stress [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2003, 23(4): 449-61.
- [11] IBUKI T, YAMASAKI Y, MIZUGUCHI H, et al. Protective effects of XBP1 against oxygen and glucose deprivation/reoxygenation injury in rat primary hippocampal neurons [J]. *Neurosci Lett*, 2012, 518(1): 45-8.
- [12] ALSHEIKH HUSSEIN L H, KHALIL A M, ALGHADI A Y, et al. Exon1 and 116 C/G promoter polymorphism on the X-box dna binding protein-1 gene is not associated with breast cancer among Jordanian women [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2019, 20(9): 2739-43.
- [13] YOSHIDA H, OKU M, SUZUKI M, et al. pXBP1(U) encoded in XBP1 pre-mRNA negatively regulates unfolded protein response

- activator pXBP1(S) in mammalian ER stress response [J]. *J Cell Biol*, 2006, 172(4): 565-75.
- [14] CHEN S, CHEN J, HUA X, et al. The emerging role of XBP1 in cancer [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 127: 110069.
- [15] HOSOI T, KIMURA H, YAMAWAKI Y, et al. Immobilization stress induces XBP1 splicing in the mouse brain [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 508(2): 516-20.
- [16] MARTIN D, LI Y, YANG J, et al. Unspliced X-box-binding protein 1 (XBP1) protects endothelial cells from oxidative stress through interaction with histone deacetylase 3 [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(44): 30625-34.
- [17] PUIGSERVER P, RHEE J, DONOVAN J, et al. Insulin-regulated hepatic gluconeogenesis through FOXO1-PGC-1 α interaction [J]. *Nature*, 2003, 423(6939): 550-5.
- [18] MATSUMOTO M, ACCILI D. The tangled path to glucose production [J]. *Nat Med*, 2006, 12(1): 33-4.
- [19] LEE K, CHAN J Y, LIANG C, et al. XBP1 maintains beta cell identity, represses beta-to-alpha cell transdifferentiation and protects against diabetic beta cell failure during metabolic stress in mice [J]. *Diabetologia*, 2022, 65(6): 984-96.
- [20] PENG J, QIN C, RAMATCHANDIRIN B, et al. Activation of the canonical ER stress IRE1-XBP1 pathway by insulin regulates glucose and lipid metabolism [J]. *J Biol Chem*, 2022, 298(9): 102283.
- [21] MA X, BI E, LU Y, et al. Cholesterol induces CD8⁺ T cell exhaustion in the tumor microenvironment [J]. *Cell Metab*, 2019, 30(1): 143-56.e5.
- [22] SO J S. Roles of endoplasmic reticulum stress in immune responses [J]. *Mol Cells*, 2018, 41(8): 705-16.
- [23] LIU Z, WANG M, WANG X, et al. XBP1 deficiency promotes hepatocyte pyroptosis by impairing mitophagy to activate mtDNA-cGAS-STING signaling in macrophages during acute liver injury [J]. *Redox Biol*, 2022, 52: 102305.
- [24] GROOTJANS J, KASER A, KAUFMAN R J, et al. The unfolded protein response in immunity and inflammation [J]. *Nat Rev Immunol*, 2016, 16(8): 469-84.
- [25] KAMIMURA D, BEVAN M J. Endoplasmic reticulum stress regulator XBP-1 contributes to effector CD8⁺ T cell differentiation during acute infection [J]. *J Immunol*, 2008, 181(8): 5433-41.
- [26] ZHAO Y, LI X, CAI M Y, et al. XBP-1 α suppresses autophagy by promoting the degradation of FoxO1 in cancer cells [J]. *Cell Res*, 2013, 23(4): 491-507.
- [27] AILAWADI G, MOEHLE C W, PEI H, et al. Smooth muscle phenotypic modulation is an early event in aortic aneurysms [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2009, 138(6): 1392-9.
- [28] ZHAO G, FU Y, CAI Z, et al. Unspliced XBP1 confers VSMC homeostasis and prevents aortic aneurysm formation via FoxO4 interaction [J]. *Circ Res*, 2017, 121(12): 1331-45.
- [29] WANG M, KAUFMAN R J. Protein misfolding in the endoplasmic reticulum as a conduit to human disease [J]. *Nature*, 2016, 529(7586): 326-35.
- [30] 屈生彪, 王勇. 内质网应激在脑缺血再灌注损伤中作用[J]. 华夏医学(QU S B, WANG Y. Role of endoplasmic reticulum stress in cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. *Acta Medicinæ Sinica*), 2018, 31(1): 170-4.
- [31] HETZ C, ZHANG K, KAUFMAN R J. Mechanisms, regulation and functions of the unfolded protein response [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21(8): 421-38.
- [32] KIM P, SCOTT M R, MEADOR-WOODRUFF J H. Dysregulation of the unfolded protein response (UPR) in the dorsolateral prefrontal cortex in elderly patients with schizophrenia [J]. *Mol Psychiatry*, 2021, 26(4): 1321-31.
- [33] JAIN K, TYAGI T, DU J, et al. Unfolded protein response differentially modulates the platelet phenotype [J]. *Circ Res*, 2022, 131(4): 290-307.
- [34] CHEN X, CUBILLOS-RUIZ J R. Endoplasmic reticulum stress signals in the tumour and its microenvironment [J]. *Nat Rev Cancer*, 2021, 21(2): 71-88.
- [35] HETZ C, SAXENA S. ER stress and the unfolded protein response in neurodegeneration [J]. *Nat Rev Neurol*, 2017, 13(8): 477-91.
- [36] YU X, REN L P, WANG C, et al. Role of X-Box binding protein-1 in fructose-induced *de novo* lipogenesis in HepG2 cells [J]. *Chin Med J*, 2018, 131(19): 2310-9.
- [37] CHEN X, ILIOPOULOS D, ZHANG Q, et al. XBP1 promotes triple-negative breast cancer by controlling the HIF1 α pathway [J]. *Nature*, 2014, 508(7494): 103-7.
- [38] ZENG L, XIAO Q, CHEN M, et al. Vascular endothelial cell growth-activated XBP1 splicing in endothelial cells is crucial for angiogenesis [J]. *Circulation*, 2013, 127(16): 1712-22.
- [39] TUFANLI O, TELKOPARAN AKILLILAR P, ACOSTA-ALVEAR D, et al. Targeting IRE1 with small molecules counteracts progression of atherosclerosis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(8): E1395-404.
- [40] YANG W, XU X, XU M, et al. XBP1s Acts as a tumor suppressor to inhibit the EMT process and metastasis of papillary thyroid cancer [J]. *Onco Targets Ther*, 2021, 14: 2339-48.
- [41] 杜磊. X盒结合蛋白1在胃癌中的表达及其对胃癌生物学行为的调控机制[D]. 上海: 第二军医大学, 2020.
- [42] CHOPRA S, GIOVANELLI P, ALVARADO-VAZQUEZ P A, et al. IRE1 α -XBP1 signaling in leukocytes controls prostaglandin biosynthesis and pain [J]. *Science*, 2019, 365(6450): eaau6499.
- [43] UEMURA A, OKU M, MORI K, et al. Unconventional splicing of XBP1 mRNA occurs in the cytoplasm during the mammalian unfolded protein response [J]. *J Cell Sci*, 2009, 122(Pt 16): 2877-86.
- [44] PARK S M, KANG T I, SO J S. Roles of XBP1s in transcriptional regulation of target genes [J]. *Biomedicines*, 2021, 9(7): 791.
- [45] QU J, ZOU T, LIN Z. The roles of the ubiquitin-proteasome system in the endoplasmic reticulum stress pathway [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(4): 1562.
- [46] JIANG M, YU S, YU Z, et al. XBP1 (X-box-binding protein-1)-dependent O-GlcNAcylation is neuroprotective in ischemic stroke in young mice and its impairment in aged mice is rescued by thiamet-G [J]. *Stroke*, 2017, 48(6): 1646-54.
- [47] 吴科帆, 江梦, 夏中元. 蛋白质O-GlcNAc修饰对缺血再灌注损伤保护机制的研究进展[J]. 医学综述(WU K F, JIANG M, XIA Z Y. Research progress of protective mechanism of protein's O-GlcNAcylation on ischemia-reperfusion injury [J]. *Medical Recapitulate*), 2021, 27(8): 1464-8,74.
- [48] NABEEBACCUS A A, VERMA S, ZOCCARATO A, et al. Cardiomyocyte protein O-GlcNAcylation is regulated by GFAT1 not GFAT2 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021, 583: 121-17.

- [49] WANG Z V, DENG Y, GAO N, et al. Spliced X-box binding protein 1 couples the unfolded protein response to hexosamine biosynthetic pathway [J]. *Cell*, 2014, 156(6): 1179-92.
- [50] YANG X, QIAN K. Protein O-GlcNAcylation: emerging mechanisms and functions [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2017, 18(7): 452-65.
- [51] WANG Z, LI X, SPASOJEVIC I, et al. Increasing O-GlcNAcylation is neuroprotective in young and aged brains after ischemic stroke [J]. *Exp Neurol*, 2021, 339: 113646.
- [52] XIA S, DUAN W, LIU W, et al. GRP78 in lung cancer [J]. *J Transl Med*, 2021, 19(1): 118.
- [53] EESMAA A, YU L Y, GÖÖS H, et al. The cytoprotective protein MANF promotes neuronal survival independently from its role as a GRP78 cofactor [J]. *J Biol Chem*, 2021, 296: 100295.
- [54] SCHNEELOCH E, WENKEL S, MIES G, et al. Spreading depression activates unfolded protein response [J]. *Neurosci Lett*, 2004, 368(1): 37-40.
- [55] URBAN P, PAVLÍKOVÁ M, SIVONOVÁ M, et al. Molecular analysis of endoplasmic reticulum stress response after global forebrain ischemia/reperfusion in rats: effect of neuroprotectant simvastatin [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2009, 29(2): 181-92.
- [56] MORIMOTO N, OIDA Y, SHIMAZAWA M, et al. Involvement of endoplasmic reticulum stress after middle cerebral artery occlusion in mice [J]. *Neuroscience*, 2007, 147(4): 957-67.
- [57] YU Z, LUO H, FU W, et al. The endoplasmic reticulum stress-responsive protein GRP78 protects neurons against excitotoxicity and apoptosis: suppression of oxidative stress and stabilization of calcium homeostasis [J]. *Exp Neurol*, 1999, 155(2): 302-14.
- [58] RAO R V, PEEL A, LOGVINOVA A, et al. Coupling endoplasmic reticulum stress to the cell death program: role of the ER chaperone GRP78 [J]. *FEBS Lett*, 2002, 514(2/3): 122-8.
- [59] SILVESTRE J S. Vascular endothelial growth factor and angiogenesis: the XBP1 games [J]. *Circulation*, 2013, 127(16): 1644-6.
- [60] JANANI R, ANITHA R E, PERUMAL M K, et al. Astaxanthin mediated regulation of VEGF through HIF1 α and XBP1 signaling pathway: an insight from ARPE-19 cell and streptozotocin mediated diabetic rat model [J]. *Exp Eye Res*, 2021, 206: 108555.
- [61] YANG D, WANG J, XIAO M, et al. Role of miR-155 in controlling HIF-1 α level and promoting endothelial cell maturation [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 35316.
- [62] ZHANG J, ZHANG J, QI C, et al. Activation of Wnt3 α / β -catenin signal pathway attenuates apoptosis of the cerebral microvascular endothelial cells induced by oxygen-glucose deprivation [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 490(2): 71-7.
- [63] XU X, WU Z, QIU H, et al. Circular RNA circPHC3 promotes cell death and apoptosis in human BMECs after oxygen glucose deprivation via miR-455-5p/TRAF3 axis *in vitro* [J]. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2021, 17: 147-56.
- [64] SHI S, TANG M, LI H, et al. X-box binding protein 1 splicing attenuates brain microvascular endothelial cell damage induced by oxygen-glucose deprivation through the activation of phosphoinositide 3-kinase/protein kinase B, extracellular signal-regulated kinases, and hypoxia-inducible factor-1 α /vascular endothelial growth factor signaling pathways [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(6): 9316-27.
- [65] 李敬敬, 王彤, 薛桥臻, 等. 细胞焦亡在脑缺血再灌注损伤中作用机制的研究进展[J]. 世界最新医学信息文摘(LI J J, WANG T, XUE Q Z, et al. Mechanism of cell pyroptosis in cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. *World Latest Medicine Information, Electronic Version*), 2018, 18(92): 77-9.
- [66] ROSSOL M, PIERER M, RAULIEN N, et al. Extracellular Ca²⁺ is a danger signal activating the NLRP3 inflammasome through G protein-coupled calcium sensing receptors [J]. *Nat Commun*, 2012, 3: 1329.
- [67] LI J, HAO J H, YAO D, et al. Caspase-1 inhibition prevents neuronal death by targeting the canonical inflammasome pathway of pyroptosis in a murine model of cerebral ischemia [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2020, 26(9): 925-39.
- [68] KRASKIEWICZ H, FITZGERALD U. Partial XBP1 knock-down does not affect viability of oligodendrocyte precursor cells exposed to new models of hypoxia and ischemia *in vitro* [J]. *J Neurosci Res*, 2011, 89(5): 661-73.