

GSK-3 β 对缺血性脑卒中病理过程 调控作用的研究进展

张永杰 吴致远 董玲玲 何红云* 邓仪昊*

(昆明理工大学医学院, 脑卒中病理研究实验室, 昆明 650500)

摘要 糖原合成酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β)作为机体最重要的激酶之一, 广泛地参与了缺血性脑卒中的病理过程。因此, 正确认识脑卒中后GSK-3 β 的功能并加以利用, 由此寻求减轻组织损伤和改善神经功能的方法是提高脑卒中治疗的重要途径。该文就GSK-3 β 对缺血性脑卒中后的氧化应激、炎症、自噬、凋亡等病理过程的调控机制进行综述, 为缺血性脑卒中提供新的研究方向和潜在的临床治疗靶点。

关键词 缺血性脑卒中; GSK-3 β ; 氧化应激; 神经炎症; 自噬; 凋亡

Research Progress of GSK-3 β in the Regulation of the Pathological Process of Ischemic Stroke

ZHANG Yongjie, WU Zhiyuan, DONG Lingling, HE Hongyun*, DENG Yihao*

(Faculty of Medicine, Kunming University of Science and Technology, Stroke Pathology Research Laboratory, Kunming 650500, China)

Abstract As one of the most important kinases in the body, GSK-3 β (glycogen synthase kinase-3 β) is widely involved in the pathological processes of ischemic stroke. Therefore, correctly understanding the function of GSK-3 β after stroke and making use of it are important for seeking ways to reduce tissue damage and improve nerve function to improve the treatment of stroke. In this paper, the mechanisms of GSK-3 β in regulating oxidative stress, inflammation, autophagy and apoptosis in ischemic stroke are reviewed, which provides research directions and potential treatment targets for ischemic stroke.

Keywords ischemic stroke; GSK-3 β ; oxidative stress; neuroinflammation; autophagy; apoptosis

脑卒中是一种常见的急性脑血管疾病, 包括出血性和缺血性脑卒中。2019年初发布的《中国脑卒中防治报告2018》中指出, 脑卒中是我国成年人致死和致残的首位原因, 40岁以上的脑卒中患者人数约为1 242万, 并呈现出发病人群年轻化和发病率持续增长的趋势, 且其中大部分为缺血性脑卒中^[1]。目

前, 在我国临床上最常使用的治疗方法是静脉注射溶栓药物重组组织型纤溶酶原激活剂(recombinant tissue plasminogen activator, rt-PA)和尿激酶, 对血栓进行溶解, 从而达到大脑血液再灌注的目的, 但静脉溶栓治疗可能导致脑出血、血管性水肿等副作用, 且最长只有6 h的再灌注时间窗使得脑缺血的临床

收稿日期: 2020-01-07 接受日期: 2020-03-16

国家自然科学基金(批准号: 81660383、81960418、81860411)、云南省万人计划青年拔尖人才专项(批准号: YNWR-QNBJ-2018-034)、云南省应用基础研究计划项目(批准号: 2017FB113、2019FB098)、云南省教育厅科研基金项目(批准号: 2018JS016)和省级人培项目(批准号: KKS201760028)资助的课题

*通讯作者。Tel: 18487158200, E-mail: 511869324@qq.com; Tel: 18487174860, E-mail: deng13032871868@163.com

Received: January 7, 2020 Accepted: March 16, 2020

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81660383, 81960418, 81860411), Yunnan Province Ten Thousand Talents Plan Young Talents Project (Grant No.YNWR-QNBJ-2018-034), Applied Basic Research Planned Projects of Yunnan Province (Grant No.2017FB113, 2019FB098), Science Research Fund Project of Yunnan Provincial Department of Education (Grant No.2018JS016) and Yunnan Provincial Talent Training Project (Grant No.KKS201760028)

*Corresponding authors. Tel: +86-18487158200, E-mail: 511869324@qq.com; Tel: +86-18487174860, E-mail: deng13032871868@163.com

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5297>

治疗仍有很多局限性^[2]。这迫切需要我们z对脑缺血的机制进行深入的研究,挖掘治疗的新靶点,以促进患者的神经功能恢复。

GSK-3 β 作为细胞中作用最广泛的激酶之一,在脑缺血后神经细胞的病理过程中发挥着重要的作用^[3]。因此,深入探讨GSK-3 β 的生物学功能及其对缺血性脑卒中病理过程的调控将为基础研究和临床治疗提供新靶点。

1 GSK-3 β 的生物学功能及其调控

糖原合成酶激酶-3(glycogen synthase kinase 3, GSK-3)是细胞内广泛存在的一种丝氨酸/苏氨酸激酶,由2个结构域组成,N-端结构域负责ATP结合,而C-端球状催化结构域使其具有激酶活性。哺乳动物表达两种GSK-3亚型, α (51 kDa)和 β (47 kDa),它们分别由不同的基因编码,但具有结构和功能的相似性^[4]。在神经系统疾病中,GSK-3 β 发挥主要作用^[5],故本篇综述以GSK-3 β 为讲述重点。

与大多数激酶所不同的是,GSK-3 β 在基础状态下是有活性的,需要通过磷酸化调节使其失活^[6]。细胞内的一些丝氨酸激酶如腺苷酸活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)、蛋白激酶B(protein kinase B, PKB/AKT)等能够通过使GSK-3 β 的9位丝氨酸残基(Ser9)磷酸化进而导致GSK-3 β 失活;而酪氨酸激酶通过使GSK-3 β 的216位酪氨酸残基(Tyr216)磷酸化从而使其活性增强5倍^[7]。另外,在哺乳动物系统中,GSK-3 β 本身能够通过分子伴侣依赖的方式使得Tyr216自磷酸化并实现激活^[8]。

GSK-3 β 参与了大量分子和细胞功能的调节,除了下文中将要叙述的氧化应激、炎症反应、细胞自噬和凋亡外,GSK-3 β 还影响着糖原合成,并在细胞水平上参与调节细胞骨架、物质运输、细胞周期等。GSK-3 β 最初被发现是作为糖原合成酶的调节因子,在胰岛素的作用下激活糖原合成酶,调节糖原合成和血糖稳定^[9];GSK-3 β 还可以通过调节细胞骨架,影响细胞极性和细胞迁移^[10],而在受损神经元中抑制GSK-3 β 的活性,表现为受损后神经元的再生和轴突的延长^[11];另外,GSK-3 β 与驱动蛋白结合,能够抑制细胞内的膜泡转运和物质运输^[12];在细胞周期的过程中,GSK-3 β 通过调节细胞周期蛋白的活性,参与细胞的生命进程^[13]。

2 缺血性脑卒中可激活众多病理过程

缺血性脑卒中导致的大脑循环停止将会z在15~20 s内耗尽神经元内存储的氧气,并导致个体意识的丧失。随后,氧气的缺乏将引发4~5 min的无氧呼吸,最终导致脑内葡萄糖和腺嘌呤核苷三磷酸(adenosine triphosphate, ATP)的耗尽。

脑缺血后导致脑损伤的原因包括兴奋性神经递质谷氨酸的释放、Ca²⁺浓度的改变、活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生、炎性细胞的激活等^[14]。脑缺血后ATP的迅速耗尽引起神经元细胞膜上Na⁺/K⁺泵的功能障碍,导致大量K⁺外流和膜电位的去极化,引起电压敏感的Ca²⁺通道开放,触发兴奋性神经递质谷氨酸释放到突触间隙,激活下游神经元突触后膜上的N-甲基-D-天冬氨酸(N-Methyl-D-aspartic acid, NMDA)受体和代谢型谷氨酸受体(metabotropic glutamate receptors, mGluR),导致细胞外大量Ca²⁺流入胞内空间。过高的胞质内Ca²⁺浓度导致一系列Ca²⁺依赖性酶(如磷脂酶、蛋白酶和内切核酸内切酶)的过度激活,进而过分水解细胞内的DNA和蛋白质,引起细胞内氧化应激、炎症、自噬等反应,诱导细胞凋亡^[15],具体过程将在下文进行详细叙述。

脑缺血发生后,AKT、p-GSK-3 β Ser9的表达下降,而p-GSK-3 β Tyr216的水平增加,激活的GSK-3 β 将从各个方面加重缺血后的神经损伤^[16]。

3 GSK-3 β 参与缺血性脑卒中后的氧化应激反应

脑缺血发生后最有效的治疗方法就是恢复脑血流的再灌注,但再灌注可能增加大脑中ROS的水平,导致氧化应激,产生继发性的脑损伤。在这个过程中,线粒体途径是重要的ROS产生途径。当脑缺血发生时,过量的Ca²⁺从胞质进入线粒体内,线粒体膜电位发生改变,电子传递链被中断,激活线粒体膜通透性转换孔(mitochondrial permeability transition pore, mPTP),使得线粒体去极化,氧化磷酸化解偶联,黄嘌呤氧化酶(xanthine oxidase, XO)和还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶(NADPH oxidase, NOX)激活,并使超氧阴离子(O^{•2-})的产生增加,释放细胞色素c(cytochrome c, Cyt c)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白水解酶(cysteinyI aspartate specific proteinase, caspases)等促凋亡因子,诱导细胞凋亡^[17]。

因此,损伤线粒体的产生和去极化是脑缺血后氧化应激的重要过程,而这其中就有GSK-3 β 的参与。GSK-3 β 被脑缺血后的氧化应激反应诱导激活,与电压依赖性阴离子通道2(voltage dependent anion channel, VDAC2)相互作用使得GSK-3 β 由胞质移位至线粒体^[18]。GSK-3 β 与mPTP的关键结构成分亲环蛋白(cyclophilin, Cyp)相互作用并将其磷酸化,从而增加线粒体的通透性^[19]。研究发现,花生四烯酸-2-氯乙酰胺(arachidonyl-2-chloroethylamide, ACEA)^[20]、银杏内酯K^[19]等药物可以抑制GSK-3 β 的活性,从而减少mPTP开放和线粒体损伤,在脑缺血后发挥神经保护作用。

为了保持人体内环境的相对稳定,机体和细胞内同样存在一系列抗氧化相关的因子,而其中核转录因子E2相关因子2[nuclear factor(erythroid-derived 2)-like 2, Nrf2]是机体和细胞抵抗氧化应激的重要调节因子之一。Nrf2通过易位至细胞核,与靶基因启动子序列中的抗氧化反应元件(antioxidant response element, ARE)结合并诱导其表达,从而发挥抗氧化、抗炎等一系列细胞保护的作用^[21]。

同时,缺血性脑卒中后被激活的GSK-3 β 还可以通过介导Nrf2的降解,抑制其生物学功能,导致缺血大脑中氧化应激加重。一方面,GSK-3 β 在Tyr213处使酪氨酸激酶家族的Fyn磷酸化,激活的Fyn激酶发生核易位,磷酸化Nrf2,从而导致Nrf2的核输出和降解^[22]。另一方面,GSK-3 β 磷酸化Nrf2的DSGIS基序中至少一个Ser残基,使其与泛素连接酶 β -转导重复相容蛋白(β -transducin repeat containing protein, β -TrCP)结合,发生泛素化降解^[23]。

因此,GSK-3 β 通过介导线粒体的损伤和抗氧化元件Nrf2的降解参与缺血性脑卒中发生后的氧化应激过程,而氧化应激的出现将引起神经细胞的炎症反应和凋亡。脑缺血预处理(brain ischemic preconditioning, IPC)是保护缺血大脑的有效手段,YANG^[24]的研究发现了Nrf2在IPC介导保护缺血大脑,维持血脑屏障完整性过程中的重要地位,并且证明了IPC引起的GSK-3 β 抑制是激活Nrf2神经保护功能的关键。

4 GSK-3 β 参与缺血性脑卒中后的神经炎症反应

神经炎症在脑缺血发生后的病理变化过程中发挥着重要的作用,可以由氧化应激产生的ROS所

介导。小胶质细胞是大脑中存在的固有免疫细胞,是分泌炎症因子,产生炎症反应的重要部位。在正常状态下,小胶质细胞参与大脑中的感染,在脑损伤、脑缺血等条件下,发生从静止期的分枝状到激活期的“阿米巴”状巨噬细胞的改变^[25]。激活的小胶质细胞可以分泌白细胞介素-1(interleukin-1, IL-1)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)等炎症细胞因子以及ROS、NO等细胞毒性分子,引起细胞的凋亡。因此,抑制小胶质细胞过度激活,减轻神经炎症,可以对缺血后的大脑起到神经保护作用^[26]。

核因子 κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)是细胞内调节炎症反应的重要因子,其本身也受炎症因子的激活。NF- κ B家族由5种蛋白组成,分别是RelA(p65)、RelB、c-Rel、NF- κ B1(p50)和NF- κ B2(p52)。这5种蛋白形成同源或异源二聚体,在静止期的细胞中,这些二聚体与NF- κ B抑制剂(inhibitor of NF- κ B, I κ B)蛋白家族(I κ B α 、I κ B β 、I κ B ϵ 、p100等)结合,抑制NF- κ B的活性^[27]。当IL-1、TNF- α 等炎症信号刺激细胞时,激活细胞膜表面的Toll样受体(Toll like receptors, TLR0)、白介素1受体(IL-1 receptors, IL-1R)和肿瘤坏死因子受体(tumor necrosis factor receptor, TNFR),激活I κ B激酶(inhibitor of NF- κ B kinase, IKK)复合物[IKK α 、IKK β 和NF- κ B必需调节蛋白(NF- κ B-essential modulator, NEMO)],IKK复合物磷酸化I κ B并导致其泛素化修饰和降解。随后,被释放的NF- κ B二聚体可易位至细胞核并激活靶基因转录,使细胞表达更多的炎症因子,导致炎症的连环放大^[28]。

GSK-3 β 可以从多个方面直接作用于NF- κ B信号通路激活其表达,从而发挥促炎作用。一方面,GSK-3 β 可以磷酸化p65 Ser-468,促进其转录活性^[27]。另一方面,p100在细胞核中与NF- κ B二聚体结合,抑制其活性;GSK-3 β 通过磷酸化核质中的p100 Ser707介导其泛素化降解,进而促进NF- κ B信号的激活^[29]。再者,GSK-3 β 还可以通过磷酸化IKK复合物NEMO亚基N-端的多个丝氨酸位点的磷酸化来激活IKK复合体^[30],或者介导NF- κ B与靶基因的结合^[31]。

GSK-3 β 参与了脑缺血后的氧化应激过程,引起了神经细胞的炎症反应,ROS及炎症因子诱导了神经细胞的凋亡,产生了缺血后的脑损伤^[3]。因此,可以通过降低缺血后大脑中GSK-3 β 的表达水平,来抑制氧化应激和神经炎症以产生神经保护作用。有许多实验研究证实了这一结论。血管活性多肽Apelin 13通

过抑制脑缺血再灌注大鼠脑中 GSK-3 β 的活性, 增强了 Nrf2 的表达, 降低了氧化应激产物和炎症因子的表达水平, 从而减轻了脑损伤^[32]。远端肢体缺血后处理 (remote limb ischemic post conditioning, RIPOC) 是在实验中被证明的能有效减少再灌注损伤的后处理方式, RIPOC 处理可抑制脑缺血大鼠中 GSK-3 β 水平的升高, 减轻氧化损伤、神经炎症, 在表现上减弱脑神经损伤大鼠的认知功能障碍^[33]。在新生小鼠缺氧缺血模型中, GSK-3 β 被显著激活, 其特异性抑制剂 SB216763 可以降低 GSK-3 β 的表达并提高神经细胞的抗氧化能力, 降低炎症反应和脑损伤^[34]。

5 GSK-3 β 对缺血性脑卒中后自噬流的调节

自噬是发生在真核细胞中的高度保守的细胞降解和回收再利用的过程, 利用溶酶体分解利用胞内的长寿蛋白、错误折叠蛋白以及受损细胞器等。在缺血性中风后的大脑的各种类型的细胞中, 自噬被显著激活, 并且发挥着和细胞凋亡、坏死所不同的作用。适当激活的自噬可以帮助脑缺血后的神经细胞清除受损线粒体, 抵抗氧化应激^[35], 还可以抑制炎症小体的产生, 减轻炎症反应^[36], 最终产生神经保护作用。但过度激活的自噬会扰乱细胞正常代谢, 诱导细胞自噬性死亡^[37]。所以, 正确认识自噬过程并对其进行合理调节是对缺血性脑卒中进行研究和治疗的潜在方向。

自噬过程由复杂的信号通路进行调节, 而其中的关键抑制因子哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 C1 (mammalian target of rapamycin complex 1, mTORC1) 可以从以下几个方面调节自噬过程。首先, mTORC1 通过磷酸化对自噬启动起关键作用的 UNC-51 样激酶 (UNC-51 like kinase, ULK) 复合物和 III 型磷脂酰肌醇-3 激酶 (class III phosphoinositide 3-kinase, PI3KC3) 复合物, 抑制自噬体的形成^[38]。其次, mTORC1 通过磷酸化调节转录因子 EB (transcription factor EB, TFEB) 的亚细胞定位, 来调节自噬过程。TFEB 的核转运能激活自噬和溶酶体发生, 而 mTORC1 将 TFEB 募集在溶酶体膜上, 抑制其核转运^[39]。mTORC1 还可以通过磷酸化核质中的 TFEB, 介导其核输出^[40], 从多方面抑制 TFEB 的表达, 在转录水平上调节自噬。

同时, GSK-3 β 作为细胞内信号调节的关键分子, 也参与了对自噬的调控。一方面, GSK-3 β 通过磷酸化 mTOR 调控相关蛋白 (regulatory-associated protein

of mammalian target of rapamycin, Raptor) Ser859, 增加 Raptor 与 mTORC1 的结合能力, 激活 mTORC1, 抑制自噬^[41]。另一方面, GSK-3 β 也可以磷酸化 TFEB Ser134 和 Ser138, 促进 TFEB 的溶酶体定位, 从而导致 TFEB 被 mTOR 磷酸化, 抑制自噬^[42]。

缺血性脑卒中后 GSK-3 β 从抑制自噬启动和自噬溶酶体发生这两个方面对自噬发挥抑制作用, 因此, 对 GSK-3 β 的抑制可以从自噬水平影响缺血后的大脑。WANG 等^[43] 抑制脑缺血再灌注大鼠中 GSK-3 β 的表达和活性, 发现了自噬水平的增强、NLRP3 炎症小体的抑制和脑梗死体积的减少, 而联合使用自噬抑制剂则抑制了上述现象, 说明了 GSK-3 β 抑制介导的自噬增强对脑缺血后神经保护的重要性。另外, QI 等^[44] 还发现, 大鼠脑缺血后的 RIPOC 处理可以诱导缺血半影区神经元自噬, 下调凋亡因子的水平, 产生神经保护作用, 而这是由 GSK-3 β 抑制所引起的。

6 GSK-3 β 诱导缺血性脑卒中后神经细胞的凋亡

研究发现, 脑缺血 3 天后会发生由线粒体外膜通透化 (mitochondrial outer membrane permeabilisation, MOMP) 引起的迟发性细胞凋亡^[45]。MOMP 是由 B 淋巴细胞瘤蛋白-2 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2) 家族所介导的, 会导致线粒体膜间隙蛋白的不可逆释放, 随后导致 caspase 活化和细胞凋亡。Bcl-2 蛋白家族都含有 BH3 结构域, 按其功能可分为 3 类, 一类具有凋亡抑制作用, 如 Bcl-2、髓细胞白血病蛋白-1 (myeloid cell leukemia-1, MCL-1); 一类是凋亡孔形成蛋白, 如 Bcl-2 关联蛋白 X (Bcl-2 associated X, BAX)、BCL-2 关联蛋白 K (Bcl-2 associated K, BAK); 还有一类是仅有 BH3 结构域的激活蛋白, 如 Bcl-2 基因相关启动子 (Bcl-2 associated death promoter, BAD)、细胞死亡调解子 (Bcl-2 interacting mediator of cell death, BIM)。在 MOMP 过程中, 成孔蛋白 BAX 等从与抑制蛋白形成的异二聚体中解离, 易位至线粒体外膜, 被激活蛋白激活, 插入到膜上, 形成同二聚体, 多组二聚体结合成环状, 在线粒体外膜上产生孔洞, 释放 Cyt c, 激活 caspase 介导的细胞凋亡途径^[46]。

GSK-3 β 不仅参与激活氧化应激、炎症反应, 抑制有利自噬, 诱导脑缺血后的神经细胞凋亡, 而且直接参与凋亡过程。GSK-3 β 是 Bcl-2 蛋白家族的重要调节因子, 促进 MOMP 的发生。比如, GSK-3 β

在 Ser163 上磷酸化 BAX, 促进其向线粒体的易位和凋亡孔的形成^[47]; GSK-3 β 与细胞癌基因 *jun*(cellular oncogene *jun*, c-Jun)蛋白联合激活 BIM 的表达, 增强 BAX 的活性^[48]; c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)和 GSK-3 β 对 MCL-1 的磷酸化将导致 MCL-1 的泛素化降解, 取消其凋亡孔形成蛋白的抑制作用等^[49]。

在大鼠脑缺血再灌注损伤模型中, 橄榄苦苷通过抑制 GSK-3 β 活性降低了 BAX/Bcl-2 的比值和 caspase-3 的活性, 减少了神经细胞的凋亡, 改善了再灌注大鼠的神经功能缺损和认知功能障碍^[50]。在胡萝卜苷处理的体外培养的缺糖缺氧和模拟再灌注神经元中, GSK-3 β 的活性降低, 从而减少了促凋亡蛋白 BAX、caspase 的表达, 增加了抗凋亡蛋白 MCL-1 等的表达, 产生了神经保护作用^[51]。

7 小结

综上, 缺血性脑卒中后激活的 GSK-3 β 从多个方面参与了神经细胞的氧化应激、炎症反应和自噬过程, 诱导了神经细胞的凋亡, 且直接参与了凋亡过程, 加重了脑损伤。但目前临床上尚无针对 GSK-3 β 的神经保护药物, 以 GSK-3 β 为靶点治疗缺血性脑卒中的方案尚属于实验阶段, 且对脑卒中患者用 GSK-3 β 抑制剂治疗可能带来潜在的副作用。因此, 进一步认识 GSK-3 β 在缺血性脑卒中中的生物学功能, 并对其进行合理适当的调控和运用, 将为提高脑卒中病人神经功能的恢复水平, 减轻脑缺血后遗症提供新的可能。

参考文献 (References)

- [1] 王陇德, 刘建民, 杨弋, 等. 我国脑卒中防治仍面临巨大挑战——《中国脑卒中防治报告 2018》概要[J]. 中国循环杂志(WANG L D, LIU J M, YANG G, et al. The prevention and treatment of stroke still face huge challenges——brief report on stroke prevention and treatment in China, 2018 [J]. Chin Circul J), 2019, 34(2): 105-19.
- [2] 中华医学会神经病学分会, 中华医学会神经病学分会脑血管病学组. 中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2018[J]. 中华神经科杂志(CHINESE SOCIETY OF NEUROLOGY, CHINESE STROKE SOCIETY. Chinese guidelines for diagnosis and treatment of acute ischemic stroke 2018 [J]. Chin J Neurol), 2018, 51(9): 666-82.
- [3] RANA A K, SINGH D. Targeting glycogen synthase kinase-3 for oxidative stress and neuroinflammation: opportunities, challenges and future directions for cerebral stroke management [J]. Neuropharmacology, 2018, 139: 124-36.
- [4] KIM W Y, SNIDER W D. Functions of GSK-3 signaling in development of the nervous system [J]. Front Mol Neurosci, 2011, 4: 44.
- [5] GOLPICH M, AMINI E, HEMMATI F, et al. Glycogen synthase kinase-3 beta (GSK-3 β) signaling: implications for Parkinson's disease [J]. Pharmacol Res, 2015, 97: 16-26.
- [6] GHADERI S, ALIDADIANI N, DILAVER N, et al. Role of glycogen synthase kinase following myocardial infarction and ischemia-reperfusion [J]. Apoptosis, 2017, 22(7): 887-97.
- [7] DAJANI R, FRASER E, ROE S M, et al. Structural basis for recruitment of glycogen synthase kinase 3beta to the axin-APC scaffold complex [J]. EMBO J, 2003, 22(3): 494-501.
- [8] LOCHHEAD P A, KINSTRIE R, SIBBET G, et al. A chaperone-dependent GSK3beta transitional intermediate mediates activation-loop autophosphorylation [J]. Mol Cell, 2006, 24(4): 627-33.
- [9] PATEL S, DOBLE B W, MACAULAY K, et al. Tissue-specific role of glycogen synthase kinase 3beta in glucose homeostasis and insulin action [J]. Mol Cell Biol, 2008, 28(20): 6314-28.
- [10] SUN T, RODRIGUEZ M, KIM L. Glycogen synthase kinase 3 in the world of cell migration [J]. Dev Growth Differ, 2009, 51(9): 735-42.
- [11] SEIRA O, DEL RÍO J A. Glycogen synthase kinase 3 beta (GSK3 β) at the tip of neuronal development and regeneration [J]. Mol Neurobiol, 2014, 49(2): 931-44.
- [12] BANERJEE R, RUDLOFF Z, NAYLOR C, et al. The presenilin loop region is essential for glycogen synthase kinase 3 β (GSK3 β) mediated functions on motor proteins during axonal transport [J]. Hum Mol Genet, 2018, 27(17): 2986-3001.
- [13] PANDEY S, TALUKDAR I, JAIN B P, et al. GSK3 beta and ERK regulate the expression of 78 kDa SG2NA and ectopic modulation of its level affects phases of cell cycle [J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 7555.
- [14] SANGANALMATH S K, GOPAL P, PARKER J R, et al. Global cerebral ischemia due to circulatory arrest: insights into cellular pathophysiology and diagnostic modalities [J]. Mol Cell Biochem, 2017, 426(1/2): 111-27.
- [15] KUMAR V S S, GOPALAKRISHNAN A, NAZIROĞLU M, et al. Calcium ion—the key player in cerebral ischemia [J]. Curr Med Chem, 2014, 21(18): 2065-75.
- [16] CHEN X, LIU Y, ZHU J, et al. GSK-3 β downregulates Nrf2 in cultured cortical neurons and in a rat model of cerebral ischemia-reperfusion [J]. Sci Rep, 2016, 6: 20196.
- [17] ANZELL A R, MAIZY R, PRZYKLENK K, et al. Mitochondrial quality control and disease: insights into ischemia-reperfusion injury [J]. Mol Neurobiol, 2018, 55(3): 2547-64.
- [18] TANNO M, KUNO A, ISHIKAWA S, et al. Translocation of glycogen synthase kinase-3beta (GSK-3beta), a trigger of permeability transition, is kinase activity-dependent and mediated by interaction with voltage-dependent anion channel 2 (VDAC2) [J]. J Biol Chem, 2014, 289(42): 29285-96.
- [19] ZHOU X, WANG H Y, WU B, et al. Ginkgolide K attenuates neuronal injury after ischemic stroke by inhibiting mitochondrial fission and GSK-3 β -dependent increases in mitochondrial membrane permeability [J]. Oncotarget, 2017, 8(27): 44682-93.
- [20] BAI F, GUO F, JIANG T, et al. Arachidonyl-2-chloroethylamide alleviates cerebral ischemia injury through glycogen synthase

- kinase-3 β -mediated mitochondrial biogenesis and functional improvement [J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54(2): 1240-53.
- [21] LIU L, LOCASCIO L M, DORÉ S. Critical role of Nrf2 in experimental ischemic stroke [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 153.
- [22] CULBRETH M, ZHANG Z, ASCHNER M. Methylmercury augments Nrf2 activity by downregulation of the Src family kinase Fyn [J]. *Neurotoxicology*, 2017, 62: 200-6.
- [23] TEBAY L E, ROBERTSON H, DURANT S T, et al. Mechanisms of activation of the transcription factor Nrf2 by redox stressors, nutrient cues, and energy status and the pathways through which it attenuates degenerative disease [J]. *Free Radic Biol Med*, 2015, 88(Pt B): 108-46.
- [24] YANG T, SUN Y, MAO L, et al. Brain ischemic preconditioning protects against ischemic injury and preserves the blood-brain barrier via oxidative signaling and Nrf2 activation [J]. *Redox Biol*, 2018, 17: 323-37.
- [25] CUI D, SUN D, WANG X, et al. Impaired autophagosome clearance contributes to neuronal death in a piglet model of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy [J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(7): e2919.
- [26] FERNANDES A, MILLER-FLEMING L, PAIS T F. Microglia and inflammation: conspiracy, controversy or control [J]? *Cell Mol Life Sci*, 2014, 71(20): 3969-85.
- [27] HOESEL B, SCHMID J A. The complexity of NF- κ B signaling in inflammation and cancer [J]. *Mol Cancer*, 2013, 12: 86.
- [28] SHI J H, SUN S C. Tumor necrosis factor receptor-associated factor regulation of nuclear factor κ B and mitogen-activated protein kinase pathways [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 1849.
- [29] BUSINO L, MILLMAN S E, PAGANO M. SCF-mediated degradation of p100 (NF- κ B2): mechanisms and relevance in multiple myeloma [J]. *Sci Signal*, 2012, 5(253): pt14.
- [30] MEDUNJANIN S, SCHLEITHOFF L, FIEGEHENN C, et al. GSK-3 β controls NF- κ B activity via IKK γ /NEMO [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 38553.
- [31] ZHANG J S, HERREROS-VILLANUEVA M, KOENIG A, et al. Differential activity of GSK-3 isoforms regulates NF- κ B and TRAIL- or TNF α induced apoptosis in pancreatic cancer cells [J]. *Cell Death Dis*, 2014, 5(3): e1142.
- [32] DUAN J, CUI J, YANG Z, et al. Neuroprotective effect of Apelin 13 on ischemic stroke by activating AMPK/GSK-3 β /Nrf2 signaling [J]. *J Neuroinflammation*, 2019, 16(1): 24.
- [33] RAMAGIRI S, TALIYAN R. Remote limb ischemic post conditioning during early reperfusion alleviates cerebral ischemic reperfusion injury via GSK-3 β /CREB/BDNF pathway [J]. *Eur J Pharmacol*, 2017, 803: 84-93.
- [34] D'ANGELO B, EK C J, SUN Y, et al. GSK3 β inhibition protects the immature brain from hypoxic-ischaemic insult via reduced STAT3 signalling [J]. *Neuropharmacology*, 2016, 101: 13-23.
- [35] SHEN Z, ZHENG Y, WU J, et al. PARK2-dependent mitophagy induced by acidic postconditioning protects against focal cerebral ischemia and extends the reperfusion window [J]. *Autophagy*, 2017, 13(3): 473-85.
- [36] MO Y, SUN Y Y, LIU K Y. Autophagy and inflammation in ischemic stroke [J]. *Neural Regen Res*, 2020, 15(8): 1388-96.
- [37] SUN D, WANG W, WANG X, et al. bFGF plays a neuroprotective role by suppressing excessive autophagy and apoptosis after transient global cerebral ischemia in rats [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(2): 172.
- [38] KIM Y C, GUAN K L. mTOR: a pharmacologic target for autophagy regulation [J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(1): 25-32.
- [39] ZHU Z, YANG C, IYASWAMY A, et al. Balancing mTOR signaling and autophagy in the treatment of parkinson's disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(3): 728.
- [40] NAPOLITANO G, ESPOSITO A, CHOI H, et al. mTOR-dependent phosphorylation controls TFEB nuclear export [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 3312.
- [41] STRETTON C, HOFFMANN T M, MUNSON M J, et al. GSK3-mediated raptor phosphorylation supports amino-acid-dependent mTORC1-directed signalling [J]. *Biochem J*, 2015, 470(2): 207-21.
- [42] LI Y, XU M, DING X, et al. Protein kinase C controls lysosome biogenesis independently of mTORC1 [J]. *Nat Cell Biol*, 2016, 18(10): 1065-77.
- [43] WANG Y, MENG C, ZHANG J, et al. Inhibition of GSK-3 β alleviates cerebral ischemia/reperfusion injury in rats by suppressing NLRP3 inflammasome activation through autophagy [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 68: 234-41.
- [44] QI Z F, LUO Y M, LIU X R, et al. AKT/GSK3 β -dependent autophagy contributes to the neuroprotection of limb remote ischemic postconditioning in the transient cerebral ischemic rat model [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2012, 18(12): 965-73.
- [45] YUAN D, LIU C, HU B. Dysfunction of membrane trafficking leads to ischemia-reperfusion injury after transient cerebral ischemia [J]. *Transl Stroke Res*, 2018, 9(3): 215-22.
- [46] KALKAVAN H, GREEN D R. MOMP, cell suicide as a BCL-2 family business [J]. *Cell Death Differ*, 2018, 25(1): 46-55.
- [47] SI H, ZHANG Y, SONG Y, et al. Overexpression of adrenomedullin protects mesenchymal stem cells against hypoxia and serum deprivation-induced apoptosis via the Akt/GSK3 β and Bcl-2 signaling pathways [J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41(6): 3342-52.
- [48] HONGISTO V, SMEDS N, BRECHT S, et al. Lithium blocks the c-Jun stress response and protects neurons via its action on glycogen synthase kinase 3 [J]. *Mol Cell Biol*, 2003, 23(17): 6027-36.
- [49] PAN R, RUVOLO V, MU H, et al. Synthetic lethality of combined Bcl-2 inhibition and p53 activation in AML: mechanisms and superior antileukemic efficacy [J]. *Cancer Cell*, 2017, 32(6): 748-60.e6.
- [50] ZHANG W, LIU X, LI Q. Protective effects of oleuropein against cerebral ischemia/reperfusion by inhibiting neuronal apoptosis [J]. *Med Sci Monit*, 2018, 24: 6587-98.
- [51] JIANG L H, YUAN X L, YANG N Y, et al. Daucosterol protects neurons against oxygen-glucose deprivation/reperfusion-mediated injury by activating IGF1 signaling pathway [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2015, 152: 45-52.