

## 基础研究

DOI:10.13406/j.cnki.cxyb.003465

# MK8719 激活 STAT6 并促进抗炎型小胶质细胞活化在缺血性脑损伤大鼠中发挥保护作用的研究

李怡心<sup>1</sup>,游 艳<sup>2</sup>,周 杨<sup>3</sup>,彭 莉<sup>3</sup>

(1.重庆医科大学附属第一医院临床分子医学检测中心,重庆 400016;2.重庆医科大学附属第二医院病理科,重庆 400000;

3.重庆医科大学基础医学院,重庆 400010)

**【摘要】目的:**观察氧连接 N-乙酰葡萄糖胺(O-linked N-acetylglucosamine, O-GlcNAc)水解酶抑制剂 MK8719 在脑缺血损伤大鼠中的作用。**方法:**建立大鼠大脑中动脉梗塞模型模拟脑缺血再灌注损伤,通过 2,3,5-三苯基氯化四氮唑(2,3,5-Triphenyltetrazolium chloride, TTC)染色评估脑梗死体积,并通过改良的神经损伤评分量表评估大鼠的神经运动障碍减轻,HE 和尼式染色用于评估脑损伤后组织改变,组织免疫荧光染色用于评估抗炎型小胶质细胞活化情况。体外培养 BV2 小胶质细胞并建立氧糖剥夺/复氧模型模拟缺血缺氧再灌注损伤,Western blotting 检测总蛋白及核蛋白中的信号转导及转录激活蛋白 6 (signal transducer and activator of transcription 6, STAT6)、磷酸化 STAT6 及 O-GlcNAc 糖基化 STAT6 表达。酶联免疫吸附检测(Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)评估小胶质细胞释放的炎性因子白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、白细胞介素-1β (interleukin-1β, IL-1β)、白细胞介素-10(interleukin-10, IL-10)和转化生长因子-β (transforming growth factor-β, TGF-β)量。**结果:**MK8719 给药组大鼠梗死灶体积减小,神经运动障碍,抗炎型小胶质细胞比例增加;在体外培养的小胶质细胞中,MK8719 组的 O-GlcNAc 糖基化 STAT6、磷酸化 STAT6 及核 STAT6 表达增加( $P<0.001$ ),促炎因子(IL-6 及 IL-1β)释放减少( $P<0.001$ ),抗炎因子(IL-10 及 TGF-β)释放增加( $P<0.001$ )。**结论:**MK8719 对脑缺血损伤大鼠有保护作用,其作用机制可能与 STAT6 激活诱导的抗炎型小胶质细胞活化有关。

【关键词】缺血性脑卒中;MK8719;信号转导及转录激活蛋白 6;小胶质细胞

【中图分类号】R3

【文献标志码】A

【收稿日期】2023-12-07

## MK8719 can alleviate cerebral ischemic injury in rats through STAT6 activating anti-inflammatory microglia

Li Yixin<sup>1</sup>, You Yan<sup>2</sup>, Zhou Yang<sup>3</sup>, Peng Li<sup>3</sup>

(1. The Center for Clinical Molecular Medical Detection, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University;

2. Department of Pathology, The Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University;

3. College of Basic Medicine, Chongqing Medical University)

**【Abstract】Objective:** To investigate the effects of MK8719 (an inhibitor of O-linked N-acetylglucosamine [O-GlcNAc] hydrolase) in a rat model of cerebral ischemic injury. **Methods:** A rat middle cerebral artery occlusion model was established to simulate cerebral ischemia/reperfusion injury. We assessed cerebral infarct volume with 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride staining; evaluated neuro-motor function using the modified Neurological Severity Score; observed cerebral tissue changes after injury with Nissl staining and HE staining; and assessed the activation of anti-inflammatory microglia by immunofluorescence assay. An *in-vitro* BV2 microglia-based oxygen and glucose deprivation/re-oxygenation model was established to simulate ischemia-hypoxia/reperfusion injury. We measured the levels of total signal transducer and activator of transcription 6 (STAT6), nuclear STAT6, phosphorylated STAT6, and O-GlcNAcylated STAT6 by Western blot; and measured the levels of pro-inflammatory interleukin (IL)-6 and IL-1β and anti-inflammatory IL-10 and transforming growth factor-β (TGF-β) released from microglia by enzyme-linked immunosorbent assay.

作者介绍:李怡心,Email:204655@hospital.cqmu.edu.cn,

研究方向:急性脑缺血损伤的病理机制及治疗靶点。

基金项目:重庆市科技局资助项目(编号:2022NSCQ-BHX1471)。

优先出版:https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20240418.1442.010

(2024-04-22)

**Results:** The model rats treated with MK8719 showed a significantly smaller cerebral infarct size, significantly alleviated neurological deficits, and a significantly higher proportion of anti-inflammatory microglia. BV2 cells treated with MK8719 showed significantly increased expression of O-GlcNAcylated STAT6, phosphorylated

STAT6( $P<0.001$ )，and nuclear STAT6，significantly reduced release of IL-6 and IL-1 $\beta$  ( $P<0.001$ )，and significantly increased release of IL-10 and TGF- $\beta$  ( $P<0.001$ )。Conclusion：MK8719 can produce neuroprotective effects in rats with cerebral ischemic injury，which may be mediated by STAT6 activating anti-inflammatory microglia。

**【Key words】**cerebral ischemic stroke；MK8719；signal transducer and activator of transcription 6；microglia

脑卒中是导致中老年人群死亡、残疾的主要疾病之一，缺血性脑卒中(cerebral ischemic stroke, CIS)是最常见的脑卒中类型。于CIS急性期(CIS后2周)干预脑缺血损伤能挽救缺血半暗带(梗死组织周围的低灌注区域)的进一步损伤，从而有助于降低疾病死亡率<sup>[1]</sup>。CIS急性期的重要损伤机制之一为过度的炎性反应与氧化应激、微循环障碍、线粒体功能障碍等损伤环节相互作用，形成炎性级联效应从而加重脑损伤<sup>[2]</sup>。因此，过度的炎性反应是加重脑缺血损伤的关键机制，而抗炎治疗被认为是急性期CIS的重要治疗手段。

小胶质细胞是中枢神经系统的固有免疫细胞，是CIS后响应缺血缺氧刺激，启动神经炎性反应的重要效应细胞。根据所处微环境的不同，小胶质细胞表现出不同活化状态。在神经炎性反应中，小胶质细胞被分为抗炎型和促炎型。在脑缺血损伤后，抑制所有小胶质细胞活化，可能干扰抗炎型小胶质细胞的组织损伤修复作用；而促进抗炎型小胶质细胞活化，一方面可通过增加抗炎细胞因子白细胞介素-10(interleukin-10, IL-10)、白细胞介素-4(interleukin-4, IL-4)等释放，拮抗促炎型小胶质细胞的过度活化；另一方面可释放更多的神经血管营养因子，如转化生长因子- $\beta$ (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )、血管生长因子等，从而有利于组织损伤修复<sup>[3-4]</sup>。因此，促进抗炎型小胶质细胞活化可能是CIS急性期更为安全有效的抗炎治疗方法。

STAT6是一种核转录蛋白，是CIS后诱导抗炎型小胶质细胞活化的重要因子。在脑缺血损伤动物中，STAT6通过诱导抗炎型小胶质细胞活化，减轻脑组织损伤<sup>[5]</sup>。在体外研究中发现，O-GlcNAc糖基化能促进STAT6的激活，并诱导具有抗炎功能的巨噬细胞/小胶质细胞活化<sup>[6]</sup>。目前，尚不清楚促进STAT6的O-GlcNAc糖基化是否能在脑缺血损伤中促进抗炎型小胶质细胞活化。O-GlcNAc水解酶(O-GlcNAcase, OGA)抑制剂Thiamet-G可增加脑组织蛋白的O-GlcNAc糖基化水平，在脑缺血损伤模

型中具有抗炎保护作用<sup>[7]</sup>。MK8719作为一种高效的OGA抑制剂，具有极好的血脑屏障透过能力<sup>[8]</sup>，但其在脑缺血损伤中的作用亦未明确。因此，本研究旨在探讨MK8719在急性脑缺血损伤大鼠中的作用及给药后STAT6和抗炎型小胶质细胞的改变。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物与试剂

重庆医科大学实验动物中心共提供104只成年雄性Sprague Dawley大鼠(220~250 g)，其中Sham组大鼠共26只，MCAO组大鼠32只，MCAO+NC组大鼠24只，MCAO+MK8719组大鼠22只，造模后12只大鼠死亡。所有实验都得到了重庆医科大学实验动物伦理委员会的批准。本研究中所用线栓购自北京西浓公司。MK8719购自美国Selleck，货号为S8890；2,3,5-三苯基四氯化铵(2,3,5-triphenyl-2H-tetrazolium chloride, TTC)及水合氯醛购自美国Sigma-Aldrich公司。组织免疫荧光共标染色所使用的抗Iba-1及CD206抗体购自于美国Abcam公司，货号分别为ab178847和ab64693。总蛋白及核蛋白提取试剂盒购自Invent公司，货号分别为SD-001和SC-003。Western Blotting所使用的抗STAT6抗体购自于美国的Santa Cruz公司，货号为sc-374021；抗磷酸化STAT6抗体(P-STAT6)抗体购自于美国Sigma-Aldrich公司，货号为SAB4504546，抗LaminB1和抗 $\beta$ -actin抗体购自于Proteintech公司，货号为12987-1-AP和81115-1-RR，抗O-GlcNAc糖基化抗体购自于美国Cell Signaling Technology公司，货号为9875。ELISA试剂(IL-6、IL-1 $\beta$ 、IL-10和TGF- $\beta$ )盒购于中国Boster公司，货号分别为EK0411、EK0394、EK0417和EK0515。

### 1.2 方法

1.2.1 动物模型制备 利用大脑中动脉梗塞模型(middle cerebral artery occlusion, MCAO)模拟脑缺血损伤。大鼠通过腹腔注射3.5%水合氯醛麻醉，给药剂量为10 mL/kg。暴露右侧颈总动脉、颈内动脉和颈外动脉后，通过颈外动脉将线栓插入颈内动脉，距离插入点约18~20 mm处为大脑中动脉，于1 h后取出线栓并结扎缝合伤口。假手术组(Sham组)大鼠仅剥离右侧颈总动脉、颈内动脉和颈外动脉，无线栓插入。

1.2.2 给药方法及动物分组 由于脑缺血损伤后3 d是炎性损伤最为剧烈的时期，且小胶质细胞在MCAO后3 d亦开始

大量活化<sup>[9]</sup>,故选择 MCAO 后 3 d 为治疗时间。具体来说,将 MK8719 稀释于 0.9% 的生理盐水中(1.5 mg/mL),于术后 1 h 进行腹腔注射(30 mg/kg),每天 1 次,直到 MCAO 后第 3 天,给药后动物饮食无影响,无死亡。安慰剂组(MCAO+NC 组)大鼠腹腔注射相同体积的生理盐水。实验动物分为 4 组: Sham 组、MCAO 组、MCAO+NC 组和 MK8719 组。

1.2.3 TTC 染色 采用 TTC 染色评估 MCAO 后 3 d 的脑梗死体积。大脑沿冠状方向切片(2 mm),用 2% TTC 溶液在 37 °C 避光环境下染色 30 min。使用 Image J 软件测量每个大脑的梗死面积,梗死体积( $\text{mm}^3$ )计算如下:总梗死面积-(右半球面积-左半球面积)×切片厚度。相对水肿体积(%)的计算方法如下:(右半球体积-左半球体积)/(左半球体积×2)×100%。

1.2.4 改良的神经损伤评分 在 MCAO 后 3 d,记录人员采用改良的神经损伤评分方法(the modified neurological severity score, mNSS)对动物的运动、反射、感觉功能和平衡能力进行评估,0 分代表功能正常,18 分为最大神经功能损伤。

1.2.5 尼式染色及 HE 染色 大鼠深度麻醉后,用生理盐水对动物进行心脏灌注后快速取出全脑,并用 4% 多聚甲醛固定 12 h。常规石蜡包埋后切片(5  $\mu\text{m}$ ),切片分别用甲酚紫、苏木素-伊红染色,在 400 倍视野下选取梗死周围组织进行观察。在尼式染色中,随机选取梗死灶周边 0.3 cm 皮质区域的 3 个不重叠区域计算完整神经元数的平均值。HE 染色的形态变化由重庆医科大学第二附属医院的病理医生进行评估。

1.2.6 细胞培养及给药处理 BV2 小胶质细胞在含有 10% 的胎牛血清、1% 的青霉素和链霉素的 DMEM 培养基中,于 37 °C 的 5% 的 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。为了诱导氧糖剥夺/复糖复氧模型(Oxygen and glucose deprivation/re-oxygenation, OGD/R),用无糖 DMEM 替代高糖 DMEM,并将细胞转移到三气培养箱中,在 37 °C 含 94% N<sub>2</sub>、1% O<sub>2</sub> 和 5% CO<sub>2</sub> 的环境下培养 3 h 后,再将细胞于正常培养环境及完全培养基中培养 24 h。OGD/R 后的 BV2 细胞与 MK8719(200 ng/mL)孵育 12 h 作为 MK8719 组。

1.2.7 Western blotting 检测蛋白表达 从模型组的缺血半暗带(梗死灶边缘 0.3 cm)皮质区域和 BV2 细胞中提取蛋白。总蛋白在含有磷酸酶和蛋白酶抑制剂的裂解缓冲液中提取。每个样品中取等量的蛋白质在十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶上分离,再转移到聚偏氟乙烯膜。然后用 5% 牛血清白蛋白在室温下封闭 1.5 h,在 4 °C 下一抗孵育过夜,Bio-Rad 发光仪显影成像。利用 Image Lab (Image Lab 6.0.1, Bio-Rad) 软件对条带进行量化。一抗孵育浓度如下:STAT6(1:500),磷酸化 STAT6(1:200),O-GlcNAc 糖基化抗体(1:500), $\beta$ -actin(1:1 500),LaminB1(1:1 000)。

1.2.8 STAT6 的 O-GlcNAc 糖基化检测 STAT6 抗体在洗涤缓冲液中稀释至终浓度 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,将 400  $\mu\text{L}$  稀释后的抗体

加入蛋白 A/G 磁珠中,在 4 °C 下旋转孵育 4 h。组织匀浆在 4 °C 下与磁珠旋转孵育过夜。短暂离心后,在 95 °C 下洗脱 5 min,洗脱液用于 Western blotting 检测。

1.2.9 组织免疫荧光染色 心脏灌注后取脑,并固定 12 h。于蔗糖溶液梯度脱水后,将脑组织制成 10  $\mu\text{m}$  厚的冷冻切片。用 5% BSA 和 0.5% Triton X-100 在 37 °C 下封闭 1 h,封闭结束后用 Iba-1 和 CD206 抗体(1:200)孵育过夜,荧光二抗于室温孵育 2 h,洗片后再滴加含 DAPI 封片剂,于 Leica 荧光显微镜下观察。计算梗死灶周边皮质区域的 CD206/Iba-1 双阳的细胞与 Iba-1 阳性细胞之比。

1.2.10 酶联免疫吸附检测 采用 ELISA 对 BV2 细胞培养基上清液中的炎性细胞因子(IL-6、IL-1 $\beta$ 、IL-10 和 TGF- $\beta$ )浓度进行定量分析。用酶标仪测定各实验孔在 450 nm 处的吸光度。细胞因子浓度根据试剂盒中提供的标准方法进行计算。

### 1.3 统计学方法

采用 GraphPad Prism 6.0 对数据进行统计学分析,计量资料以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。多组间采用单因素方差分析(ANOVA)和 Tukey 的多重比较进行检验分析,检验水准为  $\alpha=0.05$ 。

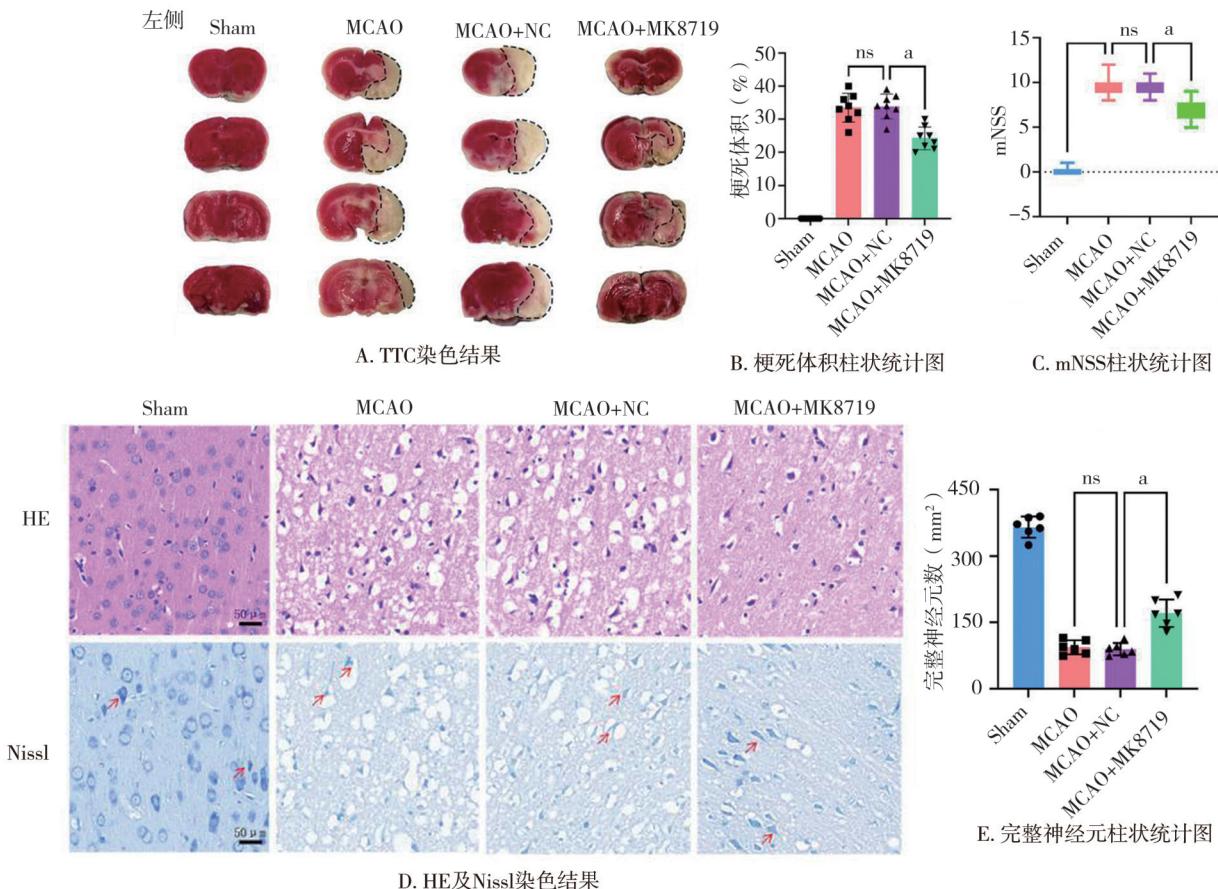
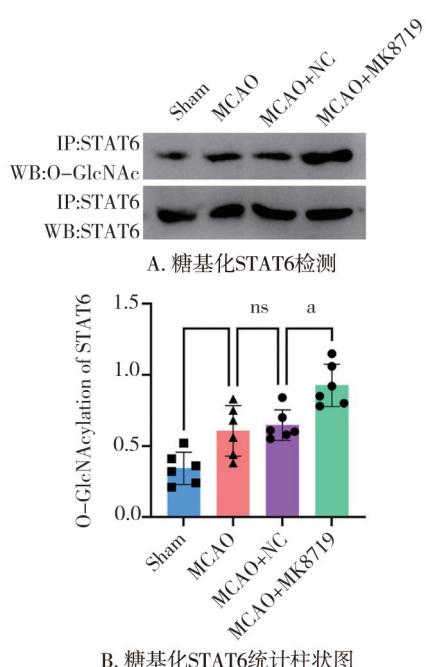
## 2 结 果

### 2.1 MK8719 可减轻 MCAO 大鼠的脑缺血损伤

TTC 染色结果显示,MK8719 给药减少了梗死体积 [MCAO+MK8719 vs. MCAO+NC,  $F(3, 28)=181.400, P<0.001$ ] (图 1A 和 1B);行为学评分结果表明,MK8719 给药可减轻脑缺血后大鼠的神经运动功能障碍 [MCAO+MK8719 vs. MCAO+NC,  $F(3, 88)=529.200, P<0.001$ ] (图 1C);HE 染色后光镜下观察发现,MCAO 组的脑组织结构松散,神经元排列紊乱、胞质疏松且有不同程度的细胞核固缩变形。MK8719 给药后,脑组织及神经元损伤减轻(图 1D);尼式染色中,MCAO 组的神经元变形,中央尼式小体溶解。计数脑梗死灶周围皮质区域细胞形态正常、核圆且核仁清晰的完整神经元,发现 MK8719 给药后完整神经元个数增加 [MCAO+MK8719 vs. MCAO+NC,  $F(3, 20)=201.700, P<0.001$ ] (图 1E)。

### 2.2 MK8719 增加 STAT6 的 O-GlcNAc 糖基化水平并诱导抗炎型小胶质细胞活化

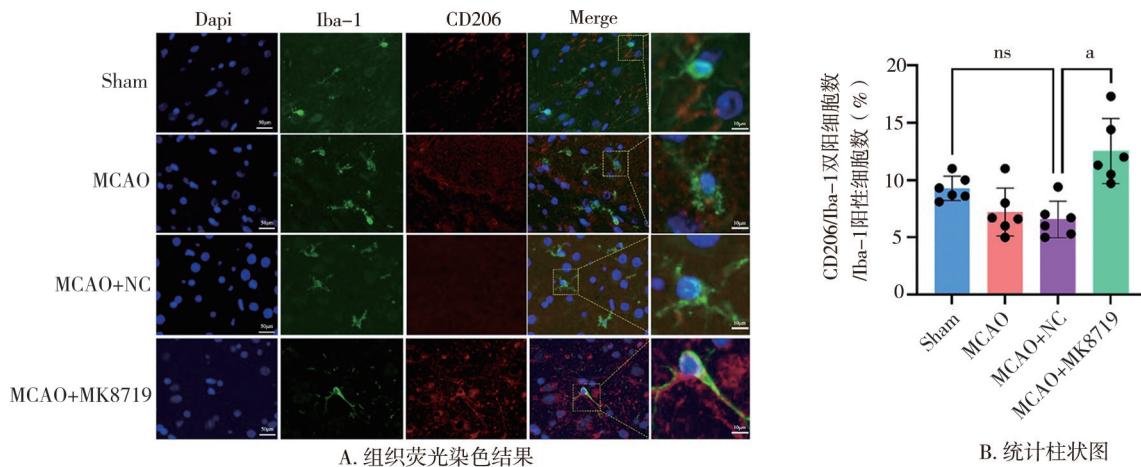
脑缺血损伤后,大鼠脑组织中 STAT6 的 O-GlcNAc 糖基化水平增加 [Sham vs. MCAO,  $F(3, 20)=17.510, P=0.019$ ];MK8719 给药后 STAT6 的 O-GlcNAc 糖基化水平增加 [MCAO+NC vs. MCAO+MK8719,  $F(3, 20)=17.510, P=0.012$ ] (图 2)。使用 Iba-1/CD206 共同标记抗炎型小胶质细胞,如图 3 所示,MK8719 给药组中,抗炎性小胶质细胞(Iba-1/CD206 双染细胞)活化高于模型对照组 [MCAO+NC vs. MCAO+MK8719,  $F(3, 20)=10.760, P<0.001$ ] (图 3)。因此,推

图 1 MK8719 给药后脑损伤减轻( $400 \times$ ,  $n=6$ ,  $\bar{x} \pm s$ )图 2 MK8719 给药后,大鼠脑组织中 STAT6 的 O-GlcNAc 糖基化水平( $n=6$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

测 MK8719 可能通过影响 STAT6 促进抗炎型小胶质细胞活化从而发挥神经保护作用。

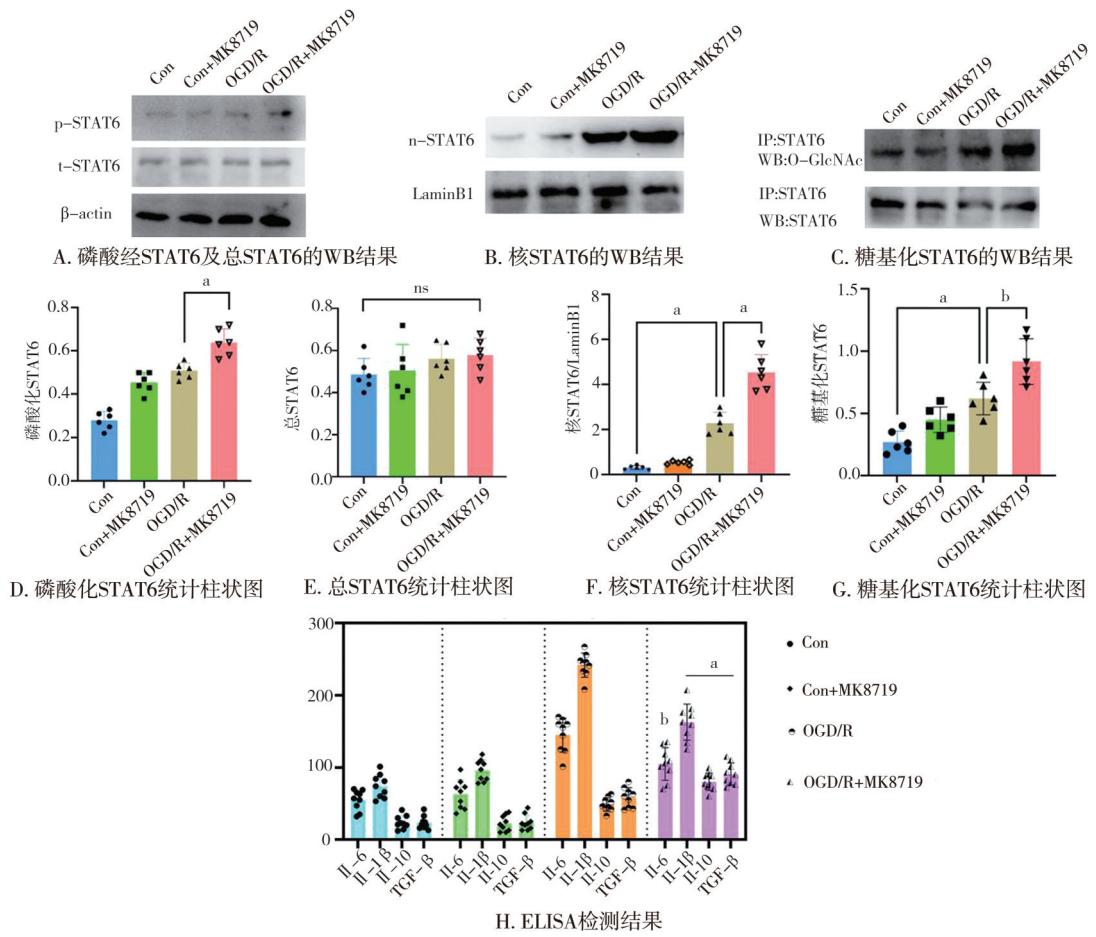
### 2.3 小胶质细胞中, MK8719 促进 STAT6 活化并改变炎性因子释放

为探索 MK8719 在脑缺血损伤中的保护作用是否与小胶质细胞有关, 本研究进一步通过体外培养小胶质细胞 (BV2 细胞系), 建立氧糖剥夺模型进行验证。OGD/R 后, STAT6 的 O-GlcNAc 糖基化水平增加 [OGD/R+MK8719 vs. OGD/R,  $F(3, 20)=26.480, P<0.001$ ]; MK8719 给药后, STAT6 的 O-GlcNAc 糖基化水平进一步增加 [OGD/R+MK8719 vs. OGD/R,  $F(3, 20)=26.480, P=0.004$ ] (图 4C、G), 但总 STAT6 的表达水平没有明显改变 (图 4A、E)。同时, STAT6 的磷酸化水平增加 [OGD/R+MK8719 vs. OGD/R,  $F(3, 20)=57.930, P<0.001$ ] (图 4A、D), 细胞核的 STAT6(n-STAT6) 表达水平增加 [OGD/R+MK8719 vs. OGD/R,  $F(3, 20)=103.300, P<0.001$ ] (图 4B、F)。ELISA 检测发现, MK8719 增加抗炎因子 IL-10 及 TGF- $\beta$  的释放 [OGD/R+MK8719 vs. OGD/R,  $F(3, 32)=60.510, P<0.001, F(3, 32)=60.970, P<0.001$ ] 并减少促炎因子 IL-1 $\beta$  及 IL-6 的释放 [OGD/R+MK8719 vs. OGD/R,  $F(3, 32)=147.500, P<0.001, F(3, 32)=37.400, P=0.001$ ] (图 4H)。



注: a,  $P < 0.001$

图 3 组织免疫荧光检测( $800 \times$ ,  $n=6$ ,  $\bar{x} \pm s$ )



注: Western blotting 检测每组重复为  $n=6$ ; ns, 差异无统计学意义; a,  $P < 0.001$ ; b,  $P < 0.005$

图 4 BV2 细胞的 Western blotting 及 ELISA 检测( $n=9$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

### 3 讨 论

O-GlcNAc 糖基化是指在蛋白的丝氨酸或苏氨酸残基上添加单糖的翻译后修饰, 能调控被修饰蛋白的定位、功能、活性及寿命等<sup>[10]</sup>, 在阿兹海默病、心

脏病、癌症等多种疾病的发生发展中有着重要作用<sup>[11-13]</sup>。促进脑组织 O-GlcNAc 糖基化能缓解小胶质细胞介导的神经炎性损伤。氨基葡萄糖治疗通过增加模型动物脑组织的 O-GlcNAc 糖基化水平, 能缩小脑梗死体积并缓解神经运动功能障碍<sup>[14]</sup>。MK8719 作为一种高效的 O-GlcNAc 水解酶抑制剂,

具有高效的促 O-GlcNAc 糖基化作用,而其在脑缺血损伤中的作用仍不明确。本研究结果表明, MK8719 能改善 MCAO 动物的脑组织损伤和神经运动功能障碍,其保护作用可能与抗炎型小胶质细胞活化有关。

小胶质细胞在中枢神经系统的发育、稳态及疾病发展中发挥重要作用。小胶质细胞具有代谢可塑性,这允许它在不同疾病状态下维持活化功能,也导致小胶质细胞的活化功能表现出很大的时空异质性。神经炎性反应研究中,将活化的小胶质细胞分为抗炎型和促炎型。目前认为,在脑缺血损伤中,诱导抗炎型小胶质细胞活化的抗炎策略具有很大的治疗潜力<sup>[15-16]</sup>。STAT6 是诱导抗炎型小胶质细胞活化的重要调控分子,通过磷酸二聚化入核发挥转录因子活性。已有文献指出,O-GlcNAc 糖基化能促进 STAT6 入核,从而增强其转录活性<sup>[6]</sup>。本研究亦发现,MK8719 能增加 STAT6 的 O-GlcNAc 糖基化水平,并促进 STAT6 的赖氨酸磷酸化水平及细胞核中 STAT6 的表达。目前尚不能明确 O-GlcNAc 糖基化调控 STAT6 磷酸化的机制。在肠道蠕虫感染的研究中,研究者发现促进 STAT6 的 O-GlcNAc 糖基化可以增强 STAT6 的赖氨酸磷酸化,但突变 STAT6 的多个糖基化位点后,STAT6 的酪氨酸磷酸化水平无明显改变<sup>[6]</sup>。因此,STAT6 的 O-GlcNAc 糖基化应不是 STAT6 赖氨酸磷酸化的先决条件,其可能通过其他调控因子介导 STAT6 的酪氨酸磷酸化。此外,脑缺血后急剧的代谢改变可通过影响化学修饰底物水平调控各种蛋白的翻译后修饰。在乳腺肿瘤中发现,Hedgehog 信号通路通过调控脂质代谢减少尿苷二磷酸-N-乙酰氨基葡萄糖胺的生物合成途径从而抑制 STAT6 的 O-GlcNAc 糖基化<sup>[17]</sup>。本研究观察到 MK8719 能促进小胶质细胞释放抗炎因子(IL-10、TGF-β)并抑制促炎因子(IL-6、IL-1β)释放,增加 MCAO 大鼠脑组织中抗炎型小胶质细胞的活化,这提示 MK8719 可能通过促进 STAT6 介导抗炎型小胶质细胞活化,从而发挥脑保护作用。然而,未明确 STAT6 是否是 MK8719 发挥抗炎保护作用的核心分子。已有研究报道,诱导 NF-κB 的 O-GlcNAc 糖基化亦可减轻 MCAO 后的炎性损伤并抑制促炎性小胶质细胞活化<sup>[18]</sup>。阿兹海默病研究中,RIPK3 的 O-GlcNAc 糖基化通过诱导抗炎型小胶质细胞活化,从而缓解认知障碍<sup>[19]</sup>。因此,在接下来的研究工作中,将进一步探讨 STAT6 是否为 MK8719 在脑缺血大鼠中发挥抗炎保护作用的核心调控分子。

综上所述,MK8719 可能通过诱导抗炎型小胶质细胞活化,从而在脑缺血损伤中发挥神经保护作用。这可能与 O-GlcNAc 糖基化介导的 STAT6 激活有关。然而,MK8719 的最佳用药时间、用药剂量以及在脑缺血损伤中如何通过 STAT6 发挥保护作用仍有待进一步研究。

## 参 考 文 献

- Kuriacose D, Xiao ZC. Pathophysiology and Treatment of Stroke: Present Status and Future Perspectives[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(20): 7609.
- Jurcau A, Simion A. Neuroinflammation in cerebral ischemia and ischemia/reperfusion injuries: from pathophysiology to therapeutic strategies[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 23(1): 14.
- Prinz M, Jung S, Priller J. Microglia biology: one century of evolving concepts[J]. *Cell*, 2019, 179(2): 292-311.
- Wang Y, Leak RK, Cao GD. Microglia-mediated neuroinflammation and neuroplasticity after stroke[J]. *Front Cell Neurosci*, 2022, 16: 980722.
- Cai W, Dai XJ, Chen J, et al. STAT6/Arg1 promotes microglia/macrophage efferocytosis and inflammation resolution in stroke mice[J]. *JCI Insight*, 2019, 4(20): e131355.
- Zhao M, Ren KQ, Xiong XW, et al. Epithelial STAT6 O-GlcNAcylation drives a concerted anti-helminth alarmin response dependent on tuft cell hyperplasia and Gasdermin C[J]. *Immunity*, 2022, 55(4): 623-638.
- 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): 1646-1654.
- Selnick HG, Hess JF, Tang CY, et al. Discovery of MK-8719, a potent O-GlcNAcase inhibitor as a potential treatment for tauopathies[J]. *J Med Chem*, 2019, 62(22): 10062-10097.
- Qin C, Zhou LQ, Ma XT, et al. Dual functions of microglia in ischemic stroke[J]. *Neurosci Bull*, 2019, 35(5): 921-933.
- Yang XY, Qian K. Protein O-GlcNAcylation: emerging mechanisms and functions[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2017, 18(7): 452-465.
- Ouyang MZ, Yu CM, Deng XL, et al. O-GlcNAcylation and its role in cancer-associated inflammation[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 861559.
- Lee BE, Suh PG, Kim JI. O-GlcNAcylation in health and neurodegenerative diseases[J]. *Exp Mol Med*, 2021, 53(11): 1674-1682.
- Yann Huey N, Chidinma AO, Jeffrey RE, et al. Protein O-GlcNAcylation in the heart[J]. *Acta Physiol (Oxf)*, 2021, 233(1): e13696.
- Jhelum P, Radhakrishnan M, Paul ARS, et al. Neuroprotective and proneurogenic effects of glucosamine in an internal carotid artery occlusion model of ischemia[J]. *Neuromolecular Med*, 2022, 24(3): 268-273.
- Kang RQ, Gamdzyk M, Lenahan C, et al. The dual role of microglia in blood-brain barrier dysfunction after stroke[J]. *Curr Neuropharmacol*, 2020, 18(12): 1237-1249.
- Eldahshan W, Fagan SC, Ergul A. Inflammation within the neurovascular unit: focus on microglia for stroke injury and recovery[J]. *Pharmacol Res*, 2019, 147: 104349.
- Hinshaw DC, Hanna A, Lama-Sherpa T, et al. Hedgehog signaling regulates metabolism and polarization of mammary tumor-associated macrophages[J]. *Cancer Res*, 2021, 81(21): 5425-5437.
- He YT, Ma XF, Li DJ, et al. Thiamet G mediates neuroprotection in experimental stroke by modulating microglia/macrophage polarization and inhibiting NF-κB p65 signaling[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2017, 37(8): 2938-2951.
- Park J, Ha HJ, Chung ES, et al. O-GlcNAcylation ameliorates the pathological manifestations of Alzheimer's disease by inhibiting necrosis[J]. *Sci Adv*, 2021, 7(3): eabd3207.

(责任编辑:曾 玲)