

Nrf2 与肿瘤及脑部疾病关系的研究进展*

刘广文,陈为民,秦嘉萍,顾汇权 综述,刘 婧[△]审校

海南医学院基础医学与生命科学院药理教研室,海南海口 571199

关键词:核因子 E2 相关因子 2; 抗氧化; 肿瘤; 脑部疾病

中图分类号:R96;R73

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2022)17-2320-03

核因子 E2 相关因子 2(Nrf2)是细胞氧化应激反应中的关键因子,同时也是维持细胞内氧化还原稳态的中枢调节因子,受 Kelch 样 ECH 相关蛋白 1(Keap1)调控。随着 Nrf2 新作用研究的不断深入,Nrf2 在氧化应激性疾病中起到了关键作用,Nrf2 参与了肿瘤的发生、发展过程,靶向抑制 Nrf2 是一种潜在有效的抗肿瘤策略。不仅如此,Nrf2 还能调节脑铁代谢及线粒体功能的表达,与脑部疾病有着密切联系。本文就 Nrf2 与肿瘤及脑部疾病的关系作一综述。

1 Nrf2 信号通路的结构及活化

Nrf2 与 NF-E2 高度同源,研究发现 Nrf2 在机体氧化还原稳态中扮演着重要角色,且通过调控下游众多基因,在抗炎、解毒等方面有重要作用^[1]。这些被调控的下游基因都有相同的一段保守序列:抗氧化反应原件(ARE),它是一个特异的 DNA 启动子结合的保守序列。Nrf2 基因结构上有 6 个高度保守的同源结构域 Neh1~6^[1]:(1)Neh1 含有 bZip 转录因子,其与细胞核内小分子肌腱纤维瘤蛋白结合形成二聚体,使 Nrf2 能够识别 ARE,并启动转录^[2];(2)Neh2 含有可与 Keap1 的 DGR 区结合的 DLG 区和 ETGE 区,使 Keap1 依赖性调控 Nrf2 的泛素化降解;(3)Neh3 主要调控 Nrf2 的转录活性;(4)Neh4 和 Neh5 主要负责转录的活化,其与 cAMP 反应元件结合蛋白(CREB)等结合,才能开始转录过程;(5)Neh6 主要是非 Keap1 依赖性调控 Nrf2 的降解^[3]。

Keap1 含有 5 个结构域^[4],其中 DGR 区又称 Kelch 区,是 Keap1 与 Nrf2 的 Neh2 区的结合位点;BTB 区域是 Keap1 与 Cul3 作用的区域,主要介导 Nrf2 的泛素化及降解,其半胱氨酸 151 突变时,Keap1 与 Cul3 发生解离,导致 Nrf2 不被泛素化;中间连接区域含有 Keap1 活性最强的半胱氨酸残基,其半胱氨酸 273 和 288 与 Nrf2 的泛素化有关,在氧化应激条件下能减弱 Nrf2 的泛素化;还有 N 端区域与 C 端区域分别位于 N 端和 C 端。在细胞核中 Nrf2 识别

结合 ARE,生理状态下,Neh2 上的 DLG 区和 ETGE 区与 Keap1 的两个 DGR 区结合,由 Keap1 调控 Nrf2 活性并介导其降解,阻止 Nrf2 进入细胞核^[5-6]。

在氧化应激条件下,Keap1 的半胱氨酸残基会被共价修饰,从而导致 Keap1 的构象改变,由于 DLG 区与 DGR 区的亲和力较低,ETGE 区与 DGR 区的亲和力较高,Keap1 一边从低亲和力的 DLG 区上释放下来,而另一边仍与高亲和力的 ETGE 区相连,使 Nrf2 与 Keap1 结合一直处于饱和状态,而新合成的 Nrf2 就能够进入细胞核,与小分子肌腱纤维瘤蛋白结合,生成异二聚体并结合 ARE,启动下游基因的表达^[7-8],这是“门闩和枢纽”学说。

2 Nrf2 与肿瘤的关系

最初认为 Nrf2 是一个抑癌基因,作为一种重要的转录因子,通过激活细胞保护性抗氧化基因来调控肿瘤细胞内氧化还原的动态平衡;促进化学致癌物的快速酶修饰和排泄,以及通过其靶基因的表达来抑制活性氧(ROS)的产生或修复氧化损伤来防止致癌^[9]。但在 P53 突变情况下,Nrf2 高水平激活可促进癌症的进程。Nrf2 通过抗氧化和解毒程序抑制氧化和致癌物诱导的 DNA 损伤,在肿瘤形成早期阶段促进转化细胞的活性^[10]。Nrf2 持续高水平是其在肿瘤中发挥作用的主要原因,而 Nrf2 持续高水平在不同肿瘤中的机制也不同,肿瘤的 Keap1 或 Nrf2 发生突变,导致 Nrf2 组成型高水平激活^[10];在肝癌中,Autophagy 缺陷导致 p62 隐藏 Keap1,E3-Keap1 降解导致 Nrf2 组成性激活^[11-12];在肺癌中,Nestin 表达导致 Nrf2 高水平激活^[13]。

通过激活 Nrf2,不仅使得肿瘤细胞获得生存优势,产生耐药性,且可以促进肿瘤细胞转移。正常细胞内 Nrf2 水平很低,其激活是曲线型的波动。因为药物都有代谢的半衰期,而诱导 Nrf2 激活都是曲线型波动的,因此植物性 Nrf2 激活剂可用来预防癌症等的发生、发展^[14-15]。同时也要研发 Nrf2 抑制剂用于抑制肿瘤细胞的生长和转移。靶向抑制 Nrf2 及

* 基金项目:国家自然科学基金项目(82060851);2019 年海南省高校科学研究重点课题(Hnky2019ZD-26)。

[△] 通信作者,E-mail:470048098@qq.com。网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1167.R.20220830.1639.002.html\(2022-08-31\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1167.R.20220830.1639.002.html(2022-08-31))

Nrf2/Keap1 抗氧化通路从而诱导肿瘤微环境中 ROS 的大量产生,抑制关键肿瘤信号转导通路及诱导细胞程序性死亡等方式杀伤肿瘤细胞可能是一种潜在有效的抗肿瘤治疗策略。

3 Nrf2 与脑部疾病的关系

3.1 在脑部疾病中 Nrf2 与脑铁代谢的关系 脑部疾病常与脑铁代谢紊乱和 Nrf2 水平改变有关^[16-17]。脑铁在脑内主要是以铁蛋白的形式存在,在大脑的功能活动中起着重要作用。过量的游离铁被称为“有毒”铁,可以和神经细胞内的 H_2O_2 反应生成 ROS,引起一系列的级联反应,进而引起神经细胞的病变甚至死亡。以往认为 Nrf2 仅仅参与神经细胞的氧化应激反应,现已证实它调控了众多脑铁相关蛋白的代谢活动。转铁蛋白受体 1 被认为是铁入脑的主要通道^[18],入脑的铁主要以铁蛋白的形式存在,这种形式保证了神经细胞中铁的稳定,同时也减少了不稳定的游离铁即“有毒”铁^[19],铁泵蛋白是目前已知的能在神经细胞中输出铁的唯一蛋白。而转铁蛋白受体 1、铁蛋白及铁泵蛋白的基因上游序列中都含有 ARE 保守序列,也就是说这 3 个基因都受 Nrf2 的调控,在脑铁的摄入、储存及输出过程中都有着重要的调控作用。Nrf2 作为一个潜在的调节脑铁代谢的关键转录因子,可以防止脑铁代谢紊乱,维持脑铁的内环境稳态,与脑部疾病的发生有着密切联系^[16,20-21]。

3.2 在神经退行性疾病(ND)中 Nrf2 与线粒体的关系 ND是由中枢神经组织慢性进行性变性引起的疾病总称,减少氧化应激是延缓脑神经退行性病变的关键。神经细胞常依赖氧化磷酸化供能,而线粒体是细胞供能的主要场所,会产生大量的 ROS。Nrf2 通路会被 ROS 迅速激活,通过诱导超氧化物歧化酶和谷胱甘肽系列酶等的表达,维持细胞稳态,在调节线粒体功能方面起到了关键的调控作用^[22-23]。

α -突触核蛋白(SNCA)的积累是帕金森病病理表现之一,SNCA 积累会降低线粒体最大呼吸能力,还可能引发 ROS 的持续积累^[24]。研究表明,在 SNCA 积累的前期,Nrf2 水平的升高能减弱 SNCA 诱导的氧化应激反应^[25],从而保护线粒体功能免受损伤。有报道称,在脑缺血再灌注模型的细胞中存在线粒体肿大的现象,注射丙酮酸乙酯,脑组织 Nrf2 及其靶基因表达增强(抗氧化能力提高),神经细胞的线粒体损伤减轻^[26]。在阿尔茨海默病(AD)模型海马组织中 Nrf2 的水平均降低,导致线粒体的转录翻译水平下降。说明 Nrf2 在 AD 中具有调节线粒体表达的作用。而在亨廷顿病患者脑中,抗氧化蛋白水平升高^[27],表明 Nrf2 在亨廷顿病患者中处于激活状态以应对线粒体氧化应激造成的损伤。综上所述,Nrf2 在调控线粒体方面有着重要作用。

4 Nrf2 与其他氧化应激性疾病的关 系

随着 Nrf2 新作用研究的不断深入,Nrf2 不仅与

肿瘤及脑部疾病有着密切关系,其在氧化应激性疾病中也起到了关键作用。在动脉粥样硬化(AS)的发展过程中,ROS 诱导的氧化低密度脂蛋白的生成是加剧 AS 进程的关键,而 Nrf2 通过增加过氧化物酶的表达,阻止 ROS 诱导的氧化低密度脂蛋白的生成,减缓 AS 的进程,但 Nrf2 也可能会加速 AS 的发展^[28-29]。有研究显示,被敲除 Nrf2 且高胆固醇血症载脂蛋白 E 缺失的小鼠,其斑块减少并且血管壁弹性良好^[30]。慢性阻塞性肺疾病(COPD)患者主要是由于巨噬细胞吞噬能力减弱所致^[31]。研究发现,上调 Nrf2 的表达,可调控 MARCO 基因的表达,从而增强巨噬细胞吞噬细菌的能力,有助于减轻炎症反应,防止氧化应激所引起的肺功能下降,提高细菌清除能力,从而延缓 COPD 的进展^[32]。

许多疾病的发病机制都和氧化应激有重要关系。一般氧化应激反应分为慢性和急性两种,急性的氧化应激反应有心肌、肺等缺血再灌注损伤等,主要由于缺血再灌注部位短时间内产生了大量的 ROS 而引发的氧化应激。而慢性氧化应激反应则有肿瘤、ND、AS、COPD 等,主要由于 Nrf2 的调控失常,机体氧化还原稳态紊乱,Nrf2 在这些氧化应激性疾病中都起到了关键作用。

5 总结与展望

Nrf2 像是一把双刃剑,一方面,维持细胞的氧化还原平衡,对环境有毒物质进行解毒,抑制各种与氧化应激相关的疾病。另一方面,Nrf2 也可能在肿瘤的生长、增殖、转移及对化疗药物的耐受中发挥重要作用,同时也可能会加剧 AS 的发展,以及镉所致的肾损伤等。很遗憾目前实验室 Nrf2 激活剂有很多,但抑制剂都有缺陷,因此研发 Nrf2 抑制剂有着重要意义。

参考文献

- [1] KOBAYASHI M, YAMAMOTO M. Nrf2-Keap1 regulation of cellular defense mechanisms against electrophiles and reactive oxygen species[J]. *Adv Enzyme Regul*, 2006, 46:113-140.
- [2] ZHU J, WANG H, JI X, et al. Differential Nrf2 expression between glioma stem cells and non-stem-like cells in glioblastoma[J]. *Oncol Lett*, 2014, 7(3):693-698.
- [3] GUERRERO-ESCALERA D, ALARCÓN-SÁNCHEZ B, ARELLANES-ROBLEDO J, et al. Comparative subcellular localization of NRF2 and KEAP1 during the hepatocellular carcinoma development in vivo[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2022, 1869(5):119222.
- [4] ZHANG D, LO S, CROSS J, et al. Keap1 is a redox-regulated substrate adaptor protein for a Cul3-dependent ubiquitin ligase complex[J]. *Mol Cell Biol*, 2004, 24(24):10941-10953.
- [5] MATIĆ, TOMAŠIĆ P A, SOBOČANEK S, et al. Interdisciplinary study of the effects of dipeptidyl-peptidase III

- cancer mutations on the KEAP1-NRF2 signaling pathway[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(4):1994.
- [6] ULASOV A, ROSENKRANZ A, GEORGIEV G, et al. Nrf2/Keap1/ARE signaling: towards specific regulation[J]. *Life Sci*, 2022, 291:120111.
- [7] HE L, SUN Y. The potential role of Keap1-Nrf2 pathway in the pathogenesis of Alzheimer's disease, type 2 diabetes, and type 2 diabetes-related Alzheimer's disease[J]. *Metab Brain Dis*, 2021, 36(7):1469-1479.
- [8] PAN X, FAN J, PENG F, et al. SET domain containing 7 promotes oxygen-glucose deprivation/reoxygenation-induced PC12 cell inflammation and oxidative stress by regulating Keap1/Nrf2/ARE and NF- κ B pathways[J]. *Bio-engineered*, 2022, 13(3):7253-7261.
- [9] SMOLKOVÁ K, MIKÓ E, KOVÁCS T, et al. Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 in regulating cancer metabolism[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2020, 33(13):966-997.
- [10] CHEN W, WANG H, TAO S, et al. Tumor protein translationally controlled 1 is a p53 target gene that promotes cell survival[J]. *Cell Cycle*, 2013, 12(14):2321-2328.
- [11] QIAN H, BAI Q, YANG X, et al. Dual roles of p62/SQSTM1 in the injury and recovery phases of acetaminophen-induced liver injury in mice[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2021, 11(12):3791-3805.
- [12] YASUDA D, OHE T, TAKAHASHI K, et al. Inhibitors of the protein-protein interaction between phosphorylated p62 and Keap1 attenuate chemoresistance in a human hepatocellular carcinoma cell line[J]. *Free Radic Res*, 2020, 54(11/12):859-871.
- [13] WANG J, LU Q, CAI J, et al. Nestin regulates cellular redox homeostasis in lung cancer through the Keap1-Nrf2 feedback loop[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1):5043.
- [14] CHENG L, WANG H, LI S, et al. New insights into the mechanism of Keap1-Nrf2 interaction based on cancer-associated mutations[J]. *Life Sci*, 2021, 282(1):119791.
- [15] SCHMIDLIN C, SHAKYA A, DODSON M, et al. The intricacies of NRF2 regulation in cancer[J]. *Semin Cancer Biol*, 2021, 76(1):110-119.
- [16] BHOWNICK S, D'MELLO V, CARUSO D, et al. Traumatic brain injury-induced downregulation of Nrf2 activates inflammatory response and apoptotic cell death[J]. *J Mol (Berl)*, 2019, 97(12):1627-1641.
- [17] MAGTANONG L, DIXON S. Ferroptosis and brain injury[J]. *Dev Neurosci*, 2018, 40(5/6):382-395.
- [18] MATAK P, MATAK A, MOUSTAFA S, et al. Disrupted iron homeostasis causes dopaminergic neurodegeneration in mice[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(13):3428-3435.
- [19] ZANG J, CHEN H, ZHAO G, et al. Ferritin cage for encapsulation and delivery of bioactive nutrients: from structure, property to applications[J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2017, 57(17):3673-3683.
- [20] GENG Z, GUO Z, GUO R, et al. Ferroptosis and traumatic brain injury[J]. *Brain Res Bull*, 2021, 172(2):212-219.
- [21] HUANG L, HE S, CAI Q, et al. Polydatin alleviates traumatic brain injury; role of inhibiting ferroptosis[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021, 556(1):149-155.
- [22] YAZAKI K, MATSUNO Y, YOSHIDA K, et al. ROS-Nrf2 pathway mediates the development of TGF- β 1-induced epithelial-mesenchymal transition through the activation of Notch signaling[J]. *Eur J Cell Biol*, 2021, 100(7/8):151181.
- [23] ZHANG W, XIONG H, PANG J, et al. Nrf2 activation protects auditory hair cells from cisplatin-induced ototoxicity independent on mitochondrial ROS production[J]. *Toxicol Lett*, 2020, 331(1):1-10.
- [24] FU M, WU C, LEE Y, et al. Nrf2 activation attenuates the early suppression of mitochondrial respiration due to the α -synuclein overexpression[J]. *Biomed J*, 2018, 41(3):169-183.
- [25] SKIBINSKI G, HWANG V, ANDO D, et al. Nrf2 mitigates LRRK2- and α -synuclein-induced neurodegeneration by modulating proteostasis[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114(5):1165-1170.
- [26] 刘贵春, 江朝秀, 彭铸宝, 等. 腹腔注射丙酮酸乙酯脑缺血再灌注大鼠认知功能、海马 Nrf2 基因表达及神经细胞线粒体形态变化[J]. *山东医药*, 2016, 56(43):38-40.
- [27] SOROLLA M, REVERTER-BRANCHAT G, TAMARIT J, et al. Proteomic and oxidative stress analysis in human brain samples of Huntington disease[J]. *Free Radic Biol Med*, 2008, 45(5):667-678.
- [28] YANG K, SONG H, YIN D. PDSS2 inhibits the ferroptosis of vascular endothelial cells in atherosclerosis by activating Nrf2[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2021, 77(6):767-776.
- [29] ZHU Y, ZHANG Y, HUANG X, et al. Z-Ligustilide protects vascular endothelial cells from oxidative stress and rescues high fat diet-induced atherosclerosis by activating multiple NRF2 downstream genes[J]. *Atherosclerosis*, 2019, 284(1):110-120.
- [30] SUSSAN T, JUN J, THIMMULAPPA R, et al. Disruption of Nrf2, a key inducer of antioxidant defenses, attenuates ApoE-mediated atherosclerosis in mice[J]. *PLoS One*, 2008, 3(11):e3791.
- [31] 王雅杰, 王嘉, 岳洪娟, 等. miR-181a 通过调控 Smad7 对 COPD 大鼠气道重塑的作用研究[J]. *安徽医科大学学报*, 2021, 56(9):1379-1385.
- [32] HARVEY C, THIMMULAPPA R, SETHI S, et al. Targeting Nrf2 signaling improves bacterial clearance by alveolar macrophages in patients with COPD and in a mouse model[J]. *Sci Transl Med*, 2011, 3(78):411-425.