

Nrf2/HO-1 通路在氧化应激和炎症反应中的作用

于馨雅 申元英 郭 乐

摘 要 氧化应激是指体内氧化与抗氧化作用失衡,倾向于氧化,导致中性粒细胞炎性浸润、蛋白酶分泌增加、产生高活性分子,如活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)和活性氮自由基(reactive nitrogen species, RNS)以及大量氧化中间产物,如白三烯、血栓素 A₂ 等促炎介质,从而引起细胞凋亡和炎症反应。近年来研究表明,核转录因子红系 2 相关因子 2/血红素加氧酶-1(nuclear factor erythroid-2-related factor 2/heme oxygenase 1, Nrf2/HO-1)通路可以通过抗炎、抗氧化等作用抵抗氧化应激损伤。因此,有效调控 Nrf2/HO-1 通路可成为治疗氧化应激性疾病和炎症性疾病的重要靶点。

关键词 核转录因子红系 2 相关因子 2/血红素加氧酶-1 氧化应激 炎症反应

中图分类号 R392

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2023.07.005

氧化应激被定义为活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)的产生和内源性抗氧化防御系统之间的失衡。生理条件下,细胞内会产生少量的 ROS,这些 ROS 在细胞信号转导过程中发挥作用,很容易被抗氧化防御系统还原。然而,在病理生理条件下,ROS 的产生超过了抗氧化防御系统的缓冲能力,会导致细胞功能障碍、蛋白质和脂质过氧化、DNA 损伤,最终造成不可逆的细胞损伤和死亡。

炎症是对有害刺激和某些条件(如感染或组织损伤)的适应性反应,炎症细胞可产生可溶性介质,如花生四烯酸代谢产物、细胞因子和趋化因子等,它们的作用是进一步将炎症细胞招募到损伤部位并产生更多的活性物质。这些关键介质可激活信号转导级联,并诱导转录因子的变化,从而加重氧化损伤。另外,环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)和诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)的诱导表达,肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)和单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemotactic protein, MCP-1)等的异常表达,以及特异性 microRNA 的改变也参与了氧化应激诱导的炎症反应^[1]。

研究表明,核转录因子红系 2 相关因子 2/血红素

加氧酶-1(nuclear factor erythroid-2-related factor 2/heme oxygenase 1, Nrf2/HO-1)通路在氧化应激和炎症反应的发生与调控中起重要作用,也是目前国内外氧化应激和炎症疾病发生、发展机制中的研究热点。

一、Nrf2/HO-1 信号通路

Nrf2 是体内抗氧化防御系统的主要调节因子,参与多种细胞内防御机制相关的信号转导。生理状态下,Nrf2 与 Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白 1(Kelch-like ECH-associated protein-1, Keap1)以复合体形式存在于细胞质中并处于惰性状态,当受到氧化应激刺激时,过量的 ROS 使 Nrf2 与 Keap1 解离进入细胞核,通过抗氧化反应元件(antioxidant response element, ARE)调节细胞内解毒酶和抗氧化蛋白的基因表达,从而促进细胞解毒过程和抗氧化潜能^[2]。Nrf2 依赖 ARE 驱动的基因编码解毒和抗氧化酶包括 NAD(P)H:醌氧化还原酶 1(NQO1)、谷氨酸半胱氨酸连接酶催化亚基和修饰亚基,以及 HO-1^[3]。

HO-1 是 Nrf2 下游的靶蛋白,能降解血红素释放胆绿素、CO 和亚铁离子。HO-1 及其产物通过保护氧化损伤、调节细胞凋亡、调节炎症反应以及促进血管生成而发挥有益的作用^[4]。生理状态下,HO-1 的表达较低,当组织细胞受到血红素、一氧化氮、重金属、生长因子、细胞因子等刺激而处于应激状态时,HO-1 可通过 Nrf2 的调控进行应答,表达量高度上调,表现出明显的抗氧化作用。

Nrf2/HO-1 通路被认为是抗 NF- κ B 诱导的炎症的上游分子之一,完整的 Nrf2/HO-1 通路发挥抗氧化、抗炎、维持线粒体稳态、抑制细胞凋亡、调控细胞焦亡等多种效应,最终影响疾病的转归(图 1)。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81960371);云南省科技厅青年项目(202001AU070014)

作者单位:671000 大理大学基础医学院医学微生物学与免疫学教研室

通信作者:郭乐,电子信箱:guole0622@126.com

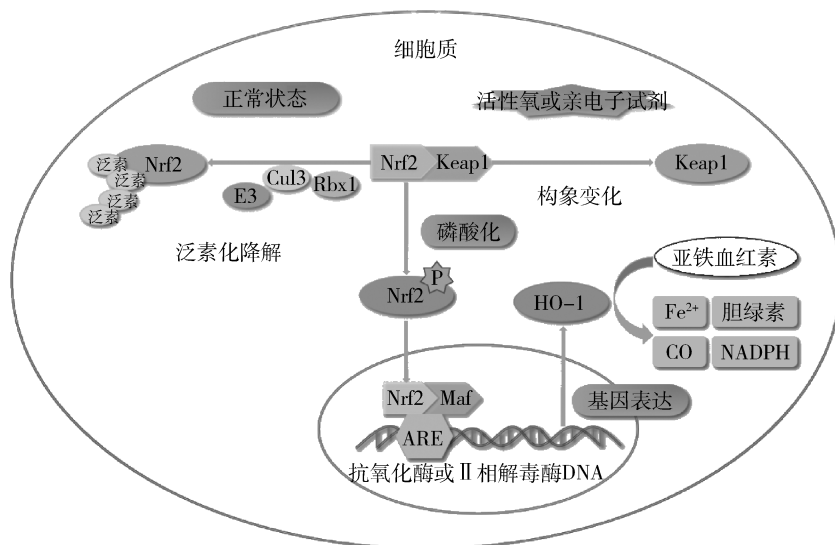


图1 Nrf2/HO-1 信号通路

二、Nrf2/HO-1 通路的作用机制

1. 抗氧化与抗炎:研究表明,芍药苷通过抑制NF- κ B通路和激活Nrf2/HO-1通路来减轻脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的人克隆结肠腺癌细胞炎症反应^[5]。Wang等^[6]研究证实了蛆提取物通过降解Keap1和激活Nrf2减轻LPS诱导的实验性结肠炎的炎症和氧化应激。

2. 维持线粒体稳态:线粒体是细胞进行有氧呼吸的主要场所,也是细胞内ROS的主要来源。Nrf2/HO-1通路的激活可能在维持糖尿病患者线粒体稳态方面起到重要作用,有望成为防治或延缓糖尿病患者视网膜病变进展的重要靶点^[7]。Li等^[8]通过体内外实验证实了磷酸肌酸通过Nrf2/HO-1通路使线粒体功能正常化并降低氧化应激,从而发挥神经保护作用。

3. 调节Ca²⁺浓度:细胞内Ca²⁺浓度过高会通过细胞内钙超载、钙依赖降解酶的激活和细胞凋亡等多种机制导致氧化应激和机体功能障碍。近年来研究发现, κ 阿片受体激动剂U50488H通过激活Nrf2/HO-1通路抑制Ca²⁺内流,改善心力衰竭大鼠心肌细胞内质网应激,从而减轻心肌损伤^[9]。Park等^[10]研究证实,异槲皮苷和槲皮素通过Nrf2/HO-1通路恢复细胞内ROS水平和调节Ca²⁺浓度等,显著抑制谷氨酸诱导的细胞氧化死亡。Ca²⁺是机体各项生理活动不可缺少的离子,Nrf2/HO-1通路通过对其调节可能参与凝血、肌细胞收缩、调节酶活性等多种重要的生命活动,从而在相关疾病中显示出潜在的治疗

作用。

4. 调控铁死亡:铁死亡是一种调节性细胞死亡,是铁依赖和半胱天冬氨酸蛋白酶(caspase)非依赖的非凋亡性细胞死亡,与ROS的产生密切相关。Chen等^[11]研究发现,铁死亡抑制剂Ferrostatin-1通过Nrf2/HO-1信号通路有效地改善了葡聚糖硫酸钠诱导的实验性结肠炎。同样,Li等^[12]研究发现,另一种铁死亡抑制剂Liproxstatin-1通过激活Nrf2/HO-1通路下调TGF- β 1来缓解放射性肺纤维化。基于上述研究能够发现,Nrf2/HO-1通路对铁死亡具有抑制作用。

5. 抑制细胞凋亡:细胞凋亡是指细胞内的死亡级联反应被特定信号触发所致的生理或病理性、主动性的死亡过程。研究发现,Sir5蛋白可能通过调节Nrf2/HO-1通路和B淋巴细胞瘤-2基因(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)来减轻顺铂诱导的人肾近曲小管上皮细胞-2的凋亡和线粒体损伤^[13]。Zhang等^[14]研究认为,莲房原花青素通过调节Nrf2/HO-1通路的激活而增强细胞抗氧化防御能力,并参与抑制线粒体介导的凋亡信号通路。Nrf2/HO-1通路 with 细胞凋亡的密切关系为氧化应激和炎症反应提供了潜在的研究方向。

6. 调控细胞焦亡:细胞焦亡又称细胞炎性坏死,是一种依赖caspase-1的程序性细胞坏死,主要表现为细胞渗透压改变、细胞膜破裂、炎性物质释放,从而导致细胞死亡。炎性小体是炎症的中心调节器,越来越多的证据表明,Nrf2和炎性小体在不同水平上存在

交联。如 Huang 等^[15]研究发现,Nrf2 的激活和 HO-1 的诱导可以抑制 NLRP3 (nucleotide-binding and oligomerization domain-like receptor thermal protein domain associated protein 3) 炎性小体,从而抑制焦亡。同时,近年来有研究发现,和厚朴酚通过激活 Nrf2 抑制人支气管上皮细胞中 NLRP3、caspase-1、Gasdermin D 等的表达,从而抑制 NLRP3 炎性小体介导的焦亡,减轻氧化应激,进而减轻 LPS 诱导的急性肺损伤^[16]。

7. 调控细胞自噬:自噬是调节体内环境的一种天然保护机制,当受到外部伤害性刺激时,适当地诱导自噬可以减少对机体的伤害。研究表明,亚砷酸盐通过 PI₃K/Akt 途径促进 Nrf2 和下游 mTOR 的上调,继而抑制自噬^[17]。此外,还有研究发现,西格列汀通过激活 AMPK/mTOR 和 Nrf2/HO-1 通路,提高自噬/凋亡率,减轻镉所致的睾丸损伤^[18]。总之,该通路的活化程度对自噬的调节效果不同,进而对机体产生不同效应。

三、Nrf2/HO-1 通路在各系统疾病中的作用

1. 呼吸系统:呼吸系统疾病是临床上最常见的疾病之一,因此,其发病机制、诊断和治疗值得进一步研究。Wu 等^[19]研究指出,Nrf2/HO-1 通路可以抑制 LPS 诱导的 ROS 的产生,减少炎性介质 IL-1 β 和 TNF- α 的表达,从而减轻肺损伤。急性呼吸窘迫综合征是一种以进行性呼吸困难、肺动脉高压、通透性肺水肿和肺微血栓形成成为主要特征的临床综合征,而 Nrf2/HO-1 通路可以拮抗 TNF- α 介导的毛细血管内皮损伤,从而改善毛细血管内皮细胞的屏障功能,降低毛细血管通透性,刺激内皮细胞释放大量抗炎性细胞因子。

2. 心血管系统:心血管疾病可导致心绞痛和呼吸急促,严重威胁着人类健康和生活质量。Nrf2/HO-1 通路已用于治疗病毒性心肌炎、心肌缺血再灌注损伤等常见心血管疾病。Yang 等^[20]研究表明,莲叶提取物 (nelumbo nucifera leaf extract, NLE) 具有抗动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 的作用,补充 NLE 可增加 Nrf2 及其下游靶点的表达。因此,利用其上调 Nrf2 的特性,NLE 有望成为治疗 AS 的潜在药物。还有研究发现,蕨麻提取物直接增强心肌细胞的内源性抗氧化防御,并通过 Nrf2/HO-1 通路间接激活一氧化氮 (NO) 通路,从而缓解心律失常和心肌梗死。另外,一些研究表明,线粒体功能障碍可能导致心血管疾病的发展,如高血压心脏病,而 Nrf2/HO-1 通路具有减轻线粒体损伤的作用,或许可以作为一种治疗

高血压心脏病的方法。

3. 消化系统:对乙酰氨基酚 (acetaminophen, APAP) 所致的肝损伤对临床来说是一项重大挑战,Feng 等^[21]研究发现,富甲烷生理盐水可降低炎症细胞因子水平,抑制 NF- κ B 的表达,同时通过 Nrf2/HO-1/NQO1 信号通路及其下游产物的抗炎、抗氧化、抗内质网应激和抗凋亡特性来预防 APAP 诱导的肝损伤。此外,Arab 等^[22]的研究揭示了达帕利嗪通过激活 AMPK/mTOR 和 Nrf2/HO-1 通路,抑制 HMGB1/RAGE/NF- κ B 级联反应,增强结肠自噬,抑制细胞凋亡,从而减轻大鼠实验性炎症性肠病。通过上述研究可以看出,Nrf2/HO-1 通路在消化系统不同疾病的转归中均能发挥作用,且其激活方式不同,提示该通路可能具有广泛的结构体系及与不同信号通路之间的交叉影响。

4. 泌尿系统:慢性肾脏疾病 (chronic kidney disease, CKD) 与心血管疾病交织在一起已成为全球健康问题的主要负担。Fan 等^[23]研究发现,Sir6/Nrf2/HO-1 通路可以减轻血管紧张素 II 介导的 DNA 氧化损伤和足细胞损伤,从而在 CKD 中发挥保护作用。膜性肾病 (membranous nephropathy, MN) 是引起肾病综合征的多种肾小球疾病之一。研究显示,姜黄素通过调节 PI₃K/Akt/mTOR 和 Nrf2/HO-1 通路诱导自噬,减轻肾脏氧化应激,进而显著减轻 MN 的发生、发展。另外,Wang 等^[24]通过体内外实验发现激活 Nrf2/HO-1 可明显减轻草酸诱导的氧化损伤和尿草酸钙结石形成,这一结果可能为泌尿系结石的治疗开辟新的方向。

5. 神经系统:阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种起病隐匿、进行性发展的神经系统退行性疾病,主要发生于老年人群,且随着年龄的增长,其患病率显著升高,主要表现为记忆等认知或行为改变。大量研究表明,氧化应激是 AD 发病的一个重要的早期因素,并参与了淀粉样蛋白的生成。Kong 等^[25]研究发现,白藜芦醇干预可降低脑组织中 Nrf2 的含量,增加核 Nrf2 含量和 Nrf2 核转位率,同时上调 HO-1 的表达,提示 Nrf2/HO-1 通路参与了 AD 的抗氧化防御机制。Park 等^[26]研究证实,拓扑异构酶 I 抑制剂 β -拉帕醌 (β -lapachone) 通过上调星形胶质细胞中的 p-AMPK/Nrf2/HO-1 信号通路,对神经毒素 MPTP 诱导的帕金森病小鼠起到神经保护作用。通过上述研究可以看出,Nrf2 的调节作用已经在几种神经退行性疾病中显示出来,而不仅仅是 AD。

四、展 望

氧化应激和炎症反应相互作用、相互影响。Nrf2/HO-1 通路在氧化应激性疾病中的调控机制十分复杂,除抗炎和抗氧化作用外,还参与了线粒体稳态的维持以及细胞死亡的调节。然而,Nrf2 在人类疾病中扮演着复杂而多变的角色,不仅可以预防慢性病和癌症的发生,还可以促进癌细胞的存活,使肿瘤细胞对放化疗产生耐药性。Nrf2 和 HO-1 的双重作用表明,该信号通路的调节机制仍未完全阐明。因此,深入探究 Nrf2/HO-1 通路在氧化应激和炎症反应中的作用机制,可以为靶向药物治疗的研究提供分子基础,有助于实现 Nrf2/HO-1 通路在临床药物研究中的潜在价值。

参考文献

- Harrell CR, Jovicic N, Djonov V, *et al.* Mesenchymal stem cell - derived exosomes and other extracellular vesicles as new remedies in the therapy of inflammatory diseases[J]. *Cells*, 2019, 8(12): 1605
- Korytina GF, Akhmadishina LZ, Aznabaeva YG, *et al.* Associations of the NRF2/KEAP1 pathway and antioxidant defense gene polymorphisms with chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Gene*, 2019, 692: 102 - 112
- Somporn N, Prawan A, Senggunprai L, *et al.* Cellular adaptation mediated through Nrf2 - induced glutamate cysteine ligase up - regulation against oxidative stress caused by iron overload in β - thalassemia/HbE patients[J]. *Free Radic Res*, 2019, 53(7): 791 - 799
- Ali T, Kim T, Rehman SU, *et al.* Natural dietary supplementation of anthocyanins via PI₃K/Akt/Nrf2/HO - 1 pathways mitigate oxidative stress, neurodegeneration, and memory impairment in a mouse model of Alzheimer's disease[J]. *Mol Neurobiol*, 2018, 55(7): 6076 - 6093
- Wu XX, Huang XL, Chen RR, *et al.* Paeoniflorin prevents intestinal barrier disruption and inhibits lipopolysaccharide (LPS) - induced inflammation in Caco - 2 cell monolayers[J]. *Inflammation*, 2019, 42(6): 2215 - 2225
- Wang R, Luo Y, Lu Y, *et al.* Maggot extracts alleviate inflammation and oxidative stress in acute experimental colitis via the activation of Nrf2[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 4703253
- 黎昌江, 陈方安, 洪娟, 等. miR - 155 靶向 Nrf2/HO - 1 通路对高糖作用下视网膜血管内皮细胞氧化应激损伤的影响[J]. *东南大学学报: 医学版*, 2021, 40(5): 666 - 674
- Li H, Tang Z, Chu P, *et al.* Neuroprotective effect of phosphocreatine on oxidative stress and mitochondrial dysfunction induced apoptosis in vitro and in vivo: involvement of dual PI₃K/Akt and Nrf2/HO - 1 pathways[J]. *Free Radic Biol Med*, 2018, 120: 228 - 238
- Wu T, Yao H, Zhang B, *et al.* κ Opioid Receptor agonist inhibits myocardial injury in heart failure rats through activating Nrf2/HO - 1 pathway and regulating Ca²⁺ - SERCA2a[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 7328437
- Park HJ, Kim HN, Kim CY, *et al.* Synergistic protection by isoquercitrin and quercetin against glutamate - induced oxidative cell death in HT22 cells via activating Nrf2 and HO - 1 signaling pathway: neuroprotective principles and mechanisms of Dendropanax moribifera leaves[J]. *Antioxidants*, 2021, 10(4): 554
- Chen Y, Zhang P, Chen W, *et al.* Ferroptosis mediated DSS - in-

- duced ulcerative colitis associated with Nrf2/HO - 1 signaling pathway[J]. *Immunol Lett*, 2020, 225: 9 - 15
- Li X, Duan L, Yuan S, *et al.* Ferroptosis inhibitor alleviates Radiation - induced lung fibrosis (RILF) via down - regulation of TGF - β 1[J]. *J Inflamm (Lond)*, 2019, 16(1): 1 - 10
- Li W, Yang Y, Li Y, *et al.* Sirt5 attenuates cisplatin - induced acute kidney injury through regulation of Nrf2/HO - 1 and Bel - 2[J]. *Biomed Res Int*, 2019, 2019: 4745132
- Zhang J, Zhang X, Wen C, *et al.* Lotus seedpod proanthocyanidins protect against neurotoxicity after methyl - mercuric chloride injury[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2019, 183: 109560
- Huang C, Zhang C, Yang P, *et al.* Eldecalcitol inhibits LPS - induced NLRP3 inflammasome - dependent pyroptosis in human gingival fibroblasts by activating the Nrf2/HO - 1 signaling pathway[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2020, 14: 4901 - 4913
- Liu Y, Zhou J, Luo Y, *et al.* Honokiol alleviates LPS - induced acute lung injury by inhibiting NLRP3 inflammasome - mediated pyroptosis via Nrf2 activation in vitro and in vivo[J]. *Chin Med*, 2021, 16(1): 127
- Sun T, Jiao L, Wang Y, *et al.* SIRT1 induces epithelial - mesenchymal transition by promoting autophagic degradation of E - cadherin in melanoma cells[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(2): 136
- Arab HH, Gad AM, Reda E, *et al.* Activation of autophagy by sitagliptin attenuates cadmium - induced testicular impairment in rats: targeting AMPK/mTOR and Nrf2/HO - 1 pathways[J]. *Life Sci*, 2021, 269: 119031
- Wu D, Wang Y, Zhang H, *et al.* Acacetin attenuates mice endotoxin - induced acute lung injury via augmentation of heme oxygenase - 1 activity[J]. *Inflammopharmacology*, 2018, 26(2): 635 - 643
- Yang MY, Hung TW, Wang CJ, *et al.* Inhibitory effect of Nelumbo nucifera leaf extract on 2 - acetylaminofluorene - induced hepatocarcinogenesis through enhancing antioxidative potential and alleviating inflammation in rats[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2019, 8(9): 329
- Feng Y, Cui R, Li Z, *et al.* Methane alleviates acetaminophen - induced liver injury by inhibiting inflammation, oxidative stress, endoplasmic reticulum stress, and apoptosis through the Nrf2/HO - 1/NQO1 signaling pathway[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 7067619
- Arab HH, Al - Shorbagy MY, Saad MA. Activation of autophagy and suppression of apoptosis by dapagliflozin attenuates experimental inflammatory bowel disease in rats; targeting AMPK/mTOR, HMGB1/RAGE and Nrf2/HO - 1 pathways[J]. *Chem Biol Interact*, 2021, 335: 109368
- Fan Y, Cheng J, Yang Q, *et al.* Sirt6 - mediated Nrf2/HO - 1 activation alleviates angiotensin II - induced DNA DSBs and apoptosis in podocytes[J]. *Food Funct*, 2021, 12(17): 7867 - 7882
- Wang J, Bai Y, Yin S, *et al.* Circadian clock gene BMAL1 reduces urinary calcium oxalate stones formation by regulating NRF2/HO - 1 pathway[J]. *Life Sci*, 2021, 265: 118853
- Kong D, Yan Y, He XY, *et al.* Effects of resveratrol on the mechanisms of antioxidants and estrogen in Alzheimer's disease[J]. *Biomed Res Int*, 2019, 2019: 8983752
- Park JS, Leem YH, Park JE, *et al.* Neuroprotective effect of β - laphone in MPTP - induced Parkinson's disease mouse model: involvement of astroglial p - AMPK/Nrf2/HO - 1 signaling pathways[J]. *Biomol Ther (Seoul)*, 2019, 27(2): 178 - 184

(收稿日期: 2022 - 08 - 07)

(修回日期: 2022 - 08 - 22)