

DOI:10.3969/j.issn.1672-5565.201708001

# Nrf2 抗氧化的分子调控机制

李 慧, 杨 林\*

(哈尔滨工业大学 化工与化学学院, 哈尔滨 150001)

**摘要:** Nrf2 是调控细胞氧化应激反应的重要转录因子, 同时也是维持细胞内氧化还原稳态的中枢调节者。Nrf2 通过诱导调控一系列抗氧化蛋白的组成型和诱导型表达, 可以减轻活性氧和亲电体引起的细胞损伤, 使细胞处于稳定状态, 维持机体氧化还原动态平衡。本研究为了从分子层面深入探讨剖析 Nrf2 发挥抗氧化功能的作用机制, 通过查找阅读大量相关文献并进行整理归纳, 最终从 Nrf2 的结构与激活、Nrf2 抗氧化功能以及 Nrf2 抗氧化的分子调控机制三个方面进行了概述分析。其中在对 Nrf2 抗氧化的分子调控机制的探讨部分, 既探讨了 Nrf2 起激活作用的相关调节因子的作用机制, 又分析了 Nrf2 被激活后对其下游多种抗氧化因子及谷胱甘肽氧化还原系统的诱导调控机制, 以期较深入了解 Nrf2 抵抗机体氧化应激损伤作用及其抗氧化分子调控机制。

**关键词:** Nrf2; 氧化应激; 抗氧化; 分子调控; 机制

**中图分类号:** Q753      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1672-5565(2018)01-001-06

## Molecular regulatory mechanism of Nrf2 antioxidant

LI Hui, YANG Lin\*

(School of Chemical Engineering and Chemistry, Harbin Institute of Technology, Harbin 150001, China)

**Abstract:** Nrf2 is an important transcription factor that regulates the cellular oxidative stress responses and is also the central regulator in maintaining the intracellular redox homeostasis. Through the induction and regulation of the constitutive and inducible expression of a series of antioxidant proteins, Nrf2 can reduce the cell damage caused by reactive oxygen species and electrophiles, keep the cells in a stable state and maintain the redox dynamic equilibrium. To explore and analyze the functionary mechanism of Nrf2 antioxidant from the molecular level, we searched and read a large number of relevant literature and then summarized, and finally we conducted an overview analysis from three aspects of the structure and activation of Nrf2, the antioxidant function of Nrf2 and the molecular regulatory mechanism of Nrf2 antioxidant. Among them, in the part of investigating the molecular regulatory mechanism of Nrf2 antioxidant, we have explored the functionary mechanism of regulatory factors related with Nrf2 activation, and also have analyzed the inductive regulation mechanism of activated Nrf2 on its downstream various antioxidant factors and glutathione redox system who will be more in-depth understanding of the role and mechanism of Nrf2 in resisting oxidation stress injury in the body.

**Keywords:** Nrf2; Oxidative stress; Antioxidant; Molecular regulation; Mechanism

氧化应激是由细胞过度产生的活性氧(Reactive oxygen species, ROS)和亲电体引起的, 而过量的 ROS 又可以诱导自由基链反应, 破坏细胞生物大分子如蛋白质、脂质和 DNA 等, 并诱发一系列生活习惯性疾病, 如心脑血管疾病、老化、II 型糖尿病、癌症等<sup>[1-3]</sup>。

机体为控制 ROS 水平并防止其积累, 形成了一套复杂的抗氧化防御体系, 其中核因子 NF-E2 相关因子(Nuclear factor-erythroid 2-related factor 2, Nrf2)是一种重要的氧化还原敏感性转录因子, 其通过诱导调控细胞内 II 相解毒酶和抗氧化酶的组成型和诱导型表

收稿日期: 2017-08-02; 修回日期: 2017-09-20.

基金项目: 国家自然科学基金项目(No.31371755).

作者简介: 李慧, 女, 博士研究生, 研究方向: 功能性食品; E-mail: huili\_1024@163.com.

\* 通信作者: 杨林, 女, 教授, 博士生导师, 研究方向: 食品安全与功能研究; E-mail: ly6617@hit.edu.cn.

达,有利于改善机体氧化应激状态,促进细胞存活以及维持细胞的氧化还原稳态。本文主要是对 Nrf2 抗氧化的功能及其分子调控机制进行综述。

## 1 Nrf2 的结构及激活

Nrf2 蛋白在机体的多种组织(如肝、肾、脾、心等)的细胞内均有表达,且该蛋白分子包含 Neh1~Neh7 的 7 个结构域。其中,Neh1 具有 DNA 结合基序。Neh3、Neh4 和 Neh5 能够结合共激活因子,是 Nrf2 的反式激活结构域。Neh2、Neh6 和 Neh7 均能调节 Nrf2 的稳定性,其中又以 Neh2 为主,其含有 2 个可以结合胞浆蛋白 Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白-1(Kelch-like ECH-associated protein-1, Keap1) 的位点,命名为 ETGE 和 DLG,从而负调控 Nrf2 转录活性<sup>[4]</sup>。

在正常生理情况下,Nrf2 被 Keap1 锚定在细胞质中,而 Keap1 作为滞蛋白 3(Cullin 3, Cul3) 依赖性 E3 泛素连接酶复合物的作用底物,能够促使 Nrf2 发生泛素化且被蛋白酶体快速降解。但当细胞受到 ROS 或亲电体的攻击时,Nrf2 从 Keap1 中解离且快速转位进入细胞核,先与小 Maf 蛋白形成异二聚体,再结合抗氧化反应元件(Antioxidant response element, ARE),转录激活受 Nrf2 调控的抗氧化酶基因表达<sup>[5-6]</sup>。

## 2 Nrf2 抗氧化功能

Nrf2 调控 II 相解毒酶和抗氧化酶基因的协调和全面表达,同时,Nrf2 抗氧化性能也是保护组织免受由急性肺损伤、高氧和紫外(UV)光引起的氧化损伤所需要的。

Nrf2(-/-)小鼠模型为研究 Nrf2 对体内细胞保

护基因表达的影响提供了有价值的手段。尽管 Nrf2(-/-)小鼠本身不显示显著的表型,但这些动物对氧化应激条件敏感性增强。Nrf2(-/-)小鼠细胞内保护型基因的组成型和诱导型表达减少,但星形胶质细胞和神经元对氧化应激的敏感性增强。给小鼠注入线粒体复合物 II 抑制剂可引起脑损伤,这种情况下,如果进一步破坏 Nrf2 表达则会加剧病变,而若移植 Nrf2 过表达的星形胶质细胞则会减小病变<sup>[7]</sup>。因此,这些研究证实了 Nrf2 是防御 ROS 的基础,且暗示了脑、肺、神经和其它慢性疾病的发病机制之一可能与 Nrf2 缺乏有关。

另外,通过联合使用实时电子顺磁共振成像和自旋探针动力学分析两种方法测量野生型和 Nrf2(-/-)小鼠的氧化还原状态,揭示证实了 Nrf2 用于降低体内 ROS 水平。Nrf2(-/-)小鼠会形成更高水平的 DNA 加合物,并且在暴露于致癌物质后(如 N-亚硝基化合物,黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 和苯并[a]芘等),引起癌症发病率升高。在 Nrf2 缺陷型小鼠中,癌症化学预防药物如吡噻硫酮和萝卜硫素丧失作用,表明 Nrf2 在癌症化学预防中起关键作用<sup>[8]</sup>。

## 3 Nrf2 抗氧化的分子调控机制

Nrf2 要想发挥抗氧化性能,首先需要被激活,Nrf2 在被诱导活化过程中受到一些相关的调控因子影响,随后,被激活的 Nrf2 诱导调控下游一系列的抗氧化因子表达。因此,在 Nrf2 抗氧化的调控因子范畴中,既包含前提激活相关的调控因子,又包含调节的下游抗氧化因子或抗氧化系统(如图 1),这里介绍其中比较典型重要的几种因子和抗氧化系统的作用及机制。

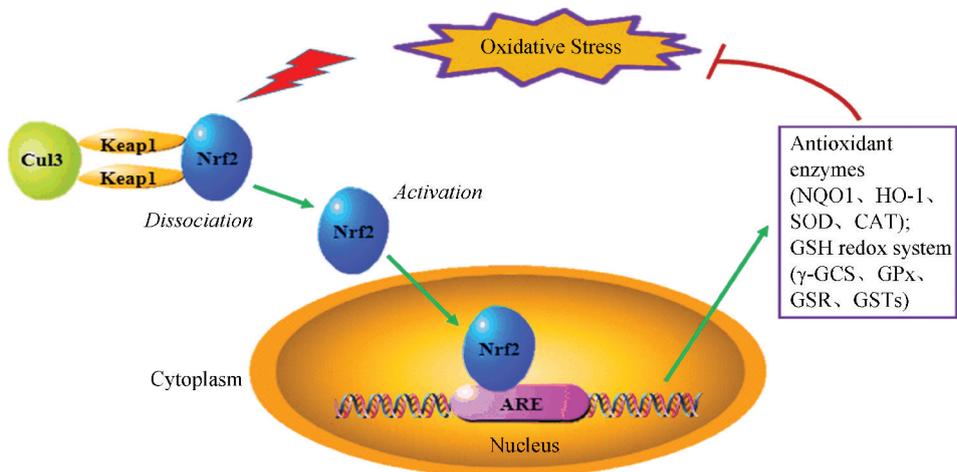


图 1 Nrf2 抗氧化的分子调控通路

Fig.1 The molecular regulation pathways of Nrf2 antioxidant

### 3.1 Nrf2 激活相关的调控因子

#### 3.1.1 Keap1

Nrf2 与 Keap1 的联系性是通过其 N 末端 Neh2 结构域实现的, Neh2 与 Keap1 相互作用, 负调控 Nrf2 功能。Keap1 具有 2 个特征域, 即 Broad Complex-Tramtrack-Bric'a'brac (BTB) 的二聚化结构域和双甘氨酸重复 (Double glycine repeat, DGR) 结构域。此外, Keap1 上还有三个结构域: N 末端结构域 (N-terminal region, NTR), 干预区域 (Intervening region, IVR), 以及 C-末端结构域 (C-terminal region, CTR)。Keap1 利用其 DGR 域与 Nrf2 的 Neh2 域结合。而 Nrf2 和 Keap1 之间的相互作用是通过以下经典的遗传实验得到证实的: 实验采用 Keap1 (-/-) 小鼠模型, 发现其由于食道和胃肠道过度角化而在出生后 3 周内死亡, 但是通过同时敲除 Nrf2, 可以将小鼠从致死性中拯救出来<sup>[9]</sup>。随后, 采用小干扰 RNA (siRNA) 技术敲除人类细胞中 Keap1 的方法, 证实了受 ARE 驱动的基因的上调<sup>[10]</sup>。实验结果均有力证实了 Keap1 是 Nrf2 的主要负调节器。

对于 Nrf2 与 Keap1 的结合及 Nrf2-Keap1 复合物对刺激物的反应, 近来的研究还提出了一个“铰链与门闩 (Hinge and latch)”的相互作用理论。研究发现, Nrf2 的 Neh2 结构域含有 2 个 Keap1 结合位点: DLG 基序和 ETGE 基序, 能够形成一分子 Nrf2 和两分子 Keap1 的复合物。且这两个位点具有不同的结合亲和力: DLG 基序对 Keap1 的亲和力比 ETGE 弱得多, 这导致了 DLG-Keap1 的假设“门闩”式结合, 其很容易被 Keap1 构象变化所扰乱。在正常情况下, Keap1 与 DLG 结合并导致随后的 Nrf2 被泛素化及蛋白酶体降解; 而在氧化应激状态下, Keap1 失去与 DLG 的结合, 可以阻止 Nrf2 发生泛素化及被蛋白酶体快速降解, 新合成的 Nrf2 得以转移并聚集到细胞核内<sup>[11]</sup>。

Keap1 是富含半胱氨酸的蛋白质, 最初推测其巯基残基的修饰导致蛋白质构象变化。事实上, 氧化应激和许多外源性化学物刺激的条件可能改变 Keap1 的半胱氨酸残基的还原状态并使 Nrf2 易位。研究证明, Keap1 上 Cys151、Cys273 和 Cys288 对 Keap1 功能发挥起至关重要的作用。其中, 位于 IVR 域的 Cys273 和 Cys288 对 Keap1 的抑制活性至关重要, 当 Cys273 和 Cys288 发生氧化或共价修饰时, 可以使依赖于 Keap1 的泛素化降低且使 Nrf2 的稳定性增强。而位于 BTB 域的 Cys151 被氧化或共价修饰时, 可使 Nrf2 的抑制和泛素化减少, 诱导 Nrf2 从 Keap1 中释放出来<sup>[8]</sup>。总之, 这些结果表明 Keap1 是通过其关键位点的半胱氨酸残基还原状态

的动态变化来响应氧化和环境胁迫的传感蛋白。

#### 3.1.2 Cul3

Cul3 作为支架蛋白参与构成 E3 泛素连接酶复合物。对于 Cul3 和 Nrf2 之间的功能关系, 一方面, 通过采用显性抑制等位基因的过表达或 Cul3 特异性短发夹 RNA 的表达的方式来抑制 Cul3, 实验结果, 通过脉冲追踪分析评估得到稳态 Nrf2 水平上升, Nrf2 周转减少, 另外通过 Nrf2 依赖性基因表达的分析评估得到 Nrf2 蓄积增加, Nrf2 活性增强; 另一方面, Cul3 的过度表达会促使 Nrf2 发生多聚泛素化, 从而降低 Nrf2 的蛋白水平, 而 Cul3 的敲除 (或显性抑制性 Cul3 表达) 减少了 Nrf2 多聚泛素化<sup>[8]</sup>。

Cul3 与 Keap1 的 BTB 域相互作用, 促进正常生理条件下蛋白酶体对 Nrf2 的持续降解, 这个过程中 Keap1 起到衔接 Nrf2 和 Cul3 间的桥梁作用<sup>[11]</sup>。而 Keap1 在其 BTB 域内预测的与 Cul3 相互作用的界面的突变则导致 Neh2 泛素化减少以及 Keap1 活性的下调<sup>[8]</sup>。

### 3.2 Nrf2 调控的抗氧化因子

#### 3.2.1 NQO1

NAD(P)H: 醌氧化还原酶 1 (NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1, NQO1) 是一种同源二聚体黄素酶, 通过单步双电子还原反应, 可以催化醌还原成氢醌, 从而促进醌的排泄, 否则醌通过单电子还原反应形成半氢醌, 而半氢醌又能够通过氧化还原循环产生 ROS, 因此 NQO1 能够阻止环境胁迫剂对 DNA 造成氧化损伤。此外, NQO1 通过维持泛醌和  $\alpha$ -生育酚醌的还原形式, 在保护内源性抗氧化剂中起重要作用<sup>[11]</sup>。

研究者通过给予 Nrf2 (-/-) 小鼠以含有诱导剂 BHA、乙氧喹、吡嗪硫酮或吡啶-3-甲醇的膳食, 并进行蛋白印迹法检测, 发现其肝脏丧失了诱导 NQO1 蛋白表达的能力。此外, 在 Nrf2 (-/-) 小鼠的肝脏中, NQO1 蛋白在正常生理条件下是不可检测的。相应地, 对来自这些动物肝脏中的 NQO1 酶活性进行测试, 也显示出这些突变小鼠在正常生理条件下功能蛋白的显著降低, 虽然在 BHA 处理条件下观察到少量诱导。对 Nrf2 (-/-) 小鼠的肝、肾、胃、小肠、大肠和肺中的 NQO1 mRNA 水平进行检测, 发现 NQO1 的组成型和诱导型表达均减弱, 而最明显的变化是 Nrf2 (-/-) 小鼠在大多数组织中且正常生理条件下的 NQO1 mRNA 水平, 低于同样条件下在野生型小鼠中观察到的 20%。有时在 Nrf2 (-/-) 小鼠的某些组织中观察到 BHA 对 NQO1 的适度诱导, 但是鉴于正常条件下在突变小鼠中检测到的低水平的 mRNA, 由 BHA 产生的诱导意义是

不确定的<sup>[12]</sup>。因此, Nrf2 是正常内稳态和氧化应激条件下 NQO1 表达的中心控制因子。

### 3.2.2 HO-1

血红素氧合酶 1 (Heme Oxygenase-1, HO-1) 主要催化血红素分解代谢成亚铁、一氧化碳和胆绿素, 是一种重要的抗氧化酶。一方面, 血红素基团的降解有利于阻止其促氧化作用。另一方面, 副产物胆绿素及其还原型胆红素具有有效的 ROS 清除活性, 以抵御过氧化物、过氧亚硝酸盐、羟基和超氧化物自由基<sup>[13]</sup>。

HO-1 mRNA 和蛋白表达可以在受到氧化应激和细胞损伤后上调, 而 Nrf2 也可以直接调节 HO-1 启动子活性, 因为对 HO-1 启动子的分析, 鉴定出了其与 ARE 类似的结合位点。当体外暴露于各种有毒物质, 包括马来酸二乙酯、百草枯和氯化镉, 野生型而非 Nrf2 (-/-) 腹膜巨噬细胞能够诱导 HO-1 mRNA 和蛋白质表达<sup>[14]</sup>。此外, HO-1 也被认为参与血管保护。HO-1 的过度表达, 可以对诸如动脉粥样硬化和心肌缺血-再灌注损伤等的心血管疾病, 起防御保护作用。其中, 心肌细胞经由 Nrf2 依赖性机制, 产生的由诱导剂 3H-1, 2-dithiole-3-thione (D3T) 诱导的 HO / HO-1 的显著表达, 可能是保护心肌细胞对抗氧化损伤的重要途径<sup>[15]</sup>。

### 3.2.3 SOD

超氧化物歧化酶 (Superoxide Dismutase, SOD) 是机体内清除氧自由基, 尤其是清除超氧阴离子自由基的一种重要的抗氧化酶<sup>[16]</sup>。

在一项研究中发现了 SOD 比较特别的一点, 即总 SOD 的基础水平在 Nrf2 (-/-) 和野生型心脏成纤维细胞间并没有差异, 表明心脏成纤维细胞的 SOD 的基础表达不依赖于 Nrf2 的调控作用。但在 D3T 处理后, 野生型成纤维细胞的 SOD 活性显著提高, 而在 Nrf2 (-/-) 细胞中 SOD 的 D3T 诱导活性完全消除, 由此表明心脏成纤维细胞的 SOD 的诱导表达依赖于 Nrf2 的调控作用。同时, 这一观察结果与之前的报道一致, 即肝细胞中的 MnSOD 基因表达以 Nrf2 依赖性方式被 D3T 诱导, 从而表达增强。然而, 也有一些研究发现对野生型的巨噬细胞, 心肌细胞进行 D3T 处理, 却并不能诱导 SOD 表达。由此表明, 在不同的细胞类型中, Nrf2 似乎在调节 SOD 的诱导表达方面发挥着不同的作用<sup>[15,17]</sup>。

### 3.2.4 CAT

过氧化氢酶 (Catalase, CAT) 是催化 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 分解产生 H<sub>2</sub>O 和 O<sub>2</sub> 的酶, 由于 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 是一种活性分子, 能够导致羟基自由基的产生, 因此 CAT 通过清除 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 表现出抗氧化损伤的活性<sup>[18]</sup>。对 Nrf2 参与调节细

胞 CAT 诱导表达的研究表明 Nrf2 (-/-) 细胞中 CAT 的基础活性降低, 但野生型心肌细胞经 D3T 处理后引起 CAT 显著诱导表达, 并且这种诱导表达具有 Nrf2 依赖性。此外, 心肌细胞经 D3T 处理诱导 CAT 蛋白表达具有浓度依赖性, 然而在野生型心肌细胞中当 D3T 的处理浓度达到 100 μM 时, 虽然 CAT 蛋白水平进一步增加, 却并没有导致 CAT 酶活性的额外增强, 这表明 D3T 的较高浓度 (100 μM) 对 CAT 酶活性产生负面影响。这个观点也与 Nrf2 (-/-) 心肌细胞的观察一致, 即经 100 μM D3T 处理后引起 CAT 酶活性显著降低而不影响其蛋白水平。而 100 μM D3T 如何抑制 Nrf2 (-/-) 心肌细胞中的 CAT 酶活性目前尚不清楚<sup>[15]</sup>。

## 3.3 Nrf2 调控的 GSH 氧化还原系统

机体内的谷胱甘肽 (L-γ-glutamyl-cysteinyl-glycine, GSH) 氧化还原系统能够维持细胞氧化还原平衡, 防止氧化损伤, 同时在自由基清除中也起着重要作用。GSH 氧化还原系统与 Nrf2 抗氧化间的联系首先表现在 Nrf2 调控 GSH 的生物合成, 且主要是调控 GSH 生物合成的限速酶——γ-谷氨酰半胱氨酸合成酶 (γ-glutamyl cysteine synthetase, γ-GCS) 的基础和诱导表达。研究者通过给予 Nrf2 (-/-) 心肌细胞以 D3T 处理, 发现 D3T 介导的 γ-GCS 的蛋白和 mRNA 的诱导表达完全消除, 表明 Nrf2 对于 D3T 介导的 γ-GCS 诱导表达以及随后的心肌细胞 GSH 含量升高至关重要。同时, γ-GCS 的催化亚基 GCLC 的 mRNA 水平也以 Nrf2 依赖性方式在 D3T 诱导处理下增加<sup>[15]</sup>。

其次, Nrf2 还调节 GSH 的再生。Nrf2 控制谷胱甘肽过氧化物酶 (Glutathione peroxidase, GPx) 表达, 其在过氧化物的解毒过程中利用 GSH 作为辅因子, 将其氧化成氧化型谷胱甘肽 (GSSG)。随后, Nrf2 调控的另一种抗氧化酶——谷胱甘肽还原酶 (glutathione reductase, GSR) 又利用 NADPH 作为辅因子, 将上述 GPx 作用产生的 GSSG 还原再生为 GSH<sup>[19]</sup>。

另外, Nrf2 还调控另一种 II 相解毒酶——谷胱甘肽 S 转移酶 (Glutathione-S-transferases, GSTs) 的表达。GSTs 在各种类型亲电试剂的解毒中发挥作用, 特别是由致癌物、ROS 和脂质过氧化产物的活化产生的亲电试剂。研究表明, Nrf2 (-/-) 小鼠中 GSTs 的 mRNA 和蛋白表达均减少, 且 Nrf2 是 BHA 和乙氧喹介导的 GSTs 诱导表达所必需的。相反地, Keap1 (-/-) 小鼠中 GSTs 的许多亚型的 mRNA 表达显著增加<sup>[14]</sup>。由此, 以上研究表明 Nrf2 在调控 GSH 氧化还原系统中起关键作用。

## 4 结 论

本文在阐述 Nrf2 抗氧化的分子调控机制过程中,主要围绕以下三点进行整理概括:1)描述 Nrf2 的结构及激活,以为后续对 Nrf2 抗氧化的分子调控机制的阐述做铺垫;2)概述 Nrf2 抗氧化功能,并指出本综述中主要研究对象:Nrf2(-/-)小鼠模型;3)重点阐述了 Nrf2 抗氧化通路中一些主要相关的调控因子,按照从上游到下游,从被激活到起作用思路展开探讨。由此进一步证实了 Nrf2 蛋白在机体抵抗氧化应激损伤,维持细胞氧化还原内稳态中发挥着十分重要的作用。

通过本研究可以体会到目前对 Nrf2 抗氧化的分子调控机制有了一定的了解,并且这方面的研究在不断深入。本文当中阐述的 Nrf2 抗氧化相关的调控因子既包含对 Nrf2 激活起作用的调节因子,又包含 Nrf2 被激活后诱导调控的下游多种抗氧化因子,涉及到的相关因子种类较多,尤其是后者,但其抗氧化贡献相对更为直接,这些抗氧化因子在被诱导激活后能够调节维持机体内氧化还原平衡。但由于涉及因子多样性及各因子间可能存在的错综复杂的关系,目前的了解还非常有限。未来对 Nrf2 抗氧化的分子调控机制的研究,应着重于对 Nrf2 激活及其调控的抗氧化靶基因表达机制的全面透彻的研究,以期为抗氧化治疗提供新思路,为防治多种疾病提供重要的参考。

## 参考文献(References)

[1]蔡继翔,刘焯,梁明才,等.单细胞凝胶电泳应用研究进展[J].生物信息学,2016,14(2):95-99. DOI: 10.3969/j.issn.1672-5565.2016.02.05.

CAI Jixiang, LIU Ye, LIANG Mingcai, et al. The research progress about the application of single cell gel electrophoresis[J]. China Journal of Bioinformatics, 2016, 14 (2) :95-99. DOI: 10.3969/j.issn.1672-5565.2016.02.05.

[2]邵翹,杨林.调控胆固醇吸收的分子通路[J].生物信息学,2015,13(4):239-243. DOI: 10.3969/j.issn.1672-5565.2015.04.06.

SHAO Chi, YANG Lin. The molecular pathways of cholesterol absorption regulation [J]. China Journal of Bioinformatics, 2015, 13(4):239-243. DOI: 10.3969/j.issn.1672-5565.2015.04.06.

[3]彭雪,杨林,刘巧红,等.大米蛋白调控成熟期大鼠 LDLR基因及蛋白表达[J].生物信息学,2013,11(2):120-123. DOI: 10.3969/j.issn.1672-5565.2013.02.08.

PENG Xue, YANG Lin, LIU Qiaohong, et al. Rice protein

affects gene and protein expressions of LDLR in adult rats [J]. China Journal of Bioinformatics, 2013, 11 (2) :120-123. DOI: 10.3969/j.issn.1672-5565.2013.02.08.

[4]王朝阳,荆黎.核转录因子E2相关因子2和Keap1的分子结构和功能及其信号通路调控分子机制研究进展[J].中国药理学与毒理学杂志,2016,30(5):598-604. DOI: 10.3867/j.issn.1000-3002.2016.05.018.

WANG Zhaoyang, JING Li. Research progress in molecular structure and function of nuclear factor erythroid 2 related factor 2 and Keap1 and regulation mechanism of signal pathways[J]. Chinese Journal of Pharmacology and Toxicology, 2016, 30 (5) :598-604. DOI: 10.3867/j.issn.1000-3002.2016.05.018.

[5]HO C Y, CHENG Y T, CHAU C F, et al. Effect of diallyl sulfide on in vitro and in vivo Nrf2-mediated pulmonary antioxidant enzyme expression via activation ERK/p38 signaling pathway[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2012, 60(1):100-107. DOI: 10.1021/jf203800d.

[6]HEISS E H, DANIEL S, KRISTIN Z, et al. Glucose availability is a decisive factor for Nrf2-mediated gene expression [J]. Redox Biology, 2013, 1 (1) :359-365. DOI: 10.1016/j.redox.2013.06.001.

[7]CALKINS M J, JAKEL R J, JOHNSON D A, et al. Protection from mitochondrial complex II inhibition in vitro and in vivo by Nrf2-mediated transcription[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2005, 102 (1) :244-249. DOI: 10.1073/pnas.0408487101.

[8]KOBAYASHI M, YAMAMOTO M. Nrf2-Keap1 regulation of cellular defense mechanisms against electrophiles and reactive oxygen species[J]. Advances in Enzyme Regulation, 2006, 46(1):113-140. DOI: 10.1016/j.advenzreg.2006.01.007.

[9]WAKABAYASHI N, ITOH K, WAKABAYASHI J, et al. Keap1-null mutation leads to postnatal lethality due to constitutive Nrf2 activation[J]. Nature Genetics, 2003, 35 (3) :238-245. DOI: 10.1038/ng1248.

[10]DEVLING T W P, LINDSAY C D, MCLELLAN L I, et al. Utility of siRNA against Keap1 as a strategy to stimulate a cancer chemopreventive phenotype [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2005, 102 (20) :7280-7285. DOI: 10.1073/pnas.0501475102.

[11]JUNG K A, KWAK M K. The Nrf2 system as a potential target for the development of indirect antioxidants [J]. Molecules, 2010, 15 (10) :7266-7291. DOI: 10.3390/molecules15107266.

[12]NIOI P, HAYES J D. Contribution of NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 to protection against carcinogenesis, and regulation of its gene by the Nrf2 basic-region leucine zipper and the arylhydrocarbon receptor basic helix-loop-helix

- transcription factors [ J ]. Mutation Research, 2004, 555(1-2):149-171. DOI: 10.1016/j.mrfmmm.2004.05.023.
- [ 13 ] GONZALEZBURGOS E, CARRETERO M E, GOMEZSERRANILLOS M P. Diterpenoids Isolated from *Sideritis* species protect astrocytes against oxidative stress via Nrf2[ J ]. Journal of Natural Products, 2012, 75(10): 1750-1758. DOI: 10.1021/np300418m.
- [ 14 ] KLAASSEN C D, REISMAN S A. Nrf2 the rescue: Effects of the antioxidative/ electrophilic response on the liver[ J ]. Toxicology & Applied Pharmacology, 2010, 244(1): 57-65. DOI: 10.1016/j.taap.2010.01.013.
- [ 15 ] ZHU H, JIA Z, MISRA B R, et al. Nuclear factor E2-related factor 2-dependent myocardial cytoprotection against oxidative and electrophilic stress [ J ]. Cardiovascular Toxicology, 2008, 8(2): 71-85. DOI: 10.1007/s12012-008-9016-0.
- [ 16 ] 杨力明, 杨谦, 刘丕钢, 等. 哈茨木霉超氧化物歧化酶基因克隆与特性分析[ J ]. 生物信息学, 2007, 5(4): 148-150. DOI: 10.3969/j.issn.1672-5565.2007.04.002.
- YANG Liming, YANG Qian, LIU Pigang, et al. Cloning and characterization analysis of superoxide dismutase gene from *Trichoderma harzianum*[ J ]. Chinese Journal of Bioinformatics, 2007, 5(4): 148-150. DOI: 10.3969/j.issn.1672-5565.2007.04.002.
- [ 17 ] ZHU H, ITOH K, YAMAMOTO M, et al. Role of Nrf2 signaling in regulation of antioxidants and phase 2 enzymes in cardiac fibroblasts: Protection against reactive oxygen and nitrogen species-induced cell injury[ J ]. Febs Letters, 2005, 579(14): 3029-3036. DOI: 10.1016/j.febslet.2005.04.058.
- [ 18 ] 陈姗姗, 郭晋隆, 李国印, 等. 甘蔗过氧化氢酶基因的电子克隆及生物信息学分析[ J ]. 生物信息学, 2012, 10(1): 65-70. DOI: 10.3969/j.issn.1672-5565.2012.01.16.
- CHEN Shanshan, GUO Jilong, LI Guoyin, et al. Electronic cloning and characterization of CAT gene from *Saccharum officinarum* using bioinformatics tools[ J ]. Chinese Journal of Bioinformatics, 2012, 10(1): 65-70. DOI: 10.3969/j.issn.1672-5565.2012.01.16.
- [ 19 ] NAIDU S D, KOSTOV R V, DINKOVA-KOSTOVA A T. Transcription factors Hsf1 and Nrf2 engage in crosstalk for cytoprotection[ J ]. Trends in Pharmacological Sciences, 2014, 36(1): 6-14. DOI: 10.1016/j.tips.2014.10.011.