

Nrf2及激动剂与肝脏疾病的关系

韩菲, 郭沛然, 王飞, 侯冬杰, 孙玉凤

韩菲, 王飞, 侯冬杰, 孙玉凤, 河北医科大学第二医院消化内科 河北省石家庄市 050000

郭沛然, 河北医科大学 河北省石家庄市 050000

韩菲, 主要从事中西医结合内科的研究.

作者贡献分布: 韩菲负责文献相关资料的搜集、整理及论文的撰写工作; 孙玉凤负责制定论文研究方向及论文修改; 郭沛然、王飞及侯冬杰负责收集相关资料.

通讯作者: 孙玉凤, 教授, 主任医师, 050000, 河北省石家庄市新华区和平西路215号, 河北医科大学第二医院消化内科.

sunyufey@163.com

收稿日期: 2013-11-26 修回日期: 2013-12-21

接受日期: 2013-12-27 在线出版日期: 2014-04-28

Nrf2 and Nrf2 activators in hepatic diseases

Fei Han, Pei-Ran Guo, Fei Wang, Dong-Jie Hou, Yu-Feng Sun

Fei Han, Fei Wang, Dong-Jie Hou, Yu-Feng Sun, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China

Pei-Ran Guo, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China

Correspondence to: Yu-Feng Sun, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, 215 Heping West Road, Xinhua District, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. sunyufey@163.com

Received: 2013-11-26 Revised: 2013-12-21

Accepted: 2013-12-27 Published online: 2014-04-28

Abstract

Oxidative stress is evidently related to hepatic diseases. Nuclear erythroid-2 related factor 2 (Nrf2) is one of the most important regulators of cells' protection against oxidative stress. Nrf2 induces the transcription of a wide array of genes encoding antioxidant enzymes and detoxification enzymes, cleans reactive oxygen species and relieves apoptosis. This review aims to illustrate the Nrf2/Keap1-ARE antioxidant pathway, investigate its relation with hepatic diseases and discuss the potential therapeutic effect of Nrf2 activators.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Oxidative stress; Nrf2; Reactive oxygen species

Han F, Guo PR, Wang F, Hou DJ, Sun YF. Nrf2 and Nrf2

activators in hepatic diseases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(12): 1651-1657 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1651.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1651>

摘要

氧化应激与肝脏疾病关系密切. 核因子E2相关因子2(Nuclear erythroid-2 related factor 2, Nrf2)是细胞抵御氧化应激的一个重要调控因子, 可诱导抗氧化酶及Ⅱ相解毒酶的表达, 清除活性氧族, 减轻细胞凋亡. 本文对Nrf2/Keap-ARE抗氧化通路进行概述, 探讨其与肝脏疾病的联系以及Nrf2激动剂潜在的治疗作用.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 氧化应激; 核因子E2相关因子2; 活性氧族

核心提示: 氧化应激是诸多肝脏疾病共同的发病机制, 核因子E2相关因子2(nuclear erythroid-2 related factor 2, Nrf2)作为机体重要的抗氧化蛋白, 可通过Keap-1/ARE特异激活, 从而发挥保护肝细胞作用. 其激动剂已在诸多基础实验中取得显著成效, 故Nrf2激动剂的开发显得尤为必要.

韩菲, 郭沛然, 王飞, 侯冬杰, 孙玉凤. Nrf2及激动剂与肝脏疾病的关系. 世界华人消化杂志 2014; 22(12): 1651-1657 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1651.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i12.1651>

0 引言

核因子E2相关因子2(nuclear erythroid-2 related factor 2, Nrf2)是一个由氧化应激介导的转录因子, 伴随一系列下游目的基因以保护细胞. Nrf2近年来被当作治疗肝脏疾病的一个新靶点. 在常见肝病如非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)、脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)、酒精性肝病和药物引起的肝损伤中, Nrf2的激活可延缓这些疾病的进程.

1 Nrf2的概述

Nrf2首次从人类白血病细胞系(K562)的互补DNA文库中克隆出来, 具有高度保守碱性亮氨

■背景资料

氧化应激贯穿于诸多肝脏疾病的整个过程, 且与胰岛素抵抗、脂代谢等机制密切相关, 核因子E2相关因子2(nuclear erythroid-2 related factor 2, Nrf2)是重要的抗氧化蛋白, 可激活下游HO-1等发挥抗氧化机制.

■同行评议者

胡国信, 副教授, 主任医师, 南昌大学第一附属医院传染科

■ 研发前沿

目前关于Nrf2及其激动剂的研究停留于基础实验,临床相关研究较少,大量药物如姜黄素等可特异激活Nrf2-Keap1通路,然而Nrf2的激动剂尚未作为上市药品广泛应用于临床。

酸拉链结构(bZIP). 由于C端的DNA结合域和N端的酸性活化域, bZIP的氨基酸序列与之前证实的NF-E2及Nrf1高度相似. 此外, Nrf2在人体组织中普遍表达, 并在解毒组织尤其是肝、肾组织中表达较高^[1].

抗氧化反应元件(antioxidant reactive element, ARE)是一段位于解毒基因上游启动子区域的DNA序列, Nrf2与之结合从而调控抗氧化酶的表达^[2]. 在内环境稳态的情况下, Nrf2通过N端与Kelch样环氧氯丙烷相关蛋白1(Kelch-like ECH-associated protein1, Keap1)结合锚定在胞质内, 从而抑制Nrf2活化^[3]. 当受到来自活性氧或亲核剂信号攻击后, Nrf2和Keap1解离^[4,5], 转位进入细胞核, 与一系列转录调节蛋白结合为异二聚体. 常见的交互作用包括与转录调节因子Jun和Fos的反应, 二者均为转录因子的活化蛋白1家族的成员^[6,7]. 通过二聚化, 这些复合物与AREs结合一方面可激活转录, 如Jun-Nrf2复合物^[6], 另一方面可抑制转录, 如Fos-Nrf2复合物^[7]. 被激活或抑制ARE的位点决定了哪些下游基因的转录将受到这些因素调控. 本综述旨在强调Nrf2及其下游基因在细胞水平的作用, 包括药物代谢、活性氧族(reactive oxygen species, ROS)的清除、谷胱甘肽水平的调节以及应激蛋白的变化等. 如果Nrf2可以产生这些特定效应, 则可将Nrf2作为一个潜在的药物治疗以抵御肝细胞损伤.

2 Nrf2在肝损伤和肝病中的作用

作为代谢的第一站, 肝脏通常暴露在较高浓度的外源物和其他化学物质下, 因此肝脏具备一系列机制以抵御有害化学物质及其代谢产物. 尽管如此, 肝脏仍易受到中间活性物质引起的氧化损伤. 这是人类健康的一个巨大困境, 因为随着年龄增长, 机体抵御氧化应激的能力逐渐衰退, 使得年长个体更易产生肝损伤和肝脏疾病. 氧化损伤与一些肝病密切相关, 例如: NASH^[8]、肝硬化^[9]、急性肝炎^[10], 甚至于肝癌^[11]. 此外, 由于肝脏毒性效应, 无法进行更深层的药物试验, 氧化应激引发的肝损伤常阻碍治疗进展. 因此, 抵御毒性的能力以及降低肝脏的毒性易感性变得十分有价值.

大量文献提示在氧化应激过程中产生的第一、二阶段的药物代谢酶、外向转运蛋白以及其他细胞保护蛋白受到Nrf2调控. Nrf2基因敲除鼠的发展为研究Nrf2在疾病中的发病机制和抵御肝毒性的保护作用提供了良好平台. 除此之

外, 新兴的Nrf2激动剂和抑制剂不断涌现并用于研究Nrf2信号通路.

Nrf2基因敲除鼠可用于观察细胞内谷胱甘肽(glutathione, GSH)合成力. GSH通过解毒有害化学物质、直接或间接以酶形式与有毒物质结合保护细胞免受氧化应激. 长期暴露在有毒物质下会消耗GSH并最终导致氧化应激. Nrf2的解毒作用将通过以下几种途径: 首先, 有研究发现Nrf2基因敲除鼠模型组肝细胞GSH水平下降, 表明Nrf2敲除潜在影响GSH的合成机制^[12]. 除了该模型鼠缺乏GSH外, GSH与有毒化学物质的结合能力亦下降. N谷胱甘肽-S转移酶参与催化二者的结合, 而该酶在Nrf2基因敲除鼠体内的表达水平较低^[13].

血红素加氧酶-1(或热休克蛋白32)(heme oxygenase-1, HO-1)是氧化应激过程中另一个受Nrf2调控的靶物质. HO-1通过降解促氧化作用的游离血红素生成CO及胆红素以抵御细胞内氧化应激. 目前已证实氧化应激以及HO-1启动子的ARE上游的Nrf2可诱导鼠Hepa细胞HO-1表达^[14]. 此外, 野生型鼠体内提取的巨噬细胞通过有毒物质刺激可诱导HO-1生成, 而Nrf2基因敲除鼠HO-1表达未改变^[15]. Reisman等^[16]最近研究表明Nrf2激动剂CDDO-Im(一类三萜抗癌化合物)可诱导野生型鼠肝组织HO-1的表达, 而Nrf2基因敲除鼠HO-1表达未改变, 证实Nrf2在调控细胞保护蛋白方面发挥了十分重要的作用.

此外, 一些研究提示大鼠模型和除肝损伤、肝病之外的人生理功能有相似之处. 例如, Nrf2基因敲除鼠急性肾损伤加剧^[17], 与此同时, 女性系统性红斑狼疮患者(一种伴随氧化应激及Nrf2基因G-653A位点突变的自身免疫性疾病)表现出严重肾炎^[18]. 另一个相关案例体现在Nrf2的活化在皮肤癌发病中起一定作用. 研究表明, Nrf2被激活的大鼠皮肤癌发生率较低^[19], 并且最近有关人类癌组织的一项研究表明皮肤鳞癌细胞Nrf2基因突变率较高^[20].

3 Nrf2激动剂: 一类新的治疗药物

在过去的数年间, 众多天然的和人工合成的化合物已被证实一系列的系统中可激活Nrf2. Nrf2的化学诱导剂按其化学结构归纳为10类. 这些化合物的其中一部分已用于临床试验以治疗多发性硬化症、肌营养不良、皮肤癌和慢性肾病等并取得一定疗效. 目前临床研究尚未开展到肝病领域, 通过总结Nrf2在其他疾病阶段所发

挥的治疗效果可推测Nrf2的活化可能缓解不同类型的肝脏损伤和疾病。

例如, Pergola在最近的一项研究中通过观察2型糖尿病合并慢性肾病(chronic kidney disease, CKD)患者给予bardoxolone(三萜类化合物, 一种抗氧化炎症调节因子)对肾功能的影响^[21]。最终发现, 经过4 wk给药肾小球滤过率(glomerular filtration rate, GFR)稳固升高(血压未变化)且统计学有显著差异, 此外, 继续给予4 wk更高剂量时GFR仍持续升高。在第56天同基础水平相比, 血肌酐水平下降, 相应的内生肌酐清除率上升。实验过程中, 患者未有证据表现出肝毒性且血胆红素和乳酸脱氢酶水平均未改变。同de Zeeuw等^[22]的短尾猴研究结果一致, 经bardoxolone治疗的短尾猴肝脏组织病理学检查未表现出异常。尽管, 该研究并未提到在不伴随严重不良反应的前提下, 经过更长时间给药是否仍维持该效应, bardoxolone及Nrf2的激活剂用于缓解肾病进程还是首次。作为后续研究, 研究人员证实CKD患者经过治疗在第24和52周GFR显著升高^[21], 表明该药物的治疗作用可长久维持并且bardoxolone可作为CKD患者的潜在治疗药物。然而, 该领域的一些专家认为GFR的升高可能源于肾小球血流动力学的改变(尤其是球内压升高)而不是纤维化的改善^[23,24]。针对这些评论, 作者强调即使终止治疗后GFR仍持续升高4 wk, 表明这一结果并非与球内流体静力学压力改变一致。

除了CKD的相关研究之外, 最近研究发现bardoxolone在大鼠缺血模型中有一定抵御急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)的能力^[25]。先前研究亦表明Nrf2的激动剂莱菔硫烷可一定程度阻止大鼠AKI的进程^[26], 并且Nrf2基因敲除鼠缺血性的急性肾损伤较为恶化^[17]。同这些结论相比较, 肾组织缺血再灌注可导致血尿素氮浓度升高, Wu等^[26]最近的研究表明经bardoxolone预处理可以阻止这一现象。此外, 同未用药组的模型鼠相比, 给药组大鼠肾脏组织病理学表明肾损伤、炎症以及细胞凋亡程度较轻。由于该实验发现给药组大鼠Nrf2、过氧化物酶增殖激活受体 γ 、HO-1 mRNA水平显著升高, 因此药物可能通过该途径抵御AKI的进程。

4 Nrf2激动剂在治疗肝损伤和肝脏疾病中的应用前景

尽管所有的临床有关Nrf2的研究目前都集中于肾病, 仍有大量的文献和动物研究表明Nrf2的活

化可以预防或者潜在缓解肝脏疾病。在Nrf2激动剂可用于治疗肝损伤和肝脏疾病之前, 需要进行大量基础和临床研究。由于我国特殊的饮食生活结构, NAFLD、NASH、酒精性肝病和药物性肝损伤(drug induced liver injury, DILI)发病率较高, 因此研究Nrf2激动剂在临床肝病的应用前景尤为必要。

4.1 NAFLD和NASH 多重研究表明, 非酒精性脂肪性肝病的进展源于多重机制共同作用从而导致细胞损伤, 凋亡, 炎症, 纤维化, 最终发展为非酒精性脂肪性肝炎^[27]。随着肝脏中甘油三酯的累积, 线粒体呼吸链损伤导致ROS生成过多^[28]以及线粒体谷胱甘肽减少^[29], 持续性ROS的产生可降低胰岛素敏感性并进一步阻止甘油三酯的排出^[30,31]。NASH的其他特征包括超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性减低^[32,33], 肝细胞内脂质过氧化增强。已经证实, 脂质过氧化会阻碍核苷酸和蛋白质的合成从而引发细胞凋亡, 炎症反应和肝纤维化^[34]。

Sugimoto等^[35]研究证实Nrf2在NASH中发挥一定作用, Nrf2基因敲除鼠会导致疾病的迅速进展。在NASH的数个发病阶段内, Nrf2的活化可能成为一个潜在的治疗手段。首先, 在疾病的初始阶段, 脂质在肝细胞内沉积, 通过给药CDDO-Im活化Nrf2可有效阻止野生型鼠肝脏脂质堆积, 而在Nrf2基因敲除鼠中未表现, 表明Nrf2基因活化可降低脂肪酸合成酶基因的表达^[36]。另一方面, Nrf2可能通过减轻炎症反应从而起到保护作用。核转录因子- κ B作为一个重要的与炎症反应相关的细胞信号因子, 有研究表明, 在细胞培养和啮齿类动物系统中, 一些化学治疗物质会同时诱导Nrf2的表达和NF- κ B的抑制^[37]。此外, 在发病阶段, 通过对超氧化物歧化酶, 过氧化氢酶和抗氧化酶的活化可成为新的潜在治疗手段。Nrf2激动剂Protandim已用于临床试验并相应增加红细胞超氧化物歧化酶活性达30%, 过氧化氢酶活性达54%^[38]。最终, Nrf2的活化可调控转录生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)-血浆中的一种促纤维化信号因子, 从而减轻NASH中的纤维化程度。最近一项研究表明, 在人类肝星状细胞系中莱菔硫烷通过Nrf2介导抑制TGF- β 信号, 从而减轻肝脏纤维化^[39]。该结果最终体现在对肝星状细胞活化和纤维生成基因表达的抑制^[39], 表明在肝脏中Nrf2的活化有助于抑制纤维生成。该发现印证了先前的一份报道: 在鼠胚胎成纤维细胞中, Nrf2的过表达会

■ 相关报道

氧化应激作为近些年的热门话题之一, 与诸多疾病密切相关, 大量文献证实氧化应激对肝脏造成损伤从而引发一系列疾病, 通过激活机体抗氧化系统, 可有效抵御氧化应激引发的肝损伤。

■创新盘点

目前多数文献着重于Nrf2的基础实验研究,其临床相关数据较少,本论文着重于Nrf2在未来临床相关的应用前景。

导致TGF- β 表达的显著性下降从而抑制肝纤维化^[40]。

4.2 酒精性肝病 近乎1/5的酗酒者最终发展为酒精性肝炎,1/3的人发展为肝硬化^[34],酒精性肝病已成为日益关注的话题。由于大部分酒精代谢在肝脏中进行,肝脏成为了酒精消耗过度引发损伤的主要场所。酒精代谢主要通过3个酶学途径:肝细胞乙醇脱氢酶对乙醇的氧化,细胞色素P450 2E1(CYP2E1)催化的微粒体氧化以及脂肪酸乙酯合成酶催化的非氧化性代谢。酒精引发肝损伤的途径很多:首先,乙醇脱氢酶把部分酒精转化为乙醛。乙醛的产生诱导肝星状细胞胶原I的表达并引发纤维化^[34];另一方面,乙醛诱导TGF- β 的表达从而促进并增强人肝星状细胞的纤维生成^[41]。此外,乙醛产物升高引起的重要下游效应包括:GSH减少,脂质过氧化,ROS和乙醛加合物的累积^[42]。其次,CYP2E1介导的乙醇代谢发生在慢性酒精消耗过程中,此时乙醇脱氢酶趋近饱和,从而生成额外的乙醛、ROS和自由基。由于NADPH氧化酶活性显著增强,CYP2E1生成大量的O²和H₂O₂,二者皆为ROS的组成部分并导致氧化应激。此外,临床研究表明慢性乙醇消耗可诱导CYP2E1,加剧其在肝细胞内发挥的氧化应激效应^[43]。

在酒精性肝病的发病机制中,由于研究结果存在分歧,Nrf2是否起主导作用尚未可知。很多人认为在正常CYP2E1的催化周期中,Nrf2的活化在对抗ROS引起的氧化应激方面至关重要。临床前期的研究证实乙醇诱导的CYP2E1的表达上调了Nrf2及其靶蛋白HO-1^[44]。同时该研究表明,通过小干扰RNA沉默细胞Nrf2基因,乙醇诱导的ROS生成和脂质过氧化产物增多^[44]。此外,Nrf2对抗乙醇诱导损伤的最有力证据可能来自于Nrf2基因敲除鼠。有研究表明,当饲喂一定剂量乙醇时,同野生型鼠相比,Nrf2基因敲除鼠表现出更高的肝脏相关死亡率^[45]。乙醇对于Nrf2基因敲除鼠的损害表现在脂肪生成增加,细胞和线粒体内的谷胱甘肽减少以及Kupffer细胞介导的炎症反应增强^[45]。此外,最近研究表明,Nrf2的活化会诱导参与磷酸戊糖途径(细胞产生NADPH的主要来源)的酶的基因编码,从而导致Nrf2基因敲除鼠肝脏内NADPH浓度较低而无法抵御氧化应激损伤^[46]。该研究强有力指出Nrf2在乙醇引起的氧化应激中起保护作用。然而,有相对的研究认为尽管HO-1在保护机制中至关重要,损伤期间HO-1的诱导机制独立于Nrf2。其中

一项研究显示长期饲喂乙醇的大鼠肝Nrf2表达降低^[47]。ATF4作为AREs的另一调控因子,可上调对抗氧化应激基因的表达^[47]。Yeligar等^[48]认为在Kupffer细胞中乙醇介导产生的HO-1主要由低氧诱导因子-1 α 调控而非Nrf2。

总之,由于Nrf2药物激动剂并未作为一个预防该病的手段而试用于任何动物模型,因此在缓解酒精性肝病这一领域的研究有待深入。

4.3 DILI 异生物由于其毒性不同可导致多种方式的肝损伤。总体而言,他们可通过活化Kupffer细胞或引起组织直接损伤从而引发肝脏一系列炎症反应,包括:活性中间体的形成,蛋白加合物累积,以及药物代谢酶的改变。这一中间产物介导的毒性反应最终引发共价键结合,脂质过氧化进而导致氧化应激。

N-乙酰对氨基酚(N-acetyl-p-aminophenol, APAP)在全世界广泛用于镇痛和退热,是美国引发急性肝衰的主要原因,他亦成为研究DILI潜在机制的模式药物。APAP的代谢导致高活性电子体的生成,谷胱甘肽减少,蛋白加合物生成以及氧化应激。APAP毒性反应产生的氧化应激暗示Nrf2在这一过程中的作用。研究证实,暴露在APAP下,同野生型鼠相比Nrf2基因敲除鼠表现出更为严重的肝损伤和较高的死亡率^[49-51],野生型鼠Nrf2核转位速率提高了60 min^[52]。并且,Nrf2的激活物CDDO-Im通过诱导HO-1、Nqo1和谷氨酸-半胱氨酸连接酶保护野生型鼠免受APAP肝毒性损伤^[16]。此外,Keap-1敲除鼠肝脏呈现较高浓度的NADPH,有助于机体防御氧化应激^[46]。Wu等研究表明APAP毒性亦诱导肝细胞膜转运蛋白Mrp2、Mrp3和Mrp4的表达且与Nrf2关系密切^[50,53],提示他们在APAP解毒或代谢中十分重要。除此之外,最近研究显示,Nrf2基因敲除鼠更易遭受1-溴丙烷攻击导致肝细胞毒性^[54]。该化学物质诱发的肝细胞毒性反应包括:谷胱甘肽减少,丙二醛水平升高(脂质过氧化产物)。以上研究表明,Nrf2的激活可能潜在保护肝脏抵御DILI,但更多研究有待证实这一假设。

5 结论

线粒体是ROS产生的主要场所之一,肝脏富含线粒体因此极易遭受活性氧簇的攻击从而引发氧化应激。Nrf2在肝细胞的保护和各项解毒酶的诱导表达中起关键作用,可有效降低肝脏氧化应激的敏感性,维持肝脏稳定的生理功能。故有待更深入研究,为临床治疗肝脏疾病提供新靶点。

6 参考文献

- 1 Moi P, Chan K, Asunis I, Cao A, Kan YW. Isolation of NF-E2-related factor 2 (Nrf2), a NF-E2-like basic leucine zipper transcriptional activator that binds to the tandem NF-E2/AP1 repeat of the beta-globin locus control region. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91: 9926-9930 [PMID: 7937919 DOI: 10.1073/pnas.91.21.9926]
- 2 Aleksunes LM, Manautou JE. Emerging role of Nrf2 in protecting against hepatic and gastrointestinal disease. *Toxicol Pathol* 2007; 35: 459-473 [PMID: 17562481 DOI: 10.1080/01926230701311344]
- 3 Itoh K, Wakabayashi N, Katoh Y, Ishii T, Igarashi K, Engel JD, Yamamoto M. Keap1 represses nuclear activation of antioxidant responsive elements by Nrf2 through binding to the amino-terminal Neh2 domain. *Genes Dev* 1999; 13: 76-86 [PMID: 9887101 DOI: 10.1101/gad.13.1.76]
- 4 Kobayashi M, Yamamoto M. Molecular mechanisms activating the Nrf2-Keap1 pathway of antioxidant gene regulation. *Antioxid Redox Signal* 2005; 7: 385-394 [PMID: 15706085 DOI: 10.1089/ars.2005.7.385]
- 5 Itoh K, Tong KI, Yamamoto M. Molecular mechanism activating Nrf2-Keap1 pathway in regulation of adaptive response to electrophiles. *Free Radic Biol Med* 2004; 36: 1208-1213 [PMID: 15110385 DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2004.02.075]
- 6 Venugopal R, Jaiswal AK. Nrf2 and Nrf1 in association with Jun proteins regulate antioxidant response element-mediated expression and coordinated induction of genes encoding detoxifying enzymes. *Oncogene* 1998; 17: 3145-3156 [PMID: 9872330 DOI: 10.1038/sj.onc.1202237]
- 7 Venugopal R, Jaiswal AK. Nrf1 and Nrf2 positively and c-Fos and Fra1 negatively regulate the human antioxidant response element-mediated expression of NAD(P)H: quinone oxidoreductase1 gene. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93: 14960-14965 [PMID: 8962164 DOI: 10.1073/pnas.93.25.14960]
- 8 Rolo AP, Teodoro JS, Palmeira CM. Role of oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Free Radic Biol Med* 2012; 52: 59-69 [PMID: 22064361 DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.10.003]
- 9 Aldaba-Muruato LR, Moreno MG, Shibayama M, Tsutsumi V, Muriel P. Protective effects of allopurinol against acute liver damage and cirrhosis induced by carbon tetrachloride: modulation of NF- κ B, cytokine production and oxidative stress. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1820: 65-75 [PMID: 22056511]
- 10 Ivanov AV, Smirnova OA, Ivanova ON, Masalova OV, Kochetkov SN, Isagulians MG. Hepatitis C virus proteins activate NRF2/ARE pathway by distinct ROS-dependent and independent mechanisms in HUH7 cells. *PLoS One* 2011; 6: e24957 [PMID: 21931870 DOI: 10.1371/journal.pone.0024957]
- 11 Hagen TM, Huang S, Curnutte J, Fowler P, Martinez V, Wehr CM, Ames BN, Chisari FV. Extensive oxidative DNA damage in hepatocytes of transgenic mice with chronic active hepatitis destined to develop hepatocellular carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91: 12808-12812 [PMID: 7809125 DOI: 10.1073/pnas.91.26.12808]
- 12 Chan JY, Kwong M. Impaired expression of glutathione synthetic enzyme genes in mice with targeted deletion of the Nrf2 basic-leucine zipper protein. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1517: 19-26 [PMID: 11118612 DOI: 10.1016/S0167-4781(00)00238-4]
- 13 Chanas SA, Jiang Q, McMahon M, McWalter GK, McLellan LJ, Elcombe CR, Henderson CJ, Wolf CR, Moffat GJ, Itoh K, Yamamoto M, Hayes JD. Loss of the Nrf2 transcription factor causes a marked reduction in constitutive and inducible expression of the glutathione S-transferase Gsta1, Gsta2, Gstm1, Gstm2, Gstm3 and Gstm4 genes in the livers of male and female mice. *Biochem J* 2002; 365: 405-416 [PMID: 11991805 DOI: 10.1042/BJ20020320]
- 14 Gong P, Stewart D, Hu B, Li N, Cook J, Nel A, Alam J. Activation of the mouse heme oxygenase-1 gene by 15-deoxy-Delta(12,14)-prostaglandin J(2) is mediated by the stress response elements and transcription factor Nrf2. *Antioxid Redox Signal* 2002; 4: 249-257 [PMID: 12006176 DOI: 10.1089/152308602753666307]
- 15 Ishii T, Itoh K, Takahashi S, Sato H, Yanagawa T, Katoh Y, Bannai S, Yamamoto M. Transcription factor Nrf2 coordinately regulates a group of oxidative stress-inducible genes in macrophages. *J Biol Chem* 2000; 275: 16023-16029 [PMID: 10821856 DOI: 10.1074/jbc.275.21.16023]
- 16 Reisman SA, Buckley DB, Tanaka Y, Klaassen CD. CDDO-Im protects from acetaminophen hepatotoxicity through induction of Nrf2-dependent genes. *Toxicol Appl Pharmacol* 2009; 236: 109-114 [PMID: 19371629 DOI: 10.1016/j.taap.2008.12.024]
- 17 Liu M, Grigoryev DN, Crow MT, Haas M, Yamamoto M, Reddy SP, Rabb H. Transcription factor Nrf2 is protective during ischemic and nephrotoxic acute kidney injury in mice. *Kidney Int* 2009; 76: 277-285 [PMID: 19436334 DOI: 10.1038/ki.2009.157]
- 18 Córdova EJ, Velázquez-Cruz R, Centeno F, Baca V, Orozco L. The NRF2 gene variant, -653G/A, is associated with nephritis in childhood-onset systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2010; 19: 1237-1242 [PMID: 20507872 DOI: 10.1177/0961203310367917]
- 19 Liu J, Gu X, Robbins D, Li G, Shi R, McCord JM, Zhao Y. Protandim, a fundamentally new antioxidant approach in chemoprevention using mouse two-stage skin carcinogenesis as a model. *PLoS One* 2009; 4: e5284 [PMID: 19384424 DOI: 10.1371/journal.pone.0005284]
- 20 Kim YR, Oh JE, Kim MS, Kang MR, Park SW, Han JY, Eom HS, Yoo NJ, Lee SH. Oncogenic NRF2 mutations in squamous cell carcinomas of oesophagus and skin. *J Pathol* 2010; 220: 446-451 [PMID: 19967722 DOI: 10.1002/path.2653]
- 21 Pergola PE, Raskin P, Toto RD, Meyer CJ, Huff JW, Grossman EB, Krauth M, Ruiz S, Audhya P, Christ-Schmidt H, Wittes J, Warnock DG. Bardoxolone methyl and kidney function in CKD with type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2011; 365: 327-336 [PMID: 21699484 DOI: 10.1159/000327599]
- 22 de Zeeuw D, Akizawa T, Audhya P, Bakris GL, Chin M, Christ-Schmidt H, Goldsberry A, Houser M, Krauth M, Lambers Heerspink HJ, McMurray JJ, Meyer CJ, Parving HH, Remuzzi G, Toto RD, Vaziri ND, Wanner C, Wittes J, Wroldstad D, Chertow GM. Bardoxolone methyl in type 2 diabetes and stage 4 chronic kidney disease. *N Engl J Med* 2013; 369: 2492-2503 [PMID: 24206459]
- 23 Rogacev KS, Bittenbring JT, Fliser D. Bardoxolone methyl, chronic kidney disease, and type 2 diabetes.

■应用要点

目前临床治疗肝功能损伤药物有限, 鉴于氧化应激的重要地位, 通过研究Nrf2激动剂在肝病领域的研究, 可为临床提供新靶点。

■同行评价

本文较清楚地概述了Nrf2及激动剂,明确了氧化应激在肝脏疾病中的重要作用,为临床治疗肝脏疾病提供了新思路、新靶点,语言通顺、思路明晰,参考价值较高。

- 24 Upadhyay A, Sarnak MJ, Levey AS. Bardoxolone methyl, chronic kidney disease, and type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2011; 365: 1746; author reply 1746-1747 [PMID: 22047580]
- 25 McMahon GM, Forman JP. Bardoxolone methyl, chronic kidney disease, and type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2011; 365: 1746; author reply 1746-1747 [PMID: 22047581]
- 26 Wu QQ, Wang Y, Senitko M, Meyer C, Wigley WC, Ferguson DA, Grossman E, Chen J, Zhou XJ, Hartono J, Winterberg P, Chen B, Agarwal A, Lu CY. Bardoxolone methyl (BARD) ameliorates ischemic AKI and increases expression of protective genes Nrf2, PPAR γ , and HO-1. *Am J Physiol Renal Physiol* 2011; 300: F1180-F1192 [PMID: 21289052 DOI: 10.1152/ajprenal.00353.2010]
- 27 Koo SH. Nonalcoholic fatty liver disease: molecular mechanisms for the hepatic steatosis. *Clin Mol Hepatol* 2013; 19: 210-215 [PMID: 24133660 DOI: 10.3350/cmh.2013.19.3.210]
- 28 Begriche K, Igoudjil A, Pessayre D, Fromenty B. Mitochondrial dysfunction in NASH: causes, consequences and possible means to prevent it. *Mitochondrion* 2006; 6: 1-28 [PMID: 16406828 DOI: 10.1016/j.mito.2005.10.004]
- 29 Mari M, Caballero F, Colell A, Morales A, Caballeria J, Fernandez A, Enrich C, Fernandez-Checa JC, García-Ruiz C. Mitochondrial free cholesterol loading sensitizes to TNF- and Fas-mediated steatohepatitis. *Cell Metab* 2006; 4: 185-198 [PMID: 16950136 DOI: 10.1016/j.cmet.2006.07.006]
- 30 Houstis N, Rosen ED, Lander ES. Reactive oxygen species have a causal role in multiple forms of insulin resistance. *Nature* 2006; 440: 944-948 [PMID: 16612386 DOI: 10.1038/nature04634]
- 31 Pan M, Cederbaum AI, Zhang YL, Ginsberg HN, Williams KJ, Fisher EA. Lipid peroxidation and oxidant stress regulate hepatic apolipoprotein B degradation and VLDL production. *J Clin Invest* 2004; 113: 1277-1287 [PMID: 15124019]
- 32 Nobili V, Pastore A, Gaeta LM, Tozzi G, Comparcola D, Sartorelli MR, Marcellini M, Bertini E, Piemonte F. Glutathione metabolism and antioxidant enzymes in patients affected by nonalcoholic steatohepatitis. *Clin Chim Acta* 2005; 355: 105-111 [PMID: 15820484 DOI: 10.1016/j.cccn.2004.12.022]
- 33 Videla LA, Rodrigo R, Orellana M, Fernandez V, Tapia G, Quiñones L, Varela N, Contreras J, Lazarte R, Csendes A, Rojas J, Maluenda F, Burdiles P, Diaz JC, Smok G, Thielemann L, Poniachik J. Oxidative stress-related parameters in the liver of non-alcoholic fatty liver disease patients. *Clin Sci (Lond)* 2004; 106: 261-268 [PMID: 14556645]
- 34 Arias I. The Liver: Biology and Pathobiology. 5th ed. Wiley and Sons: Hoboken, NJ: 2009
- 35 Sugimoto H, Okada K, Shoda J, Warabi E, Ishige K, Ueda T, Taguchi K, Yanagawa T, Nakahara A, Hyodo I, Ishii T, Yamamoto M. Deletion of nuclear factor-E2-related factor-2 leads to rapid onset and progression of nutritional steatohepatitis in mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010; 298: G283-G294 [PMID: 19926817 DOI: 10.1152/ajpgi.00296.2009]
- 36 Shin S, Wakabayashi J, Yates MS, Wakabayashi N, Dolan PM, Aja S, Liby KT, Sporn MB, Yamamoto M, Kensler TW. Role of Nrf2 in prevention of high-fat diet-induced obesity by synthetic triterpenoid CD-DO-imidazolidine. *Eur J Pharmacol* 2009; 620: 138-144 [PMID: 19698707 DOI: 10.1016/j.ejphar.2009.08.022]
- 37 Wakabayashi N, Slocum SL, Skoko JJ, Shin S, Kensler TW. When NRF2 talks, who's listening? *Antioxid Redox Signal* 2010; 13: 1649-1663 [PMID: 20367496 DOI: 10.1089/ars.2010.3216]
- 38 Nelson SK, Bose SK, Grunwald GK, Myhill P, McCord JM. The induction of human superoxide dismutase and catalase in vivo: a fundamentally new approach to antioxidant therapy. *Free Radic Biol Med* 2006; 40: 341-347 [PMID: 16413416 DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2005.08.043]
- 39 Oh CJ, Kim JY, Min AK, Park KG, Harris RA, Kim HJ, Lee IK. Sulforaphane attenuates hepatic fibrosis via NF-E2-related factor 2-mediated inhibition of transforming growth factor- β /Smad signaling. *Free Radic Biol Med* 2012; 52: 671-682 [PMID: 22155056 DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.11.012]
- 40 Choi HK, Pokharel YR, Lim SC, Han HK, Ryu CS, Kim SK, Kwak MK, Kang KW. Inhibition of liver fibrosis by solubilized coenzyme Q10: Role of Nrf2 activation in inhibiting transforming growth factor-beta1 expression. *Toxicol Appl Pharmacol* 2009; 240: 377-384 [PMID: 19647758 DOI: 10.1016/j.taap.2009.07.030]
- 41 Svegliati-Baroni G, Inagaki Y, Rincon-Sanchez AR, Else C, Saccomanno S, Benedetti A, Ramirez F, Rojkind M. Early response of alpha2(I) collagen to acetaldehyde in human hepatic stellate cells is TGF-beta independent. *Hepatology* 2005; 42: 343-352 [PMID: 16025520 DOI: 10.1002/hep.20798]
- 42 Dey A, Cederbaum AI. Alcohol and oxidative liver injury. *Hepatology* 2006; 43: S63-S74 [PMID: 16447273 DOI: 10.1002/hep.20957]
- 43 Girre C, Lucas D, Hispard E, Menez C, Dally S, Menez JF. Assessment of cytochrome P450E1 induction in alcoholic patients by chlorzoxazone pharmacokinetics. *Biochem Pharmacol* 1994; 47: 1503-1508 [PMID: 7910460 DOI: 10.1016/0006-2952(94)90524-X]
- 44 Gong P, Cederbaum AI. Nrf2 is increased by CYP2E1 in rodent liver and HepG2 cells and protects against oxidative stress caused by CYP2E1. *Hepatology* 2006; 43: 144-153 [PMID: 16374848 DOI: 10.1002/hep.21004]
- 45 Lamlé J, Marhenke S, Borlak J, von Wasielewski R, Eriksson CJ, Geffers R, Manns MP, Yamamoto M, Vogel A. Nuclear factor-erythroid 2-related factor 2 prevents alcohol-induced fulminant liver injury. *Gastroenterology* 2008; 134: 1159-1168 [PMID: 18395094 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.01.011]
- 46 Wu KC, Cui JY, Klaassen CD. Beneficial role of Nrf2 in regulating NADPH generation and consumption. *Toxicol Sci* 2011; 123: 590-600 [PMID: 21775727 DOI: 10.1093/toxsci/kfr183]
- 47 Bardag-Gorce F, Oliva J, Lin A, Li J, French BA, French SW. Proteasome inhibitor up regulates liver antioxidative enzymes in rat model of alcoholic liver disease. *Exp Mol Pathol* 2011; 90: 123-130 [PMID: 21036165 DOI: 10.1016/j.yexmp.2010.10.013]
- 48 Yeligar SM, Machida K, Kalra VK. Ethanol-induced HO-1 and NQO1 are differentially regulated by HIF-1 α and Nrf2 to attenuate inflammatory cytokine expression. *J Biol Chem* 2010; 285: 35359-35373 [PMID: 20833713 DOI: 10.1074/jbc.M110.138636]

- 49 Enomoto A, Itoh K, Nagayoshi E, Haruta J, Kimura T, O'Connor T, Harada T, Yamamoto M. High sensitivity of Nrf2 knockout mice to acetaminophen hepatotoxicity associated with decreased expression of ARE-regulated drug metabolizing enzymes and antioxidant genes. *Toxicol Sci* 2001; 59: 169-177 [PMID: 11134556 DOI: 10.1093/toxsci/59.1.169]
- 50 Aleksunes LM, Slitt AL, Maher JM, Augustine LM, Goedken MJ, Chan JY, Cherrington NJ, Klaassen CD, Manautou JE. Induction of Mrp3 and Mrp4 transporters during acetaminophen hepatotoxicity is dependent on Nrf2. *Toxicol Appl Pharmacol* 2008; 226: 74-83 [PMID: 17935745 DOI: 10.1016/j.taap.2007.08.022]
- 51 Chan K, Han XD, Kan YW. An important function of Nrf2 in combating oxidative stress: detoxification of acetaminophen. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 4611-4616 [PMID: 11287661 DOI: 10.1073/pnas.081082098]
- 52 Goldring CE, Kitteringham NR, Elsby R, Randle LE, Clement YN, Williams DP, McMahon M, Hayes JD, Itoh K, Yamamoto M, Park BK. Activation of hepatic Nrf2 in vivo by acetaminophen in CD-1 mice. *Hepatology* 2004; 39: 1267-1276 [PMID: 15122755 DOI: 10.1002/hep.20183]
- 53 Maher JM, Dieter MZ, Aleksunes LM, Slitt AL, Guo G, Tanaka Y, Scheffer GL, Chan JY, Manautou JE, Chen Y, Dalton TP, Yamamoto M, Klaassen CD. Oxidative and electrophilic stress induces multi-drug resistance-associated protein transporters via the nuclear factor-E2-related factor-2 transcriptional pathway. *Hepatology* 2007; 46: 1597-1610 [PMID: 17668877 DOI: 10.1002/hep.21831]
- 54 Liu F, Ichihara S, Valentine WM, Itoh K, Yamamoto M, Sheik Mohideen S, Kito J, Ichihara G. Increased susceptibility of Nrf2-null mice to 1-bromopropane-induced hepatotoxicity. *Toxicol Sci* 2010; 115: 596-606 [PMID: 20211940 DOI: 10.1093/toxsci/kfq075]

编辑 田滢 电编 鲁亚静

