

文献综述

Nrf2/HO-1 信号通路与缺血再灌注损伤的研究进展

高原¹, 于文慧², 张美君¹, 王继雪¹, 赵钢²

摘要: 各组织器官在一定时间的缺血基础上恢复血流后, 组织功能代谢障碍及结构破坏较缺血时反而加重的现象被称为缺血再灌注损伤 (IRI)。IRI 是一种不同于缺血时期损伤情况的复杂病理反应, 也一直都是临床工作者研究的热点。核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2) / 血红素加氧酶 1 (HO-1) 途径是参与机体抗氧化应激反应的重要信号通路, 很多研究已显示激活 Nrf2/HO-1 通路后能够减轻缺血再灌注引起的损伤。本文对 Nrf2/HO-1 信号通路在 IRI 中所起的作用进行综述。

关键词: Nrf2/HO-1 信号通路; 炎症反应; 氧化应激; 细胞凋亡; 缺血再灌注损伤

中图分类号: R631 **文献标识码:** A **文章编号:** 1007-6948(2020)04-0776-03

doi: 10.3969/j.issn.1007-6948.2020.04.042

随着各种医疗手段的建立和推广应用, 许多组织器官缺血后可以重新得到血液再灌注, 但在某些情况下血流恢复时能导致更严重的功能障碍, 甚至发生不可逆性损伤的现象, 这种现象被称为缺血再灌注损伤 (ischemia reperfusion injury, IRI)。多项研究表明, 核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor-2, Nrf2) / 血红素加氧酶 1 (Hemeoxygenase-1, HO-1)、磷脂酰肌醇 3-激酶 / 蛋白激酶 B (PI3K/Akt)、Wnt/ β -catenin、Notch 等信号通路均能作用于缺血再灌注过程并且相互影响^[1-4]。其中, Nrf2/HO-1 作为一条经典的抗氧化通路一直备受国内外专家学者的关注, 其主要作用是调控抗氧化酶系的表达^[5]。研究显示, 在缺血再灌注早期 Nrf2/HO-1 通路即被激活, 机体通过其诱导启动细胞抑制氧化应激, 发挥抗凋亡、抗炎、抗氧化等作用, 从而减轻 IRI^[6]。本文就 Nrf2/HO-1 信号通路在 IRI 中所起的作用进行综述。

1 Nrf2/HO-1 信号通路

Nrf2 是机体内一个关键的抗氧化核转录因子, 参与多种细胞内防御机制相关的信号传导, 其抗氧化的核心作用经大量实验研究证实并被学术界认可^[7]。在正常生理状态下, Nrf2 定位于细胞质中, 与 Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白 1 (Kelch-like ECH-associated protein1, Keap1) 相结合, 二者处于稳定状态。当氧化应激损伤或有外来刺激时,

Nrf2 与 Keap1 迅速解离, 转位至细胞核内与抗氧化反应元件 (antioxidant response element, ARE) 区域绑定结合并相互作用, 启动下游抗氧化应激相关基因的转录^[8]。通过药物等干预处理可以上调 Nrf2 含量并诱导其下游调控的多种抗氧化酶及解毒酶表达, 从而恢复细胞内的氧化还原平衡状态, 发挥内源性细胞保护作用^[9]。

HO-1 是受 Nrf2 信号路径调节的下游信号蛋白, 也是重要的保护性抗氧化酶, 具有抗氧化、扩血管、改善组织微循环、抑制细胞凋亡及抗炎等多种生物学功能, 能够调节并参与机体 IRI 中抗氧化应激、抗炎及抗凋亡的过程^[10-11]。正常情况下, HO-1 的表达与活力较低, 当组织细胞受到缺血等刺激而处于应激状态时, HO-1 可通过 Nrf2 调控进行应答, 表达量迅速上升, 表现出明显的抗氧化作用^[12]。HO-1 广泛参与到组织器官的抗氧化应激损伤过程中, 是一个在氧化应激早期发挥抗氧化反应的细胞保护蛋白, 可被缺氧、缺血再灌注、内毒素、炎症反应等因素诱导^[13]。

2 Nrf2/HO-1 通路在 IRI 中的作用

2.1 抗氧化作用 氧化应激在 IRI 有关细胞信号和体内平衡中扮演着关键作用。活性氧簇 (Reactive oxygen species, ROS) 是从氧气衍生出来的分子, 在 IRI 过程中过量的 ROS 极易作用于不饱和脂肪酸发生过氧化反应, 是 IRI 发生机制中的主要促成因素^[14], 因此, 抑制 ROS 的产生或清除 ROS 可以成为治疗 IRI 的策略。研究表明, 氧自由基通过促分裂原活化的蛋白激酶途径使 Nrf2 磷酸化, 启动 HO-1 基因转录, 诱导多种内源性抗氧化酶的产生, 从而减少或清除氧自由基, 维持细胞内氧化还原平衡状态^[15]。Yun 等^[16]用 HO-1 诱导剂和抑制剂预处理大鼠来探讨内源性 HO-1 的表达过程以及其在肝脏 IRI 中的作用, 结果表明过表达 HO-1 通过调节氧化应激和促炎介质来保护肝脏

基金项目: 哈尔滨市应用技术与开发项目 (No 2014AB3AS046); “双一流” 中西医结合学科发展助力基金 (No HLJSYL1004); 黑龙江中医药大学研究生创新科研项目 (No yjcx2017004)

1. 黑龙江中医药大学 (哈尔滨 150040)

2. 黑龙江中医药大学附属第一医院 (哈尔滨 150040)

通信作者: 赵钢, E-mail: zhaogang1120@126.com

免受 IRI。

2.2 抗炎作用 炎症反应主要涉及了中性粒细胞浸润和炎症因子释放, 是 IRI 发展中的关键步骤, 激活 Nrf2/HO-1 途径能减轻组织或器官 IRI 及炎症反应。Qiu 等^[17]报道了促消退介质 maresin1 在控制炎症和氧化应激过程中发挥着重要作用, 研究表明小鼠缺血再灌注后组织学切片可观察到明显的肾损伤, 且血浆中血尿素氮和肌酐浓度升高、炎症因子生成增多、脂质过氧化产物的水平升高, 而 maresin1 可以减轻缺血再灌注引起的肾脏损伤, 其作用是通过抑制 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor4, TLR4) / MAPK/NF- κ B 信号通路介导炎症因子的产生以及通过激活 Nrf2 途径增强抗氧化作用来实现的。Hou 等^[18]发现 NOD 样受体蛋白 3 (NOD-like receptor protein 3, NLRP3) 炎性复合体的活化在脑 IRI 的炎症损伤中起重要作用, Nrf2 通过调控硫氧还蛋白 / 硫氧还蛋白结合蛋白复合物抑制 NLRP3 炎性复合体的激活, 从而起到减轻脑 IRI 和保护神经的作用。

2.3 抑制细胞凋亡 细胞凋亡是一种程序性的细胞死亡, 机体发生 IRI 后, 正常的细胞凋亡程序会被破坏, 凋亡基因在细胞核内高表达, 导致大量细胞发生凋亡。Lu 等^[19]报道了青蒿琥酯可显著抑制促凋亡因子 caspase-3 活性, 降低 Bax/Bcl-2 蛋白表达比例, 上调抗凋亡转录因子 Nrf2 的表达, 能减少脑 IRI 小鼠的脑梗死体积, 促进神经功能的恢复, 其机制与激活 Nrf2 和下调小鼠 ROS 依赖的 p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38MAPK) 通路有关。Wang 等^[20]通过给大鼠中动脉阻塞模型大鼠静脉注射新橙皮苷 (Neohesperidin, NH), 发现 NH 能够抑制细胞凋亡和氧化应激, 对大鼠脑 IRI 具有神经保护作用, 且 NH 处理以浓度依赖的方式上调 Nrf2 和 HO-1 的表达, 其减轻脑 IRI 的作用机制可能与激活 Akt/Nrf2/HO-1 通路密切相关。

3 Nrf2/HO-1 通路和组织器官 IRI

3.1 Nrf2/HO-1 与肢体 IRI 袁培根等^[21]研究表明, Nrf2 蛋白存在于大鼠的骨骼肌中, 右美托咪定可以通过 $\alpha 2$ 受体上调 Nrf2/ARE 通路, 使 HO-1 等基因表达增加, 起到抗氧化的作用。IRI 发生后, 损伤性刺激并非只局限于肢体, 对远隔脏器也能造成伤害, 严重的 IRI 甚至可以诱发急性肺损伤。李艳艳等^[22]经大鼠肢体缺血再灌注后肺损伤实验探讨 BTB-CNC 异体同源体 1 (BTB and CNC homology 1, Bach1) /Nrf2 通路调控 HO-1 的作用机制, 结果提示 HO-1 与 Nrf2 呈显著正相关, 与 Bach1 呈显著负相关, 表明 HO-1 的表达可能受 Bach1/Nrf2 通路的调控, Nrf2 能够上调 HO-1 的表达。

3.2 Nrf2/HO-1 与脑 IRI 作为一种保护性应激反应, 脑 IRI 急性期 Nrf2 的表达可迅速升高, 继而增加 HO-1 基因

的转录, 但这种增加持续时间短。黄娟等^[23]经研究报道, 脑泰方能通过激活 Keap1-Nrf2/ARE 信号通路, 促进 HO-1 生成, 发挥减轻脑 IRI 的作用。此外, 黄小平等^[24]证实黄芩甲苷可以上调 Nrf2 和 HO-1 蛋白和基因的表达, 通过激活 Nrf2/HO-1 信号通路, 增大机体清除氧自由基的能力, 减轻脑组织水肿, 减小脑梗死面积。

3.3 Nrf2/HO-1 与心肌 IRI 心肌 IRI 过程中心肌细胞需氧代谢被激活, 诱导 ROS 大量增加, 超出了内源性抗氧化防御体系的抗氧化能力, 氧气的增加促进 ROS 的产生, 形成恶性循环。有研究显示, 机体本身具有抗氧化系统, 即 Nrf2/HO-1 通路的激活在心肌 IRI 中有保护作用, 故通过药物作用进而激活 Nrf2 可成为潜在治疗心肌 IRI 的途径。Guan 等^[25]提出中药丹红注射液能够抑制大鼠心肌 IRI, 实验探讨其活性成分在炎症、氧化应激和凋亡等多重分子机制中的潜在影响, 发现丹红注射液以多靶点的作用形式发挥抗心肌 IRI 的药理机制。

3.4 Nrf2/HO-1 与其他 IRI 肝脏是机体重要的代谢器官, 具有生物转化和新陈代谢的作用, Zhou 等^[26]报道 δ 阿片受体激动剂 (D-Ala2-D-Leu5-enkephalin, DADLE) 对肝脏 IRI 具有保护作用, 5mg/kg 浓度的 DADLE 可以显著降低血清中丙氨酸转氨酶、天冬氨酸转氨酶和丙二醛的水平, 而升高谷胱甘肽、过氧化氢酶和超氧化物歧化酶的水平, 同时 DADLE 能够促进 Nrf2 核转位, 上调 Nrf2 下游因子 HO-1 的表达, 说明 DADLE 抗肝脏 IRI 的作用机制与 Nrf2/HO-1 信号通路有关。肾脏 IRI 可发生在肾移植以及其他肾脏手术过程中, 孙倩等^[27]经实验探讨血管紧张素 -(1-7)/ 血管紧张素 - II [Ang-(1-7)/Ang- II] 通过调节 Nrf2/HO-1 通路在糖尿病肾脏 IRI 中的作用机制, 结果表明在糖尿病早期 Ang-(1-7) 和 Ang- II 虽可激活 Nrf2/ARE 通路, 但不足以对抗高糖产生的致损伤作用, 而缺血再灌注抑制了 Ang-(1-7) 蛋白, 导致高浓度的 Ang- II 下调了 Nrf2 的表达, 加重肾脏损伤。Sun 等^[28]研究证实, 肠缺血再灌注过程中有氧化应激损伤, 通过激活 Nrf2-ARE 信号通路可以减轻肠 IRI。

4 小结

综上所述, Nrf2/HO-1 被认为是细胞内最重要的抗氧化应激机制之一, 大量研究证实 Nrf2/HO-1 途径通过减轻氧化损伤、降低炎症因子水平、抑制细胞凋亡等机制保护组织器官, 发挥抗 IRI 作用。当机体处于氧化应激状态时, Nrf2 能够诱导 HO-1 高效表达, 保护机体免受损伤, 但值得注意的是, 若 Nrf2 活化诱导 HO-1 过度表达将加大细胞氧化应激压力, 反而具有细胞毒性作用。如何控制 Nrf2 和 HO-1 之间抑制、激活的调控方式, 保持纠正氧化、抗氧化

的平衡尚需进一步深入研究。

参考文献:

- [1] Jin C, Fu WL, Zhang DD, et al. The protective role of IL-1Ra on intestinal ischemia reperfusion injury by anti-oxidative stress via Nrf2/HO-1 pathway in rat[J]. *Biomed J*, 2019,42(1):36-45.
- [2] Zhang BF, Jiang H, Chen J, et al. Nobiletin ameliorates myocardial ischemia and reperfusion injury by attenuating endoplasmic Reticulum stress-associated apoptosis through regulation of the PI3K/AKT signal pathway[J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 73: 98-107.
- [3] Wang YH, Wu ZJ, Tian JH, et al. Intermedin protects HUVECs from ischemia reperfusion injury via Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. *Ren Fail*, 2019, 41(1): 159-166.
- [4] Fang HC, Wu BQ, Hao YL, et al. KRT1 gene silencing ameliorates myocardial ischemia-reperfusion injury via the activation of the Notch signaling pathway in mouse models[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(4): 3634-3646.
- [5] Zhang Y, Rong S, Feng Y, et al. Simvastatin attenuates renal ischemia/reperfusion injury from oxidative stress via targeting Nrf2/HO-1 pathway[J]. *Exp Ther Med*. 2017, 14(5):4460-4466.
- [6] Yu HJ, Shi LY, Zhao SJ, et al. Triptolide attenuates myocardial ischemia/reperfusion injuries in rats by inducing the activation of Nrf2/HO-1 defense pathway[J]. *Cardiovasc Toxicol*, 2016, 16(4): 325-335.
- [7] Ji Q, Gao JB, Zheng Y, et al. Inhibition of microRNA-153 protects neurons against ischemia/reperfusion injury in an oxygen-glucose deprivation and reoxygenation cellular model by regulating Nrf2/HO-1 signaling[J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2017, 31(7): e21905.
- [8] Wu CT, Deng JS, Huang WC, et al. Salvianolic acid C against acetaminophen-induced acute liver injury by attenuating inflammation, oxidative stress, and apoptosis through inhibition of the Keap1/Nrf2/HO-1 signaling[J]. *Oxidative Med Cell Longev*, 2019, 2019: 1-13.
- [9] Shi S, Lei S, Tang C, et al. Melatonin attenuates acute kidney ischemia/reperfusion injury in diabetic rats by activation of the SIRT1/Nrf2/HO-1 signaling pathway[J]. *Biosci Rep*, 2019, 39(1):BSR20181614.
- [10] Ding Y, Chen MC, Wang MM, et al. Posttreatment with 11-keto- β -boswellic acid ameliorates cerebral ischemia-reperfusion injury: Nrf2/HO-1 pathway as a potential mechanism[J]. *Mol Neurobiol*, 2015, 52(3): 1430-1439.
- [11] Shen XH, Hu B, Xu GT, et al. Activation of Nrf2/HO-1 pathway by glycogen synthase kinase-3 β inhibition attenuates renal ischemia/reperfusion injury in diabetic rats[J]. *Kidney Blood Press Res*, 2017, 42(2): 369-378.
- [12] Li P, Su L, Li X, et al. Remote limb ischemic postconditioning protects mouse brain against cerebral ischemia/reperfusion injury via upregulating expression of Nrf2, HO-1 and NQO-1 in mice[J]. *Int J Neurosci*, 2016, 126(6):552-559.
- [13] Peng B, Zhao P, Lu YP, et al. Z-ligustilide activates the Nrf2/HO-1 pathway and protects against cerebral ischemia-reperfusion injury in vivo and in vitro[J]. *Brain Res*, 2013, 1520: 168-177.
- [14] Klaassen CD, Reisman SA. Nrf2 the rescue: effects of the antioxidative/electrophilic response on the liver[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2010, 244(1):57-65.
- [15] Cheng L, Jin Z, Zhao R, et al. Resveratrol attenuates inflammation and oxidative stress induced by myocardial ischemia-reperfusion injury: role of Nrf2/ARE pathway[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(7):10420-10428.
- [16] Yun N, Eum HA, Lee SM. Protective role of heme oxygenase-1 against liver damage caused by hepatic ischemia and reperfusion in rats[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2010, 13(10):1503-1512.
- [17] Qiu Y, Wu Y, Zhao H, et al. Maresin 1 mitigates renal ischemia/reperfusion injury in mice via inhibition of the TLR4/MAPK/NF- κ B pathways and activation of the Nrf2 pathway[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2019, 13:739-745.
- [18] Hou Y, Wang Y, He Q, et al. Nrf2 inhibits NLRP3 inflammasome activation through regulating Trx1/TXNIP complex in cerebral ischemia reperfusion injury[J]. *Behav Brain Res*, 2018, 336:32-39.
- [19] Lu H, Wang B, Cui N, et al. Artesunate suppresses oxidative and inflammatory processes by activating Nrf2 and ROS dependent p38 MAPK and protects against cerebral ischemia/reperfusion injury[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(5):6639-6646.
- [20] Wang JJ, Cui P. Neohesperidin attenuates cerebral ischemia-reperfusion injury via inhibiting the apoptotic pathway and activating the Akt/Nrf2/HO-1 pathway[J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2013, 15(9):1023-1037.
- [21] 袁培根, 薛彬彬, 林碧, 等. Nrf2/ARE 通路介导右美托咪定减轻肢体缺血/再灌注损伤中的作用 [J]. *中国应用生理学杂志*, 2016, 32(3): 250-254, 293.
- [22] 李艳艳, 孙克玉, 邱志云, 等. Bach1/Nrf2 通路调控 HO-1 在大鼠肢体缺血再灌注后肺损伤中的作用机制研究 [J]. *临床和实验医学杂志*, 2019, 18(12):1253-1256.
- [23] 黄娟, 廖君, 彭熙炜, 等. 脑泰方对脑缺血/再灌注大鼠海马区 Nrf2、HO-1 和膜铁转运辅助蛋白表达的影响 [J]. *中国药理学通报*, 2017, 33(10):1467-1472.
- [24] 黄小平, 邓常清, 邱咏园, 等. 黄芪甲苷和三七的三种有效成分配伍对小鼠脑缺血/再灌注后氧化应激和 Nrf2/HO-1 途径的影响 [J]. *中国药理学通报*, 2013, 29(11):1596-1601.
- [25] Guan Y, Yin Y, Zhu YR, et al. Dissection of mechanisms of a Chinese medicinal formula: danhong injection therapy for myocardial ischemia/reperfusion injury in vivo and in vitro[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 2013:972370.
- [26] Zhou Y, Zhang J, Lei B, et al. DADLE improves hepatic ischemia/reperfusion injury in mice via activation of the Nrf2/HO-1 pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(5):6214-6221.
- [27] 孙倩, 曾诚, 段薇娜, 等. 血管紧张素-(1-7)/血管紧张素-II 通过调节 Nrf2/HO-1 通路在糖尿病肾脏缺血再灌注损伤中的作用及机制 [J]. *中国医药导报*, 2017, 14(20):12-15, 35.
- [28] Sun Q, Meng Q, Jiang Y, et al. Protective effect of ginsenoside Rb1 against intestinal ischemia-reperfusion induced acute renal injury in mice[J]. *PLoS One*, 2013, 8(12):e80859.

(收稿: 2019-07-10 发表: 2020-08-10)