专家述评

文章编号:1000-5404(2014)15-1552-05

Nrf2 通路在糖尿病中的研究进展



郑宏庭 (400037 重庆,第三军医大学新桥医院内分泌科)

[关键词] 核因子 E2 相关因子 2;胞质接头蛋白;抗氧化反应元件;糖尿病;氧化应激
[中图法分类号] R587.102 [文献标志码] A

Antioxidant stress pathway nuclear factor erythroid 2-related factor 2 in pathogenesis and development of diabetes

Zheng Hongting (Department of Endocrinology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400037, China)

[**Abstract**] Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) is a redox-sensitive transcription factor, which plays an important role in oxidative stress and tissue injury associated with inflammation. Kelch-like ECH-associated protein 1 (Keap1) is a negative regulatory factor of Nrf2. After stimulated with the external oxidation stress factors or nucleophilic materials, Nrf2 dissociates from Keap1, and then enters into the cell nucleus, interacting with antioxidant responsive element (ARE) to initiate gene transcription which regulated by ARE. The Nrf2-ARE pathway is by far the most important endogenous antioxidant stress pathway. Recent studies showed that there is a close relationship between diabetes and oxidative stress. This paper focused on the newest research on Nrf2 and diabetes.

[**Key words**] nuclear factor erythroid 2-related factor 2; kelch-like ECH-associated protein 1; antioxidant responsive element; diabetes mellitus; oxidative stress

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81270893), the Cooperation Program With Overseas, Hong Kong and Macao Scholars of National Natural Science Foundation of China (81228023), the Starting Fund of Personnel Returning From Overseas of Ministry of Education (2013A387), the Key Program of Natural Science Foundation of Chongqing (CSTC2012JJB10023), the Preferred Project of Science and Technology Research of Personnel Returning From Overseas of Chongqing (20120003), and the Starting Fund of Personnel Returning From Overseas of Third Military Medical University (2011XHG07). Corresponding author: Zheng Hongting, E-mail: fnf7703@hotmail.com

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81270893);国家自然科学基金海外及港澳学者合作研究基金(81228023);教育部留学归国科研启动基金(2013A387);重庆市自然科学基金重点项目(CSTC2012JJB10023);重庆市留学人员科技项目择优资助(渝留助 20120003);第三军医大学留学回国人员科研启动基金(2011XHG07)

[通信作者] 郑宏庭,男,博士,副主任医师,副教授,博士生导师。担任中华医学会内分泌专委会青年委员,中华医学会重庆分会糖尿病专委会副主任委员,中华医学会重庆分会内分泌专委会委员,《Curr Signal Transdu T》(CSTT)、《Int J Biomed Sci》(IJBS)、《ScienceDomain international》审稿专家,国家自然科学基金委生命科学部/医学科学部同行评议专家。主持国家自然科学基金、国家自然科学基金海外合作项目、教育部留学归国基金、重庆市自然科学基金重点项目等各类课题10项。获中华医学奖二等奖1项(5)、重庆市科技进步一等奖1项(7)、全军医疗成果三等奖1项。以第一作者或通信作者在《Diabetes》、《Nature Communica-tions》、《Kidney International》、《JCEM》等杂志发表论文多篇。主要从事糖尿病自体骨髓干细胞移植治疗,糖尿病及并发症诊治,自身免疫性甲状腺疾病的诊治方面的研究。E-mail:fnf7703@hotmail.com

[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140702.1414.006.html(2014-07-02)

糖尿病(diabetes mellitus,DM)是由遗传和环境因素共同作用而引起的以胰岛素抵抗及β细胞功能障碍致糖代谢紊乱为主要表现的临床综合征。近年研究[1]表明,糖尿病与氧化应激(oxidative stress)有着密切联系。核因子E2相关因子2(nuclear factor erythroid 2- related factor 2,Nrf2)是一种在氧化应激与炎症相关组织损伤中具有重要作用的氧化还原敏感转录因子,其通过对下游数十个Ⅱ相解毒酶与转运蛋白的调控,中和活性氧簇(reactive oxygen species,ROS)生成,维持细胞氧化还原平衡[2]。胞质接头蛋白(kelch-like ECH- associated protein 1,Keap1)是Nrf2的负性调控分子。Nrf2通路是迄今为止发现最为重要的内源性抗氧化应激通路[3]。现主要就内源性抗氧化应激Nrf2通路在糖尿病进程中的新近研究进展作一述评。

1 氧化应激

氧化应激是指机体在遭受各种有害刺激时,ROS

的产生与抗氧化防御之间严重失衡,从而导致组织损伤的过程。正常生理状态下,机体ROS的生成与消除处于一个动态平衡,而糖尿病患者机体ROS的生成明显增多,发生氧化应激反应,造成胰岛β细胞损伤及功能丧失,胰岛素合成与分泌减少[4]。同时线粒体ROS生成增加,促进靶组织骨骼肌胰岛素信号通路受阻,产生胰岛素抵抗。为免遭氧化应激,机体形成一套复杂的氧化应答系统来应对损伤。近年研究发现,Nrf2与Keap1及抗氧化反应元件(antioxidant responsive element,ARE)相互作用,调控编码其下游多种抗氧化应激蛋白,从而在协调抗炎与细胞抗氧化反应中起到枢纽作用,并发挥重要的细胞保护功能[3]。

2 Nrf2通路的简介

2.1 Nrf2:氧化还原敏感转录因子

Nrf2于1996年由Kan克隆得到[5],是cap'n'collar(CNC)转录因子家族成员,具有高度保守的碱性亮氨酸拉链结构,含有6个高度保守的结构域,分别命名为Neh 1~Neh 6[6]。Nrf2高表达于肾、肝等器官,同时也表达于皮肤、消化道及肺。Nrf2下游基因分为3类:①抗氧化蛋白:血红素加氧酶-1(heme oxygenase-1,HO-1)、谷氨酸半胱氨酸连接酶、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase,GSH-Px)、硫氧还蛋白、硫氧还蛋白还原酶、过氧化物酶基因,其主要作用是保持细胞内GSH水平,降低ROS;②Ⅱ相解毒酶:谷胱甘肽S-转移酶(glutathione S-transferase,GST)、NAD(P)H苯醌氧化还原酶[NAD(P)H quinone oxidoreductase-1,NQO1]、UDP葡糖醛酸基转移酶(UDP-glucuronosyltransferase,UGT),其主要作用是分解有毒物质,促进有毒物质的代谢与消除;③转运蛋白:多药耐药相关蛋白,其主要作用是控制内源性物质与外源性物质的输出和摄取[7]。Nrf2通过调控上述下游基因的表达,在协调抗炎与细胞抗氧化应激中发挥枢纽作用[8]。目前为止,发现的Nrf2激动剂主要分为2类:①植物素:莱菔硫烷(sulforaphane,SF)、肉桂醛(cinnamic aldehyde,CA)、姜黄素、白藜芦醇、花姜酮等;②人工合成的化学物质:奥替普拉等。新近研究表明,Nrf2有望成为肿瘤、神经变性疾病、肺纤维化、糖尿病等疾病新的治疗靶点[7]。

2.2 Keap1:Nrf2的负性调控因子

Keap1是Nrf2的负性调控因子,1999年由Yamamoto克隆得到[9]。Keap1包括3个主要的结构域:N端BTB域、连接区域、C端Kelch域。正常情况下,细胞质中的Nrf2与Keap1以N端的Neh2区域结合成二聚体形式,使保护细胞的酶类和抗氧化物处于基础表达水平,从而使细胞处于稳态[10]。当Keap1的3个半胱氨酸残基(C151、C273、C288)发生构象改变时,均能引起Keap1与Nrf2的解离,使Nrf2进入细胞核,激活Nrf2通路,继而在应答外源化合物反应中起到重要的信息传递功能[11]。Wang等[12]报道砷可独立于此经典机制之外,通过非Keap1-C151依赖方式激活Nrf2通路,从而补充了Nrf2信号激活非经典途径。

2.3 Nrf2-Keap1-ARE信号通路

当受到外界氧化应激分子或亲核物质刺激时,Keap1中的巯基发生改变,Nrf2磷酸化,Nrf2与Keap1解离,解离后的Nrf2从细胞质进入细胞核,在核内与ARE相结合,进而启动受ARE调控的基因转录,编码下游多种抗氧化应激蛋白[13]。ARE是一个特异的DNA-启动子结合序列,位于GST、超氧化物歧化酶等保护性基因的5′端启动序列[14]。Keap1对Nrf2泛素化与降解的调控,是Nrf2通路的首要调节机制,Nrf2介导的抗氧化应激反应受Keap1出核、细胞质泛素化及降解机制调控[10]。

3 Nrf2通路与糖尿病的研究现状

3.1 对胰岛β细胞的影响

由于胰岛β细胞自身所分泌的抗氧化酶水平极低,浓度过高的ROS可引起胰岛β细胞功能障碍,削弱胰岛素的作用[15]。Song等[16]在体外利用IL-1β与IFN-γ能够通过激活NF-κB所依赖的信号途径导致大鼠胰腺β-细胞系RINm5F(RIN)细胞损伤,当用Nrf2激动剂SF对RIN细胞预处理后,可显著减少IL-1β与IFN-γ所致的细胞损伤;在体内利用链脲霉素(streptozotocin,STZ)诱导ICR小鼠致1型糖尿病模型,与对照组相比,提前注射SF组能够阻滞STZ所致的胰岛破坏,并恢复大部分胰岛细胞使胰岛素分泌至正常水平,且与抑制STZ小鼠NF-κB的活化有关。两个实验相互印证Nrf2激动剂SF能够通过增加Nrf2转录与上调Ⅱ相解毒酶表达,抑制NF-κB信号途径,减少氧化应激所致的β细胞损伤。在糖尿病的不同阶段,Nrf2能够通过不同的方式发挥对β细胞的保护作用:对于早期2型糖尿病,Nrf2活化能钝化高葡萄糖触发的ROS信号通路,从而使代偿性的葡萄糖刺激胰岛素分泌增加恢复到正常水平,减轻β细胞负荷;对于晚期2型糖尿病,Nrf2通过诱导抗氧化酶表达,保护β细胞免受进一步的氧化损害,从而最大限度地减少对胰岛素分泌功能的影响[17]。Yagishita等[18]利用4种遗传工程小鼠模型,证明Nrf2的诱导能够抑制胰岛β细胞内活性组分(reactive species,RS)的蓄积,减少RS对胰岛β细胞的损伤,恢复胰岛素的分泌,减少硝基酪氨酸水平,并诱导GSH相关基因和减少一氧化氮(NO)介导的胰岛β细胞凋亡,而Nrf2的缺失会加重胰岛β细胞的损害。

3.2 对胰岛素抵抗的影响

研究证实氧化应激在胰岛素抵抗的发生、发展中起着至关重要的作用[19]。以肿瘤坏死因子(tumournecrosis factor,TNF)或糖皮质激素地塞米松处理前脂肪细胞,会使细胞内的ROS堆积,从而产生胰岛素抵抗。而以抗氧化剂进行干预,能避免该现象的发生,表明氧化应激引起的ROS增加对胰岛素抵抗是一个重要的触发器[20]。STZ诱导的Nrf2$^{-/-}$糖尿病鼠较野生型(wild type,WT)糖尿病鼠血糖升高、胰岛素抵抗增加,可能与在肝脏中增加糖异生和减少糖酵解相关基因表达有关[21]。Nrf2激动剂奥替普拉能阻止高脂小鼠模型中氧化应激的生成,可能通过增加AMPK信号通路,抑制p70S6激酶的活化、增加GLUT4的表达,从而抑制胰岛素抵抗的产生,提高胰岛素敏感性,表明Nrf2抗氧化系统在调节氧化还原反应平衡及保持胰岛素敏感性方面也发挥着重要作用[22]。Nrf2激动剂姜黄素能够减少肥胖所致糖尿病鼠的胰岛素抵抗,可能是通过抑制白脂肪组织的巨噬细胞渗入和增加脂连素的生成,减少肝脏炎症和NF-κB活性,即抑制脂肪、肝脏、全身的炎症从而发挥作用[23]。另外,Nrf2激动剂白藜芦醇能够减少丙酮醛所致HepG2肝细胞的胰岛素抵抗,可能通过激活ERK途径,导致Nrf2的转录和增加HO-1的表达而发挥作用,相反,采用Nrf2-siRNA,即缺失Nrf2时,则能减少HO-1的表达[24]。

3.3 Nrf2通路与糖尿病大血管病变

高糖诱导的氧化应激在糖尿病大血管并发症的发生、发展中也发挥着重要作用。Hur等[25]报道在高糖浸润的大鼠血管平滑肌细胞中,丹参乙酸镁能通过上调Nrf2与NQO1表达从而减少血管平滑肌细胞的增殖及迁移,还能减少糖尿病大鼠颈动脉粥样硬化性模型(采用球囊损伤法)中新生内膜的增生,且与激活Nrf2-ARE-NQO1通路有关。将WT(野生型C57BL/6J小鼠)和Nrf2$^{-/-}$小鼠的骨髓细胞分别注射入接受辐射后的Ldlr$^{-/-}$小鼠,高脂饮食喂养7个月后,观察到较WT而言,Nrf2$^{-/-}$骨髓细胞移殖Ldlr$^{-/-}$小鼠的动脉粥样硬化损伤面积和肝纤维化显著增加,巨噬细胞凋亡、迁移增加,炎症反应和促炎症基因表达增加,提示Nrf2的缺失会恶化糖尿病伴随的动脉粥样硬化的发展[26]。SF作用于STZ诱导的1型糖尿病模型后,发现SF能够通过增加Nrf2的转录及其下游相关抗氧化基因的表达,发挥显著抑制糖尿病引起的心功能不全、心脏肥大、纤维化、心脏氧化损伤,而在H9c2心肌细胞中,利用Nrf2-siRNA则取消了SF预防高糖诱导的纤维化反应,提示SF能够预防糖尿病性心肌病[27]。Donovan等[28]报道,当对冠脉内皮细胞进行Nrf2-siRNA或对Keap1过表达(即阻断Nrf2信号通路),用血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF)和IGF-1刺激诱导血管生成,结果表明Nrf2缺失会出现细胞增殖和粘附受损、细胞迁移及形成毛细血管样结构的能力降低的情况,表明Nrf2是血管生成过程中正常内皮细胞的必需构件,Nrf2功能障碍可能是血管老化的一个潜在机制。而抗氧化剂Protandim能通过诱导Nrf2与Ⅱ相解毒酶的表达,逆转该现象的发生[29]。这些都进一步说明,Nrf2激动剂或抑制剂能够通过相应调控Nrf2及其下游基因的表达,影响细胞的增殖、迁移、粘附等,发挥在糖尿病大血管病变中的保护作用。

3.4 Nrf2通路与糖尿病微血管病变

常见的糖尿病微血管病变主要为糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy,DR)、糖尿病肾病(diabetic nephropathy,DN),其发病机制均未完全阐明,但与氧化应激有着肯定的联系。Xue等[30]研究证实,SF能阻止高糖诱导的微血管内皮细胞内ROS的生成,从而改善其生物学代谢功能障碍。黄酮类能诱导Nrf2与Ⅱ相解毒酶HO-1的合成,保护视网膜神经节细胞(retinal ganglion cell,RGC)免受氧化应激损伤[31]。而在Nrf2$^{-/-}$鼠中,RGC凋亡增加,其密度显著减少,表明Nrf2减少与DR形成有着密切的联系[32]。Xu等[33]首次观察到Nrf2在正常人和小鼠的视网膜细胞中有显著表达,与WT糖尿病鼠相比,Nrf2$^{-/-}$糖尿病鼠的视网膜血管渗透显著增加,ROS水平显著增加,GSH显著减少,早发血-视网膜屏障功能障碍,视觉功能障碍加重(与TNF-α显著增加有关),用TBH和H_2O_2诱导人Müller神经胶质细胞(MIO-M1),Nrf2-siRNA能够显著增加ROS,而Keap1-siRNA显著减少ROS。体外研究证实,高血糖所致的肾损伤,与高糖环境下ROS的过度生成有关,因而Nrf2通路在DN中可能也发挥着重要作用。动物实验证实,Nrf2激动剂能通过增加Nrf2的转录,减轻高糖所致的肾损伤[34]。

4 我们关于Nrf2通路与糖尿病微血管并发症的研究

我们实验室关于Nrf2通路与糖尿病的研究,最早开始于发现Nrf2对DN具有保护作用。我们发现DN患者肾小球球部的Nrf2表达上调,并可能与高糖所致的氧化应激损伤相关。Nrf2$^{-/-}$鼠肾组织的氧化应激和肾脏受损程度显著高于WT鼠。高糖导致人肾脏系膜细胞(HRMCs)产生ROS,并激活Nrf2及其下游基因的表达(可能是通过抑制TGF-β1和减少细胞外基质),表明高糖所致的球部氧化应激损伤反馈性激活了Nrf2通路,因此,我们推测饮食治疗等激活Nrf2的方法是否能够阻止或减慢DN的进程[35]? 紧接着,我们以Nrf2激动剂SF或CA干预DN,发现可减弱糖尿病常见的糖代谢紊乱症候群并显著改善肾小球球部病变,而该作用仅限于WT鼠,表明其功能通过特异的

Nrf2 通路激活。我们还在 HRMCs 和 DN 小鼠中证实 Nrf2 的激活能够降低氧化损伤,抑制 TGF-β1、细胞外基质蛋白、P21 的表达,还能恢复高糖刺激 HRMCs 产生的由 P21 介导的生长抑制和肥大,预示着 Nrf2 有望成为 DN 新的干预靶标[36]。该项研究还被墨尔本贝克 IDI 心脏与糖尿病研究中心的 de-Haan[37] 撰写专家述评,认为 Nrf2 通路激动剂将成为极具前景的 DN 治疗新靶点。另外,我们还发现 STZ 诱导的 $Nrf2^{-/-}$ 糖尿病鼠和 WT 糖尿病鼠的比目鱼肌Ⅱ型肌球蛋白类型均较大程度地从Ⅱa 型肌球蛋白重链(myosin heavy chain Ⅱa,MHC Ⅱa)转变成Ⅰ型肌球蛋白重链(myosin heavy chain Ⅰ, MHC Ⅰ),进一步研究发现这与过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活因子 1α(peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1 alpha, PGC-1α)这一在线粒体起源及肌球蛋白亚型表达中具有重要作用的蛋白相关,PGC-1α 在 $Nrf2^{-/-}$ 鼠、$Nrf2^{-/-}$ 糖尿病鼠、WT 糖尿病鼠的比目鱼肌中表达均明显降低。而体外实验表明,采用 Nrf2-siRNA 可致小鼠成肌细胞 C_2C_{12} 变异明显加重,相反使用 SF 则可以明显抑制肌细胞的变异。证明 Nrf2 在骨骼肌分化过程中发挥重要作用,并调控 STZ 诱导糖尿病骨骼肌萎缩模型中骨骼肌的收缩及代谢特性的相关分子机制[38]。上述研究表明 Nrf2 与多种糖尿病微血管并发症均密切相关,而糖尿病性溃疡(diabetic ulcers, DUs)作为特殊的血管并发症之一,Nrf2 是否也在其病理过程中发挥重要作用,目前尚不得而知。基于此,我们前期于角质化细胞 Hacat 内观察到高糖环境引致 ROS 堆积,伴随 Nrf2 与Ⅱ相解毒酶适度上调,这与我们既往在 DN、糖尿病骨骼肌病变中的初期发现相似。为鉴别 Nrf2 这一差异性表达是 ROS 堆积的伴随现象,还是发挥了特定功能,我们开展了进一步的研究,证实 ROS 堆积抑制 Hacat 细胞的增殖/迁移,以及增殖相关蛋白表达,同时诱导凋亡相关蛋白与基质金属蛋白酶表达上调,Nrf2-siRNA 干扰后,细胞增殖/迁移能力进一步下降,而 SF 与 CA 可部分逆转上述改变。基于这些初步的体外数据,我们推测:高糖引致的 ROS 堆积可能短暂、部分激活 Nrf2 及其下游抗氧化酶,这一变化在 DUs 初期将发挥重要保护作用,而其最终并未能完全阻止 DUs 进展,我们认为是由于随着时间推移,ROS 对 Nrf2 这一反馈激活能力下降,甚至于完全消失,接下来我们将从动物实验中相互论证,那么 Nrf2 有望为 DUs 干预提供新的靶点。

5 展望

Nrf2 最早被应用于肿瘤防治领域。研究发现在人类癌细胞中编码 Nrf2 的局部序列一旦发生突变,尤其是患鳞状上皮癌或有吸烟史的患者,会导致 Nrf2 在核内的募集并促进 Nrf2-ARE 调控基因转录,表明肿瘤的发生与 Nrf2 有着密切的联系[39]。Nrf2 在肿瘤的发生、发展中扮演着双重角色。一方面,Nrf2 活化能保护正常细胞免向癌细胞转化[40-41]。另一方面,Nrf2 活化能够促进癌细胞在有毒环境中的存活[2,42-43]。越来越多流行学证据表明,糖尿病增加多种肿瘤发生风险,如:DM 罹患胃癌、乳腺癌、胰腺癌、子宫内膜癌、结直肠癌和膀胱癌等肿瘤风险增加[44]。关于 Keap1-Nrf2 系统预防糖尿病的研究越来越多[45],Nrf2 在糖尿病合并肿瘤患者中的作用是我们下一步研究的重点,其在其他糖尿病微血管并发症中是否具有保护作用,或在现有并发症中的具体作用机制是什么也有待于进一步的研究。

综上所述,高糖引起的氧化应激,致使 ROS 的过度堆积,从而导致 β 细胞功能障碍、胰岛素抵抗及血管并发症的发生。Nrf2 通路作为迄今为止发现的最为重要的内源性抗氧化应激通路,与糖尿病及其并发症的发生、发展之间有着密切的联系,并有望成为极具前景的糖尿病干预新靶标。

参考文献:

[1] Prysyazhna O D, Sagach V S. The role of oxidative stress in the development of myocardial diastolic dysfunction with diabetes mellitus[J]. J Mol Cell Cardiol, 2007, 42(6): S59.

[2] DeNicola G M, Karreth F A, Humpton T J, *et al*. Oncogene-induced Nrf2 transcription promotes ROS detoxification and tumorigenesis[J]. Nature, 2011, 475(7354): 106-109.

[3] Yu X, Kensler T. Nrf2 as a target for cancer chemoprevention[J]. Mutat Res, 2005, 591(1/2): 93-102.

[4] Niedowicz D M, Daleke D L. The role of oxidative stress in diabetic complications[J]. Cell Biochem Biophys, 2005, 43(2): 289-330.

[5] Moi P, Chan K, Asunis I, *et al*. 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[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1994, 91(21): 9926-9930.

[6] Itoh K, Tong K I, Yamamoto M. Molecular mechanism activating Nrf2-Keap1 pathway in regulation of adaptive response to electrophiles[J]. Free Radic Biol Med, 2004, 36(10): 1208-1213.

[7] Lau A, Villeneuve N F, Sun Z, *et al*. Dual roles of Nrf2 in cancer [J]. Pharmacol Res, 2008, 58(5/6): 262-270.

[8] Wang X, Hai C X. ROS acts as a double-edged sword in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus: is Nrf2 a potential target for the treatment? [J]. Mini Rev Med Chem, 2011, 11(12): 1082-1092.

[9] Itoh K, Wakabayashi N, Katoh Y, *et al*. Keap1 represses nuclear activation of antioxidant responsive elements by Nrf2 through binding to the amino-terminal Neh2 domain[J]. Genes Dev, 1999, 13(1): 76-86.

[10] Zhang D D, Hannink M. Distinct cysteine residues in Keap1 are required for Keap1-dependent ubiquitination of Nrf2 and for stabilization of Nrf2 by chemopreventive agents and oxidative stress[J]. Mol Cell Biol, 2003, 23(22): 8137-8151.

[11] Zhang D D, Lo S C, Cross J V, *et al*. Keap1 is a redox-regulated substrate adaptor protein for a Cul3-dependent ubiquitin ligase com-

plex[J]. Mol Cell Biol, 2004, 24(24): 10941-10953.
[12] Wang X J, Sun Z, Chen W, *et al*. Activation of Nrf2 by arsenite and monomethylarsonous acid is independent of Keap1-C151: enhanced Keap1-Cul3 interaction[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2008, 230(3): 383-389.
[13] Itoh K, Wakabayashi N, Katoh Y, *et al*. Keap1 regulates both cytoplasmic-nuclear shuttling and degradation of Nrf2 in response to electrophiles[J]. Genes Cells, 2003, 8(4): 379-391.
[14] Lee J M, Calkins M J, Chan K, *et al*. Identification of the NF-E2-related factor-2-dependent genes conferring protection against oxidative stress in primary cortical astrocytes using oligonucleotide microarray analysis[J]. J Biol Chem, 2003, 278(14): 12029-12038.
[15] Robertson R P. Oxidative stress and impaired insulin secretion in type 2 diabetes[J]. Curr Opin Pharmacol, 2006, 6(6): 615-619.
[16] Song M Y, Kim E K, Moon W S, *et al*. Sulforaphane protects against cytokine- and streptozotocin-induced beta-cell damage by suppressing the NF-kappaB pathway[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2009, 235(1): 57-67.
[17] Pi J, Zhang Q, Fu J, *et al*. ROS signaling, oxidative stress and Nrf2 in pancreatic beta-cell function[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2010, 244(1): 77-83.
[18] Yagishita Y, Fukutomi T, Sugawara A, *et al*. Nrf2 protects pancreatic β-cells from oxidative and nitrosative stress in diabetic model mice[J]. Diabetes, 2014, 63(2): 605-618.
[19] Evans J L, Goldfine I D, Maddux BA, *et al*. Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes[J]. Endocr Rev, 2002, 23(5): 599-622.
[20] Houstis N, Rosen E D, Lander E S. Reactive oxygen species have a causal role in multiple forms of insulin resistance[J]. Nature, 2006, 440(7086): 944-948.
[21] Aleksunes L M, Reisman S A, Yeager R L, *et al*. Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 deletion impairs glucose tolerance and exacerbates hyperglycemia in type 1 diabetic mice[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2010, 333(1): 140-151.
[22] Yu Z, Shao W, Chiang Y, *et al*. Oltipraz upregulates the nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2 [corrected](NRF2) antioxidant system and prevents insulin resistance and obesity induced by a high-fat diet in C57BL/6J mice[J]. Diabetologia, 2011, 54(4): 922-934.
[23] Weisberg S P, Leibel R, Tortoriello D V. Dietary curcumin significantly improves obesity-associated inflammation and diabetes in mouse models of diabesity[J]. Endocrinology, 2008, 149(7): 3549-3558.
[24] Cheng A S, Cheng Y H, Chiou C H, *et al*. Resveratrol upregulates Nrf2 expression to attenuate methylglyoxal-induced insulin resistance in Hep G2 cells[J]. J Agric Food Chem, 2012, 60(36): 9180-9187.
[25] Hur K Y, Kim S H, Choi M A, *et al*. Protective effects of magnesium lithospermate B against diabetic atherosclerosis *via* Nrf2-ARE-NQO1 transcriptional pathway[J]. Atherosclerosis, 2010, 211(1): 69-76.
[26] Collins A R, Gupte A A, Ji R, *et al*. Myeloid deletion of nuclear factor erythroid 2-related factor 2 increases atherosclerosis and liver injury[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2012, 32(12): 2839-2846.
[27] Bai Y, Cui W, Xin Y, *et al*. Prevention by sulforaphane of diabetic cardiomyopathy is associated with up-regulation of Nrf2 expression and transcription activation[J]. J Mol Cell Cardiol, 2013, 57: 82-95.
[28] Donovan E L, McCord J M, Reuland D J, *et al*. Phytochemical activation of Nrf2 protects human coronary artery endothelial cells against an oxidative challenge[J]. Oxid Med Cell Longev, 2012, 2012: 132931.
[29] Valcarcel-Ares M N, Gautam T, Warrington J P, *et al*. Disruption of Nrf2 signaling impairs angiogenic capacity of endothelial cells: implications for microvascular aging[J]. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2012, 67(8): 821-829.
[30] Xue M, Qian Q, Adaikalakoteswari A, *et al*. Activation of NF-E2-related factor-2 reverses biochemical dysfunction of endothelial cells induced by hyperglycemia linked to vascular disease[J]. Diabetes, 2008, 57(10): 2809-2817.
[31] Maher P, Hanneken A. Flavonoids protect retinal ganglion cells from oxidative stress-induced death[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2005, 46(12): 4796-4803.
[32] Shanab A Y, Nakazawa T, Ryu M, *et al*. Metabolic stress response implicated in diabetic retinopathy: the role of calpain, and the therapeutic impact of calpain inhibitor[J]. Neurobiol Dis, 2012, 48(3): 556-567.
[33] Xu Z, Wei Y, Gong J, *et al*. NRF2 plays a protective role in diabetic retinopathy in mice[J]. Diabetologia, 2014, 57(1): 204-213.
[34] Li H, Zhang L, Wang F, *et al*. Attenuation of glomerular injury in diabetic mice with tert-butylhydroquinone through nuclear factor erythroid 2-related factor 2-dependent antioxidant gene activation[J]. Am J Nephrol, 2011, 33(4): 289-297.
[35] Jiang T, Huang Z P, Lin Y F, *et al*. The protective role of Nrf2 in STZ-induced diabetic nephropathy[J]. Diabetes, 2010, 59(4): 850-860.
[36] Zheng H, Whitman S A, Wu W, *et al*. Therapeutic potential of Nrf2 activators in streptozotocin-induced diabetic nephropathy[J]. Diabetes, 2011, 60(11): 3055-3066.
[37] de-Haan J B. Nrf2 activators as attractive therapeutics for diabetic nephropathy[J]. Diabetes, 2011, 60(11): 2683-2684.
[38] Whitman S A, Long M, Wondrak G T, *et al*. Nrf2 modulates contractile and metabolic properties of skeletal muscle in streptozotocin-induced diabetic atrophy[J]. Exp Cell Res, 2013, 319(17): 2673-2683.
[39] Shibata T, Ohta T, Tong K I, *et al*. Cancer related mutations in NRF2 impair its recognition by Keap1-Cul3 E3 ligase and promote malignancy[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(36): 13568-13573.
[40] Umemura T, Kuroiwa Y, Kitamura Y, *et al*. A crucial role of Nrf2 in *in vivo* defense against oxidative damage by an environmental pollutant, pentachlorophenol[J]. Toxicol Sci, 2006, 90(1): 111-119.
[41] Ramos-Gomez M, Kwak M K, Dolan P M, *et al*. Sensitivity to carcinogenesis is increased and chemoprotective efficacy of enzyme inducers is lost in nrf2 transcription factor-deficient mice[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2001, 98(6): 3410-3415.
[42] Ikeda H, Nishi S, Sakai M. Transcription factor Nrf2/MafK regulates rat placental glutathione S-transferase gene during hepatocarcinogenesis[J]. Biochem J, 2004, 380(Pt 2): 515-521.
[43] Jiang T, Chen N, Zhao F, *et al*. High levels of Nrf2 determine chemoresistance in type II endometrial cancer[J]. Cancer Res, 2010, 70(13): 5486-5496.
[44] Giovannucci E, Harlan D M, Archer M C, *et al*. Diabetes and cancer: a consensus report[J]. CA Cancer J Clin, 2010, 60(4): 207-221.
[45] Uruno A, Furusawa Y, Yagishita Y, *et al*. The Keap1-Nrf2 system prevents onset of diabetes mellitus[J]. Mol Cell Biol, 2013, 33(15): 2996-3010.

(收稿:2014-04-18;修回:2014-06-18)
(编辑 栾 嘉)