

# Nrf2 参与水生动物氧化应激调控的研究进展\*

严小军<sup>1,2</sup> 祁鹏志<sup>1,2</sup> 郭宝英<sup>1,2</sup> 李继姬<sup>1,2</sup>

(1. 国家海洋设施养殖工程技术研究中心 舟山 316022; 2. 浙江海洋大学海洋科学与技术学院 舟山 316022)

**摘要** 环境变化会诱导机体活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平升高, 从而产生氧化应激。氧化应激对所有生物的生存、生长、发育和进化都具有深远的影响。核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2 related factor 2, Nrf2)被公认为细胞氧化应激调控的主导者, 与伴侣蛋白 Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白 1 (kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1)一起控制数百个解毒酶和抗氧化蛋白编码基因的表达。近年来, Nrf2 在水生动物中逐渐获得重视, 并在一些模式鱼类如斑马鱼、鲤鱼及其他一些鱼类和水生无脊椎动物中得到研究。介绍了 Nrf2 的结构以及调控机制, 回顾了近年来水生动物 Nrf2 通路参与氧化应激调控所取得的进展。研究表明, Nrf2 在水生动物中广泛存在, 在非生物(金属、有机污染物、无机盐、药物及微塑料等)、生物(细菌、病毒、有毒藻类)以及生境变化(冰融、盐胁迫)诱导的氧化应激调控中发挥重要作用。Nrf2 一经激活入核, 在小 Maf 蛋白的协助下与抗氧化反应元件(antioxidant-response element, ARE)结合, 启动一系列 ARE 驱动基因的表达, 并和孕烷 X 受体(pregnane X receptor, Pxr)、丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)以及芳烃受体(aryl hydrocarbon receptor, AhR)等细胞通路协同作用参与一系列生理过程。Nrf2 在水生动物响应环境变化过程中发挥重要的细胞保护机制, 有望发展成为抗逆育种潜在的基因靶点。

**关键词** 核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2); 氧化应激; 水生动物

**中图分类号** Q599; Q789; X17 **doi:** 10.11693/hyh20201100316

活性氧(reactive oxygen species, ROS)是机体有氧代谢的副产物, 主要包含超氧阴离子( $O_2^-$ )、过氧化氢( $H_2O_2$ )和羟基自由基( $OH\cdot$ )等一类存在有未配对电子的分子、原子或基团物质。ROS 处于不断的生产过程中, 但因生物体发展有一套完整的 ROS 清除体系, 因此正常情况下生物体内的 ROS 处于不断生产和消除的动态平衡状态。一旦受到外界刺激, ROS 代谢可能会发生异常, 导致平衡状态被打破, 机体 ROS 水平升高。而 ROS 水平升高会导致脂质、蛋白质和 DNA 受损, 即引起所谓“氧化应激”(Kaspar *et al.*, 2009)。氧化应激对所有生物的生存、生长、发育和进化都具有深远的影响, 会导致组织变性、早衰、细胞凋亡、细胞转化和癌症(Breimer, 1990; Meneghini, 1997)。人类制造共计有超过 14 万种物质(Legradi *et al.*, 2018), 而

这些所有的化学物质最终都可能被水生生态系统吸收。除此之外, 水系统还充斥着细菌、病毒、寄生虫等对机体有害的微生物(Wang *et al.*, 2018b)。这些生物和非生物因子一经鳃、消化道和皮肤进入鱼类和水生无脊椎动物体内, 都可能破坏机体的氧化还原平衡, 进而导致 ROS 的累计而产生氧化应激(Rodriguez-Brito *et al.*, 2010)。因此, 水生动物面临比陆生动物更加严酷的氧化应激压力, 它们究竟发展了怎样的细胞防御体系以应对此种压力是当今生态毒理学尤其是水生生态毒理学领域的研究热点。

细胞通过表达抗氧化蛋白和 II 相解毒酶来为自身提供保护, 这些蛋白在低水平氧化应激状态下即可被激活, 而这种激活是通过被称为抗氧化反应元件(antioxidant-response element, ARE)或亲电反应元

\* 国家自然科学基金项目, 42020104009 号, 41976111 号, 42076119 号; 舟山市科技计划项目, 2020C21119 号, 2019F12004 号。严小军, 博士生导师, 教授, E-mail: yanxiaojun2019@sina.com, yanxj@zjou.edu.cn

通信作者: 祁鹏志, 博士, 副研究员, E-mail: qpz2004@vip.sina.com, qipengzhi@zjou.edu.cn

收稿日期: 2020-11-22, 收修改稿日期: 2020-12-29

件(electrophilic response element, EpRE)的顺式作用元件介导的(Kobayashi *et al*, 2005)。ARE 最初发现于编码人和鼠两种主要解毒酶谷胱甘肽 S 转移酶 Ya (GST-Ya)和 NAD(P)H 醌氧化还原酶 1 (Nqo1)的启动子区(Jaiswal, 1994), 而后来的研究发现 ARE 广泛存在于抗氧化蛋白和 II 相解毒酶基因的 5'启动子区, 从转录水平上调细胞保护酶对氧化胁迫的诱导反应(Nguyen *et al*, 2003)。由 ROS 及亲电体水平升高和/或抗氧化能力降低而引起的细胞氧化还原状态的改变是触发 ARE 介导的转录反应的重要信号(Nguyen *et al*, 2009)。接下来的研究中, ARE 的结合因子引起了科学家的兴趣。最终, 核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2 related factor 2, Nrf2)成为人们关注的焦点, 被公认为细胞抗氧化防御的主导者(Vomund *et al*, 2017)。

Nrf2 最早是被作为 p45 NF-E2 密切关联蛋白从 K562 细胞中克隆的(Moi *et al*, 1994)。p45 NF-E2 是珠蛋白异源二聚体中较大的亚基, 具有 NF-E2 位点的结合活性, 是珠蛋白基因表达的关键顺式调节因子(Andrews *et al*, 1993)。p45 NF-E2 相关蛋白中的 4 个成员 p45 NF-E2、Nrf1、Nrf2 和 Nrf3 已经在哺乳动物中分离出来, 被称为 Cap'n'collar (CNC)型碱性亮氨酸拉链(bZIP)蛋白(Motohashi *et al*, 2002)。这个名称来源于与果蝇 CNC 蛋白的序列相似性。CNC 蛋白首先在果蝇中被发现, 是唇和下颌发育所必需的(Mohler *et al*, 1995)。CNC 蛋白其中一个异构体 CNCC 蛋白包含 Nrf2 经典的 ETGE 基序, 可能发挥和脊椎动物中 Nrf2 类似的功能(Kobayashi *et al*, 2005)。Nrf2 在鼠、人、鸡和鱼中被鉴定出来, 并且被认为可能存在于所有其他脊椎动物中(Kobayashi *et al*, 2002), 而近年来的研究表明, Nrf2 也广泛存在于一些水生无脊椎动物包括贝类、虾类等(Silvestre, 2020), 表明 Nrf2 介导的细胞防御功能在自然界中可能是保守的。Nrf2 与 ARE 结合, 调节 ARE 介导的抗氧化基因表达从而参与响应环境变化的细胞反应(Dhakshinamoorthy *et al*, 2001; Jaiswal, 2004)。Nrf2 的活性调节机制表明, Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白 1 (kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1)是 Nrf2 的伴侣蛋白, 在 Nrf2 调控过程中发挥至关重要的作用。Keap1 和 Nrf2 共同构成一个二元系统, 在人体中调控多达 250 个含 ARE 结构的基因。Keap1-Nrf2 系统已发展成为机体对抗环境侵害的主要防御机制, 在维持机体稳态方面有着关键作用。

## 1 Nrf2、Keap1 结构

### 1.1 Nrf2 结构

Nrf2 是由核因子 NFE2L2 (erythroid-derived 2-like 2)编码的蛋白, 具有碱性亮氨酸拉链(basic region-leucine zipper, bZIP)结构, 隶属于 CNC 转录因子家族, 是该家族中活力最强的转录调控因子(Alam *et al*, 1999)。Nrf2 广泛存在于从低等的昆虫到高等的哺乳动物中, 在持续暴露于外界环境的皮肤、肺、消化道以及解毒代谢器官如肝脏和肾脏中大量表达。

同源比对发现 Nrf2 包含 7 个高度保守的 Neh (Nrf2-ECH homology)结构域(图 1a)。Neh1 位于 Nrf2 的 C 端, 包含 bZIP 基序, 能够与多种含有此同源结构的小 Maf 蛋白、c-Jun 蛋白、c-Fos 蛋白结合形成二聚体。细胞核内, Nrf2 通过 Neh1 区与小 Maf 蛋白结合, 进而识别并结合 ARE 元件, 启动下游基因转录。此外, Neh1 区还包含核转录因子普遍的核定位和输出信号, 能够与泛素连接酶 UbcM2 作用以调控 Nrf2 的核转位和降解(Jain *et al*, 2005)。Neh2 位于 Nrf2 的最末 N 端, 含有 DLG 和 ETGE 基序的结合位点, 是负调控蛋白 Keap1 的作用靶点。该结构域包含丰富的赖氨酸残基, 可介导 Nrf2 泛素化及 26S 蛋白酶体的降解(McMahon *et al*, 2004)。与 Keap1 解耦联的 Nrf2 进入细胞核并以 Nrf2-sMaf 异二聚体形式与 ARE 结合后并不能立即启动下游基因的转录, 而是需要一类被称为转录共激活子的辅助蛋白参与。位于最末 C 端的 Neh3 和位于 N 端的 Neh4、Neh5 负责结合转录共激活子, 共同行使转录调控功能。其中, Neh3 通过与解螺旋酶 DNA 结合蛋白 6 (chromodomain helicase DNA binding protein 6, CHD6)的相互作用来协助 Nrf2 的顺式激活(Nioi *et al*, 2005), 而 Neh4 和 Neh5 结构域是通过与环磷酸腺苷反应元件结合蛋白 (cyclic AMP response element-binding protein, CBP)的结合, 反式激活 Nrf2 的表达(Katoh *et al*, 2001)。对氧化还原不敏感的 Neh6 含有富含丝氨酸残基的 DSGIS 和 DSAPGS 基序, 可作为糖原合成酶激酶-3 (glycogen synthase kinase-3, GSK-3 $\beta$ )的磷酸化靶点, 启动 Keap1 非依赖的 Nrf2 降解(Chowdhry *et al*, 2013)。Neh7 是近年来新发现的 Nrf2 结构域, 其与视黄酸 X 受体  $\alpha$  (retinoic X receptor  $\alpha$ , RXR $\alpha$ )识别并结合后, 能够抑制 Nrf2 的转录(Wang *et al*, 2013a)。

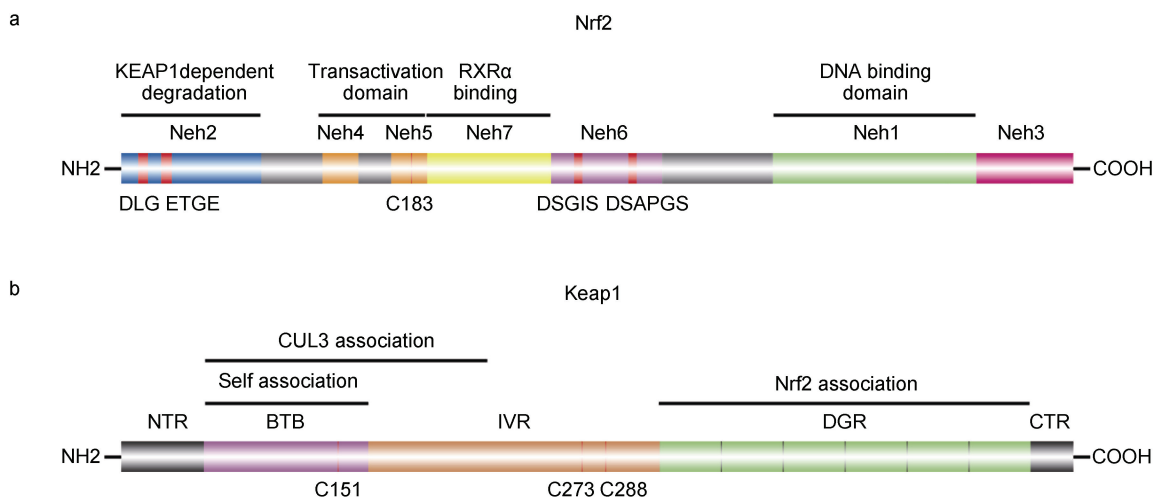


图 1 Nrf2 (a)和 Keap1 (b)分子的结构域图示

Fig.1 The schematic diagram of Nrf2 (a) and Keap1 (b) domain structure

注: Keap1-dependent degradation: Keap1-依赖型降解; Transactivation domain: 转录激活域; RXR $\alpha$  binding: RXR $\alpha$  结合域; DNA binding domain: DNA 结合域; CUL3 association: CUL 结合域; Self association: 自交联; Nrf2 association: Nrf2 结合域

## 1.2 Keap1 结构

Keap1 为隶属于 Kelch 家族的多区域阻遏蛋白, 可作为氧化应激的传感器存在, 对 Nrf2 号通路起负调控作用(Kobayashi *et al*, 2006)。生理状态下, Keap1 常以二聚体形式存在, 将 Nrf2 锚定在胞浆中, 抑制其活动。氨基酸序列及域功能分析发现 Keap1 包含 5 个不同的结构域: 氨基末端区(NTR)、羧基末端区(CTR)、Broad 复合物即 tramtrack 和 bric-a-brac 结构域(BTB), 插入区(IVR), 六个 Kelch/双甘氨酸重复序列(DGR) (图 1b)。BTB 和 DGR 区是主要的功能区(Kaspar *et al*, 2009)。Keap1 通过 BTB 区交联形成同源二聚体, 同时 BTB 也是 Cul3 (Cillion 3)依赖性 E3 泛素连接酶复合物的结合位点, 是介导 Nrf2 泛素化及蛋白降解的必要区域(Cullinan *et al*, 2004)。DGR 区是 Keap1 与 Nrf2 的结合区, 该区中的 6 个 Kelch 能够形成  $\beta$  折叠结构与 Nrf2 的 Neh2 区结合(Adams *et al*, 2000)。IVR 区含有大量的半胱氨酸(Cys, C)残基, 是整个蛋白的功能调节区。而 Nrf2 诱导剂也常通过修饰其中的 Cys273 和 Cys288 位点, 干扰 Nrf2 泛素化从而稳定 Nrf2 蛋白(Ogura *et al*, 2010)。

## 2 Nrf2 信号通路的调控机制

尽管 Nrf2 的激活入核能够诱导数百个具有细胞保护功能的基因的表达, 从而提高机体抗氧化应激的能力, 但 Nrf2 的无序激活也会对机体造成严重伤害。Keap1 缺陷型小鼠体内 Nrf2 无序表达, 小鼠在出

生后 3 周内死亡(Wakabayashi *et al*, 2003)。因此, 控制 Nrf2 活动对维持细胞内环境稳态, 保障机体健康至关重要。现有研究表明, Nrf2 信号通路的激活主要有两种调控方式: Keap1-依赖型调控(图 2a)和 Keap1-非依赖型调控(图 2b)。

### 2.1 Keap1-依赖型调控

生理状态下, 两个 Keap1 蛋白以 BTB 区交联形成二聚体, 同时使用该区域与 Cul3 相互作用。二聚体 Keap1 的两个 DGR 分别与 Nrf2 的 Neh2 结构域的 DLG 和 ETGE 基序结合将 Nrf2 限制在胞浆中。Nrf2 泛素化后被 26S 蛋白酶体降解以维持在较低的基础水平, 并以从头合成的方式更新(Stewart *et al*, 2003)。一小部分入核的 Nrf2 激活细胞保护基因的转录, 满足机体正常的抗氧化需求。

Keap1 含有 27 个 Cys 残基, 因此常将该分子视作内源性以及环境氧化应激信号的传感器(Sihvola *et al*, 2017)。ROS 氧化硫醇, 诱导大分子谷胱甘肽(GSH)化和烷基化, 因此具有修饰 Keap1 Cys 的能力(Holland *et al*, 2008)。Nrf2 的 Keap1-依赖型调控都是以 Keap1 的 Cys 修饰为基础的。一旦暴露于亲电体和 ROS, Keap1 的某些 Cys 残基(主要是 C273 和 C288)被修饰, 导致 Keap1 构象改变, Keap1 处于一个非功能性封闭状态。尽管 Nrf2 的 DLG 和 ETGE 基序能够与 Keap1 的 DGR 结合, 但不能被泛素化蛋白酶体降解, 因此没有足够的处于游离状态的 Keap1 产生。导致新生产的 Nrf2 不能被 Keap1 捕获而发生入核激

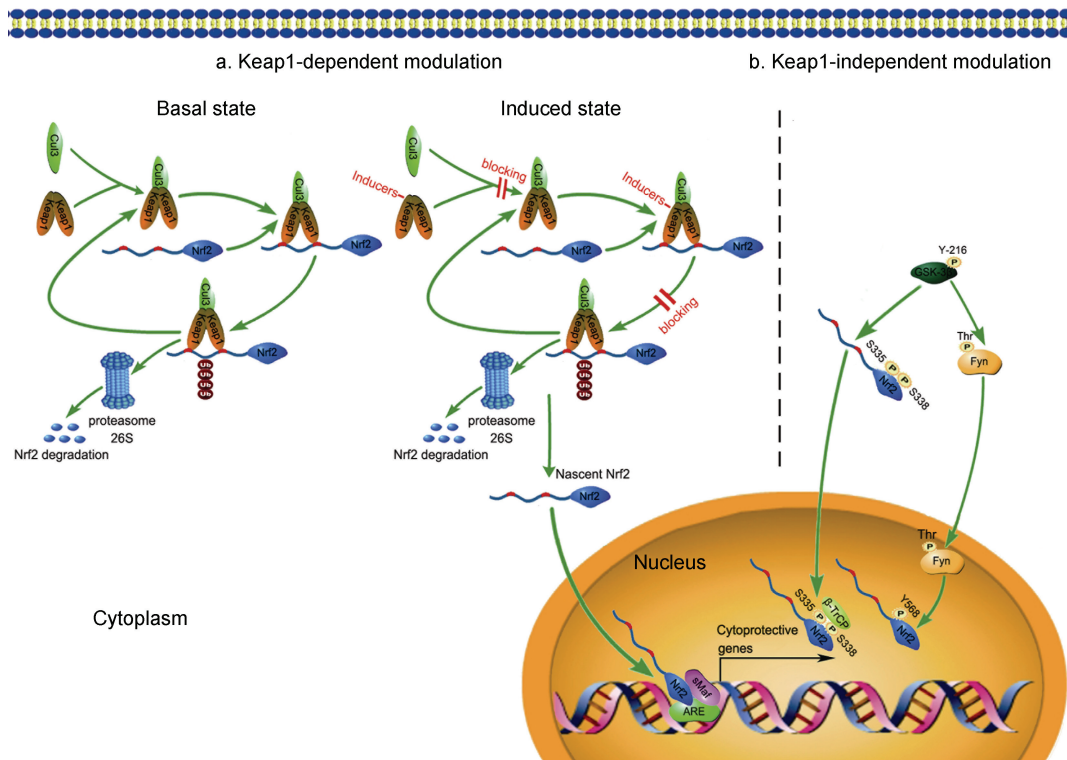


图2 Nrf2 信号通路的调控机制: (a) Keap1-依赖型调控和(b) Keap1-非依赖型调控

Fig.2 The illustration of regulatory mechanisms for Nrf2 signaling pathway: (a) Keap1-dependent modulation and (b) Keap1-independent modulation

注: Keap1-dependent modulation: Keap1-依赖型调控; Keap1-independent modulation: Keap1-非依赖型调控; Basal state: 基态; Induced state: 诱导态; Inducers: 诱导物; blocking: 阻断; proteasome 26S: 蛋白酶体 26S; Nrf2 degradation: Nrf2 降解; Nascent Nrf2: 新生 Nrf2; Cytoprotective genes: 细胞保护基因; Cytoplasm: 细胞质; Nucleus: 细胞核

活(Baird *et al.*, 2013)。另外还有一种“铰链和门锁”模型。认为 Nrf2 的 DLG 基序对 Keap1 的亲合力比 ETGE 基序弱的多, 导致亲电体攻击 Keap1 的 Cys 时, DLG 与 Keap1 DGR 区的结合会断开, 使 Nrf2 不能被泛素化降解, 从而发生入核转移(Jung *et al.*, 2010)。Keap1 抑制的另一个机制与它与 Nrf2 泛素化所需的 CUL3 复合物的相互作用有关。位于 BTB 结构域的 C151 影响 Keap1 与 Cul3 的结合。Nrf2 激活剂巴多索隆(CDDO, RTA401)与 Keap1 在 C151 位点形成加合物, 从而破坏 Keap1 和 Cul3 之间的相互作用(Naidu *et al.*, 2018), Keap1 被阻塞在 Nrf2 结合构象中, 新合成的 Nrf2 逃脱泛素化从而产生入核激活(Robledinos-Antón *et al.*, 2019)。入核后的 Nrf2 与小 Maf 蛋白(MafK, MafG, MafF)结合后识别 ARE 序列并启动下游基因转录(Yamamoto *et al.*, 2018)。

## 2.2 Keap1-非依赖性调控

糖原合酶激酶-3β (glycogen synthase kinase-3, GSK-3β)被认为参与 Nrf2 入核激活后的调控。GSK-3β 蛋白激酶是一种多功能丝氨酸/苏氨酸激酶, 在多种

信号通路中发挥重要作用(Kannoji *et al.*, 2008)。GSK-3β 能够磷酸化酪氨酸激酶 Fyn 的某个苏氨酸(Thr, T)残基, 介导 Fyn 的入核激活(Dai *et al.*, 2017)。激活的 Fyn 磷酸化 Nrf2 的酪氨酸(Tyr, Y)568 残基, 诱导 Nrf2 的核输出, 并被 Keap1 捕获后降解(Jain *et al.*, 2006)。另外, 在胞浆中 GSK-3β 能够直接磷酸化 Nrf2 位于 Neh6 区的丝氨酸(Ser, S)335 和 338 残基, 而后磷酸化的 Nrf2 易位到细胞核中, 并被 E3 泛素连接酶 β-TrCP (β-transducin repeat containing E3 ubiquitin protein ligase, β-TrCP)直接识别, 诱导 Nrf2 的核泛素化和降解(Hayes *et al.*, 2015)。除此之外, 一种竞争机制也会影响 Nrf2 对下游基因转录的激活。碱性亮氨酸拉链转录因子 1 (basic leucine zipper transcription factor 1, Bach1)是机体内一种广泛存在转录抑制子(Sun *et al.*, 2002), 和 Nrf2 有一定的亲缘关系(Kobayashi *et al.*, 2006)。生理状态下, Bach1 和小 sMaf 蛋白形成异二聚体并与 ARE 元件结合(Dhakshinamoorthy *et al.*, 2005), 抑制基因表达。氧化应激时, Bach1 从 ARE 中释放出来并被 Nrf2 取代。

Bach1 与 Nrf2 竞争与 ARE 的结合, 导致 Nrf2 下游基因的抑制(Jain *et al*, 2005)。

### 3 Nrf2 信号通路参与水生动物氧化应激调控

在长期的进化过程中, 水生动物发展了相对完善的细胞应激体系以应对复杂的生存环境。在哺乳动物中发现的一些典型细胞应激信号通路, 如丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)通路, 核因子- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B)通路, 过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR)通路以及 Nrf2 通路等在水生动物中也被发现, 而 Nrf2 通路在其中发挥核心作用(Silvestre, 2020)。

#### 3.1 Nrf2 与环境污染相关性研究

金属作为水系统中最常见的污染物, 对其研究最早也最为深入。在水生动物中, Nrf2 已被报道参与多种金属诱导的氧化应激反应(表 1)。而斑马鱼作为一种水生模式生物, 在 Nrf2 抗氧化应激调控研究中发挥了引领作用。镉是一种嗅觉毒物, 诱导斑马鱼抗

氧化基因谷胱甘肽硫转移酶 pi (GSTpi)、谷氨酸半胱氨酸连接酶催化亚基(GCLC)、血红素氧化酶 1 (HO-1)、过氧化物酶 1 (Prdx1)表达, 但被吗啡代介导的 Nrf2 敲降阻断, 导致嗅觉驱动行为破坏、细胞死亡增加和嗅觉感觉神经元丢失。嗅觉神经元特异性基因在 Nrf2 吗啡突变体斑马鱼中表达下调。用 Nrf2 的激活剂萝卜硫素(SFN)预处理胚胎, 可减弱镉诱导的嗅觉组织损伤(Wang *et al*, 2013b)。环境相关浓度的铬(2 mg/L)胁迫下, 斑马鱼肝脏中 Nrf2 在 mRNA 及酶活水平上均显著上调, 免疫组化证实其发生了入核激活。Nrf2 的激活诱导下游 Nqo1 和含铜和锌的超氧化物歧化酶(CuZnSOD)表达(Shaw *et al*, 2019)。紫草碱可以减轻铬诱导的斑马鱼肝细胞毒性, 其最终也是通过激活 Nrf2-Keap1-ARE 通路, 诱导细胞保护基因红细胞衍生核因子 2 样蛋白 2 (Fe2I2)、Nqo1 和热激蛋白 70 (Hsp70)的表达, 提高细胞活力, 减少 ROS 产生来实现的(Shaw *et al*, 2020)。另外, Shaw 等(2019)

表 1 Nrf2 参与水生动物氧化应激调控  
Tab.1 The Nrf2s involvement in the modulation of oxidative stress in aquatic organisms

外源刺激	机体	影响	参考文献		
非生物	金属	镉	斑马鱼嗅觉系统	GSTpi、GCLC、HO-1 以及 Prdx1 表达上调, 但被吗啡代介导的 Nrf2 敲降阻断。嗅觉神经元特异性基因在 Nrf2-斑马鱼中表达下调。SFN 预孵化, 减弱镉组织损伤。	Wang <i>et al</i> , 2013b
			背角无齿蚌肾脏	低浓度镉, Nrf2 mRNA 表达上调, Keap1 表达下调。高浓度镉, Nrf2 无变化, Keap1 表达下调。	井维鑫, 2019
			克氏原螯虾肝胰腺	THC 和 proPO 下调, ROS 升高。p38MAPK 和 Nrf2 激活, 且与 proPO 活性密切相关。	Wei <i>et al</i> , 2020
	铜	建鲤脑	Nrf2 核积累, Nrf2 与 ARE 结合能力增强, CuZnSOD 表达水平升高。Nrf2、Maf G1 和 PKC 上调。	Jiang <i>et al</i> , 2014	
			核 Nrf2 水平降低, ARE 结合能力减弱, caspase-3 上调, CuZnSOD, GPx1a, GPx1b 下调。	Jiang <i>et al</i> , 2015	
		金鲳肝脏和头肾	Nrf2 表达上调, Keap1 及 OH-1、SOD、CAT 表达上调。	Xie <i>et al</i> , 2020	
	锌	大黄鱼脾	Nrf2、CuZnSOD、CAT、GPx 和 GR 表达变化, Nrf2 与抗氧化元件表达正相关, 与 Keap1 表达负相关。	Zheng <i>et al</i> , 2016	
		幼草鱼肠道	锌缺乏下调 Nrf2 表达, 对肠道免疫屏障造成伤害。	Song <i>et al</i> , 2017	
	铬	斑马鱼肝脏	Nrf2 表达上调, 且发生入核激活, Nqo1 和 CuZnSOD 表达上调。	Shaw <i>et al</i> , 2019	
		斑马鱼肝脏	紫草碱激活 Nrf2-Keap1-ARE 通路, 诱导 Fe2I2, Nqo1 和 Hsp70 的表达, 减轻铬毒性。	Shaw <i>et al</i> , 2020	
		斑马鱼胚胎	ABCs 表达上调, Pxr 和 nrf2 的突变升高 ABCs 基础水平但减弱诱导表达。Nrf2 的突变破坏了 GSH 的产生, 使金属具有更高的毒性。	Hu <i>et al</i> , 2019	
	PAHs	tBOOHA-NF, BNF	斑马鱼胚胎	Nrf2 敲除增加 tBOOH 暴露后的死亡率, 抑制了 SOD, GSTpi, GPx)以及 GCL 上调, 并加剧了胚胎畸形。	Timme-Laragy <i>et al</i> , 2009
Bap		菲律宾蛤仔消化腺	在第 1 天和第 6 天, Nrf2 表达上调, Keap1 表达下调, 二者呈负相关。15 d 后, Nrf2, Keap1, Cul3 以及 SOD, CAT, GST 表达上调。Nrf2 敲降导致上述抗氧化元件表达下调。	Wang <i>et al</i> , 2018a	
栉孔扇贝消化腺		Nrf2, Keap1 以及 SOD, CAT, GST 表达上调。Keap1 敲降后, Nrf2 表达上调, 抗氧化元件以及 PKC, c-JNK 和 p38 表达上调。	Wang <i>et al</i> , 2019a		

续表

外源刺激	机体	影响	参考文献
POPs	厚壳贻贝鳃个消化腺	Nrf2 表达上调, SOD, CAT, GPx 和 GR 表达上调, 呈正相关。Nrf2 过表达导致 ROS 和脂质过氧化水平降低。	Qi <i>et al</i> , 2020
	斑马鱼胚胎	Nrf2 和 HO-1 表达上调。与 SFN 共暴露时, ROS 水平下降。Nrf2 敲除后, HO-1 表达下调。	Shi <i>et al</i> , 2010
	黑斑蛙肝	CYP3A、Nrf2 和 NQO1 mRNA 表达上调。	Tang <i>et al</i> , 2018
	虹鳟头肾	Pxr 解毒系统和 Nrf2 抗氧化系统协同作用。	Liu <i>et al</i> , 2019
	太平洋牡蛎鳃和消化腺	Keap1 和 Nrf2 蛋白结构保守, GR 表达上调。	Danielli <i>et al</i> , 2017a
普通有机物	过氧化氢 欧洲鳗鲡肝脏	Nrf2 及下游抗氧化元件表达上调, Keap1 表达下调。	Giuliani <i>et al</i> , 2014
	黑头呆鱼肌肉细胞	T-SOD, GSH-PX 的活性以及 GSH 含量降低, Nrf2 敲降加剧此过程。	Chen <i>et al</i> , 2020
无机盐	As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> 斑马鱼脑	Nrf2 表达上调, Keap1 表达下调, 二者负相关。HO-1 和 Nqo1 表达上调。	Sarkar <i>et al</i> , 2014
	NaF 斑马鱼脑	Nrf2 及下游抗氧化元件表达上调, Keap1 表达下调。	Mukhopadhyay <i>et al</i> , 2015a
	斑马鱼肝脏	Nrf2 及下游异性生物质代谢酶表达上调, Keap1 表达下调。	Mukhopadhyay <i>et al</i> , 2015b
	As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> +NaF 斑马鱼肝脏	Nrf2 表达上调, Keap1 表达下调。联合暴露与单独暴露差异不大。	Mondal <i>et al</i> , 2019
	无机汞 大黄鱼肝脏	Nrf2 和抗氧化元件表达呈正相关, 与 Keap1 呈负相关。	Zeng <i>et al</i> , 2016
	亚砷酸钠 幼斑马鱼	nrf2ah318 斑马鱼生存率降低。Nrf2 及抗氧化元件表达。SFN 预处理, 提高成活率。	Fuse <i>et al</i> , 2016
	代森锰锌 鲤鱼脑	GPx、GR 和 GST 表达上调, CAT 和 SOD 下调。总 Nrf2 以及磷酸化的 Nrf2 表达上调。	Costa-Silva <i>et al</i> , 2018
	氨水 拉氏鳊肝脏和肠道	显著上调了氨胁迫下 Nrf2 及下游抗氧化元件表达, 并显著下调了 NF-κB 信号通路中促炎因子基因的表达。	Yu <i>et al</i> , 2020a
植物提取物	心叶青 罗非鱼血清、鳃、牛胆 肝脏和肾脏	MAPK 和 NRF2/ keap1 信号通路协同作用改善二氧化钛纳米颗粒诱导的毒性。	Vineetha <i>et al</i> , 2021
药物	双氯灭痛 食蚊鱼	Nrf2 在 24 h 被抑制, 在 168 h 被诱导, 表现出显著的时间和/或剂量效应关系。抗氧化酶活性表现出不同的状态, 酶活性和 MDA 含量没有明显变化。	Bao <i>et al</i> , 2017
	大黄素 团头鲂外周血	Nrf2 及 Keap1 表达均上调。	Zhao <i>et al</i> , 2017
	大黄素 武昌鱼血浆	大黄素补充通过激活 PPARs 和 Nrf2-keap1 通路增加了抗氧化能力。	Song <i>et al</i> , 2019
	姜黄素 太平洋牡蛎鳃和消化腺	姜黄素预处理提高牡蛎对异丙枯烯过氧化氢的抗性, 但 Nrf2 和 Keap1 均不受姜黄素调控。	Danielli <i>et al</i> , 2017b
	异烟肼 INH 斑马鱼肝脏	Nrf2 信号通路作为应激补偿机制在 INH 诱导的肝损伤中被激活, 但不足以抵消 INH 诱导的肝毒性。	Jia <i>et al</i> , 2019
	四环素类 抗生素 幼斑马鱼	金霉素(CTC)和土霉素(OTC)均作为 PI3K 的抑制剂, 抑制 Nrf2/ARE 信号的激活从而降低鱼的抗氧化能力。	Yu <i>et al</i> , 2019
	三氯生 斑马鱼肝脏和脑	Nrf2 和 Nrf2 (Ser40)表达下调。三氯生诱导 Nrf2 磷酸化, 入核后调节肝和脑中的基因转录。Nrf2 的过表达上调了 pri-miR-125b1、pri-miR-125b3 的表达以增加卵黄、大脑和肝脏的脂滴积累。	Wang <i>et al</i> , 2020a
	阿司匹林 鰕虎鱼肝脏	暴露早期干扰虾虎鱼的氧化还原平衡, 但亚慢性阿司匹林长期暴露可激活 Nrf2 信号通路以提高抗氧化能力。	Wang <i>et al</i> , 2020b
	微塑料 纳米和微米级苯丙乙烯微球 凝结核芽孢杆菌	Nrf2、p-EKR 和 p-P38 通路协同作用, 诱导抗氧化元件表达, 减轻氧化应激的影响。	Jeong <i>et al</i> , 2017
	生物类 细菌 嗜水气单胞菌 幼建鲤脾和头肾	饮食中凝结核芽孢杆菌的适量补充可以激活 Nrf2-Keap1 通路, 提高抗氧化元件如 NOX2 和 Prx2 的表达水平, 提高抗氧化能力。适宜肌醇投饲会通过激活 Nrf2 通路上调抗氧化元件的表达以清除细菌感染诱导的 ROS。	Yu <i>et al</i> , 2018 Jiang <i>et al</i> , 2016

续表

外源刺激	机体	影响	参考文献	
	草鱼头肾和脾脏	适宜肌醇投饲显著上调 Nrf2 的表达, 同时下调 Keap1 的表达, 从而激活 Nrf2 信号通路。	胡凯等, 2019	
	草鱼血清和肝脏	姜黄素上调 Nrf2 和抗氧化酶表达, 下调 Keap1a 和 Keap1b 表达。	Ming <i>et al</i> , 2020	
病毒	SVCV	EPC 细胞	Nrf2 表达上调。SFN 能显著增加 Nrf2 的核转运, 上调效应基因的表达。	杨毅, 2014
		FHM 细胞	SFN 和 CDDO-Me 可以激活 Nrf2 通路。SFN 和 CDDO-Me 预处理下调 SVCV-G 表达, 降低病毒滴度, 抑制 SVCV 的复制。Nrf2 敲降抑制 Nrf2 表达。	邵军辉, 2016
藻类	WSSV	日本囊对虾血细胞	WSSV 可以利用对虾的 Nrf2 系统启动自身含有 ARE 元件的基因的表达, 进而促进病毒复制。	陈敬, 2018
		翡翠贻贝鳃	短期暴露导致鳃氧化损伤, 破坏鳃组织骨架。长期高密度暴露激活 Nrf2 信号通路, 降低毒素对贻贝的影响。	He <i>et al</i> , 2019
	微囊藻毒素	褶纹冠蚌肝胰腺和血淋巴	Nrf2 在各组织中均表达, 肝胰腺中表达最高。微囊藻刺激后, 肝胰腺和血淋巴中 Nrf2 表达上调。	王晓波, 2018
		褶纹冠蚌肝胰腺	Nrf2 表达上调, MnSOD、CuZnSOD、GST 等抗氧化元件表达上调。	Wu <i>et al</i> , 2020
生物絮凝	拉氏鲮脾脏和肝胰腺	Nrf2 通路激活, NF- $\kappa$ B 通路抑制。	Yu <i>et al</i> , 2020b	
生境变化	冰融化	侧纹南极鱼胚胎	与温带同系物相比, Nrf2 蛋白序列显示基础功能高度保守性, 非必需区域有一些特定取代, 可能代表对低温的分子适应性。	Giuliani <i>et al</i> , 2017
	盐胁迫	凤鲚鳃、脑、心、肝、脾、肠、肾和肌肉	Nrf2 被激活, 与 AQP1 协同调节渗透作用, 上调 SOD, GPx 等表达, 刺激溶菌酶活性, 提高白细胞计数。凤鲚通过构建 Nrf2 调控网络来应对盐胁迫。	Wang <i>et al</i> , 2019b

研究还发现作为芳烃受体(AhR)通路中重要成分的细胞色素 P4501 亚族 A 多肽(CYP1A)在铬暴露后也显著表达上调, 作者认为这可能是通过 Nrf2 依赖的 AhR 通路间接诱导的, 表明细胞抗氧化机制的组成部分之间存在广泛的串话。类似的交互作用机制也在研究斑马鱼银和镉暴露时被发现(Hu *et al*, 2019)。在野生型斑马鱼胚胎中, 银和镉的积累和毒性受三磷酸腺苷结合盒(ABC)转运体的影响, 可以显著诱导 ABC 转运体的 mRNA 表达, 而孕烷 X 受体(Pxr)和 Nrf2 的突变降低了这些诱导效应, 但 ABC 转运蛋白基础表达的升高弥补了诱导性缺失。Pxr 缺陷胚胎中金属离子的毒性未变, 然而, Nrf2 的突变破坏了 GSH 的产生, 导致银和镉在斑马鱼胚胎中的毒性增强。此外, 在未进行攻毒的 Pxr 缺陷模型中, 其他转录因子如 Ahr1b、Ppar- $\beta$ 、Nrf2 表达均出现上调, 而 Ahr1b、Ppar- $\beta$  和 Pxr 的诱导增强仅在金属离子暴露的 Nrf2 缺陷胚胎中可见, 说明对转录因子缺失的不同补偿现象。

在斑马鱼中, Nrf2 近年来也被报道参与除金属以外的其他多种环境污染物包括 PAHs、POPs、无机盐、药物等的氧化应激调控过程(表 1)。氟化钠(NaF)暴露时, 斑马鱼脑和肝脏中 Nrf2 表达上调, 而 Keap1 表达下调, 同时下游细胞氧化应激基因表达上调, 证实了

Nrf2 在 NaF 诱导的斑马鱼氧化应激中发挥重要作用, 且与哺乳动物中经典的 Keap1 负调控 Nrf2 的方式相吻合(Mukhopadhyay *et al*, 2015a, b)。在三氧化二砷(As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)暴露的斑马鱼中, Nrf2 也以同样的方式在脑中激活, 诱导下游 HO-1 和 Nqo1 表达上调, 参与抗三氧化二砷诱导的氧化应激过程(Sarkar *et al*, 2014)。叔丁基过氧化氢(tBOOH)以及  $\alpha$ -、 $\beta$ -萘黄酮(ANF, BNF)单独或者 ANF+BNF 联合暴露时, 斑马鱼胚胎中 SOD、GSTpi、谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)以及谷氨酰半胱氨酸连接酶(GCL)表达显著上调。当用吗啉代将 Nrf2 敲降后, 这些元件表达上调被明显抑制, 且使得 tBOOH 暴露后的斑马鱼胚胎死亡率增加, 并加剧 ANF+BNF 联合暴露导致的胚胎畸形(Timme-Laragy *et al*, 2009)。全氟辛烷磺酰基化合物(PFOS)暴露明显上调 Nrf2 和下游 HO-1 的表达。当与 Nrf2 的激活剂 SFN 共暴露时, ROS 水平明显下降。当用吗啉代将 Nrf2 沉默后, PFOS 诱导的 HO-1 表达明显下调(Shi *et al*, 2010)。高剂量的亚砷酸钠暴露下, Nrf2 突变型 Nrf2a<sup>h318</sup> (Nrf2 DNA 结合区域发生突变)幼斑马鱼死亡率明显高于野生型。亚砷酸钠暴露诱导细胞应激保护因子 GCLC、GSTpi、ABCC2 以及 Prdx1 以 Nrf2 依赖的方式表达, 而 SFN 预处理显著提高亚砷酸盐

暴露时的斑马鱼成活率, Nrf2 在对抗急性亚砷酸钠毒性中发挥重要作用(Fuse *et al*, 2016)。

在除斑马鱼之外的其他鱼类中, 也有证据表明 Nrf2 参与细胞应激, 是触发抗氧化级联反应的关键事件之一。在建鲤中, 0.60 mg/L 铜暴露 4 d 增加鱼脑 Nrf2 核积累, 诱导下游抗氧化元件 CuZnSOD、GPx1a、GR 表达上调。增强 Nrf2 与 ARE 结合的能力, 导致 CuZnSOD 表达水平升高。铜暴露还上调了 Nrf2、MafG1 和蛋白激酶 C (PKC) 的表达, 表明这些蛋白需要重新合成, 以延长对抗氧化基因的诱导时效(Jiang *et al*, 2014)。在建鲤肌肉中呈现了与之相反的结果。0.56 mg/L 铜暴露 4 d 导致鱼肌肉中核 Nrf2 蛋白水平降低, ARE 结合能力减弱, 半胱氨酸蛋白酶-3 (caspase-3) 介导的 DNA 断裂增加, 诱导抗氧化元件 CuZnSOD、GPx1a、GPx1b 表达下调, 抗氧化酶活性降低从而引起肌肉的氧化损伤(Jiang *et al*, 2015)。这些研究表明即使同种污染对鱼体不同组织造成的伤害也不尽相同, 鱼体不同组织对同种污染诱导的氧化应激可能发展出了不同的应对机制。尽管如此, 这些研究仍证实 Nrf2 在鱼体应对急性 Cu 污染事件中发挥重要调控作用。在虹鳟中还发现, 头肾中 Nrf2 介导的抗氧化系统和 PXR 介导的解毒系统协同作用以对抗 2,2',4,4'-四溴联苯醚(BDE-47)诱导的氧化压力(Liu *et al*, 2019)。此外, 在草鱼应对锌(Song *et al*, 2017)和姜黄素(Ming *et al*, 2020), 大黄鱼应对锌(Zheng *et al*, 2016)和汞(Zeng *et al*, 2016), 鰕虎鱼应对阿司匹林(Wang *et al*, 2020b)等事件中, 均能发现 Nrf2 信号通路的身影。

无脊椎动物缺乏脊椎动物那样获得性的细胞应激机制, 机体防御反应仅依靠非特异的固有调控机制, 其应对外部刺激的机体反应逐渐得到重视。近年来, Nrf2 在一些无脊椎动物中逐渐被发现, 并报道在机体抗外界刺激诱导的氧化应激中发挥重要作用。低浓度镉暴露会引起背角无齿蚌肾脏中 Nrf2 表达上调同时 Keap1 表达下调, 而高浓度镉暴露下, Nrf2 表达水平无明显变化, Keap1 表达明显下调(井维鑫, 2019)。在克氏原螯虾中, 镉暴露显著降低四氢大麻酚(THC)和酚氧化酶原(proPO)水平, 而 ROS 水平以时间和剂量依赖的方式升高。同时镉暴露明显提升 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38MAPK)和 Nrf2 的表达和激活, 且 p38MAPK 和 Nrf2 表达与 proPO 活性密切相关, 肝胰脏可能通过 ROS 介导的 MAPK/Nrf2 途径参与氧化还原活动(Wei *et al*, 2020)。叔丁基对苯二酚(tBHQ)

作为 Nrf2 的激活剂, 处理太平洋牡蛎后, GR mRNA 和蛋白水平上调, 证实其诱导作用可能是通过 Nrf2 途径产生。太平洋牡蛎 Keap1 和 Nrf2 蛋白的保守结构域以及经典 Nrf2 诱导剂 tBHQ 对相关抗氧化防御的明确诱导, 支持了双壳类 Nrf2/Keap1 通路与哺乳动物中功能相一致的观点(Danielli *et al*, 2017a)。苯并芘(Bap)处理菲律宾蛤仔后, 在第 1 天和第 6 天, Nrf2 的转录水平显著提高, 且与 Keap1 呈现负相关, 与抗氧化元件 GST、SOD、GPx 和 CAT 的转录表达呈现正相关。RNAi 将 Nrf2 敲低后, 抗氧化元件表达呈现与 Nrf2 一致的变化。与对照组相比, 脂质过氧化水平明显升高。结果表明, Keap1 能够感知氧化应激, 与 Nrf2 组成经典的二元系统在双壳贝类对 Bap 应激调控事件中发挥作用(Wang *et al*, 2018a)。这一观点在作者对另外一种双壳贝类栉孔扇贝的研究中得以强化。另外, 在苯并芘处理栉孔扇贝后, 除抗氧化元件外, PKC、c-JNK 和 p38MAPK 也呈现与 Nrf2 一致的表达变化, PKC、MAPKs 以及 Nrf2 通路在双壳动物抗 Bap 氧化防御中可能发挥协同的作用机制(Wang *et al*, 2019a)。本团队在厚壳贻贝中也证实 Nrf2 参与 Bap 的氧化应激调控过程。Bap 暴露显著上调 Nrf2 转录表达, 同时下游抗氧化元件 SOD、CAT、GPx 和 GR 转录及蛋白表达上调, Nrf2 与抗氧化基因转录表达呈现正相关。Nrf2 原核表达后注射厚壳贻贝, 导致 Bap 诱导的 ROS 和脂质过氧化水平比对照组显著降低(Qi *et al*, 2020)。在矮小拟镖水蚤内, 还发现纳米和微米级苯丙乙烯微球能够诱导细胞内 ROS 的升高, 并激活 Nrf2 信号通路, 上调 GPx、GR、SOD 和 GST 酶活水平, 减轻细胞氧化应激反应(Jeong *et al*, 2017)。

### 3.2 Nrf2 与微生物胁迫相关性研究

在哺乳动物中的大量研究已经证实, 作为应激状态下最重要的细胞防御通路, Nrf2 在包括嗜血杆菌(Lugade *et al*, 2011)、肺炎链球菌(Gomez *et al*, 2016)、结核分枝杆菌(Rothchild *et al*, 2019), 以及肝炎病毒(Ivanov *et al*, 2011; Schaedler *et al*, 2010)、甲型流感病毒(Kosmider *et al*, 2012)、水疱性口炎病毒(Olagnier *et al*, 2017)在内的多种病原微生物的感染中发挥着重要作用。微生物感染可诱导机体产生大量的 ROS, 改变正常的氧化应激状态。在此情况下, Nrf2 信号通路被激活, 一方面诱导下游抗氧化基因表达以增强对 ROS 的清除, 维持细胞内环境稳态; 另一方面与免疫信号通路如 TNF- $\alpha$ 、NF- $\kappa$ B 等协同作用, 通过诱导抗炎、抗细胞凋亡基因的表达增强整体的免疫耐受能



力。Nrf2 单独参与水产动物抗菌应激的研究尚未见报道, 现有研究多涉及 Nrf2 参与其他物质诱导的抗菌调控过程。Jiang 等(2016)报道, 嗜水气单胞菌能够诱导建鲤氧化应激。与肌醇摄入处于最优水平的建鲤相比, 肌醇摄入过少或过多的鱼体头肾和脾脏中 Nrf2 及下游抗氧化元件包括 CuZnSOD、MnSOD、CAT、GPx1a 和 GR 的转录表达均受到抑制。适宜剂量的肌醇摄入会通过激活 Nrf2 和 E2F 转录因子 4 (E2F4) 介导的通路上调抗氧化基因的表达, 促进损伤细胞更新来应对嗜水气单胞菌诱导的氧化应激, 促进机体健康。在草鱼中同样发现适宜水平的肌醇补充能在草鱼受到嗜水气单胞菌胁迫时显著下调 Keap1 的表达, 同时上调 Nrf2 的表达, 从而激活 Nrf2 信号通路, 降低 ROS 水平, 提高抗氧化酶活性, 增强其抗氧化能力(胡凯等, 2019)。这些研究证明 Nrf2 在肌醇补充诱导的抗细菌感染能力提升过程中发挥重要作用, 此外, 一些益生菌类细菌也可通过 Nrf2 通路发挥作用。Yu 等(2018)报道了异育银鲫饮食中凝结芽孢杆菌的适量补充可以激活 Nrf2-Keap1 通路, 上调抗氧化元件如 NADPH 氧化酶 2 (Nox2) 和过氧化物酶 2 (Prx2) 表达水平, 增强抗氧化反应, 提高生长性能。

尽管 Nrf2 已被广泛证实参与哺乳动物病毒感染过程, 但关于其在水生动物病毒感染中的作用却鲜有报道。尽管如此, 近年来的一些研究已证实 Nrf2 在水生动物病毒感染过程中发挥关键性作用。鲤春病毒血症病毒(SVCV)感染黑头软口鲮上皮瘤细胞(EPC)细胞后, Nrf2 的核蛋白和总蛋白含量以及转录水平均提升明显, 表明 SVCV 感染能激活 Nrf2, 增加其基因转录和蛋白表达, 导致在细胞核内的累积。Nrf2 的激活剂 2-氰基-3,12-二氧代齐墩果-1,9(11)-二烯-28-羧酸(CDDO-Me)对 EPC 中 Nrf2 的激活效应有限, 而莱菔硫烷(SFN)能显著增加 Nrf2 的核转运, 上调下游效应基因的表达, 提高的总抗氧化能力。但介导的激活对 SVCV 的复制无显著性影响(杨毅, 2014)。SFN 和 CDDO-Me 刺激胖头鲤肌肉细胞系(FHM)可以激活 Nrf2-ARE 信号通路, 提高细胞总抗氧化能力。当 FHM 受到 SVCV 感染时, SFN 和 CDDO-Me 预处理可以极显著降低 SVCV-G 的转录水平, 降低病毒滴度, 抑制 SVCV 的复制。当 Nrf2 被敲降后, Nrf2 蛋白表达和转录水平受到明显抑制, 且废除两种激活剂对 Nrf2-ARE 信号通路的激活作用(邵军辉, 2016)。这些研究表明 Nrf2 的激活有利于机体降低病毒诱导的氧化应激, 维持细胞稳态, 对病毒的感染发挥抵抗性作

用。但在白斑综合征病毒(WSSV)感染日本囊对虾过程中, Nrf2 发挥的作用与之相反。WSSV 感染引起对虾血细胞内 ROS 水平升高, 导致的 Nrf2 的 mRNA 表达以及细胞核中的蛋白水平表达上升。将 Nrf2 敲低后, 对虾体内病毒蛋白的复制受到抑制, 同时存活率明显上升。注射 SFN 后, Nrf2 表达量上升的同时病毒蛋白的表达量也上升。进一步研究发现, WSSV 结构蛋白 VP41B 前端具有 ARE 元件, 可与 Nrf2 结合。敲低 Nrf2 可以抑制 VP41B 的表达, 而 SFN 处理则增强其表达, 而 RNA 干扰实验证实 VP41B 与 WSSV 复制相关。这些结果说明 WSSV 可以利用对虾的 Nrf2-ARE 系统启动自身含有 ARE 元件的基因的表达, 进而促进病毒复制(陈敬, 2018)。

在软体动物如翡翠贻贝、褶纹冠蚌中还发现 Nrf2 参与有害藻类及藻毒素诱导的氧化应激反应。利马原甲藻短期暴露导致翡翠贻贝鳃中 Keap1、CAT 以及 ABC 转运蛋白转录表达上调, 而 GPx1 和 Nqo1 表达下调, 鳃明显损伤。随着暴露时间延长, Nrf2 表达显著上调, 而 KEAP1 下调, 同时 Nqo1、SOD、GST- $\omega$  和 ABCB1 上调, 96h 后鳃损伤恢复。作者认为利马原甲藻可能导致鳃的氧化损伤。然而, 长时间高密度暴露可激活 Nrf2 信号通路, 从而降低毒素对贻贝鳃组织的影响(He *et al*, 2019)。Nrf2 在褶纹冠蚌的外套膜、闭壳肌、腮、血淋巴、肝胰脏各组织中都均有表达, 且在肝胰脏中表达最高。微囊藻毒素刺激后, 肝胰脏和血淋巴中 Nrf2 表达上调, 显示 Nrf2 通路被激活(王晓波, 2018)。Wu 等(2020)也发现微囊藻毒素会诱导褶纹冠蚌肝胰脏中 Nrf2 转录水平升高, 而下游抗氧化元件 MnSOD、CuZnSOD、SeGPx 和 GST 等转录及蛋白表达均上调, 认为 Nrf2 通路对保护软体动物免受微囊藻毒素侵害至关重要。

### 3.3 Nrf2 与生境变化相关性研究

近年来研究表明, Nrf2 也与一些鱼类特殊的生境适应相关联。侧纹南极鱼胚胎发育的最后阶段正值海冰融化和辐射强度增加, 微藻群落的释放和光合作用过程的激活提高了氧浓度, 而大量的溶解有机物和无机营养盐发生光解反应, 生成羟基自由基和过氧化氢, 此时侧纹南极鱼不可避免地遭受氧化压力的威胁(Regoli *et al*, 2014)。Giuliani 等(2017)研究发现与温带物种 Nrf2 相比, 侧纹南极鱼 Nrf2 蛋白序列显示出对催化功能所必需的氨基酸的高度保守性, 但在非必需区域出现了一些特定取代, 这可能代表了一种分子适应性, 以提高在低温下活性位点的灵活性和可变性。另

外, 在孵化前期 Nrf2 表达与胚胎发育初期相比明显上调, 其调控的抗氧化元件如 CAT、GST、SeGPx 也出现转录及翻译水平的上调, 证实了 Nrf2 在南极洲早期生命阶段抗冰融化应激保护过程中的重要性。Nrf2 也被证实在抗盐胁迫中发挥重要作用, 例如在凤鲚中发现了一个 Nrf2 介导的盐应激调控网络(Wang *et al.*, 2019b)。当凤鲚遭受盐胁迫时, Nrf2 在鳃、脑、肠和肾四种被认为主要的渗透调节器官(Laverty *et al.*, 2012)中被激活, 与水通道蛋白 1 (AQP1)协同作用参与渗透调节过程。此时, 下游抗氧化酶 SOD、GPx 被激活以应对盐胁迫诱导的氧化压力。另外, Nrf2 还通过刺激溶菌酶活性和提高白细胞计数来触发免疫增强作用以应对盐胁迫可能带来的免疫水平下降。

#### 4 水生动物 Nrf2 研究存在的问题及展望

ROS 的持续产生是水生动物应对外源胁迫时一个非常普遍的效应。非生物的水污染以及生物的细菌、病毒都会诱导机体 ROS 的过多累积, 从而导致氧化应激。尽管在水生动物中已经深入研究了参与抗氧化反应的主要酶, 但对其关键调控途径的理解还远未完成。Nrf2 通路被认为是细胞氧化应激最主要的防御机制, 无论是在成体还是在胚胎发生过程中, 各种外源刺激都可以破坏细胞的氧化通道并触发 Nrf2 途径。当前 Nrf2 通路在水生动物中的研究大多聚焦于模式鱼类, 如斑马鱼和鲤鱼, 在其他鱼类和水生非脊椎动物中所涉不多。仅有的一些研究也多集中于 Nrf2 的鉴定, 以及对其能够参与抗氧化应激调控这样粗浅的认识。对 Nrf2 通路各种成分之间高水平的相互作用, 及其与其他抗氧化机制联合激活一个复杂的细胞应激调控网络还远未涉及。接下来, 应加深水生动物 Nrf2 调控异源物暴露详细路径及与其他通路如 MAPK、AhR 等协同作用的研究, 这不仅可以提供有关污染物作用方式(mode of action, MOA)的新线索, 而且还有助于开发高通量方法来评估生态毒理风险。另外, 这些问题的深入研究也可增进对水生动物响应外界胁迫应激调控机制的理解, 为制定水生动物资源可持续开发利用对策提供新思路。

#### 参 考 文 献

王晓波, 2018. 褶纹冠蚌 Nrf2 和 MafK 基因的表达与功能分析. 南昌: 南昌大学硕士学位论文  
井维鑫, 2019. 亚慢性铜胁迫背角无齿蚌的氧化应激与机制研究. 太原: 山西大学博士学位论文  
杨毅, 2014. EPC 抗氧化应激通路 Nrf2/ARE 对鲤春病毒的响

应. 武汉: 华中农业大学硕士学位论文  
陈敬, 2018. Nrf2-ARE 通路在白斑综合征病毒感染中的作用与机制研究. 济南: 山东大学硕士学位论文  
邵军辉, 2016. 靶向于 Nrf2-ARE 信号的抗鲤春病毒血症病毒研究. 武汉: 华中农业大学硕士学位论文  
胡凯, 李双安, 冯琳等, 2019. 肌醇对嗜水气单胞菌致生长长期草鱼头肾和脾脏氧化损伤的保护作用. 水产学报, 43(10): 2256—2267  
Adams J, Kelso R, Cooley L, 2000. The kelch repeat superfamily of proteins: propellers of cell function. Trends in Cell Biology, 10(1): 17—24  
Alam J, Stewart D, Touchard C *et al.*, 1999. Nrf2, a Cap'n'Collar transcription factor, regulates induction of the heme oxygenase-1 gene. Journal of Biological Chemistry, 274(37): 26071—26078  
Andrews N C, Erdjument-Bromage H, Davidson M B *et al.*, 1993. Erythroid transcription factor NF-E2 is a haematopoietic-specific basic-leucine zipper protein. Nature 362(6422): 722—728  
Baird L, Llères D, Swift S *et al.*, 2013. Regulatory flexibility in the Nrf2-mediated stress response is conferred by conformational cycling of the Keap1-Nrf2 protein complex. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 110(38): 15259—15264  
Bao S, Nie X P, Ou R K *et al.*, 2017. Effects of diclofenac on the expression of Nrf2 and its downstream target genes in mosquito fish (*Gambusia affinis*). Aquatic Toxicology, 188: 43—53  
Breimer L H, 1990. Molecular mechanisms of oxygen radical carcinogenesis and mutagenesis: the role of DNA base damage. Molecular Carcinogenesis, 3(4): 188—197  
Chen X M, Wang Q J, Guo Z X *et al.*, 2020. Identification of the Nrf2 in the fathead minnow muscle cell line: role for a regulation in response to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induced the oxidative stress in fish cell. Fish Physiology and Biochemistry, 46(5): 1699—1711  
Chowdhry S, Zhang Y, McMahon M *et al.*, 2013. Nrf2 is controlled by two distinct  $\beta$ -TrCP recognition motifs in its Neh6 domain, one of which can be modulated by GSK-3 activity. Oncogene, 32(32): 3765—3781  
Costa-Silva D G, Lopes A R, Martins I K *et al.*, 2018. Mancozeb exposure results in manganese accumulation and Nrf2-related antioxidant responses in the brain of common carp *Cyprinus carpio*. Environmental Science and Pollution Research, 25(16): 15529—15540  
Cullinan S B, Gordan J D, Jin J P *et al.*, 2004. The Keap1-BTB protein is an adaptor that bridges Nrf2 to a Cul3-based E3 ligase: oxidative stress sensing by a Cul3-Keap1 ligase. Molecular and Cellular Biology, 24(19): 8477—8486  
Dai X Z, Yan X Q, Zeng J *et al.*, 2017. Elevating CXCR7 improves angiogenic function of EPCs via Akt/GSK-3 $\beta$ /Fyn-mediated Nrf2 activation in diabetic limb ischemia. Circulation Research, 120(5): e7—e23  
Danielli N M, Trevisan R, Mello D F *et al.*, 2017a. Contrasting effects of a classic Nrf2 activator, *tert*-butylhydroquinone, on the glutathione-related antioxidant defenses in Pacific

- oysters, *Crassostrea gigas*. Marine Environmental Research, 130: 142—149
- Danielli N M, Trevisan R, Mello D F *et al*, 2017b. Upregulating Nrf2-dependent antioxidant defenses in Pacific oysters *Crassostrea gigas*: Investigating the Nrf2/Keap1 pathway in bivalves. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 195: 16—26
- Dhakshinamoorthy S, Jain A K, Bloom D A *et al*, 2005. Bach1 competes with Nrf2 leading to negative regulation of the antioxidant response element (ARE)-mediated NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 gene expression and induction in response to antioxidants. Journal of Biological Chemistry, 280(17): 16891—16900
- Dhakshinamoorthy S, Long II D J, Jaiswal A K, 2001. Antioxidant regulation of genes encoding enzymes that detoxify xenobiotics and carcinogens. Current Topics in Cellular Regulation, 36: 201—216
- Fuse Y, Nguyen V T, Kobayashi M, 2016. Nrf2-dependent protection against acute sodium arsenite toxicity in zebrafish. Toxicology and Applied Pharmacology, 305: 136—142
- Giuliani M E, Benedetti M, Nigro M *et al*, 2017. Nrf2 and regulation of the antioxidant system in the Antarctic silverfish, *Pleuragramma antarctica*: adaptation to environmental changes of pro-oxidant pressure. Marine Environmental Research, 129: 1—13
- Giuliani M E, Regoli F, 2014. Identification of the Nrf2-Keap1 pathway in the European eel *Anguilla anguilla*: role for a transcriptional regulation of antioxidant genes in aquatic organisms. Aquatic Toxicology, 150: 117—123
- Gomez J C, Dang H, Martin J R *et al*, 2016. Nrf2 modulates host defense during *Streptococcus pneumoniae pneumonia* in mice. The Journal of Immunology, 197(7): 2864—2879
- Hayes J D, Chowdhry S, Dinkova-Kostova A T *et al*, 2015. Dual regulation of transcription factor Nrf2 by Keap1 and by the combined actions of  $\beta$ -TrCP and GSK-3. Biochemical Society Transactions, 43(4): 611—620
- He Z B, Duan G F, Liang C Y *et al*, 2019. Up-regulation of Nrf2-dependent antioxidant defenses in *Perna viridis* after exposed to *Prorocentrum lima*. Fish & Shellfish Immunology, 90: 173—179
- Holland R, Hawkins A E, Egger A L *et al*, 2008. Prospective type 1 and type 2 disulfides of Keap1 protein. Chemical Research in Toxicology, 21(10): 2051—2060
- Hu J, Tian J J, Zhang F *et al*, 2019. Pxr- and Nrf2- mediated induction of ABC transporters by heavy metal ions in zebrafish embryos. Environmental Pollution, 255: 113329
- Ivanov A V, Smirnova O A, Ivanova O N *et al*, 2011. Hepatitis C virus proteins activate NRF2/ARE pathway by distinct ROS-dependent and independent mechanisms in HUH7 cells. PLoS One, 6(9): e24957
- Jain A K, Bloom D A, Jaiswal A K, 2005. Nuclear import and export signals in control of Nrf2. Journal of Biological Chemistry, 280(32): 29158—29168
- Jain A K, Jaiswal A K, 2006. Phosphorylation of tyrosine 568 controls nuclear export of Nrf2. Journal of Biological Chemistry, 281(17): 12132—12142
- Jaiswal A K, 1994. Antioxidant response element. Biochemical Pharmacology, 48(3): 439—444
- Jaiswal A K, 2004. Nrf2 signaling in coordinated activation of antioxidant gene expression. Free Radical Biology and Medicine, 36(10): 1199—1207
- Jeong C B, Kang H M, Lee M C *et al*, 2017. Adverse effects of microplastics and oxidative stress-induced MAPK/Nrf2 pathway-mediated defense mechanisms in the marine copepod *Paracyclopsina nana*. Scientific Reports, 7: 41323
- Jia Z L, Cen J, Wang J B *et al*, 2019. Mechanism of isoniazid-induced hepatotoxicity in zebrafish larvae: Activation of ROS-mediated ERS, apoptosis and the Nrf2 pathway. Chemosphere, 227: 541—550
- Jiang W D, Hu K, Liu Y *et al*, 2016. Dietary *myo*-inositol modulates immunity through antioxidant activity and the Nrf2 and E2F4/cyclin signalling factors in the head kidney and spleen following infection of juvenile fish with *Aeromonas hydrophila*. Fish & Shellfish Immunology, 49: 374—386
- Jiang W D, Liu Y, Hu K *et al*, 2014. Copper exposure induces oxidative injury, disturbs the antioxidant system and changes the Nrf2/ARE (CuZnSOD) signaling in the fish brain: protective effects of *myo*-inositol. Aquatic Toxicology, 155: 301—313
- Jiang W D, Liu Y, Jiang J *et al*, 2015. Copper exposure induces toxicity to the antioxidant system via the destruction of Nrf2/ARE signaling and caspase-3-regulated DNA damage in fish muscle: amelioration by *myo*-inositol. Aquatic Toxicology, 159: 245—255
- Jung K A, Kwak M K, 2010. The Nrf2 system as a potential target for the development of indirect antioxidants. Molecules, 15(10): 7266—7291
- Kannoji A, Phukan S, Sudher Babu V *et al*, 2008. GSK3 $\beta$ : a master switch and a promising target. Expert Opinion on Therapeutic Targets, 12(11): 1443—1455
- Kaspar J W, Niture S K, Jaiswal A K, 2009. Nrf2:INrf2 (Keap1) signaling in oxidative stress. Free Radical Biology and Medicine, 47(9): 1304—1309
- Katoh Y, Itoh K, Yoshida E *et al*, 2001. Two domains of Nrf2 cooperatively bind CBP, a CREB binding protein, and synergistically activate transcription. Genes to Cells, 6(10): 857—868
- Kobayashi M, Itoh K, Suzuki T *et al*, 2002. Identification of the interactive interface and phylogenic conservation of the Nrf2-Keap1 system. Genes to Cells, 7(8): 807—820
- Kobayashi M, Yamamoto M, 2005. Molecular mechanisms activating the Nrf2-Keap1 pathway of antioxidant gene regulation. Antioxidants & Redox Signaling, 7(3/4): 385—394
- Kobayashi M, Yamamoto M, 2006. Nrf2-Keap1 regulation of cellular defense mechanisms against electrophiles and reactive oxygen species. Advances in Enzyme Regulation, 46(1): 113—140
- Kosmider B, Messier E M, Janssen W J *et al*, 2012. Nrf2 protects human alveolar epithelial cells against injury induced by influenza A virus. Respiratory Research, 13(1): 43

- Lavery G, Skadhauge E, 2012. Adaptation of teleosts to very high salinity. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 163(1): 1—6
- Legradi J, Di Paolo C, Kraak M H S *et al*, 2018. An ecotoxicological view on neurotoxicity assessment. *Environmental Sciences Europe*, 30(1): 46
- Liu C C, Wang B Y, Zhou B *et al*, 2019. The responses of *Oncorhynchus mykiss* coping with BDE-47 stress via PXR-mediated detoxification and Nrf2-mediated antioxidation system. *Aquatic Toxicology*, 207: 63—71
- Lugade A A, Vethanayagam R R, Nasirikenari M *et al*, 2011. Nrf2 regulates chronic lung inflammation and B-cell responses to nontypeable *Haemophilus influenzae*. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 45(3): 557—565
- McMahon M, Thomas N, Itoh K *et al*, 2004. Redox-regulated turnover of Nrf2 is determined by at least two separate protein domains, the redox-sensitive Neh2 degron and the redox-insensitive Neh6 degron. *Journal of Biological Chemistry*, 279(30): 31556—31567
- Meneghini R, 1997. Iron homeostasis, oxidative stress, and DNA damage. *Free Radical Biology and Medicine*, 23(5): 783—792
- Ming J H, Ye J Y, Zhang Y X *et al*, 2020. Optimal dietary curcumin improved growth performance, and modulated innate immunity, antioxidant capacity and related genes expression of NF- $\kappa$ B and Nrf2 signaling pathways in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) after infection with *Aeromonas hydrophila*. *Fish & Shellfish Immunology*, 97: 540—553
- Mohler J, Mahaffey J W, Deutsch E *et al*, 1995. Control of Drosophila head segment identity by the bZIP homeotic gene *cnc*. *Development*, 121(1): 237—247
- Moi P, Chan K, Asunis I *et al*, 1994. 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. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(21): 9926—9930
- Mondal P, Shaw P, Bandyopadhyay A *et al*, 2019. Mixture effect of arsenic and fluoride at environmentally relevant concentrations in zebrafish (*Danio rerio*) liver: expression pattern of Nrf2 and related xenobiotic metabolizing enzymes. *Aquatic Toxicology*, 213: 105219
- Motohashi H, O'Connor T, Katsuoka F *et al*, 2002. Integration and diversity of the regulatory network composed of Maf and CNC families of transcription factors. *Gene*, 294(1/2): 1—12
- Mukhopadhyay D, Priya P, Chattopadhyay A, 2015a. Sodium fluoride affects zebrafish behaviour and alters mRNA expressions of biomarker genes in the brain: role of Nrf2/Keap1. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 40(2): 352—359
- Mukhopadhyay D, Srivastava R, Chattopadhyay A, 2015b. Sodium fluoride generates ROS and alters transcription of genes for xenobiotic metabolizing enzymes in adult zebrafish (*Danio rerio*) liver: expression pattern of Nrf2/Keap1 (INrf2). *Toxicology Mechanisms and Methods*, 25(5): 364—373
- Naidu S D, Muramatsu A, Saito R *et al*, 2018. C151 in KEAP1 is the main cysteine sensor for the cyanoenone class of NRF2 activators, irrespective of molecular size or shape. *Scientific Reports*, 8: 8037
- Nguyen T, Nioi P, Pickett C B, 2009. The Nrf2-antioxidant response element signaling pathway and its activation by oxidative stress. *Journal of Biological Chemistry*, 284(20): 13291—13295
- Nguyen T, Sherratt P J, Pickett C B, 2003. Regulatory mechanisms controlling gene expression mediated by the antioxidant response element. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 43: 233—260
- Nioi P, Nguyen T, Sherratt P J *et al*, 2005. The carboxy-terminal Neh3 domain of Nrf2 is required for transcriptional activation. *Molecular and Cellular Biology*, 25(24): 10895—10906
- Ogura T, Tong K I, Mio K *et al*, 2010. Keap1 is a forked-stem dimer structure with two large spheres enclosing the intervening, double glycine repeat, and C-terminal domains. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(7): 2842—2847
- Olagnier D, Lababidi R R, Hadj S B *et al*, 2017. Activation of Nrf2 signaling augments vesicular stomatitis virus oncolysis via autophagy-driven suppression of antiviral immunity. *Molecular Therapy*, 25(8): 1900—1916
- Qi P Z, Tang Z R, 2020. The Nrf2 molecule trigger antioxidant defense against acute benzo(a)pyrene exposure in the thick shell mussel *Mytilus coruscus*. *Aquatic Toxicology*, 226: 105554
- Regoli F, Giuliani M E, 2014. Oxidative pathways of chemical toxicity and oxidative stress biomarkers in marine organisms. *Marine Environmental Research*, 93: 106—117
- Robledinos-Antón N, Fernández-Ginés R, Manda G *et al*, 2019. Activators and inhibitors of NRF2: a review of their potential for clinical development. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019: 9372182
- Rodriguez-Brito B, Li L L, Wegley L *et al*, 2010. Viral and microbial community dynamics in four aquatic environments. *The ISME Journal*, 4(6): 739—751
- Rothchild A C, Olson G S, Nemeth J *et al*, 2019. Alveolar macrophages generate a noncanonical NRF2-driven transcriptional response to *Mycobacterium tuberculosis* in vivo. *Science Immunology*, 4(37): eaaw6693
- Sarkar S, Mukherjee S, Chattopadhyay A *et al*, 2014. Low dose of arsenic trioxide triggers oxidative stress in zebrafish brain: expression of antioxidant genes. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 107: 1—8
- Schaedler S, Krause J, Himmelsbach K *et al*, 2010. Hepatitis B virus induces expression of antioxidant response element-regulated genes by activation of Nrf2. *Journal of Biological Chemistry*, 285(52): 41074—41086
- Shaw P, Mondal P, Bandyopadhyay A *et al*, 2019. Environmentally relevant concentration of chromium

- activates Nrf2 and alters transcription of related XME genes in liver of zebrafish. *Chemosphere*, 214: 35—46
- Shaw P, Sen A, Mondal P *et al*, 2020. Shinorine ameliorates chromium induced toxicity in zebrafish hepatocytes through the facultative activation of Nrf2-Keap1-ARE pathway. *Aquatic Toxicology*, 228: 105622
- Shi X J, Zhou B S, 2010. The role of Nrf2 and MAPK pathways in PFOS-induced oxidative stress in zebrafish embryos. *Toxicological Sciences*, 115(2): 391—400
- Sihvola V, Levenon A L, 2017. Keap1 as the redox sensor of the antioxidant response. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 617: 94—100
- Silvestre F, 2020. Signaling pathways of oxidative stress in aquatic organisms exposed to xenobiotics. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological and Integrative Physiology*, 333(6): 436—448
- Song C Y, Liu B, Xu P *et al*, 2019. Emodin ameliorates metabolic and antioxidant capacity inhibited by dietary oxidized fish oil through PPARs and Nrf2-Keap1 signaling in Wuchang bream (*Megalobrama amblycephala*). *Fish & Shellfish Immunology*, 94: 842—851
- Song Z X, Jiang W D, Liu Y *et al*, 2017. Dietary zinc deficiency reduced growth performance, intestinal immune and physical barrier functions related to NF- $\kappa$ B, TOR, Nrf2, JNK and MLCK signaling pathway of young grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Fish & Shellfish Immunology*, 66: 497—523
- Stewart D, Killeen E, Naquin R *et al*, 2003. Degradation of transcription factor Nrf2 via the ubiquitin-proteasome pathway and stabilization by cadmium. *Journal of Biological Chemistry*, 278(4): 2396—2402
- Sun J Y, Hoshino H, Takaku K *et al*, 2002. Hemoprotein Bach1 regulates enhancer availability of heme oxygenase-1 gene. *The EMBO Journal*, 21(19): 5216—5224
- Tang J, Jia X Y, Gao N N *et al*, 2018. Role of the Nrf2-ARE pathway in perfluorooctanoic acid (PFOA)-induced hepatotoxicity in *Rana nigromaculata*. *Environmental Pollution*, 238: 1035—1043
- Timme-Laragy A R, Van Tiem L A, Linney E A *et al*, 2009. Antioxidant responses and NRF2 in synergistic developmental toxicity of PAHs in zebrafish. *Toxicological Sciences*, 109(2): 217—227
- Vineetha V P, Devika P, Prasitha K *et al*, 2021. *Tinospora cordifolia* ameliorated titanium dioxide nanoparticle-induced toxicity via regulating oxidative stress-activated MAPK and NRF2/Keap1 signaling pathways in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 240: 108908
- Vomund S, Schäfer A, Parnham M J *et al*, 2017. Nrf2, the master regulator of anti-oxidative responses. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(12): 2772
- Wakabayashi N, Itoh K, Wakabayashi J *et al*, 2003. Keap1-null mutation leads to postnatal lethality due to constitutive Nrf2 activation. *Nature Genetics*, 35(3): 238—245
- Wang C H, Huang W H, Lin J B *et al*, 2020a. Triclosan-induced liver and brain injury in zebrafish (*Danio rerio*) via abnormal expression of miR-125 regulated by PKC/Nrf2/p53 signaling pathways. *Chemosphere*, 241: 125086
- Wang H D, Pan L Q, Si L J *et al*, 2018a. The role of Nrf2-Keap1 signaling pathway in the antioxidant defense response induced by PAHs in the clam *Ruditapes philippinarum*. *Fish & Shellfish Immunology*, 80: 325—334
- Wang H D, Pan L Q, Xu R Y *et al*, 2019a. The molecular mechanism of Nrf2-Keap1 signaling pathway in the antioxidant defense response induced by BaP in the scallop *Chlamys farreri*. *Fish & Shellfish Immunology*, 92: 489—499
- Wang H Y, Liu K H, Geng M *et al*, 2013a. RXR $\alpha$  inhibits the NRF2-ARE signaling pathway through a direct interaction with the Neh7 domain of NRF2. *Cancer Research*, 73(10): 3097—3108
- Wang L, Gallagher E P, 2013b. Role of Nrf2 antioxidant defense in mitigating cadmium-induced oxidative stress in the olfactory system of zebrafish. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 266(2): 177—186
- Wang L L, Song X R, Song L S, 2018b. The oyster immunity. *Developmental & Comparative Immunology*, 80: 99—118
- Wang M Y, Zhu Z X, 2019b. Nrf2 is involved in osmoregulation, antioxidation and immunopotentiality in *Coilia nasus* under salinity stress. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 33(1): 1453—1463
- Wang Y M, Wang C, Bao S *et al*, 2020b. Responses of the Nrf2/Keap1 signaling pathway in *Mugilogobius abei* (*M. abei*) exposed to environmentally relevant concentration aspirin. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(13): 15663—15673
- Wei K Q, Yang J X, Song C X, 2020. The responses of prophenoloxidase and MAPK/Nrf2 pathway to cadmium stress in red swamp crayfish *Procambarus clarkii*. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 53(2): 59—72
- Wu J L, Liu W X, Wen C G *et al*, 2020. Effect of microcystin on the expression of Nrf2 and its downstream antioxidant genes from *Cristaria plicata*. *Aquatic Toxicology*, 225: 105526
- Xie J J, He X S, Fang H H *et al*, 2020. Identification of heme oxygenase-1 from golden pompano (*Trachinotus ovatus*) and response of Nrf2/HO-1 signaling pathway to copper-induced oxidative stress. *Chemosphere*, 253: 126654
- Yamamoto M, Kensler T W, Motohashi H, 2018. The KEAP1-NRF2 System: a thiol-based sensor-effector apparatus for maintaining redox homeostasis. *Physiological Reviews*, 98(3): 1169—1203
- Yu X L, Wu Y M, Deng M *et al*, 2019. Tetracycline antibiotics as PI3K inhibitors in the Nrf2-mediated regulation of antioxidative stress in zebrafish larvae. *Chemosphere*, 226: 696—703
- Yu Y B, Wang C H, Wang A M *et al*, 2018. Effects of various feeding patterns of *Bacillus coagulans* on growth performance, antioxidant response and Nrf2-Keap1 signaling pathway in juvenile gibel carp (*Carassius auratus gibelio*). *Fish & Shellfish Immunology*, 73: 75—83
- Yu Z, Quan Y N, Huang Z Q *et al*, 2020a. Monitoring oxidative

- stress, immune response, Nrf2/NF- $\kappa$ B signaling molecules of *Rhynchocypris lagowski* living in BFT system and exposed to waterborne ammonia. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 205: 111161
- Yu Z, Zheng Y G, Du H L *et al*, 2020b. Bioflocs protects copper-induced inflammatory response and oxidative stress in *Rhynchocypris lagowski* Dybowski through inhibiting NF- $\kappa$ B and Nrf2 signaling pathways. *Fish & Shellfish Immunology*, 98: 466—476
- Zeng L, Zheng J L, Wang Y H *et al*, 2016. The role of Nrf2/Keap1 signaling in inorganic mercury induced oxidative stress in the liver of large yellow croaker *Pseudosciaena crocea*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 132: 345—352
- Zhao Z X, Xie J, Liu B *et al*, 2017. The effects of emodin on cell viability, respiratory burst and gene expression of Nrf2-Keap1 signaling molecules in the peripheral blood leukocytes of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*). *Fish & Shellfish Immunology*, 62: 75—85
- Zheng J L, Zeng L, Shen B *et al*, 2016. Antioxidant defenses at transcriptional and enzymatic levels and gene expression of Nrf2-Keap1 signaling molecules in response to acute zinc exposure in the spleen of the large yellow croaker *Pseudosciaena crocea*. *Fish & Shellfish Immunology*, 52: 1—8

## THE ADVANCES IN RESEARCH OF NRF2 PATHWAY INVOLVED IN OXIDATIVE STRESS REGULATION IN AQUATIC ANIMALS

YAN Xiao-Jun<sup>1,2</sup>, QI Peng-Zhi<sup>1,2</sup>, GUO Bao-Ying<sup>1,2</sup>, LI Ji-Ji<sup>1,2</sup>

(1. National Engineering Research Center of Marine Facilities Aquaculture, Zhoushan 316022, China; 2. School of Ocean Science and Technology, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China)

**Abstract** Environmental changes can induce the increase of reactive oxygen species (ROS) level, which leads to oxidative stress. Oxidative stress has a profound impact on the survival, growth, development, and evolution of all organisms. The nuclear factor erythroid 2 related factor 2 (Nrf2) has been recognized as a dominant regulator of oxidative stress. Together with Kelch-like ECH associated protein 1 (Keap1), Nrf2 controls the expression of hundreds of detoxification enzymes and antioxidant protein coding genes. In recent years, Nrf2 has been gained with more and more attention in aquatic animal study, and has been studied in some model fish such as zebrafish, carp, other fish, and aquatic invertebrates. In this paper, the structure and regulatory mechanism of Nrf2 is introduced, and the progress of Nrf2 pathway involved in the regulation of oxidative stress in aquatic animals in recent years is reviewed. Studies have shown that Nrf2 exists widely in aquatic animals, and plays an important role in the regulation of oxidative stress induced by abiotic (metals, organic pollutants, inorganic salts, drugs and micro plastics), biological (bacteria, viruses, toxic algae), and habitat changes (ice melting, salt stress). Once Nrf2 is activated into the nucleus, it binds with anti-oxidant response element (ARE) with the help of small Maf protein, and starts the expression of a series of are driven genes, and interacts with pregnane X receptor (Pxr), mitogenactivated protein kinase (MAPK), and aromatic hydrocarbon receptor (AhR) and other cellular pathways are involved in a series of physiological processes. Nrf2 plays an important role in cell protection of aquatic animals in response to environmental changes, and is expected to become a potential gene target for stress resistance breeding.

**Key words** nuclear factor erythroid 2 related factor 2; oxidative stress; aquatic animals