

人 Nrf2 蛋白的结构与功能分析

刘远凤, 赵冬婷, 封少龙

南华大学公共卫生学院, 衡阳市健康危害因子检验检疫重点实验室, 湖南 衡阳 421001

摘要: **目的** 氧化应激与多种急性或慢性疾病相关,核因子红血球相关因子 2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)作为细胞感受氧化还原状态的关键转录调控因子,是细胞抗氧化系统中的关键调控蛋白,深入了解该蛋白的结构与生物学功能,对防治相关疾病具有重要意义。 **方法** 利用 NCBI、ExPASy、ProtScale、TMHMM、SignalP 等现代生物信息学在线数据库及分析工具,分析人 Nrf2 蛋白的结构及功能。 **结果** 由 589 个氨基酸组成的 Nrf2 蛋白为亲水性蛋白,无跨膜结构和分泌信号肽,二级结构主要为 α 螺旋及无规则卷曲,有保守结构域和蛋白结合能力,有多个磷酸化位点,可分布于细胞核或细胞质中,能与多个蛋白相互作用。 **结论** 本文采用的生物信息学技术可靠性强,对人 Nrf2 蛋白的结构和功能的分析具有一定的参考价值。

关键词: Nrf2; 生物信息学; 蛋白结构和功能

中图分类号: R392.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-3110(2021)02-0166-05 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006-3110.2021.02.011

Structural and functional analysis of human Nrf2 protein

LIU Yuan-feng, ZHAO Dong-ting, FENG Shao-long

Hengyang Key Laboratory for Health Hazard Factors Inspection and Quarantine, School of Public Health,
University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China

Corresponding author: FENG Shao-long, E-mail: slfeng71@usc.edu.cn

Abstract: **Objective** Oxidative stress is suggested to be associated with varieties of acute and chronic diseases. Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 isoform2 (Nrf2), which senses the redox status in cells, is a key transcription factor for anti-oxidative stress. Then, it is of great significance for preventing and treating the related diseases to learn its structure and biological functions.

Methods In this present study, we employed modern bioinformatics online databases and analyzing tools, including NCBI, ExPASy, ProtScale, TMHMM and SignalP, to dissect the possible structure and potential functions of human Nrf2 protein.

Results The results showed that human Nrf2 protein, composed of 589 amino acids, was a hydrophilic protein without transmembrane structure and signal peptide, and there were mainly α -helix and random coils, with conserved domains and protein binding ability in its secondary structure. This protein, with a variety of phosphorylation sites, may locate in the nucleus or cytoplasm and can interact with a variety of proteins in cells. **Conclusions** The bioinformatic techniques used in this study are powerful and useful for us to deeply study the structure and function of Nrf2 in the future.

Keywords: Nrf2; bioinformatics; protein structure and function

活性氧(reactive oxygen species, ROS)可与细胞内遗传物质、脂质和蛋白质等大分子反应,改变其结构与功能,诱发氧化应激反应,通过多种信号传递途径和生理生化过程影响细胞的结构与功能^[1-2]。研究表明,氧化应激在多种急性或慢性疾病(如急性肾损伤、动脉粥样硬化、心力衰竭、癌症、糖尿病、衰老、阿尔茨海

默病和帕金森病等疾病)中起重要作用^[3-5]。因此,氧化应激成了生物医学研究的重要前沿领域。

人核因子红血球相关因子 2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)是人体细胞感应氧化还原状态的关键转录调控因子,是细胞抵抗氧化损伤维持自身稳定的关键调节蛋白^[6]。在生理条件下, Nrf2 与胞浆蛋白伴侣分子(kelch-like ECH-associated protein-1, KEAP1)结合,促使 Nrf2 蛋白被泛素化,继而被蛋白酶体降解,维持较低的水平^[7]。当细胞暴露于亲电体等活性氧物质时,KEAP1 会被活性氧物质修饰而失活, Nrf2 与 KEAP1 分离,并脱离其既定的降解过程;同时, Nrf2 蛋白迁移进入细胞核,与转录因子

基金项目:国家自然科学基金(41877390),湖南省自然科学基金(2019JJ40240),南华大学研究生创新项目(193YXC027)和衡阳市重点实验项目(2018KJ110)等项目的资助

作者简介:刘远凤(1991-),女,硕士研究生,研究方向:环境毒害污染物对人体健康的影响与分子机制方向。

通信作者:封少龙, E-mail: slfeng71@usc.edu.cn。

(small musculoaponeurotic fibrosarcomas, MAF) 形成异源二聚体, 结合到具抗氧化反应元件 (antioxidant response element, ARE) 框的基因启动子上, 促进一系列抗氧化相关基因的表达, 增加细胞的抗氧化能力^[8]。综合细胞内受 Nrf2 调控基因的作用显示, 其对细胞具有抗氧化、促生存、抗炎症和大分子损伤修复等作用^[9]。另一方面, 研究发现 Nrf2 功能失调通常与肿瘤^[10]、心血管病^[11] 和神经退行性病^[12] 等多种疾病密切相关^[13-14]。但当前, 人们对人 Nrf2 蛋白结构与功能的了解仍十分有限。因此, 本文利用现代生物信息学技术来分析人 Nrf2 蛋白的结构与功能, 从而为深入研究该蛋白的结构与生物学功能等提供启示。

1 材料与方法

1.1 氨基酸序列的获得 利用美国国立生物技术信息中心 (National Center for Biotechnology Information, NCBI) 在线数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), 以“Nrf2+物种名”为关键词, 搜索并获取 Nrf2 蛋白氨基酸序列。

1.2 理化性质、跨膜结构和信号肽分析 利用 ExPASy-ProtParam Tool 程序的在线数据库 (<https://web.expasy.org/protparam/>) 输入 Nrf2 蛋白氨基酸序列, 分析该蛋白的氨基酸组成、分子式和理论等电点等。同时使用 ProtScale 工具 (<http://web.expasy.org/protscale/>) 分析 Nrf2 蛋白的亲水性和疏水性。使用 TMHMM 在线程序 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>) 对其跨膜结构进行分析。进一步使用 SignalP-4.1 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>) 在线工具分析 Nrf2 蛋白信号肽及切割位点。

1.3 二级结构和磷酸化位点分析 利用在线软件 ExPASy-GOR IV4.0 (https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa/npsa_gor4.html) 分析 Nrf2 蛋白二级结构。利用 NCBI CDD (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/guide/domains-structures>) 分析 Nrf2 蛋白结构域。接着利用 NetPhos3.1 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetPhos/>) 和 Scansite4.0 (<https://scansite4.mit.edu/4.0/#home>) 对 Nrf2 蛋白的磷酸化位点进行分析。

1.4 三级结构及亚细胞定位分析 利用在线软件 SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org/>) 分析 Nrf2 蛋白的三级结构; 同时运用 PSORT II (<https://www.genscript.com/psort.html>) 及 Gene card (<https://www.genecards.org/>) 对其亚细胞定位进行分析。

1.5 蛋白相互作用和系统进化树分析 蛋白质之间

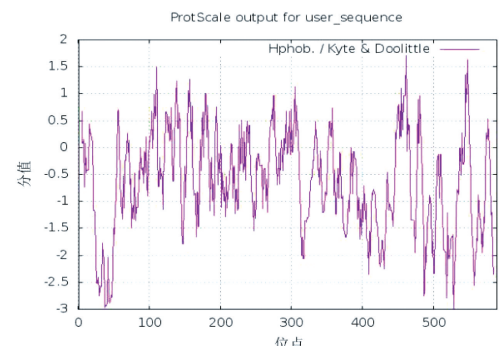
的相互作用会影响其生物学的功能。为了进一步了解 Nrf2 蛋白的生物学功能, 利用 STRING 在线软件 (<https://string-db.org/>) 对其互作网络进行分析; 此外, 利用 NCBI 中局部比对算法的搜索工具 (basic local alignment search tool, BLAST) (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 对人 Nrf2 蛋白序列进行 BLAST 搜索, 并构建系统进化树。

2 结果

2.1 氨基酸序列 NCBI 中人 Nrf2 基因位于 2 号染色体上 (2q31.2), 含有 6 个外显子 (Nrf2-ECH homology domains), 编码产物 NP_001138884.1 为该基因的共识编码序列, 基因 ID 为 4780。

2.2 理化性质 ExPASy-ProtParam Tool 分析结果显示, Nrf2 蛋白由 589 个氨基酸组成, 分子质量为 66 076.49 ku, 理论等电点为 4.71, 分子式为 $C_{2892}H_{4541}N_{781}O_{957}S_{16}$, 原子总数为 9 187。不稳定系数为 58.37 (>40), 表明该蛋白为不稳定蛋白^[15]。负电荷氨基酸残基数为 100, 正电荷氨基酸残基数为 56, 表明该蛋白属于酸性蛋白质。

ProtScale 分析 Nrf2 蛋白的疏水性和亲水性, 结果显示 Nrf2 蛋白亲水性最强的位点是第 529 位的赖氨酸, 分值为 -2.989; 疏水性最强的位点是第 461 位的亮氨酸, 分值为 1.711, 亲水性值总和 (-102.736) 大于疏水性值总和 (4.324)。同时, Nrf2 蛋白的亲水区域多于疏水区域, 见图 1, 表明 Nrf2 蛋白为亲水性蛋白。



注: 以 0 为界, > 0 表示疏水性, < 0 表示亲水性。

图 1 Nrf2 蛋白亲水性/疏水性

2.3 跨膜结构、信号肽和磷酸化位点 为了确定 Nrf2 蛋白的细胞定位, 利用 TMHMM 分析 Nrf2 的跨膜结构, 发现 Nrf2 蛋白位于膜外的概率接近 100%, 而位于膜内和跨膜区域的概率几乎为 0, 说明该蛋白无跨膜区域, 由此可知该蛋白不属于跨膜蛋白, 见图 2。利用 SignalP-4.1 分析 Nrf2 蛋白信号肽及切割位点。结果显示, Nrf2 蛋白没有信号肽位点, 属于非分泌蛋白, 见表 1 和图 3。磷酸化是蛋白转录后最重要的修饰环

节,对于蛋白的结构与功能具有重要调节作用,也是细胞内信号转导的重要方式。利用 Scansite 4.0 分析 Nrf2 蛋白磷酸化位点,结果显示,该蛋白有 49 个丝氨酸(serine, Ser)磷酸化位点、12 个苏氨酸(threonine, Thr)磷酸化位点和 3 个酪氨酸(tyrosine, Tyr)磷酸化位点;同时,经 NetPhos3.1 分析发现该蛋白有较多的 Ser 磷酸化位点和较少的 Tyr 磷酸化位点,表明 Nrf2 蛋白含有丝氨酸磷酸化位点最多,见图 4。上述结果提示, Nrf2 合成后位于细胞质或细胞核,受其上的多个磷酸化位点的精确调节,从而发挥其抗氧化和抗炎的生物学功能。

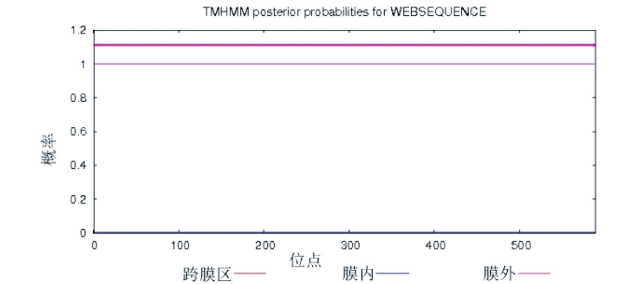


图 2 Nrf2 蛋白跨膜结构

表 1 Nrf2 蛋白信号肽切割位点

蛋白	测量	位点	分值	切割位	信号肽
Nrf2	Max. C	18	0.127		
	Max. Y	18	0.113		
	Max. S	34	0.117		
	Mean S	1-17	0.099		
	D	1-17	0.105	0.450	NO

注:Max. C 表示原始切割位点评分最大值;Max. Y 表示合并的切割位点评分最大值;Max. S 表示信号肽评分最大值;Mean S 表示可能的信号肽平均 S 值;D 表示平均值 S 和 Y 分数最大值的加权平均值,用于区分是否为信号肽的分数。

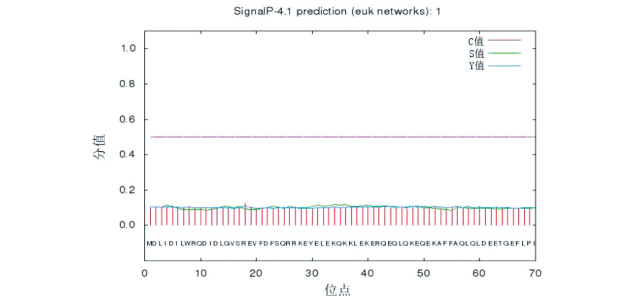


图 3 Nrf2 蛋白信号肽切割位点

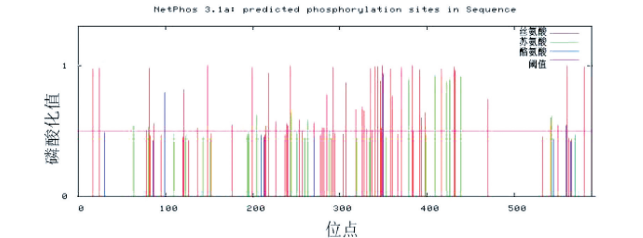
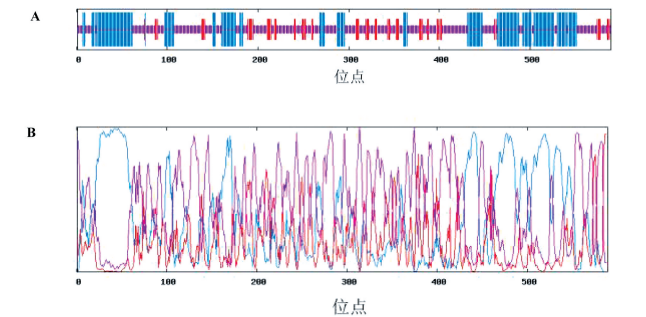


图 4 Nrf2 蛋白磷酸化位点

2.4 二级结构 蛋白质的二级结构是指蛋白质多肽链沿主链骨架方向的空间走向、规则性循环式排列,或某一段肽链的局部空间结构。运用ExPASy-GOR IV4.0分析 Nrf2 蛋白二级结构,并绘制结构模型。结果显示 Nrf2 蛋白有 589 个氨基酸,主要含有 α 螺旋,延伸链和无规则卷曲,其中 α 螺旋有 198 个氨基酸,占 33.62%,延伸链有 68 个氨基酸,占 11.54%,无规则卷曲有 323 个氨基酸,占 54.84%, α 螺旋及无规则卷曲为其主要的二级结构,见图 5。结构域作为蛋白质功能单元具有特异结构和独立功能。使用NCBI CDD 分析 Nrf2 结构域,结果表明 Nrf2 蛋白属于碱性亮氨酸拉链(the basic leucine zipper, bZIP)家族,含有保守结构域,位于 478~545 氨基酸处,见图 6。



注:A 为示意图;B 为高峰数字。蓝色为 α 螺旋;红色为延伸链;紫色为不规则卷曲结构。

图 5 Nrf2 蛋白二级结构



图 6 Nrf2 蛋白结构域

2.5 三级结构及亚细胞定位 利用 SWISS-MODEL 分析 Nrf2 蛋白的三级结构,结果显示该蛋白序列与 BLAST 数据库中 2lzl.1.A 模板序列相似性高达 100%,见图 7A。同时,利用视觉产品设计 (visual merchandise design, VMD) 软件分析其可视化结构,结果显示该蛋白质存在较多的扭曲,结构较为丰富,进一步证明 α 螺旋及无规则卷曲为其主要的原件,见图 7B。这些结构对其生物学功能的发挥有极其重要的作用。进一步使用 PSORT II 和 Gene card 分析 Nrf2 蛋白细胞定位情况,经 PSORT II 分析发现 Nrf2 蛋白位于细胞核的可能性最大 (78.3%),其次可能定位于细胞质 (21.7%)。同样, Gene card 分析也表明 Nrf2 蛋白位于细胞核及细胞质的置信度最高,与 PSORT II 分析的结果相一致,因此推断 Nrf2 蛋白主要位于细胞核或细胞质中,见图 8。

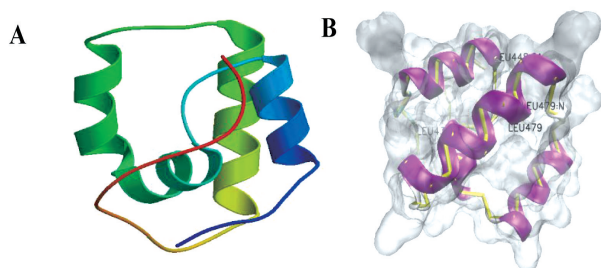


图 7 A:Nrf2 蛋白三级结构 B:Nrf2 蛋白三级结构可视化



注: 置信度分 5 级, 颜色越深, 数值越大, 该蛋白定位于某区域的可信度越高。

图 8 Nrf2 蛋白亚细胞定位

2.6 蛋白作用网络 蛋白质相互作用存在于机体每个细胞的生命过程中, 通过蛋白作用网络发挥其重要的生物学功能。利用 STRING 分析 Nrf2 蛋白作用网络, 结果表明 Nrf2 蛋白与 KEAP1、血红素加氧酶-1 (heme oxygenase-1, HMOX1)、MAF 家族蛋白中的小型蛋白分子 (MAF protein F, MAFF; MAF protein G, MAFG; MAF protein K, MAFK)、原癌基因 JUN (Jun-proto-oncogene, JUN) 等蛋白具有相互作用, 见图 9。其过程是通过 Nrf2 蛋白与 KEAP1 解离, 迁移到细胞核与 MAFG 形成异源二聚体, 结合到具 ARE 框的基因启动子上, 促进 HMOX1 基因的表达进而发挥其抗氧化的功能, 同时介导 JUN 通路发挥相关的生物学功能。这说明了 Nrf2 是细胞内抗氧化系统中的关键调控因子。

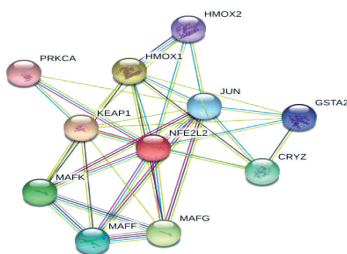


图 9 Nrf2 蛋白作用网络

2.7 系统进化树 在 NCBI 中利用 BLAST 对人 Nrf2 蛋白序列进行 BLASTp 搜索, 选择同一性较高的序列, 获得与人 Nrf2 蛋白同源的 44 个氨基酸序列, 对这些序列与人 Nrf2 蛋白序列进行多序列对比。随后利用 MEGA 7.0 软件进行系统进化树构建, 结果显示, 所有

生物的 Nrf2 蛋白序列同源性较高, 相对保守。其中, 人与黑猩猩、长臂猿家族亲缘关系最为接近, 与土拨鼠、虎鲸、白三叶豆的亲缘关系最远, 见图 10。

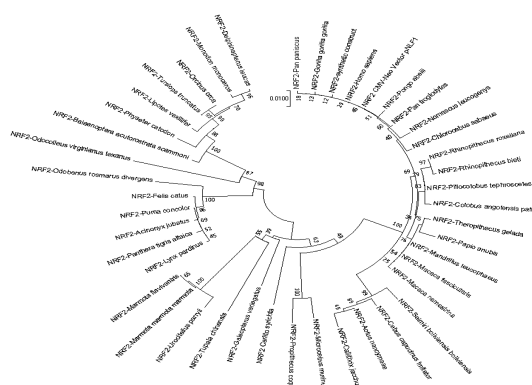


图 10 Nrf2 蛋白系统进化树

3 讨论

现代医学研究表明, 氧化应激是多种急性或慢性疾病的重要病理机制, 抗氧化则是防治上述疾病的重要策略, 具有广泛的应用前景^[16-18]。因此, Nrf2 作为细胞内抗氧化系统中的关键调控因子, 研究其蛋白结构与功能, 则具有十分重要的理论意义与实际应用价值。

本文率先利用现代生物信息学技术分析人 Nrf2 蛋白的结构与功能, 结果显示, Nrf2 蛋白无跨膜结构和分泌信号肽, 主要位于细胞质或细胞核, 与前人研究其在生理状态下, 常与负调控蛋白 KEAP1 结合于细胞质中, 而氧化应激状态下, 与 KEAP1 解偶联后迁移到细胞核^[19-20]的结论相一致, 从一定的角度显示, 本文所采用的生物信息学技术可靠性强。

特定定位点的磷酸化是蛋白表达后的重要修饰过程, 很大程度上决定了该蛋白的结构与功能, 也是细胞内信息传递的重要方式。已知 Nrf2 一定定位点的磷酸化有助于其稳定性和随后的核迁移, 并与 MAFG 形成异源二聚体, 结合到具 ARE 框的基因启动子上, 调节一系列基因的表达, 从而促进细胞的抗氧化能力, 抑制炎症和凋亡, 保护细胞^[20-21]。本文分析发现, 人 Nrf2 蛋白含有 64 个潜在磷酸化位点, 包括丝氨酸 (Ser)、苏氨酸 (Thr)、酪氨酸 (Tyr) 三种磷酸化位点, 以 Ser 位点居多。因此, 除上述文献报道的磷酸化位点外, 其他位点的磷酸化与去磷酸化也将影响 Nrf2 蛋白的结构与功能, 如细胞定位、与其他功能蛋白的交互作用、信号传导等。深入研究这些位点磷酸化对 Nrf2 蛋白的结构与功能的影响, 对于全面认识和深刻理解其生物学功能具有重要意义。同时, 利用现代生物信息学技术研究蛋白质之间的相互作用, 对于深入研究和了解蛋

白的生物学功能具有十分重要的理论指导作用。本文分析了人 Nrf2 蛋白互作网络,结果显示人 Nrf2 蛋白与 KEAP1、HMOX1、MAFG、JUN 等蛋白质具有相互作用,与文献报道一致^[22-25]。此外,它还可与蛋白激酶 C α (protein kinase C- α , PRKCA)、谷胱甘肽 S 转移酶 $\alpha 2$ (glutathione S-transferase alpha 2, GSTA2) 以及 ζ -晶体蛋白/醌氧化还原酶 (zeta-crystallin/quinone reductase, CRYZ) 等节点蛋白相互作用,这对于深入研究氧化应激信号通路,特别是 Nrf2 与上述节点蛋白所调控的信号通路之间的相互作用,以及上述哪些磷酸化位点参与其中,具有重要的意义。

系统进化分析显示,所有生物的李rf2 蛋白序列同源性都较高,相对保守,表明 Nrf2 在生物细胞中执行重要功能。这与 Nrf2 调控的抗氧化是生物细胞不可或缺,以及 Nrf2 还参与调控细胞其他许多重要的生理生化过程(如与 PRKCA、GSTA2 以及 CRYZ 等节点蛋白相互作用)相吻合。

综上所述,本文利用现代生物信息学技术分析了人 Nrf2 蛋白的结构和功能,为深入细致地研究该蛋白的结构与生物学功能提供了启示,具有一定的理论指导意义。但真正深入了解 Nrf2 蛋白结构和生物学功能,为前述疾病的防治等提供策略,尚须多学科交叉研究。

参考文献

- [1] Roumeliotis S, Eleftheriadis T, Liakopoulos V. Is oxidative stress an issue in peritoneal dialysis[J]. Semin Dial, 2019, 32(5):463-466.
- [2] Yari beygi H, Farrokhi FR, Rezaee R, et al. Oxidative stress induces renal failure: a review of possible molecular pathways[J]. J Cell Biochem, 2018, 119(4):2990-2998.
- [3] Luo J, Yan D, Li S, et al. Allopurinol reduces oxidative stress and activates Nrf2/p62 to attenuate diabetic cardiomyopathy in rats[J]. J Cell Mol Med, 2020, 24(2):1760-1773.
- [4] Lin H, Qiao Y, Yang H, et al. Design and evaluation of Nrf2 activators with 1,3,4-oxa/thiadiazole core as neuro-protective agents against oxidative stress in PC-12 cells[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2020, 30(2):e126853.
- [5] Alnahdi A, John A, Raza H. N-acetyl cysteine attenuates oxidative stress and glutathione-dependent redox imbalance caused by high glucose/high palmitic acid treatment in pancreatic Rin-5F cells[J]. PLoS One, 2019, 14(12):e0226696.
- [6] Cho HY, Miller-Degraff L, Blankenship-Paris T, et al. Sulfuraphane enriched transcriptome of lung mitochondrial energy metabolism and provided pulmonary injury protection via Nrf2 in mice[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2019, 364:29-44.
- [7] Kobayashi A, Kang MI, Okawa H, et al. Oxidative stress sensor Keap1 functions as an adaptor for Cul3-based E3 ligase to regulate proteasomal degradation of Nrf2[J]. Mol Cell Biol, 2004, 24(16):7130-7139.
- [8] Chen QM, Maltagliati AJ. Nrf2 at the heart of oxidative stress and cardiac protection[J]. Physiol Genomics, 2018, 50(2):77-97.
- [9] Ungvari Z, Tarantini S, Nyul-Toth A, et al. Nrf2 dysfunction and impaired cellular resilience to oxidative stressors in the aged vasculature: from increased cellular senescence to the pathogenesis of

- age-related vascular diseases[J]. Geroscience, 2019, 41(6):727-738.
- [10] Cipak GA, Milkovic L, Dandachi N, et al. Chronic oxidative stress promotes molecular changes associated with epithelial mesenchymal transition, NRF2, and breast cancer stem cell phenotype[J]. Antioxidants (Basel), 2019, 8(12):e633.
- [11] Ooi BK, Chan KG, Goh BH, et al. The role of natural products in targeting cardiovascular diseases via Nrf2 pathway: novel molecular mechanisms and therapeutic approaches[J]. Front Pharmacol, 2018, 9:e1308.
- [12] Song C, Heping H, Shen Y, et al. AMPK/p38/Nrf2 activation as a protective feedback to restrain oxidative stress and inflammation in microglia stimulated with sodium fluoride[J]. Chemosphere, 2020, 244:e125495.
- [13] Lyu H, Wang H, Li L, et al. Hepatocyte-specific deficiency of Nrf2 exacerbates carbon tetrachloride-induced liver fibrosis via aggravated hepatocyte injury and subsequent inflammatory and fibrogenic responses[J]. Free Radic Biol Med, 2020, 150:136-147.
- [14] Sivandzade F, Prasad S, Bhalariao A, et al. NRF2 and NF- κ B interplay in cerebrovascular and neurodegenerative disorders: molecular mechanisms and possible therapeutic approaches[J]. Redox Biol, 2019, 21:e101059.
- [15] Ikai A. Thermostability and aliphatic index of globular proteins[J]. J Biochem, 1980, 88(6):1895-1898.
- [16] Tebay LE, Robertson H, Durant ST, et al. Mechanisms of activation of the transcription factor Nrf2 by redox stressors, nutrient cues, and energy status and the pathways through which it attenuates degenerative disease[J]. Free Radic Biol Med, 2015, 88(PtB):108-146.
- [17] Sen Z, Weida W, Jie M, et al. Coumarin glycosides from *Hydrangea paniculata* slow down the progression of diabetic nephropathy by targeting Nrf2 anti-oxidation and smad2/3-mediated profibrosis[J]. Phytomedicine, 2019, 57:385-395.
- [18] Gureev AP, Popov VN. Nrf2/ARE pathway as a therapeutic target for the treatment of Parkinson diseases[J]. Neurochem Res, 2019, 44(10):2273-2279.
- [19] Satoh T, Mckercher SR, Lipton SA. Reprint of: Nrf2/ARE-mediated antioxidant actions of pro-electrophilic drugs[J]. Free Radic Biol Med, 2014, 66(8):45-57.
- [20] He J, Han S, Li XX, et al. Diethyl blechnic exhibits anti-inflammatory and antioxidative activity via the TLR4/MyD88 signaling pathway in LPS-stimulated RAW264.7 cells[J]. Molecules, 2019, 24(24):e4502.
- [21] Tian S, Yong M, Zhu J, et al. Enhancement of the effect of methyl pyropheophorbide-a-mediated photodynamic therapy was achieved by increasing ROS through inhibition of Nrf2-HO-1 or Nrf2-ABCG2 Signaling[J]. Anticancer Agents Med Chem, 2017, 17(13):1824-1836.
- [22] Yang H, Ko K, Xia M, et al. Induction of avian musculoaponeurotic fibrosarcoma proteins by toxic bile acid inhibits expression of glutathione synthetic enzymes and contributes to cholestatic liver injury in mice[J]. Hepatology, 2010, 51(4):1291-1301.
- [23] Wang T, Sun X, Li AL, et al. Botrysph D attenuates arsenic-induced oxidative stress in human lung epithelial cells via activating Nrf2/ARE signaling pathways[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2019, 518(3):526-532.
- [24] Li XN, Ma LY, Ji H, et al. Resveratrol protects against oxidative stress by activating the Keap-1/Nrf2 antioxidant defense system in obese-asthmatic rats[J]. Exp Ther Med, 2018, 16(6):4339-4348.
- [25] Lee H, Ko W, Chowdhury A, et al. Brassicaphenanthrene A from *Brassica rapa* protects HT22 neuronal cells through the regulation of Nrf2-mediated heme oxygenase-1 expression[J]. Mol Med Rep, 2020, 21(1):493-500.