

Nrf2在脑出血后血肿清除及脑保护中的作用及机制

李步德^{1,2}, 秦将均², 吴方锦^{1,2}综述, 王改青²审校

摘要: 脑出血(ICH)是一种具有高发病率、高死亡率、高致残率的脑血管病。出血后形成的血肿是脑出血后脑损害的始动因素,早期有效清除血肿成分对于预防及减轻早期脑出血后脑损伤至关重要。目前针对ICH的临床治疗手段相对有限,近期的临床前试验取得了令人兴奋的结果,其中一个引人关注的新靶点是核因子E2相关因子2(Nrf2)。Nrf2是一种转录因子,可能通过不同通路激活细胞修复机制发挥神经保护作用。它在疾病治疗中的潜力引起了广泛的研究兴趣。本文总结了Nrf2及其激动剂在脑出血后血肿清除及脑保护中的作用及机制。

关键词: 脑出血; Nrf2; Nrf2激动剂; 血脂康; 血肿清除

中图分类号:R743.34 **文献标识码:**A

The role of Nrf2 in hematoma clearance and neuroprotection after intracerebral hemorrhage and the underlying mechanism LI Bude, QIN Jiangjun, WU Fangjin, et al. (The First Clinical College of Hainan Medical University, Haikou 570100, China)

Abstract: Intracerebral hemorrhage (ICH) is a cerebrovascular disease with high morbidity, mortality, and disability. As hematoma is the key driver of brain injury after ICH, early removal of hematoma components is crucial for preventing and reducing early brain damage following ICH. Existing treatments for ICH are limited in effectiveness, and recent preclinical trials have revealed some exciting findings, including an interesting new target—nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2). Nrf2 is a transcription factor that may play a neuroprotective role by activating cellular repair mechanisms through different pathways, and its therapeutic potential has attracted great interest in research. This article summarizes the role of Nrf2 and its agonists in post-ICH hematoma clearance and neuroprotection and the underlying mechanism.

Key words: Intracerebral hemorrhage; Nuclear factor erythroid 2-related factor 2; Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 agonist; Xuezhikang; Hematoma clearance

脑出血作为一种常见的神经系统疾病,具有高死亡率和致残率,严重威胁着人类的健康。一项全国社区调查表明,脑出血约占所有卒中的24%^[1],但是在少数地区这个比例甚至高达50%~61%^[2]。脑出血通过最初的血肿占位效应、血液成分的毒性炎症反应和氧化损伤造成继发性脑损伤^[3]。血肿作为脑出血后脑损害的始动因素,有效清除血肿对于预防及减轻出血后早期脑损伤至关重要^[4]。尽管指南推荐在有条件的医院,经严格选择后可应用微创手术清除血肿^[5-7],但因手术本身创伤,早期开颅血肿清除与保守治疗相比并未改善患者临床预后及生存率^[7-10]。尽管血肿在自然状态可逐渐被吸收,但神经功能恢复缓慢且不完全。故探索脑出血后早期血肿的内源性清除机制非常必要。近年来研究发现核因子E2相关因子2(Nrf2)是一种具有神经保护的转录因子,通过促进血肿清除、抗炎、抗氧化达到预防或减轻脑出血后继发性脑损伤^[11]。经我国独特发酵技术而成的食用色素-红曲是一种新型的Nrf2天然激动剂^[12],也是中成药血脂康的唯一成分。故强化Nrf2的表达对于促进脑出血后血肿清除、改善脑出血患者的临床预后具有现实意义。

1 Nrf2的结构和功能

Moi等在1994年首次克隆出Nrf2,并且发现它是一种具有亮氨酸拉链的转录因子。据有关研究表明,Nrf2在脑出血后维持细胞的氧化还原稳态,并发挥抗炎功能,Nrf2主要受Kelch样环氧氯丙烷相关蛋白1(Keap1)的负向调控,Keap1主要通过结合Nrf2,将Nrf2蛋白控制在一个很低的水平,当遇到外源或内源的应激时,Nrf2与Keap1解偶连,使得细胞质中的Nrf2含量增加,过多的Nrf2会从胞质转移入核与抗氧化反应元件(ARE)结合,启动下游对抗氧化应激的靶基因的转录,如血红素加氧酶(HO)-1,Nrf2激动剂可通过强化这一信号通路,促使脑出血后神经功能的恢复^[13,14]。Nrf2分子是属于具有碱性亮氨酸

收稿日期:2023-10-20;修订日期:2023-12-10

基金项目:国家自然科学基金地区基金项目(82160237);国家自然科学基金面上项目(81771294);海南省自然科学基金(822MS210);海南省研究生创新科研课题(Qhys2021-385)

作者单位:[1. 海南医学院第一临床学院,海南 海口 570100;2. 三亚中心医院(海南省第三人民医院),海南医学院,海南 三亚 572000]

通信作者:王改青,E-mail:wangq08@163.com

拉链结构(bZIP)的CNC(cap'n'collar)转录因子家族中的一员,且转录活性最强。在肝、肾、心、肺、神经组织、消化道等组织细胞中都有表达。Nrf2是一种模块蛋白,具有7个Nrf2-ECH同源结构域(Neh1-7),每个结构域具有不同的功能。Neh1是Nrf2的DNA结合结构域,它与核酸结合,并调控Nrf2的转录活性。Neh2是一个重要的调控域,与Keap1相互作用。在正常情况下,Keap1通过Neh2域调控Nrf2的稳定性。在氧化应激等条件下,Neh2与Keap1的结合减弱,避免Nrf2的泛素化和降解。Neh3与转录激活因子CBP(CREB-binding protein)/p300相互作用,增强Nrf2的转录活性。Neh4和Neh5参与Nrf2的转录激活,并与转录因子AP-1相互作用。Neh6通过与 β -TrCP相互作用,参与Nrf2的泛素化和降解过程。Neh7参与Nrf2的抑制作用,与转录共抑制因子CTBP(C-terminal binding protein)相互作用^[15, 16]。这些结构域的复杂互动赋予Nrf2多重功能,包括抗氧化应激、抗炎和细胞保护等。研究Nrf2结构域的功能和相互作用有助于深入了解其调控机制,从而为癌症、神经系统退行性疾病、糖尿病以及心血管、肾脏和肝脏疾病的治疗提供理论基础及潜在靶点^[17]。

2 Nrf2在脑出血后的脑保护机制

2006年Nrf2已被证实存在缺血性脑卒中中的保护作用^[18]。2007年Wang等^[14]发现Nrf2基因敲除小鼠脑出血模型的白细胞浸润、活性氧含量及脑损伤体积增大,提出Nrf2可通过抗炎、抗氧化减轻ICH小鼠早期脑损伤。同年,Zhao等^[13]利用Nrf2激动剂-萝卜硫素证实Nrf2可减轻ICH后的中性粒细胞计数、氧化损伤和神经功能缺损。Nrf2基因敲除小鼠脑出血表现出更严重的神经功能缺损,而萝卜硫素对于Nrf2基因敲除小鼠脑出血不具有保护作用。此后关于Nrf2在脑出血后脑保护作用的机制不断被提出,随之越来越多的Nrf2激动剂应用于实验性脑出血中,富马酸二甲酯就是其中一种,它可以通过强化脑出血后Nrf2的表达,刺激小胶质细胞对红细胞的吞噬,通过血肿清除改善小鼠的神经功能缺损,而Nrf2基因敲除小鼠脑出血后的神经功能结果与之相反^[19]。同年,Iniaghe等^[20]提出富马酸二甲酯通过诱导Nrf2与Keap1的解离,促使Nrf2磷酸化,在胶原酶与自体血脑出血小鼠模型中的脑含水量均降低,并改善神经功能缺损。

基于Nrf2在ICH中的神经保护作用,Nrf2的信号调控通路也逐渐被发掘。其中HO-1作为Nrf2下游对抗氧化应激的靶基因转录蛋白,Nrf2/HO-1信号

通路成为改善ICH后神经功能损伤的重要研究靶点。研究显示脑出血模型星形胶质细胞选择性过表达HO-1可降低死亡率、血脑屏障破坏、血细胞周围细胞损伤和神经功能缺损。外源性增加星形胶质细胞HO-1可能在脑出血后发挥保护作用^[19]。Yang等^[21]研究也表明,血红蛋白激活的星形胶质细胞可通过Nrf2/HO-1通路强化对血红素毒性的抵抗力。这种现象被认为是ICH病理过程中的适应性自我防御,提出Nrf2/HO-1可作为ICH后神经保护的干预靶点。Dai等^[22]通过研究得出,间歇性禁食通过上调小胶质细胞Sirt3激活Nrf2/HO-1信号通路,在小鼠脑出血模型通过增强血肿清除、减轻急性期脑水肿及慢性期纹状体萎缩程度,进而发挥抗炎抗氧化、改善神经功能缺损的作用。Sugiyama等^[23]发现RS9激活Nrf2上调HO-1,可抑制小鼠脑出血后的氧化应激,减少血肿体积,减轻脑水肿、改善神经功能缺损发挥神经保护作用。这种保护作用会被HO-1抑制剂所抵消,进一步证实Nrf2/HO-1信号通路的保护作用。原儿茶酸也可通过强化Nrf2/HO-1信号通路,减轻ICH后脑水肿及血脑屏障(BBB)的破坏而发挥神经保护作用^[24]。最近Tseng等^[25]发现,脑室内注射重组人脑多巴胺神经营养因子(rhCDNF)也是通过激活Nrf2/HO-1通路加速血肿清除,减轻血肿周围氧化应激及水肿,进一步改善神经功能缺损。

上述研究结果均基于动物实验,Nrf2在ICH患者中是否发挥保护作用目前仍有争议。Wang等^[26]研究发现,与健康对照组相比,ICH患者血清Nrf2水平显著升高,在6h开始升高,12~18h达到峰值,18~24h达到平台,此后逐渐下降。患者血清Nrf2水平与美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)评分和血肿体积独立相关。血清Nrf2水平越高,患者病情越严重,早期神经系统恶化和90d不良结局的可能性越大;结合脑组织中Nrf2的神经保护机制,血清Nrf2可能是反映ICH后血肿大小、清除血肿的潜力以及对炎症和氧化损伤的一种代偿反应。血清Nrf2在ICH后的确切作用及机制尚需进一步验证。

3 血脂康与脑出血

血脂康是我国传统的中药,它的唯一成分是红曲。红曲是以红曲米为主要原料,经红曲霉发酵而制成的一种紫红色米曲。传统的红曲主要用于食品的制作与保存。红曲在降低血脂、血糖、血压、防癌等方面均有一定效果^[27]。红曲中可提取洛伐他汀、黄酮类化合物、麦角甾醇氨基酸、不饱和脂肪酸、微量元素等有效成分^[28]。最早在2013年我国台湾学

者Hsu等^[12]发现红曲可以通过激活Nrf2,进而改善胰岛素的敏感性。基于Nrf2在脑出血后的保护作用,我们进行了红曲在脑出血动物模型的系列研究。首先我们证实高剂量红曲可通过促进血肿清除、降低血脑屏障通透性及脑水肿在脑出血后发挥神经保护作用^[29]。进一步发现红曲可同时激活过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR- γ)/Nrf2,并强化A类清道夫受体(SRA)的表达促进血肿吞噬,提示红曲可能通过激活PPAR- γ -Nrf2-SRA促进脑出血后血肿清除而发挥神经保护作用^[30]。此外我们还发现红曲可通过激活Nrf2强化血管周围小胶质细胞血红素结合蛋白(Hx)及血红素-低密度脂蛋白受体相关蛋白1(LRP1)的表达促进血肿清除,同时减轻脑出血后水肿形成,即Nrf2可通过调控血红素-Hx-LRP1通路参与脑出血后血肿清除^[31]。

血脂康是治疗血脂异常的传统中成药,研究表明血脂康中洛伐他汀的含量为11.1 g/kg^[32]。可降低胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白并升高高密度脂蛋白^[33, 34]。多中心临床试验进一步证实了血脂康的有效性及安全性^[35]。随着循证医学证据的不断积累,血脂康除降脂作用和抗动脉粥样硬化之外,还有肝脏保护、肾脏保护、抗癌、改善胰岛素抵抗、抑制心室重构及辅助降压等多重作用^[36]。血脂康通过抗氧化应激、抗炎、抗细胞凋亡等发挥保护作用^[37]。目前血脂康在脑出血中的作用除本团队研究结果外尚未见其他公开文献报道。但他汀在血肿清除中的作用已被证实^[38],血脂康是否通过其中的他汀成分促进血肿清除尚需进一步证实。我们前期研究显示,血脂康通过上调髓样细胞上表达的II型受体(Trem2)、CD206、脑源性神经营养因子(BDNF)的表达强化小胶质细胞的吞噬功能,促进脑出血后血肿产物的清除并促进神经修复;同时可下调髓样细胞上表达的I型受体(Trem1)、CD80及肿瘤坏死因子(TNF- α)的表达,抑制小胶质细胞的炎症反应,减轻出血后水肿及神经毒性而发挥神经保护作用,Nrf2基因敲除的结果相反,证实血脂康可通过增强Nrf2的表达强化脑出血后血肿清除^[39, 40]。

4 小结与展望

目前针对脑出血的内科治疗手段有限。但外科开颅手术与内科治疗相比对于患者长期临床预后没有显著差别,因此深入探讨内源性脑清除系统在脑出血后的血肿清除机制非常必要。研究发现Nrf2在脑出血后通过抗炎、抗氧化、减轻细胞损伤、促进血肿清除及神经修复等发挥神经保护作用。针对Nrf2

的激动剂可能成为未来治疗脑出血的新型靶点,对于脑出血患者临床治疗指导意义重大。本团队前期已证实Nrf2激动剂-血脂康在脑出血动物模型中的脑保护作用,目前已进行相关临床试验,已得到初步临床验证。血脂康在脑出血后的作用机制和展望将为脑出血患者提供全新的治疗方向。尚需要更多的实验研究和临床试验深入理解其作用机制、确定治疗的最佳时机和剂量,并评估其在脑出血患者中的安全性和有效性。

利益冲突声明: 所有作者均声明不存在利益冲突。

作者贡献声明: 李步德负责文章撰写;秦将均、吴方锦负责文献收集;王改青负责拟定写作思路、指导撰写文章并最后定稿。

[参考文献]

- [1] Wang W, Jiang B, Sun H, et al. Prevalence, incidence, and mortality of stroke in China: results from a nationwide population-based survey of 480 687 adults[J]. *Circulation*, 2017, 135(8): 759-771.
- [2] He W, Liu Y, Feng J, et al. The epidemiological characteristics of stroke in Hunan Province, China[J]. *Front Neurol*, 2018, 9: 583.
- [3] Wilkinson DA, Pandey AS, Thompson BG, et al. Injury mechanisms in acute intracerebral hemorrhage[J]. *Neuropharmacology*, 2018, 134(Pt B): 240-248.
- [4] Zhao X, Sun G, Ting SM, et al. Cleaning up after ICH: the role of Nrf2 in modulating microglia function and hematoma clearance[J]. *J Neurochem*, 2015, 133(1): 144-152.
- [5] Goyal N, Tsivgoulis G, Malhotra K, et al. Minimally invasive endoscopic hematoma evacuation vs best medical management for spontaneous basal-Ganglia intracerebral hemorrhage[J]. *J Neurointerv Surg*, 2019, 11(6): 579-583.
- [6] Scaggiante J, Zhang X, Mocco J, et al. Minimally invasive surgery for intracerebral hemorrhage[J]. *Stroke*, 2018, 49(11): 2612-2620.
- [7] Wu S, Wu B, Liu M, et al. Stroke in China: advances and challenges in epidemiology, prevention, and management[J]. *Lancet Neurol*, 2019, 18(4): 394-405.
- [8] Broderick J, Connolly S, Feldmann E, et al. Guidelines for the management of spontaneous intracerebral hemorrhage in adults: 2007 update: a guideline from the American Heart Association/American Stroke Association Stroke Council, High Blood Pressure Research Council, and the Quality of Care and Outcomes in Research Interdisciplinary Working Group[J]. *Circulation*, 2007, 116(16): e391-e413.
- [9] Pantazis G, Tsitsopoulos P, Mihos C, et al. Early surgical treatment vs conservative management for spontaneous supratentorial intracerebral hematomas: a prospective randomized study[J]. *Surg Neurol*, 2006, 66(5): 492-501;discussion 501-502.
- [10] Proust F, Leveque S, Derrey S, et al. Spontaneous supratentorial cerebral hemorrhage: role of surgical treatment[J]. *Neuro-*

- Chirurgie, 2007, 53(2-3 Pt 1): 58-65.
- [11] Joshi G, Johnson JA. The Nrf2-ARE pathway: a valuable therapeutic target for the treatment of neurodegenerative diseases [J]. *Recent Pat CNS Drug Discov*, 2012, 7(3): 218-229.
 - [12] Hsu WH, Lee BH, Chang YY, et al. A novel natural Nrf2 activator with PPAR γ -agonist (monascin) attenuates the toxicity of methylglyoxal and hyperglycemia [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2013, 272(3): 842-851.
 - [13] Zhao X, Sun G, Zhang J, et al. Transcription factor Nrf2 protects the brain from damage produced by intracerebral hemorrhage [J]. *Stroke*, 2007, 38(12): 3280-3286.
 - [14] Wang J, Fields J, Zhao C, et al. Role of Nrf2 in protection against intracerebral hemorrhage injury in mice [J]. *Free Radic Biol Med*, 2007, 43(3): 408-414.
 - [15] Tonelli C, Chio IIC, Tuveson DA. Transcriptional regulation by Nrf2 [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2018, 29(17): 1727-1745.
 - [16] 王朝阳, 荆黎. 核转录因子E2相关因子2和Keap1的分子结构和功能及其信号通路调控分子机制研究进展 [J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2016, 30(5): 598-604.
 - [17] Dodson M, de la Vega MR, Cholanians AB, et al. Modulating NRF2 in disease: timing is everything [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2019, 59: 555-575.
 - [18] Zhao J, Kobori N, Aronowski J, et al. Sulforaphane reduces infarct volume following focal cerebral ischemia in rodents [J]. *Neurosci Lett*, 2006, 393(2-3): 108-112.
 - [19] Zhao X, Sun G, Zhang J, et al. Dimethyl fumarate protects brain from damage produced by intracerebral hemorrhage by mechanism involving Nrf2 [J]. *Stroke*, 2015, 46(7): 1923-1928.
 - [20] Iniaqhe LO, Krafft PR, Klebe DW, et al. Dimethyl fumarate confers neuroprotection by casein kinase 2 phosphorylation of Nrf2 in murine intracerebral hemorrhage [J]. *Neurobiol Dis*, 2015, 82: 349-358.
 - [21] Yang Y, Xi Z, Xue Y, et al. Hemoglobin pretreatment endows rat cortical astrocytes resistance to hemin-induced toxicity via Nrf2/HO-1 pathway [J]. *Exp Cell Res*, 2017, 361(2): 217-224.
 - [22] Dai S, Wei J, Zhang H, et al. Intermittent fasting reduces neuroinflammation in intracerebral hemorrhage through the Sirt3/Nrf2/HO-1 pathway [J]. *J Neuroinflammation*, 2022, 19(1): 122.
 - [23] Sugiyama T, Imai T, Nakamura S, et al. A novel Nrf2 activator, RS9, attenuates secondary brain injury after intracerebral hemorrhage in sub-acute phase [J]. *Brain Res*, 2018, 1701: 137-145.
 - [24] Xi Z, Chen X, Xu C, et al. Protocatechuic acid attenuates brain edema and blood-brain barrier disruption after intracerebral hemorrhage in mice by promoting Nrf2/HO-1 pathway [J]. *Neuroreport*, 2020, 31(18): 1274-1282.
 - [25] Tseng KY, Stratoulis V, Hu WF, et al. Augmenting hematoma-scavenging capacity of innate immune cells by CDNF reduces brain injury and promotes functional recovery after intracerebral hemorrhage [J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14(2): 128.
 - [26] Wang CL, Yan XJ, Zhang CL, et al. Elevated serum nuclear factor erythroid 2-related factor 2 levels contribute to a poor prognosis after acute supratentorial intracerebral hemorrhage: a prospective cohort study [J]. *Front Aging Neurosci*, 2022, 14: 1014472.
 - [27] 沈士秀. 红曲的研究、生产及应用 [J]. *食品工业科技*, 2001, 22(1): 85-87.
 - [28] 张茂良, 段震文, 谢申猛. 血脂康有效成分研究 [J]. *中国新药杂志*, 1998: 55-56.
 - [29] Wang J, Wang G, Yi J, et al. The effect of monascin on hematoma clearance and edema after intracerebral hemorrhage in rats [J]. *Brain Res Bull*, 2017, 134: 24-29.
 - [30] 伊晋莹, 王改青, 王娟, 等. 红曲素对大鼠脑出血后脑保护作用机制的探讨 [J]. *疑难病杂志*, 2017, 16(5): 500-504, 3.
 - [31] 董梁, 王改青, 段淑娜, 等. PPAR- γ /Nrf2 介导 Heme-Hx-LRP1 通路在脑出血后血肿清除中的作用机制 [J]. *中华脑血管病杂志(电子版)*, 2021, 15(6): 373-381.
 - [32] Klingelhöfer I, Morlock GE. Lovastatin in lactone and hydroxy acid forms and citrinin in red yeast rice powders analyzed by HPTLC-UV/FLD [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2019, 411(25): 6655-6665.
 - [33] Ding M, Si D, Zhang W, et al. Red yeast rice repairs kidney damage and reduces inflammatory transcription factors in rat models of hyperlipidemia [J]. *Exp Ther Med*, 2014, 8(6): 1737-1744.
 - [34] Gao Y, Chen X, Li C, et al. Toxicological evaluation of red rice yeast extract, Xuezhikang: acute, 26-week chronic and genotoxicity studies [J]. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2020, 114: 104654.
 - [35] Moriarty PM, Roth EM, Karns A, et al. Effects of Xuezhikang in patients with dyslipidemia: a multicenter, randomized, placebo-controlled study [J]. *J Clin Lipidol*, 2014, 8(6): 568-575.
 - [36] Feng Y, Xu H, Chen K. Natural polypill Xuezhikang: its clinical benefit and potential multicomponent synergistic mechanisms of action in cardiovascular disease and other chronic conditions [J]. *J Altern Complement Med*, 2012, 18(4): 318-328.
 - [37] Feng SJ, Tang ZH, Wang Y, et al. Potential protective effects of red yeast rice in endothelial function against atherosclerotic cardiovascular disease [J]. *Chin J Nat Med*, 2019, 17(1): 50-58.
 - [38] Chen CJ, Ding D, Ironside N, et al. Statins for neuroprotection in spontaneous intracerebral hemorrhage [J]. *Neurology*, 2019, 93(24): 1056-1066.
 - [39] Liang C, Liu L, Bao S, et al. Neuroprotection by Nrf2 via modulating microglial phenotype and phagocytosis after intracerebral hemorrhage [J]. *Heliyon*, 2023, 9(2): e13777.
 - [40] 包霜谨, 刘丽荣, 要振佳, 等. Nrf2 调控小胶质细胞功能转化在脑出血后血肿清除中的作用机制 [J]. *中国现代医学杂志*, 2022, 32(17): 38-47.

引证本文: 李步德, 秦将均, 吴方锦, 等. Nrf2 在脑出血后血肿清除及脑保护中的作用及机制 [J]. *中风与神经疾病杂志*, 2024, 41(2): 175-178.