



跨膜转录因子Nrf1的生物学功能研究进展*

杨芳 贾蔓 代荣阳 向远彩**

(西南医科大学基础医学院, 泸州 646000)

摘要 跨膜转录因子Nrf1是CNC-bZIP家族中的重要成员,在维持细胞内氧化还原平衡、蛋白质稳态、内质网与线粒体稳定等功能中具有重要作用.在小鼠不同的组织器官中敲除Nrf1后会导致多种疾病,如非酒精性脂肪肝、神经退行性疾病、糖尿病等.近几年来,随着多种动物模型的运用及临床上的发现,Nrf1的新功能逐渐被揭示,尤其是参与棕色脂肪组织生热适应(冷适应)、胆固醇代谢、糖代谢、内质网应激以及先天性去糖基化疾病发生等过程.因此,为更好地理解Nrf1的作用,本文对其生物学功能进行了简要综述.

关键词 Nrf1, 蛋白质稳态, 内质网应激, 脂代谢, 抗氧化
中图分类号 Q2, Q5, Q7

DOI: 10.16476/j.pibb.2020.0057

在受到刺激时,细胞可通过活化不同转录因子介导的信号通路应对刺激引起的氧化应激、内质网应激及炎症反应等,其中CNC-bZIP (cap'n'collar-basic leucine zipper) 家族的转录因子在此过程中起着至关重要的作用.它们通过CNC-bZIP结构域与抗氧化或亲电反应元件 (antioxidant or electrophile response element, ARE 或 EpRE) 结合,直接调控胞内与抗氧化、炎症反应等相关酶基因的表达,如谷氨酸-半胱氨酸连接酶催化亚基与调节亚基、 γ -谷氨酰转肽酶、谷胱甘肽S转移酶、NAD(P)H 醌氧化还原酶1 (NQO1)、血红素氧化酶1 (HO1) [1-2].在哺乳动物的CNC-bZIP蛋白中,核因子E2相关因子1 (nuclear factor-erythroid 2 related factor 1 或 nuclear factor-erythroid 2 like 1, 简写Nrf1 或 Nfe2l1) 和Nrf2是调节由ARE介导细胞保护基因表达的主要因子.众多研究揭示:Nrf2是应激状态下应对氧化应激的主要分子开关 [3-5];而Nrf1则是基础状态下维持细胞氧化应激、代谢平衡等过程的关键因子,其功能紊乱可导致细胞内稳态失衡,甚至引发疾病 [1].由于Nrf1本底水平低、半衰期短,且在功能上与Nrf2存在部分重叠,所以实验过程中很难明确Nrf1引起的功能变化,导致其研究进展很缓慢.近几年来,随着不同小鼠模型的运用,Nrf1的生物学功能逐渐被揭示,尤其

是发现它在棕色脂肪组织生热、胆固醇代谢、糖代谢、内质网应激以及先天性去糖基化疾病发生等过程中均发挥重要作用.值得注意的是,目前有多个基因的简写与Nrf1一致,尤其是与线粒体功能密切相关的核呼吸因子 (nuclear respiratory factor 1, NRF1),部分学者已将两者混淆 [6-8].因此,为清楚地了解内质网膜锚定转录因子Nrf1在生物体内的作用,本文从其发现历程、剪切加工机制、生物学功能等方面进行简要综述.

1 Nrf1的发现、分布及序列结构

1.1 Nrf1的发现

早期研究发现, β -珠蛋白 (β -globin) 基因簇中 ϵ -珠蛋白基因的上游存在4个红系细胞特异的DNase I 超敏位点 (hypersensitive sites, HS),这4个位点在20世纪80年代被统称为基因座控制区 (locus control region, LCR) [9].遗传学研究发现,该区域是一个较强的增强子 [10],其活性的主要控制区域位于HS2与HS3之间,且具有两个连续的

* 四川省科技厅(2019YJ0482)和泸州市-西南医科大学联合项目(2019LZXNYDZ03)资助.

** 通讯联系人.

Tel: 15228206945, E-mail: yuancax@126.com

收稿日期: 2020-03-10, 接受日期: 2020-06-03

NF-E2/AP1 元件 (nuclear factor-erythroid 2/active protein 1 element, 序列 5' GCTGAGTCATGA-TGAGTCA 3', 下划线部分为 AP1 序列). 然而, 由于 AP1 序列与其 5'端紧邻的 GC 构成典型的 ARE 序列 (5' GCTGAGTCA 3', 反向互补链为 5' TGA CTCAGC 3') 可介导抗氧化、II 型解毒酶基因的表达, 维持细胞氧化还原平衡, 保护细胞免受伤害^[11-12]. 因而, 许多研究者聚焦该区域寻找组织特异性调控蛋白. 1994 年, Chan 等^[13] 通过酵母表达系统进行互补实验, 从人源红白血病细胞株 K562 的 cDNA 文库中筛选出一个与 NF-E2/AP1 位点特异性结合的碱性亮氨酸拉链蛋白. 该蛋白质具有 742 个氨基酸, 因其与 NF-E2 转录因子具有高度同源性而命名为 NF-E2-related factor 1, 缩写为 Nrf1 (或 Nfe2l1)^[13-14], 后来统称为 Nrf1 α ^[15]. 随后相继发现 Nrf1 的长亚型 TCF11 (772 aa)^[16]、短亚型 LCR-F1 (Nrf1 β)^[17] 及其他具有不同功能的多种亚型^[1].

1.2 Nrf1的分布与细胞定位

Nrf1 位于 17 号染色体^[16, 18], 并广泛存在于各类细胞株 (K562、KU24410、HEL、RAJI、HPBALL、HEK293、HELA、Plc/Prf/5) 与组织中 (心脏、骨骼肌、肾脏、肺、卵巢、胎盘、肝脏、脑、胰腺、脾脏、胸腺、前列腺、睾丸、小肠、结肠等), 而且在不同的组织中含量不一, 如在心脏、

骨骼肌、肾脏、卵巢等组织中的表达量相对较高^[13], 在其他组织中的表达量则相对较低^[16]. 在细胞内, Nrf1 主要位于内质网膜^[19-20] 和核膜^[21].

1.3 Nrf1的序列结构

由于 Nrf1 与 Nrf2 的氨基酸序列高度相似, 而且 Nrf2 已有较成熟的研究体系, 所以在研究早期根据 Nrf2 的序列结构对人源 Nrf1 (TCF11) 分类, 并将与 Nrf2 对应的 6 个结构域 Neh1 (Nrf2-ECH homology 1)、Neh2、Neh3、Neh4、Neh5、Neh6 分别命名为 Neh1L (Nrf2-ECH homology 1 like)、Neh2L、Neh3L、Neh4L、Neh5L、Neh6L 结构域^[1, 5, 20] (图 1). 为详细地了解 Nrf1 的功能, Zhang 等^[20] 根据其本身的序列特征将其分为 9 个结构域, 分别为 NTD (N-termianl domain)、AD1 (Acidic domain 1)、NST (Asn/Ser/Thr-rich)、AD2 (Acidic domain 2)、SR (Serine-repeat)、Neh6L、CNC、bZIP、CTD (C-terminal domain)^[2, 20] (图 1). 各结构域的功能介绍详见文献^[2]. 目前, 研究发现 Nrf2 还存在 Neh7 结构域^[22]. 从序列结构上看, Nrf1 较 Nrf2 更为保守^[23], 而且 Nrf1 的氨基端比 Nrf2 多 155 个氨基酸, 该区域含有内质网膜锚定信号序列使其定位异于细胞质中的 Nrf2. 正因为胞内的差异分布, 使得对 Nrf2 具有负调控作用的 Keap1 可以增加 Nrf1 的稳定性^[20, 24], 进而对下游基因行使差异化调控^[24-25].

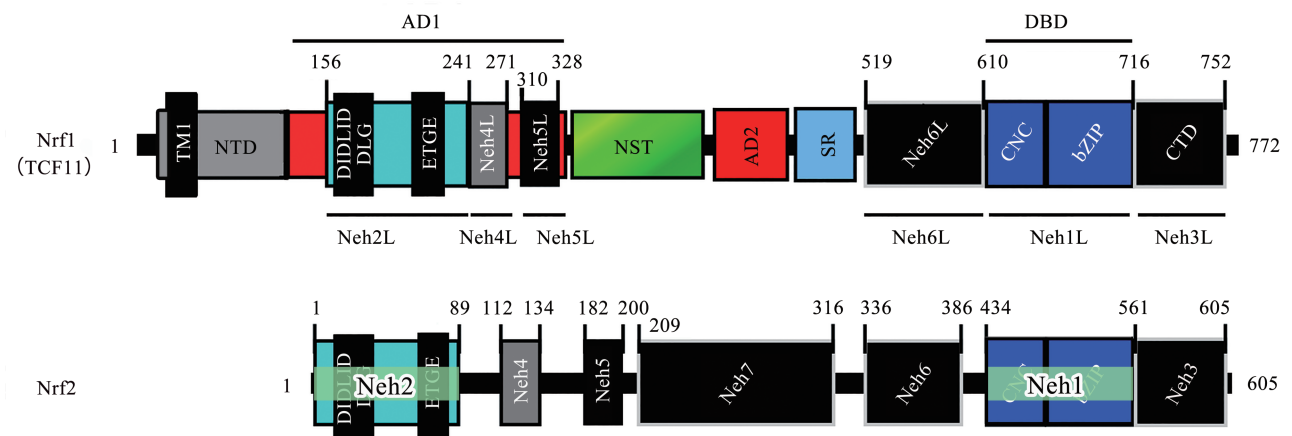


Fig. 1 The sequential structure of Nrf1 and Nrf2
图1 Nrf1与Nrf2的序列结构图

NTD: N端结构域 (N-termianl domain); TM1: 跨膜结构域1 (transmembrane 1, TM1); AD: 酸性结构域 (Acidic domain); NST: N/S/T 丰富区 (Asn/Ser/Thr-rich); SR: 丝氨酸重复区 (Serine-repeat); Neh: Nrf2-ECH同源区 (Nrf2-ECH homology); NehL: 类Neh区 (Neh like); CNC: Cap'n collar; bZIP: 碱性亮氨酸拉链 (basic leucine-zipper); CTD: C端结构域 (C-termianl domain); DBD: DNA结合结构域 (DNA binding domain); DIDLID/DLG与ETGE: Keap1结合位点.

2 Nrf1的剪切加工

众多研究揭示, Nrf1 在内质网上剪切加工及活化是一个动态变化的过程, 受多种因素影响. 其加工过程主要为^[1, 26-27]: 翻译后的 Nrf1 以氨基端朝向胞质侧、羧基端朝向内质网腔的方式通过氨基端跨膜结构域 (transmembrane 1, TM1) 锚定于内质网, 并在腔内发生糖基化修饰, 继而由 p97 蛋白提供“动力”使 Nrf1 在腔内的转录激活区域 (transactivation domain, TAD) 及羧基端“翻转”至胞质侧, 经去糖基化、磷酸化等修饰形成活化亚型的前体; 当细胞处于基础状态时, Nrf1 通过 Fbw7、 β -TrCP、Hrd1 等进行泛素化修饰后, 经 26 S 蛋白酶体降解并维持较低的本底水平; 当细胞处于应激状态时, 由 DDI1、DDI2 及部分失活的 26 S 在该活化前体的 TM1 附近剪切, 从而将其从内质网上释放, 并经核孔进入细胞核, 通过其 CNC-bZIP 结构域结合到靶基因启动子的 ARE 位点, 启动下游基因表达 (图 2). 此外, 在 Nrf1 的分子内部还存在多个跨膜序列 (如 TMi、TMc), 使其能以多种形式分布于内质网膜以更好地适应动态的剪切加工过程.

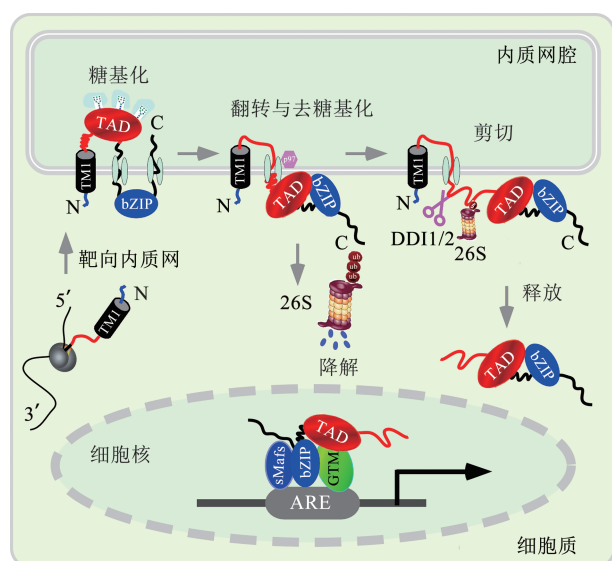


Fig. 2 A proposed mechanism for Nrf1 dynamic cleavage processing in ER

图2 Nrf1在内质网上的动态剪切加工机制

TM1: 跨膜结构域1 (transmembrane 1, TM1); TAD: 转录激活区域 (transactivation domain); bZIP: 碱性亮氨酸拉链 (basic leucine-zipper); sMafs: 小Maf蛋白 (small Maf); GTM: 一般转录装置 (general transcriptional machineries); ARE: 抗氧化反应元件 (antioxidant response element).

3 Nrf1的生物学功能

在 Nrf1 的研究初期, 仅发现 Nrf1 可调控 β -globin^[13] 及 PBGD (porphobilinogen deaminase)^[28]. 为挖掘 Nrf1 的生物学功能, Johnsen 等^[29] 用 NF-E2 位点在数据库中筛选其潜在的靶基因, 发现 Nrf1 主要涉及血红蛋白、铁代谢及细胞解毒作用. 随着研究的深入, Nrf1 的功能及其调控机制逐渐被揭示, 具体阐述如下:

3.1 Nrf1在细胞生物学中的作用

3.1.1 维持氧化还原平衡

Chen 等^[30] 在用胚胎显微注射技术培育 Nrf1 缺失的小鼠嵌合体时, 发现嵌合鼠肝细胞因严重的氧化应激而出现大面积凋亡及组织坏死, 而且与氧化还原相关的具有 ARE 元件的抗氧化蛋白表达量下降, 这提示 Nrf1 可能在抗氧化基因的调控中起重要作用. 事实上, 在动物、细胞中敲除 Nrf1 后进行基因表达分析也证实了这一点. 其中, 涉及谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 生物合成的酶是 Nrf1 的重要靶基因. GSH 是主要的抗氧化剂, 同时也是一系列参与新陈代谢和消除内源性异生物复合体相关酶的重要辅助因子^[31]. Kwong 等^[32] 用氧化剂 (百草枯、氯化镉) 处理缺失 Nrf1 的小鼠胚胎成纤维细胞后, 细胞形态改变、活力下降, 并且对氧化剂更敏感. 深入研究得知, 缺失 Nrf1 后细胞因谷氨酸-半胱氨酸连接酶 (glutamate-cysteine ligase, GCL) 调节亚基 GCLM 降低致使 GSH 含量大幅度下降. 与此同时, 胶迁移实验及荧光报告基因检测实验证实 Nrf1 可与 GCLM 的启动子结合, 而且恢复表达 Nrf1 后 GCLM 的蛋白质水平上调^[32-33]. 此外, Myhrstad 等^[34] 发现 Nrf1 也可通过转录上调 GCL 催化亚基 GCLC 以增加 GSH. 这些结果说明 Nrf1 可直接调控与 GSH 合成相关的基因.

除了与 GSH 合成相关的酶外, Nrf1 还能与 NQO1、HO1、GST、SOD 等多种抗氧化及 II 型解毒酶基因启动子区的 ARE 位点结合, 调控它们的转录以维持胞内氧化还原反应平衡^[35-37].

3.1.2 调节糖代谢、维持线粒体结构与功能稳态

众所周知, 活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 是引起氧化应激的重要原因, 主要产生于线粒体. 有报道指出, 在细胞中缺失 Nrf1 后 ROS 水平升高的同时线粒体呼吸增加, 进一步用线粒体复合抑制剂可阻止线粒体耗氧速率的变化^[38], 这意味着 Nrf1 除了能通过降低抗氧化酶影响 ROS 清除

外, 还可能通过影响线粒体的能量代谢改变胞内 ROS 水平. 深入研究发现, 缺失 Nrf1 的胰岛细胞与组织中 NADPH/NADP、ATP/ADP 比率显著增加, 用氧化磷酸化与糖酵解抑制剂处理时, 仅糖酵解抑制剂可阻止 ATP 的产生, 提示在 Nrf1 敲除的胰岛细胞中具有较高的糖酵解能力^[38]. 分析糖酵解相关蛋白质表达差异发现, 敲除 Nrf1 后可通过上调 HK1、GLUT2、LDH1 的表达增加细胞对葡萄糖的摄取, 使能量产生方式由氧化磷酸化转化为有氧糖酵解^[38]. 另外, 在过表达 Nrf1 小鼠的肝中也发现, 其可通过抑制 Slc2a2、Gck 阻止酵解途径, 增强 TCA 循环, 提高 ATP、ADP 水平^[39].

值得一提的是, 最近 Yang 等^[40]在构建 NGLY1 缺失的小鼠中发现细胞线粒体呈现碎片化, 且线粒体自噬功能受损. 由于该基因可介导 Nrf1 的 N-糖基化修饰, 是其活化加工中必不可少的一步, 因此, 在 NGLY1 缺失的细胞中过表达 Nrf1, 意外揭示其可通过恢复线粒体自噬相关基因 (p62、Wipi1) 缓解线粒体碎片化表型.

总而言之, Nrf1 可以通过改变糖代谢途径影响线粒体的能量代谢过程, 同时对维持线粒体稳态具有重要作用, 但具体调控机制有待进一步明确.

3.1.3 维持蛋白质稳态

泛素-蛋白酶体系统是细胞内蛋白质降解的主要途径, 对维持细胞内蛋白质稳态具有重要作用, 当其功能受损而不能及时恢复时将会导致大量蛋白质堆积, 破坏细胞内稳态平衡. 在该系统中, 蛋白酶体以 26 S 最常见, 它是由具有催化功能的 20 S 核心颗粒与 19 S 调节颗粒结合形成的复合体^[41-42]. 在关于蛋白酶体的众多研究中, Radhakrishnan 等^[43]揭示了一个有趣的“反弹”(bounce-back)现象——抑制蛋白酶体的功能可以增加蛋白酶体的合成. 他们用不同的 26 S 抑制剂 (MG132、YU101) 处理前列腺癌、结肠癌细胞后, 发现蛋白酶体 20 S 亚基 (PSMA7、PSMB4、PSMB7) 与 19 S 亚基 (PSMC1、PSMC4、PSMD1、PSMD12) 显著性增加. 在缺失 Nrf1 细胞中恢复表达后, 无论是在正常状态还是在抑制剂刺激条件下, PSMs 均明显增加^[43]. 荧光素酶报告基因检测与 ChIP 实验进一步证实, 经抑制剂处理后 Nrf1 可通过 ARE 位点与 26 S 亚基启动子结合活化各亚基表达 (PSMB6/β1、PSMA3/α7、PSMC4/S6b), 增加 26 S 活性^[41, 43]. 目前, 这一现象已被广泛地证实, 而且从不同的抑制效果来看, 仅 26 S 功能被部分抑

制时才能活化 Nrf1 介导其“反弹”^[27, 44], 即在蛋白酶体未受到严重损伤时, 均可通过 Nrf1 恢复并维持细胞内蛋白质稳态.

3.1.4 调控内质网应激

由于真核细胞内大约 1/3 的蛋白质在分泌前均需在内质网中进行折叠、组装^[45-46], 所以当内质网中折叠异常或未折叠蛋白质大量累积时会引起内质网应激. 持续的应激会扰乱内质网内环境如氧化还原失衡等, 最终导致细胞生理进程异常^[47-49]. 为维持内质网内环境稳态, 细胞通过未折叠蛋白质反应途径 (Ire1、PERK、ATF6) 降低蛋白质合成、诱导促蛋白质折叠基因表达、增加蛋白质降解, 恢复内质网稳态. 理论上, 缺失 Nrf1 后, 细胞会因蛋白酶体功能缺乏而产生内质网应激. 事实上也是如此, 在小鼠肝内缺失 Nrf1 后, ATF4、CHOP 等标志物的 mRNA 与蛋白质水平均升高, 这表明缺失 Nrf1 后可导致内质网应激^[50-51]. 有趣的是, 最近 Lehrbach 和 Ruvkun^[52]在线虫中构建了一个蛋白酶体活性的报告系统——泛素-GFP 融合蛋白 (rpl-28p::ub(G76V)::gfp), 用极低浓度的 26 S 抑制剂刺激稳定表达易聚集性 Aβ 蛋白的正常或 Nrf1 突变线虫, 结果发现在 26 S 功能几乎不受影响的情况下, Nrf1 依然能被错误折叠蛋白质活化, 认为 Nrf1 可以监测内质网中未折叠蛋白质, 可能是未折叠蛋白质反应中的一个新成员. 然而, 对于这一观点还需要更多的证据证实.

由于在未折叠蛋白质反应途径中核心分子的启动子区存在多个 ARE 序列, 所以除了直接监测外, Nrf1 还可以通过直接调控这些分子表达的方式参与内质网应激反应, 如 ATF6^[51, 53]. 同样, 具有类似调控方式的还有质网上的膜蛋白 Herpud1^[54], 其可将泛素化的底物传递至 26 S 促进与内质网相关的蛋白质降解.

3.1.5 抗炎症与免疫调节

在 Nrf1 报道之初, Novotny 等^[35]在小鼠肥大细胞、树突细胞中进行实验, 发现经 IgE+Ag 或 IgG-复合物刺激后, Nrf1 结合至 TNFα 的启动子区域并促进其表达. 然而, 在此后的 20 年研究中, 仅发现 TCF11 (Nrf1) 在 TGF-β 信号通路的刺激时以抑制 iNOS (inducible nitric-oxide synthase) 的方式参与细胞抗炎症反应过程. 最近, Wang 等^[55]用 LPS 诱导巨噬细胞产生炎症反应时发现 Nrf1 被活化, 而进一步敲减 Nrf1 后, 巨噬细胞 M1 型极化基因 (Nos2、Cox2) 和促炎症因子 (如 IL6、IL1β、

Ccl2) 增加, 且在多种细胞系及人血液原代单核细胞中证实 Nrf1 是巨噬细胞 M1 极化与促炎症因子的负调控因子. 尽管目前关于 Nrf1 在免疫方面的研究较少, 但其在抗炎症与免疫调节中的巨大潜能已初步显现.

3.1.6 维持脂代谢稳态

Zhang 等^[56] 利用生物信息学分析 Nrf1 的核苷酸序列发现 Nrf1 具有 5 个胆固醇结合序列 (cholesterol-recognition amino acid consensus motif, CRAC, aa 62~70、74~82、191~199、511~519、683~695), 并在体外证明 CRAC1/2 可与胆固醇结合^[26, 56], 而两者在机体内的关系最近被 Widenmaier 等^[57] 揭示. 他们发现胆固醇可以稳定 Nrf1 的蛋白质水平, 通过抑制其剪切加工影响细胞定位并降低转录活性. 当用胆固醇饲养肝内特异性敲除 Nrf1 的小鼠时, 肝内胆固醇大量积累并造成肝损伤, 而且在敲除小鼠或细胞中表达 Nrf1 时可将胞内高胆固醇水平恢复至正常. 进一步研究发现, 多余的胆固醇可与 Nrf1 的 CRAC3 结合并使其失活, 从而通过抑制 CD36 介导的胞内炎症、代

谢网络调控促进胆固醇的转化与排泄, 并与 SREBP2 以“阴阳”关系感知内质网内胆固醇含量——SREBP2 负责对内质网内低水平胆固醇状态感知调节, 而 Nrf1 负责对高水平胆固醇状态进行感知调节, 两者彼此配合维持内质网中胆固醇稳态. 当然, 许多参与脂代谢的基因启动子中也存在 ARE 位点, 可直接被 Nrf1 调控. 如 Nrf1 可以负调控脂质转运蛋白 (*Apoer2*、*Vldlr*)、脂肪酸代谢相关蛋白质 (*Alox5ap*)、去饱和酶 (*Fads3*) 等^[58], 也可以正调控脂代谢转录因子 PPAR γ 的共活化因子 *Lipin1*、*PGC-1 β* ^[59]. 这些发现提示 Nrf1 既能作为脂代谢的感受器又能作为效应器进行多方位调控以维持细胞内脂代谢稳态.

综上所述, Nrf1 在细胞内具有维持氧化还原平衡、线粒体稳态、蛋白质稳态、调节内质网应激、免疫、抵抗炎症等作用 (图 3). 除此之外, 测序数据显示 Nrf1 还可调控如糖基化相关蛋白、分子伴侣、细胞周期和分化调节蛋白、细胞支架组织核酸蛋白等基因^[60-61], 这需要后续研究进一步证实.

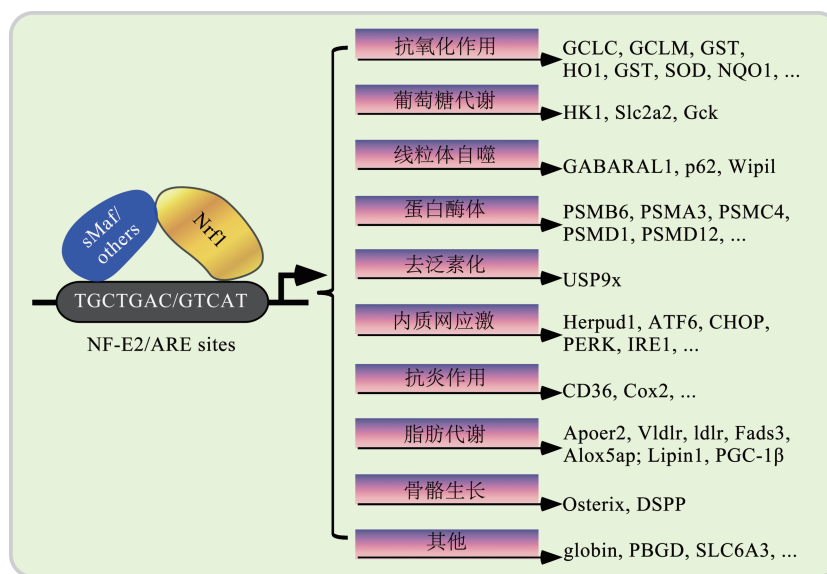


Fig. 3 The target genes of Nrf1

图3 Nrf1的下游靶基因

3.2 Nrf1在小鼠组织器官及疾病发生中的作用

大量的基因鼠研究揭示, 在不同组织器官里敲除或过表达 Nrf1 后会导致一系列病理生理学改变, 进而诱发多种疾病, 主要体现在以下几个方面:

3.2.1 肝脏发育与非酒精性脂肪肝、肝癌

多组实验显示, 全身性敲除 Nrf1 后会导致胚胎致死^[62-64]. 为揭示 Nrf1 在器官发育中的作用, Chen 等^[30] 培育 *Nrf1*^{-/-} 嵌合体, 发现在成熟嵌合小

鼠中仅肝细胞表现异常, 这表明Nrf1可能是肝脏发育成熟的必须因子. 随后, 特异性敲除小鼠肝脏Nrf1, 发现该鼠出生4周后开始出现凋亡、坏死及渗透性炎症细胞, 甘油三酯显著上升, 肝细胞脂肪积累、细胞核扩大、细胞周围及中心出现纤维化等现象; 10~12月后所有的缺陷小鼠均出现多发性癌灶, 发展为非酒精性脂肪肝 (nonalcoholic steatohepatitis, NASH), 最终恶化为肝癌^[60, 65]. 此外, 在成熟小鼠的肝中条件性敲除Nrf1也可以引发NASH^[58]. 而且, 在人肝组织样本中显示, Nrf1表达量与细胞、组织的恶性程度呈负相关^[66]. 这些结果均提示Nrf1与NASH、肝癌的产生密切相关. 尽管如此, 目前对其产生的机制仍未明确, 有待深入挖掘.

3.2.2 神经系统相关疾病

Lee等^[67]通过原位杂交检测Nrf1在小鼠脑中的分布时发现, Nrf1大量表达于成熟小鼠脑的皮质、海马角、齿状回、海马体、侧脑室脉络丛. 继而在脑中条件性敲除Nrf1后发现: 在3~4个月时, 敲除鼠的后肢紧握反射异常, 类似于其他神经退行性疾病模型的小鼠; 6个月时, 异常鼠脑的重量显著性下降, 组织学分析显示脑中NeuN阳性细胞减少, 且出现凋亡, 即脑中缺失Nrf1后致使神经元显著减少. 与此同时, 星形胶质细胞增生, 并在小鼠生长的早期出现大量呈泛素阳性的细胞^[67]. 同样, 在中枢神经系统中特异性敲除Nrf1后小鼠也出现神经退行性病变、神经系统中泛素化蛋白累积现象^[68]. 从分子机理上揭示发现, 除直接调控蛋白酶体亚基外^[67], Nrf1缺失后还可下调神经细胞中去泛素化蛋白USP9x, 从而导致神经细胞内蛋白质大量积累^[69].

然而, 目前并未发现Nrf1自然缺失的生物体, 那么Nrf1在神经系统相关疾病的发生过程中是否真的发挥作用? VerPlank等^[70]通过转基因方法在小鼠中引入突变的髓鞘蛋白(P0S63del)及过表达野生型P0蛋白以构建两种外周神经病变模型. 实验中发现, 两种模型中的蛋白质降解系统受损, 并可通过Nrf1介导26S总量增加, 这说明Nrf1可参与神经系统相关疾病的发生. 有趣的是, 在上述两种模型中, 尽管26S总量增加, 但在P0S63del小鼠坐骨神经中26S与底物的亲和力却大幅度降低, 这说明细胞内还存在其他补偿机制应对26S功能紊乱引起的蛋白质应激. 针对这一点, Sha等^[71]报道, 在26S功能被抑制时Nrf1可以通过转录活化

p62、GABARAL1活化细胞自噬, 缓解胞内蛋白质应激.

值得一提的是, Zhao等^[72]最近对多巴胺转运蛋白基因SLC6A3的上游蛋白质进行研究, 发现Nrf1可与其转录起始位点上游-8.7 kb的增强子区域结合, 促进SLC6A3表达, 而且尸检人的中脑组织也发现Nrf1在多巴胺能神经元的细胞核内大量表达. 这提示Nrf1可能通过对多巴胺的调控维持人的精神状态, 但需要进一步研究.

概括而言, 在神经系统中, Nrf1缺失可致使蛋白酶体功能紊乱, 引起蛋白质应激, 导致神经退行性疾病; 而Nrf1过多时, 则可通过对多巴胺转运蛋白的直接调控影响多巴胺的分布, 增加患精神疾病的风险. 因此, Nrf1的稳定表达对神经系统的正常运行具有重要作用.

3.2.3 肌萎缩

除了神经系统外, Nrf1通过蛋白酶体调节胞内蛋白质稳态的过程还参与肌肉正常生理功能的调控. Nath等^[73]在研究雄性激素受体-多聚谷氨酰胺(AR-polyQ)致使脊髓延髓肌萎缩发病的机理时, 发现模型小鼠(AR113Q)提肛肌、股四头肌、胫骨前肌中与泛素-蛋白酶体系统相关的基因明显下降, 这种下调主要由AR113Q蛋白抑制DDI2阻止Nrf1加工活化所致, 且具有polyQ长度与年龄依赖性. 有趣的是, Furuya等^[74]却在慢缩肌(比目鱼肌)中揭示, 去除神经后肌肉的早期自噬引起Nrf1介导的26S各亚基上调, 使其功能过度活化导致肌肉萎缩. 然而, 这种现象并未在快缩肌(跖肌)中发现. 这说明Nrf1对肌肉正常功能的调控具有组织差异性, 其异常表达可能是肌肉萎缩发病原因之一.

3.2.4 骨骼形成

据报道, Nrf1可参与调节骨骼形成的过程. 如在未分化的成牙质细胞中, Nrf1可与CCAAT增强子结合蛋白 β (CCAAT enhancer-binding protein β , C/EBP β)相互作用并抑制DSPP基因编码牙质磷蛋白、牙质涎蛋白; 在完全分化的成牙质细胞中Nrf1并不与C/EBP β 结合发挥抑制作用, 这暗示Nrf1可能参与成牙质细胞分化的调控过程^[75]. 用维生素处理自发性骨折小鼠中骨髓基质细胞后, 发现Nrf1可与成骨相关转录因子Osterix启动子的ARE位点(-1762至-1733)结合, 活化Osterix并促进骨髓基质细胞的分化^[76]. 另外, 在小鼠成骨细胞中特异性敲除Nrf1后, 可通过下调Osterix致使成骨细胞

分化与骨形成功能受损, 导致骨骼变小、总质量、骨小梁数及机械强度下降等症状^[77], 即Nrf1可通过调控成骨细胞分化影响骨骼形成过程。

3.2.5 糖尿病与胰岛B细胞瘤

为研究Nrf1在胰腺中的作用, Zheng等^[38]构建胰腺β细胞特异性缺失Nrf1的小鼠, 实验过程中观察到早期敲除鼠与正常鼠并无明显异常, 但在13~17周时敲除鼠的体重略高于正常鼠。检测胰岛功能时发现Nrf1缺失后可通过改变糖代谢途径导致类似II型糖尿病早期症状的出现, 如胰岛素分泌增加、高胰岛素血症伴随葡萄糖耐受不良等。另外, 在小鼠中过表达Nrf1会出现体重降低、血糖水平升高、胰岛增大、胰岛素分泌增加等症状, 并发展成糖尿病^[39]。此外, 缺失Nrf1后, 胰腺β细胞出现Warburg效应^[38], 而且体内、体外实验也显示在胰腺β细胞瘤(MIN6)中干扰后细胞恶性增强、耐药性增加^[78]。这提示Nrf1的稳态表达除了维持胰腺正常代谢外还具有抑制肿瘤发生的功能, 其缺失后有潜在的患癌风险。

3.2.6 脂肪可塑性、冷适应及肥胖症

尽管在小鼠肝脏中早已观察到Nrf1缺失后脂肪变性的现象^[65], 但其在脂肪中的具体作用与意义最近才被两课题组揭示。其中, Hou等^[79]在小鼠脂肪细胞中构建特异性敲除模型, 发现Nrf1缺失后可通过扰乱脂肪分解蛋白质的表达影响白色脂肪组织的可塑性, 导致皮下白色脂肪组织减少、性腺白色脂肪组织增多, 并出现葡萄糖耐受、胰岛素抵抗症状。而Bartelt等^[80]在揭示冷适应过程中褐色脂肪组织生热机制时发现: 相对热中和情况下(30℃), 在寒冷适应时(4℃、22℃), 小鼠褐色脂肪细胞处于高代谢水平, 需要活化Nrf1提高26S活性以应对细胞产生的蛋白质应激; 在热中和时, 脂肪细胞因处于最低代谢水平而无需增强26S活性, Nrf1维持本底水平。而且, 在褐色脂肪细胞中条件性敲除Nrf1后, 仅低温环境的小鼠随时间延长褐色脂肪组织逐渐出现褪色、载脂、变白现象。值得一提的是, 他们在人皮下及颈动脉鞘区的脂肪组织中活检发现, Nrf1的表达水平与褐色脂肪组织的特点相关, 结合人脂肪组织细胞克隆分析数据, 认为Nrf1的表达可以作为生热的标志物。此外, 在与脂肪细胞蛋白质降低密切相关的肥胖症中, 过表达Nrf1或用小分子活化蛋白酶体功能可以提高对胰岛素的敏感性, 增加蛋白质代谢质量控制, 缓解肥胖症。

3.3 Nrf1与人类疾病

尽管目前对Nrf1与疾病发生关系的揭示主要集中于动物模型上, 但其在人类疾病发生中的作用已初见端倪。Nrf1除了参与上述提及的人肝癌、精神疾病、机体产热过程外, 还与先天性去糖基化病、黑色素瘤、弥漫大B细胞淋巴瘤的预后有关, 具体如下:

3.3.1 常染色体隐形遗传病——先天性去糖基化病(congenital disorder of deglycosylation, CDDG)

2012年, Need等^[81]发现一类不明起因的具有明显遗传特点如发育迟缓、运动障碍、癫痫、肝功能紊乱及无泪等的低龄患者, 但他们的父母均表现正常。经比对发现他们的症状与现有的遗传性疾病均不一致, 随即通过外显子测序技术分析鉴定。其中, 发现一名3岁男孩的NGLY1基因获得了来自母亲的移码突变体(c.1891delC, 即p.Q631S NM_018297.3)与父亲的无义突变体(c.1201A>T, 即p.R401* NM_018297.3), 使NGLY1蛋白处于极低水平, 并通过肝活检发现胞质中出现大量不明物质。最终将其定义为一种新的常染色体隐性遗传病——NGLY1纯合子突变引起的先天性去糖基化病(NGLY1-CDDG, OMIM 610661、615273)^[81-82]。目前, 该病的患者已超过20例, 且还存在其他类似突变, 如c.1837del(p.Gln613 fs)^[83]。为揭示其发病机制, Owings等^[84]分析果蝇NGLY1敲减后的转录组数据并通过实验发现, NGLY1缺失可能通过抑制去糖基化下调Nrf1介导的26S功能而致病。此外, 在特异性敲除NGLY1的小鼠肝细胞中也观察到Nrf1的功能受损^[85]。而且, 在细胞中过表达活化形式的Nrf1可缓解NGLY1缺失造成的损伤^[40]。值得一提的是, van Keulen等^[83]在一例NGLY1-CDDG患者因不明原因导致死亡的分析中认为: NGLY1缺失后可通过降低Nrf1的转录功能进而导致蛋白质稳态失衡, 长期的蛋白质应激引起细胞死亡, 最终使其因肾上腺素不足而致死。这些已有证据均提示Nrf1参与NGLY1-CDDG的发病过程, 尽管如此, Nrf1在此病发生过程中的真实作用还有待进一步明确。

3.3.2 黑色素瘤

Hämäläinen等^[86]在揭示Nrf1、Nrf2和氧化还原microRNAs与黑色素瘤发生进程中的相关性时发现, Nrf1的mRNA水平在从痣的形成开始到异常发育过程中明显下降, 且与黑色素瘤患者的性别相关。免疫组化分析显示, 活化的核内Nrf1蛋白在

从痣的开始到异常发育乃至发展为原发性黑色素瘤、及转移性损伤等过程中均明显下降.然而,分析患者生存曲线时发现,黑色素细胞核内Nrf1的表达水平与N0期患者生存率呈负相关,当病情重于N0期时则无明显的预后意义.

3.3.3 弥漫大B细胞淋巴瘤 (diffuse large B cell lymphomas, DLBCL)

为明确氧化应激标志物及抗氧化酶在DLBCL预后中的作用, Kari等^[87]对76名高风险患者进行回顾性分析, 并对活检组织进行Nrf1、Nrf2、Keap1、Bach1免疫组化染色.结果发现核Nrf2、核Bach1与不良的临床特征相关, 如贫血、晚期、中性粒细胞减少症感染等.然而, 胞质Nrf1和Nrf2则

与有利的临床表现有关, 如正常血红蛋白水平、局限期等.尽管如此, 其中没有一个因子可以单独预测患者的生存率.当联合分析时发现, 胞质中Keap1低评分、核内Nrf2高评分、胞质Nrf1高分、核内Nrf1低评分联合可预示R-CHOEP法治疗后DLBCL低的整体存活率.

综上所述, Nrf1可通过对糖脂代谢、蛋白质稳态调控维持组织器官的正常功能, 其异常表达或功能异常可引起非酒精性肝炎、神经退行性疾病、肌萎缩、糖尿病、肥胖等多种疾病, 并可作为产热、黑色素瘤及弥漫大B细胞淋巴瘤的预后指标(表1).

Table 1 The role of Nrf1 in tissues, organs and diseases
表1 Nrf1在组织、器官及疾病中的作用

组织器官	种 属 ¹⁾	
	小鼠	人
脑	• 缺失Nrf1后, 小鼠出现脑重下降、神经退行性病样症状; 神经元细胞减少, 泛素化蛋白累积, 但无氧化应激 ^[67] ; • 神经系统中缺失后, 海马神经元受损, 氧化应激增强 ^[68] .	• 通过SLC6A3调控多巴胺分布 ^[72] .
肝	• 缺失Nrf1后, 小鼠肝出现脂肪累积、细胞凋亡、炎症、纤维化等非酒精性肝炎症状, 并自发肝癌 ^[60, 65] .	• Nrf1的表达量与细胞、组织的恶性程度呈负相关 ^[66] .
胰	• 缺失Nrf1后, 小鼠体重略有增高, 出现高胰岛素症、葡萄糖耐受不良等II型糖尿病症状 ^[38] ; • 过表达后, 出现体重下降、胰岛增大、胰岛素增加等糖尿病症 ^[39] .	—
骨	• 缺失Nrf1后, 小鼠骨骼尺寸、总质量、小梁数及机械强度均降低 ^[77] ; • 通过Osterix调控骨髓基质细胞分化 ^[76] .	—
肌肉	• 神经肌萎缩模型中, AR突变通过DDI2阻止Nrf1活化, 降低泛素-蛋白酶系统功能 ^[73] ; • 慢缩肌内, 早期自噬通过Nrf1过度活化蛋白酶体功能引起肌萎缩 ^[74] .	—
白色脂肪	• 缺失Nrf1后, 小鼠皮下白色脂肪组织减少, 出现葡萄糖耐受、胰岛素抵抗等症状; 调控白色脂肪可塑性 ^[79] .	—
褐色脂肪	• 缺失Nrf1后, 在低温下小鼠褐色脂肪组织逐渐出现褪色、载脂、变白现象; 过表达提高胰岛素敏感性, 缓解肥胖症 ^[80] .	• 活检皮下及颈动脉鞘区的脂肪组织发现, Nrf1大量表达与棕色脂肪组织的特点相关, 可作为生热的标志物 ^[80] .
皮肤	—	• 黑色素细胞核内Nrf1表达水平与N0期患者生存率呈负相关 ^[86] .
淋巴	—	• 可与Nrf2、Keap1、Bach1一道联合对弥漫大B细胞淋巴瘤进行预后分析 ^[87] .

¹⁾ 此表仅统计小鼠模型与人组织, 未包含果蝇、线虫、斑马鱼等已涉及Nrf1功能研究的模式动物.

4 结 语

从上述生物学功能看出, Nrf1可以参与细胞内多种生理活动, 并在不同的组织器官中发挥独特作

用, 其稳态表达对维持正常生命活动具有重要意义. 譬如: 在细胞水平上, Nrf1活化时可通过调控蛋白酶体降解系统维持蛋白质稳态, 失活后可感知并维持胆固醇稳态; 在组织器官水平上, 缺失或过

表达 Nrf1 后均可影响胰腺、肌肉、神经系统功能进而导致糖尿病、肌肉萎缩、神经或精神类疾病等等。近几年关于 Nrf1 在糖脂代谢中新功能的揭示, 俨然已使其成为基础生命活动尤其是糖脂代谢中的核心分子。尽管如此, Nrf1 对糖脂代谢质量控制的机制仍需深入阐明。此外, 由于目前关于 Nrf1 的研究较少, 对其调控机制的了解较为局限, 还存在诸多疑惑。如位于内质网的 Nrf1 如何影响线粒体、细胞核的功能以维持细胞器间的稳态? 在应激状态下, Nrf1 如何维持氧化还原反应、内质网应激、蛋白质稳态间的平衡? 临床上, 如何克服蛋白酶体抑制剂类化疗药物 (Bortezomib、Carfilzomib) 通过活化 Nrf1 介导蛋白酶体“反弹”效应而产生的耐药性? 另外, 虽然 Nrf1 在肝癌细胞与胰岛瘤细胞中表现出肿瘤抑制效果^[66, 78], 且临床上也与黑色素瘤患者的生存具有相关性^[86], 但它是否具有普遍意义的肿瘤抑制因子? 等等, 这些问题均需要进一步探索。

总之, Nrf1 可通过调控细胞内氧化还原平衡、蛋白质稳态、糖脂代谢、内质网与线粒体稳定维持组织器官的完整性。我们相信随着研究的深入拓展, 将不断丰富 Nrf1 的生理作用与调控机制, 势必为疾病的诊断与治疗带来新的思路。

参 考 文 献

- [1] Zhang Y, Xiang Y. Molecular and cellular basis for the unique functioning of Nrf1, an indispensable transcription factor for maintaining cell homeostasis and organ integrity. *Biochem J*, 2016, **473**(8): 961-1000
- [2] Bugno M, Daniel M, Chepelev N L, *et al.* Changing gears in Nrf1 research, from mechanisms of regulation to its role in disease and prevention. *Biochim Biophys Acta*, 2015, **1849**(10): 1260-1276
- [3] Van der Wijst M G, Brown R, Rots M G. Nrf2, the master redox switch: the Achilles' heel of ovarian cancer? *Biochim Biophys Acta*, 2014, **1846**(2): 494-509
- [4] Surh Y J, Kundu J K, Na H K. Nrf2 as a master redox switch in turning on the cellular signaling involved in the induction of cytoprotective genes by some chemopreventive phytochemicals. *Planta Med*, 2008, **74**(13): 1526-1539
- [5] Xiao H, Lv F, Steward D, *et al.* Mechanisms underlying chemopreventive effects of flavonoids *via* multiple signaling nodes within Nrf2-ARE and AhR-XRE gene regulatory networks. *Curr Chemical Biology*, 2013, **7**(2): 157-176
- [6] L'Honore A, Commere P H, Ouimette J F, *et al.* Redox regulation by Pitx2 and Pitx3 is critical for fetal myogenesis. *Dev Cell*, 2014, **29**(4): 392-405
- [7] Ma Y, Ma M, Sun J, *et al.* CHIR-99021 regulates mitochondrial remodelling *via* beta-catenin signalling and miRNA expression during endodermal differentiation. *J Cell Sci*, 2019, **132**(15). pii: jcs229948
- [8] Zhou L, Zhou C, Feng Z, *et al.* Triptolide-induced hepatotoxicity can be alleviated when combined with panax notoginseng saponins and catapol. *J Ethnopharmacol*, 2018, **214**: 232-239
- [9] Orkin, S H. Globin gene-regulation and switching - circa 1990. *Cell*, 1990, **63**(4): 665-672
- [10] Grosveld, F, Vanassendelft G B, Greaves D R, *et al.* Position-independent, high-level expression of the human beta-globin gene in transgenic mice. *Cell*, 1987, **51**(6): 975-985
- [11] Andrews N C, Erdjumentbromage H, Davidson M B, *et al.* Erythroid transcription factor NF-E2 is a hematopoietic-specific basic leucine zipper protein. *Nature*, 1993, **362**(6422): 722-728
- [12] Rushmore T H, Morton M R, Pickett C B. The antioxidant responsive element - activation by oxidative stress and identification of the DNA consensus sequence required for functional-activity. *J Biol Chem*, 1991, **266**(18): 11632-11639
- [13] Chan J Y, Han X L, Kan Y W. Cloning of Nrf1, an NF-E2-related transcription factor, by genetic selection in yeast. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, **90**(23): 11371-11375
- [14] Chan J Y, Han X L, Kan Y W. Isolation of cDNA encoding the human NF-E2 protein. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, **90**(23): 11366-11370
- [15] Zhang Y, Hayes J D. The membrane-topogenic vectorial behaviour of Nrf1 controls its post-translational modification and transactivation activity. *Sci Rep*, 2013, **3**: 2006
- [16] Luna L, Johnsen O, Skartlien A H, *et al.* Molecular cloning of a putative novel human bZIP transcription factor on chromosome 17q22. *Genomics*, 1994, **22**(3): 553-562
- [17] Caterina J J, Donze D, Sun C W, *et al.* Cloning and functional characterization of LCR-F1: a bZIP transcription factor that activates erythroid-specific, human globin gene expression. *Nucleic Acids Res*, 1994, **22**(12): 2383-2391
- [18] Chan J Y, Cheung M C, Moi P, *et al.* Chromosomal localization of the human NF-E2 family of bZIP transcription factors by fluorescence *in situ* hybridization. *Hum Genet*, 1995, **95**(3): 265-269
- [19] Wang W, Chan J Y. Nrf1 is targeted to the endoplasmic reticulum membrane by an N-terminal transmembrane domain. Inhibition of nuclear translocation and transacting function. *J Biol Chem*, 2006, **281**(28): 19676-19687
- [20] Zhang Y, Crouch D H, Yamamoto M, *et al.* Negative regulation of the Nrf1 transcription factor by its N-terminal domain is independent of Keap1: Nrf1, but not Nrf2, is targeted to the endoplasmic reticulum. *Biochem J*, 2006, **399**(3): 373-385
- [21] Zhang Y, Lucocq J M, Hayes J D. The Nrf1 CNC/bZIP protein is a nuclear envelope-bound transcription factor that is activated by t-butyl hydroquinone but not by endoplasmic reticulum stressors. *Biochem J*, 2009, **418**(2): 293-310
- [22] Wang H, Liu K, Geng M, *et al.* RXR α inhibits the NRF2-ARE signaling pathway through a direct interaction with the Neh7

- domain of NRF2. *Cancer Res*, 2013, **73**(10): 3097-3108
- [23] Sykietis G P, Bohmann D. Stress-activated cap'n'collar transcription factors in aging and human disease. *Sci Signal*, 2010, **3**(112): re3
- [24] Tian W, Rojo de la Vega M, Schmidlin C J, *et al.* Kelch-like ECH-associated protein 1 (KEAP1) differentially regulates nuclear factor erythroid-2-related factors 1 and 2 (NRF1 and NRF2). *J Biol Chem*, 2018, **293**(6): 2029-2040
- [25] Liu P, Kerins M J, Tian W, *et al.* Differential and overlapping targets of the transcriptional regulators NRF1, NRF2, and NRF3 in human cells. *J Biol Chem*, 2019, **294**(48): 18131-18149
- [26] Xiang Y, Halin J, Fan Z, *et al.* Topovectorial mechanisms control the juxtamembrane proteolytic processing of Nrf1 to remove its N-terminal polypeptides during maturation of the CNC-bZIP factor. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2018, **360**: 160-184
- [27] Xiang Y, Wang M, Hu S, *et al.* Mechanisms controlling the multistage post-translational processing of endogenous Nrf1/TCF11 proteins to yield distinct isoforms within the coupled positive and negative feedback circuits. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2018, **360**: 212-235
- [28] Johnsen O, Skammelsrud N, Luna L, *et al.* Small Maf proteins interact with the human transcription factor TCF11/Nrf1/LCR-F1. *Nucleic Acids Res*, 1996, **24**(21): 4289-4297
- [29] Johnsen O, Murphy P, Prydz H, *et al.* Interaction of the CNC-bZIP factor TCF11/LCR-F1/Nrf1 with MafG: binding-site selection and regulation of transcription. *Nucleic Acids Res*, 1998, **26**(2): 512-520
- [30] Chen L, Kwong M, Lu R, *et al.* Nrf1 is critical for redox balance and survival of liver cells during development. *Mol Cell Bio*, 2003, **23**(13): 4673-4686
- [31] Wu Y, Zhang X, Bardag-Gorce F, *et al.* Retinoid X receptor alpha regulates glutathione homeostasis and xenobiotic detoxification processes in mouse liver. *Mol Pharmacol*, 2004, **65**(3): 550-557
- [32] Kwong M, Kan Y W, Chan J Y. The CNC basic leucine zipper factor, Nrf1, is essential for cell survival in response to oxidative stress-inducing agents: role for nrf1 in gamma-gcs(l) and gss expression in mouse fibroblasts. *J Biol Chem*, 1999, **274**(52): 37491-37498
- [33] Moinova H R, Mulcahy R T. Up-regulation of the human gamma-glutamylcysteine synthetase regulatory subunit gene involves binding of Nrf-2 to an electrophile responsive element. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, **261**(3): 661-668
- [34] Myhrstad M C W, Husberg C, Murphy P, *et al.* TCF11/Nrf1 overexpression increases the intracellular glutathione level and can transactivate the gamma-glutamylcysteine synthetase (GCS) heavy subunit promoter. *Biochim Biophys Acta*, 2001, **1517**(2): 212-219
- [35] Novotny V, Prieschl E E, Csonga R, *et al.* Nrf1 in a complex with fosB, c-jun, junD and ATF2 forms the AP1 component at the TNF alpha promoter in stimulated mast cells. *Nucleic Acids Res*, 1998, **26**(23): 5480-5485
- [36] Venugopal R, Jaiswal A K. Nrf1 and Nrf2 positively and c-Fos and Fra1 negatively regulate the human antioxidant response element-mediated expression of NAD(P)H:quinone oxidoreductase1 gene. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, **93**(25): 14960-14965
- [37] Zhao R, Hou Y, Xue P, *et al.* Long isoforms of NRF1 contribute to arsenic-induced antioxidant response in human keratinocytes. *Environ Health Perspect*, 2011, **119**(1): 56-62
- [38] Zheng H, Fu J, Xue P, *et al.* CNC-bZIP protein Nrf1-dependent regulation of glucose-stimulated insulin secretion. *Antioxid Redox Signal*, 2015, **22**(10): 819-831
- [39] Hirotsu Y, Higashi C, Fukutomi T, *et al.* Transcription factor NF-E2-related factor 1 impairs glucose metabolism in mice. *Genes Cells*, 2014, **19**(8): 650-665
- [40] Yang K, Huang R, Fujihira H, *et al.* N-glycanase NGLY1 regulates mitochondrial homeostasis and inflammation through NRF1. *J Exp Med*, 2018, **215**(10): 2600-2616
- [41] Steffen J, Seeger M, Koch A, *et al.* Proteasomal degradation is transcriptionally controlled by TCF11 via an ERAD-dependent feedback loop. *Mol cell*, 2010, **40**(1): 147-158
- [42] Jung T, Grune T. Structure of the proteasome. *Prog Mol Biol Transl*, 2012, **109**: 1-39
- [43] Radhakrishnan S K, Lee C S, Young P, *et al.* Transcription factor Nrf1 mediates the proteasome recovery pathway after proteasome inhibition in mammalian cells. *Mol cell*, 2010, **38**(1): 17-28
- [44] Sha Z, Goldberg A L. Proteasome-mediated processing of Nrf1 is essential for coordinate induction of all proteasome subunits and p97. *Curr Biol*, 2014, **24**(14): 1573-1583
- [45] Vembar S S, Brodsky J L. One step at a time: endoplasmic reticulum-associated degradation. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, **9**(12): 944-957
- [46] Christianson J C, Olzmann J A, Shaler T A, *et al.* Defining human ERAD networks through an integrative mapping strategy. *Nat Cell Biol*, 2011, **14**(1): 93-105
- [47] Clarke H J, Chambers J E, Liniker E, *et al.* Endoplasmic reticulum stress in malignancy. *Cancer Cell*, 2014, **25**(5): 563-573
- [48] Lee J, Ozcan U. Unfolded protein response signaling and metabolic diseases. *J Biol Chem*, 2014, **289**(3): 1203-1211
- [49] Wang S, Kaufman R J. How does protein misfolding in the endoplasmic reticulum affect lipid metabolism in the liver? *Curr Opin Lipidol*, 2014, **25**(2): 125-132
- [50] Lee C S, Ho D V, Chan J Y. Nuclear factor-erythroid 2-related factor 1 regulates expression of proteasome genes in hepatocytes and protects against endoplasmic reticulum stress and steatosis in mice. *FEBS J*, 2013, **280**(15): 3609-3620
- [51] Baird L, Tsujita T, Kobayashi E H, *et al.* A homeostatic shift facilitates endoplasmic reticulum proteostasis through transcriptional integration of proteostatic stress response pathways. *Mol Cell Biol*, 2017, **37**(4): e00439-16
- [52] Lehrbach N J, Ruvkun G. Endoplasmic reticulum-associated SKN-1A/Nrf1 mediates a cytoplasmic unfolded protein response and promotes longevity. *Elife*, 2019, **8**: e44425
- [53] Zhu Y P, Zheng Z, Hu S, *et al.* Unification of opposites between two antioxidant transcription factors Nrf1 and Nrf2 in mediating

- distinct cellular responses to the endoplasmic reticulum stressor tunicamycin. *Antioxidants (Basel)*, 2019, **9**(1): 4
- [54] Ho D V, Chan J Y. Induction of Herpud1 expression by ER stress is regulated by Nrf1. *FEBS Lett*, 2015, **589**(5): 615-620
- [55] Wang H, Zhu J, Liu Z, *et al.* Silencing of long isoforms of nuclear factor erythroid 2 like 1 primes macrophages towards M1 polarization. *Free Radic Biol Med*, 2018, **117**: 37-44
- [56] Zhang Y, Hayes J D. Identification of topological determinants in the N-terminal domain of transcription factor Nrf1 that control its orientation in the endoplasmic reticulum membrane. *Biochem J*, 2010, **430**(3): 497-510
- [57] Widenmaier S B, Snyder N A, Nguyen T B, *et al.* NRF1 is an ER membrane sensor that is central to cholesterol homeostasis. *Cell*, 2017, **171**(5): 1094-1109
- [58] Tsujita T, Peirce V, Baird L, *et al.* Transcription factor Nrf1 negatively regulates the cystine/glutamate transporter and lipid-metabolizing enzymes. *Mol Cell Biol*, 2014, **34**(20): 3800-3816
- [59] Hirotsu Y, Hataya N, Katsuoka F, *et al.* NF-E2-related factor 1 (Nrf1) serves as a novel regulator of hepatic lipid metabolism through regulation of the Lipin1 and PGC-1 β genes. *Mol Cell Biol*, 2012, **32**(14): 2760-2770
- [60] Ohtsuiji M, Katsuoka F, Kobayashi A, *et al.* Nrf1 and Nrf2 play distinct roles in activation of antioxidant response element-dependent genes. *J Biol Chem*, 2008, **283**(48): 33554-33562
- [61] Wang M, Qiu L, Ru X, *et al.* Distinct isoforms of Nrf1 diversely regulate different subsets of its cognate target genes. *Sci Rep*, 2019, **9**(1): 2960
- [62] Murphy P, Kolsto A B. Expression of the bZIP transcription factor TCF11 and its potential dimerization partners during development. *Mech Develop*, 2000, **97**(1-2): 141-148
- [63] Farmer S C, Sun C W, Winnier G E, *et al.* The bZIP transcription factor LCR-F1 is essential for mesoderm formation in mouse development. *Genes Dev*, 1997, **11**(6): 786-798
- [64] Chan J Y, Kwong M, Lu R, *et al.* Targeted disruption of the ubiquitous CNC-bZIP transcription factor, Nrf-1, results in anemia and embryonic lethality in mice. *EMBO J*, 1998, **17**(6): 1779-1787
- [65] Xu Z, Chen L, Leung L, *et al.* Liver-specific inactivation of the Nrf1 gene in adult mouse leads to nonalcoholic steatohepatitis and hepatic neoplasia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, **102**(11): 4120-4125
- [66] Ren Y G, Qiu L, Lu F L, *et al.* TALENs-directed knockout of the full-length transcription factor Nrf1 α that represses malignant behaviour of human hepatocellular carcinoma (HepG2) cells. *Sci Rep*, 2016, **6**: 23775
- [67] Lee C S, Lee C, Hu T, *et al.* Loss of nuclear factor E2-related factor 1 in the brain leads to dysregulation of proteasome gene expression and neurodegeneration. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, **108**(20): 8408-8413
- [68] Kobayashi A, Tsukide T, Miyasaka T, *et al.* Central nervous system-specific deletion of transcription factor Nrf1 causes progressive motor neuronal dysfunction. *Genes Cells*, 2011, **16**(6): 692-703
- [69] Taniguchi H, Okamuro S, Koji M, *et al.* Possible roles of the transcription factor Nrf1 (NFE2L1) in neural homeostasis by regulating the gene expression of deubiquitinating enzymes. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, **484**(1): 176-183
- [70] VerPlank J J S, Lokireddy S, Feltri M L, *et al.* Impairment of protein degradation and proteasome function in hereditary neuropathies. *Glia*, 2018, **66**(2): 379-395
- [71] Sha Z, Schnell H M, Ruoff K, *et al.* Rapid induction of p62 and GABARAPL1 upon proteasome inhibition promotes survival before autophagy activation. *J Cell Biol*, 2018, **217**(5): 1757-1776
- [72] Zhao Y, Yu J, Zhao J, *et al.* Intragenic transcriptional cis-antagonism across SLC6A3. *Mol Neurobiol*, 2019, **56**(6): 4051-4060
- [73] Nath S R, Yu Z, Gipson T A, *et al.* Androgen receptor polyglutamine expansion drives age-dependent quality control defects and muscle dysfunction. *J Clin Invest*, 2018, **128**(8): 3630-3641
- [74] Furuya N, Ikeda S I, Sato S, *et al.* PARK2/Parkin-mediated mitochondrial clearance contributes to proteasome activation during slow-twitch muscle atrophy via NFE2L1 nuclear translocation. *Autophagy*, 2014, **10**(4): 631-641
- [75] Narayanan K, Ramachandran A, Peterson M C, *et al.* The CCAAT enhancer-binding protein (C/EBP) β and Nrf1 interact to regulate dentin sialophosphoprotein (DSPP) gene expression during odontoblast differentiation. *J Biol Chem*, 2004, **279**(44): 45423-45432
- [76] Xing W, Singgih A, Kapoor A, *et al.* Nuclear factor-E2-related factor-1 mediates ascorbic acid induction of osteix expression via interaction with antioxidant-responsive element in bone cells. *J Biol Chem*, 2007, **282**(30): 22052-22061
- [77] Kim J, Xing W R, Wergedal J, *et al.* Targeted disruption of nuclear factor erythroid-derived 2-like 1 in osteoblasts reduces bone size and bone formation in mice. *Physiol Genomics*, 2010, **40**(2): 100-110
- [78] Fu J, Zheng H, Cui Q, *et al.* Nfe2l1-silenced insulinoma cells acquire aggressiveness and chemoresistance. *Endocr Relat Cancer*, 2018, **25**(3): 185-200
- [79] Hou Y, Liu Z, Zuo Z, *et al.* Adipocyte-specific deficiency of Nfe2l1 disrupts plasticity of white adipose tissues and metabolic homeostasis in mice. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, **503**(1): 264-270
- [80] Bartelt A, Widenmaier S B, Schlein C, *et al.* Brown adipose tissue thermogenic adaptation requires Nrf1-mediated proteasomal activity. *Nat Med*, 2018, **24**(3): 292-303
- [81] Need A C, Shashi V, Hitomi Y, *et al.* Clinical application of exome sequencing in undiagnosed genetic conditions. *J Med Genet*, 2012, **49**(6): 353-361
- [82] Lam C, Ferreira C, Krasnewich D, *et al.* Prospective phenotyping of NGLY1-CDDG, the first congenital disorder of deglycosylation. *Genet Med*, 2017, **19**(2): 160-168
- [83] van Keulen B J, Rotteveel J, Finken M J J. Unexplained death in patients with NGLY1 mutations may be explained by adrenal

- insufficiency. *Physiol Rep*, 2019, **7**(3): e13979
- [84] Owings K G, Lowry J B, Bi Y, *et al.* Transcriptome and functional analysis in a *Drosophila* model of NGLY1 deficiency provides insight into therapeutic approaches. *Hum Mol Genet*, 2018, **27**(6): 1055-1066
- [85] Fujihira H, Masahara-Negishi Y, Akimoto Y, *et al.* Liver-specific deletion of Ngly1 causes abnormal nuclear morphology and lipid metabolism under food stress. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2020, **1866**(3): 165588
- [86] Hamalainen M, Teppo H R, Skarp S, *et al.* NRF1 and NRF2 mRNA and protein expression decrease early during melanoma carcinogenesis: an insight into survival and microRNAs. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, **2019**: 2647068
- [87] Kari, E, Teppo H R, Haapasaari K M, *et al.* Nuclear factor erythroid 2-related factors 1 and 2 are able to define the worst prognosis group among high-risk diffuse large B cell lymphomas treated with R-CHOEP. *J Clin Pathol*, 2019, **72**(4): 316-321

Progress on the Biological Functions of Transmembrane Factor Nrf1*

YANG Fang, JIA Man, DAI Rong-Yang, XIANG Yuan-Cai**

(College of Basic Medical, Southwest Medical University, Luzhou 646000, China)

Abstract The transmembrane-bound Nrf1 transcription factor, a key member of the CNC-bZIP (cap'n'collar-basic leucine zipper) family, plays a vital role in maintaining intracellular redox balance, proteostasis, endoplasmic reticulum and mitochondrial stability, and so on. Deficiency of Nrf1 in different tissues and organs resulted in a series of diseases in mouse model, including nonalcoholic steatohepatitis, neurodegenerative diseases, diabetes and others. In recent years, new functions of Nrf1 have been gradually revealed in various animal models and clinical findings, especially involving in the process of brown fat tissue thermogenic adaptation (cold adaptation), cholesterol metabolism, glucose metabolism, endoplasmic reticulum stress, and congenital disorder of deglycosylation. Therefore, to gain a better understanding of Nrf1, a briefly review focused on its biological functions was demonstrated in this work.

Key words Nrf1, proteostasis, endoplasmic reticulum stress, lipid metabolism, antioxidant

DOI: 10.16476/j.pibb.2020.0057

* This work was supported by grants from Sichuan Science and Technology Program (2019YJ0482) and Luzhou City-Southwest Medical University Foundation (2019LZXNYDZ03).

** Corresponding author.

Tel: 15228206945, E-mail: yuancax@126.com

Received: March 10, 2020 Accepted: June 3, 2020