

# 自噬与Nrf2信号通路之间联系的研究进展

刘丹<sup>1</sup> 李昕<sup>2\*</sup>

(<sup>1</sup>中国医科大学七年制第二临床学院, 沈阳 110013; <sup>2</sup>中国医科大学公共卫生学院, 沈阳 110013)

**摘要** 自噬是人体内常见且重要的生理现象之一, 对于维持细胞的稳定及代谢需要具有关键意义。核因子E2相关因子(nuclear factor erythroid-derived factor 2-related factor, Nrf2)是调控细胞对抗外来异物和氧化损伤的关键转录因子, Nrf2信号通路在抗肿瘤、抗应激等方面发挥着广泛的细胞保护功能。随着研究进展, 发现自噬与Nrf2信号通路间存在着广泛的相互作用机制。抑制自噬会导致p62积累, 进而结合Keap1(Kelch-like ECH-associated protein 1)而激活Nrf2信号通路; 同时也有研究发现, 磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶B(phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B, PI3K/Akt)等自噬和Nrf2的共同调节通路、活性氧(reactive oxidative species, ROS)等因素也参与自噬与Nrf2之间的相互调控。该文将以近期关于Nrf2信号通路与自噬之间关系研究进展作一综述, 希望为临床疾病治疗提供新的视角。

**关键词** 自噬; Nrf2; p62

## Advances in the Relationship between Autophagy and Nrf2 Pathway

Liu Dan<sup>1</sup>, Li Xin<sup>2\*</sup>

(<sup>1</sup>Seven-Year-Program Second Clinical College, China Medical University, Shenyang 110013, China;

<sup>2</sup>School of Public Health, China Medical University, Shenyang 110013, China)

**Abstract** Autophagy is a common phenomenon in human body, which plays a vital role in maintaining cellular homeostasis and metabolism. Nuclear factor erythroid-derived factor 2-related factor (Nrf2) functions as a crucial transcriptional factor in terms of regulating the cellular response against foreign bodies and oxidative damages. With further researches, a wide range of the crosstalk between Nrf2 pathway and autophagy was disclosed. Previous researches have found that inhibiting autophagy leads to accumulation of p62, thus combined with Kelch-like ECH-associated protein 1 (Keap1) and activating Nrf2 pathway. In addition, phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B (PI3K/Akt) pathway, reactive oxidative species (ROS) and other factors also participate in regulation between autophagy and Nrf2. In this review, we will discuss the progress that has been made in dissecting the intersection of these two pathways, providing new perspectives for the clinical therapy.

**Keywords** autophagy; Nrf2; p62

自噬是广泛存在于真核细胞中的生命现象, 主要借助于细胞本身的膜结构对一些老化的蛋白质和细胞器进行包裹, 包裹物被直接送至溶酶体并与其

融合, 然后被溶酶体酶降解再利用。自噬在生物体的应激反应、肿瘤抑制、稳态维持等方面起着至关重要的作用<sup>[1]</sup>。核因子E2相关因子(nuclear factor

收稿日期: 2016-06-14 接收日期: 2016-09-27

辽宁省教育厅基金(批准号: L2010705)资助的课题

\*通讯作者: Tel: 18900911624, E-mail: xli75@cmu.edu.cn

Received: June 14, 2016 Accepted: September 27, 2016

This work was supported by the Foundation of Liaoning Educational Committee (Grant No.L2010705)

\*Corresponding author: Tel: +86-18900911624, E-mail: xli75@cmu.edu.cn

网络出版时间: 2016-12-19 16:15:46

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20161219.1615.014.html>

erythroid-derived factor 2-related factor, Nrf2)是调节体内氧化应激进行自我保护的重要转录因子,它与抗氧化反应元件(antioxidant responsive element, ARE)结合后可启动下游多个抗氧化、抗炎蛋白质及解毒酶等的表达,其介导的这一信号通路参与了炎症、肿瘤等多种病理过程的发生发展<sup>[2]</sup>。国内外多项研究发现, Nrf2信号通路与自噬存在着复杂的关系。探讨自噬与Nrf2信号通路的联系,对于临床治疗具有重要作用。

## 1 自噬概述

自噬是广泛存在于真核细胞中的生命现象,以胞质内出现双层膜结构包裹长寿命蛋白质和细胞器的自噬体为特征,将细胞内受损、变性或衰老的蛋白质以及细胞器运输到溶酶体进行消化降解以实现细胞本身的代谢需要。此外,自噬还具有抗原呈递、消除内生致病原及维持机体稳态等功能。细胞自噬主要可分为3种形式:巨自噬、微自噬、分子伴侣介导的自噬<sup>[1]</sup>。后来又发现脂质自噬和异体自噬<sup>[3]</sup>,通常所指自噬为巨自噬。自噬是受多种途径严格调节的,自噬相关基因(autophagy-related gene, *Atg*)、mTOR(mammalian target of rapamycin)信号通路、*Beclin1*与*Bcl-2*家族基因相互作用等分子机制共同调节细胞自噬的进行<sup>[4]</sup>。自噬是细胞生长、分化、执行功能及凋亡的重要调控机制,与细胞的很多生理病理过程,包括肿瘤、退行性疾病等多种疾病有关<sup>[5]</sup>。自噬对于各种疾病的作用机制值得进一步探究。

## 2 Nrf2信号通路

Nrf2属于CNC碱性亮氨酸拉链转录激活因子家族,是调节体内氧化应激进行自我保护的重要转录因子。Nrf2几乎在所有的组织中都表达,影响Nrf2发挥作用的主要为Keap1蛋白质。静息状态下, Nrf2因结合Keap1而被抑制活性;当氧化应激时, Keap1与Nrf2分离, Nrf2信号通路被激活, Nrf2转移到细胞核,与肌腱纤维瘤蛋白(muscular aponeurotic fibrosarcoma, Maf)结合形成异二聚体,诱导一系列内源性细胞保护基因上调,其中包括抗氧化酶、抗氧化蛋白质、抗炎和解毒的蛋白质,发挥细胞自我保护作用<sup>[2,6]</sup>。除了普遍接受的Keap1介导的调节外,也有研究发现, Nrf2还可以自发地响应外界信号,非

Keap1依赖地入核执行转录功能<sup>[7]</sup>。

## 3 自噬与Nrf2之间的关系

### 3.1 p62

3.1.1 p62结构及其作用机制 SQSTM1(Sequestosome 1),又称p62,是一种由应激诱导产生的细胞内蛋白质并作用于选择性自噬的多功能蛋白质。p62有440个氨基酸,包含锌指结构域(zinc finger domain, ZNF)、PBI域(phox and Bem1p domain)、核定位信号、核输出信号、LIR域[microtubule-associated protein 1 light chain 3 (LC3) interacting region]、KIR域(Keap1 interacting region)、UBA域(ubiquitin associated domain)等功能域,这些结构域是p62参与细胞调节、信号转导等多种功能的基础<sup>[8-9]</sup>。研究发现, p62在选择性自噬中对内容物转运到自噬体过程中具有重要的影响作用。Ichimura等<sup>[10]</sup>发现, p62中包含了一个由11个氨基酸组成的特殊区域,命名为LC3识别序列(LC3 recognition sequence, LRS)。在自噬小体形成的过程中, p62作为链接自噬相关蛋白质、微管相关蛋白1轻链3、聚泛素化蛋白质之间的桥梁,通过泛素信号途径将聚合的蛋白质、受损的线粒体及入侵的细菌作为受体转运到自噬小体中并将其降解<sup>[11-12]</sup>。

由上可见, p62与自噬关系密切。此外还发现, p62可以通过Keap1调节Nrf2。2007年, Liu等<sup>[13]</sup>率先提出p62可以激活Nrf2信号通路。2010年,多项研究证实了p62与Keap1间的作用关系,也揭开了自噬与Nrf2信号通路关联研究的新篇章<sup>[14-15]</sup>。p62可以通过KIR域、LIR域分别与Keap1、LC3相结合<sup>[14-16]</sup>。大量p62结合Keap1形成聚合物或自噬体,可有效降低Keap1与Nrf2的结合能力,形成的聚合体更易通过自噬途径被清除,从而进一步降低Keap1水平及其结合Nrf2的能力。有实验发现, p62的大量表达显著降低Keap1的半衰期<sup>[17]</sup>。例如, Park等<sup>[18-19]</sup>发现, p62通过调节Keap1降解而激活Nrf2信号通路发挥细胞保护作用,预防软脂酸诱导的脂中毒及防止羰基氰化物氯苯腙(carbonyl cyanide m-chlorophenyl hydrazone)诱导的细胞凋亡。

3.1.2 p62依赖性调控 自噬通过p62依赖性调控Nrf2信号通路,影响多种疾病的发生发展,尤其是肝脏相关疾病。在*Atg7*(autophagy related 7)敲除的小鼠中, p62积累与Nrf2激活为正相关。多项研究发现,

p62介导的Keap1失活而激活Nrf2,能引起肝损伤、肝纤维化、肝癌<sup>[20]</sup>。例如,以缺失*Atg7*基因的小鼠模型为研究对象,在这些自噬功能受损的小鼠中可以发现大量的p62和Keap1的聚合物<sup>[14]</sup>。另有实验使用同一模型,证实了p62和Keap1的异常聚合及持续激活Nrf2,在这些小鼠中也发现,肝细胞肿胀、炎细胞浸润等肝损伤现象<sup>[21]</sup>。Yoshihiro等<sup>[22]</sup>认为,自噬受损引起p62过度累积,引起Nrf2持续活化,从而促进肝癌发展。在肝细胞*Atg7*基因敲除的小鼠中可以观察到,p62及Keap1相关蛋白质的聚合物和Nrf2信号通路持续激活的现象。人体的肝癌细胞中也存在相似的现象,当用锌指核酸酶系统去除p62从而抑制Nrf2激活时,肿瘤细胞的锚定非依赖生长受到抑制<sup>[22]</sup>。近来,多项以自噬功能缺失的小鼠模型证实了Nrf2信号通路的持续激活导致肿瘤及组织损伤,揭示自噬功能缺失引起p62大量积累,导致Nrf2持续激活,从而影响肝脏等疾病的发生发展。

除了与肝脏相关疾病关系密切,在其他的病理生理过程中也有p62的参与,如非诺贝特是一种高效降血脂药物,研究发现,非诺贝特通过p62依赖的自噬降解Keap1,从而激活Nrf2清除活性氧<sup>[23]</sup>。此外,砷致肿瘤可能与p62依赖性激活Nrf2相关。砷是一种金属环境毒物,广泛地分布于自然界中,通过环境污染和职业接触会引发各种人类健康效应,包括肿瘤等疾病。研究表明,低剂量的砷暴露可导致自噬受阻<sup>[17]</sup>。砷可以激活Nrf2信号通路,不是通过修饰Keap1的半胱氨酸,而是减少Nrf2的泛素化<sup>[24]</sup>。随着研究深入,证实砷能增加自噬体的积累及自噬标志物p62、Keap1、LC3等的共区域化,进而缓慢激活Nrf2信号通路<sup>[25]</sup>。上述已经阐述过p62是选择性自噬蛋白质,可以分离甚至降解Keap1而激活Nrf2信号通路,而砷对Nrf2信号通路激活的机制就是以p62依赖性方式诱导的,而这种Nrf2的激活可能与砷致肿瘤发生机制密切相关<sup>[25]</sup>。除了砷,近来发现,一些中枢神经系统兴奋剂,如甲基苯丙胺(methamphetamine, MAP)也遵循着上述的机制,在小鼠心房心肌细胞系,MAP可以通过抑制自噬流、致p62积累而激活Nrf2信号通路<sup>[26]</sup>。这些研究揭示了p62介导的自噬与Nrf2之间的重要联系,为深入认识两者之间的关系奠定基础。

由上文可知,积累的p62可激活Nrf2信号通路。那么,激活的Nrf2信号通路是否影响p62呢?曾有

研究表明氧化应激时,Nrf2有助于诱导p62的表达,Nrf2的过度表达增加p62的mRNA水平<sup>[27]</sup>。随后实验证实,氧化应激时,Nrf2结合到下游抗氧化元件p62启动子区促进p62的生成<sup>[16]</sup>。而p62大量积累,能激活Nrf2信号通路,形成正性反馈环路,自噬降解p62可能是终止这一环路的原因,而自噬缺失,导致P62大量积累则会促进这一环路<sup>[28]</sup>(图1)。

p62可以说是沟通自噬与Nrf2信号通路之间的桥梁,目前关于自噬对Nrf2信号通路的影响的研究较多,而Nrf2对自噬的影响的报道较少,关于p62介导的两者关系仍待进一步探究。

### 3.2 PI3K/Akt等共同调节通路

研究证明,促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)、蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)和磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶B(phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B, PI3K/Akt)这3条蛋白激酶途径参与了Nrf2-ARE通路激活和其依赖基因表达的调控。自噬的分子诱导机制具有高度的保守性,PI3K/Akt/mTOR信号转导通路、RAS/RAF-1/MEK/ERK1/2通路及III型PI3K复合物等参与调节自噬活性<sup>[29]</sup>。因此,自噬与Nrf2之间存在着共同的调节途径。例如,PI3K/Akt信号通路对自噬及Nrf2信号通路均产生影响。PI3K/Akt信号通路可以调控下游mTOR信号分子。mTOR是一种丝/苏氨酸蛋白激酶,能够抑制自噬,在调节细胞生长繁殖及自噬等方面发挥重要作用。Salminen等<sup>[30]</sup>发现,活化的蛋白激酶B可通过解除下游结节硬化复合物1/2(tuberous sclerosis complex 1/2, TSC1/2)对mTOR的抑制作用,以此增加mTOR的活性,进而抑制自噬,使微管相关蛋白3、Atg7等表达降低。但与此同

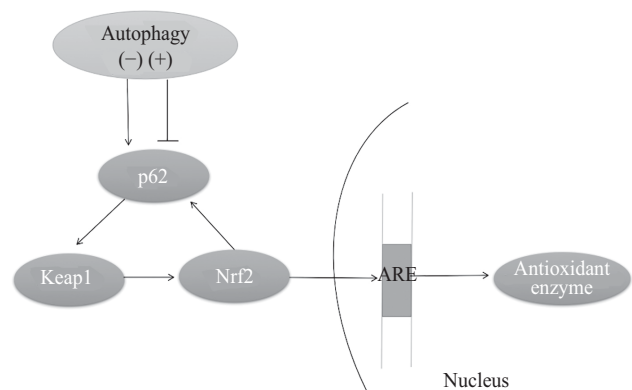


图1 p62介导的自噬与Nrf2之间的调控  
Fig.1 p62-mediated regulation between autophagy and Nrf2



时, PI3K信号通路可通过Akt使Nrf2磷酸化, 使其与Keap1解离进入细胞核中, 进而调节Nrf2/ARE下游抗氧化酶的表达, 发挥抗氧化作用。此外, 自噬的抑制剂3-甲基腺嘌呤主要是通过抑制PI3K信号通路干扰或阻断自噬体形成, 与此同时也阻断了Nrf2-ARE信号通路的激活<sup>[29]</sup>。可见, 激活PI3K/Akt信号通路可以抑制自噬同时可以激活Nrf2信号通路, 而抑制自噬不仅通过激活PI3K/Akt信号通路, 也可以通过其他途径。

磷酸腺苷蛋白激酶也可通过TSC1/TSC2抑制mTOR活性, 提高自体自噬水平, 同时激活Nrf2/ARE通路抗炎性及抗氧化反应<sup>[20]</sup>。mTOR信号通路除了能影响自噬, 也可以通过抑制自噬致p62积累而间接激活Nrf2。异常激活的Nrf2同样可以引起mTOR信号通路上调<sup>[31]</sup>。突变的Nrf2使RagD表达上调, RagD是mTOR信号通路的小G蛋白激活剂, 从而激活mTOR信号通路<sup>[32]</sup>。可见, 自噬与Nrf2之间存在着错综复杂的调节通路, 深入研究PI3K/Akt、AMPK(adenosine monophosphate activated protein kinase)等共同信号通路有助于认识两者之间的调控关系。

### 3.3 活性氧(reactive oxidative species, ROS)等其他因素

ROS是生物体有氧代谢产生的一类活性含氧化合物的总称, 包括超氧阴离子、自由基和过氧化物等。研究发现, 在饥饿时, ROS通过III型PI3K-mTOR信号通路激活自噬, 从而有利于细胞的存活, 与此同时, ROS引起的氧化应激又通过PI3K信号通路激活Nrf2, 促进清除氧化应激的产物<sup>[29]</sup>。ROS对自噬及Nrf2信号通路的影响关乎多种疾病的发展。如自噬可以通过ROS的介导调节肿瘤细胞的生存<sup>[33]</sup>。放射性治疗是一种广泛使用的抗肿瘤治疗措施, 然而低

剂量的电离辐射导致机体对高剂量的辐射产生耐受也成为普遍现象。研究发现, 在人肺腺瘤细胞A549中, 低剂量的 $\alpha$ 粒子辐射诱导产生的ROS促进自噬及激活Nrf2信号通路, Nrf2信号通路促进产生辐射耐受, 而清除ROS或抑制自噬均抑制Nrf2信号通路, 推测ROS诱导自噬而上调Nrf2信号通路是产生辐射耐受的影响因素<sup>[34]</sup>。与之相似, 另有研究发现, 自噬激活是活化Nrf2的前提条件, 饱和脂肪酸暴露时, 肝细胞发生氧化应激并且导致肝细胞脂毒性, 叔丁基对苯二酚(tBHQ抗氧化蛋白质诱导剂)通过诱导自噬及Nrf2发挥肝细胞保护作用, 而抑制自噬时, 明显减弱Nrf2的激活效应, 提示Nrf2的激活是自噬依赖性的, 而且自噬可能是通过减少Keap1而激活Nrf2<sup>[35]</sup>。在上述基础上, 进一步发现在氧化应激时, 自噬与Nrf2可能存在反馈通路。Gonzalez等<sup>[36]</sup>发现, 在乳腺癌细胞中, 线粒体靶向辅酶Q(mitoquinone, MitoQ)(抗氧化剂辅酶)可以诱导细胞产生大量ROS, 并诱发自噬, 进而降解Keap1而激活Nrf2信号通路, 活化的Nrf2信号通路通过清除ROS而反馈抑制自噬, 因而形成一个抗氧化应激的反馈通路(图2)。

关于ROS介导的两者关系仍存有争议, 在不同的实验模型里有多种不同的研究结果。有研究发现, 在ROS暴露时, 胰腺癌细胞中Nrf2信号通路与自噬互为负调控, 猜测其机制可能为自噬抑制不仅通过增加p62的积累而激活Nrf2信号通路, 也可通过ROS过量而激活Nrf2信号通路<sup>[37]</sup>。近期发现, 在果蝇体内, 氧化应激转录因子Nrf2/CncC(cap'n'collar isoform C)可以正性调节自噬, 该研究提示, 其他生物体内Nrf2/CncC也可能调节自噬, 而其中作用机制可能与ROS有关<sup>[38]</sup>。当肿瘤细胞氧化应激时, Nrf2信号通路及自噬具有协同消除ROS作用, 所以Nrf2信号通路与

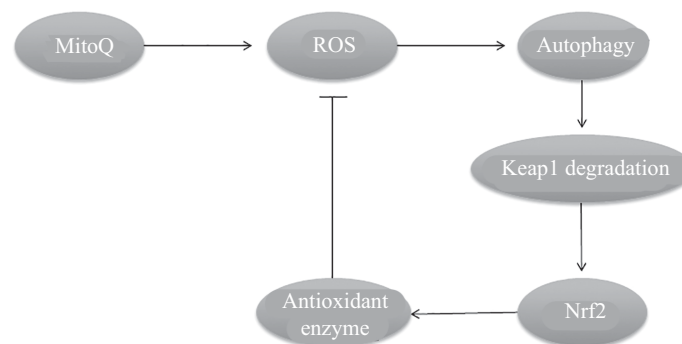


图2 ROS介导的自噬与Nrf2之间的调控(根据参考文献[36]修改)

Fig.2 ROS-mediated regulation between autophagy and Nrf2 (modified from reference [36])

自噬之间应不仅仅是上调或下调的关系<sup>[37]</sup>。而且已有报道发现,ROS可以直接作用于Nrf2/Keap1而激活Nrf2信号通路<sup>[39]</sup>,所以ROS在自噬调节Nrf2信号通路之间的作用机制仍需要更多的实验加以探究。

与上述Gonzalez等<sup>[36]</sup>的发现不同,早前,Rao等<sup>[40]</sup>报道过在乳腺癌细胞中Nrf2负向调节了线粒体靶向辅酶Q诱导的自噬。同样在神经胶质瘤中,Nrf2能下调替莫唑胺(temozolomide)所诱导的自噬<sup>[41]</sup>。在上述两项研究中,认为Nrf2下游靶基因还原型辅酶1(quinoneoxidoreductase 1, NQO1)可能是造成自噬水平改变的原因<sup>[40-41]</sup>。也有研究用RNA干扰研究Nrf2对自噬功能的影响,与对照组相比,Si-Nrf2组Nrf2的蛋白质水平明显下降,自噬泡结构增多,微管相关蛋白1轻链蛋白3BII型的蛋白质水平明显升高,酸性囊泡数量明显增多。该研究表明, RNA干扰下调Nrf2可以显著增强U251细胞的自噬水平,其机制可能与Nrf2靶基因相关<sup>[42]</sup>。所以除了ROS, Nrf2的靶基因也可能参与自噬与Nrf2之间的调控。

综上,可知自噬与Nrf2之间存在着复杂的调控机制,许多分子机制尚不清楚,值得进一步探究两者之间的关系。

## 4 展望

自噬与Nrf2信号通路之间存在着广泛的联系,深入研究其中的关联对于病理机制及临床治疗具有重要作用。p62、PI3K/Akt等共同信号通路、ROS等因素可能是参与自噬与Nrf2信号通路互相调控的重要条件。多种生化药物以此为靶点发挥机体保护功能,如脱氢表雄酮(dehydroepiandrosterone, DHEA)、褪黑激素可以分别有助于肝肿瘤、结肠癌的治疗<sup>[43-44]</sup>。顺铂耐药是影响卵巢癌的主要因素,研究发现,Nrf2信号通路可能通过激活自噬而调节顺铂耐药,为卵巢癌的治疗提供新的视角<sup>[45]</sup>。

国内外多项研究表明,Nrf2信号通路与自噬之间存在着复杂的交叉关系,以Nrf2信号通路和自噬为靶点可以为众多疾病的预防及治疗提供新思路,但不同器官、不同疾病中,Nrf2信号通路与自噬之间的联系究竟如何仍有待通过更多的实验加以探究,从而为临床应用提供理论指导。

## 参考文献 (References)

1 Eskelinen EL, Saftig P. Autophagy: Alysosomal degradation

- pathway with a central role in health and disease. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1793(4): 664-73.
- 2 Li W, Kong AN. Molecular mechanisms of Nrf2-mediated antioxidant response. *Mol Carcinog* 2009; 48(2): 91-104.
- 3 Mathieu J. Interactions between autophagy and bacterial toxins: Targets for therapy? *Toxins* 2015; 7(8): 2918-58.
- 4 邱冬梅, 陈莉. 细胞自噬: 病理学研究的新热点. *临床与实验病理学杂志(Qiu Dongmei, Chen Li. Autophagy: A new hotspot in the research of the Pathology. J Clin Exp Pathol)* 2012; 28(3): 309-13.
- 5 Rubinsztein DC, Codogno P, Levine B. Autophagy modulation as a potential therapeutic target for diverse diseases. *Nat Rev Drug Discov* 2012; 11(9): 709-30.
- 6 Bruns DR, Drake JC, Biela LM, Peelor FF 3rd, Miller BF, Hamilton KL. Nrf2 signaling and the slowed aging phenotype: Evidence from long-lived models. *Oxid Med Cell Longev* 2015; 2015: 732596.
- 7 Jiang ZY, Chu HX, Xi MY, Yang TT, Jia JM, Huang JJ, *et al.* Insight into the intermolecular recognition mechanism between Keap1 and IKK $\beta$  combining homology modeling protein-protein docking, molecular dynamics simulations and virtual alanine mutation. *PLoS One* 2013; 8(9): e75076.
- 8 刘丹, 关秀茹. 多功能蛋白p62调节细胞自噬及相关疾病的研究进展. *国际免疫学杂志(Liu Dan, Guan Xiuru. Studies on the regulation of selective autophagy and related disease by sequestosome 1/p62. Int J Immunol)* 2014; 37(6): 498-501.
- 9 Katsuragi Y, Ichimura Y, Komatsu M. p62/SQSTM1 functions as a signaling hub and autophagy adaptor. *FEBS J* 2015; 282(24): 4672-8.
- 10 Ichimura Y, Kumanomidou T, Sou YS, Mizushima T, Ezaki J, Ueno T, *et al.* Structural basis for sorting mechanism of p62 in selective autophagy. *J Biol Chem* 2008; 283(33): 22847-57.
- 11 Deretic V, Levine B. Autophagy, immunity, and microbial adaptations. *Cell Host Microbe* 2009; 5(6): 527-49.
- 12 Johansen T, Lamark T. Selective autophagy mediated by autophagic adapter proteins. *Autophagy* 2014; 7(3): 279-96.
- 13 Liu Y, Kern JT, Walker JR, Johnson JA, Schultz PG, Luesch H. A genomic screen for activators of the antioxidant response element. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104(12): 5205-10.
- 14 Komatsu M, Kurokawa H, Waguri S, Taguchi K, Kobayashi A, Ichimura Y, *et al.* The selective autophagy substrate p62 activates the stress responsive transcription factor Nrf2 through inactivation of Keap1. *Nat Cell Biol* 2010; 12(3): 213-23.
- 15 Lau A, Wang XJ, Zhao F, Villeneuve NF, Wu T, Jiang T, *et al.* A noncanonical mechanism of Nrf2 activation by autophagy deficiency: Direct interaction between Keap1 and p62. *Mol Cell Biol* 2010; 30(13): 3275-85.
- 16 Moscat J, Diaz-Meco MT. p62 at the crossroads of autophagy, apoptosis, and cancer. *Cell* 2009; 137(6): 1001-4.
- 17 Jiang T, Harder B, Rojo de la Vega M, Wong PK, Chapman E, Zhang DD. p62 links autophagy and Nrf2 signaling. *Free Radic Biol Med* 2015; 88: 199-204.
- 18 Park JS, Kang DH, Lee da H, Bae SH. Concerted action of p62 and Nrf2 protects cells from palmitic acid-induced lipotoxicity. *Biochem Biophys Res Commun* 2015; 466(1): 131-7.
- 19 Park JS, Kang DH, Bae SH. p62 prevents carbonyl cyanide m-chlorophenyl hydrazine (CCCP)-induced apoptotic cell death

- by activating Nrf2. *Biochem Biophys Res Commun* 2015; 464(4): 1139-44.
- 20 李德林, 高建. 自噬对Nrf2/ARE通路的调控及在肝脏疾病中的作用. *中国新药杂志*(Li Deling, Gao Jian. Regulation of Nrf2/ARE pathway by autophagy and its role in liver disease. *Chinese Journal of New Drugs*) 2016; 25(10): 1135-8.
- 21 Taguchi K, Fujikawa N, Komatsu M, Ishii T, Unno M, Akaike T, *et al.* Keap1 degradation by autophagy for the maintenance of redox homeostasis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; 109(34): 13561-6.
- 22 Inami Y, Waguri S, Sakamoto A, Kouno T, Nakada K, Hino O, *et al.* Persistent activation of Nrf2 through p62 in hepatocellular carcinoma cells. *J Cell Biol* 2011; 193(2): 275-84.
- 23 Park JS, Kang DH, Lee da H, Bae SH. Fenofibrate activates Nrf2 through p62-dependent Keap1 degradation. *Biochem Biophys Res Commun* 2015; 465(3): 542-7.
- 24 Wang XJ, Sun Z, Chen W, Li Y, Villeneuve NF, Zhang DD. Activation of Nrf2 by arsenite and monomethylarsonous acid is independent of Keap1-C151: Enhanced Keap1-Cul3 interaction. *Toxicol Appl Pharmacol* 2008; 230(3): 383-9.
- 25 Lau A, Zheng Y, Tao S, Wang H, Whitman SA, White E, *et al.* Arsenic inhibits autophagic flux, activating the Nrf2-Keap1 pathway in a p62-dependent manner. *Mol Cell Biol* 2013; 33(12): 2436-46.
- 26 Funakoshi-Hirose I, Aki T, Unuma K, Funakoshi T, Noritake K, Uemura K. Distinct effects of methamphetamine on autophagy-lysosome and ubiquitin-proteasome systems in HL-1 cultured mouse atrial cardiomyocytes. *Toxicol* 2013; 312: 74-82.
- 27 Kimura M, Yamamoto T, Zhang J, Itoh K, Kyo M, Kamiya T, *et al.* Molecular basis distinguishing the DNA binding profile of Nrf2-Maf heterodimer from that of Maf homodimer. *J Biol Chem* 2007; 282(46): 33681-90.
- 28 Jain A, Lamark T, Sjøttem E, Larsen KB, Awuh JA, Overvatn A, *et al.* p62/SQSTM1 is a target gene for transcription factor NRF2 and creates a positive feedback loop by inducing antioxidant response element-driven gene transcription. *J Biol Chem* 2010; 285(29): 22576-91.
- 29 石青青, 王世明, 董秀山. Nrf2-ARE通路在自噬过程中的变化及其对肝癌细胞周期的影响. *国际外科学杂志*(Shi Qingqing, Wang Shiming, Dong Xiushan. Change of the Nrf2-ARE pathway in the process Of autophagy and its effect on hepatic carcinoma cell cycle. *International Journal of Surgery*) 2012; 39(12): 849-52.
- 30 Salminen A, Kaarniranta K. AMP-activated protein kinase (AMPK) controls the aging process via an integrated signaling network. *Ageing Res Rev* 2012; 11(2): 230-41.
- 31 Claudia G, Alexander A, Susanne S, Heiner S. Cytoprotection "gone astray": Nrf2 and its role in cancer. *Onco Targets Ther* 2014; 7: 1497-518.
- 32 Shibata T, Saito S, Kokubu A, Suzuki T, Yamamoto M, Hirohashi S. Global downstream pathway analysis reveals a dependence of oncogenic NF-E2-related factor 2 mutation on the mTOR growth signaling pathway. *Cancer Res* 2010; 70(22): 9095-105.
- 33 Scherz-Shouval R, Elazar Z. Regulation of autophagy by ROS: Physiology and pathology. *Trends Biochem Sci* 2011; 36(1): 30-8.
- 34 Chen N, Wu L, Yuan H, Wang J. ROS/autophagy/Nrf2 pathway mediated low-dose radiation induced radio-resistance in human lung adenocarcinoma A549 cell. *Int J Biol Sci* 2015; 11(7): 833-44.
- 35 Li S, Li J, Shen C, Zhang X, Sun S, Cho M, *et al.* tert-Butylhydroquinone (tBHQ) protects hepatocytes against lipotoxicity via inducing autophagy independently of Nrf2 activation. *Biochim Biophys Acta* 2014; 1841(1): 22-33.
- 36 Gonzalez Y, Aryal B, Chehab L, Rao VA. Atg7- and Keap1-dependent autophagy protects breast cancer cell lines against mitoquinone-induced oxidative stress. *Oncotarget* 2014; 5(6): 1526-37.
- 37 Zhang L, Li J, Ma J, Chen X, Chen K, Jiang Z, *et al.* The relevance of Nrf2 pathway and autophagy in pancreatic cancer cells upon stimulation of reactive oxygen species. *Oxid Med Cell Longev* 2016; 2016: 3897250.
- 38 Jain A, Rusten TE, Katheder N, Elvenes J, Bruun JA, Sjøttem E, *et al.* p62/Sequestosome-1, autophagy-related gene 8, and autophagy in *Drosophila* are regulated by nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (NRF2), independent of transcription factor TFEB. *J Biol Chem* 2015; 290(24): 14945-62.
- 39 陈晨, 殷园园, 武夏芳, 武瑞瑞, 徐苑苑. 活性氧通过MAPKs和PI3K/AKT通路激活Nrf2研究进展. *中国公共卫生*(Chen Chen, Yin Yuanyuan, Wu Xiafang, Wu Ruirui, Xu Yuanyuan. Advance in researches on role of MAPK and PI3K/AKT pathways in ROS-induced activation of nuclear factor erythroid 2-related factor 2. *Chin J Public Health*) 2016; 32(6): 870-3.
- 40 Rao VA, Klein SR, Bonar SJ, Zielonka J, Mizuno N, Dickey JS, *et al.* The antioxidant transcription factor Nrf2 negatively regulates autophagy and growth arrest induced by the anticancer redox agent mitoquinone. *J Biol Chem* 2010; 285(45): 34447-59.
- 41 Zhou Y, Wang HD, Zhu L, Cong ZX, Li N, Ji XJ, *et al.* Knock-down of Nrf2 enhances autophagy induced by temozolomide in U251 human glioma cell line. *Oncol Rep* 2013; 29(1): 394-400.
- 42 周渊, 王汉东, 纪祥军, 丛子翔, 潘灏, 励宁. RNA干扰下调Nrf2对U251细胞自噬的影响. *中华神经外科疾病研究杂志*(Zhou Yuan, Wang Handong, Ji Xiangjun, Cong Zixiang, Pan Hao, Li Ning. Effect of down-regulation of Nrf2 by RNAi on autophagy in human glioma cell line U251. *Chin J Neurosurg Dis Res*) 2013; 12(6): 509-12.
- 43 Vegliante R, Desideri E, Di Leo L, Ciriolo MR. Dehydroepiandrosterone triggers autophagic cell death in human hepatoma cell line HepG2 via JNK-mediated p62/SQSTM1 expression. *Carcinogenesis* 2016; 37(3): 233-44.
- 44 Trivedi PP, Jena GB, Tikoo KB, Kumar V. Melatonin modulated autophagy and Nrf2 signaling pathways in mice with colitis-associated colon carcinogenesis. *Mol Carcinog* 2016; 55(3): 255-67.
- 45 Bao LJ, Jaramillo MC, Zhang ZB, Zheng YX, Yao M, Zhang DD, *et al.* Nrf2 induces cisplatin resistance through activation of autophagy in ovarian carcinoma. *Int J Clin Exp Pathol* 2014; 7(4): 1502-13.