

文章编号:1001-6880(2016)6-0965-13

植物化学物质通过 Nrf2 及其相关蛋白防护/修复 氧化应激损伤研究进展

袁可力¹,于晓瑾^{1,2},王振宇^{1,3*}¹哈尔滨工业大学化工与化学学院,哈尔滨 150001; ²黑龙江中医药大学药学院; ³东北林业大学林学院,哈尔滨 150040

摘要:Nrf2 是一种表达于代谢和解毒器官诸如肝脏、肾脏、小肠的或者持续暴露于环境中的器官诸如皮肤、肺脏和消化道的碱性的亮氨酸拉链转录因子,它的抑制因子是 keap1,其介导的信号通路为生命体提供了一种至关重要的防御体系,用于对抗环境损伤和内源性应激。其激活过程是 Nrf2 从细胞质转入细胞核,再结合到抗氧化应答元件上调抗氧化酶、Ⅱ相解毒酶的基因表达。植物化学物质在与人类疾病斗争中发挥了重要作用,植物化学物质激活 Nrf2 是通过不同途径(例如 MAPK、PI3-K/Akt、mTOR、AMPK α 通路),激活的,上调其下游的基因表达,来对抗不同因素,例如物理因素(可见光、紫外线、伽马射线、噪声、热应激等)、化学因素(环境毒素、药物毒副作用、食源性因素等)、生物因素(生活习惯、微生物感染等)导致的氧化应激,我们结合植物化学物质在体外实验、动物实验的研究成果,为调控 Nrf2 的表达在各个系统疾病中的重要意义进行了综述。

关键词:植物化学物质;Nrf2;氧化应激;信号通路

中图分类号:R730.1

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2016.6.026

Review on Phytochemicals Protecting/Repairing Against Oxidative Damage via Nrf2 and Its Related Proteins

YUN Ke-li¹, YU Xiao-jin^{1,2}, WANG Zhen-yu^{1,3*}¹School of Chemistry and Chemical engineering, Harbin Institute of Technology, Harbin 150001, China;²College of Pharmacy, Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine;³College of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

Abstract:NF-E2-related factor 2 (Nrf2) was a basic leucine zipper transcription factor. It was inhibited by keap1 and was expressed in metabolic and detoxification organs, such as liver, kidney and intestine, and in organs continuously exposed to environment, such as skin, lung and the digest tract, mediated signalling pathway provides living organisms an crucial defensive to counteract environmental damage and endogenous stressors. In terms of its activation process, Nrf2 translocates from cytoplasm to nucleus to bind ARE (antioxidant response element) to promote the expression of antioxidant enzymes gene and Ⅱ detoxifying enzymes. Phytochemicals played a significant role in the fight against human disease. After Nrf2 was activated by phytochemicals through different pathways (such as MAPK, PI3-K/Akt, mTOR, AMPK α), its downstream Genes were upregulated to protect against oxidative stress caused by different factors: such as physical factors (visible light, ultraviolet light, gamma rays, noise, heat stress, etc.), chemical factors (environmental toxins, drug side effects, etc.), biological factors (lifestyle, microbial infections, etc.). In this study, we reviewed bioactive research reports of phytochemicals (*in vitro* and *in vivo*), and give clue to significance of regulation of expression of Nrf2 in different systems diseases caused by oxidative stress in different contexts.

Key words:natural products; Nrf2; oxidative stress; signaling pathway

1 Nrf2 功能简介

Nrf2 是一种碱性亮氨酸拉链 (a basic leucine

zipper, bZIP) 转录因子,而编码它的基因是 NFE2L2 [nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2],它是一种调节转录反应,应对氧化应激的信号蛋白^[1]。其介导的信号路径中表达的蛋白质分子,为有机体提供了重要的防御作用,是对抗环境有害物质损伤和内源性应激的有力武器。Nrf2 协同基础水平表达的

以及可诱导的抗氧化酶和 II 相解毒酶使得细胞或者机体适应不同的应激刺激。Nrf2 在细胞质中受到其抑制性结合蛋白 Keap1 (Kelch-like ECH-associated protein 1) 控制, 只有在受到刺激被激活时, Nrf2 才可以从 Keap1 的结合中释放出来, 从细胞质转入细胞核结合到抗氧化应答元件 (Antioxidant Response element, ARE) 上, 从而上调下游的基因表达而发挥其生物学作用^[2]。

植物提取物均具有抗氧化作用, 而在过渡金属离子如 Fe^{2+} 、 Cu^{+} , 存在的情况下, 这些植物抗氧化剂也可以转换为促氧化剂^[3], 而植物化学物也可以螯合这些金属离子, 抑制其引发的 Fenton 反应, 这种抗氧化和促氧化的双重作用取决于两种反应发生的反应条件以及反应速度, 而在机体中则更为复杂, 有众多酶类的参与, 而有些植物化学物质即便是发挥了促氧化剂的作用, 如绿茶多酚也可以通过上调正常细胞的 Nrf2 的表达发挥癌症预防作用^[4]。

很多研究表明了 Nrf2 是一种有前景的, 用来对抗氧化应激损伤, 引起生命体结构与功能紊乱, 使得脏器乃至机体发生形态学病变, 甚至发生坏死改变的重要治疗靶点, 而天然产物中的大多数植物提取物成分复杂, Nrf2 成为植物提取物的共同作用靶点之一, 上调该靶点的表达对全身九大系统的病变有预防和治疗作用, 并且可以减轻或缓解药物副作用及物理化学因素造成的机体伤害、环境毒素伤害、食品生产加工产生的毒素对脊椎动物的伤害, 甚至对上述伤害有修复作用。

2 植物化学物质调控 Nrf2 表达作用途径与作用方式的研究

2.1 植物化学物质通过 MAPK 调控的 Nrf2 信号表达

促分裂素原活化蛋白激酶 (Mitogen-Activated Protein Kinase, MAPK) 信号通路激活或者抑制 Nrf2 信号通路主要的路径有三条, c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK)、细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinases, ERK_{1/2}) , 和 p38 丝裂原活化蛋白激酶, 一般情况下通过 JNK 和 ERK_{1/2} 都是上调 Nrf2 的表达, 而 p38 激酶一般是下调 Nrf2 的表达^[2]。下面分别说明:

2.1.1 植物化学物质通过 MAPK/JNK/Nrf2 发挥调节作用

JNK 信号通路在细胞周期调控、生存、凋亡和细

胞应激等过程中起重要作用。有些植物化学物质是通过 MAPK/JNK/Nrf2 发挥调节作用, 例如 2',5'-二羟基查耳酮通过激活 JNK 和 p38 路径实现了 Nrf2 的激活^[5], 进而抑制新生血管生成。

2.1.2 植物化学物质通过 MAPK/p38/Nrf2 发挥调节作用

p38 MAPK 通路的激活剂与 JNK 通路相似。一些能够激活 JNK 的促炎因子也可激活 p38。有些植物化学物质通过 MAPK/p38/Nrf2 发挥调节作用, 例如葡萄糖芥酸精通过 p38 路径上调了 Nrf2 和血红素加氧酶-1 (Hemeoxygenase -1, HO-1) 在小鼠肠粘膜和肝脏的表达^[6]。

2.1.3 植物化学物质通过 MAPK/Erk_{1/2}/Nrf2 发挥调节作用

Erk 参与了细胞增殖与分化、细胞形态维持、细胞骨架的构建、细胞凋亡和细胞的癌变等多种生物学过程。有些植物化学物质通过 MAPK/Erk_{1/2}/Nrf2 发挥调节作用, 例如 Lucidone 可以抑制 2,2-偶氮二(2-甲基丙基咪)二盐酸盐 [2,2'-Azobis (2-methyl propionamidine) dihydrochloride, AAPH] 诱导的自由基对人永生化表皮细胞 (HaCaT) 的损伤, 可以通过 ERK 和 p38 下调环氧酶-2 (cyclo-oxygenase-2, COX-2) 的表达, 通过 Nrf2 上调抗氧化酶的表达^[7]。

2.1.4 植物化学物质通过 MAPK/PKC 信号激活了 Nrf2

有些植物化学物质通过 MAPK/ PKC (protein kinase C) 信号激活了 Nrf2, 例如异鼠李素, 阻断了 t-BHP-诱导的肝细胞死亡, 其作用途径是通过增加了 ERK_{1/2}, PKC δ /AMPK 磷酸化上调了 Nrf2^[8]。

2.2 植物化学物质通过 PI3K/AKT 信号激活了 Nrf2

PI3K/AKT 磷脂酰肌醇 3-激酶/丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 Akt 也是植物化学物质上调 Nrf2 的作用靶点。例如 4-酮松脂醇, 在人口腔鳞癌细胞衍生细胞系 (HSC-3) 细胞受到过氧化氢伤害时, 通过 PI3K/AKT 信号激活了 Nrf2, 上调了下游 HO-1 的表达^[9]。

2.3 植物化学物质激活了 Nrf2 同时抑制 NF- κ B 路径

Nrf2 和 NF- κ B 蛋白都是转录因子, 但是前者上调的下游信号蛋白与细胞抗氧化防御密切相关, 而后者调控信号蛋白与炎症、癌症密切相关, 恰好两者有交联作用, 并且两个转录因子的上游也有共同的

激活蛋白,例如 ERK 和 PI-3k/Akt。因此,两者的交联作用使得 Nrf2 和 NF- κ B 的表达呈现了此消彼长的变化。有些植物化学物质激活了 Nrf2 同时抑制 NF- κ B 路径,例如灵芝中的羊毛甾烷三萜类化合物 GT-2 也是通过此途径上调 Nrf2 和 HO-1,同时抑制炎症通路的表达^[10]。节毛鼠尾草提取物可以减轻佛波酯(TPA)诱导的耳廓肿胀,抑制了 NO 和 PGE₂ 产生以及诱导型一氧化氮合酶 iNOS(inducible nitric oxide synthase)和 COX-II 蛋白表达,上调了 HO-1 的表达^[11]。五味子乙素(Schisandrin B)抑制淋巴细胞炎症反应也是同时调控这两种转录因子的表达^[12]。

2.4 植物化学物质抑制了 Keap1-介导的 Nrf2 泛素化,稳定 Nrf2 并促进其转核

有些植物化学物质抑制了 Keap1-介导的 Nrf2 泛素化,稳定 Nrf2 并促进其转核,例如石莼中的活性化合物 7(E)-9-keto-octadec-7-enoic acid 等化合物抑制 Keap1-介导的的 Nrf2 泛素化,使得 Nrf2 的积累和转核增加了 NAD(P)H 酰氧化还原酶[NAD(P)H quinone oxidoreductase-1, NQO1]的表达^[13]。同样,3-(3-吡啶亚甲基)-2-二氢吲哚酮(PMID)打乱了与滞蛋白 3-Keap1 [Cullin3 (Cul3)-Keap1]的交互作用,减少了 Nrf2 泛素化,促进了其转核^[14]。

2.5 植物化学物质通过共轭修饰 Keap1 激活 Nrf2

有些植物化学物质通过共轭修饰 Keap1 激活 Nrf2,例如发卡二醇(falcarindiol)存在于伞形科、五加科植物中,它可以与半胱氨酸巯基形成加合物,改变了 Keap1 的构型,失去了结合 Nrf2 的能力,进而释放了 Nrf2,促进了 Nrf2 的转核^[15]。

2.6 植物化学物质通过 mTOR/p70S6 信号激活了 Nrf2

mTOR 通路中表达的 RagD,是一种小的 G-蛋白激活 mTOR 路径激活剂,显著的上调了细胞突变的 Nrf2^[16]。橄榄油和橄榄叶中含有羟基酪醇,同时激活了 PI3K/Akt 和 mTOR/p70S6-激酶的路径促进细胞生存。激活了 JNK 后促进了 p62/SQSTM1 (sequestosome 1)表达^[17]。丹参酚酸 A 激活了 Akt/哺乳动物的纳巴霉素靶点复合物 1(mTORC1)信号,诱导 Nrf2 的细胞核转位^[18]。

2.7 植物化学物质通过 AMPK α 信号激活了 Nrf2

有些植物化学物质通过环磷酸腺苷激活的蛋白激酶 α (cAMP-activated protein kinase- α , AMPK α)

AMPK α 信号激活了 Nrf2,例如百里醌通过 Akt 和 AMPK α 激活了 Nrf2,且上调了人类角化细胞 HaCaT 中 HO-1 表达,发挥了抗炎和预防肿瘤的作用^[19]。

2.8 植物化学物质上调 Nrf2 表达的作用方式

几种植物化学物质联合使用在上调 Nrf2 表达方面,植物化学物质呈现的协同作用使得整体的力量大于局部之和,例如槲皮素、山奈酚和紫檀素激活了 Nrf2-ARE 通路,在适合的浓度下表现出了协同抗氧化作用^[20]。普天登是一种抗氧化剂组合物,其组成含有五种组分,分别为南非醉茄、假马齿苋提取物、绿茶提取物、水飞蓟素、姜黄素,普天登的组分单独使用,在低剂量下,姜黄素的诱导 Nrf2 表达作用最小,而其它则不能诱导 HO-1 表达。在联合使用的时,就产生了强大的协同诱导作用,与单独使用其中一种组分相比较,诱导的蛋白表达量相当于单独使用时 3~9 倍数的含量,超越了单独每一个部分的总和,其激活途径分别是 PI3-激酶/Akt、p38MAPK 和 PKC δ ,表明了多组分多通路的协同激活 Nrf2 的作用^[21]。Nrf2 激活作用途径可以参见图 1。

3 植物化学物质通过上调 Nrf2 预防或治疗缺血-再灌注损伤研究

3.1 植物化学物质通过上调 Nrf2 对神经系统的缺血再灌注损伤的防护作用

有些植物化学物质通过 Nrf2 对神经系统的缺血再灌注损伤的防护作用,例如木犀草素可以诱导 Nrf2 表达上调,保护缺血诱导的神经元细胞损伤^[22]。十二碳六烯酸(DHA)保护脑缺血造成的神经损伤,且减弱了中风后的氧化应激^[23]。

3.2 植物化学物质通过上调 Nrf2 对眼睛以及其附属器官的缺血再灌注损伤的防护作用

有些植物化学物质通过 Nrf2 对眼睛以及其附属器官的缺血再灌注损伤具有防护作用,如 2-氰基-3,12-二氧戊环-1,9(11)-二烯-28-酸甲酯(2-cyano-3,12-dioxooleana-1,9(11)-dien-28-oic acid-methyl ester, CDDO-Me)减轻了缺血再灌注模型引起的毛细血管的退化,防护视网膜缺血再灌注损伤造成的氧化应激^[24]。

4 植物化学物质通过上调 Nrf2 对化学毒素(不包括临床应用的药物)致器官损伤的防护作用

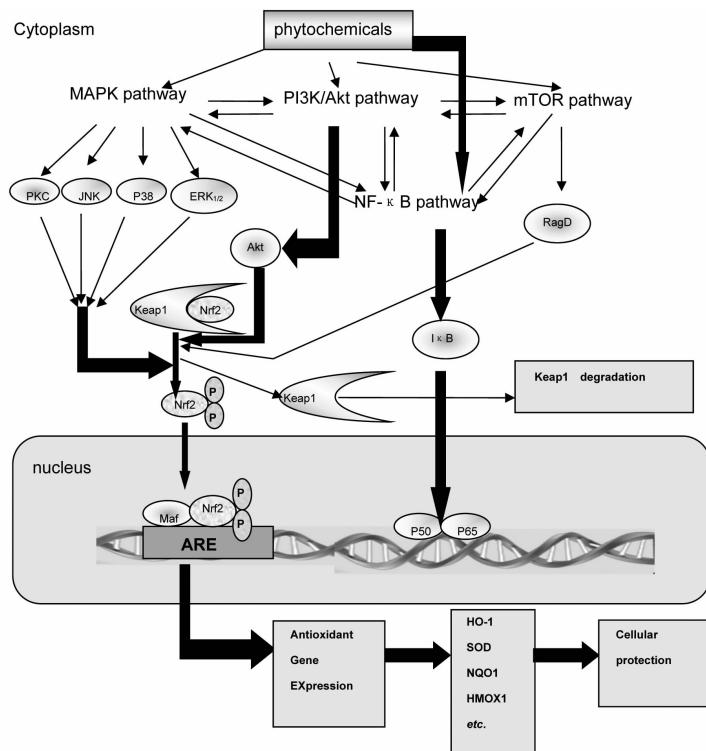


图 1 植物化学物质通过 MAPK、PI3K/Akt、mTOR、NF-κB 路径调节 Nrf2 的表达

Fig. 1 Nrf2 regulation of stress response pathway activated by phytochemicals through MAPK, PI3K/Akt, mTOR, NF-κB pathway
注: 图中双箭头表明了信号通路之间的交互作用

Note: Bidirectional arrow represented the interactions between signaling pathways

4.1 植物化学物质通过上调 Nrf2 对化学毒素诱导消化系统脏器损伤的保护作用

4.1.1 植物化学物质通过上调 Nrf2 对化学性肝损伤的保护作用

有些植物化学物质通过 Nrf2 对化学性肝损伤的保护作用。例如葛根素抑制叔丁基过氧化氢(T-BHP)诱导的损伤^[25]。另外,甘草酸二铵^[26]也是通过 Nrf2/ARE 路径激活其下游信号蛋白发挥肝细胞保护作用的。

4.1.2 植物化学物质通过上调 Nrf2 对化学毒素诱导胃肠道损伤的保护作用

植物化学物质通过 Nrf2 对化学物质诱导胃肠道损伤的具有护作用,例如咖啡酸苯乙酯 Caffeic acid phenethyl ester(CAPE)减弱了 2,4,6-三硝基苯磺酸诱导的大鼠结肠炎^[27]。

4.2 植物化学物质通过 Nrf2 对化学物质诱导心血管系统的损伤的保护作用

4.2.1 植物化学物质通过 Nrf2 对化学物质诱导心肌的损伤的保护作用

植物化学物质通过 Nrf2 对化学物质诱导心肌

的损伤具有保护作用,例如西洋参提取物对不同物质诱导的 H9C2 细胞的氧化应激具有保护作用^[28]。美国人参正己烷提取物含有人参炔醇,该物质在转录后激活了 Nrf2 进而抑制炎症巨噬细胞诱导的心肌肥厚^[29]。

4.2.2 植物化学物质通过 Nrf2 对化学物质诱导血管内皮的损伤的保护作用

植物化学物质通过 Nrf2 对化学物质诱导血管内皮的损伤呈现保护作用。例如没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)可以保护内皮细胞对抗 PCB126 诱导的炎症反应^[30]。

4.3 植物化学物质通过上调 Nrf2 对化学性肾损伤的保护作用

植物化学物质通过上调 Nrf2 对化学性肾损伤具有保护作用。例如葛根素可以保护四氯化碳诱导的氧化应激性肾损伤^[31]。姜黄素可以保护重铬酸钾诱导的大鼠肾损害^[32]。全反式视黄酸阻止链脲菌素所致的氧化应激引起的肾紧密连接蛋白的损伤^[33]。

4.4 植物化学物质通过 Nrf2 对化学物质诱导神经系统损伤的保护作用

植物化学物质可以通过 Nrf2 对化学物质诱导神经系统损伤提供保护。例如人参皂苷 Rb1 抑制了 6-羟基多巴胺(6-OHDA)诱导的 SH-SY5Y 细胞氧化应激损伤^[34]。乙基丙酮酸(EP),是一种丙酮酸酯,在 KA-诱导的癫痫动物模型以及大脑局部缺血模型中,表现出了强大的神经保护作用,其结果表明了 EP 诱导了 Nrf2 转位结合了 ARE 是伴随着 p300 途径的,且阻碍了 iNOS 表达是通过耗尽了 p300 与 p65 的结合,这是一种新的抗炎机制^[35]。

4.5 植物化学物质通过 Nrf2 对环境毒素诱导损伤以及化学诱变剂诱导突变的保护作用

脊椎动物进化出有一套通用的解毒模式,这些解毒过程无非是改变毒素的极性,或者与氨基酸结合,或者与葡萄糖醛酸结合,从呼吸道、泌尿生殖道、胆道经由肠道以气体、尿液、胆汁、粪便的形式排出体外。在传统中医学中,甘草又名“国老”,因其具有调和诸药,解毒的作用被中医学家经常使用于各个方剂之中,但其解毒机制论述较少,而异甘草素是甘草中的一种活性物质,它可以激活 Nrf2 以及其下游的解毒基因 UDP-葡萄糖醛酸转移酶 1A1 (UGT1A1),谷氨酰胺半胱氨酸连接酶(glutamate-cysteine ligase, GCLC),多药耐药蛋白 2 (Multidrug resistance protein 2, MRP2) 以及胆盐转运泵 (Bile salt exporter, BSEP) 在体外和体内的表达,这至少部分的揭示了甘草解毒的机制^[36]。

4.5.1 植物化学物质通过 Nrf2 对环境毒素诱导损伤的保护作用

丙烯醛、尼古丁、一氧化碳是烟草燃烧产生的三大有害成分,可以导致细胞基因突变。其他烯醛类物质也具有类似的毒性作用。而咖啡中的双萜咖啡醇和咖啡豆醇对丙烯醛造成的小鼠胚胎成纤维细胞伤害有保护作用^[37]。绿茶多酚减少了多氯联苯 (polychlorinated biphenyls) 诱导小鼠氧化应激损伤^[38]。

4.5.2 植物化学物质通过 Nrf2 对化学诱变剂诱导突变的保护作用

环境致突变剂是诱发机体肿瘤产生的主要原因之一,而植物化学物质通过 Nrf2 对化学诱变剂诱导突变具有抑制作用。例如,石榴提取物减少了二乙基亚硝胺诱导的啮齿动物肝细胞癌的形成^[39]。

4.6 植物化学物质通过 Nrf2 对化学物质诱导免疫细胞损伤的保护作用

植物化学物质可以通过 Nrf2 对化学物质诱导免疫细胞损伤提供保护。例如木犀草素和木犀草素-7-O-葡萄糖昔减少了四叔丁基过氧化氢(t-BHP)诱导的 RAW264.7 细胞的损伤^[40]。

4.7 植物化学物质通过 Nrf2 对化学物质诱导皮肤细胞损伤的保护作用

植物化学物质可以通过 Nrf2 对化学物质诱导皮肤细胞损伤提供保护。肉桂醛和甲基-1-肉桂-5-氧代-2-吡咯烷羧酸甲酯可以保护人类 Hs27 皮肤成纤维细胞、角化细胞(HaCaT) 和人类原代角化细胞受到的氧化应激伤害^[41]。

5 植物化学物质通过 Nrf2 对药物不良反应的防护作用

5.1 植物化学物质通过调节 Nrf2 减轻抗肿瘤药物对正常细胞的毒性作用

而植物化学物质通过调节 Nrf2 的表达可以减轻抗肿瘤药物对正常细胞的毒副作用。例如胡椒碱抑制了环磷酰胺诱导听觉细胞 HEI-OC1 细胞的凋亡^[42]。夹竹桃麻素可以缓解顺铂诱导的心脏毒性,减少心肌细胞的横截面积^[43]。

5.2 植物化学物质通过 Nrf2 减轻药物对消化道的毒副作用

植物化学物质可以通过 Nrf2 减轻药物对消化道的毒副作用。在胃粘膜受到酮洛芬诱导的氧化损伤时,儿茶素、茶黄素、二甲花翠素,花青素和芹菜素具有保护作用,且对酮洛芬引起的胃肠道溃疡具有保护作用^[44]。在酮洛芬诱导的胃肠道(Gastrointestinal, GI) 粘膜氧化损伤中,咖啡酸的保护作用是帕金森疾病蛋白 7/PARK7(DJ-1)介导的,敲除 DJ-1 就逆转了咖啡酸诱导的细胞核 Nrf2 蛋白表达,其途径是 JNK/p38-依赖的方式,而一旦 Nrf2 缺失, DJ-1/PARK7 就不再发挥胃粘膜保护作用^[45]。

6 物理因素造成的氧化应激损伤以及植物化学物质(或运动)通过 Nrf2 发挥防护作用

6.1 植物化学物质通过 Nrf2 防护可见光造成的视网膜黄斑变性

植物化学物质通过 Nrf2 防护可见光造成的视网膜黄斑变性。例如,姜黄素对于光诱导的(Age-

related macular degeneration) 视网膜变性, 发挥了抗炎作用。抑制 NF- κ B 信号通路相关炎症因子的表达^[46]。

6.2 植物化学物质通过 Nrf2 防护紫外线造成的氧化应激损伤

植物化学物质可以通过 Nrf2 防护紫外线造成的皮肤的氧化应激损伤。鞣花酸可通过上调 HO-1 及 NRF-2 抗氧化基因来减少紫外线可以引起的 HaCaT 细胞氧化应激和细胞凋亡^[47]。

6.3 植物化学物质通过 Nrf2 防护电离辐射造成的氧化应激损伤

植物化学物质通过 Nrf2 防护电离辐射造成的氧化应激损伤, 例如二根皮羟基卡美洛 (Diphlorethohydroxycarmalol, DPHC) 是分离自褐藻的一种多羟基酚类化合物, DPHC 显著的减少了辐射诱导的中国仓鼠肺脏成纤维细胞 (V79-4) 中产生的活性氧自由基, 增强了细胞存活率, 减少了细胞凋亡, 保护了肠道祖细胞和骨髓细胞^[48]。

6.4 植物化学物质通过 Nrf2 防护噪声造成的听觉神经系统氧化应激损伤

植物化学物质通过 Nrf2 可以防护噪声造成的听觉神经系统氧化应激损伤, 例如迷迭香酸 (RA) 减弱了噪声诱导的听力损害, 降低阈移, 促进了听力细胞生存。因其增强了内源性抗氧化防御系统, 减少了超氧自由基的产生, 减少了 4-HNE 的表达, 上调了 SODs。同时激活了 Nrf2/HO-1 信号路径^[49]。

6.5 植物化学物质通过 Nrf2 防护热应激造成的氧化应激损伤

高温作业人群例如锅炉工、核潜艇兵、冶金工人等经常需要穿戴隔离服防护热应激刺激, 但是物理防护还不足以完全消除热应激带给人类的损害, 采用化学防护就成为另外一种可选用的手段, 给予这些人员植物化学物质可以通过 Nrf2 防护热应激造成的氧化应激损伤, 例如姜黄素可以减轻热刺激引起的鹌鹑的氧化应激, 其作用途径是通过抑制肝脏 NF- κ B, 和热休克蛋白 70 的表达, 同时上调 Nrf2 实现的^[50]。

6.6 急性运动应激 (AES) 激活 Nrf2/ARE 信号

运动医学是医学科学的重要组成部分, 适当的运动可以强身健体, 不运动或者过度的运动都对身体有害。急性运动应激 (AES) 激活 Nrf2/ARE 信号, 促进了心肌中 Nrf2 的表达, 为非药物性激活

Nrf2/ARE 通路提供了基础, 这可以作为一种潜在的治疗靶点, 保护心脏免于受到氧化应激诱导的心血管疾病的并发症^[51]。

7 植物化学物质通过调控 Nrf2 预防/治疗与氧化应激相关的疾病

7.1 植物化学物质通过 Nrf2 抑制脏器纤维化

7.1.1 植物化学物质通过 Nrf2 抑制肾脏纤维化

植物化学物质通过 Nrf2 抑制肾脏纤维化, 例如安卓奎诺尔 (Antroquinonol) 通过增强 Nrf2 的信号通路, 减少小鼠氧化应激和抑制炎症和硬化的局灶节段性肾小球硬化^[52]。它也可以抑制了的肾小球增生以及新月体硬化, 缓解了肾小球球旁间质性肾炎^[53]。

7.1.2 植物化学物质通过 Nrf2 抑制肝脏纤维化

甲基赖氨酸在糖尿病病人中是十分普遍的, 它也可以引起肝纤维化, 而 dimerumic acid 抑制了其造成肝脏纤维化, 可以减少胶原生成, 下调 α -平滑肌肌动蛋白 (α -SMA), 血小板衍生的生长因子 β 受体 (PDGF-BR) 的表达, 激活了 Nrf2^[54]。

7.2 植物化学物质通过 Nrf2 治疗眼科疾病

植物化学物质通过 Nrf2 治疗眼科疾病, 例如 1-(2-cyano-3,12-dioxooleana-1,9(11)-dien -28-oyl) 咪唑可以靶向 Nrf2, Nrf2^{-/-} 小鼠与 Nrf2^{+/+} 小鼠相比, Nrf2^{+/+} 小鼠白细胞浸润较少^[55]。这种靶向 Nrf2 路径可以成为治疗葡萄膜炎的新靶点^[56]。

7.3 植物化学物质通过调控 Nrf2 治疗食源性疾病与生活习惯病

7.3.1 植物化学物质通过调控 Nrf2 治疗营养素摄入过量或者变质食物引起的生理功能紊乱的调节作用

植物化学物质来改善食源性因素和不良生活习惯带来的后果, 例如 α -硫辛酸可以抑制棕榈酸诱导的肝细胞的非酒精性脂性凋亡, 且抑制棕榈酸诱导了凋亡转录因子 CHOP (CCAAT/enhancer-binding protein-homologous protein, 也称为 GADD153) 和 caspase 3 的激活, 诱导了 Nrf2 的转核^[57]。苦参碱可以对抗高果糖饮食诱导的非酒精性脂肪性肝炎^[58]。二十二碳六烯酸 (DHA) 可以诱导 HO-1 在人类癌细胞的表达, 增强了恶性细胞中的 Nrf2 的表达, 表明了癌症病人低脂饮食的必要性^[59]。在小鼠模型中, 生育酚的抗氧化和抗炎活性表明其作用途

径是不依赖于 Nrf2 的,但是在 Nrf2 敲除小鼠中,生育三烯酚的代谢则与正常的小鼠不同^[60]。

7.3.2 植物化学物质通过调控 Nrf2 改善胰岛素抵抗,预防或者治疗糖尿病以及其他胰腺病

植物化学物质通过调控 Nrf2 改善胰岛素抵抗,预防或者治疗糖尿病以及其他胰腺病,例如红曲发酵产物 dimerumic acid(DMA)改善了甲基乙二醛诱导 Balb/C 小鼠的糖尿病的表现,可以降低糖基化水平,改善胰岛素抵抗,降低 TNF- α 和 IL-1 β 表达^[61]。黄连素可以减弱高血糖引起的神经病变,并且通过 Nrf2 促进神经轴突的生长^[62]。石莲花提取物也可以保护羧甲基赖氨酸诱导的胰腺功能紊乱^[63]。

7.3.3 植物化学物质通过调控 Nrf2 治疗饮酒引起的相关疾病

酒精对人体的伤害是全身性的,而植物化学物质通过上调 Nrf2 治疗饮酒引起的相关疾病,例如扯根菜水提取物(10.30 g/kg)可保护乙醇诱导的氧化应激,减少肝脏脂质积累^[64]。木豆甲醇提取物可以阻止慢性乙醇摄取引起的大鼠肝脏的损害^[65]。

7.4 植物化学物质通过调控 Nrf2 治疗感染性疾病

7.4.1 植物化学物质通过 Nrf2 抑制内毒素引起的炎症

植物化学物质可以通过 Nrf2 抑制内毒素引起的炎症。例如雷公藤红素可以保护败血症大鼠引起全身循环衰竭,抑制炎症反应,上调 Nrf2 和 HO-1, HSP70,热休克因子 1(Heat shock factor-1, HSF-1) 的表达^[66]。

7.4.2 植物化学物质通过 Nrf2 抑制病毒对正常细胞的侵袭

植物化学物质可以通过 Nrf2 抑制病毒对正常细胞的侵袭。Nrf2 激活剂可抑制了病毒在人类鼻粘膜上皮细胞(NEC)中的复制,如莱菔硫烷(sulforaphane, SFN) 和表没食子酸儿茶素没食子酸酯(EGCG)显著的减少了病毒的进入和复制^[67]。

7.4.3 植物化学物质通过 Nrf2 抑制异种蛋白引起的炎症反应

植物化学物质通过 Nrf2 抑制异种蛋白引起的炎症反应。青蒿琥酯逆转了卵清蛋白诱导小鼠抗氧化剂的超氧化物歧化酶和过氧化氢酶的表达。且显著增强了 Nrf2 在卵清蛋白诱导小鼠肺组织中和 TNF-a-刺激的人类支气管上皮细胞中的表达^[68]。雷公藤红素对 HIV-1 Tat-蛋白诱导的炎症反应具有调节作用减少了 Tat-蛋白引起的神经系统炎症^[69]。

7.5 植物化学物质通过调控 Nrf2 治疗泌尿系统疾病

植物化学物质中含有许多影响肾脏疾病预后的活性物质。例如在小鼠加速性局灶性节段性肾小球硬化模型中,蛇床子素可以保护肾脏,减少蛋白尿^[70]。4-苯基丁酸(4-PBA)可以抑制氧化应激,减缓糖尿病肾病的发病进程,促进了 Nrf2 表达抑制了 NF- κ B 的激活^[71]。Rokumi-jio-gan 制剂改善肾脏切除大鼠残留肾脏的血脂异常,降低氧化应激^[72]。没食子儿茶素-3-没食子酸酯则具有防止狼疮肾炎发展的作用^[73]。

7.6 植物化学物质通过调控 Nrf2 治疗局部或者全身血压异常

肺动脉高压同时涉及到循环呼吸系统的病变,而苦参中的氧化苦参碱阻止缺氧和野百合碱诱发大鼠肺动脉高压,抑制了肺动脉平滑肌细胞的增殖,白细胞和 T 细胞在肺动脉的周围浸润^[74]。(-)-表儿茶素阻止了 DOCA-盐引起的收缩压和蛋白尿的升高,改善了损害的内皮依赖于乙酰胆碱的舒张功能,增加了 Akt 和 eNOS 在动脉环的磷酸化,抑制了 NADPH 氧化酶的活性,降低了血压^[75]。

7.7 植物化学物质通过调控 Nrf2 治疗牙周炎

口腔科疾病与很多内科病关系密切,例如牙周炎与动脉硬化密切相关。因而治疗牙周炎,有助于减缓动脉硬化进程。白藜芦醇减轻了结扎诱导的牙周炎,改善了系统的氧化应激和亚硝化应激,其作用途径经由去乙酰化酶 1(Sirt1)/AMP-激活的蛋白激酶(AMPK)以及(Nrf2)/抗氧化防御通路实现抗炎作用^[76]。

7.8 在围产期使用植物化学物质通过调控 Nrf2 影响子代器官的抗氧化防御能力

产妇摄取黄酮类化合物,因为其抗氧化活性,会影响其子一代在成年时对进展性慢性疾病的敏感性,特别是与氧化应激相关的疾病。例如给雌性小鼠添加了黄酮,妊娠期间给予染料木素,槲皮素,有助于减少子代遭受氧化应激诱导的肝脏的 DNA 损害^[77]。

7.9 植物化学物质的肿瘤预防作用及通过下调肿瘤细胞 Nrf2 增强其对化疗药的敏感性

很多植物化学物质都可以成为肿瘤化疗增敏剂。例如白杨素可增强人肝癌耐药细胞株 BEL-7402 ADM 细胞对多柔比星的敏感性^[78]。前列腺癌细胞短时间接触 α 生育酚琥珀酸酯(α -TOS)减少了

其存活率,因为它上调 HO-1 而抑制了 NF- κ B^[79]。辣椒素、表儿茶素酸酯槲皮素、木犀草素、水飞蓟素和水飞蓟宾,染料木素,大豆昔元,非类黄酮,二苯乙烯(白藜芦醇)姜黄素等多酚类化合物都具有预防肝癌形成的作用。它们的预防作用都是通过相同的或者不同的途径上调了 Nrf2 的表达^[80]。

8 展望

人类目前的常见病有 500 多种,而从有人类历史记载,到目前报道的疾病有一万多种,很多疾病都是机体抗氧化防御功能失常引起的,下面根据临床医学系统分类法,基于 Nrf2 功能的多样性,从其可调控表达来治疗疾病的度而言,进行分类论述。

8.1 调控 Nrf2 表达在呼吸系统疾病中的应用前景

呼吸系统的几大顽疾如慢性支气管炎、肺气肿、肺心病等仍然困扰着临床医生,因为其治愈率低,预后不良。调控 Nrf2 表达在这些疾病中具有一定的指导意义。Nrf2 启动子多态性的或者 Keap1 和 Nrf2 的体突变或者表观遗传突变可发现于罹患急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征、肺癌的患者身上,这进一步支持了 Nrf2 在呼吸系统疾病中的作用^[81],因此, Nrf2 激活剂有助于缓解很多呼吸系统疾病。例如 COPD 病人的肺脏的 Srx1 表达减少,肺气肿病人的肺脏中 Nrf2 蛋白表达减少,因此而 Srx1 是 Nrf2-主要调控的基因,有助于保护肺脏引起的氧化应激的损伤^[82]。在胸部接受放疗的患者中经常发现肺纤维化,表明了 NRF2 可以抑制 TGF- β 的表达,有助于减少放射性肺纤维化^[83]。

8.2 调控 Nrf2 表达在循环系统疾病中的应用前景

心血管疾病现在仍然威胁人类健康的几大杀手之一。调控 Nrf2 表达在对于循环系统疾病有很多借鉴意义。上调 PKC/Nrf2 发挥心脏保护作用,可以治疗心脏的缺血再灌注损伤^[84]。环境接触腐殖酸(HA)诱导了巨噬细胞的炎症,可能是导致黑脚病动脉硬化的原因之一。表明了抗炎抗氧化的药物可能用于治疗这种疾病^[85]。NADPH 氧化酶-4(Nox4)的表达在成年的心脏中是可以被诱导的表达的作为心脏适应病理生理损害的一种适应性应激反应, Nox4 可以激活 Nrf2-相关的路径,表明了 Nox4 在调节心肌细胞的 GSH 氧化还原^[86]。但是 Nrf2 在血管内皮中的表达是双向,相关研究表明了 Nrf2 可以同时参与促进和抑制动脉硬化的两种效果^[87]。这种双向作用的进一步调控,还需要进一步探究。

8.3 调控 Nrf2 表达在消化系统疾病中的应用前景

近年来人们奶制品的摄入量呈上升趋势,但是牛奶加工过程中采用的加热灭菌方式易于产生氧化的酪蛋白,而这种物质损害了抗氧化防御体系诱导了肝脏和肾脏的纤维化。氧化的酪蛋白上调了肝细胞中 Nrf2、c-GCS、HO-1、GPX-3 和 GPX-4 蛋白^[88],这在短期内是激活了自身的防御体系,但是长时间的激活,对机体的抗氧化防御蛋白来说是一种耗竭,因其同时激活了 TGF- β 通路,而促进了脏器纤维化,因而,选用新的牛奶灭菌加工方式势在必行,同时可以选取抑制脏器纤维化的植物化学物质加入到牛奶中,抑制氧化的酪蛋白的副作用。

胰腺疾病无论是胰腺炎、糖尿病还是胰腺癌,都属于预后不良的疾病,Nrf2 在胰腺病变中具有重要作用^[89],调控胰腺中 Nrf2 的表达,可以改善胰腺的这三大类疾病的预后。特别的是,上调 Nrf2 在胰腺的表达对糖尿病和胰腺炎患者有利,而下调 Nrf2 在胰腺癌细胞中的表达对病人有利,使得癌细胞对放化疗更加敏感。

8.4 调控 Nrf2 表达在内分泌系统疾病中的应用前景

肥胖是当今世界性的难题,也是促使糖尿病发病率提高的主要原因,大多数肥胖患者都罹患了脂肪肝,而 Nrf2 可以保护小鼠肝脏对抗氧化应激, DNA 损害,在四氯二苯并-p-二恶英(tetrachlorodibenzo-p-dioxin, TCDD)-介导的肝脏的脂肪变性中,激活了芳香烃受体(Aryl hydrocarbon receptor, AhR)。TCDD-给予的敲除了 Nrf2 小鼠的肝脏肿大可以归因于肝脏脂肪生成增加,而在白色脂肪组织中脂肪形成功能受到了损害^[90]。说明了 Nrf2 对于减肥的重要性,因此可以开发针对肝脏和脂肪组织的 Nrf2 激活剂用于治疗脂肪肝和肥胖。

8.5 调控 Nrf2 表达在肿瘤治疗中的应用前景

肿瘤治疗的策略是多靶点用药以避免单一途径产生的耐药,而 Nrf2 可以提高肿瘤细胞的自身的防御体系,下调肿瘤细胞的 Nrf2 的表达可以提高肿瘤细胞对化疗药的敏感性,同时通过迈克尔受体(Michael acceptor)激活下游基因,抑制硫氧还蛋白还原酶(Thioredoxin reductases, TrxR)的活性也是有助肿瘤的化学预防^[91]。Nrf2 诱导的抗凋亡蛋白 Bcl-xL 增强肿瘤细胞存活和耐药性^[92],因此下调了 Nrf2,也就在一定程度上下调了 Bcl-xL 的表达,减少了肿瘤耐药性。以人参皂苷为例,人参皂苷 Rg3 显著的

抑制了顺铂诱导的正常的细胞毒性,受试细胞为 LLC-RK1 肾细胞和 NCTC1469 肝细胞,但是顺铂介导了 CT-26 癌细胞的毒性,人参皂苷 Rg3 增强了顺铂的功用,是通过抑制了 HO-1 和 NQO-1 在癌症细胞的表达,保护了肾脏和肝脏细胞,阻止了顺铂诱导的细胞 ROS 在肝肾细胞中产生^[93]。因此,可以说,植物化学物质中可以开发出来化疗增敏剂。靶向 Nrf2/HO-1 轴使得 GI-ME-N 细胞对依托泊苷敏化,表明了抑制 Nrf2/HO-1 信号可以作为重要的靶点在临幊上对抗神经母细胞瘤^[94]。

8.6 调控 Nrf2 表达在神经系统治疗中的应用前景

脑血管疾病是临幊上发病率高,死亡率高,致死率高的神经系统的多发病。在早期脑出血后的一段时间内,加重的脑损害在 Nrf2^{-/-} 动物中与增加的白细胞浸润相关,产生了活性氧自由基,DNA 损害,引起了细胞色素 c 的释放。总之,这些发现表明 Nrf2 减少了脑出血 诱导的早期的脑损害,可能是提供了保护作用保护白细胞介导的自由基氧化应激。维甲酸(RA)和 12-O 十四烷酰佛波醇-13-乙酸酯都可以促进神经元分化,RA 诱导的 Nrf2 上调伴随着轴突生长,诱导了两种神经元分化标志物,神经丝-M 和微管相关蛋白 2,过度表达的 Nrf2 在 SH-SY5Y 细胞促进了神经细胞分化,而抑制了内源性的 Nrf2 表达抑制了神经元分化。因此对患有神经退行性病变的患者来说,打开了一条新的有前景的治疗策略^[95]。在小鼠和患者连接成纤维细胞肌萎缩侧索硬化症模型中,S(+)-阿朴吗啡上调了 Nrf2-ARE 通路,具有神经保护作用可以经过临床评价用于肌萎缩侧索硬化症(Amyotrophic Lateral Sclerosis, ALS)病人治疗^[96]。三萜 2-氰基-3,12-二氧戊环-1,9-烯-28-酸乙基酰胺(2-cyano-3,12-dioxooleana-1,9-dien-28-oic acid ethyl amide, CDDO ethyl amide)和 CDDO-三氟乙酰胺改善了行为表型和脑部的病理学,也许可以用于治疗亨丁顿舞蹈病^[97]。

8.7 调控 Nrf2 表达在防护环境毒素损伤中的应用前景

环境毒素伤害机体后,机体的防御反应最先启动的是抗氧化防御和解毒酶的表达,而 Nrf2 表达在防护环境毒素损伤中具有无比的重要性。例如在遭受砷损害时,与 Nrf2^{+/+} 小鼠相比,Nrf2^{-/-} 小鼠出现了更为严重的生理损害,提示我们使用膳食化合物靶向激活 Nrf2 信号的路径可以减轻砷诱导的损害^[98]。在大鼠肾脏细胞系 NRK-52E 细胞中,通过

特异性的 siRNA 抑制 Nrf2 表达,导致细胞对 Cd 的敏感性大大加强,表明了 Nrf2 对于肾脏细胞抵抗 Cd 的重要性^[99]。在 Cd-诱导的斑马鱼嗅觉细胞^[100]和原代肝细胞损伤中^[101],也具有类似的情况,Nrf2 上调了抗氧化防御基因表达来对抗 Cd 的损伤。Jurkat T 细胞与自然的 T 淋巴细胞具有很多相似的性质,Jurkat T 细胞接触了苯并芘 benzo[a]pyrene(B[a]P)后,谷氨酰胺/谷氨酸代谢的系统有了改变。这种改变是不依赖于芳香烃受体(AhR)调控 Nrf2 路径^[102]。表明了芳香烃损害免疫系统是多途径的。萝卜硫素可以防止吸入砷引起的肺损伤,也是通过激活 Nrf2 的调动了机体的防御反应^[103]。

8.8 调控 Nrf2 表达在氧化应激致线粒体损伤中的作用

线粒体是发生氧化应激的主要的细胞器,因而氧化应激对于线粒体的损伤是无时不在的,如何保持这种母系遗传的线粒体基因组的完整性是十分重要的,因为线粒体疾病与很多疾病有关,而这些可以通过母亲传给子女的疾病(例如癌症、心血管系统疾病、癫痫等)都与线粒体结构与功能的完整性密切相关^[104],Nrf2 保持线粒体结构和功能的完整性方面具有重要的意义,一种合成的 1,4-联苯-1,2,3-三唑化合物一可以作为 Nrf2 激活剂,促进线粒体自噬,因而有助于保持线粒体的平衡^[105]。因此在植物化学物质中寻求 Nrf2 激活剂对于维持线粒体基因组稳定,行使其功能,清除过量的自由基至关重要。

参考文献

- 1 Lacher SE, et al. Beyond antioxidant genes in the ancient NRF2 regulatory network. *Free Radical Biol Med*, 2015, 88: 452-465.
- 2 Huang Y, et al. The complexity of the Nrf2 pathway:beyond the antioxidant response. *J Nutr Biochem*, 2015, 26: 1401-1413.
- 3 Yin JJ, et al. Dual role of selected antioxidants found in dietary supplements:crossover between anti-and pro-oxidant activities in the presence of copper. *J Agric Food Chem*, 2012, 60:2554-2561.
- 4 Forester SC, et al. The role of antioxidant versus pro-oxidant effects of green tea polyphenols in cancer prevention. *Mol Nutr Food Res*, 2011, 55:844-854.
- 5 Kachadourian R, et al. 2',5'-Dihydroxychalcone-induced glutathione is mediated by oxidative stress and kinase signaling

- pathways. *Free Radical Biol Med*, 2011, 51:1146-1154.
- 6 Wagner AE, et al. Myrosinase-treated glucoerucin is a potent inducer of the Nrf2 target gene heme oxygenase 1 -studies in cultured HT-29 cells and mice. *J Nutr Biochem*, 2015, 26: 661-666.
- 7 Kumar KJS, et al. Lucidone protects human skin keratinocytes against free radical-induced oxidative damage and inflammation through the up-regulation of HO-1/Nrf2 antioxidant genes and down-regulation of NF- κ B signaling pathway. *Food Chem Toxicol*, 2013, 59:55-66.
- 8 Yang JH, et al. Isorhamnetin protects against oxidative stress by activating Nrf2 and inducing the expression of its target genes. *Toxicol Appl Pharm*, 2014, 274:293-301.
- 9 Chen HH, et al. 4-Ketopinoresinol, a novel naturally occurring ARE activator, induces the Nrf2/HO-1 axis and protects against oxidative stress-induced cell injury via activation of PI3K/AKT signaling. *Free Radical Biol Med*, 2012, 52: 1054-1066.
- 10 Choi S, et al. Anti-inflammatory and heme oxygenase-1 inducing activities of lanostane triterpenes isolated from mushroom *Ganoderma lucidum* in RAW264.7 cells. *Toxicol Appl Pharm*, 2014, 280:434-442.
- 11 Akram M, et al. Heme oxygenase 1-mediated novel anti-inflammatory activities of *Salvia plebeia* and its active components. *J Ethnopharmacol*, 2015, 174:322-330.
- 12 Checker R, et al. Schisandrin B exhibits anti-inflammatory activity through modulation of the redox-sensitive transcription factors Nrf2 and NF- κ B. *Free Radical Biol Med*, 2012, 53:1421-1430.
- 13 Wang R, et al. Seaweed extracts and unsaturated fatty acid constituents from the green alga *Ulva lactuca* as activators of the cytoprotective Nrf2-ARE pathway. *Free Radical Biol Med*, 2013, 57:141-153.
- 14 Yao JW, et al. Induction of activation of the antioxidant response element and stabilization of Nrf2 by 3-(3-pyridylmethylidene)-2-indolinone (PMID) confers protection against oxidative stress-induced cell death. *Toxicol Appl Pharm*, 2012, 259:227-235.
- 15 Ohnuma T, et al. Activation of the Nrf2/ARE pathway via S-alkylation of cysteine 151 in the chemopreventive agent-sensor Keap1 protein by falcarindiol, a conjugated diacetylene compound. *Toxicol Appl Pharm*, 2010, 244:27-36.
- 16 Shibata T, et al. Global downstream pathway analysis reveals a dependence of oncogenic NF-E2-related factor 2 mutation on the mTOR growth signaling pathway. *Cancer Res*, 2010, 70:9095-9105.
- 17 Zou X, et al. Stimulation of GSH synthesis to prevent oxidative stress-induced apoptosis by hydroxytyrosol in human retinal pigment epithelial cells:activation of Nrf2 and JNK-p62/SQSTM1 pathways. *J Nutr Biochem*, 2012, 23:994-1006.
- 18 Zhang H, et al. Salvianolic acid A protects RPE cells against oxidative stress through activation of Nrf2/HO-1 signaling. *Free Radical Biol Med*, 2014, 69:219-228.
- 19 Kundu J, et al. Thymoquinone induces heme oxygenase-1 expression in HaCaT cells via Nrf2/ARE activation: Akt and AMPKa as upstream targets. *Food Chem Toxicol*, 2014, 65: 18-26.
- 20 Saw CLL, et al. The berry constituents quercetin, kaempferol, and pterostilbene synergistically attenuate reactive oxygen species: Involvement of the Nrf2-ARE signaling pathway. *Food Chem Toxicol*, 2014, 72:303-311.
- 21 Velmurugan K, et al. Synergistic induction of heme oxygenase-1 by the components of the antioxidant supplement Protandim. *Free Radical Biol Med*, 2009, 46:430-440.
- 22 Zhang YC, et al. Antioxidant and Nrf2 inducing activities of luteolin, a flavonoid constituent in *Ixeris sonchifolia* Hance, provide neuroprotective effects against ischemia-induced cellular injury. *Food Chem Toxicol*, 2013, 59:272-280.
- 23 Chang CY, et al. Docosahexaenoic acid reduces cellular inflammatory response following permanent focal cerebral ischemia in rats. *J Nutr Biochem*, 2013, 24:2127-2137.
- 24 Wei YH, et al. Nrf2 has a protective role against neuronal and capillary degeneration in retinal ischemia-reperfusion injury. *Free Radical Biol Med*, 2011, 51:216-224.
- 25 HwangYP, et al. Mechanism of phytoestrogen puerarin-mediated cytoprotection following oxidative injury: Estrogen receptor-dependent up-regulation of PI3K/Akt and HO-1. *Toxicol Appl Pharm*, 2008, 233:371-381.
- 26 Jin J, et al. Role of Nrf2 activation and NF- κ B inhibition in valproic acid induced hepatotoxicity and in diammonium glycyrrhizinate induced protection in mice. *Food Chem Toxicol*, 2014, 73:95-104.
- 27 Kim H, et al. Caffeic acid phenethyl ester activation of Nrf2 pathway is enhanced under oxidative state:Structural analysis and potential as a pathologically targeted therapeutic agent in treatment of colonic inflammation. *Free Radical Biol Med*, 2013, 65:552-562.
- 28 Qu C, et al. Identifying panaxynol, a natural activator of nuclear factor erythroid-2 related factor 2 (Nrf2) from American ginseng as a suppressor of in? amed macrophage-induced cardiomyocyte hypertrophy. *J Ethnopharmacol*, 2015, 168:326-336.
- 29 Li JQ, et al. An essential role of Nrf2 in American ginseng-mediated anti-oxidative actions in cardiomyocytes. *J Ethno-*

- pharmacol, 2010, 130:222-230.
- 30 Han SG, et al. EGCG protects endothelial cells against PCB 126-induced inflammation through inhibition of AhR and induction of Nrf2-regulated genes. *Toxicol Appl Pharm*, 2012, 261:181-188.
- 31 Ma JQ, et al. Puerarin ameliorates carbon tetrachloride-induced oxidative DNA damage and inflammation in mouse kidney through ERK/Nrf2/ARE pathway. *Food Chem Toxicol*, 2014, 71:264-271.
- 32 Molina-Jijón E, et al. Curcumin prevents Cr(VI)-induced renal oxidant damage by a mitochondrial pathway. *Free Radical Biol Med*, 2011, 51:1543-1557.
- 33 Molina-Jijón E, et al. All-trans retinoic acid prevents oxidative stress-induced loss of renal tight junction proteins in type-1 diabetic model. *J Nutr Biochem*, 2015, 26:441-454.
- 34 HwangYP, et al. Ginsenoside Rb1 protects against 6-hydroxydopamine-induced oxidative stress by increasing heme oxygenase-1 expression through an estrogen receptor-related PI3K/Akt/Nrf2-dependent pathway in human dopaminergic cells. *Toxicol Appl Pharm*, 2010, 242:18-28.
- 35 Kim SW, et al. Regulation of HO-1 and iNOS gene expressions by ethyl pyruvate via recruiting p300 to Nrf2 and depriving it from p65. *Free Radical Biol Med*, 2013, 65:468-476.
- 36 Gong H, et al. A protective mechanism of licorice (*Glycyrrhiza uralensis*): Isoliquiritigenin stimulates detoxification system via Nrf2 activation. *J Ethnopharmacol*, 2015, 162:134-139.
- 37 Higgins LG, et al. Induction of cancer chemopreventive enzymes by coffee is mediated by transcription factor Nrf2. Evidence that the coffee-specific diterpenes cafestol and kahweol confer protection against acrolein. *Toxicol Appl Pharm*, 2008, 226:328-337.
- 38 Newsome BJ, et al. Green tea diet decreases PCB 126-induced oxidative stress in mice by up-regulating antioxidant enzymes. *J Nutr Biochem*, 2014, 25:126-135.
- 39 Bishayee A, et al. Pomegranate phytoconstituents blunt the inflammatory cascade in a chemically induced rodent model of hepatocellular carcinogenesis. *J Nutr Biochem*, 2013, 24:178-187.
- 40 Song YS, et al. Luteolin and luteolin-7-O-glucoside strengthen antioxidative potential through the modulation of Nrf2/MAPK mediated HO-1 signaling cascade in RAW 264.7 cells. *Food Chem Toxicol*, 2014, 65:70-75.
- 41 Wondrak GT, et al. Cinnamoyl-based Nrf2-activators targeting human skin cell photo-oxidative stress. *Free Radical Biol Med*, 2008, 45:385-395.
- 42 Choi BM, et al. Piperine protects cisplatin-induced apoptosis via heme oxygenase-1 induction in auditory cells. *J Nutr Biochem*, 2007, 18:615-622.
- 43 El-Sawalhi MM, et al. Exploring the protective role of apocynin, a specific NADPH oxidase inhibitor, in cisplatin-induced cardiotoxicity in rats. *Chem-Biol Interact*, 2014, 207:58-66.
- 44 Cheng YT, et al. Catechin protects against ketoprofen-induced oxidative damage of the gastric mucosa by up-regulating Nrf2 *in vitro* and *in vivo*. *J Nutr Biochem*, 2013, 24:475-483.
- 45 Cheng YT, et al. DJ-1 plays an important role in caffeic acid-mediated protection of the gastrointestinal mucosa against ketoprofen-induced oxidative damage. *J Nutr Biochem*, 2014, 25:1045-1057.
- 46 Mandal MNA, et al. Curcumin protects retinal cells from light-and oxidant stress-induced cell death. *Free Radical Biol Med*, 2009, 46:672-679.
- 47 Hseu YC, et al. Ellagic acid protects human keratinocyte (HaCaT) cells against UVA-induced oxidative stress and apoptosis through the upregulation of the HO-1 and Nrf-2 antioxidant genes. *Food Chem Toxicol*, 2012, 50:1245-1255.
- 48 Ahn M, et al. Diphlorethohydroxycarmalol, isolated from the brown algae Ishige okamurae, protects against radiation-induced cell damage in mice. *Food Chem Toxicol*, 2011, 49:864-870.
- 49 Fetoni AR, et al. Rosmarinic acid up-regulates the noise-activated Nrf2/HO-1 pathway and protects against noise-induced injury in rat cochlea. *Free Radical Biol Med*, 2015, 85:269-281.
- 50 Sahin K, et al. Curcumin ameliorates heat stress via inhibition of oxidative stress and modulation of Nrf2/HO-1 pathway in quail. *Food Chem Toxicol*, 2012, 50:4035-4041.
- 51 Muthusamy VR, et al. Acute exercise stress activates Nrf2/ARE signaling and promotes antioxidant mechanisms in the myocardium. *Free Radical Biol Med*, 2012, 52:366-376.
- 52 Tsai PY, et al. Antroquinonol reduces oxidative stress by enhancing the Nrf2 signaling pathway and inhibits inflammation and sclerosis in focal segmental glomerulosclerosis mice. *Free Radical Biol Med*, 2011, 50:1503-1516.
- 53 Yang SM, et al. Antroquinonol mitigates an accelerated and progressive IgA nephropathy model in mice by activating the Nrf2 pathway and inhibiting T cells and NLRP3 inflammasome. *Free Radical Biol Med*, 2013, 61:285-297.
- 54 Lee BH, et al. Suppression of dimerumic acid on hepatic fibrosis caused from carboxymethyl-lysine (CML) by attenuating oxidative stress depends on Nrf2 activation in hepatic stellate cells (HSCs). *Food Chem Toxicol*, 2013, 62:413-419.
- 55 Wang X, et al. Cytoprotection of human endothelial cells a-

- gainst oxidative stress by 1-[2-cyano-3, 12-dioxoleana-1, 9 (11)-dien-28-oyl] imidazole (CDDO-Im): Application of systems biology to understand the mechanism action. *Eur J Pharmacol*, 2014, 734:122-131.
- 56 Nagai N, et al. Nrf2 is a critical modulator of the innate immune response in a model of uveitis. *Free Radical Biol Med*, 2009, 47:300-306.
- 57 Valdecantos MP, et al. Essential role of Nrf2 in the protective effect of lipoic acid against lipoapoptosis in hepatocytes. *Free Radical Biol Med*, 2015, 84:263-278.
- 58 Zhang HF, et al. Protective effects of matrine against progression of high-fructose diet-induced steatohepatitis by enhancing antioxidant and anti-inflammatory defences involving Nrf2 translocation. *Food Chem Toxicol*, 2013, 55:70-77.
- 59 Wang S, et al. Characterization of docosahexaenoic acid (DHA)-induced heme oxygenase-1 (HO-1) expression in human cancer cells: the importance of enhanced BTB and CNC homology 1 (Bach1) degradation. *J Nutr Biochem*, 2014, 25:515-525.
- 60 Li GX, et al. The antioxidant and anti-inflammatory activities of tocopherols are independent of Nrf2 in mice. *Free Radical Biol Med*, 2012, 52:1151-1158.
- 61 Lee BH, et al. Dimerumic acid attenuates receptor for advanced glycation endproducts signal to inhibit inflammation and diabetes mediated by Nrf2 activation and promotes methylglyoxal metabolism into D-lactic acid. *Free Radical Biol Med*, 2013, 60:7-16.
- 62 Hsu YY, et al. Berberine, a natural antidiabetes drug, attenuates glucose neurotoxicity and promotes Nrf2-related neurite outgrowth. *Toxicol Appl Pharm*, 2013, 272:787-796.
- 63 Lee BH, et al. Graptopetalum paraguayense and resveratrol ameliorates carboxymethyllysine (CML)-induced pancreas dysfunction and hyperglycemia. *Food Chem Toxicol*, 2013, 62:492-498.
- 64 Cao YW, et al. Protective effects of Penthorum chinense Pursh against chronic ethanol-induced liver injury in mice. *J Ethnopharmacol*, 2015, 161:92-98.
- 65 Kundu R, et al. (Leguminosae) prevents alcohol-induced rat liver damage and augments cytoprotective function. *J Ethnopharmacol*, 2008, 118:440-447.
- 66 Wang YL, et al. Celastrol prevents circulatory failure via induction of heme oxygenase-1 and heat shock protein 70 in endotoxemic rats. *J Ethnopharmacol*, 2015, 162:168-175.
- 67 Matthew J, et al. Nrf2 expression modifies influenza A entry and replication in nasal epithelial cells. *Free Radical Biol Med*, 2011, 51:444-453.
- 68 Ho WE, et al. Anti-malarial drug artesunate ameliorates oxidative lung damage in experimental allergic asthma. *Free Radical Biol Med*, 2012, 53:498-507.
- 69 Youn GS, et al. Celastrol ameliorates HIV-1 Tat-induced inflammatory responses via NF- κ B and AP-1 inhibition and heme oxygenase-1 induction in astrocytes. *Toxicol Appl Pharm*, 2014, 280:42-52.
- 70 Yang SM, et al. Osthole improves an accelerated focal segmental glomerulosclerosis model in the early stage by activating the Nrf2 antioxidant pathway and subsequently inhibiting NF- κ B-mediated COX-2 expression and apoptosis. *Free Radical Biol Med*, 2014, 73:260-269.
- 71 Luo ZF, et al. Effects of 4-phenylbutyric acid on the process and development of diabetic nephropathy induced in rats by streptozotocin: Regulation of endoplasmic reticulum stress-oxidative activation. *Toxicol Appl Pharm*, 2010, 246:49-57.
- 72 Park CH, et al. Rokumi-jio-gan-containing prescriptions regulate oxidative stress through improving dyslipidemia in a subtotal nephrectomized rat model. *J Ethnopharmacol*, 2013, 148:449-458.
- 73 Tsai PY, et al. Epigallocatechin-3-gallate prevents lupus nephritis development in mice via enhancing the Nrf2 antioxidant pathway and inhibiting NLRP3 inflammasome activation. *Free Radical Biol Med*, 2011, 51:744-754.
- 74 Zhang B, et al. Oxymatrine prevents hypoxia-and monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats. *Free Radical Biol Med*, 2014, 69:198-207.
- 75 Gómez-Guzmán M, et al. Epicatechin lowers blood pressure, restores endothelial function, and decreases oxidative stress and endothelin-1 and NADPH oxidase activity in DOCA-salt hypertension. *Free Radical Biol Med*, 2012, 52:70-79.
- 76 Tamaki N, et al. Resveratrol improves oxidative stress and prevents the progression of periodontitis via the activation of the Sirt1/AMPK and the Nrf2/antioxidant defense pathways in a rat periodontitis model. *Free Radical Biol Med*, 2014, 75:222-229.
- 77 Vanhee K, et al. Intrauterine exposure to flavonoids modifies antioxidant status at adulthood and decreases oxidative stress-induced DNA damage. *Free Radical Biol Med*, 2013, 57:154-161.
- 78 Gao AM, et al. Chrysin enhances sensitivity of BEL-7402/ADM cells to doxorubicin by suppressing PI3K/Akt/Nrf2 and ERK/Nrf2 pathway. *Chem-Biol Interact*, 2013, 206:100-108.
- 79 Bellezza I, et al. Inhibition of NF- κ B nuclear translocation via HO-1 activation underlies α -tocopheryl succinate toxicity. *J Nutr Biochem*, 2012, 23:1583-1591.
- 80 Stagos D, et al. Chemoprevention of liver cancer by plant

- polyphenols. *Food Chem Toxicol*, 2012, 50:2155-2170.
- 81 Cho HY, et al. Nrf2 protects against airway disorders. *Toxicol Appl Pharm*, 2010, 244:43-56.
- 82 Singh A, et al. Nrf2-dependent sul²⁺ redoxin-1 expression protects against cigarette smoke-induced oxidative stress in lungs. *Free Radical Biol Med*, 2009, 46:376-386.
- 83 Travis EL, et al. NRF2 deficiency reduces life span of mice administered thoracic irradiation. *Free Radical Biol Med*, 2011, 51:1175-1183.
- 84 Buelna-Chontal M, et al. Nrf2-regulated antioxidant response is activated by protein kinase C in postconditioned rat hearts. *Free Radical Biol Med*, 2014, 74:145-156.
- 85 Hsu YC, et al. Humic acid in drinking well water induces inflammation through reactive oxygen species generation and activation of nuclear factor- κ B/activator protein-1 signaling pathways: A possible role in atherosclerosis. *Toxicol Appl Pharm*, 2014, 274:249-262.
- 86 Brewer AC, et al. Nox4 regulates Nrf2 and glutathione redox in cardiomyocytes *in vivo*. *Free Radical Biol Med*, 2011, 51:205-215.
- 87 Bozaykut P, et al. Effects of vitamin E on peroxisome proliferator-activated receptor γ and nuclear factor-erythroid 2-related factor 2 in hypercholesterolemia-induced atherosclerosis. *Free Radical Biol Med*, 2014, 70:174-181.
- 88 Li ZL, et al. Oxidized casein impairs antioxidant defense system and induces hepatic and renal injury in mice. *Food Chem Toxicol*, 2014, 64:86-93.
- 89 Pi JB, et al. ROS signaling, oxidative stress and Nrf2 in pancreatic beta-cell function. *Toxicol Appl Pharm*, 2010, 244:77-83.
- 90 Lu H, et al. Nrf2 protects against 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD)-induced oxidative injury and steatohepatitis. *Toxicol Appl Pharm*, 2011, 256:122-135.
- 91 Chew EH, et al. Cinnamaldehydes inhibit thioredoxin reductase and induce Nrf2: potential candidates for cancer therapy and chemoprevention. *Free Radical Biol Med*, 2010, 48:98-111.
- 92 Niture SK, et al. Nrf2-induced antiapoptotic Bcl-xL protein enhances cell survival and drug resistance. *Free Radical Biol Med*, 2013, 57:119-131.
- 93 Lee CK, et al. Ginsenoside Rg3 enhances the chemosensitivity of tumors to cisplatin by reducing the basal level of nuclear factor erythroid 2-related factor 2-mediated heme oxygenase-1/NAD(P)H quinone oxidoreductase-1 and prevents normal tissue damage by scavenging cisplatin-induced intracellular reactive oxygen species. *Food Chem Toxicol*, 2012, 50:2565-2574.
- 94 Furfaro AL, et al. Resistance of neuroblastoma GL-ME-N cell line to glutathione depletion involves Nrf2 and heme oxygenase-1. *Free Radical Biol Med*, 2012, 52:488-496.
- 95 Zhao F, et al. Nrf2 promotes neuronal cell differentiation. *Free Radical Biol Med*, 2009, 47:867-879.
- 96 Mead RJ, et al. Shaw. S(+)-Apomorphine is a CNS penetrating activator of the Nrf2-ARE pathway with activity in mouse and patient fibroblast models of amyotrophic lateral sclerosis. *Free Radical Biol Med*, 2013, 61:438-452.
- 97 Escartin C, et al. The Nrf2 pathway as a potential therapeutic target for Huntington disease A commentary on “Triterpenoids CDDO-ethyl amide and CDDO-trifluoroethyl amide improve the behavioral phenotype and brain pathology in a transgenic mouse model of Huntington disease. *Free Radical Biol Med*, 2010, 49:144-146.
- 98 Jiang T, et al. Nrf2 protects against As(III)-induced damage in mouse liver and bladder. *Toxicol Appl Pharm*, 2009, 240:8-14.
- 99 Chen J, et al. Activation of Nrf2 by cadmium and its role in protection against cadmium-induced apoptosis in rat kidney cells. *Toxicol Appl Pharm*, 2009, 241:81-89.
- 100 Wang L, et al. Role of Nrf2 antioxidant defense in mitigating cadmium-induced oxidative stress in the olfactory system of zebrafish. *Toxicol Appl Pharm*, 2013, 266:177-186.
- 101 Wu KC, et al. Nrf2 activation prevents cadmium-induced acute liver injury. *Toxicol Appl Pharm*, 2012, 263:14-20.
- 102 Murugaiyan J, et al. Benzo[a]pyrene affects Jurkat T cells in the activated state via the antioxidant response element dependent Nrf2 pathway leading to decreased IL-2 secretion and redirecting glutamine metabolism. *Toxicol Appl Pharm*, 2013, 269:307-316.
- 103 Zheng Y, et al. Sulforaphane prevents pulmonary damage in response to inhaled arsenic by activating the Nrf2-defense response. *Toxicol Appl Pharm*, 2012, 265:292-299.
- 104 Forbes-Hernández TY, et al. The effects of bioactive compounds from plant foods on mitochondrial function: A focus on apoptotic mechanisms. *Food Chem Toxicol*, 2014, 68:154-182.
- 105 Dinkova-Kostova AT, et al. The emerging role of Nrf2 in mitochondrial function. *Free Radical Biol Med*, 2015, 303:179-188.