

瞿麦汤调控 Nrf2/ARE 信号通路对肾草酸钙结石大鼠氧化应激损伤作用机制研究

颜春鲁^{1,2}, 安方玉^{1,2*}, 刘永琦^{1,2}, 王继龙^{1,2}, 刘雪松¹, 赵文坤¹, 杨晓蓉¹, 潘婷¹(1.甘肃中医药大学, 兰州 730000; 2.敦煌医学与转化教育部重点实验室, 兰州 730000)

摘要: 目的 研究敦煌医方瞿麦汤对肾草酸钙结石模型鼠核因子 E2 相关因子 2(nuclear factor erythroid-2 related factor 2, Nrf2)/抗氧化反应原件(antioxidant response element, ARE)信号通路的影响, 探讨其机制。方法 60 只 SD 大鼠随机分为空白对照组、模型组、肾石通颗粒(5 g·kg⁻¹)组和敦煌医方瞿麦汤高、中、低剂量(20, 10, 5 g·kg⁻¹)组。除空白对照组外, 其余各组大鼠采用 1%乙二醇+2%氯化铵的溶液联合灌胃法制备大鼠肾草酸钙结石模型, 同时给予相应药物, 连续 28 d。末次给药结束后, 检测各组大鼠的体质量、肾指数, 检测大鼠血清中 SOD 活性、MDA 含量、T-AOC 含量, HE 染色法观察各组大鼠肾组织的病理形态学变化, RT-PCR 法检测肾组织 Nrf2 mRNA 和 NQO1 mRNA 的表达, 免疫组化法检测肾组织 Nrf2 和 ARE 的蛋白表达。结果 与空白对照组比较, 模型组大鼠肾指数和 MDA 的含量均增加($P<0.05$), 其体质量、SOD 活性、T-AOC 含量、Nrf2 的基因表达和蛋白表达均下降, NQO1 的基因表达下降($P<0.05$), ARE 的蛋白表达下降($P<0.05$); 与模型组比较, 敦煌医方瞿麦汤各剂量组肾指数下降($P<0.05$), 其体质量升高($P<0.05$); 敦煌医方瞿麦汤中、高剂量组 MDA 含量下降($P<0.05$), Nrf2 mRNA 和 NQO1 mRNA 的表达均升高($P<0.05$), Nrf2 和 ARE 的蛋白表达均升高($P<0.05$); 高剂量组 T-AOC 含量升高($P<0.05$)。结论 肾草酸钙结石模型鼠存在氧化应激损伤, 敦煌医方瞿麦汤可通过上调 Nrf2/ARE 信号通路相关因子表达抑制肾结石的形成来发挥治疗作用。

关键词: 瞿麦汤; 肾结石; 氧化应激

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2019)17-2119-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.17.002

引用本文: 颜春鲁, 安方玉, 刘永琦, 等. 瞿麦汤调控 Nrf2/ARE 信号通路对肾草酸钙结石大鼠氧化应激损伤作用机制研究[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(17): 2119-2123.

Mechanism Exploration of Qumai Decoction on the Oxidative Stress Damage in Calcium Oxalate Stone Rats via Nrf2/ARE Signal Pathway

YAN Chunlu^{1,2}, AN Fangyu^{1,2*}, LIU Yongqi^{1,2}, WANG Jilong^{1,2}, LIU Xuesong¹, ZHAO Wenkun¹, YANG Xiaorong¹, PAN Ting¹(1.Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China; 2.Key Laboratory of Dunhuang Medicine, Ministry of Education, Lanzhou 730000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the nuclear factor erythroid-2 related factor 2/antioxidant response element (Nrf2/ARE) pathway effect of Dunhuang Yifang Qumai decoction on calcium oxalate nephrolithiasis rats and explore its possible mechanism. **METHODS** Sixty male SD rats were randomly divided into six groups: blank control group, model group, Shenshitong granules group(5 g·kg⁻¹), high, middle and low dose group of Dunhuang Yifang Qumai decoction(20, 10, 5 g·kg⁻¹). Except those in the blank control group, calcium oxalate nephrolithiasis model rats were induced by 1% ethylene glycol and 2% ammonium chloride(2% NH₄Cl), and treated with corresponding drugs for 28 d. After the last treatment, the body weight and the kidney index were monitored of each group, the levels of SOD, MDA and T-AOC in serum were detected and the pathomorphological changes of renal tissue were observed by HE stain, the expression levels of Nrf2, NQO1 mRNA were analyzed by RT-PCR, the expression levels of Nrf2, ARE protein were observed by immunohistochemistry. **RESULTS** Compared with blank control group, MDA content, kidney index obviously increased in model group($P<0.05$), and weight body, SOD activity, T-AOC content, Nrf2 gene expression, NQO1 gene expressions, Nrf2 protein expression, ARE protein expression significantly decreased in model group ($P<0.05$). Compared with model group, Qumai decoction could significantly reduce the index of kidney, Qumai decoction could significantly increase the weight body; at the same time, high and middle dose group of Qumai decoction could obviously decrease the content of MDA, increase the activity of SOD, and increase the expression levels of Nrf2, NQO1 mRNA and the expression levels of Nrf2, ARE protein ($P<0.05$); high dose group of Qumai decoction could obviously increase the level of T-AOC ($P<0.05$). **CONCLUSION** Harmed oxidative stress in calcium oxalate nephrolithiasis

基金项目: 敦煌医学与转化省部共建教育部重点实验室开放基金项目(DHYX17-08, DHYX17-09); 甘肃省教育厅就业创业能力提升工程项目(6-1); 甘肃中医药大学教学研究与教学改革项目(ZH-201606)

作者简介: 颜春鲁, 男, 博士, 副教授 Tel: 13893303982 E-mail: yanchl1979@126.com *通信作者: 安方玉, 女, 硕士, 副教授 Tel: (0931)8765422 E-mail: anfyuwmh@163.com

model rats, Dunhuang Yifang Qumai decoction could effectively inhibit the formation of calcium oxalate stone in rats via increasing the relevant cytokines expressions of Nrf2/ARE pathways.

KEYWORDS: Qumai decoction; nephrolithiasis; oxidative stress

泌尿外科最常见的疾病是尿路结石,以泌尿系统形成晶体物质为主要病理改变,临床症状以阻塞、感染为主征,结石目前已经成为严重威胁人类健康的一类泌尿外科高发疾病^[1-2]。临床治疗以药物治疗和微创外科手术碎石为主,但手术后的高复发率和并发症等问题尚未有效解决^[3]。药物治疗中主要采用柠檬酸盐和噻嗪类利尿剂,其不良反应比较大,限制了其临床应用。因此,如何找到一种安全、高效、低毒、价廉的结石防治药物,成为医学界关注的焦点。近年来,随着研究的深入,以青蒿素、喜树碱、紫杉醇、银杏叶和金丝桃素等为代表的中药材在肾结石治疗中的显著疗效引起了研究者的广泛关注。在敦煌医方中,瞿麦汤具有清热利湿、通淋排石之功效,对肾结石可能具有治疗作用。因此,本研究以乙二醇联合氯化铵连续灌胃 28 d 制作大鼠肾草酸钙结石模型,并用敦煌医方瞿麦汤对肾结石大鼠进行干预,观察并探讨敦煌医方瞿麦汤在肾结石模型鼠核因子 E2 相关因子 2(nuclear factor erythroid-2 related factor 2, Nrf2)/抗氧化反应原件(antioxidant response element, ARE)信号通路中扮演的角色,为敦煌医方瞿麦汤的临床应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF 级 SD 大鼠 60 只,♂,体质量(180±20)g,购自甘肃中医药大学科研实验中心动物饲养室。合格证号:SCXK(甘)2011-0001。

1.2 药物

瞿麦汤主要由瞿麦 15 g、石韦 30 g、滑石 30 g、石膏 30 g 等组成。具体换算方法可以参考陈奇主编《中药药理实验方法学》,瞿麦汤人常用剂量是 105 g·d⁻¹,换算成标准体质量大鼠的剂量为每只大鼠 105×0.018=1.89 g,按照大鼠的标准体质量为 200 g,则大鼠的剂量为 9.45 g·kg⁻¹。取敦煌医方瞿麦汤高、中、低剂量分别为 20, 10, 5 g·kg⁻¹。肾石通颗粒(修正药业集团股份有限公司,批号:Z720382)。

1.3 试剂及仪器

超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒(批号:20180717)、MDA 试剂盒(批号:20170915)和 T-AOC 试剂盒(批号:20170904)均来自南京建成生

物工程研究所;Trizol Reagent 试剂(Sigma,批号:47123);GoScriptTM Reverse Transcription System 试剂盒(批号:0000073135)和 GoTaq qPCR Master Mix 试剂盒(批号:0000121531)均来自 Promega;大鼠 Nrf2 一抗(批号:B7702)、ARE 一抗(批号:B5903)和 GAPDH 抗体(批号:B4501)均来自 Immuno Way;Nrf2 和醌氧化还原酶(NQO1)引物序列由 Takara 公司设计并合成。

FA2004N 型电子天平(上海精密科学仪器有限公司);V1500 型可见分光光度计(上海美析仪器有限公司);ZY12306 型微量加样器(Sciencetific 公司);TDZ5-WS 型医用离心机(湖南平凡科技有限公司);Q5000 超微量紫外可见分光光度计(北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司);S1000TM Thermal Cycler(BIO-RAD);7500 Real Time PCR System[英潍捷基(上海)贸易有限公司];BX53 型显微镜(日本 OLYMPUS 公司)。

1.4 动物分组、造模及给药

将 60 只 SD 大鼠随机分为空白对照组、模型组、肾石通颗粒组、敦煌医方瞿麦汤高、中、低剂量组,每组 10 只。参照文献[4],除空白对照组外,各组采用 1%乙二醇+2%氯化铵的混合液 2 mL·d⁻¹灌胃造模,连续 28 d;造模同时给予药物干预,肾石通颗粒组给予肾石通颗粒(2.7 g·kg⁻¹)灌胃治疗,敦煌医方瞿麦汤组按高、中、低剂量(20, 10, 5 g·kg⁻¹)灌胃治疗,空白对照组和模型组大鼠给予等体积蒸馏水灌胃,每日 1 次,连续 4 周。末次给药 24 h 后,称量各组动物体质量,4%水合氯醛(3 mg·kg⁻¹)腹腔注射麻醉动物后股动脉采血,颈椎脱臼处死动物,摘取动物的肾脏备用。

1.5 指标测定及方法

1.5.1 动物体质量及肾指数测定 称量各组大鼠体质量、肾脏质量,并计算肾指数。

肾指数(mg·g⁻¹)=肾质量(mg)/体质量(g)

1.5.2 血清生化指标测定 末次给药后,股动脉采血,静置 2~3 h,1 500 r·min⁻¹离心 10 min,分离血清。比色分析法检测血清 SOD 活性、MDA 和 T-AOC 含量。具体操作按试剂盒说明书进行。

1.5.3 肾组织的病理形态改变 4%多聚甲醛固定肾组织,采用石蜡包埋法制作蜡块,并用切片机切片,切片厚度约 5 μm,HE 染色,封片、镜检。

1.5.4 肾组织 Nrf2 和 NQO1 基因表达测定 用 RNA 抽提试剂提取肾组织 RNA, Q5000 测定 RNA 含量。按 Promega 试剂盒说明书步骤合成 cDNA 第一链, 按 Promega 实时荧光定量试剂盒操作说明书进行 PCR 反应, 反应条件: 预变性 95 ℃、2 min, 变性 95 ℃、15 s, 退火 58 ℃、45 s, 延伸 60 ℃、1 min。共 45 个循环。每个样品各重复 3 次, 数据经 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 处理后进行 Nrf2 和 NQO1 基因相对表达量分析。

1.5.5 肾组织 Nrf2 和 ARE 蛋白表达测定 经预试验确定 Nrf2 和 ARE 的浓度分别为 1:100 和 1:300, 同时用 PBS 缓冲液代替一抗设立阴性对照, 染色步骤按试剂盒说明书进行。以肾小管出现黄色或黄褐色为阳性表达。实验结果的具体判定方法及判定标准参考文献[5]进行。

1.6 统计学分析

采用 SPSS 21.0 分析软件, 实验数据所得结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析(One-Way-Anova), $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 对肾草酸钙结石模型大鼠体质量及肾指数的影响

与空白对照组比较, 模型组大鼠体质量明显降低, 肾指数明显升高($P < 0.05$); 与模型组比较, 敦煌医方瞿麦汤各剂量组和肾石通颗粒组大鼠体质量明显升高, 肾指数显著降低($P < 0.05$)。结果见表 1。

表 1 敦煌医方瞿麦汤对肾草酸钙结石模型大鼠体质量及肾指数的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab. 1 Effect of Dunhuang Yifang Qumai decoction on body weight, kidney index of last administration in kidney stones rats($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	体质量/g	肾指数/mg·g ⁻¹
空白对照组	—	273.12±30.43	9.18±0.32
模型组	—	185.59±15.61 ¹⁾	15.44±0.17 ¹⁾
肾石通颗粒组	2.7	252.91±23.45 ²⁾	10.15±0.26 ²⁾
敦煌医方瞿麦汤			
高剂量组	20	248.16±21.39 ²⁾	9.75±0.15 ²⁾
中剂量组	10	227.75±17.51 ²⁾	11.23±0.11 ²⁾
低剂量组	5	215.92±25.19 ²⁾	12.31±0.21 ²⁾

注: 与空白对照组比较, ¹⁾ $P < 0.05$; 与模型组比较, ²⁾ $P < 0.05$ 。
Note: Compared with blank control group, ¹⁾ $P < 0.05$; compared with the model group, ²⁾ $P < 0.05$.

2.2 对肾草酸钙结石模型大鼠血清生化指标 SOD 活性、MDA 含量和 T-AOC 含量的影响

与空白对照组比较, 模型组肾组织 SOD 活性

和 T-AOC 含量均明显降低, MDA 含量明显升高($P < 0.05$); 与模型组比较, 敦煌医方瞿麦汤中、高剂量大鼠和肾石通颗粒组肾组织 SOD 活性明显升高, MDA 含量明显降低, 高剂量组和肾石通颗粒组 T-AOC 含量明显升高($P < 0.05$)。结果见表 2。

表 2 敦煌医方瞿麦汤对肾草酸钙结石模型大鼠 SOD 活性、MDA 和 T-AOC 含量的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab. 2 Effect of Dunhuang Yifang Qumai decoction on levels of SOD, MDA and T-AOC in kidney stones rats($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	SOD/U·mL ⁻¹	MDA/nmol·mL ⁻¹	T-AOC/U·mL ⁻¹
空白对照组	—	515.93±52.44	8.38±0.23	7.39±1.28
模型组	—	369.75±68.44 ¹⁾	14.14±0.15 ¹⁾	4.06±1.53 ¹⁾
肾石通颗粒组	2.7	457.08±63.50 ²⁾	10.53±0.34 ²⁾	5.35±1.17 ²⁾
敦煌医方瞿麦汤				
高剂量组	20	487.26±95.65 ²⁾	9.87±0.11 ²⁾	6.69±1.93 ²⁾
中剂量组	10	391.88±74.02 ²⁾	11.81±0.23 ²⁾	4.78±1.28
低剂量组	5	384.69±85.87	12.52±0.13	4.31±1.39

注: 与空白对照组比较, ¹⁾ $P < 0.05$; 与模型组比较, ²⁾ $P < 0.05$ 。
Note: Compared with blank control group, ¹⁾ $P < 0.05$; compared with the model group, ²⁾ $P < 0.05$.

2.3 对肾草酸钙结石模型大鼠肾组织病理形态改变的影响

空白对照组大鼠肾小球和肾小管结构均正常, 未见病理性改变; 模型组大鼠可见肾小管管腔明显扩张, 管壁变薄, 也可见部分肾小管萎缩、甚至消失, 肾小管腔内有少量分泌液(箭头所示); 敦煌医方瞿麦汤低剂量组肾小管明显扩张(见箭头所示), 中、高剂量组和肾石通颗粒组大鼠肾小管轻度扩张, 未见明显的肾小管萎缩和肾小管腔内的分泌液现象(见箭头所示)。结果见图 1。

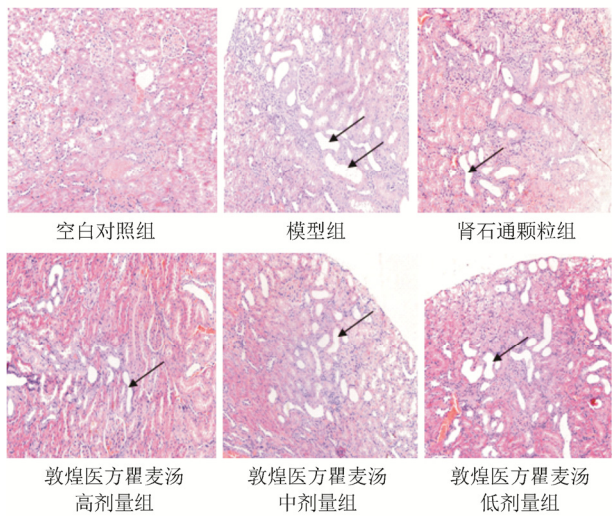


图 1 肾组织病理学形态(HE, 200×)

Fig. 1 Pathological morphology of kidney(HE, 200×)

2.4 对肾草酸钙结石模型大鼠肾组织 Nrf2 和 NQO1 mRNA 表达的影响

与空白对照组比较, 模型组肾组织 Nrf2 和 NQO1 mRNA 表达明显降低($P<0.05$); 与模型组比较, 敦煌医方瞿麦汤中、高剂量组大鼠肾组织 Nrf2 和 NQO1 mRNA 表达明显升高($P<0.05$)。结果见表 3。

表 3 敦煌医方瞿麦汤对肾草酸钙结石模型大鼠 Nrf2 和 NQO1 mRNA 表达的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

Tab. 3 Effect of Dunhuang Yifang Qumai decoction on mRNA expressions of Nrf2 and NQO1 in kidney stones rats ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	Nrf2/2 ^{-ΔΔCt}	NQO1/2 ^{-ΔΔCt}
空白对照组	—	1.00±0.04	0.96±0.06
模型组	—	0.59±0.16 ¹⁾	0.55±0.11 ¹⁾
肾石通颗粒组	2.7	1.24±0.17 ²⁾	1.16±0.16 ²⁾
敦煌医方瞿麦汤			
高剂量组	20	1.19±0.11 ²⁾	1.05±0.07 ²⁾
中剂量组	10	0.97±0.09 ²⁾	1.13±0.03 ²⁾
低剂量组	5	0.63±0.05	0.87±0.29

注: 与空白对照组比较, ¹⁾ $P<0.05$; 与模型组比较, ²⁾ $P<0.05$ 。

Note: Compared with blank control group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with the model group, ²⁾ $P<0.05$.

2.5 对肾草酸钙结石模型大鼠肾组织 Nrf2 和 ARE 蛋白表达的影响

空白对照组肾小管 Nrf2 和 ARE 蛋白阳性表达(箭头所示), 与空白组比较, 模型组和敦煌医方瞿麦汤低剂量组大鼠肾小管 Nrf2 和 ARE 蛋白表达明显下降; 与模型组比较, 敦煌医方瞿麦汤中、高剂量组大鼠肾小管 Nrf2 和 ARE 蛋白强阳性表达。结果见图 2~3。

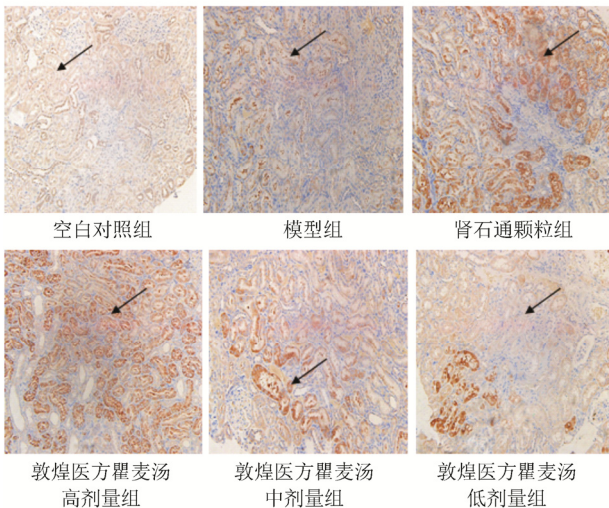


图 2 各组大鼠肾组织 Nrf2 蛋白的阳性细胞表达结果(免疫组化, 200×)

Fig. 2 Expression of Nrf2 positive cell in each group(IHC, 200×)

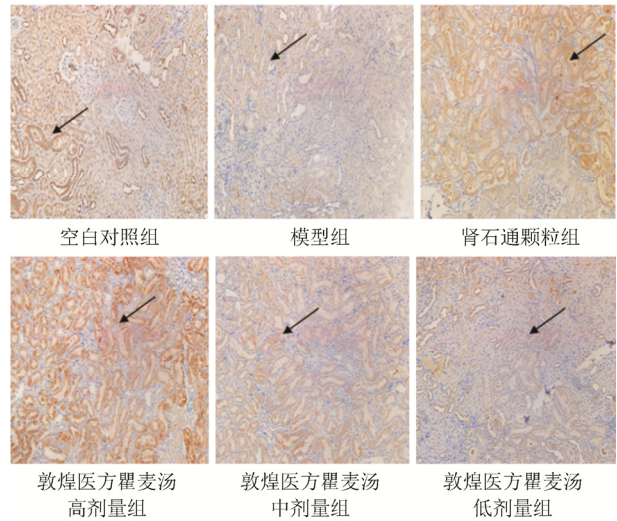


图 3 各组大鼠肾组织 ARE 蛋白的阳性细胞表达结果(免疫组化, 200×)

Fig. 3 Expression of ARE positive cell in each group (IHC, 200×)

3 讨论

越来越多的研究表明, 在机体的氧化应激反应中, Nrf2 属于碱性亮氨酸拉链(bZIP)蛋白家族成员, 是调节抗氧化应激反应的重要核转录因子, Nrf2/ARE 信号通路可能会成为治疗肾脏疾病的有效靶点^[6]。Nrf2 是一种发挥细胞自我保护作用的重要转录因子, 具有抗氧化、维持内环境稳定及免疫监视等生理活性。Nrf2 不仅是生理条件下细胞自我保护的转录因子, 还是机体在病理状态下发挥重要抗氧化应激和防御外源性有毒物质入侵的感受器^[7]。当机体发生氧化应激损伤后, 与 Keap1 解除偶联的 Nrf2 进入细胞核, 与 Maf 蛋白和 ARE 结合, 启动 Nrf2 的下游靶基因的转录, 提高细胞抗氧化应激的能力^[8]。ARE 是机体重要的抗氧化反应元件, 研究发现, Nrf2 与 ARE 结合通过启动 II 相代谢酶和抗氧化酶的基因表达来保护机体组织细胞的正常功能^[9]。Nrf2 的下游靶基因包括 II 相解毒酶和抗氧化酶。II 相解毒酶和抗氧化酶主要包括 GST、还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸[NAD(P)H]、SOD、血红素氧化酶-1(HO-1)、谷胱氨半胱氨酸连接酶(GCLC)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、NQO1 等^[10-11], 这些解毒酶和抗氧化酶组成了一个强大的抗氧化防御体系。NQO1 是一种黄素蛋白酶, 其作为电子供体催化醌类及其衍生物还原并降解其毒性, 减少 ROS 的产生, 保护细胞免受氧化应激反应的损伤^[12]。Kaspar 等^[13]研究发现, NQO1 作为 Nrf2 的下游产

物, Nrf2 的激活可刺激 NQO1 的表达。SOD 是生物体清除氧自由基的关键酶, 被称为机体天然的垃圾清道夫。SOD 可以将机体产生的超氧自由基转变为 H_2O_2 和水, 催化生成的 H_2O_2 又可以被机体的 GSH-Px 和 CAT 转化为水, 从而保护细胞免受氧化应激损伤^[14]。有研究发现^[15-16], 某些中药可以通过激活 Nrf2, 进而促进 SOD 的表达来增强机体的抗氧化作用, 进而保护机体。本研究结果也发现, 给予敦煌医方瞿麦汤干预治疗后, 可提高大鼠肾组织 SOD 活性、T-AOC 含量、Nrf2 和 ARE 的蛋白表达、Nrf2 和 NQO1 的基因表达, 降低其 MDA 含量, 推测敦煌医方瞿麦汤通过激活 Nrf2/ARE 信号通路和其下游靶基因 NQO1 和 SOD 的表达来增强机体的抗氧化作用, 进一步抑制草酸钙结石的形成, 达到治疗肾结石的目的。

综上所述, 敦煌医方瞿麦汤能抑制肾结石的形成, 其机制可能与激活 Nrf2/ARE 信号通路有关, 本研究结果为临床使用瞿麦汤防治肾结石提供了依据。

REFERENCES

- [1] LI X R, YUE Z J, PEI W, et al. Comparison of four renal calcium oxalate calculus models [J]. J Mod Urol(现代泌尿外科杂志), 2013, 18(4): 329-331, 338.
- [2] LI W W. Systematic evaluation of the effect of tamsulosin hydrochloride sustained release capsules combined with hydrochlorothiazide tablets in the treatment of ureteral calculi [J]. Northwest Pharm J(西北药学杂志), 2017, 32(3): 367-370.
- [3] STROHMAIER W L. Course of calcium stone disease without treatment, What can we expect [J]. Eur Urol, 2000, 37(3): 339-344.
- [4] ZHOU Y, WANG S, TANG C B, et al. Study on inhibitory effect of EGCC on Calcium oxalate nephrolithiasis in rats and its related mechanism [J]. Chin J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2015, 40(7): 1376-1380.
- [5] JIA B C, GUAN J, DAI X P, et al. Expression and clinical significance of Nrf2 and HO-1 in oral squamous cell carcinoma [J]. J Oral Sci Res(口腔医学研究), 2017, 33(2): 207-210.
- [6] JING L L, YANG Y, WU N G, et al. Study on the efficacy and mechanism of liver cancer induced by DEN in rats of alkaloids of *Sophorae Tonkinensis radix* et Rhizoma [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2018, 35(3): 370-374.
- [7] GUAN C W, JIN J, LI J, et al. Tanshinone II A protects against triptolide-induced liver injury via Nrf2/ARE activation [J]. Acta Pharm Sin(药学学报), 2013, 48(9): 1397-1402.
- [8] BRYAN H K, OLAYANJU A, GOLDRING C E, et al. The Nrf2 cell defence pathway: Keap1-dependent and independent mechanism of regulation [J]. Biochem Pharmacol, 2013, 85(6): 705-717.
- [9] 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]. J Biol Chem, 1991, 266(18): 11632-11639.
- [10] ZHANG M, AN C, GAO Y, et al. Emerging roles of Nrf2 antioxidant enzymes in neuroprotection [J]. Progress Neurobiol, 2013, 100(1): 30-47.
- [11] DE VRIES H E, WITTE M, HONDIUS D, et al. Nrf2 induced antioxidant protection: a promising target to counteract ROS-mediated damage in neurodegenerative disease [J]. Free Radic Bio Med, 2008, 45(10): 1375-1383.
- [12] EIZIRIK D L, FLODSTROM M, KARLSEN A E, et al. The harmony of the spheres: inducible nitric oxide synthase and related genes in pancreatic beta cells [J]. Diabetologia, 1996, 39(8): 875-890.
- [13] KASPAR J W, JAISWAL A K. Antioxidant-induced phosphorylation of tyrosine 486 leads to rapid nuclear export of Bach1 that allows Nrf2 to bind to the antioxidant response element and activate defensive gene expression [J]. J Biol Chem, 2010, 285(1): 153-162.
- [14] HU L F, WANG Y, REN R J, et al. Anti-oxidative stress actions and regulation mechanisms of Keap1-Nrf2/ARE signal pathway [J]. J Int Pharm Res(国际药学研究杂志), 2016, 43(1): 146-152, 166.
- [15] TANAKA Y, MAHER J M, CHEN C, et al. Hepatic ischemia-reperfusion induces renal hemeoxygenase-1 via NF-E2-related factor 2 in rats and mice [J]. Mol Pharmacol, 2007, 71(3): 817-825.
- [16] RUBIOLO J A, MITHIEUX G, VEGA F V. Resveratrol protects primary rat hepatocytes against oxidative stress damage: activation of the Nrf2 transcription factor and augmented activities of antioxidant enzymes [J]. Eur J Pharmacol, 2008, 591(1-3): 66-72.

收稿日期: 2018-12-27

(本文责编: 蔡珊珊)