

Nrf2 通路在糖尿病视网膜病变中的研究进展

张思远 综述 吕红彬 审校

646000 泸州,西南医科大学附属医院眼科

通信作者:吕红彬,Email:oculistlvhongbin@163.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2016.05.017

【摘要】 糖尿病视网膜病变(DR)作为糖尿病的一种严重并发症,可能导致严重的视力下降或丧失。核因子 E2 相关因子 2(Nrf2)是一种在氧化应激及炎症相关组织损伤中发挥重要作用的氧化还原敏感转录因子。越来越多的研究表明,Nrf2 在 DR 的发生和发展中起着重要作用。本文就 Nrf2 通路在糖尿病、DR 发病中的作用及其与血管内皮生长因子(VEGF)表达的相关性进行综述。

【关键词】 核因子 E2 相关因子 2; 糖尿病视网膜病变; 氧化应激; 血管内皮生长因子

基金项目: 四川省科技厅基金项目 (14JC01723-LH36)

Progress on Nrf2 pathway in diabetic retinopathy Zhang Siyuan, Lyu Hongbin

Department of Ophthalmology, the Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, China

Corresponding author: Lyu Hongbin, Email: oculistlvhongbin@163.com

【Abstract】 Diabetic retinopathy (DR) is a serious complication of diabetes mellitus, which leads to vision loss or even blindness. Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) is a redox-sensitive transcription factor and plays an important role in oxidative stress and tissue injury associated with inflammation. More and more evidences show that Nrf2 play an important role in the onset and development of DR. This paper reviewed the role of Nrf2 pathway in diabetes mellitus and DR, and correlation between Nrf2 pathway and vascular endothelial growth factor (VEGF) expression.

【Key words】 Nuclear factor erythroid 2-related factor 2; Diabetic retinopathy; Oxidative stress; Vascular endothelial growth factor

Fund program: Science and Technology Department Project of Sichuan Provincial (14JC01723-LH36)

糖尿病是由遗传和环境因素共同作用引起的胰岛素抵抗及胰岛素相对分泌不足,以慢性高血糖和糖脂、蛋白质代谢紊乱为主要特点的临床综合征^[1]。糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)作为糖尿病最严重和最常见的微血管并发症之一,是造成具有劳动能力的人群视力下降甚至盲的主要原因。已确诊的糖尿病患者中,DR 的患病率为 27.9%,在新诊断的糖尿病患者中,DR 的发病率为 10.5%,在发展中国家 DR 发病率更高^[2]。DR 发病机制尚不十分明确,越来越多的研究表明,氧化应激反应在诱发糖尿病形成及 DR 发生和发展中发挥着极重要的作用^[3]。核因子 E2 相关因子 2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)信号通路是迄今为止发现的最为重要的内源性抗氧化应激通路,在氧化应激与炎症相关组织损伤中发挥重要作用^[4-5]。本文就 Nrf2 信号通路与 DR 的研究现状进行综述。

1 Nrf2 通路简介

Nrf2 是一个富含亮氨酸拉链结构(bZIP)的转录因子,属

于 CNC 转录因子家族成员,其结构包含 7 个高度保守的 ECH 同源结构域(Nrf2-ECH homology, Neh)。Neh1 区是 bZIP DNA 结合区,能保证 Nrf2 与抗氧化反应元件(antioxidant responsive element, ARE)结合;除此之外,Neh1 区与 UbcM2、E2 泛素链接酶结合,调节 Nrf2 蛋白的稳定性^[6]。Neh2 区介导 Nrf2 与胞质抑制因子 Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白 1(Kelch-like ECH-associated protein 1, Keap 1)的结合^[7]。Neh3 区位于 Nrf2 羧基末端,协助 Nrf2 与染色质重塑蛋白 CHD6 结合进行反式激活^[8]。Neh4 和 Neh5 区共同结合另一种转录共激活因子 CBP,参与 Nrf2 转录活性的调控^[9]。Neh6 区对氧化还原反应不敏感,其包含的 DSGIS 和 DSAPGS 序列能与 β -TrCP 结合,是非 Keap1 依赖的 Nrf2 降解调控域^[10]。Wang 等^[11]研究发现了新的 Neh7 区,它能与维甲酸受体 α 结合,并能抑制 Nrf2 目的基因的表达。

Keap1 也称为 INRF(inhibitor of NRF2),以二聚体的形式存在。Keap1 包含 N 端结构域、BTB/POZ 结构域、中间结构域、Kelch 结构域和 C 端结构域 5 个区域。在正常生理稳态下,

Keap1 和 Nrf2 在细胞质中形成复合体,并通过 keap1 介导的泛素化对 Nrf2 持续降解,以此维持 Nrf2 表达的稳定性而非活性状态^[12]。当细胞或机体受到内外源性的活性产物或化学物质刺激后,Nrf2 与 Keap1 解离并转位进入细胞核,活化的 Nrf2 与靶基因上游的 ARE 结合,从而启动下游抗氧化基因和 II 相解毒酶等的表达^[13]。进一步研究表明,Keap1 还可以通过包含有磷酸甘油酸变位酶的三元复合物将 Nrf2 扣押于线粒体内,当受到线粒体应激时,Nrf2 的活性即会增强^[14]。

活化的 Nrf2 进入细胞核后通过其碱性亮氨酸拉链与 Maf 蛋白结合形成异二聚体后识别并结合 ARE,进而启动受 ARE 调控的基因。Nrf2 信号通路主要调控的下游基因可分为 3 类:(1)抗氧化蛋白:血红素加氧酶-1(heme oxygenase-1, HO-1)、谷氨酰半胱氨酸连接酶、谷胱甘肽过氧化物酶、硫氧还蛋白、硫氧还蛋白还原酶、过氧化物酶基因,其具有保持细胞内谷胱甘肽(glutathione, GSH)水平,降低活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平的功能。(2)II 相解毒酶:谷胱甘肽 S-转移酶、NAD(P)H 苯醌氧化还原酶、UDP 葡萄糖醛基转移酶,其在体内主要发挥分解外源性有毒物质、促进有毒物质的代谢与消除的作用。(3)转运蛋白:多药耐药相关蛋白,其主要作用是控制内源性物质与外源性物质的输出和摄取^[15]。Nrf2 信号通路通过对其下游目的基因的调控,在细胞抗氧化应激及炎症反应中发挥保护作用。

2 Nrf2 通路与糖尿病

2.1 Nrf2 通路对胰岛 β 细胞的作用

正常生理状态下,机体 ROS 和活性氮(reactive nitrogen species, RNS)的产生与清除之间处于动态平衡。细胞本身具有抗氧化机制抑制氧化应激,而糖尿病患者体内抗氧化防御系统功能障碍,导致 ROS 和 RNS 产生过多,造成机体蛋白和核酸等生物大分子及组织细胞损伤,发生氧化应激。Nrf2 通过调控其下游抗氧化酶超氧化物歧化酶、抗氧化因子 GSH 和 HO-1 等的表达,能够清除 ROS,抑制氧化应激。Kaneto 等^[16]已经证实葡萄糖胺能够诱导体外分离的大鼠胰岛 β 细胞生成过氧化氢,过氧化氢能够诱导高糖状态下的氧化应激反应损伤胰岛 β 细胞及功能,而这种作用在抗氧化剂的干预下得到明显逆转。Yagishita 等^[17]利用基因工程小鼠研究发现,Nrf2 激活能够抑制胰岛氧化应激所致的氧化 DNA 加合物形成并修复胰岛素分泌功能,Nrf2 还能够抑制体外分离的胰岛和 β 细胞系中 ROS 的蓄积,诱导 GSH 相关基因的表达及降低 β 细胞的凋亡,证实 Nrf2 能够保护胰岛 β 细胞免受氧化应激损伤。系统性及 β 细胞特异性的 Nrf2 基因敲除小鼠的 β 细胞功能明显受损。

除此之外,Nrf2 通路可以通过增强抗氧化酶类的表达^[18],抑制炎症反应^[19],加强蛋白酶体催化亚基的表达^[20],维持胰岛细胞的自噬作用^[21]等多条途径减轻氧化应激对胰岛 β 细胞的损伤作用。

2.2 对胰岛素抵抗的作用

氧化应激在胰岛素抵抗中作用的确切机制尚未完全明确,研究表明 Nrf2 通路与胰岛素信号通路有着密切关系,在胰岛素

抵抗的发生和发展中有着至关重要的作用^[22]。

Aleksunes 等^[23]按 200 mg/kg 的剂量一次性注射链脲佐菌素诱导 1 型糖尿病小鼠,发现 Nrf2^{-/-}糖尿病小鼠较野生型糖尿病小鼠基础血清胰岛素水平降低,血糖水平持续升高,这可能与肝脏中糖酵解相关基因的表达减少和糖异生相关基因的表达增加有关。Aleksunes 等^[23]研究表明 Nrf2 缺失会导致胰岛素抵抗增加及血糖的增加,而 Chartoumpakis 等^[24]用高脂饲料分别喂养野生型小鼠及 Nrf2 敲除小鼠 180 d 后,发现高脂饲料喂养的 Nrf2 敲除小鼠体质量及血糖基础水平较高脂饲料喂养的野生型小鼠明显降低,而胰岛素敏感性及糖耐量明显增加,表明 Nrf2 敲除小鼠对高脂饮食引起的肥胖及胰岛素抵抗有着长期的保护作用,这与 Nrf2 敲除小鼠中成纤维生长因子 21 在肝脏及白色脂肪组织中表达显著增加有着密切关系。以上 2 个矛盾的研究结果可能与 1 型和 2 型糖尿病发病机制不同,Nrf2 通路对不同糖尿病类型胰岛素抵抗的差异性作用有关。

Yu 等^[25]研究发现,Nrf2 激动剂奥替替拉能够阻止高脂饲料喂养的 C57BL/6J 小鼠模型氧化应激,抑制小鼠肥胖症及胰岛素抵抗的发生,提高胰岛素的敏感性。姜黄素是一种 Nrf2 天然激动剂,能够减少肥胖所致糖尿病鼠的胰岛素抵抗,这与其能够减轻肝脏炎症和降低核转录因子- κ B(nuclear factor κ B, NF- κ B)的活性有关,即通过抑制脂肪、肝脏、全身炎症从而发挥作用^[26]。同时,He 等^[27]研究发现,姜黄素还可以通过激活 Nrf2 通路维持肌肉线粒体氧化还原平衡,进而提高胰岛素的敏感性。

3 Nrf2 通路与 DR

3.1 Nrf2 通路的抗氧化应激作用

糖尿病患者在高糖环境下不断产生 ROS,不仅可导致细胞线粒体、内质网的严重损害,同时其对 DNA 的损伤将直接诱导细胞凋亡。在线粒体受损时,线粒体内膜通透性增加,促使内皮细胞和周细胞发生凋亡级联反应,毛细血管进入无细胞状态而萎缩阻塞,最终造成局部缺血,视网膜损伤^[28]。ROS 可进一步活化 DR 相关的传导通路,如多元醇通路、蛋白激酶 C 通路、氨基己糖通路及糖基化终产物的形成,导致 DR 的发生和发展。同时,NF- κ B 作为一个重要的与炎症反应相关的细胞信号因子,被 ROS 激活后导致促炎因子、趋化因子产生过多,加剧 DR 的发展^[29]。RNS 包括一氧化氮(nitric oxide, NO)和其他活性氮,如过氧亚硝基阴离子(peroxynitrite, ONOO⁻)、硝酰基阴离子等。在视网膜中,NO 主要由星形胶质细胞产生,生理浓度的 NO 具有舒张血管平滑肌的作用,而且是一种重要的神经递质。高糖环境下,NO 与超氧阴离子、ONOO⁻结合能使多种酶失活,严重影响生物膜的功能,视网膜神经节细胞(retinal ganglion cells, RGCs)对 ONOO⁻介导的神经毒性非常敏感,其能够直接诱导 RGCs 凋亡。NO、超氧阴离子、ONOO⁻相伴发生,形成 RGCs 损伤的恶性循环。

Xu 等^[30]采用免疫组织化学方法证实 Nrf2 在人视网膜多种细胞中均有表达。而 Nrf2^{-/-}糖尿病小鼠的视网膜血管渗透与野生型糖尿病小鼠相比显著增加,ROS 水平显著增加,抗氧

化蛋白 GSH 含量明显减少。用氧化剂 TBH 和 H_2O_2 诱导人 Müller 神经胶质细胞 (MIO-M1) 后, Nrf2-siRNA 能够显著增加 ROS, 而 Keap1-siRNA 则显著减少 ROS。Shanab 等^[31] 用荧光金标记和免疫组织化学方法观察到, Nrf2^{-/-} 小鼠 RGCs 凋亡增加, 密度显著减少。硫辛酸是一种强效的新型抗氧化剂, 它能够通过激活 Nrf2 信号通路上调下游因子 HO-1 的表达, 保护氧化应激导致的 RGCs 的损伤^[32]。莱菔硫烷作为一种植物源性 Nrf2 激动剂, 能阻断高糖诱导的血管内皮细胞 ROS 的生成, 从而改善其生物学代谢功能障碍^[33]。莱菔硫烷还能通过诱导 II 相蛋白及 AREs 的表达, 减弱光氧化作用对视网膜色素上皮 (retinal pigment epithelium, RPE) 细胞的损害作用^[34-35]。

3.2 Nrf2 通路抑制炎症因子的释放

在氧化应激的情况下, NF- κ B 激活, 导致多种炎症因子的过表达, 如白细胞介素-6、白细胞介素-8、血管黏附因子 1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)、单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1) 等。炎症因子产生的 ROS 可进一步诱导 NF- κ B 的激活。多种炎症因子共同作用, 在 DR 病程中引起血流动力学改变, 白细胞聚积, 内皮细胞增生及死亡, 视网膜内微血管异常以及血-视网膜屏障破坏^[36]。研究表明, 在细胞培养和啮齿类动物系统中, 白藜芦醇等一些化学治疗药物会同时诱导 Nrf2 的表达和抑制 NF- κ B。白藜芦醇是 Nrf2 天然激动剂, 能够显著降低糖尿病大鼠视网膜 NF- κ B 及 TNF- α 的表达, 减少细胞的凋亡^[37]。然而尚不清楚是否是因为化学治疗药物诱导了 Nrf2 的产生从而抑制 NF- κ B 活性。但目前已经清楚的是, 许多 Nrf2 激动剂可以竞争结合在 NF- κ B 的 DNA 连接蛋白的半胱氨酸残基上, 从而抑制 NF- κ B 的转录激活, 发挥抗炎作用^[38]。

炎症趋化因子, 如 MCP-1 和巨噬细胞炎症蛋白-1 α 在血-视网膜屏障的破坏中发挥重要作用, 且表达量与视网膜病变程度呈正比。在链脲佐菌素诱导的 DR 鼠中, Dong 等^[39] 采用免疫组织化学方法检测到 MCP-1 表达主要分布在视网膜血管壁及 RGCs 中。且随着 DR 病程的发展, MCP-1 转录呈持续性显著增加。研究发现, Nrf2^{-/-} 小鼠的肺与野生型相比, CXC (cys-x-cys) 和 CC (cys-cys) 趋化因子表达显著增加。HO-1 可抑制人静脉内皮细胞 MCP-1 及 VCAM 的分泌。同时, Nrf2 基因导入人主动脉内皮细胞或者兔主动脉同样可以抑制 MCP-1 的表达。研究表明, 多种 Nrf2 激动剂可通过抑制 NF- κ B 的活性起到抑制白细胞介素-8、环氧合酶-2、诱导型一氧化氮合酶的表达。

以上研究表明, 氧化应激与炎症因子过表达的恶性循环可通过 Nrf2/ARE 通路的激活而被抑制。

3.3 Nrf2 通路与 VEGF 表达的相关性

DR 早期病理改变为内皮细胞死亡、周细胞丢失导致血-视网膜屏障破坏, 引起视网膜内出血、渗出以及毛细血管闭塞, 出现无血管灌注区。随着病程进展, 视网膜局部缺血缺氧刺激 VEGF 等促血管生成因子表达。

VEGF 是一种相对分子量为 48 000 的同型二聚体蛋白。

眼部组织中内皮细胞、RPE、神经元、神经胶质细胞和 Müller 细胞等均有 VEGF 表达。VEGF 与相应 VEGF 受体结合后, 通过特定的信号传导途径刺激内皮细胞的增生和迁移, 在 PDR 病理性血管增生与血管重塑过程中发挥着极其重要的作用。近年来, 抗 VEGF 药物成功应用于 DR 的治疗。

Uno 等^[40] 在视网膜血管闭塞性病变研究时发现 Nrf2^{-/-} 鼠较野生鼠无血管区面积显著增大, 深层毛细血管数量显著减少。干扰 Nrf2 后可以通过抑制缺氧诱导因子 1 α -VEGF 通路的激活, 显著减少结肠癌细胞的血管生成^[41]。在氧化磷脂诱导血管生成实验中, Nrf2 上调激活转录因子 4 及 VEGF 的表达, 促进血管内皮细胞的出芽生长, 而干扰 Nrf2 可抑制该效应^[42]。以上研究提示, Nrf2 在血管生成中发挥效应, 可正向调节 VEGF 的表达, 存在促血管生成作用。

研究发现, Nrf2 调节的下游靶基因 HO-1 除了主要的抗氧化、抗凋亡、抗炎以及细胞保护作用, 还具有增加促血管生成介质的分泌、抑制抗血管生成介质的分泌及促进内皮细胞增生、迁移的作用^[43]。对糖尿病小鼠的研究发现, 在病程早期, HO-1 在视网膜组织中的表达升高, 但随着病情的进展, HO-1 的表达降低^[44]。蔡晶晶等^[45] 通过对 DR 患者外周血单核细胞 (peripheral blood mono-nuclear cell, PBMCs) 检测发现, PDR 患者 PBMCs 中 HO-1 mRNA 表达含量显著低于 NPDR 患者, 提示 PBMCs 中 HO-1 表达水平的增加可能是 DR 发生和发展的保护因素。然而 Zhang 等^[46] 采用转染 HO-1 siRNA、原锌卟啉抑制 HO-1 活性和缺氧情况下敲除 HO-1 等方法均能显著降低人 RPE 细胞中 VEGF 的表达, 提示 Nrf2 对血管生成的调节作用可能与下游基因 HO-1 的表达有关。

4 展望

在糖尿病微环境下, ROS 增多, 内源性抗氧化应激通路 Nrf2 信号通路被激活, 对视网膜细胞具有抗氧化应激、抗炎、抗凋亡以及细胞保护作用。然而, Nrf2 通路的激活是有限的, 在视网膜缺血缺氧的情况下, Nrf2/HO-1 的表达可呈暂时性的增加, 持续一段时间后会降低, 提示增加视网膜核因子 Nrf2 的表达, 可能对 DR 的发展是一种保护作用。随着病程的进展, DR 进入 PDR 期, PDR 的显著病理改变表现为视网膜新生血管化, 然而目前多项研究提示, Nrf2 可能通过上调下游基因 HO-1 的表达正向调节 VEGF 的表达, 促进新生血管生成。综上所述, Nrf2 通路在 DR 发生和发展中发挥着重要作用。Nrf2 激动剂可为 DR 的预防治疗开辟一条新途径, Nrf2 植物来源激动剂, 如莱菔硫烷 (十字花科蔬菜)、姜黄素 (香料)、表儿茶素酸酯 (绿茶) 等由于来源丰富且作用肯定, 已经受到广泛关注^[47]; 而人工合成的激活剂, 如化合物奥体普拉、CDDO-IM、CDDO-ME、Protandim 等, 其中一部分已经用于临床试验以治疗多发性硬化症、肌营养不良、皮肤癌和慢性肾病等, 并取得一定疗效。Magesh 等^[48] 研究发现, 刺激 Nrf2 活性的制剂可对 DR 及与年龄相关的脉网膜小疣的形成起到预防性及治疗作用, 但视网膜组织中 Nrf2 的过度激活表达会促进 VEGF 的表达增加, 诱导新生血管形成。因此, 在 Nrf2 作为 DR 治疗靶向之前对 Nrf2 活性

水平的精确调控仍待深入研究。

参考文献

- [1] American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus [J]. *Diabetes Care*, 2014, 37 (1) : 81-90. DOI: 10.2337/dc14-S081.
- [2] 孙熾, 栾亚楠, 王建荣, 等. 葡萄糖酚在糖尿病视网膜病变中的抗氧化作用及其机制 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2014, 32 (11) : 1004-1009. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2014.11.009.
Sun Y, Luan YN, Wang JR, et al. The antioxidant effect of grape seed proanthocyanidin extracts on diabetic retinopathy and its mechanism [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2014, 32 (11) : 1004-1009. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2014.11.009.
- [3] Souza BM, Assmann TS, Kliemann LM, et al. The role of uncoupling protein 2 (UCP2) on the development of type 2 diabetes mellitus and its chronic complications [J]. *Arq Bras Endocrinol Metabol*, 2011, 55 (4) : 239-248. DOI: 10.1590/0004-27302011000400001.
- [4] DeNicola GM, Karreth FA, Humpton TJ, et al. Oncogene-induced Nrf2 transcription promotes ROS detoxification and tumorigenesis [J]. *Nature*, 2011, 475 (7354) : 106-109. DOI: 10.1038/nature10189.
- [5] Yu X, Kensler T. Nrf2 as a target for cancer chemoprevention [J]. *Mutat Res*, 2005, 591 (1/2) : 93-102. DOI: 10.1016/j.mrfmmm.2005.04.017.
- [6] Plafker KS, Nguyen L, Barneche M, et al. The ubiquitin-conjugating enzyme UbcM2 can regulate the stability and activity of the antioxidant transcription factor Nrf2 [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285 (30) : 23064-23074. DOI: 10.1074/jbc.M110.121913.
- [7] Niture SK, Khatri R, Jaiswal AK. Regulation of Nrf2-an update [J]. *Free Radic Biol Med*, 2014, 66 : 36-44. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.02.008.
- [8] Nioi P, Nguyen T, Sherratt PJ, et al. The carboxy-terminal Neh3 domain of Nrf2 is required for transcriptional activation [J]. *Mol Cell Biol*, 2005, 25 (24) : 10895-10906. DOI: 10.1128/MCB.25.24.10895-10906.2005.
- [9] Katoh Y, Itoh K, Yoshida E, et al. Two domains of Nrf2 cooperatively bind CBP, a CREB binding protein, and synergistically activate transcription [J]. *Genes Cells*, 2001, 6 (10) : 857-868. DOI: 10.1046/j.1365-2443.2001.00469.x.
- [10] McMahon M, Thomas N, Itoh K, et al. Redox-regulated turnover of Nrf2 is determined by at least two separate protein domains, the redox-sensitive Neh2 degenon and the redox-insensitive Neh6 degenon [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279 (30) : 31556-31567. DOI: 10.1074/jbc.M403061200.
- [11] 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 [J]. *Cancer Res*, 2013, 73 (10) : 3097-3108. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-3386.
- [12] Rushworth SA, Macewan DJ. The role of Nrf2 and cytoprotection in regulating chemotherapy resistance of human leukemia cells [J]. *Cancers (Basel)*, 2011, 3 (2) : 1605-1621. DOI: 10.3390/cancers3021605.
- [13] Dinkova-Kostova AT, Wang XJ. Induction of the Keap1/Nrf2/ARE pathway by oxidizable diphenols [J]. *Chem Biol Interact*, 2011, 192 (1-2) : 101-106. DOI: 10.1016/j.cbi.2010.09.010.
- [14] Lo SC, Hannink M. PGAM5 tethers a ternary complex containing Keap1 and Nrf2 to mitochondria [J]. *Exp Cell Res*, 2008, 314 (8) : 1789-1803. DOI: 10.1016/j.yexcr.2008.02.014.
- [15] Moon EJ, Giaccia A. Dual roles of Nrf2 in tumor prevention and progression; possible implications in cancer treatment [J]. *Free Radic Biol Med*, 2015, 79 : 292-299. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2014.11.009.
- [16] Kaneto H, Xu G, Song KH, et al. Activation of the hexosamine pathway leads to deterioration of pancreatic beta-cell function through the induction of oxidative stress [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276 (33) : 31099-31104. DOI: 10.1074/jbc.M104115200.
- [17] Yagishita Y, Fukutomi T, Sugawara A, et al. Nrf2 protects pancreatic β -cells from oxidative and nitrosative stress in diabetic model mice [J]. *Diabetes*, 2014, 63 (2) : 605-618. DOI: 10.2337/db13-0909.
- [18] Sasaki M, Fujimoto S, Sato Y, et al. Reduction of reactive oxygen species ameliorates metabolism-secretion coupling in islets of diabetic GK rats by suppressing lactate overproduction [J]. *Diabetes*, 2013, 62 (6) : 1996-2003. DOI: 10.2337/db12-0903.
- [19] Song MY, Kim EK, Moon WS, et al. Sulforaphane protects against cytokine- and streptozotocin-induced beta-cell damage by suppressing the NF- κ B pathway [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2009, 235 (1) : 57-67. DOI: 10.1016/j.taap.2008.11.007.
- [20] Lee S, Hur EG, Ryoo IG, et al. Involvement of the Nrf2-proteasome pathway in the endoplasmic reticulum stress response in pancreatic β -cells [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2012, 264 (3) : 431-438. DOI: 10.1016/j.taap.2012.08.021.
- [21] Li W, Wu W, Song H, et al. Targeting Nrf2 by dihydro-CDDO-trifluoroethyl amide enhances autophagic clearance and viability of β -cells in a setting of oxidative stress [J]. *FEBS Lett*, 2014, 588 (12) : 2115-2124. DOI: 10.1016/j.febslet.2014.04.046.
- [22] Wang X, Chen H, Liu J, et al. Association between the NF-E2 related factor 2 gene polymorphism and oxidative stress, anti-oxidative status, and newly-diagnosed type 2 diabetes mellitus in a Chinese population [J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16 (7) : 16483-16496. DOI: 10.3390/ijms160716483.
- [23] Aleksunes LM, Reisman SA, Yeager RL, et al. Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 deletion impairs glucose tolerance and exacerbates hyperglycemia in type 1 diabetic mice [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2010, 333 (1) : 140-151. DOI: 10.1124/jpet.109.162271.
- [24] Chartoumpakis DV, Ziros PG, Psyrriannis AI, et al. Nrf2 represses FGF21 during long-term high-fat diet-induced obesity in mice [J]. *Diabetes*, 2011, 60 (10) : 2465-2473. DOI: 10.2337/db11-0112.
- [25] Yu Z, Shao W, Chiang Y, et al. Oltipraz upregulates the nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2 (Nrf2) antioxidant system and prevents insulin resistance and obesity induced by a high-fat diet in C57BL/6J mice [J]. *Diabetologia*, 2011, 54 (4) : 922-934. DOI: 10.1007/s00125-010-2001-8.
- [26] Weisberg SP, Leibel R, Tortoriello DV. Dietary curcumin significantly improves obesity-associated inflammation and diabetes in mouse models of diabetes [J]. *Endocrinology*, 2008, 149 (7) : 3549-3558. DOI: 10.1210/en.2008-0262.
- [27] He HJ, Wang GY, Gao Y, et al. Curcumin attenuates Nrf2 signaling defect, oxidative stress in muscle and glucose intolerance in high fat diet-fed mice [J]. *World J Diabetes*, 2012, 3 (5) : 94-104. DOI: 10.4239/wjcd.v3.i5.94.
- [28] Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications; a unifying mechanism [J]. *Diabetes*, 2005, 54 (6) : 1615-1625. DOI: 10.2337/diabetes.54.6.1615.
- [29] Ahsan H. Diabetic retinopathy-biomolecules and multiple pathophysiology [J]. *Diabetes Metab Syndr*, 2015, 9 (1) : 51-54. DOI: 10.1016/j.dsx.2014.09.011.
- [30] Xu Z, Wei Y, Gong J, et al. Nrf2 plays a protective role in diabetic retinopathy in mice [J]. *Diabetologia*, 2014, 57 (1) : 204-213. DOI: 10.1007/s00125-013-3093-8.
- [31] Shanab AY, Nakazawa T, Ryu M, et al. Metabolic stress response implicated in diabetic retinopathy: the role of calpain, and the therapeutic impact of calpain inhibitor [J]. *Neurobiol Dis*, 2012, 48 (3) : 556-567. DOI: 10.1016/j.nbd.2012.07.025.
- [32] Koriyama Y, Nakayama Y, Matsugo S, et al. Protective effect of lipoic acid against oxidative stress is mediated by Keap1/Nrf2-dependent heme oxygenase-1 induction in the RGC-5 cell line [J]. *Brain Res*, 2013, 1499 : 145-157. DOI: 10.1016/j.brainres.2012.12.041.
- [33] Xue M, Qian Q, Adakalakeswari A, et al. Activation of NF-E2-related factor-2 reverses biochemical dysfunction of endothelial cells induced by hyperglycemia linked to vascular disease [J]. *Diabetes*, 2008, 57 (10) : 2809-2817. DOI: 10.2337/db06-1003.
- [34] Gao X, Talalay P. Induction of phase 2 genes by sulforaphane protects retinal pigment epithelial cells against photo oxidative damage [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101 (28) : 10446-10451. DOI: 10.1073/pnas.0403886101.
- [35] Tanito M, Masutani H, Kim YC, et al. Sulforaphane induces thioredoxin through the antioxidant-responsive element and attenuates retinal light damage in mice [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2005, 46 (3) : 979-987. DOI: 10.1167/iovs.04-1120.
- [36] Meleth AD, Agron E, Chan CC, et al. Serum inflammatory markers in

- diabetic Retinopathy [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2005, 46 (11) : 4295-4301. DOI:10.1167/iops.04-1057
- [37] Ghadiri SF, Arbabi-Aval E, Rezaei KM, et al. Anti-inflammatory properties of resveratrol in the retinas of type 2 diabetic rats [J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2015, 42 (1) : 63-68. DOI:10.1111/1440-1681.12326.
- [38] Na HK, Surh YJ. Transcriptional regulation via cysteine thiol modification: a novel molecular strategy for chemoprevention and cytoprotection [J]. Mol Carcinog, 2006, 45 (6) : 368-380. DOI:10.1002/mc.20225.
- [39] Dong N, Li X, Xiao L, et al. Upregulation of retinal neuronal MCP-1 in the rodent model of diabetic retinopathy and its function in vitro [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2012, 53 (12) : 7567-7575. DOI:10.1167/iops.12-9446.
- [40] Uno K, Prow TW, Bhutto IA, et al. Role of Nrf2 in retinal vascular development and the vaso-obliterative phase of oxygen-induced retinopathy [J]. Exp Eye Res, 2010, 90 (4) : 493-500. DOI:10.1016/j.exer.2009.12.012.
- [41] Kim TH, Hur EG, Kang SJ, et al. Nrf2 blockade suppresses colon tumor angiogenesis by inhibiting hypoxia-induced activation of HIF-1 α [J]. Cancer Res, 2011, 71 (6) : 2260-2275. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-10-3007.
- [42] Afonyushkin T, Oskolkova OV, Philippova M, et al. Oxidized phospholipids regulate expression of ATF4 and VEGF in endothelial cells via Nrf2-dependent mechanism; novel point of convergence between electrophilic and unfolded protein stress pathways [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2010, 30 (5) : 1007-1013. DOI:10.1161/ATVBAHA.110.204354.
- [43] Loboda A, Jazwa A, Grochot-Przeczek A, et al. Heme oxygenase-1 and the vascular bed: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities [J]. Antioxid Redox Signal, 2008, 10 (10) : 1767-1812. DOI:10.1089/ars.2008.2043.
- [44] He M, Pan H, Xiao C, et al. Roles for redox signaling by NADPH oxidase in hyperglycemia-induced heme oxygenase-1 expression in the diabetic retina [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2013, 54 (6) : 4092-4101. DOI:10.1167/iops.13-12004.
- [45] 蔡晶晶, 孟倩丽, 郭海科, 等. 血红素加氧酶-1 在糖尿病视网膜病变患者外周血单核细胞中的表达 [J]. 眼科新进展, 2014, 34 (1) : 37-40. DOI:10.13389/j.cnki.rao.2014.0010.
- [46] Zhang W, Zhang X, Lu H, et al. Silencing heme oxygenase-1 gene expression in retinal pigment epithelial cells inhibits proliferation, migration and tube formation of cocultured endothelial cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2013, 434 (3) : 492-497. DOI:10.1016/j.bbrc.2013.03.101.
- [47] Zhang DD. Mechanistic studies of the Nrf2-keap1 signaling pathway [J]. Drug Metab Rev, 2006, 38 (4) : 769-789. DOI:10.1080/03602530600971974.
- [48] Magesh S, Chen Y, Hu L. Small molecule modulators of Keap1-Nrf2-are pathway as potential preventive and therapeutic agents [J]. Med Res Rev, 2012, 32 : 687-726. DOI:10.1002/med.21257.

(收稿日期:2016-02-03)

(本文编辑:尹卫靖 杜娟)

读者·作者·编者

本刊对中英文摘要的要求

论著或综述文稿正文请撰写中英文摘要。原创性论著文稿要求为结构式摘要,包括背景(Background)、目的(Objective)、方法(Methods)、结果(Results)和结论(Conclusions) 5个要素,摘要应能够回答以下问题:(1)为什么进行这项研究。(2)主要用什么方法进行的研究。(3)获得什么主要结果。(4)通过研究得出什么结论等。其中背景部分请概括本课题所涉及的研究内容及亟待解决的问题。目的部分为本课题对上述提出问题设立的目标。方法部分应提供研究对象、样本量、分组情况、各组的干预情况、与研究相适应的观察或检测指标,获得结局指标的手段和设备等。临床研究请说明是前瞻性研究、回顾性研究还是观察性研究。结果部分请客观描述研究的主要发现,包括主要的形态学检查表现、相关的关键性或主要的量化资料以及相应的统计学比较结果,须写明统计学量值及其概率值。结论部分请提出与本研究论据直接相关的、必然的推论,避免得出过度推测性、评价性和扩大化的结论。摘要请用第三人称客观表述,不列图表,不引用文献,不加评论和解释。英文摘要应与中文摘要内容相对应,但为了对外交流的需要,可以略详细。英文摘要应包括论文题名(正体)及全部作者姓名(汉语拼音,姓在前,首字母大写,名在后,首字母大写,双字连写。如:Yin Xiaohui)、标准化的单位名称、城市名称(汉语拼音)、邮政编码及国家名称(全部为斜体)。并请在另起一行处提供通信作者姓名的汉语拼音和 Email 地址,如 *Corresponding author: Yin Xiaohui, Email: xiaohuih@126.com*。专家述评或综述类文稿请撰写指示性中英文摘要,摘要内容应包含研究涉及的概念、研究的目的、综述资料的来源、复习的文献量、研究的新发现或应用领域、综合的结果和结论及其意义等必要的信息。

研究论文为前瞻性研究者应在中英文摘要结束处提供临床试验注册号,以“临床试验注册(Trial registration)”为标题,提供注册机构名称和注册号。前瞻性临床研究的论著摘要应注明遵循 CONSORT 声明(Consolidated Standards of Reporting Trials)(<http://www.consort-standart.org/home>)。

欢迎订阅《中华实验眼科杂志》

《中华实验眼科杂志》为中国科技论文统计源期刊、中国中文核心期刊和中国科学引文数据库(CSCD)核心期刊,月刊,96面,每月10日出版,每期定价16元,邮发代号:36-13,国内外公开发行,欢迎到各地邮局或直接与本刊编辑部联系订阅。联系电话:0371-65580157。

(本刊编辑部)