

Keap1-Nrf2 信号通路在角膜急性紫外线损伤防治中的研究进展

朱 雷综述, 薛春燕审校

【摘要】 角膜位于眼球最外层,易遭受外界环境中紫外线刺激。户外运动者在高原冰雪环境中活动,紫外线暴露量大,如果防护不当,可发生雪盲症。目前报道的文献中,紫外线的生物危害效应主要由于其引起的氧化应激,但确切的分子机制尚待进一步研究。Keap1-Nrf2-ARE 信号通路在机体抗氧化应激损伤中发挥重要作用。文章主要就紫外线引起氧化应激造成角膜损伤的分子机制以及 Nrf2 介导的抗氧化防御在角膜急性紫外线损伤防治中的研究进展进行综述。

【关键词】 角膜;紫外线;氧化应激;活性氧自由基;核因子 E2 相关因子 2

【中图分类号】 R772.2 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1672-271X(2021)06-0637-05

【DOI】 10.3969/j.issn.1672-271X.2021.06.017

Research progress of Keap1-Nrf2 signaling pathway in the prevention and treatment of acute UV damage in cornea

ZHU Lei reviewing, XUE Chun-yan checking

(Department of Ophthalmology, Jinling Hospital, Medical School of Nanjing University, Nanjing 210002, Jiangsu, China)

【Abstract】 Locating at the outermost layer of the eye, the cornea, is vulnerable to UV irradiation. Soldiers are susceptible to snow blindness without protection during training at high altitudes. The biohazard effect of ultraviolet is mainly due to the oxidative stress induced by light in cells. The molecular mechanism of this effect remains to be further studied. Keap1-Nrf2 /ARE signaling pathway maintains cell activity and plays an important role in moderating the damage caused by oxidation. This paper reviews the mechanism of oxidative stress induced by UV and the potential role of Nrf2-mediated antioxidant defense in acute UV-induced corneal injury.

【Key words】 cornea; ultraviolet; oxidative stress; reactive oxygen species; Nrf2

0 引 言

紫外线损伤与多种眼表疾病相关^[1],电光性眼炎(雪盲)最具代表性,由于角膜上皮、间质和内皮受损而产生雾翳、水肿和浑浊,伴有强烈的异物感、刺痛、畏光、流泪及睑痉挛等临床特征。实验研究表明,紫外线暴露会导致角膜抗氧化剂的大量减少,从而导致促氧化剂/抗氧化剂失衡。角膜抗氧

化保护能力的降低导致角膜氧化损伤。大量研究讨论了 Nrf2 信号通路在抗氧化损伤中扮演的角色,其激活后可以上调大量抗氧化基因的表达,在细胞抵抗氧化应激中起重要作用^[2]。目前尚无有关 Nrf2 氧化防御通路与紫外线角膜急性损伤防治的研究报道。本文就 Nrf2 氧化防御通路与角膜急性紫外线损伤发生、发展的关系进行综述,探讨目前 Nrf2 在抗氧化损伤方面的作用以及在紫外线角膜急性损伤治疗中的最新进展和潜在可能。

1 紫外线角膜损伤

环境紫外线(ultraviolet, UV)辐射对角膜最

基金项目:军队医学科技青年培育计划拔尖项目(19QNP064)

作者单位:210002 南京,南京大学医学院附属金陵医院(东部战区总医院)眼科(朱 雷、薛春燕)

通信作者:薛春燕, E-mail: xuechunyan@nju.edu.cn

常见的急性影响是电光性角膜炎。已有文献报道,在高原行军中,有较多发生雪盲症的官兵^[3]。紫外线损伤眼部主要原因之一为活性氧的生成。

1.1 活性氧自由基 (reactive oxygen species, ROS) 氧化应激是机体氧化物质产生和抗氧化防御之间的不平衡状态^[4],引起氧化应激的罪魁祸首则为 ROS,UV 暴露可使 ROS 生成水平高于抗氧化缓冲能力,从而破坏还原-氧化动态平衡,使细胞暴露于氧化应激状态。ROS 主要来源于线粒体^[5],包括超氧阴离子($O_2 \cdot^-$)、过氧化氢(H_2O_2)、羟基自由基($\cdot OH$)。线粒体氧化呼吸链中氧加电子形成 $O_2 \cdot^-$,随之两分子 $O_2 \cdot^-$ 和一分子 H^+ 在超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 作用下转换为 H_2O_2 和 O_2 。未被正常机体清理的 H_2O_2 又被过渡金属 Fe^{2+} 通过 Fenton 反应击穿,生成高氧化活性的 $\cdot OH$ ^[6]。

1.2 紫外线引起氧化应激 在健康的眼角膜中,吸收和抵抗紫外线辐射是由含有抗氧化剂(抗氧化酶)的组织液完成的。在低分子量抗氧化剂中,抗坏血酸和生育酚是活性氧的重要清除剂。在分子量抗氧化剂中,SOD 催化超氧化物自由基分解为 H_2O_2 和 O_2 , H_2O_2 被谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px) 和过氧化氢酶有效清除。兔角膜细胞多次暴露于 UVB 射线后,GSH-Px 和 SOD 活性显著降低^[7]。在 Zernii 等^[8]的实验中,紫外线照射后的兔角膜丙二醛含量远超基线水平,同时 SOD 和 GSH-Px 等抗氧化酶的活性有所下降。上述研究可看出,紫外线暴露后,角膜抗氧化剂含量降低,促氧化剂和氧化剂水平增加,导致抗氧化/氧化失衡。

1.3 氧化应激损伤的分子基础 ROS 引起蛋白质、脂质以及核和线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 氧化损伤被认为是紫外线诱导氧化应激损伤角膜的主要分子机制。低水平的 ROS 对维持细胞正常功能有重要作用,包括基因表达、细胞增殖、自我防御^[9]。ROS 超载影响这些生理进程,促进细胞凋亡或坏死^[10]。其以蛋白质为主要靶点,通过氨基酸修饰、肽链断裂、蛋白质交联聚合等氧化损伤蛋白质,尤其是破坏还原型半胱氨酸的结构和功能。 $\cdot OH$ 和 $O_2 \cdot^-$ 均可氧化细胞生物膜上多不饱和脂肪酸,破坏生物膜的完整性,降低膜流动性,阻碍生物膜信号转导,引起细胞及其内在的亚细胞器

广泛功能障碍、结构破坏。紫外线辐射和氧化产物(尤其是高活性 $\cdot OH$) 均将导致 DNA 双链结构破坏^[11]、DNA 链断裂,碱基替换等 DNA 损伤,从而引发多种细胞反应,如细胞周期延迟和细胞凋亡坏死。mtDNA 是独立于核 DNA 的含有 37 个基因的功能基因组,编码一组对氧化磷酸化至关重要的基因,其缺失或突变将导致线粒体功能障碍^[12]。与核 DNA 相比,由于更接近线粒体内膜,加之 mtDNA 对氧化应激更敏感,因此大多数遗传物质损伤位于 mtDNA 中。胞内 mtDNA 突变累积越多,线粒体对抗氧化应激越敏感,氧化磷酸化过程越脆弱,产生更多 ROS^[13],ROS 超载转而造成 mtDNA 突变不断累积,形成恶性闭环。

2 Keap1-Nrf2-ARE 信号通路

Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白 1-核因子 E2 相关因子 2 (Keap1-Nrf2) 系统形成细胞生物抵御外源性和内源性氧化应激的主要节点。Nrf2 是该系统顺利运行关键,上面受着 Keap1 蛋白的调控,下面诱导一系列保护性抗氧化基因的转录。这些抗氧化、解毒酶在增强机体抗氧化,抗炎方面起重要作用。通过调控该系统,增强下游 II 相解毒酶表达,以期达到对抗或减轻紫外线氧化应激角膜损伤的目的给科研工作者提供了良好的思路。

2.1 Keap1 生理状态下,Keap1 与 Nrf2 蛋白结合,使 Nrf2 蛋白锚定于细胞质,无法入核,此时 Keap1 与 CUL3、多泛素化 Nrf2 形成泛素 E3 连接酶复合体^[14],协助 Nrf2 泛素化和降解,正是这种结构性降解使胞内 Nrf2 浓度和活性维持在较低水平,因此 Keap1 也被称为 Nrf2 负调控蛋白。一旦细胞内 ROS 或亲电子体出现,与 Keap1 蛋白上半胱氨酸残基结合,Keap1 构象改变,Nrf2 降解减弱,半衰期延长,入核增加。此时经过氧化应激改变构象的 Keap1 与此前截然相反,表现为抑制 Nrf2 泛素化,提高了胞质内 Nrf2 丰度。综上所述,Keap1-CUL3 泛素连接酶复合物的活性控制着 Nrf2 蛋白水平,Keap1 充当闸门角色^[14],当闸门被修改和打开时,Nrf2 才会进入细胞核。

2.2 Nrf2 Nrf2 是一种氧化还原敏感的碱性亮氨酸拉链蛋白,属于帽和领 (cap 'n' collar, CNC) 转录因子家族成员,调节多种抗氧化基因的转录^[15]。6 个高保守的环氧氯丙烷同源结构 (Neh) 在 Nrf2 功能

中发挥不同作用^[17]。Nrf2 的存在对维持细胞正常生理功能至关重要,其诱导剂保护皮肤免受紫外线辐射引起的皮炎损害^[16],反之基因敲除 Nrf2 的细胞对外源性刺激敏感性增强^[17]。一项对裸鼹鼠的研究表明较高的 Nrf2 活性与其最长寿命呈正相关^[18],由此研究人员分析裸鼹鼠长寿原因是 Nrf2 蛋白对氧化应激作出的有效反应,这一作用已经在很多基因编辑的小鼠模型中得到证实,无论是 Nrf2 或是联合其他基因敲除的小鼠,因此 Nrf2 被称为是“健康的守护者和物种长寿的门卫”。

2.3 抗氧化反应元件 (antioxidant response element, ARE) 对诱导编码Ⅱ相酶基因转录表达起关键作用的顺式作用元件被命名为 ARE,包含特定碱基序列(5'-TTGACnnGC-3')。Nrf2 入核后必须通过与小 Maf 蛋白二聚化,才能与 ARE 结合激活Ⅱ相酶基因转录^[19],上调下游Ⅱ相酶包括 NADPH 醌氧化还原酶 1 (NADPH quinone oxidoreductase-1, NQO1)、血红素加氧酶-1 (heme oxygenase-1, HO-1)、谷胱甘肽 S 转移酶 (glutathione S-transferase, GST) 的表达。

3 Keap1-Nrf2 信号通路与紫外线角膜损伤

Nrf2 信号通路是一个至关重要的抗氧化防御机制,通过消除 ROS,以维持胞内氧化还原平衡。近年来,Nrf2 通路的各种激活剂不断被报道,在眼表疾病中的氧化应激保护作用也已在以下眼部疾病的研究中得到阐明:测流香烟烟雾 (sidestream cigarette smoke, SCS) 暴露引起的干眼^[20]和翼状胬肉^[22-23]。但是在紫外线角膜急性损伤中,关于 Nrf2 介导的抗氧化防御机制和相关药物实验的报道很少。

3.1 Nrf2 及其诱导剂与氧化应激的对抗 多年来,天然产物为潜在的治疗药物的发现提供了有效的资源。随着天然产物单体组分分离纯化技术的不断完善,天然产物中特定的单个成分作为 Nrf2 激活剂,因其优异的功效而备受关注。其中,许多天然多酚^[21-23]抑制 ROS 的产生,增加 Nrf2 的核易位和 DNA 结合能力,干扰 Keap1-Nrf2 相互作用,促进 Keap1 泛素化,最终维持机体的生理平衡。在 Ma 等^[17]的实验中,用 H₂O₂ 处理人白癜风黑色素细胞 (human vitiligo melanocytes, HVMs) 后,发现细胞内线粒体膜电位显著降低、mtDNA 累积增多、ROS

水平以及细胞凋亡率增加,这与之前探讨的紫外线通过氧化应激引起细胞损伤的分子机制近乎相同。在上述实验组中加入黄芩素后,发现黄芩素促进了 Nrf2 从胞浆向细胞核的移位,并增加了 HVMs 细胞中 Nrf2 及其下游基因 HO-1 的表达。在 Nrf2 基因敲除组中,HVMs 细胞更易受到 H₂O₂ 的刺激,并且用黄芩素去处理 Nrf2 基因敲除细胞组后,H₂O₂ 诱导的细胞凋亡并未受到明显抑制。这些结果表明,黄芩素对 H₂O₂ 诱导的 HVMs 细胞氧化应激的保护作用是通过 Nrf2 信号转导途径实现的。

白藜芦醇 (resveratrol, RSV) 广泛分布于各种食品中,特别是葡萄,具有抗氧化性能。Liu 等^[24]发现 RSV 能有效提高紫外线 A (ultraviolet A, UVA) 暴露后人角质形成细胞 (human keratinocytes, HaCaT) 的活性,保护 HaCaT 细胞免受 UVA 诱导的氧化应激。此外,Palsamy 等^[25]研究证实 RSV 将糖尿病大鼠肾脏中 Nrf2/Keap1 及其下游调控蛋白的表达正常化,可有效保护肾脏免受高血糖介导的氧化损伤。对天然产物的深入研究,可能为 Keap1-Nrf2 抗氧化应激的新型治疗药物的设计提供指导。

3.2 Nrf2 修复角膜急性紫外线损伤

3.2.1 Nrf2 促进角膜自愈 大量的暴露于紫外线,引起角膜鳞状上皮细胞脱落,角膜上皮层变薄,严重者角膜上皮层完全脱落^[26]。研究人员在角膜损伤模型鼠中用 Nrf2 特异性 siRNA 敲除 Nrf2 基因,发现敲除组角膜上皮细胞的迁移明显延迟,角膜愈合缓慢^[27]。相反,用 Keap1 特异性 siRNA 敲除 Keap1 基因,角膜上皮细胞迁移加快,HO-1 和 NQO1 表达增加。同样,大量研究表明 Nrf2 激活剂促进细胞增殖和迁移,加快角膜伤口愈合^[28,29]。因活性氧延迟角膜上皮细胞修复^[30],Nrf2 调控角膜上皮细胞迁移促进角膜愈合的机制可能主要还是因为其独特的抗氧化性。

圆锥角膜 (keratoconus, KC) 是一种常见的退行性角膜扩张疾病,其特征为双侧角膜进行性变薄和扩张,表现为圆锥形凸起。诸多研究表明 ROS 的过度产生是 KC 病的关键因素^[31-32],在 Liu 等^[33]的实验中同样得到证实。通过对 KC 兔模型眼新鲜角膜进行了检测,与对照组相比,KC 角膜 ROS 显著增加,中央角膜厚度显著变薄,而这些变化可通过萝卜硫素 (Sulforaphane, SFN) 处理中和或逆转。在 SFN 处理组中,KC 角膜中 NADPH 氧化酶水平

下降, Nrf2 和 HO-1 表达增多, 如若加入 HO-1 抑制剂(锌原卟啉 IX)可抑制 SF 对 KC 角膜的保护作用, 因此, 该研究证明 SF 对 KC 角膜的修复作用至少部分是通过 Nrf2 抗氧化途径实现的。

3.2.2 Nrf2 治疗紫外线角膜损伤潜能 越来越多的证据表明, Nrf2 在保护角膜免受紫外线氧化应激损伤中扮演不可或缺的角色。考虑到 Nrf2 在氧化损伤中的作用以及在角膜损伤过程中的调节改变, 因此认为 Nrf2 可成为一个潜在的靶点来保护角膜免受紫外线的损伤。

研究人员用紫外线照射兔角膜 8~10 h 后立即取下角膜进行评估以观测角膜对 UV 的早期反应^[34], 通过测量氧化线粒体黄素(oxidized mitochondrial flavins, ox-Fvm)来量化细胞内氧化水平, 暴露组角膜上皮 ox-Fvm 信号约是对照组 4.5 倍, 证实 UV 暴露增加了角膜氧化压力。通过对 8-OHdG (DNA 氧化损伤主要标志物)测量发现, 紫外线照射的眼睛角膜上皮细胞线粒体内 8-OHdG 的水平显著低于未受照射组 2 倍, 这似乎与之前提到的线粒体 DNA 对氧化应激更敏感相悖。研究人员分析, UV 暴露确可引起上皮细胞内显著氧化, 但在线粒体中, 这种氧化损伤被线粒体内增加了 3.3 倍的 NADPH 所抵消。NADPH 是维持胞内还原型谷胱甘肽(G-SH)水平所必须的, G-SH 积聚使得角膜对氧化还原状态动态波动具有高度敏感性, 给予细胞以快速反应能力。作者认为, 在 UV 照射早期, NADPH 浓度增加、G-SH 积聚从而调节了抗氧化酶的表达, 进而有效限制了 UV 对角膜的毒性进展。

以上实验证明了紫外线辐射早期阶段, 细胞内惊人的抗氧化能力, 表现为还原产物多于氧化产物, 但在紫外线损伤后期, 氧化大于还原的情况最是常见。Nrf2 通过严格控制 G-SH 水平, 确保细胞内还原型谷胱甘肽的水平保持不变, 以及上调生成 NADPH 的关键酶的表达, 如葡萄糖-6-磷酸脱氢酶和异柠檬酸脱氢酶 1, 增加 NADPH 含量^[35], 来缓解甚至逆转后期细胞氧化超载的状态。通过诱导剂唤醒 Nrf2-ARE 信号通路激发细胞抗氧化潜力, 使细胞提前进入紫外线辐射早期阶段或者将后期的糟糕处境逆转为早期强还原状态, 达到预防或者治疗电光性眼炎的目的, 这仍然需要我们进一步研究。

4 结 语

氧化应激、蛋白质变性、DNA 损伤、脂质过氧化

和随之而来的细胞凋亡和脱落是紫外线角膜损伤的主要特征。紫外线损伤角膜的机制有待得到全面阐述, 本文主要探讨了氧化应激损伤机制。Nrf2 是对抗氧化应激的内在防御机制, 在氧化条件下被激活, 导致大量细胞保护和解毒基因的表达, 因此 Nrf2 信号通路有望在紫外线角膜损伤预防和治疗上产生重大影响。综上所述, Nrf2-Keap1-ARE 信号通路是一个有前途的抗紫外线氧化应激靶点, 研制以 Nrf2-ARE 信号通路为靶点的药物, 以更方便、安全、快速、高效的方式缓解乃至及早修复紫外线给角膜带来的损伤, 为进行高原等强度紫外线环境训练提供强有力的保障。

【参考文献】

- [1] 薛春燕, 黄振平, 周晓军. 翼状胬肉发病机制的研究进展[J]. 医学研究生学报, 2010, 23(7): 767-770.
- [2] Tu W, Wang H, Li S, *et al.* The Anti-Inflammatory and Anti-Oxidant Mechanisms of the Keap1/Nrf2/ARE Signaling Pathway in Chronic Diseases[J]. *Aging Dis*, 2019, 10(3): 637-651.
- [3] 李 光, 费慧敏, 王锦波. 高原军事训练致雪盲症 9 例分析[J]. 人民军医, 2014, 57(6): 620.
- [4] Hammes HP. Diabetic retinopathy: hyperglycaemia, oxidative stress and beyond[J]. *Diabetologia*, 2018, 61(1): 29-38.
- [5] Daiber A, Di Lisa F, Oelze M, *et al.* Crosstalk of mitochondria with NADPH oxidase via reactive oxygen and nitrogen species signalling and its role for vascular function[J]. *Br J Pharmacol*, 2017, 174(12): 1670-1689.
- [6] Zhang L, Wan SS, Li CX, *et al.* An Adenosine Triphosphate-Responsive Autocatalytic Fenton Nanoparticle for Tumor Ablation with Self-Supplied H₂O₂ and Acceleration of Fe(III)/Fe(II) Conversion[J]. *Nano Lett*, 2018, 18(12): 7609-7618.
- [7] Cejka C, Cejkova J. Oxidative stress to the cornea, changes in corneal optical properties, and advances in treatment of corneal oxidative injuries [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2015, 2015: 591530.
- [8] Zernii EY, Gancharova OS, Tiulina VV, *et al.* Mitochondria-targeted antioxidant SKQ1 protects cornea from oxidative damage induced by ultraviolet irradiation and mechanical injury[J]. *BMC Ophthalmol*, 2018, 18(1): 336.
- [9] Nita M, Grzybowski A. The Role of the Reactive Oxygen Species and Oxidative Stress in the Pathomechanism of the Age-Related Ocular Diseases and Other Pathologies of the Anterior and Posterior Eye Segments in Adults[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 2016: 3164734.
- [10] Vallabh NA, Romano V, Willoughby CE. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in corneal disease[J]. *Mitochondrion*, 2017, 36: 103-113.

- [11] Nagaria P, Robert C, Rassool FV. DNA double-strand break response in stem cells: mechanisms to maintain genomic integrity [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1830(2):2345-2353.
- [12] Nissanka N, Minczuk M, Moraes CT. Mechanisms of Mitochondrial DNA Deletion Formation [J]. *Trends Genet*, 2019, 35(3):235-244.
- [13] Kowluru RA, Mishra M. Oxidative stress, mitochondrial damage and diabetic retinopathy [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1852(11):2474-2483.
- [14] Iso T, Suzuki T, Baird L, *et al.* Absolute Amounts and Status of the Nrf2-Keap1-Cul3 Complex within Cells [J]. *Mol Cell Biol*, 2016, 36(24):3100-3112.
- [15] Muthusamy VR, Kannan S, Sadhaasivam K, *et al.* Acute exercise stress activates Nrf2/ARE signaling and promotes antioxidant mechanisms in the myocardium [J]. *Free Radic Biol Med*, 2012, 52(2):366-376.
- [16] Knatko EV, Ibbotson SH, Zhang Y, *et al.* Nrf2 Activation Protects against Solar-Simulated Ultraviolet Radiation in Mice and Humans [J]. *Cancer Prev Res (Phila)*, 2015, 8(6):475-486.
- [17] Ma J, Li S, Zhu L, *et al.* Baicalein protects human vitiligo melanocytes from oxidative stress through activation of NF-E2-related factor2 (Nrf2) signaling pathway [J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2018, 129:492-503.
- [18] Lewis KN, Wason E, Edrey YH, *et al.* Regulation of Nrf2 signaling and longevity in naturally long-lived rodents [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112(12):3722-3727.
- [19] Suzuki T, Yamamoto M. Stress-sensing mechanisms and the physiological roles of the Keap1-Nrf2 system during cellular stress [J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(41):16817-16824.
- [20] Kojima T, Dogru M, Higuchi A, *et al.* The effect of Nrf2 knockout on ocular surface protection from acute tobacco smoke exposure: evidence from Nrf2 knockout mice [J]. *Am J Pathol*, 2015, 185(3):776-785.
- [21] Li Y, Cheng Z, Wang K, *et al.* Procyanidin B2 and rutin in Ginkgo biloba extracts protect human retinal pigment epithelial (RPE) cells from oxidative stress by modulating Nrf2 and Erk1/2 signalling [J]. *Exp Eye Res*, 2021, 207:108586.
- [22] Liang Y, Zou Y, Niu C, *et al.* Astragaloside IV and ferulic acid synergistically promote neurite outgrowth through Nrf2 activation [J]. *Mech Ageing Dev*, 2019, 180:70-81.
- [23] Hu X, Liang Y, Zhao B, *et al.* Thymoquinone protects human retinal pigment epithelial cells against hydrogen peroxide induced oxidative stress and apoptosis [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(3):4514-4522.
- [24] Liu Y, Chan F, Sun H, *et al.* Resveratrol protects human keratinocytes HaCaT cells from UVA-induced oxidative stress damage by downregulating Keap1 expression [J]. *Eur J Pharmacol*, 2011, 650(1):130-137.
- [25] Palsamy P, Subramanian S. Resveratrol protects diabetic kidney by attenuating hyperglycemia-mediated oxidative stress and renal inflammatory cytokines via Nrf2-Keap1 signaling [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1812(7):719-731.
- [26] Kaidzu S, Sugihara K, Sasaki M, *et al.* Evaluation of acute corneal damage induced by 222-nm and 254-nm ultraviolet light in Sprague-Dawley rats [J]. *Free Radic Res*, 2019, 53(6):611-617.
- [27] Hayashi R, Himori N, Taguchi K, *et al.* The role of the Nrf2-mediated defense system in corneal epithelial wound healing [J]. *Free Radic Biol Med*, 2013, 61:333-342.
- [28] Long M, Rojo de la Vega M, Wen Q, *et al.* An Essential Role of NRF2 in Diabetic Wound Healing [J]. *Diabetes*, 2016, 65(3):780-793.
- [29] Foresti R, Bucolo C, Platania CM, *et al.* Nrf2 activators modulate oxidative stress responses and bioenergetic profiles of human retinal epithelial cells cultured in normal or high glucose conditions [J]. *Pharmacol Res*, 2015, 99:296-307.
- [30] Shi L, Chen H, Yu X, *et al.* Advanced glycation end products delay corneal epithelial wound healing through reactive oxygen species generation [J]. *Mol Cell Biochem*, 2013, 383(1-2):253-259.
- [31] Chwa M, Atilano SR, Hertzog D, *et al.* Hypersensitive response to oxidative stress in keratoconus corneal fibroblasts [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2008, 49(10):4361-4369.
- [32] Karamichos D, Hutcheon AE, Rich CB, *et al.* In vitro model suggests oxidative stress involved in keratoconus disease [J]. *Sci Rep*, 2014, 4:4608.
- [33] Liu R, Yan X. Sulforaphane protects rabbit corneas against oxidative stress injury in keratoconus through activation of the Nrf-2/HO-1 antioxidant pathway [J]. *Int J Mol Med*, 2018, 42(5):2315-2328.
- [34] Zinflou C, Rochette PJ. Ultraviolet A-induced oxidation in cornea: Characterization of the early oxidation-related events [J]. *Free Radic Biol Med*, 2017, 108:118-128.
- [35] Tonelli C, Chio IIC, Tuveson DA. Transcriptional Regulation by Nrf2 [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2018, 29(17):1727-1745.

(收稿日期:2021-04-23; 修回日期:2021-05-27)

(责任编辑:刘玉巧; 英文编辑:吕铿烽)