

# Nrf2/ARE 信号通路激活对放射治疗中减轻组织损伤的作用机制

https://doi.org/10.12307/2022.366

林培琦<sup>1</sup>, 龙远铸<sup>1</sup>, 张霓霓<sup>2</sup>, 黄桂林<sup>2</sup>

投稿日期: 2021-06-15

送审日期: 2021-06-16

采用日期: 2021-07-10

在线日期: 2021-09-04

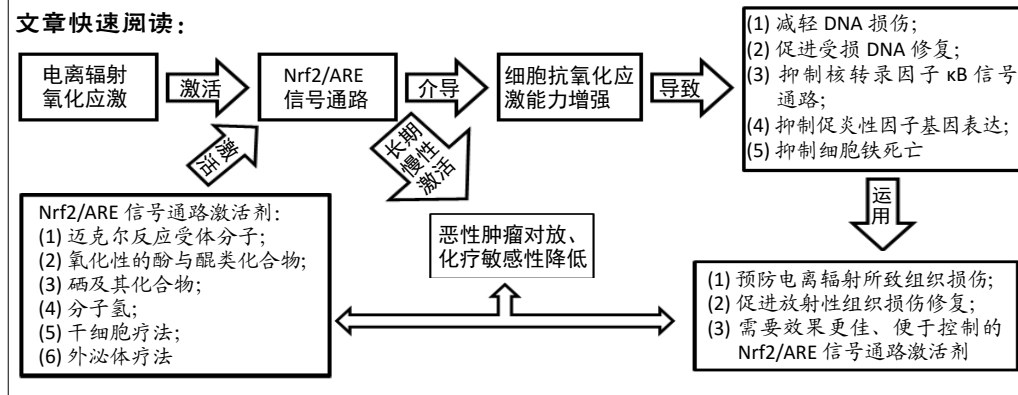
中图分类号:

R459.9; R363; R364

文章编号:

2095-4344(2022)11-01780-08

文献标识码: A



## 文题释义:

**Nrf2/ARE信号通路:** 是机体内源性抗氧化防御机制之一, 抗氧化反应的主要调节者, 可抵御各种原因所致氧化应激反应。该通路激活后, 其下游靶基因可控制细胞抗氧化反应、细胞保护和解毒基因表达, 并对促炎性细胞因子有抑制作用, 不仅可作为放射性组织损伤生物标志物参考, 还为放射性组织损伤防治提供新思路。

**放射性组织损伤:** 由于电离辐射所致全身各组织损伤, 其机制可分直接损伤与间接损伤, 二者均可导致体内活性氧与自由基增多, 使组织产生氧化应激反应。机体自发或被动激活抗氧化防御系统, 如Nrf2/ARE信号通路, 对放射性组织损伤有一定预防与修复作用。

## 摘要

**背景:** 放射治疗的严重并发症之一是放射性电离辐射所致的组织损伤。研究表明, 通过Nrf2/ARE信号通路激活内源性抗氧化应激反应, 对放射性组织损伤有一定的预防与治疗作用。

**目的:** 阐释Nrf2/ARE信号通路激活对放射性组织损伤的预防与修复的作用, 为探索预防放射治疗并发症策略的新思路。

**方法:** 计算机检索PubMed、Web of Science、中国知网、万方数据和维普数据库相关文献, 以“放射性损伤, 辐射损伤, 放射损伤, 放射性组织损伤(肠、肝、舌、肺、骨髓、皮肤、造血系统、神经系统及循环系统等), 辐射综合征, Nrf2”为中文数据库检索词, 以“radiation injury, radiation-induced tissue injury, radiation damage, radiation syndrome, Nrf2”为英文数据库检索词, 最终纳入67篇文献进行综述。

**结果与结论:** ①放射性组织损伤是由于电离辐射生物分子的分子内键均裂, 导致细胞毒性自由基与活性氧增加, 从而引起相关组织损伤。②Nrf2/ARE信号通路是重要的机体内源性抗氧化防御机制, 通过增强抗氧化反应元件表达, 达到减轻DNA损伤、促进受损DNA修复和抑制放射诱导细胞凋亡的目的, 因此Nrf2/ARE信号通路对参与预防与纠正包括放射性组织损伤在内的细胞氧化还原失衡有重要意义。③目前研究发现, Nrf2/ARE信号通路的激活存在两面性, 一方面通过Nrf2/ARE信号通路激活剂的运用, 不仅能够预防放射治疗所致组织损伤, 还能诱导放射后受损组织修复; 另一方面, 各种原因所致的Nrf2/ARE信号通路长期和慢性激活, 存在恶性肿瘤对放、化疗的敏感性降低的风险。④上述文献证据表明, Nrf2/ARE信号通路具有作为放射治疗并发症的新防治策略潜力, 但是否能广泛运用于临床, 还需更加深入的研究来证实。

**关键词:** 放射性组织损伤; 放射治疗; 电离辐射; 辐射损伤; 抗氧化应激; Nrf2; ARE; 修复与再生

## Activation of Nrf2/ARE signal pathway reduces radiotherapy-induced tissue injury

Lin Peiqi<sup>1</sup>, Long Yuanzhu<sup>1</sup>, Zhang Nini<sup>2</sup>, Huang Guilin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zunyi Medical University, Zunyi 563000, Guizhou Province, China; <sup>2</sup>Department of Maxillofacial Surgery, Affiliated Stomatological Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi 563000, Guizhou Province, China

Lin Peiqi, Master candidate, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, Guizhou Province, China

**Corresponding author:** Huang Guilin, MD, Professor, Department of Maxillofacial Surgery, Affiliated Stomatological Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi 563000, Guizhou Province, China

## Abstract

**BACKGROUND:** Tissue damage induced by radioactive ionizing radiation is one of the serious complications of radiotherapy. Activation of endogenous antioxidative stress response through nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2 (Nrf2)/antioxidant responsive element (ARE) signaling pathway has shown preventive and therapeutic effects on radiation-induced tissue injuries.

<sup>1</sup>遵义医科大学, 贵州省遵义市 563000; <sup>2</sup>遵义医科大学附属口腔医院颌面外科, 贵州省遵义市 563000

第一作者: 林培琦, 女, 1993年生, 福建省龙岩市人, 汉族, 遵义医科大学在读硕士, 主要从事放射性组织(涎腺)损伤修复研究及口腔颌面外科疾病的诊治。

通讯作者: 黄桂林, 博士, 教授, 遵义医科大学附属口腔医院口腔颌面外科, 贵州省遵义市 563000

https://orcid.org/0000-0002-9571-8351 (林培琦); https://orcid.org/0000-0003-3224-7094 (黄桂林)

基金资助: 国家自然科学基金(81960204), 项目负责人: 黄桂林; 国家自然科学基金(81860198), 项目负责人: 张霓霓

引用本文: 林培琦, 龙远铸, 张霓霓, 黄桂林. Nrf2/ARE 信号通路激活对放射治疗中减轻组织损伤的作用机制 [J]. 中国组织工程研究, 2022, 26(11):1780-1787.



**OBJECTIVE:** To explain the preventive and therapeutic mechanisms of Nrf2/ARE signaling pathway on radiation-induced injuries, and provide new ideas for exploring the treatment and prevention strategies of radiotherapy complications.

**METHODS:** PubMed, Web of Science, CNKI, WanFang and VIP databases were searched using the keywords of “radiation injury, radiation-induced tissue injury (intestine, liver, tongue, lung, bone marrow, skin, hematopoietic system, nervous system, circulatory system), radiation damage, radiation syndrome, Nrf2” in Chinese and English, respectively. A total of 67 literatures were finally included and reviewed.

**RESULTS AND CONCLUSION:** Radiation-induced injury is damage to tissues caused by the intramolecular bond homolysis of ionizing radiation biomolecules that lead to an increase in cytotoxic free radicals and reactive oxygen species. The Nrf2/ARE signaling pathway is an important endogenous antioxidant defense mechanism in the body. By enhancing the expression of antioxidant response elements, it can reduce DNA damage, promote damaged DNA repair, and inhibit radiation-induced cell apoptosis. Therefore, the Nrf2/ARE signaling pathway is of great significance for the prevention and correction of cellular redox imbalances including radioactive tissue damage. Current studies have found that the activation of Nrf2/ARE signaling pathway has two sides. On the one hand, the application of Nrf2/ARE signaling pathway activator cannot only prevent tissue loss caused by radiotherapy, but also induce the repair of damaged tissue after radiotherapy. On the other hand, the long-term and chronic activation of the Nrf2/ARE signaling pathway caused by various reasons may reduce the sensitivity of malignant tumors to radiotherapy and chemotherapy. Therefore, the Nrf2/ARE signaling pathway has potential as a new strategy for the prevention and treatment of radiotherapy complications; however, whether it can be applied in clinical practice still needs further exploration and research.

**Key words:** radiation-induced tissue damage; radiotherapy; ionizing radiation; radiation damage; antioxidative stress; Nrf2; ARE; repair and regeneration

**Funding:** the National Natural Science Foundation of China, No. 81960204 (to HGL) and 81860198 (to ZNN)

**How to cite this article:** LIN PQ, LONG YZ, ZHANG NN, HUANG GL. Activation of Nrf2/ARE signal pathway reduces radiotherapy-induced tissue injury. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2022;26(11):1780-1787.

## 0 引言 Introduction

放射治疗是多数恶性肿瘤综合序贯治疗的一部分，随着放射治疗的广泛临床实践，这一疗法所产生的多种并发症为医学界所重视。理想的放射治疗是最大限度地减少对正常组织的电离辐射损伤，同时增强对肿瘤组织辐射诱导细胞杀伤的敏感性。临床上，为了达到根治恶性肿瘤的治疗效果，常需要提高放疗的照射剂量，这可能会使邻近组织及器官，如造血系统、消化系统、免疫系统、生殖系统及神经系统中对电离辐射敏感的组织器官<sup>[1-2]</sup>，产生严重毒性，导致相应器官及组织放射性损伤<sup>[3]</sup>。

以往研究表明，电离辐射通过生物分子的分子内键均裂，产生细胞毒性自由基与活性氧，从而导致的细胞损伤<sup>[4]</sup>。针对细胞毒性自由基与活性氧，机体内的核转录因子E2相关因子2[nuclear Factor (Erythroid-Derived 2)-Like 2, Nrf2]通过抗氧化反应元件(antioxidant responsive element, ARE)调节细胞内抗氧化酶、II相解毒酶(如血红素加氧酶1)以及相关转运蛋白等抗氧化因子表达，增强致病超氧化物的解毒、DNA损伤修复、抑制炎症细胞因子和抑制铁死亡的产生，以此促进细胞存活反应<sup>[5-6]</sup>。Nrf2/ARE途径作为重要且关键的内源性抗氧化应激途径之一，在放射治疗并发症中，发挥了良好的预防与治疗潜力<sup>[7]</sup>。

文章对近年来Nrf2/ARE信号通路在放射性组织损伤防治中的作用研究进行综述，阐述Nrf2/ARE信号通路对放射性组织损伤防治相关机制、不同激活剂对放射性组织损伤的预防与受损组织的修复作用，并对该信号通路对恶性肿瘤围放射治疗的潜在影响展开讨论，以期对放射治疗所致组织损伤预防以及患者放射治疗后的组织修复相关研究提供新思路。

## 1 资料和方法 Data and methods

### 1.1 资料来源

1.1.1 检索人及检索时间 第一作者在2021年3-4月进行检索。

1.1.2 检索文献时限 2004年6月至2021年4月。

1.1.3 检索数据库 PubMed、Web of Science、中国知网、万方和维普数据库。

1.1.4 检索词 以“放射性损伤，辐射损伤，放射损伤，放射性组织损伤(肠、肝、舌、肺、骨髓、皮肤、造血系统、神经系统和循环系统等)，辐射综合征，Nrf2”为中文数据库检索词，以“radiation injury, radiation-induced tissue injury, radiation damage, radiation syndrome, Nrf2”为英文数据库检索词。

1.1.5 检索文献类型 研究原著、综述和专著。

1.1.6 检索策略 以PubMed数据库检索策略为例，见图1。

#1 Radiation injury [Title/Abstract]	#8 Wound [Title/Abstract]
#2 Radiation-induced tissue injury [Title/Abstract]	#9 #6 OR #7 OR #8
#3 Radiation damage [Title/Abstract]	#10 Nrf2 [Title/Abstract]
#4 Radiation syndrome [Title/Abstract]	#11 Nrf2/ARE [Title/Abstract]
#5 #1 OR #2 OR #3 OR #4	#12 Nrf2-ARE [Title/Abstract]
#6 Injury [Title/Abstract]	#13 #10 OR #11 OR #12
#7 Trauma [Title/Abstract]	#14 #5 AND #9 AND #13

图1 | PubMed数据库检索策略

1.1.7 检索文献量 计算机初步检索得到文献607篇，其中英文484篇，中文123篇。

### 1.2 纳入与排除标准

1.2.1 纳入标准 ①有关放射性组织损伤介绍及其原理的相关文献；②有关Nrf2/ARE信号通路参与放射性组织损伤防治与再生修复方面的文献；③该领域中的最新论点，且论据可靠的文献。

1.2.2 排除标准 ①研究目的、内容与文章无关的文献；②重复性研究文献；③研究内容陈旧、质量低的文献；④非中、英文文献。

1.3 数据提取和质量评估 截至2021年4月，计算机初步检索得到文献607篇，经计算机文献去重后，资料收集者相互评估，对文献标题及摘要进行初步筛选，剔除中、英文文献中重复性研究、相关性差的研究以及对该研究缺乏有效性与适用性研究的文献，通过全文精读与泛读复筛剩余文献，共纳入符合标准的文献67篇进行综述，其中英文66篇、中文1篇，见图2。

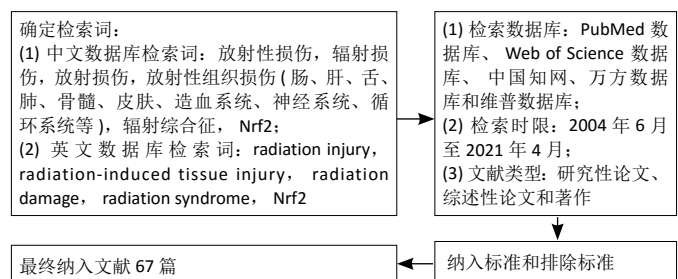


图2 | 文章筛选流程图

## 2 结果 Results

2.1 核糖体生物发生概述 放射性损伤对人体的动态氧平衡构成严重威胁，在很大程度上对细胞和组织水平上造成不利影响，例如活性氧的增高、DNA单链或双链断裂、顽固性溃疡和铁死亡等<sup>[8-12]</sup>，见表1。

表 1 | 放射治疗副反应研究文献汇总表

第一作者	发表年份	放射治疗的副反应
CHRISTOPHOROU <sup>[13]</sup>	2006	放射治疗可导致正常组织与癌变组织 DNA 结构破坏
WANG <sup>[14]</sup>	2006	造血干细胞自我更新抑制, 导致急性骨髓抑制与长期造血损伤
MA <sup>[10]</sup>	2017	血管内皮微血管损伤, 导致难以愈合的放射性顽固溃疡与软组织坏死
SAKAI <sup>[8]</sup>	2018	活性氧增多, 产生应激诱导细胞过早衰老, 促进炎症细胞迁移, 导致放射区域组织炎症反应加重, 最终形成放射性组织损伤
SHARMA <sup>[9]</sup>	2018	DNA 碱基破坏, DNA 修复功能减弱, 导致 DNA 完整性破坏、突变及相关疾病发病率增高
WANG <sup>[17]</sup>	2019	持续性的 DNA 损伤与放射性溃疡的发生相关, 衰老细胞的堆积也是放射性溃疡久治不愈的重要原因
LANG <sup>[18]</sup>	2019	铁死亡的发生依赖于谷胱甘肽抗氧化防御系统破坏, 导致不受限制的脂质过氧化, 最终诱导细胞死亡
LEI <sup>[11]</sup>	2020	诱导脂质过氧化, 导致铁死亡的产生, 是放射治疗诱导的正常细胞与肿瘤细胞死亡的重要形式, 与放射所致的 DNA 损伤无关
XIE <sup>[15]</sup>	2020	DNA 是放射损伤的主要生物靶点, 放射所致的 DNA 双链断裂是染色体畸变与细胞死亡的重要原因

放射性损伤的来源可分为直接损伤以及间接损伤: 直接损伤为电离辐射直接破坏包括核酸、蛋白质、脂质在内的关键生物分子, 使其分子内键均裂, 产生自由基与活性氧; 间接损伤是由于 H<sub>2</sub>O 辐射分解, 产生具有组织毒性的羟基自由基 (•OH)。在放射性损伤中, 间接损伤导致的正常组织破坏占到了 60%~70%<sup>[12]</sup>。

CHRISTOPHOROU 团队<sup>[13]</sup>研究表明, 电离辐射在体外和体内都能产生较高水平的 DNA 损伤, 常常导致肿瘤细胞与正常组织细胞衰老和细胞凋亡。WANG 等<sup>[14]</sup>发现, 放射治疗可导致造血干细胞自我更新抑制, 导致急性骨髓抑制与长期造血损伤。DNA 是放射损伤的主要生物靶点, 同时放射所致的 DNA 双链断裂最具危害性, 是染色体畸变与细胞死亡的重要原因<sup>[15]</sup>。目前, 电离辐射对 DNA 的损害效应由直接和间接 2 种机制引起, 直接机制为电离辐射作用于细胞中的 DNA 分子, 使得分子内键均裂; 间接机制则是通过电离辐射与细胞中的水分子相互作用, 通过高反应性自由基与活性氧的产物破坏 DNA 共价键<sup>[16]</sup>。持续性的 DNA 损伤与放射性溃疡的发生相关, 同时放射性溃疡可导致衰老细胞在组织中广泛堆积, 从而对 DNA 损伤灶持续存在的细胞产生持久影响<sup>[17]</sup>。

LEI 等<sup>[11]</sup>进一步研究发现, 电离辐射除了诱导 DNA 损伤外, 还可导致铁死亡的产生, 并指出铁死亡是电离辐射诱导的正常细胞与肿瘤细胞死亡的重要形式, 与放射所致的 DNA 损伤无关, 其主要机制为电离辐射不仅导致了活性氧的增加, 同时还诱导了长链脂酰辅酶 A 合成酶 4 的表达, 从而导致脂质过氧化以及铁死亡的产生。LANG 等<sup>[18]</sup>的研究也表明铁死亡作为一种独特的铁依赖的细胞死亡形式, 其特征是铁依赖性的脂质过氧化物堆积, 在形态和机制上与其他形式的细胞死亡不同, 它的启动依赖于谷胱甘肽抗氧化防御系统破坏, 导致不受限制的脂质过氧化, 最终诱导细胞死亡, 是恶性肿瘤放射治疗、化学药物治疗以及免疫疗法协同治疗的潜在交叉点。

**2.2 放射性损伤防治现状** 为了减轻放射治疗所致的组织损失, 在过去的 50 年间, 学者们对放射性损伤防治药物进行了广泛研究, 但尚未找到一个理想的放射性损伤防治策略<sup>[19]</sup>。目前, 临床上针对放射性组织损伤患者的防治方案多为对症处理, 如药物治疗及基因疗法等。氮磷汀是美国食品和药物管理局 (FDA) 批准的广谱细胞保护剂, 也是已知有效的辐射防护药物, 该药物通过与细胞膜碱性磷酸酯酶脱磷酸结合, 生成含自

由巯基的活性代谢物 WR-1065, 可清除细胞内自由基; 尽管在防治消化系统放射性组织损伤中取得了实验及临床的证据支持<sup>[20-21]</sup>, 但由于其存在如严重且频繁消化道反应、低血压等毒副作用, 目前氮磷汀仅限于减轻晚期卵巢癌患者顺铂治疗引起的肾毒性, 以及改善头颈部恶性肿瘤患者放疗性唾液腺损伤症状<sup>[22]</sup>。

此外, 一些药物也对放射性组织损伤有一定对症缓解作用, 如人角化细胞生长因子 (帕利夫明)、血管紧张素转换酶抑制剂 (卡托普利和雷米普利)、环氧化酶 2 抑制剂 (塞来昔布和布洛芬) 等<sup>[20]</sup>。针对放射治疗后口干症的基因疗法亦有临床试验的报道, 该疗法是通过注射的方法, 在腮腺内注入带外源性水通道基因重组腺病毒, 用于改善人体内基因缺陷与基因不足, 以此修复腮腺, 缓解各种原因引起的口干症症状<sup>[23]</sup>。

除了上述方法外, 近年来以 Nrf2/ARE 信号通路为基础的治疗方案显示出了独特的效果。作为机体对氧化应激重要的内源性防御机制, 基于 Nrf2/ARE 信号通路的放射性损伤防治方案与药物研究, 为降低放射性组织损伤发生率、缓解症状、提高患者生存质量提供新的思路。

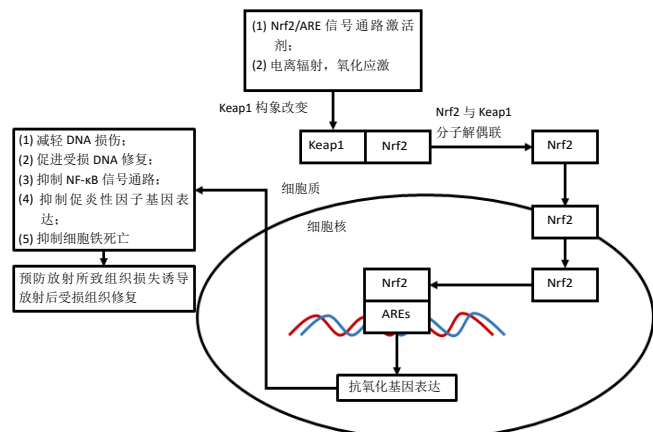
**2.3 Nrf2/ARE 信号通路与放射性损伤** Nrf2 由 NFE2L2 基因编码, 是碱性亮氨酸拉链结构核转录因子 CnC(cap'n'-collar) 家族成员, 1994 年首次从慢性髓系白血病细胞 K562 中发现并分离。CnC 家族成员包括 SKn-1、Nrf1、Nrf2、Nrf2、Nrf3、CNCC、Bach1 及 Bach2, 作为抗氧化反应介体发挥作用<sup>[24]</sup>。Nrf2 被认为是抗氧化反应的主要调节者, 其下游靶基因控制细胞抗氧化反应、细胞保护和解毒基因的表达, 参与预防与纠正细胞中的氧化还原失衡<sup>[25]</sup>。

Nrf2/ARE 信号通路是有效的机体内源性抗氧化防御机制, 可以抵御各种物理或化学来源的氧化应激。Kelch 样 ECH 相关蛋白 1 (kelch-like ECH-association protein 1, Keap1) 是一种与 Nrf2 结合位于细胞质的抑制蛋白, 可以促进 Nrf2 泛素化及对蛋白质酶体的降解, 在非应激条件下维持细胞质内较低水平的 Nrf2<sup>[26]</sup>。在氧化应激条件下, 随着 Nrf2 和 Keap1 的分子解偶联, Nrf2 进入人体的细胞核, 与抗氧化反应元件中的 GCTGAGTCA 位点结合, 从而激活包括谷胱甘肽 S-转移酶、γ-谷氨酰半胱氨酸合成酶、谷胱甘肽过氧化物酶、血红素加氧酶 1、过氧化氢酶、醌氧化还原酶 1 等抗氧化反应元件的表达, 增强细胞抗氧化应激的能力<sup>[27-29]</sup>, 减轻羟基自由基介导的 DNA 损伤, 促进受损 DNA 的修复<sup>[5]</sup>。此外, Nrf2 除了能诱导下游抗氧化因子的基因表达, 同时还能抑制核转录因子 κB 信号通路以及促炎性细胞因子基因表达<sup>[30-31]</sup>。

自由基与活性氧的增加, 导致脂质过氧化, 谷胱甘肽过氧化物酶 4、胱氨酸/谷氨酸转运蛋白系统在内的抗氧化体系表达量的降低, 诱导铁死亡的发生。其中谷胱甘肽过氧化物酶 4 与胱氨酸/谷氨酸转运蛋白系统均为 Nrf2 下游产物<sup>[6]</sup>, Nrf2/ARE 信号通路激活后, 前者利用谷胱甘肽减少氧化脂质种类, 抑制铁死亡<sup>[32]</sup>, 后者作为胱氨酸/谷氨酸转运体的关键成分, 通过输入胱氨酸并促进谷胱甘肽生物合成阻止铁死亡发生<sup>[33-34]</sup>。Nrf2/ARE 信号通路对铁死亡的抑制可分为铁代谢、中间代谢和谷胱甘肽合成/代谢 3 类<sup>[6]</sup>。

Nrf2/ARE 信号通路在铁/血红素代谢中起关键作用<sup>[35]</sup>, 影响着与铁储存、运输和新陈代谢相关的蛋白质编码基因的表达。铁作为氧运输、氧化磷酸化和代谢物氧化反应的辅助因子, 过量时会导致氧自由基的产生, Nrf2 通过激活编码铁蛋白重链 (Fth1) 和铁蛋白轻链 (Ftl) 表达, 从而提高铁蛋白水平, 促进铁储存, 降低细胞内氧化还原活性的游离铁原子的水平<sup>[36]</sup>。除了铁/血

红素代谢外, Nrf2 还调节许多参与中间代谢的产物, 介导反应中间体的分解与解毒, 对氧化底物还原所需的关键电子供给体还原型辅酶 II (NADPH) 再生有重要意义。许多药物的代谢酶和其他抗氧化反应系统都需要还原型辅酶 II 作为其主辅因子, 包括醛酮还原酶和醌氧化还原酶 1 等; NADPH 生成酶 6-磷酸葡萄糖脱氢酶和 6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶等受 Nrf2 控制调节<sup>[37-38]</sup>。谷胱甘肽合成和代谢相关酶受 Nrf2 调控, 如前文所提到的谷胱甘肽过氧化物酶 4 是利用谷胱甘肽抑制铁死亡的过氧化脂质还原剂<sup>[39]</sup>。XIE 等<sup>[15]</sup> 的研究表明, Nrf2/ARE 信号通路可以抑制电离辐射导致的细胞死亡与铁死亡, 同时 Nrf2 抑制剂可阻断该信号通路对细胞铁死亡的保护作用, 见图 3。



图注: 各种因素刺激导致 Keap1 构象改变, 使 Keap1 与 Nrf2 分子解偶联后, Nrf2 由细胞质进入细胞核, 与抗氧化反应元件结合, 促进抗氧化基因表达作用于细胞及相关组织, 预防放射所致组织损伤, 诱导放射后受损组织修复。Nrf2 为核转录因子 E2 相关因子 2; Keap1 为 Kelch 样 ECH 相关蛋白 1; AREs 为抗氧化反应元件; NF-κB 为核转录因子 κB

图 3 | Nrf2/ARE 信号通路对放射性组织损伤防治机制

既往研究表明, 使用药剂激活 Nrf2/ARE 信号通路可抑制由于活性氧所致的 DNA 突变, 从而降低肿瘤复发风险<sup>[3]</sup>。也有学者指出, 由于 Nrf2/ARE 信号通路的激活, 促进压力状态下的细胞存活, 在癌细胞中的长期处于过表达状态将影响放、化疗的治疗效果。部分恶性肿瘤, 包括皮肤癌、乳腺癌、前列腺癌、肺癌、头颈部癌和子宫内膜癌的肿瘤细胞中发现 Nrf2 的 Neh2 结构域或 Keap1 的 Kelch 结构域中产生突变, 这些突变能够诱导 Nrf2/ARE 信号通路异常激活, 并导致 Keap1 与其他调节增殖和凋亡的蛋白质结合功能障碍, 引起肿瘤细胞增殖, 产生更广泛的致癌作用<sup>[40-41]</sup>。即 Nrf2/ARE 信号通路的激活对恶性肿瘤放射治疗并发症防治方案可能存在有两面性, 如何在保护正常组织损失的同时, 减小肿瘤对放射治疗耐药性, 避免肿瘤复发, 也是未来针对围放射治疗期基于 Nrf2/ARE 信号通路治疗方案研究的挑战。

电离辐射诱导的症状与放射治疗期间活性氧和炎症因子的增加, 导致生物损伤以及细胞通路的改变, 这严重损害了患者的生活质量<sup>[42-43]</sup>。近年来众多研究表明, Nrf2 的靶基因如血红素加氧酶 1、γ-谷氨酰半胱氨酸合成酶、谷胱甘肽 S-转硫酶等氧化反应元件的表达水平, 随着放射治疗的剂量增加而增加, 反映了抗氧化应激状态, 不仅可作为评估电离辐射损伤的潜在生物标志参考<sup>[27, 42]</sup>, 同时也为寻找、研发基于 Nrf2/ARE 信号通路, 围放射治疗期间及放射治疗后, 邻近正常组织不良反应的防治药物与防治方案选择提供了重要思路<sup>[15-17, 44-45]</sup>, 近年来 Nrf2/ARE 信号通路的研究内容, 见表 2。

表 2 | Nrf2/ARE 信号通路研究文献汇总

第一作者	发表年份	Nrf2/ARE 信号通路研究成果
ZHANG <sup>[41]</sup>	2010	恶性肿瘤 Nrf2/ARE 信号通路长期慢性激活, 可导致肿瘤放、化疗耐药的风险
SPORN <sup>[40]</sup>	2012	恶性肿瘤诱导 Nrf2/ARE 信号通路异常激活, 引起肿瘤细胞增殖
SUZUKI <sup>[30]</sup>	2017	Nrf2/ARE 信号通路抑制了促炎细胞因子基因转录
KOPPULA <sup>[34]</sup>	2018	Nrf2/ARE 信号通路激活, 输入胱氨酸并促进谷胱甘肽生物合成阻止铁死亡
KAHROBA <sup>[25]</sup>	2020	Nrf2 是抗氧化反应的主要调节者, 参与预防与纠正细胞中的氧化还原失衡
XIE <sup>[15]</sup>	2020	Nrf2/ARE 信号通路可以抑制电离辐射导致的细胞死亡与铁死亡, 阻断该信号通路保护作用消失
BARTOLINI <sup>[3]</sup>	2020	药剂激活 Nrf2/ARE 信号通路可抑制由于活性氧所致的 DNA 突变, 从而降低肿瘤复发风险

表注: Nrf2 为核转录因子 E2 相关因子 2; AREs 为抗氧化反应元件; NF-κB 为核转录因子 κB; Fth1 为铁蛋白重链; Ftl 为铁蛋白轻链

## 2.4 Nrf2/ARE 信号通路激活剂对放射损伤的防治

- 迈克尔反应受体分子
- 氧化性的酚与醌类化合物
- 硒及其化合物
- 分子氢
- 干细胞疗法
- 外泌体疗法

Nrf2/ARE 信号通路的激活, 对放射性组织损伤有一定的预防与治疗作用, 目前激活 Nrf2/ARE 信号通路的药物多为 Keap1 与 Nrf2 相互作用的抑制剂, 且具有亲电性<sup>[46]</sup>。当细胞处于亲电或氧化应激状态时, Nrf2 逃脱 Keap1 介导的降解反应, 进入细胞核, 并在细胞核中将抗氧化和细胞保护基因激活<sup>[47]</sup>。激活剂通过氧化或烷基化与 Keap1 半胱氨酸上的巯基共价结合, 改变 Keap1 构象, 从而达到抑制 Nrf2 泛素化的目的<sup>[48]</sup>。此类通过直接抑制 Keap1 与 Nrf2 结合, 从而激活 Nrf2/ARE 信号通路的药物称作蛋白-蛋白相互作用抑制剂<sup>[49]</sup>, 如迈克尔反应受体分子、氧化性的酚与醌类化合物; 此外, 还有硒及其化合物、分子氢等具有亲电性的物质, 也起到了 Nrf2/ARE 信号通路的激活作用。近年来, 由于再生医学的兴起, 通过干细胞疗法或借由外泌体, 诱导 Nrf2/ARE 信号通路表达, 达到对电离辐射的防护以及促进放射性组织损伤修复的目的, 见表 3, 4。

2.4.1 迈克尔反应受体分子 迈克尔受体分子含有 α, β- 不饱和羰基, 能够同 Keap1 中的半胱氨酸残基共价结合, 使得 Keap1 的构象改变, 抑制因 Keap1 介导的 Nrf2 泛素化反应, 是一类效果较好的 Nrf2 激活剂<sup>[50]</sup>。目前, 放射性组织损伤防治潜在的迈克尔反应受体分子主要有姜黄素与原花青素 B2。

姜黄素是一种潜在的 Nrf2 激活剂, 不仅因为它能够通过氧化反应 (供氢反应) 清除活性氧, 同时姜黄素还是典型的迈克尔反应受体分子, 能够参与迈克尔加成反应。但在临床实际运用中, 姜黄素存在吸收能力差、肝脏排出迅速、半衰期短等缺陷, 故生物利用率极低, 目前为提高姜黄素的生物利用率, 基于生物学和药用性质对姜黄素衍生物和类似物的研究受到了广泛关注<sup>[51]</sup>。

EASSAWY 等<sup>[52]</sup> 研究发现, 姜黄素可以改善由于放射治疗或对乙酰氨基酚所致的肝脏损伤。通过姜黄素预处理, 不仅保持肝细胞膜结构与肝脏组织的完整性, 还可提高实验大鼠的肝酶、抗氧化酶活性, 降低脂质过氧化反应终产物丙二醛、炎症标记物、核转录因子 κB 和钙离子水平。同时, 进一步研究表明, 姜黄素能够提高 Nrf2 及其下游基因血红素加氧酶 1、醌氧化还原酶 1 的表达, 以及上调血红素加氧酶 1、醌氧化还原酶 1 相对蛋白表达率发挥保护作用。姜黄素通过抑制肝组织中的脂质过氧化作用激活 Nrf2/ARE 信号通路, 保护细胞和组织免受炎症损伤, 其机制可能与抗氧化酶的激活以及核转录因子 κB 信号的阻断有关。

表 3 | Nrf2/ARE 信号通路细胞实验研究文献汇总

第一作者	发表年份	细胞类型	药物	主要结论	应用意义
ZHU <sup>[28]</sup>	2020	NCM460、HCT116、CT26	原花青素 B2	原花青素 B2 激活 Nrf2/ARE 信号通路, 增强抗氧化酶表达, 保护肠道细胞; 同时 Nrf2/ARE 信号通路通过抑制氧化应激, 激活 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路, 促进组织再生。对肿瘤细胞使用原花青素 B2, Nrf2 表达未见明显升高	Nrf2/ARE 信号通路可激活其他信号通路, 该通路激活剂对肿瘤细胞无保护作用
XIE <sup>[15]</sup>	2020	HIEC	表没食子儿茶素没食子酸酯 (EGCG)	EGCG 不仅对电离辐射所致的 DNA 损伤有一定的治疗作用, 还能增强 Nrf2 下游产物 GPX4 与 xC-/xCT 的表达水平, 减少放射治疗后肠细胞铁死亡的发生, 恢复 HIEC 细胞活力, 其作用依赖于 Nrf2/ARE 信号通路的激活	Nrf2/ARE 信号通路可抑制铁死亡与促进 DNA 损伤的修复
LI <sup>[56]</sup>	2019	NCM460	表儿茶素	表儿茶素通过激活 Nrf2/ARE 信号通路, 进行抗氧化应激反应, 协同 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路, 诱导转录与细胞存活	Nrf2/ARE 信号通路与其他信号通路协同促进细胞存活
SHIMURA <sup>[16]</sup>	2019	MRC-5、TIG-3	表儿茶素	表儿茶素增强细胞中的 Nrf2 相关表达, 抑制氧化应激反应, 从而抑制细胞中 DNA 双链断裂和线粒体损伤, 提高细胞存活率	Nrf2/ARE 信号通路可保护 DNA 形态预防线粒体损伤
BARTOLINI <sup>[58]</sup>	2019	HepaRG	2, 20- 二 硒基 二 苯 甲 酸 (DSBA)	DSBA 对 HepG2 肝癌细胞不表现为 Nrf2/ARE 信号通路表达增强同时, DSBA 能够抑制该细胞 GST 活性, 增强放射治疗的敏感性	该 Nrf2/ARE 信号通路激活剂不仅对肝癌细胞无保护作用, 还能增强肝癌细胞对放射治疗的敏感性
WANG <sup>[66]</sup>	2020	角质形成细胞 (原代)	间充质干细胞源性外泌体	间充质干细胞源性外泌体提高抗氧化活性和减轻氧化反应, 并对氧化应激诱导的钙信号异常和线粒体改变有所改善。但间充质干细胞源性外泌体对 Nrf2/ARE 信号通路的调节是由多种细胞因子共同作用, 故具体机制尚不清楚	外泌体对放射组织的修复需要 Nrf2/ARE 信号通路的参与

表注: Nrf2 为核转录因子 E2 相关因子 2; GPX4 为谷胱甘肽过氧化物酶 4; xC-/xCT 为胱氨酸 / 谷氨酸转运蛋白系统; EGCG 为表没食子儿茶素没食子酸酯; DSBA 为 2, 20- 二 硒基 二 苯 甲 酸; GST 为谷胱甘肽 S- 转移酶

表 4 | Nrf2/ARE 信号通路动物模型实验研究文献汇总

第一作者	发表年份	动物类型	辐射范围	取材部位	药物	主要结论	应用意义
EASSAWY <sup>[52]</sup>	2020	Wistar 大鼠	全身	血液、肝脏	姜黄素	姜黄素通过激活 Nrf2/ARE 信号通路, 诱导抗氧化酶表达, 阻断 NF- $\kappa$ B 信号, 达到保护肝脏组织形态及功能的目的	Nrf2/ARE 信号通路可保护组织形态及功能
ZHU <sup>[28]</sup>	2020	C57BL/6 雄性小鼠	腹部	结肠、小肠	原花青素 B2	原花青素 B2 激活 Nrf2/ARE 信号通路, 增强抗氧化酶表达, 保护肠道组织; 同时还与 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路共同刺激 Lgr5 阳性肠干细胞, 促进肠道组织放射损伤修复和腺体再生, 原花青素 B2 肿瘤组织无保护作用	Nrf2/ARE 信号通路协同参与放射后组织修复, 该激活剂对肿瘤组织无保护作用
ZHANG <sup>[55]</sup>	2020	Wistar 雄性大鼠	全身	大脑	白藜芦醇	白藜芦醇通过上调 Nrf2 表达, 逆转放射所致活性氧水平; 通过对 caspase-3 阳性细胞数量以及 Bax/Bcl-2 比值测定, 发现白藜芦醇激活 Nrf2/ARE 信号通路, 明显减轻放射诱导的海马神经元凋亡	Nrf2/ARE 信号通路可逆转活性氧水平减轻细胞凋亡
XIE <sup>[15]</sup>	2020	C57BL/6 雄性小鼠	全身	肠道组织	表没食子儿茶素没食子酸酯 (EGCG)	EGCG 激活 Nrf2/ARE 信号通路, 提高放射后小鼠生存率, 保护肠组织, 促进放射后隐窝细胞增殖, 提高肠道干细胞活性, 减轻细胞凋亡与 DNA 损伤	Nrf2/ARE 信号通路通过对肠组织的保护与修复提高放射小鼠存活率
LI <sup>[56]</sup>	2019	C57BL/6 雄性小鼠	全身	小肠	表儿茶素	表儿茶素通过激活 Nrf2/ARE 信号通路清除活性氧, 减少隐窝细胞的凋亡, 促进肠上皮细胞再生, 协同 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路促进肠干细胞活性	Nrf2/ARE 信号通路可与其他通路协同促进干细胞活性与肠组织再生
SHIMURA <sup>[16]</sup>	2019	C57BL/6 雄性小鼠	全身	血液	表儿茶素	围放射给予小鼠表儿茶素, 通过提高 Nrf2 表达, 清除活性氧, 可减轻血小板线粒体损伤, 同时促进造血功能恢复	Nrf2/ARE 信号通路可减轻线粒体损伤, 促进造血功能恢复
BARTOLINI <sup>[58]</sup>	2019	C57BL/6 雄性小鼠	全身	血液、骨髓、肝脏	2, 20- 二 硒基 二 苯 甲 酸 (DSBA)	DSBA 放射前预处理作用于 Keap1, 可导致细胞内的活性氧一过性增高, 促发细胞封闭反应, 从而激活 Nrf2/ARE 信号通路, 预防骨髓造血干细胞损伤与凋亡, 促进放射后造血功能的修复	Nrf2/ARE 信号通路对造血系统有保护作用并参与放射后造血系统修复
KURA <sup>[60]</sup>	2019	大鼠 (品种、性别不详)	不详	心脏	分子氢	分子氢通过激活 Nrf2/ARE 信号通路, 降低炎症因子及脂质过氧化反应水平, 对心肌细胞起到保护作用, 相较于放射后给药, 放射前给药效果更佳	Nrf2/ARE 信号通路降低相关因子保护心肌细胞, 并初步总结出该激活剂最佳给药时间
BANDEKAR <sup>[20]</sup>	2020	C57BL/6 小鼠、Nrf2KO 小鼠	全身	骨髓、脾脏、空肠	沃顿胶体间充质干细胞	沃顿胶体间充质干细胞可向放射损伤的骨髓、脾脏、空肠等组织迁移促进受损组织修复, 同时为放射小鼠提供保护作用。但在 Nrf2 基因敲除小鼠中, 并无该作用的表现	沃顿间充质干细胞的修复与保护功能与 Nrf2/ARE 信号通路相关
WANG <sup>[66]</sup>	2020	雌性小鼠 (品种不详)	全身	皮肤	间充质干细胞源性外泌体	注射间充质干细胞源性外泌体, 可通过调节 Nrf2/ARE 信号通路, 减轻皮肤组织损伤和炎症反应, 抑制皮肤因放射所致胶原沉积。但间充质干细胞源性外泌体有长期激活 Nrf2/ARE 信号通路的风险, 将会导致皮肤角质细胞的脆性和过度角化	外泌体的修复与保护功能是通过激活 Nrf2/ARE 信号通路实现, 但外泌体激活方式较不可控

表注: Nrf2 为核转录因子 E2 相关因子 2; NF- $\kappa$ B 为核转录因子  $\kappa$ B; EGCG 为表没食子儿茶素没食子酸酯; DSBA 为 2, 20- 二 硒基 二 苯 甲 酸

原花青素 B2 是另一种天然黄酮类迈克尔反应受体分子, 作为抗氧化剂, 相较于姜黄素, 具有更好的化学稳定性以及更强的生物利用率。ZHU 等<sup>[28]</sup> 在关于原花青素 B2 对放射后肠道损伤修复影响的研究中发现, 原花青素 B2 不仅可以通过调节 Nrf2/ARE 信号通路活性, 增加抗氧化酶的表达, 防御氧化应激, 对肠组织及其腺体起到放射保护作用; 还通过 Nrf2/ARE 信号通路抑制氧化应激反应, 进而激活 Wnt/ $\beta$ -Catenin 信号通路, 共同刺激 Lgr5 阳性肠干细胞, 驱动肠道干细胞增殖, 促进放射后组

织再生。ZHU 等<sup>[28]</sup> 研究团队还发现, 原花青素 B2 的放射防护作用仅针对正常细胞, 而对于需要放射治疗的恶性肿瘤细胞并没有类似防护效果, 研究人员考虑这可能与恶性肿瘤细胞已经异常激活 Nrf2/ARE 信号通路有关。

2.4.2 氧化性的酚与醌类化合物 部分多羟基酚类化合物, 如儿茶酚、对苯二酚, 可通过氧化反应形成醌。这些化合物具有亲电子活性, 可与 Keap1 半胱氨酸的巯基反应, 使 Nrf2 与 Keap1 解偶联, 在细胞核中激活 ARE。然而还有部分多羟基酚类化合物,

如间苯二酚无法诱导 ARE 活性,这是由于间二苯酚既无法参与氧化还原反应,也无法产生醌。对于多羟基酚类化合物而言,氧化还原不稳定性是激活 Nrf2/ARE 信号通路的关键<sup>[53]</sup>。研究发现,内皮细胞摄取多羟基酚类化合物在一定程度上依赖于小窝蛋白 1(caveolin-1),当多羟基酚类化合物取代小窝蛋白 1 或利用小干扰 RNA(siRNA) 诱导小窝蛋白 1 沉默后, Nrf2 激活,血红素加氧酶 1、醌氧化还原酶 1 等 AREs 下游产物表达上调<sup>[54]</sup>。

治疗神经退行性疾病(如阿尔茨海默病)的白藜芦醇,也可用于放射治疗所致脑损伤的防治。ZHANG 等<sup>[55]</sup>的研究发现,大鼠的大脑受到放射性损伤后,海马区存在高水平的活性氧,同时核转录因子  $\kappa$ B 被激活,这导致大鼠的神经元丢失和认知功能损害;通过对 Caspase-3 阳性细胞数量以及 Bax/Bcl-2 比值测定,发现白藜芦醇激活 Nrf2/ARE 信号通路,促使其进入细胞核中,触发细胞内对氧化应激的防御反应,明显减轻放射诱导的海马神经元凋亡,达到神经保护的目的。

绿茶衍生物表没食子儿茶素没食子酸酯,占绿茶中的儿茶素含量 50% 以上,是茶多酚的主要有效成分。XIE 等<sup>[15]</sup>研究发现表没食子儿茶素没食子酸酯介导的放射性肠损伤防护作用依赖于 Nrf2/ARE 信号通路,同时,它的抗氧化活性是白藜芦醇的 2 倍,不仅对电离辐射所致的 DNA 损伤有一定的治疗作用,还能增强谷胱甘肽过氧化物酶 4 与胱氨酸/谷氨酸转运蛋白系统的表达水平,减少放射治疗后肠细胞铁死亡的发生,从而提高放射后小鼠生存率,保护肠组织,促进放射后隐窝细胞增殖,提高肠道干细胞活性。LI 等<sup>[56]</sup>在表儿茶素的研究中也发现,表儿茶素对放射性肠损伤的保护以及促进放射后肠再生作用依赖于 Nrf2/ARE 信号通路;通过 Nrf2/ARE 信号通路清除活性氧,可进一步提高肠干细胞的活性。表儿茶素通过 Nrf2/ARE 信号通路,可对全身多个系统进行电离辐射的防护,包括胃肠道、口腔黏膜和造血系统等,并减轻由于活性氧所导致的线粒体损伤,促进造血功能恢复<sup>[16]</sup>。

**2.4.3 硒及其化合物** 硒(Se)是人体重要的微量元素,是硒半胱氨酸(SeC)的组成部分,也是包括硒依赖的谷胱甘肽过氧化物酶和硫氧还蛋白还原酶 1 在内的硒蛋白辅助因子,具有清除自由基和细胞保护作用<sup>[57]</sup>。硒在放射治疗中的使用可分为无机硒与有机硒,虽然二者均有防治电离辐射损伤的功能,但有机硒较无机硒具有更低的毒性,故近年来有关硒及化合物在放射性损伤的研究以有机硒化合物为主<sup>[3]</sup>。BARTOLINI 等<sup>[58]</sup>研究中发现,硒激动剂,如 2, 20-二硒基二苯甲酸,对细胞进行放射预处理,作用于 Keap1,可导致细胞内的活性氧一过性增高,诱发细胞封闭反应,从而激活 Nrf2/ARE 信号通路,上调 Nrf2 蛋白并增加 Nrf2 依赖基因的表达,预防骨髓造血干细胞损伤与凋亡,促进放射后造血功能的修复。SCHILLING 等<sup>[59]</sup>在有关恶性肿瘤细胞放射治疗与硒的相关性研究中发现,在放射前预防性补硒,在保护正常细胞的同时,不仅不影响甚至还能够增加肿瘤细胞对放射的敏感性。

**2.4.4 分子氢** 分子氢( $H_2$ )是一种高效、无毒分子,拥有多种生物学效应,包括抗氧化、抗炎、抗凋亡和抗休克等<sup>[31]</sup>;具有治疗包括放射性损伤在内,因活性氧引起的相关疾病的潜力。分子氢在放射性组织损伤的治疗中最大优势为具备广泛给药的可能性。在动物实验中,分子氢已被证明可通过激活 Nrf2 通路,减少大鼠由于电离辐射导致的心脏脂质过氧化反应<sup>[60]</sup>。LEBARON 研究团队<sup>[12]</sup>总结出分子氢在氧化应激中的作用机制包括如下几点:①对羟自由基与过氧亚硝基阴离子的特定清除活性;②能够减轻炎症反应;③调节信号传导;④改变基因表达。研究表明,在放射治疗前预处理给予分子氢的效果,要优于放射治疗后的效果<sup>[12]</sup>。分子氢已经被证明可以模仿温和的生理应

激的影响,通过瞬间增加超氧化物的产生、轻微增加氧化应激产物、一过性激活核转录因子  $\kappa$ B 及诱导热休克蛋白等方式,达到抑制 Keap1 与 Nrf2 结合,激活 Nrf2/ARE 信号通路的目的。

**2.4.5 干细胞疗法** 由于电离辐射会造成包括干细胞在内的增殖细胞广泛损害,故干细胞疗法为放射治疗后的损伤组织修复提供了一种可行的治疗选择。ABDEL-MAGEED 等<sup>[61]</sup>的研究已经证明,通过静脉注射细胞外超氧化物歧化酶基因修饰的骨髓间充质干细胞,可提高放射后小鼠存活率。另一项研究表明,通过骨髓基质细胞(包括间充质细胞、内皮细胞和巨噬细胞)的移植,能够减轻小鼠放射后的肠道反应,并提高肠道生长因子水平,诱导放射损伤的肠组织再生<sup>[62]</sup>。但骨髓来源的干细胞存在有人类白细胞抗原配型、提取过程痛苦、分离效率低下等问题,而干细胞本身也存在成瘤风险。BANDEKAR 等<sup>[20]</sup>从人脐带中分离出沃顿胶体间充质干细胞,异体移植入放射后小鼠体内,并通过激活 Nrf2/ARE 信号通路起到辐射防护作用,促进沃顿胶体间充质干细胞向放射损伤的骨髓、脾脏、空肠等组织迁移,辅助受损组织形态及功能修复,但无法对 Nrf2 基因敲除小鼠放射性损伤组织进行预防与修复,其机制推测可能与沃顿胶体间充质干细胞分泌的造血细胞因子有关。

**2.4.6 外泌体疗法** 近年来研究表明,干细胞疗法对于组织再生的治疗效果很大部分来自于相关细胞的旁分泌效应产物,即外泌体的作用<sup>[63]</sup>。与单纯的抗氧化剂不同,治疗效果为外泌体内多种细胞因子组合的共同作用,相较于干细胞疗法没有成瘤风险<sup>[64]</sup>。目前研究已证实,外泌体-Nrf2 介导产物具有诱导靶器官组织修复与再生的能力,并对糖尿病足、动脉粥样硬化、慢性心力衰竭、生殖细胞衰竭和神经退行性疾病等有一定治疗意义<sup>[25]</sup>,故外泌体在组织抗炎和损伤修复方面表现出相当大的前景。CHEN 等<sup>[65]</sup>关于小鼠溃疡愈合的研究中发现,人类胚胎干细胞源性外泌体(HESC-Exos)通过 miR200a 介导 Keap1 下调,激活 Nrf2/ARE 信号通路诱导血管生成,从而提高溃疡愈合的效率。WANG 等<sup>[66]</sup>研究证明了间充质干细胞源性外泌体的抗氧化能力受 Nrf2 防御系统的调节,减少包括羟基自由基在内的活性氧产生、DNA 损伤、钙信号的异常以及线粒体的变化,改善因放射氧化应激诱导的皮肤损伤,减轻皮肤组织炎症反应,抑制皮肤胶原沉积;然而外泌体长期慢性地激活 Nrf2/ARE 信号通路,可造成皮肤角质细胞脆性增加和过度角化。就放射性损伤的组织而言,外泌体疗法是把双刃剑,既促进活性氧的产生与炎症因子的表达,又能够利用蛋白质和 miRNA 诱导抗氧化信号通路的激活<sup>[67]</sup>,一方面参与电离辐射的组织损伤,另一方促进放射性组织损伤的修复再生,同时对放射后受损组织修复的过程中,也展现出不可控的一面。虽然外泌体疗法能够避免部分细胞疗法的潜在风险,但其修复与保护机制尚待进一步阐明,便于研究者对 Nrf2/ARE 信号通路进行调控,达到理想的防治效果。

### 3 讨论 Discussion

**3.1 既往研究的贡献与待解决的问题** Nrf2/ARE 信号通路,是机体内源性对抗包括电离辐射在内的各种物理、化学来源氧化应激的重要防御机制。众多研究表明,Nrf2/ARE 信号通路的激活,可促进下游抗氧化因子表达,减轻 DNA 损伤,促进受损 DNA 的修复,抑制受损组织细胞铁死亡;还通过抑制炎症因子与核转录因子  $\kappa$ B 信号通路的激活,实现对放射性组织损伤的保护以及放射后受损组织的修复。Nrf2 的靶基因 AREs 的表达水平,不仅为放射性损伤程度的评估提供了潜在生物标志物,同时也为针对 Nrf2/ARE 信号通路的放射性组织损伤防治方案的选择与药物研发提供重要思路。目前所研究的 Nrf2/ARE 信号通路激活剂的

共同特征是具有亲电性，通过与 Keap1 上的半胱氨酸巯基结合进行结构修饰，改变 Keap1 构象抑制 Keap1 与 Nrf2 结合，从而使得 AREs 活化。近年兴起的干细胞疗法与外泌体疗法虽为放射性组织损伤防治带来了新思路，但其研究仅限于基础实验，对于利用干细胞或外泌体激活 Nrf2/ARE 信号通路的机制以及放射性组织损伤的保护与修复机制尚待进一步阐明。

**3.2 综述的特点** 文章除了阐释 Nrf2/ARE 信号通路为修复放射治疗后组织损失的预防与修复带来的有利面，还阐述了 Nrf2/ARE 信号通路在恶性肿瘤治疗过程中的弊端。近年随着对 Nrf2/ARE 信号通路研究的深入，Nrf2/ARE 信号通路存在的两面性越来越受到研究者的重视，一方面 Nrf2/ARE 信号通路的适当激活，可以降低肿瘤的复发风险，同时在放射治疗过程中减少正常组织损失；另一方面，长期慢性地激活 Nrf2/ARE 信号通路，可使恶性肿瘤细胞产生针对放、化疗的耐药性。Nrf2/ARE 信号通路在肿瘤治疗中的双重功能的发现，带来了关于使用 Nrf2/ARE 信号通路激活剂安全问题的探讨。部分 Nrf2/ARE 信号通路激活剂在放射治疗中仅表现出针对正常细胞的防护作用，对于肿瘤细胞并没有类似的保护效果，这一结果或许同肿瘤细胞已经异常激活 Nrf2/ARE 信号通路有关，但通路激活剂的使用是否会影响到放射治疗的远期效果，尚未有明确结论。同时，缺乏控制的 Nrf2/ARE 信号通路激活剂的使用，也可导致该通路长期慢性激活，不仅影响远期组织修复效果，还对恶性肿瘤的治疗带来不利影响。

**3.3 综述的局限性** 目前，众多 Nrf2/ARE 信号通路激活剂被开发，部分也已进入临床试验，但 Nrf2/ARE 信号通路在围放射治疗中对于正常组织的保护与修复作用研究，仍处于细胞实验与动物实验阶段，主要包括肠、舌、肺、肾、骨髓、口腔黏膜、神经系统、造血系统及循环系统等组织。真正投入临床，作为恶性肿瘤患者围放射治疗期间并发症防治手段，还有许多工作需要完成：①发现、研发、优化适用于放射治疗并发症的最佳 Nrf2/ARE 信号通路激活剂；②针对围放射治疗期患者，所选激活剂的最佳使用方法、用量、最佳使用时机与最佳停药时机，在保护正常组织与杀伤肿瘤细胞间找到平衡，使得 Nrf2/ARE 信号通路可控；③ Nrf2/ARE 信号通路激活剂对恶性肿瘤细胞的近、远期影响及其机制探讨。

**3.4 综述的重要意义** 文章阐释了作为人体内源性抗氧化应激途径之一的 Nrf2/ARE 信号通路对放射性组织损伤防治的相关机制，并总结了该通路在放射性组织损伤防治中的相关研究及目前尚未解决的问题，结果表明 Nrf2/ARE 信号通路可作为电离辐射诱导的放射性组织损伤治疗与预防策略的潜在思路。随着提取技术与合成技术的优化，高活性、易掌控和适合围放射治疗患者的 Nrf2/ARE 信号通路激活剂也将被发现或合成，并成为日后针对放射治疗所致组织损伤的新防治途径。

**作者贡献：**由黄桂林构思设计并指导修改。龙远铸负责文章写作校对。林培琦参与文献收集、分析总结。文章全体作者均负责项目指导、阅读并同意最终的文本发表。

**经费支持：**该文章接受了“国家自然科学基金(81960204, 81860198)”的资助。所有作者声明，经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

**利益冲突：**文章的全部作者声明，在课题研究和文章撰写过程不存在利益冲突。

**写作指南：**该研究遵循《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA 声明)。

**文章查重：**文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。

**文章外审：**文章经小同行外审专家双盲外审，同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

**文章版权：**文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

**开放获取声明：**这是一篇开放获取文章，根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享 4.0”条款，在合理引用的情况下，允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展，同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献，并为之建立索引，用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

## 4 参考文献 References

- WEN S, DOONER M, PAPA E, et al. Biodistribution of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles in a radiation injury bone marrow murine model. *Int J Mol Sci.* 2019;20(21):1-15.
- ZHOU R, LONG H, ZHANG B, et al. Salvia miltiorrhiza, an antioxidant derived from *Salvia miltiorrhiza*, protects mice against gamma radiation-induced damage through Nrf2/Bach1. *Mol Med Rep.* 2019;19(2):1309-1317.
- BARTOLINI D, TEW KD, MARINELLI R, et al. Nrf2-modulation by seleno-hormetic agents and its potential for radiation protection. *Biofactors.* 2020;46(2):239-245.
- ANURANJANI, BALA M. Concerted action of Nrf2-ARE pathway, MRN complex, HMGB1 and inflammatory cytokines-implication in modification of radiation damage. *Redox Biol.* 2014;2:832-846.
- ZHANG T, SHI L, LI Y, et al. Polysaccharides extracted from *Rheum tanguticum* ameliorate radiation-induced enteritis via activation of Nrf2/HO-1. *J Radiat Res.* 2021;62(1):46-57.
- DODSON M, CASTRO-PORTUGUEZ R, ZHANG DD. Nrf2 plays a critical role in mitigating lipid peroxidation and ferroptosis. *Redox Biol.* 2019; 23:101107.
- HYBERTSON B M, GAO B, BOSE SK, et al. Oxidative stress in health and disease: the therapeutic potential of Nrf2 activation. *Mol Aspects Med.* 2011;32(4-6):234-246.
- SAKAI Y, YAMAMORI T, YOSHIKAWA Y, et al. NADPH oxidase 4 mediates ROS production in radiation-induced senescent cells and promotes migration of inflammatory cells. *Free Radic Res.* 2018;52(1):92-102.
- SHARMA N, CHAKRAVARTHY S, LONGLEY MJ, et al. The C-terminal tail of the NEIL1 DNA glycosylase interacts with the human mitochondrial single-stranded DNA binding protein. *DNADamage (Amst).* 2018;65:11-19.
- MA X, JIN Z, LI G, et al. Classification of chronic radiation-induced ulcers in the chest wall after surgery in breast cancers. *Radiat Oncol.* 2017;12(1):135.
- LEI G, ZHANG Y, KOPPULA P, et al. The role of ferroptosis in ionizing radiation-induced cell death and tumor suppression. *Cell Res.* 2020; 30(2):146-162.
- LEBARON TW, KURA B, KALOCAYOVA B, et al. A New approach for the prevention and treatment of cardiovascular disorders. molecular hydrogen significantly reduces the effects of oxidative stress. *Molecules.* 2019;24(11):2076.
- CHRISTOPHOROU MA, RINGSHAUSEN I, FINCH AJ, et al. The pathological response to DNA damage does not contribute to p53-mediated tumour suppression. *Nature.* 2006;443(7108):214-217.
- WANG Y, SCHULTE BA, LARUE AC, et al. Total body irradiation selectively induces murine hematopoietic stem cell senescence. *Blood.* 2006;107(1):358-366.
- XIE LW, CAI S, ZHAO TS, et al. Green tea derivative (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) confers protection against ionizing radiation-induced intestinal epithelial cell death both in vitro and in vivo. *Free Radic Biol Med.* 2020;161:175-186.
- SHIMURA T, KOYAMA M, AONO D, et al. Epicatechin as a promising agent to countermeasure radiation exposure by mitigating mitochondrial damage in human fibroblasts and mouse hematopoietic cells. *FASEB J.* 2019;33(6):6867-6876.
- WANG Z, CHEN Z, JIANG Z, et al. Cordycepin prevents radiation ulcer by inhibiting cell senescence via Nrf2 and AMPK in rodents. *Nat Commun.* 2019;10(1):2538.
- LANG X, GREEN MD, WANG W, et al. Radiotherapy and immunotherapy promote tumoral lipid oxidation and ferroptosis via synergistic repression of SLC7A11. *Cancer Discov.* 2019;9(12):1673-1685.
- MISHRA K, ALSBEIH G. Appraisal of biochemical classes of radioprotectors: evidence, current status and guidelines for future development. *3 Biotech.* 2017;7(5):292.
- BANDEKAR M, MAURYA DK, SHARMA D, et al. Xenogeneic transplantation of human WJ-MSCs rescues mice from acute radiation syndrome via Nrf-2-dependent regeneration of damaged tissues. *Am J Transplant.* 2020;20(8):2044-2057.

- [21] KOUKOURAKIS MI. Radiation damage and radioprotectants: new concepts in the era of molecular medicine. *Br J Radiol.* 2012;85(1012):313-330.
- [22] OBRADOR E, SALVADOR R, VILLAESCUSA JI, et al. Radioprotection and radiomitigation: from the bench to clinical practice. *Biomedicines.* 2020;8(11):461.
- [23] SINGH VK, SEED TM. Pharmacological management of ionizing radiation injuries: current and prospective agents and targeted organ systems. *Expert Opin Pharmacother.* 2020;21(3):317-337.
- [24] SYKIOTIS GP, BOHMANN D. Stress-activated cap'n'collar transcription factors in aging and human disease. *Sci Signal.* 2010;3(112):re3.
- [25] KAHROBA H, DAVATGARAN-TAGHIPOUR Y. Exosomal Nrf2: from anti-oxidant and anti-inflammation response to wound healing and tissue regeneration in aged-related diseases. *Biochimie.* 2020;171-172:103-109.
- [26] LOBODA A, DAMULEWICZ M, PYZA E, et al. Role of Nrf2/HO-1 system in development, oxidative stress response and diseases: an evolutionarily conserved mechanism. *Cell Mol Life Sci.* 2016;73(17):3221-3247.
- [27] HAMADA N, SHIMURA T, NAKASHIRO C, et al. Induction of oxidative stress biomarkers following whole-body irradiation in mice. *Plos One.* 2020;15(10):e0240108.
- [28] ZHU X, TIAN X, YANG M, et al. Procyanidin B2 promotes intestinal injury repair and attenuates colitis-associated tumorigenesis via suppression of oxidative stress in mice. *Antioxid Redox Signal.* 2020;35(2):75-92.
- [29] YUAN L, DUAN X, ZHANG R, et al. Aloe polysaccharide protects skin cells from UVB irradiation through Keap1/Nrf2/ARE signal pathway. *J Dermatol Treat.* 2019;31(3):300-308.
- [30] SUZUKI T, YAMAMOTO M. Stress-sensing mechanisms and the physiological roles of the Keap1-Nrf2 system during cellular stress. *J Biol Chem.* 2017;292(41):16817-16824.
- [31] SLEZAK J, KURA B, LEBARON TW, et al. Oxidative stress and pathways of molecular hydrogen effects in medicine. *Curr Pharm Des.* 2020;27(5):610-625.
- [32] URSINI F, MAIORINO M. Lipid peroxidation and ferroptosis: the role of GSH and GPx4. *Free Radic Biol Med.* 2020;152:175-185.
- [33] ARENSMAN MD, YANG XS, LEAHY DM, et al. Cystine-glutamate antiporter xCT deficiency suppresses tumor growth while preserving antitumor immunity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2019;116(19):9533-9542.
- [34] KOPPULA P, ZHANG Y, ZHUANG L, et al. Amino acid transporter SLC7A11/xCT at the crossroads of regulating redox homeostasis and nutrient dependency of cancer. *Cancer Commun (Lond).* 2018;38(1):12.
- [35] KERINS MJ, OOI A. The roles of Nrf2 in modulating cellular iron homeostasis. *Antioxid Redox Signal.* 2018;29(17):1756-1773.
- [36] SAHA S, BUTTARI B, PANIERI E, et al. An overview of Nrf2 signaling pathway and its role in inflammation. *Molecules.* 2020;25(22):5474.
- [37] PANIERI E, TELKOPARAN-AKILLILAR P, SUZEN S, et al. The Nrf2/KEAP1 axis in the regulation of tumor metabolism: mechanisms and therapeutic perspectives. *Biomolecules.* 2020;10(5):791.
- [38] HAYES JD, DINKOVA-KOSTOVA AT. The Nrf2 regulatory network provides an interface between redox and intermediary metabolism. *Trends Biochem Sci.* 2014;39(4):199-218.
- [39] JIANG GP, LIAO YJ, HUANG LL, et al. Effects and molecular mechanism of pachymic acid on ferroptosis in renal ischemia reperfusion injury. *Mol Med Rep.* 2021;23(1):63.
- [40] SPORN MB, LIBY KT. Nrf2 and cancer: the good, the bad and the importance of context. *Nat Rev Cancer.* 2012;12(8):564-571.
- [41] ZHANG DD. The Nrf2-Keap1-ARE signaling pathway: the regulation and dual function of Nrf2 in cancer. *Antioxid Redox Signal.* 2010;13(11):1623-1626.
- [42] MIURA S, YAMAGUCHI M, YOSHINO H, et al. Dose-dependent increase of Nrf2 target gene expression in mice exposed to ionizing radiation. *Radiat Res.* 2019;191(2):176-188.
- [43] KIRSCH DG, SANTIAGO PM, DI TOMASO E, et al. p53 controls radiation-induced gastrointestinal syndrome in mice independent of apoptosis. *Science.* 2010;327(5965):593-596.
- [44] ABDEL-MAGIED N, SHEDID SM. The effect of naringenin on the role of nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2 (Nrf2) and haem oxygenase 1 (HO-1) in reducing the risk of oxidative stress-related radiotoxicity in the spleen of rats. *Environ Toxicol.* 2019;34(7):788-795.
- [45] BAILLY C. Potential use of edaravone to reduce specific side effects of chemo-, radio- and immuno-therapy of cancers. *Int Immunopharmacol.* 2019;77:105967.
- [46] O'BRIEN J, WENDELL SG. Electrophile modulation of inflammation: a two-hit approach. *Metabolites.* 2020;10(11):453.
- [47] ZHANG DD. Mechanistic studies of the Nrf2-Keap1 signaling pathway. *Drug Metab Rev.* 2006;38(4):769-789.
- [48] LU H, ZHOU Q, HE J, et al. Recent advances in the development of protein-protein interactions modulators: mechanisms and clinical trials. *Signal Transduct Target Ther.* 2020;5(1):213.
- [49] JIANG ZY, LU MC, YOU QD. Discovery and Development of Kelch-like ECH-Associated Protein 1. Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor 2 (KEAP1-NRF2) Protein-Protein Interaction Inhibitors: achievements, Challenges, and Future Directions. *J Med Chem.* 2016;59(24):10837-10858.
- [50] MENG X, WADDINGTON JC, TAILOR A, et al. CDDO-imidazole targets multiple amino acid residues on the Nrf2 adaptor, Keap1. *J Med Chem.* 2020;63(17):9965-9976.
- [51] NOUREDDIN SA, EL-SHISHTAWY RM, AL-FOOTY KO. Curcumin analogues and their hybrid molecules as multifunctional drugs. *Eur J Med Chem.* 2019;182:111631.
- [52] EASSAWY MMT, SALEM AA, ISMAIL AFM. Biochemical study on the protective effect of curcumin on acetaminophen and gamma-irradiation induced hepatic toxicity in rats. *Environ Toxicol.* 2020. doi: 10.1002/tox.23077.
- [53] DINKOVA-KOSTOVA AT, WANG XJ. Induction of the Keap1/Nrf2/ARE pathway by oxidizable diphenols. *Chem Biol Interact.* 2011;192(1-2):101-106.
- [54] ZHENG Y, MORRIS A, SUNKARA M, et al. Epigallocatechin-gallate stimulates NF-E2-related factor and heme oxygenase-1 via caveolin-1 displacement. *J Nutr Biochem.* 2012;23(2):163-168.
- [55] ZHANG Y, ZHU XB, ZHAO JC, et al. Neuroprotective effect of resveratrol against radiation after surgically induced brain injury by reducing oxidative stress, inflammation, and apoptosis through Nrf2/HO-1/NF-kappaB signaling pathway. *J Biochem Mol Toxicol.* 2020;34(12):e22600.
- [56] LI Y, MA S, ZHANG Y, et al. (-)-Epicatechin mitigates radiation-induced intestinal injury and promotes intestinal regeneration via suppressing oxidative stress. *Free Radic Res.* 2019;53(8):851-864.
- [57] TINDELL R, WALL SB, LI Q, et al. Selenium supplementation of lung epithelial cells enhances nuclear factor E2-related factor 2 (Nrf2) activation following thioredoxin reductase inhibition. *Redox Biol.* 2018;19:331-338.
- [58] BARTOLINI D, WANG Y, ZHANG J, et al. A seleno-hormetine protects bone marrow hematopoietic cells against ionizing radiation-induced toxicities. *PLoS One.* 2019;14(4):e0205626.
- [59] SCHILLING D, HEROLD B, COMBS SE, et al. Selenium does not affect radiosensitivity of breast cancer cell lines. *Radiat Environ Biophys.* 2019;58(3):433-438.
- [60] KURA B, BAGCHI AK, SINGAL PK, et al. Molecular hydrogen: potential in mitigating oxidative-stress-induced radiation injury. *Can J Physiol Pharmacol.* 2019;97(4):287-292.
- [61] ABDEL-MAGEED AS, SENAGORE AJ, PIETRYGA DW, et al. Intravenous administration of mesenchymal stem cells genetically modified with extracellular superoxide dismutase improves survival in irradiated mice. *Blood.* 2009;113(5):1201-1203.
- [62] SAHA S, BHANJA P, KABARRITI R, et al. Bone marrow stromal cell transplantation mitigates radiation-induced gastrointestinal syndrome in mice. *PLoS One.* 2011;6(9):e24072.
- [63] 刘涛, 张霓霓, 黄桂林. 细胞外囊泡与放射性组织损伤的关系 [J]. *中国组织工程研究*, 2021, 25(13): 2121-2126.
- [64] FAIS S, O'DRISCOLL L, BORRAS FE, et al. Evidence-based clinical use of nanoscale extracellular vesicles in nanomedicine. *ACS Nano.* 2016;10(4):3886-3899.
- [65] CHEN B, SUN Y, ZHANG J, et al. Human embryonic stem cell-derived exosomes promote pressure ulcer healing in aged mice by rejuvenating senescent endothelial cells. *Stem Cell Res Ther.* 2019;10(1):142.
- [66] WANG T, JIAN Z, BASKYS A, et al. MSC-derived exosomes protect against oxidative stress-induced skin injury via adaptive regulation of the Nrf2 defense system. *Biomaterials.* 2020;257:120264.
- [67] BODEGA G, ALIQUÉ M, PUEBLA L, et al. Microvesicles: ROS scavengers and ROS producers. *J Extracell Vesicles.* 2019;8(1):1626654.

(责任编辑: WJ, ZN, SX)