

核因子 E2 相关因子 2 对人永生化角质形成细胞氧化损伤的保护作用

毛志蓉^{1,2} 刘芳^{1,2} 杜杰² 邓莉¹ 高小青^{1,2*}

(1.西南医科大学医学基础研究中心; 2.西南医科大学解剖学教研室,四川 泸州 646000)

[摘要] **目的** 探讨核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2) 对过氧化氢 (H_2O_2) 诱导的人永生化角质形成细胞 (HaCaT) 氧化损伤的保护作用。**方法** 用慢病毒转染方式使 HaCaT 过表达 Nrf2 (Nrf2/HaCaT), 并用 MTT 法和抗 Ki67 免疫荧光染色法检测其增殖活性。实验分为 Nrf2/HaCaT 组和 HaCaT 组, 每组 5 个样本。应用 200 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 处理两组细胞 24 h 以诱导氧化损伤, 并用 MTT 法检测细胞活性, 乳酸脱氢酶 (LDH) 法检测细胞损伤情况, TUNEL 染色检测细胞凋亡, ELISA 法和比色法检测氧化应激相关指标 Nrf2、谷胱甘肽 (GSH)、超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA) 和活性氧 (ROS), 以及炎症相关因子白细胞介素 (IL)-6、肿瘤坏死因子 (TNF)- α 、核因子 κB (NF- κB) P65 的含量。**结果** Nrf2/HaCaT 细胞增殖活性显著高于 HaCaT ($P < 0.05$)。经 H_2O_2 诱导后, Nrf2/HaCaT 活性较 HaCaT 高 ($P < 0.05$), LDH 释放及凋亡率较 HaCaT 低 ($P < 0.05$), 其上清液中的抗氧化物 Nrf2、GSH 和 SOD 水平较 HaCaT 高 ($P < 0.05$), 而氧化产物 ROS、MDA 以及炎症因子 IL-6、TNF- α 和 NF- κB P65 水平较 HaCaT 低 ($P < 0.05$)。**结论** Nrf2 过表达可促进 HaCaT 增殖及减轻 H_2O_2 诱导的细胞氧化和炎症损伤。

[关键词] 核因子 E2 相关因子 2; 过表达; 人永生化角质形成细胞; 细胞增殖; 氧化损伤; 慢病毒转染; 酶联免疫吸附测定; 比色法

[中图分类号] R758.1 **[文献标志码]** A **[DOI]** 10.16098/j.issn.0529-1356.2021.02.010

Protective effect of nuclear factor E2-related factor 2 on oxidative injury in human immortalized epidermal cells

MAO Zhi-rong^{1,2}, LIU Fang^{1,2}, DU Jie², DENG Li¹, GAO Xiao-qing^{1,2*}

(1.Preclinical Medicine Research Center; 2.Department of Anatomy, Southwest Medical University, Sichuan Luzhou 646000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the protective effect of nuclear factor E2-related factor 2 (Nrf2) on hydrogen peroxide (H_2O_2)-induced oxidative injury in human immortalized epidermal cells (HaCaT). **Methods** Nrf2 was overexpressed in HaCaT (Nrf2/HaCaT) through lentiviral transfection, then cell proliferative activity was examined by MTT assay and anti-ki67 immunofluorescent staining. The experiment was divided into Nrf2/HaCaT group and HaCaT group, with five samples in each group. After cells were treated with H_2O_2 of 200 $\mu\text{mol/L}$ for 24 hours to induce oxidative injury, the cell viability, damage and apoptosis were respectively detected by MTT assay, lactate dehydrogenase (LDH) assay and TUNEL staining. Moreover, the content of the related indicators of oxidative stress, including Nrf2, glutathione (GSH), superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), reactive oxygen species (ROS), and the content of the inflammation associated factor, comprising interleukin (IL)-6, tumor necrosis factor (TNF)- α , nuclear factor kappa-B (NF- κB) P65 were checked by ELISA assay and colorimetry assay. **Results** The proliferative activity of Nrf2/HaCaT was higher than that of HaCaT ($P < 0.05$). When induced by H_2O_2 for 24 hours, compared with HaCaT, the cell viability increased significantly ($P < 0.05$), and the LDH release and apoptosis rate decreased significantly in Nrf2/HaCaT ($P < 0.05$). The levels of antioxidant Nrf2, GSH, SOD were higher ($P < 0.05$), and the levels of oxidation product ROS, MDA, and inflammatory factor IL-6, TNF- α and NF- κB P65 were lower in supernatant in Nrf2/HaCaT than those in HaCaT ($P < 0.05$). **Conclusion** Nrf2 overexpression could promote HaCaT proliferation and reduce H_2O_2 -induced oxidative and inflammatory injury.

[收稿日期] 2020-06-30 **[修回日期]** 2020-08-11

[基金项目] 四川省教育厅科研重点项目 (16ZA0195); 泸州市人民政府-西南医科大学科技合作项目 [2015LZCYD-S05 (7/12)]

[作者简介] 毛志蓉 (1995—), 女 (土家族), 贵州省铜仁市人, 在读硕士研究生。

* 通讯作者 (To whom correspondence should be addressed)

E-mail: lygaqxq@163.com Tel: (0830) 3161283

[Key words] Nuclear factor E2-related factor 2; Overexpression; Human immortalized epidermal cell; Cell proliferation; Oxidative injury; Lentiviral transfection; Enzyme linked immunosorbent assay; Colorimetry

角质形成细胞(keratinocytes, KC)是皮肤表皮的主要细胞,具有很强的增殖能力,形成致密屏障系统阻止细菌、病毒等有害病原体侵入。此外, KC对环境(如冷、热、辐射、创伤等)刺激会产生氧化应激状态,可阻止皮肤因长期接触氧化应激而诱发皮肤炎症、老化和肿瘤发生^[1,2]。核因子E2相关因子2(nuclear factor E2-related factor 2, Nrf2)是抗氧化反应的主要调控因子,调节一系列与抗氧化应激和新陈代谢有关的基因,在皮肤稳态、修复和疾病中发挥关键作用^[3,4]。目前,一些天然分子(如类胡萝卜素、多酚)^[5]和植物类提取物(如紫苏醛)^[6]已被证明通过激活Nrf2通路可减轻KC氧化损伤。基于此,本实验应用Nrf2过表达重组慢病毒质粒转染人永生角质形成细胞(human immortalized keratinocytes, HaCaT),并用H₂O₂诱导制作氧化损伤模型,观察Nrf2基因对细胞毒性、氧化应激及炎症反应的影响,为探讨皮肤氧化应激损伤的发病机制及可能的治疗途径提供实验依据。

材料和方法

1. 主要材料

HaCaT细胞购自湖南丰晖生物科技有限公司; MTT、DAPI、RPMI培养基购自Sigma公司; FBS购自Hyclone公司; 兔抗Ki67、Nrf2抗体购自Abcam公司; 羊抗兔IgG-Cy3购自武汉博士德生物工程有限公司; TUNEL凋亡试剂盒购自Roche公司; Nrf2、活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)、白细胞介素(interleukin, IL)-6、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α 、核因子 κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)P65的ELISA试剂盒购自北京安迪华泰科技有限公司; 乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)、还原型谷胱甘肽(glutathione, GSH)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malonaldehyde, MDA)检测试剂盒购自南京建成生物研究所。Nrf2过表达重组慢病毒质粒(编号GV358, Ubi-MCS-3FLAG-SV40-ERFPRES-puromycin, LVKL25280-2)、空白慢病毒质粒(lentivirus-containing lenti-RFP control)购自上海吉凯基因公司, LentiORF慢病毒颗粒由该公司构建、包装和纯化^[7]。上述两种质粒均包含绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)基因。

2. 方法

2.1 HaCaT细胞的培养和感染: HaCaT细胞种植在含10% FBS的RPMI培养基中, 37℃、5% CO₂饱和

湿度环境中培养。细胞行Nrf2过表达重组慢病毒质粒转染(Nrf2/HaCaT), 其具体步骤按吉凯基因公司说明书进行操作, 同时转染不含Nrf2的空白慢病毒质粒作为对照(HaCaT)。于转染后72 h行免疫荧光染色和Western blotting检测细胞内Nrf2蛋白表达。

2.2 细胞增殖活性检测: 为观察Nrf2过表达对HaCaT细胞生长的影响, 将Nrf2/HaCaT细胞和HaCaT细胞以 5×10^3 /孔种植在96孔板, 分别在培养24、48、72、96 h后采用MTT法检测细胞增殖情况。在各时间点, 加入20 μ l 0.5% MTT溶液, 37℃孵育4 h, 每孔加入150 μ l DMSO, 振荡器上振荡5 min后, 于酶标仪上490 nm波长处测定各孔吸光度(absorbance, A)值。

此外, Ki67是一种标记细胞增殖状态的核抗原, 为进一步观察Nrf2过表达对细胞增殖的影响, 对两组细胞进行抗Ki67免疫荧光染色检测分析。爬片经4%多聚甲醛固定, 0.3% Triton X-100 37℃ 5 min, 10%羊血清封闭37℃ 30 min, 兔抗Ki67抗体(1:100)4℃过夜, 羊抗兔IgG-Cy3(1:100) 37℃ 30 min, 荧光显微镜下观察细胞呈红色为阳性, DAPI室温10 min复染细胞核。以上各步骤结束时用0.01 mol/L PBS漂洗3次。阴性对照除不加一抗外, 其余处理相同。在高倍镜下随机选择5个不重复视野, 计数阳性细胞和细胞核, 按照公式: 阳性细胞数量/细胞核总数 $\times 100\%$ 计算阳性细胞率。

2.3 H₂O₂诱导氧化损伤模型的建立: Nrf2/HaCaT和HaCaT分别种植在96孔板或6孔板, 用含有200 μ mol/L H₂O₂的RPMI培养基培养24 h后终止培养。

2.4 MTT法检测细胞活性: 为检测Nrf2过表达对H₂O₂诱导的细胞毒性的影响, Nrf2/HaCaT和HaCaT经H₂O₂诱导24 h后, 采用MTT法检测细胞活性。实验步骤同2.2。

2.5 LDH活性检测: LDH指标反映细胞膜的完整性、凋亡或坏死。Nrf2/HaCaT和HaCaT细胞经H₂O₂处理后, 收集上清液。通过试剂盒检测由损伤细胞释放入细胞上清中的LDH, 其实验步骤按照说明书进行。在酶标仪上450 nm波长处测定各孔A值, 按照说明书计算上清中LDH活性(IU/L)。

2.6 TUNEL染色检测细胞凋亡: 细胞经H₂O₂处理后, 用TUNEL染色试剂盒检测细胞凋亡, 具体步骤按说明书进行。光学显微镜下观察凋亡细胞核呈棕黄色, 正常细胞核呈蓝色。在高倍镜下随机选

择 5 个不重复视野,计数凋亡细胞核和细胞核总数,应用公式:凋亡细胞核数量/细胞核总数 $\times 100\%$ 计算凋亡率。

2.7 ELISA 和比色法检测氧化应激和炎症反应相关指标:细胞经 H_2O_2 处理后,收集细胞上清,通过 ELISA 法和比色法检测细胞上清中氧化应激相关指标含量,包括 Nrf2、GSH、SOD、MDA 和 ROS,以及炎症反应相关指标 IL-6、TNF- α 和 NF- κ B P65 的含量。具体实验步骤按照试剂盒说明书进行,在酶标仪上测量各孔 A 值,参照标准曲线计算相应指标的测定值。

3. 统计学分析

采用 SPSS 19.0 统计学软件进行分析,数据用均值 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用单因素方差分析或 t 检验, LSD 法进行两两比较, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

1. Nrf2 转染 HaCaT 细胞及其蛋白表达水平

荧光显微镜下,转染了 Nrf2 过表达及空白慢病毒质粒的 HaCaT 细胞呈绿色荧光,行 Nrf2 免疫荧光染色后, Nrf2/HaCaT 细胞较 HaCaT 细胞发更强红色荧光(图 1)。与 HaCaT 细胞比较, Nrf2/HaCaT 细胞表达 Nrf2 蛋白水平显著升高(图 2)。

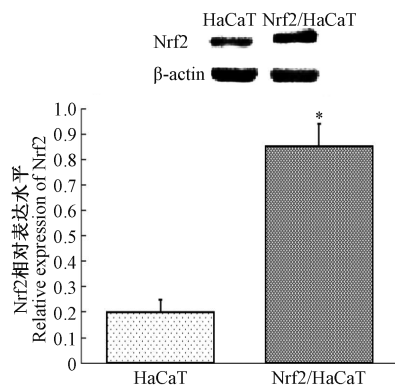


图 2 Western blotting 检测 Nrf2 表达

与 HaCaT 组相比, * $P<0.05$

Fig.2 Expression of Nrf2 detected by Western blotting

* $P<0.05$ vs HaCaT group

2. Nrf2 过表达增强了细胞增殖活性

Nrf2/HaCaT 组的细胞增殖活性显著高于 HaCaT 组 ($P<0.05$, 表 1), 其 Ki67 阳性细胞率 (58.72 ± 5.12) 也显著高于 HaCaT 组 (35.07 ± 4.75 , $P<0.05$, 图 3)。

3. Nrf2 过表达减轻 H_2O_2 诱导的细胞毒性

经 H_2O_2 诱导 24 h 后, Nrf2/HaCaT 组的细胞活性显著高于 HaCaT ($P<0.05$), 且 Nrf2/HaCaT 组较 HaCaT 释放更少的 LDH 入细胞上清中 ($P<0.05$, 表

2)。同时, Nrf2/HaCaT 组的细胞凋亡率少于 HaCaT 组 ($P<0.05$, 图 4, 表 2)。以上结果表明, Nrf2 过表达保护了 HaCaT, 减轻了 H_2O_2 诱导的细胞损伤和凋亡。

4. Nrf2 过表达减轻 H_2O_2 诱导的氧化和炎性损伤

细胞经 H_2O_2 诱导 24 h 后, Nrf2/HaCaT 组上清中的抗氧化物 Nrf2、GSH 和 SOD 水平高于 HaCaT 组 ($P<0.05$, 表 3), 其氧化产物 ROS 和 MDA 水平低于 HaCaT 组 ($P<0.05$, 表 3)。除此之外, Nrf2/HaCaT 组上清中炎症因子 IL-6、TNF- α 和 NF- κ B P65 的含量均较 HaCaT 组明显降低 ($P<0.05$)。

表 1 MTT 检测细胞增殖活性

Table 1	The cell proliferative activity detected by MTT			
	24 h	48 h	72 h	96 h
HaCaT	0.43 \pm 0.05	0.76 \pm 0.05	1.02 \pm 0.02	1.35 \pm 0.12
Nrf2/HaCaT	0.57 \pm 0.02*	0.86 \pm 0.02*	1.35 \pm 0.04*	1.78 \pm 0.10*

与 HaCaT 组相比, * $P<0.05$

* $P<0.05$ vs HaCaT group

表 2 Nrf2 过表达对 H_2O_2 诱导的细胞毒性的影响

Table 2 Effects of Nrf2 overexpression on H_2O_2 -induced cytotoxicity

	HaCaT	Nrf2/HaCaT
MTT	0.38 \pm 0.06	0.66 \pm 0.08*
LDH (IU/L)	252.60 \pm 8.02	200.40 \pm 8.71*
TUNEL 凋亡率 (%)	54.66 \pm 8.43	32.15 \pm 5.65*
TUNEL apoptosis rate (%)		

与 HaCaT 组相比, * $P<0.05$

* $P<0.05$ vs HaCaT group

表 3 Nrf2 过表达对氧化应激及炎症反应相关指标表达的影响

Table 3 Effects of Nrf2 overexpression on the expression of oxidative stress and inflammatory reaction related indexes

	HaCaT	Nrf2/HaCaT
Nrf2 (μ g/L)	22.30 \pm 3.32	33.09 \pm 3.38*
GSH (μ mol/L)	102.60 \pm 8.28	187.98 \pm 18.16*
SOD (10^3 IU/L)	50.63 \pm 6.31	91.49 \pm 14.65*
ROS (μ g/L)	1.70 \pm 0.28	1.23 \pm 0.34*
MDA (μ mol/L)	7.26 \pm 0.90	4.55 \pm 0.92*
IL-6 (ng/L)	1.52 \pm 0.08	0.92 \pm 0.21*
TNF- α (ng/L)	306.00 \pm 28.35	185.00 \pm 22.48*
NF- κ B P65 (ng/L)	534.21 \pm 51.02	381.69 \pm 29.95*

与 HaCaT 组相比, * $P<0.05$

* $P<0.05$ vs HaCaT group

讨 论

皮肤是人体最大的器官,位于身体外表面,因而总是暴露在各种各样的应激状况下,如太阳紫外线照射、环境空气微粒、化学污染物或严重创伤等,都会诱导皮肤细胞、尤其是 KC 产生过量 ROS,导致氧化应激,以及伴随而来的炎症,皮肤老化,甚至癌症的发展^[8-10]。ROS 清除主要依靠低分子量的抗氧化剂(如维生素 C 和 E)、类胡萝卜素(如 β -胡萝卜

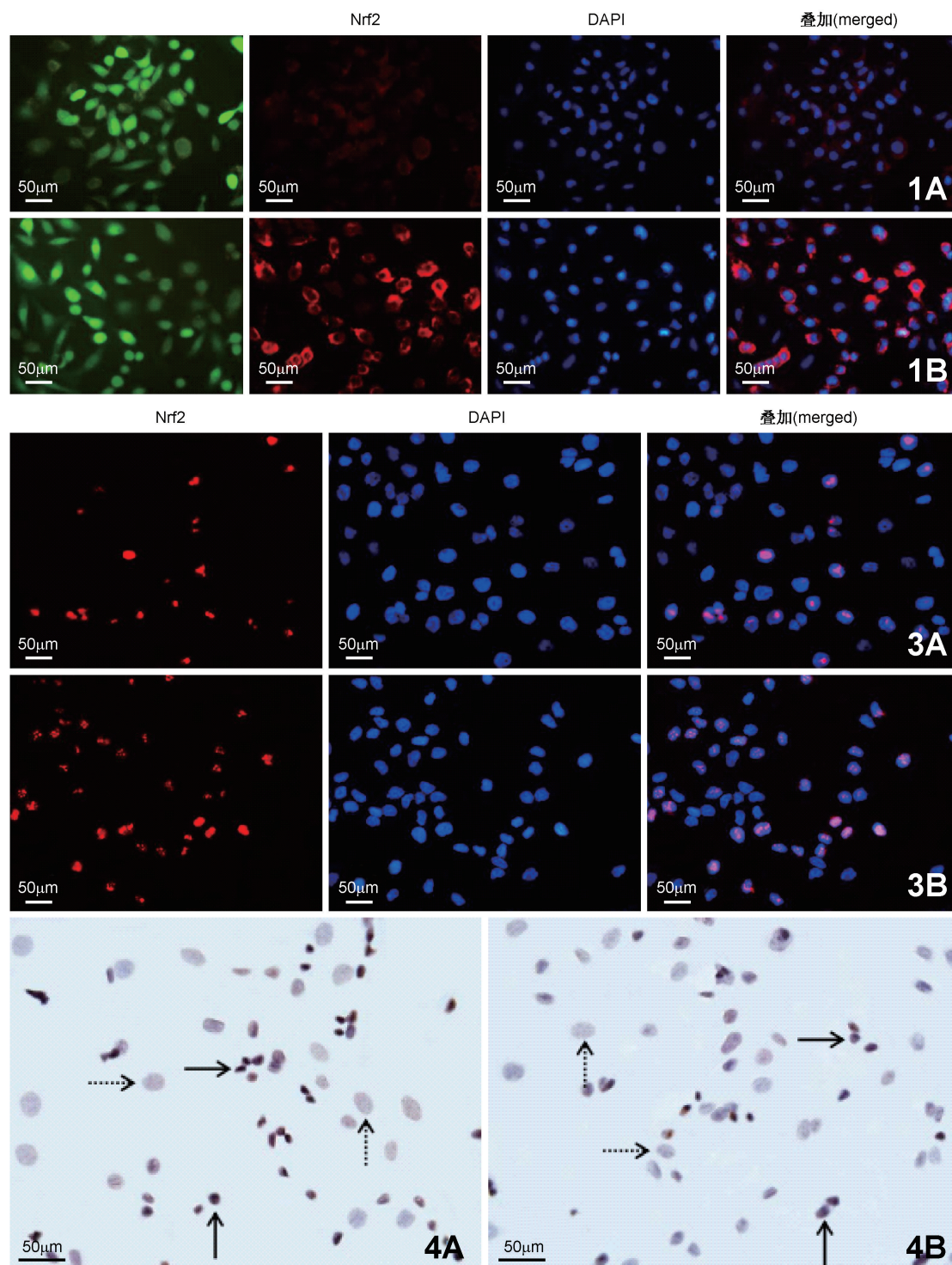


图1 免疫荧光染色检测 Nrf2 表达 标尺示 50 μm (下同)

A. HaCaT 组; B. Nrf2/HaCaT 组; HaCaT 和 Nrf2/HaCaT 在荧光显微镜下呈绿色荧光, 抗 Nrf2 免疫荧光染色后发红色荧光

图3 免疫荧光染色观察 Ki67 的表达

A. HaCaT 组; B. Nrf2/HaCaT 组

图4 TUNEL 染色观察凋亡细胞

A. HaCaT 组; B. Nrf2/HaCaT 组; 实心箭头表示凋亡细胞核, 虚线箭头表示正常细胞核

Fig.1 Immunofluorescent staining detecting Nrf2 Bar= 50 μm (The same below)

A, HaCaT group; B, Nrf2/HaCaT group; HaCaT and Nrf2/HaCaT showing green fluorescence under the fluorescence microscope, and launching red fluorescence after anti-Nrf2 immunofluorescent staining

Fig.3 Immunofluorescent staining detecting Ki67

A, HaCaT group; B, Nrf2/HaCaT group

Fig.4 TUNEL staining detecting apoptotic cells

A, HaCaT group; B, Nrf2/HaCaT group; Solid arrows showing apoptotic cells and dotted arrows showing viable cells

素)以及抗氧化蛋白酶,而这其中许多的细胞保护蛋白,包括血红素加氧酶-1 (hemeoxygenase-1, HO-1)、过氧化物酶-1 和 6 (peroxiredoxins-1 and 6)、NAPD (H) 脱氢酶、醌氧化还原酶-1 (quinone oxidoreductase-1, NQO1)、谷氨酸半胱氨酸连接酶(调节和催化亚基)和 GSH 合成酶,都受细胞氧化还原信号和抗氧化防御的主要调节器 Nrf2 的调控 [11~13]。

研究表明, KC 细胞在受到氧化应激刺激的同时,开始启动 Nrf2 信号抗氧化防御机制,释放 HO-1 等抗氧化酶类,清除 ROS。若 ROS 的产生机制大于清除机制,氧化与抗氧化平衡打破,导致 ROS 产生过多,激活氧化应激反应,并启动炎症反应,导致严重的组织破坏和 DNA 突变,最终诱导各种皮肤疾病,如红斑、色素沉着、炎症,甚至免疫抑制和肿瘤的发生 [5, 14]。Nrf2 通过诱导抗氧化酶表达在抗氧化信号途径中扮演着重要角色。在生理条件下, Nrf2 与抑制蛋白 Kelch 样 ECH 相关蛋白 1 (Keap1) 结合锚定在胞质,呈非活性状态,在氧化应激条件下, Nrf2 被激活,与 Keap1 分离并转运到细胞核,诱导一系列抗氧化基因的表达 [15, 16]。许多研究表明, Nrf2 激动剂可保护 KC 减轻氧化应激和炎性损伤, Nrf2 失活则加重其反应 [17~20]。如 Nrf2 激动剂女娄 DC 提取物 (Clematis apiifolia DC. extract, CAE), 通过激活 Nrf2 信号通路减少苯并 (a) 芘诱导的 ROS 和促炎因子 IL-8 的产生,从而减轻对 KC 的细胞毒性;而当 KC 的 Nrf2 基因被敲除, CAE 减少 ROS 和 IL-8 产生的作用被减弱,其细胞保护作用亦被减弱 [21]。此外,赤芝酮 (Lucidone), 一种从红果山胡椒果实中分离得到的天然环戊二酮,保护 HaCaT 细胞抗自由基和炎症刺激物 2,2'-偶氮 (2-氨基丙烷) 二盐酸盐 (AAPH) 诱导的氧化应激及炎症反应,其机制可能与激活 Nrf2 转位和转录而抑制 NF- κ B 激活相关。同样, Nrf2 基因敲除降低了赤芝酮的保护作用 [22]。

既往主要是通过应用 Nrf2 激动剂干预观察 Nrf2 对 KC 的抗氧化作用,如上述提及的女娄 DC 提取物和赤芝酮,但不同激动剂激活 Nrf2 的表达水平不一致,且激动剂可能也同时存在通过激活其他途径来减轻细胞损伤,故本实验应用基因修饰(过表达)进行 Nrf2 对 KC 的保护作用研究可能更为恰当。本实验发现, Nrf2 过表达促进了 HaCaT 细胞增殖,减轻了 H₂O₂ 诱导的细胞凋亡及 LDH 释放,提高了细胞存活率,增加了抗氧化物 Nrf2、GSH 和 SOD 的表达,而减少了氧化产物 ROS 和 MDA 的产生。同时,过表达 Nrf2 也降低了 H₂O₂ 诱导的炎症因子 IL-6、TNF- α 和 NF- κ B P65 的表达水平。这些实验结果再次证实,增强细胞 Nrf2 表达可活化细胞内抗

氧化物质,清除活性氧物质,进而减轻 HaCaT 在氧化环境下的氧化应激和炎性损伤。

综上所述,本实验发现, Nrf2 作为抗氧化应激和抗炎症的关键因子,在氧化应激反应和炎症损伤中起着重要作用。因此,体外过表达 Nrf2 可通过上调各种抗氧化酶水平,以及下调各种炎症因子表达,从而对抗 H₂O₂ 诱导的氧化应激和炎性损伤,维持皮肤细胞氧化还原平衡,提高对细胞的保护作用,对自由基诱导的皮肤损伤的治疗策略和发病机制的探讨有一定的指导意义。

参 考 文 献

- [1] Bowman A, Birch-Machin MA. Age-dependent decrease of mitochondrial complex ii activity in human skin fibroblasts [J]. J Invest Dermatol, 2016, 136(5):912-919.
- [2] Jobim ML, Azzolin VF, Assmann CE, et al. Superoxide-hydrogen peroxide imbalance differentially modulates the keratinocytes cell line (HaCaT) oxidative metabolism via Keap1-Nrf2 redox signaling pathway [J]. Mol Biol Rep, 2019, 46(6):5785-5793.
- [3] Chu Y, Wu PY, Chen CW, et al. Protective effects and mechanisms of N-phenethyl caffeamide from UVA-induced skin damage in human epidermal keratinocytes through Nrf2/HO-1 regulation [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(1):164.
- [4] Soares MA, Cohen OD, Low YC, et al. Restoration of Nrf2 signaling normalizes the regenerative niche [J]. Diabetes, 2016, 65(3):633-646.
- [5] Rodríguez-Luna A, Ávila-Román J, Oliveira H, et al. Fucoxanthin and rosmarinic acid combination has anti-inflammatory effects through regulation of NLRP3 inflammasome in UVB-exposed HaCaT keratinocytes [J]. Mar Drugs, 2019, 17(8):451.
- [6] Fuyuno Y, Uchi H, Yasumatsu M, et al. Perillaldehyde inhibits AHR signaling and activates NRF2 antioxidant pathway in human keratinocytes [J]. Oxid Med Cell Longev, 2018, 2018:9524657.
- [7] Xian D, Xiong X, Xu J, et al. Nrf2 overexpression for the protective effect of skin-derived precursors against UV-induced damage: evidence from a three-dimensional skin model [J]. Oxid Med Cell Longev, 2019, 2019:7021428.
- [8] Kwon KR, Alam MB, Park JH, et al. Attenuation of UVB-Induced photo-aging by polyphenolic-rich spatholobus suberectus stem extract via modulation of MAPK/AP-1/MMPs signaling in human keratinocytes [J]. Nutrients, 2019, 11(6):1341.
- [9] Sabnam S, Rizwan H, Pal S. CEES-induced ROS accumulation regulates mitochondrial complications and inflammatory response in keratinocytes [J]. Chem Biol Interact, 2020, 321:109031.
- [10] Kim KE, Cho D. Air pollution and skin diseases: Adverse effects of airborne particulate matter on various skin diseases [J]. Life Sciences, 2016, 152:126-134.
- [11] Podda M. Low molecular weight antioxidants and their role in skin ageing [J]. Clin Exp Dermatol, 2001, 26(7):578-582.
- [12] Schäfer M, Werner S. Nrf2--A regulator of keratinocyte redox signaling [J]. Free Radic Biol Med, 2015, 88(Pt B):243-252.
- [13] Lohan SB, Vitt K, Scholz P, et al. ROS production and glutathione response in keratinocytes after application of β -carotene and VIS/NIR irradiation [J]. Chemico-Biological Interactions, 2019, 300:101-110.

- 2018, 280:1-7.
- [14] Helou DG, Martin SF, Pallardy M, et al. Nrf2 involvement in chemical-induced skin innate immunity [J]. Front Immunol, 2019, 10:1004.
- [15] Gegotek A, Skrzydlewska E, Gegotek A. The role of transcription factor Nrf2 in skin cells metabolism [J]. Arch Dermatol Res, 2015, 307(5):385-396.
- [16] Vriend J. The Keap1-Nrf2-antioxidant response element pathway: a review of its regulation by melatonin and the proteasome [J]. Mol Cell Endocrinol, 2015, 401:213-220.
- [17] Zhu T, Fang F, Sun D, et al. Piceatannol inhibits P. acnes-induced keratinocyte proliferation and migration by downregulating oxidative stress and the inflammatory response [J]. Inflammation, 2020, 43(1):347-357.
- [18] Braun S, Hanselmann C, Gassmann MG, et al. Nrf2 transcription factor, a novel target of keratinocyte growth factor action which regulates gene expression and inflammation in the healing skin wound [J]. Mol Cell Biol, 2002, 22(15):5492-5505.
- [19] Choi M, Park M, Lee S, et al. Establishment of Nrf2-deficient HaCaT and immortalized primary human foreskin keratinocytes and characterization of their responses to ROS-induced cytotoxicity [J]. Toxicol In Vitro, 2019, 61:104602.
- [20] Jeayeng S, Wongkajornsilp A, Slominski AT, et al. Nrf2 in keratinocytes modulates UVB-induced DNA damage and apoptosis in melanocytes through MAPK signaling [J]. Free Radic Biol Med, 2017, 108:918-928.
- [21] Lee SE, Park SH, Yoo JA, et al. Antagonizing effects of Clematis apiifolia DC. extract against Benzo[a]pyrene-Induced damage to human keratinocytes [J]. Oxid Med Cell Longev, 2019, 2019:2386163.
- [22] Kumar KJ, Yang HL, Tsai YC, 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 [J]. Food Chem Toxicol, 2013, 59:55-66.
- (编辑 张艳)

《解剖学报》关于假冒网站的声明

近期发现有假冒网站以《解剖学报》杂志或《解剖学报》杂志社的名义,盗用本刊刊名、国内及国外刊号、期刊封面等,大量复制本刊内容,非法收录稿件并骗取与稿件相关的费用,给作者造成很大的经济损失,给《解剖学报》的声誉造成严重损害。

《解剖学报》郑重声明:本刊正确网址为 <http://jpxb.bjmu.edu.cn/>,本刊只通过此网站接收投稿,请切勿登录百度搜索中出现的期刊导航网中的“解剖学报杂志社-官方网站”,此网站为假冒网站。请作者直接登陆本刊正确网站在线投稿,投稿成功后必须先通过编辑部初审,编辑部直接给作者发送收稿通知,编辑部在收到作者签名的承诺书及审稿费后才能进入审稿程序。本刊从未委托其他任何机构、网站或个人代理征收稿件及收取任何费用,本刊不接受支付宝和微信转账,版面费只在确定刊出排版之后再通知收取。

请广大读者、作者认真辨析,谨防上当受骗!

《解剖学报》编辑部
2021 年 1 月