· 实验研究 ·

镉暴露对 HepG2 细胞 NRF2 信号通路影响*

朱佳玉,陈锋,吕航,王惠惠,皮静波

摘　要:目的　探讨镉暴露对 HepG2 细胞转录因子 NF-E2 相关因子 2(NRF2)信号通路的影响。**方法**　采用甲臜比色法测定 $CdCl_2$(0、1、2.5、5、10、25、50、100、200 μmol/L)处理 24 h 后,HepG2 细胞活力变化;应用蛋白免疫印迹法检测 $CdCl_2$(1、2、5、10、20 μmol/L)处理细胞 6 h 后,NRF2 蛋白水平;采用 RT-qPCR 方法检测10 μmol/L $CdCl_2$ 处理细胞 2、4、6、12、24 h 后,GCLC、GCLM、HO1 和 AKR1C1 mRNA 水平变化,检测 $CdCl_2$(1、2、5、10、20 μmol/L)处理细胞 6 h 后,GCLC、GCLM、HO1 和 AKR1C1 mRNA 水平变化。**结果**　HepG2 细胞活力随镉处理剂量升高而降低($P<0.05$);与对照组(0.60 ± 0.01)比较,1、2、5、10、20 μmol/L 镉处理组 HepG2 细胞 NRF2 蛋白表达水平[分别为(0.65 ± 0.01)、(1.37 ± 0.04)、(1.94 ± 0.05)、(2.24 ± 0.07)、(2.22 ± 0.05)]均明显升高($P<0.05$);与对照组比较,镉处理 6 h 时,HepG2 细胞内 GCLC、GCLM、HO1 和 AKR1C1 mRNA 水平[分别为(45.76 ± 7.04)、(114.21 ± 5.23)、(59.52 ± 1.50)、(674.13 ± 27.12)]明显升高($P<0.05$);与对照组比较,5 μmol/L镉处理组 HepG2 细胞内 GCLC 和 GCLM mRNA 水平[分别为(24.77 ± 2.16)、(29.93 ± 0.67)]升高,2 μmol/L镉处理组 HepG2 细胞内 HO1 和 AKR1C1 mRNA 水平[分别(28.55 ± 2.02)、(186.32 ± 12.63)]升高($P<0.05$)。**结论**　镉暴露能激活 HepG2 细胞系中 NRF2 信号通路。

关键词:$CdCl_2$;HepG2 细胞;转录因子 NF-E2 相关因子 2(NRF2)

中图分类号:R 994.6　**文献标志码:**A　**文章编号:**1001-0580(2017)04-0584-05　DOI:10.11847/zgggws2017-33-04-17

Effects of cadmium exposure on NRF2 signaling pathway in HepG2 cells

ZHU Jia-yu, CHEN Feng, LÜ Hang, et al (*Department of Environmental Toxicology, School of Public Health, China Medical University, Shenyang, Liaoning Province* 110122, China)

Abstract: Objective　To explore the effects of cadmium exposure on nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (NRF2) signaling pathway in HepG2 cells. **Methods**　The HepG2 cells were treated with cadmium chloride ($CdCl_2$) at dosages of 0, 1, 2.5, 5, 10, 25, 50, 100, and 200 μmol/L for 24 hours and then the viability of the cells was measured with 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5(3-carboxymethonyphenol)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium (MTS); the cells were treated with $CdCl_2$(1, 2, 5, 10, and 20 μmol/L) for 6 hours and the protein levels of NRF2 were determined with Western blot; the cells were treated with 10 μmol/L $CdCl_2$ for 2, 4, 6, 12, and 24 hours and the mRNA levels of Nrf2 downstream genes glutamate-cysteine ligase catalitic subunit (GCLC), glutamate cysteine ligase modifier (GCLM), heme oxygenase 1 (HO1), and aldo-keto reductase family 1 member (AKR1C1) were determined with reverse transcriptase quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR); the cells were treated with 1, 2, 5, 10, and 20 μmol/L $CdCl_2$ for 6 hours and the mRNA levels of Nrf2 downstream genes GCLC, GCLM, HO1, and AKR1C1 were determined by RT-qPCR. **Results**　The cell viability significantly decreased with the increased concentration of $CdCl_2$ in HepG2 cells ($P<0.05$). Compared to that (0.60 ± 0.01) of the control group, the expression levels of NRF2 protein significantly increased (0.65 ± 0.01, 1.37 ± 0.04, 1.94 ± 0.05, 2.24 ± 0.07, and 2.22 ± 0.05 in the cells with 1, 2, 5, 10 and 20 μmol/L cadmium exposure ($P<0.05$ for all). Compared with those of the control group, the mRNA levels of NRF2 downstream genes of GCLC, GCLM, HO1, and AKR1C1 significantly increased (45.76 ± 7.04, 114.21 ± 5.23, 59.52 ± 1.50, and 674.13 ± 27.12) in the cells with 6 hours' cadmium exposure ($P<0.05$ for all). Compared with those of the control group, the mRNA levels of NRF2 downstream genes of GCLC and GCLM significantly increased (24.77 ± 2.16 and 29.93 ± 0.67) in the cells treated with 5 μmol/L cadmium, and those of HO1 and AKR1C1 also increased significantly (28.55 ± 2.02 and 186.32 ± 12.63) in the cells treated with 2 μmol/L cadmium (all $P<0.05$). **Conclusion**　Cadmium exposure can activate NRF2 signaling pathway in HepG2 cell line.

Key words: cadmium chloride; HepG2 cell; nuclear factor erythroid 2-related factor 2

镉是一种存在于自然环境中的重金属元素。工业上镉主要用于电镀,生产镍镉电池,颜料塑料稳定剂,以及作为铜锌冶炼的副产物[1]。镉在环境中不能被降解,易在土壤中蓄积,进而通过食物链的富集作用加重镉污染[2]。镉是国际肿瘤研究机构(The International Agency for Research on Cancer, IARC)确定的人类致癌物,可引发肺癌,膀胱癌等[3]。急性镉暴露可引起呼吸道刺激症状及肺水肿[4],慢性

* **基金项目:** 国家自然科学基金(81502841)
作者单位: 中国医科大学公共卫生学院环境毒理学研究室,辽宁 沈阳 110122
作者简介: 朱佳玉(1991 -),女,辽宁沈阳人,硕士在读,研究方向:环境毒理。
通讯作者: 皮静波,E-mail:jbpi@cmu.edu.cn
数字出版日期:2016 - 9 - 6 14:15
数字出版网址:http://www.cnki.net/kcms/detail/21.1234.R.20160906.1415.002.html

镉暴露可导致肝、肾、骨等器官损伤,高血压,心血管等疾病[5-7]。目前,镉对人体细胞及组织造成急慢性损伤的机制尚不明确,其中氧化应激被认为是镉毒性作用的主要机制之一[4,8]。体内外实验均表明镉会引起活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)水平升高。尤其在急性实验中,镉暴露后 ROS 如超氧阴离子、过氧化氢等产生增多,从而导致细胞内 DNA 损伤,脂质过氧化等一系列反应[9]。为应对细胞内 ROS 产生增多造成的氧化损伤,机体会启动适应性防御机制,其中一些对氧化还原稳态敏感的转录因子起到了关键调控作用[4,10-11]。核转录因子 E2 - 相关因子 2(nuclear factor E2-related factor, NRF2)是一种广泛存在的具有碱性亮氨酸拉链(basic leucine zipper, bZIP)结构的转录因子,是 CNC 家族的一员,通过调控激活下游抗氧化酶和二相解毒酶等,从而维持细胞氧化 - 还原稳态和抑制氧化损伤,近年来引起研究者广泛关注[12]。虽然提高 NRF2 - 抗氧化反应元件(antioxiant response element, ARE)活性具有抗氧化并增强细胞解毒能力作用,但越来越多的研究表明 NRF2 的持续和过度活化与多种癌症的发生、发展和耐药密切相关[13-17]。因此,NRF2 负面作用也逐渐引起大家的关注。有研究证实,NRF2 在镉慢性致癌机制中可能起到重要作用[18]。本研究采用人肝癌 HepG2 细胞,给予不同时间不同剂量的镉处理,观察 NRF2 通路的变化,旨在为镉致癌作用机制探讨提供依据。

1　材料与方法

1.1　*主要仪器与试剂*　Tanon 5500 Multi 全自动化学发光图像分析仪(上海天能科技有限公司),FlexStation 3 酶标仪(美国 MolcularDevices 公司),Nanodrop 2000(美国 Thermo 公司),ABI Q6 Sequence Detector(美国 Applied Biosystem 公司)。人肝癌 HepG2 细胞系[美国典型菌种保藏中心(American Type Culture Collection, ATCC),编号:HB-8065],$CdCl_2$(分析纯)、最小必需培养基(minimum essential media, MEM) 培养液、非必需氨基酸、丙酮酸钠、胎牛血清、胰蛋白酶、青链霉素、Trizol(美国 Invitrogen 公司),NRF2、β-actin 抗体(美国 Santa Cruz 公司),山羊抗兔 IgG-HRP(美国 Cell Signaling Technology 公司),high capacity cDNA reverse transcription 试剂盒(美国 Applied Biosystem 公司),SYBR Green PCR 试剂盒(美国 Promega 公司),非放射性细胞增殖检测试剂盒(美国 Promega 公司)。$CdCl_2$ 染毒溶液配制:精密称取适量 $CdCl_2$ 溶于磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffer saline, PBS)中,过 0.22 μm 微孔滤膜除菌后配制成 10 mmol/L 的储备液,染毒时,分别稀释为所需浓度应用液。

1.2　*细胞培养与处理*　人肝癌 HepG2 细胞在含有 10% 胎牛血清、1% 非必需氨基酸、1% 丙酮酸钠、100 U/mL 青霉素和 100 μg/mL 链霉素的 MEM 培养液中培养,在 37 ℃ 5% CO_2 条件下进行;待细胞长到 80% ~90% 融合时,按照 1:6 比例传代;染毒时,细胞以 2.5×10^5 个/mL 密度接种至培养板或培养皿,待细胞生长至 80% 融合后,进行细胞染毒和相关实验。

1.3　*细胞活力测定*　每孔 1×10^5 个细胞在 96 孔板中贴壁培养过夜,同时设无细胞空白对照组;随后弃培养基,加入含有不同浓度镉(0、1、2.5、5、10、25、50、100、200 μmol/L)的培养液处理 24 h 后,用非放射性细胞增殖试剂盒检测;应用 Flexstation 3 酶标仪在 490 nm 处测各孔吸光度(A)值,即检测烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NADH)依赖的四氮唑盐反应产生的甲臜量;细胞活力用其还原率表示。

1.4　*NRF2 通路因子 mRNA 表达检测*　细胞接种于 3.5 cm 培养皿,不同剂量镉(0、1、2、5、10、20 μmol/L)处理 6 h 及 10 μmol/L 镉处理不同时间(2、4、6、12、24 h)后,采用实时定量 RT-PCR 法检测 GCLC、GCLM、HO1 和 AKR1C1 mRNA 水平变化,应用 Trizol 法提取总 RNA,经无 RNA 酶水稀释后用 Nanodrop 在260 nm测浓度,至检测前样品储存在 -80 ℃;按照逆转录试剂盒说明书合成 cDNA,进行实时荧光定量反应。引物设计应用 Primer Express 4(Life Tchnologies)软件完成,引物由 Bioneer 公司合成。GAPDH 引物上游:5′- CCT CCC GCT TCG CTC TCT-3′,下游 5′-CTG GCG ACG CAA AAG AAG AGC LC-3′,长度 64 bp,GCLC 引物上游:5′- GAT GCT GTC TTG CAG GGA ATG-3′,下游 5′- AGC GAG CTC CGT GCT GTT-3′,长度 105 bp,GCLM 引物上游:5′- ACA GGT AAA ACC AAA TAG TAA CCA AGT TAA-3′,下游 5′-TGT TTA GCA AAT GCA GTC AAA TCT G-3′,长度 81 bp,HO1 引物上游:5′- GCC TGG AAG ACA CCC TAA TGT G-3′,下游 5′- GGC CGT GTC AAC AAG GAT ACT T-3′,长度 79 bp,AKR1C1 引物上游:5′- TGG GAG GCC GTG GAG AA-3′,下游 5′- GGA CAC CCC GAT GGA CTT G-3′,长度 57 bp,荧光染料 SYBR Green PCR 试剂盒被用于实时定量 PCR 分析,实时荧光检测使用 ABI Q6 Sequence Detector。

中国公共卫生 CPH

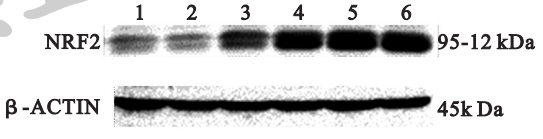
1.5　NRF2 因子表达检测　采用 Western blot 法，细胞接种于 6 cm 培养皿，不同剂量镉（0、1、2、5、10、20 μmol/L）处理 6 h 后，弃培养液，应用预冷的 PBS 洗 2 次，加入 100 μL 含有蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂的细胞裂解液，收集细胞，4 ℃，12 000 g 离心 10 min，收集上清测定蛋白浓度后，调整蛋白浓度，95 ℃变性 10 min；蛋白质样品通过聚丙烯酰胺凝胶电泳（sodium dodecyl-polyacryl gradient gel electrophoresis，SDS-PAGE）分离目的蛋白（100 V，1.5 h）后，转印至硝酸纤维素膜上（25 V，2 h），将转印后的硝酸纤维素膜在 3% 牛血清蛋白中封闭 1 h，加入 NRF2 一抗（1∶1 000）4 ℃孵育过夜，一抗杂交后 Tris-HCl 缓冲液与吐温 20 混合液（Tris buffered saline，with Tween-20，pH 8.0，TBST）洗 3 次，辣根过氧化物酶偶联的二抗（1∶3 000）室温孵育 1 h，TBST 洗 3 次，加入增强化学发光底物，应用成像系统采集发光条带；应用 Image J 软件分析计算 NRF2 灰度值与 β-actin 蛋白灰度值的比值，作为目的蛋白的相对表达量。

1.6　统计分析　采用 Graph Pad Prism 4 软件对数据进行统计分析，数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用单因素方差分析比较各组间差异，进一步两两比较采用 Bonferroni 检验；以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　镉暴露对 HepG2 细胞活力影响　对照组 HepG2 细胞活力为（100 ± 5.19）%，1、2.5、5、10、25、50、100、200 μmol/L 镉处理组细胞活力分别为（107.88 ± 3.92）%、（100.58 ± 3.10）%、（99.94 ± 3.20）%、（85.12 ± 1.68）%、（72.43 ± 1.89）%、（55.27 ± 0.87）%、（33.79 ± 3.95）% 和（20.51 ± 3.12）%；随镉处理浓度增加，细胞活力逐渐降低，镉剂量大于 10 μmol/L 时，细胞活力明显低于对照组，差异有统计学意义（$P < 0.05$）。

2.2　镉处理对 HepG2 细胞中 NRF2 蛋白表达水平影响（图 1）　对照组、1、2、5、10、20 μmol/L $CdCl_2$ 处理组 HepG2 细胞中 NRF2 蛋白表达水平分别为（0.60 ± 0.01）、（0.65 ± 0.01）、（1.37 ± 0.04）、（1.94 ± 0.05）、（2.24 ± 0.07）和（2.22 ± 0.05）；与对照组比较，镉处理组 HepG2 细胞中 NRF2 蛋白表达水平明显升高，差异有统计学意义（$P < 0.05$）。



注：1：对照组；2 ~ 6：1、2、5、10、20 μmol/L 染镉组。

图 1　镉处理对 HepG2 细胞 NRF2 蛋白表达影响

2.3　镉处理不同时间对 HepG2 细胞 NRF2 通路下游基因 mRNA 表达影响（表 1）　与对照组比较，各剂量镉处理组 HepG2 细胞中 NRF2 通路下游基因 GCLC、GCLM、HO1 和 AKR1C1 mRNA 表达水平明显升高，差异有统计学意义（$P < 0.05$），且均在镉处理 6 h 时表达量出现峰值。

表 1　镉处理不同时间对 HepG2 细胞 NRF2 下游基因 mRNA 表达影响（$\bar{x} \pm s, n = 3$）

组别（h）	GCLC	GCLM	HO1	AKR1C1
对照组	8.39 ± 0.86	5.99 ± 0.17	1.27 ± 0.14	242.05 ± 0.68
染镉组 2	15.92 ± 1.53[a]	25.09 ± 2.43[a]	14.53 ± 0.88[a]	298.59 ± 19.33[a]
4	30.91 ± 2.27[ab]	72.59 ± 4.85[ab]	36.11 ± 2.15[ab]	548.93 ± 22.97[ab]
6	45.76 ± 7.04[abc]	114.21 ± 5.23[abc]	59.52 ± 1.50[abc]	674.13 ± 27.12[abc]
12	20.55 ± 2.30[acd]	52.22 ± 3.99[abcd]	18.67 ± 2.99[acd]	668.01 ± 23.53[abcd]
24	6.77 ± 0.44[cde]	7.17 ± 0.50[abcde]	1.83 ± 0.14[abcde]	147.22 ± 3.16[abce]

注：与对照组比较，a $P < 0.05$；与染镉 2 h 组比较，b $P < 0.05$；与染镉 4 h 组比较，c $P < 0.05$；与染镉 6 h 组比较，d $P < 0.05$；与染镉 12 h 组比较，e $P < 0.05$。

表 2　不同剂量镉对 HepG2 细胞 NRF2 下游基因 mRNA 表达影响（$\bar{x} \pm s, n = 3$）

组别（μmol/L）	GCLC	GCLM	HO1	AKR1C1
对照组	4.63 ± 0.59	2.43 ± 0.04	1.35 ± 0.12	77.40 ± 2.92
染镉组 1	15.02 ± 0.75[a]	16.66 ± 1.52[a]	13.95 ± 1.17[a]	161.17 ± 5.35[a]
2	22.59 ± 1.41[ab]	24.56 ± 1.49[ab]	28.55 ± 2.02[ab]	186.32 ± 12.63[ab]
5	24.77 ± 2.16[ab]	29.93 ± 0.67[abc]	28.02 ± 3.62[ab]	147.67 ± 7.72[ac]
10	12.91 ± 0.55[acd]	17.90 ± 0.29[acd]	26.86 ± 3.39[ab]	107.47 ± 1.66[abcd]
20	11.29 ± 0.81[abcd]	14.17 ± 1.07[acde]	16.28 ± 0.80[acde]	79.91 ± 3.49[bcde]

注：与对照组比较，a $P < 0.05$；与染镉 2 h 组比较，b $P < 0.05$；与染镉 4 h 组比较，c $P < 0.05$；与染镉 6 h 组比较，d $P < 0.05$；与染镉 12 h 组比较，e $P < 0.05$。

中国公共卫生 CPH

2.4　不同剂量镉处理对 HepG2 细胞 NRF2 下游基因 mRNA 表达影响(表 2)　与对照组比较,各剂量镉处理组 HepG2 细胞中 NRF2 通路下游基因 GCLC、GCLM、HO1 和 AKR1C1 mRNA 水平均明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。

3　讨　论

镉污染是当今社会的一个重要环境问题,人类可经呼吸、饮食、饮水等多种途径接触镉金属,急慢性镉暴露会引起人肝肾等器官损伤及癌症[2]。目前镉毒性作用及致癌机制尚不明确。NRF2 作为核转录因子在机体适应性抗氧化反应过程中起到关键作用,近年来引起研究者们的广泛关注。目前,数以百计的受 NRF2 调控的具有细胞保护功能和解毒功能的基因已被发现,如抗氧化酶:HO1、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD);Ⅱ相解毒酶:醌氧化还原酶[NAD(P)H-quinone oxidoreductase 1, NQO1]、谷胱甘肽硫转移酶(glutathione S-transferase, GSTs);多药耐药蛋白(multidrug-resistance-associated proteins, MRP)家族的 MRP1 和 MRP2 等[19]。AKR1C1 属于人类醛-酮还原酶家族的一员,在维持类固醇激素平衡中具有关键作用。另外醛-酮还原酶还能催化还原氧化应激产生的活性醛和酮,起到解毒作用[20]。NRF2-ARE 信号通路是细胞对抗氧化损伤和解毒的最重要防御机制,但 NRF2 的负面机制也越来越引起人们关注。如果 NRF2 持续被激活,则会促进癌症发生;相关机制包括 NRF2/Keap1 信号通路中的基因突变或者表观遗传学修饰,与其他致癌通路的交互作用,NRF2 与 Keap1 之间的结构被干扰等[21]。除上调 NRF2 下游的细胞保护基因,NRF2 的持续激活还会促进细胞增殖,产生化疗耐药性,抑制细胞凋亡,从而为癌细胞的生存提供有利条件[22]。

大量体外研究表明,镉能引起小鼠肝癌 Hepa1c1c7 细胞、人胚胎肾细胞 HEK293、人星形胶质瘤 1321N1 细胞等 NRF2 及其调控的下游基因转录水平升高[6,23-24]。在体内实验中,镉暴露也可引起 NRF2 通路活化[6,25-26]。然而,有研究发现 NRF2 在镉慢性致癌中具有重要作用,慢性镉暴露会导致人肺支气管上皮细胞 BEAS-2B 发生恶性转化,其中恶性转化的细胞 NRF2 表达水平更高,而且在 NRF2 基因沉默的镉恶性转化细胞中,细胞克隆生长明显抑制,推测 NRF2 在镉致癌机制中可能起到重要作用[18]。本研究结果显示,在 HepG2 细胞中,镉能激活 NRF2 下游基因 GCLC、GCLM、HO1 和 AKR1C1 的转录水平及 NRF2 蛋白水平。与已有研究中镉通过激活 NRF2 通路使 AKR1C3 表达水平升高结论一致[27]。提示,长期低剂量镉暴露可持续激活 NRF2 通路,可能是镉毒性作用及癌症的发生发展机制之一。

参考文献

[1] Nzengue Y, Candeias SM, Sauvaigo S, et al. The toxicity redox mechanisms of cadmium alone or together with copper and zinc homeostasis alteration: its redox biomarkers[J]. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology: Organ of the Society for Minerals and Trace Elements (GMS), 2011, 25(3): 171-180.

[2] Cuypers A, Plusquin M, Remans T, et al. Cadmium stress: an oxidative challenge[J]. Biometals: an International Journal on the Role of Metal Ions in Biology, Biochemistry, and Medicine, 2010, 23(5): 927-940.

[3] Waalkes MP. Cadmium carcinogenesis[J]. Mutation Research, 2003, 533(1-2): 107-120.

[4] Liu J, Qu W, Kadiiska MB. Role of oxidative stress in cadmium toxicity and carcinogenesis[J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2009, 238(3): 209-214.

[5] Jarup L, Akesson A. Current status of cadmium as an environmental health problem[J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2009, 238(3): 201-208.

[6] He X, Chen MG, Ma Q. Activation of Nrf2 in defense against cadmium-induced oxidative stress[J]. Chemical Research in Toxicology, 2008, 21(7): 1375-1383.

[7] 杨敬华,徐兆发,徐斌,等. 镉致大鼠肾脏毒性机制研究[J]. 中国公共卫生, 2007, 23(7): 887-888.

[8] 田婷,毛伟平,张超,等. 镉致 HEK293 细胞凋亡中氧化应激作用[J]. 中国公共卫生, 2007, 23(10): 1192-1193.

[9] Waisberg M, Joseph P, Hale B, et al. Molecular and cellular mechanisms of cadmium carcinogenesis[J]. Toxicology, 2003, 192(2-3): 95-117.

[10] Zhang H, Davies KJ, Forman HJ. Oxidative stress response and Nrf2 signaling in aging[J]. Free Radical Biology and Medicine, 2015, 88(Pt B): 314-336.

[11] 朱佳玉,邓宇,徐斌,等. 锰对小鼠黑质内活性氧及 Nrf2 信号通路影响[J]. 中国公共卫生. 2014, 30(4): 460-462.

[12] Maher J, Yamamoto M. The rise of antioxidant signaling-the evolution and hormetic actions of Nrf2[J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2010, 244(1): 4-15.

[13] Singh A, Boldin-Adamsky S, Thimmulappa RK, et al. RNAi-mediated silencing of nuclear factor erythroid-2-related factor 2 gene expression in non-small cell lung cancer inhibits tumor growth and increases efficacy of chemotherapy[J]. Cancer Research, 2008, 68(19): 7975-7984.

[14] Kawasaki Y, Ishigami S, Arigami T, et al. Clinicopathological significance of nuclear factor (erythroid-2)-related factor 2 (Nrf2) expression in gastric cancer[J]. BMC Cancer, 2015, 15: 5.

[15] Hayden A, Douglas J, Sommerlad M, et al. The Nrf2 transcription factor contributes to resistance to cisplatin in bladder cancer[J]. Urologic Oncology, 2014, 32(6): 806-814.

[16] Konstantinopoulos PA, Spentzos D, Fountzilas E, et al. Keap1 mutations and Nrf2 pathway activation in epithelial ovarian cancer[J]. Cancer Research, 2011, 71(15): 5081-5089.

[17] Jiang T, Chen N, Zhao F, et al. High levels of Nrf2 determine chemoresistance in type II endometrial cancer[J]. Cancer Research, 2010, 70(13): 5486-5496.

[18] Son YO, Pratheeshkumar P, Roy RV, et al. Nrf2/p62 signaling in apoptosis resistance and its role in cadmium-induced carcinogenesis[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2014, 289(41): 28660-28675.

[19] Xu X, Zhang Y, Li W, et al. Wogonin reverses multi-drug resistance of human myelogenous leukemia K562/A02 cells via downregulation of MRP1 expression by inhibiting Nrf2/ARE signaling pathway[J]. Biochemical Pharmacology, 2014, 92(2): 220-234.

[20] Ellis EM. Reactive carbonyls and oxidative stress: potential for therapeutic intervention[J]. Pharmacology and Therapeutics,

2007, 115(1): 13 – 24.
[21] 辛爱, 唐修文. Nrf2-ARE 信号通路与肿瘤发生及耐药性的关系[J]. 细胞生物学杂志, 2003, 31(3): 319 – 324.
[22] Ganan-Gomez I, Wei Y, Yang H, et al. Oncogenic functions of the transcription factor Nrf2[J]. Free Radical Biology and Medicine, 2013, 65: 750 – 764.
[23] Lawal AO, Ellis EM. Nrf2-mediated adaptive response to cadmium-induced toxicity involves protein kinase C delta in human 1321N1 astrocytoma cells[J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2011, 32(1): 54 – 62.
[24] Lawal AO, Ellis E. Differential sensitivity and responsiveness of three human cell lines HepG2, 1321N1 and HEK 293 to cadmium[J]. The Journal of Toxicological Sciences, 2010, 35(4): 465 – 478.
[25] Nazimabashir, Manoharan V, Miltonprabu S. Cadmium induced cardiac oxidative stress in rats and its attenuation by GSP through the activation of Nrf2 signaling pathway[J]. Chemico-Biological Interactions, 2015, 242: 179 – 193.
[26] Milton Prabu S, Muthumani M, Shagirtha K. Quercetin potentially attenuates cadmium induced oxidative stress mediated cardiotoxicity and dyslipidemia in rats[J]. European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 2013, 17(5): 582 – 595.
[27] Lee YJ, Lee GJ, Baek BJ, et al. Cadmium-induced up-regulation of aldo-keto reductase 1C3 expression in human nasal septum carcinoma RPMI-2650 cells: Involvement of reactive oxygen species and phosphatidylinositol 3-kinase/Akt[J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2011, 31(3): 469 – 478.

收稿日期: 2016-07-16　　(解学魁编辑　韩仰欢校对)

· 实验研究 ·

西昌和绍兴眼紫外线暴露强度差异比较*

于佳明[1], 王亚洲[2], 王芳[2], 高倩[2], 李发明[2], 华慧[2], 陈仁彤[2], 关雨沅[2], 刘扬[2]

摘　要: 目的　了解不同海拔的西昌和绍兴地区眼紫外线暴露强度的日间分布及随太阳高度角变化的差异。**方法**　采用自行研制的眼紫外线暴露模型, 在晴好天气下, 分别在西昌和绍兴地区进行监测。监测的数据运用 AvaSoft 7.4 for USB2 软件和 OriginPro 8 软件进行数据处理和分析。**结果**　最大暴露状态下, 西昌和绍兴地区眼紫外线 A 段(UVA)和紫外线 B 段(UVB)日间分布均呈双峰型, 峰值 UVA 分别为 2 181.91 μW/cm^2 和 2 003.6 μW/cm^2; UVB 分别为 117.2 μW/cm^2 和 72 μW/cm^2; 眼部和环境暴露比表明, 在最大暴露状态下, 西昌和绍兴地区 UVA 基本相近, 分别为 0.79 和 0.80, 而 UVB 西昌大于绍兴, 分别为 0.68 和 0.55。**结论**　西昌和绍兴地区眼部 UVA 与 UVB 最大暴露强度的日间变化呈双峰型分布; 相同太阳高度角下, 眼部 UVB 暴露强度西昌高于绍兴, 眼部 UVB 与环境 UVB 暴露比西昌亦大于绍兴。

关键词: 海拔; 眼; 紫外线; 暴露强度
中图分类号: R 181.11　**文献标志码:** A　**文章编号:** 1001-0580(2017)04-0588-04　DOI: 10.11847/zgggws2017-33-04-18

Difference in ocular ultraviolet exposure intensity betweem Xichang and Shaoxing city

YU Jia-ming*, WANG Ya-zhou, WANG Fang, et al (* *Department of Ophthalmology, The Fourth Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang, Liaoning Province* 110005, China)

Abstract: Objective　To explore the difference in intensities of ocular exposure to ultraviolet (UV) irradiance in diurnal distribution and at different solar elevation angle (SEA) between Xichang and Shaoxing city at different altitude. **Methods**　A self-designed rotating manikin and dual-detector spectrometer were used to monitor the intensity of ocular exposure to UV irradiation under clear sky in Xichang and Shaoxing city. Monitoring data were processed and analyzed with AvaSoft 7.4 USB2 software and OriginPro 8 software. **Results**　In maximum exposure, both the ocular ultraviolet radiation A (UVA) and ultraviolet radiation B (UVB) diurnal variations exhibited bimodal distribution in Xichang and Shaoxing city; the maximum values of UVA were 2 181.91 μW/cm^2 and 2 003.6 μW/cm^2; and those of UVB were 117.2 μW/cm^2 and 72 μW/cm^2, respectively. As for the ratio of ocular to ambient exposure, the study results revealed that the ratio was almost the same in two areas for UVA maximum exposure (0.79 and 0.80); but for the UVB maximum exposure, the exposure ratio of Xichang is higher than that of Shaoxing (0.68 vs. 0.55). **Conclusion**　The maximum ocular UVA and UVB exposure exhibit bimodal diurnal distribution in Xichang and Shaoxing city. Under the same solar elevation angle, the intensity of ocular exposure to UVB irradiance in Xichang is higher than that in Shaoxing, the ratio of ocular to ambient UVB exposure in Xichang was higher than that in Shaoxing.

Key words: altitude; eye; ultraviolet; exposure intensity

* **基金项目:** 国家自然科学基金(81273034); 辽宁省自然科学基金(2014021009)
作者单位: 1. 中国医科大学附属第四医院眼科, 辽宁 沈阳 110005; 2. 中国医科大学公共卫生学院环境卫生教研室
作者简介: 于佳明(1969 –), 女, 辽宁沈阳人, 副研究员, 博士, 研究方向: 紫外线生物效应及眼科基础和流行病。
通讯作者: 刘扬, E-mail: yangliu@cmu.edu.cn
数字出版日期: 2017 – 3 – 29 8:40
数字出版网址: http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1234.R.20170329.0840.004.html