

• 综述 •

Nrf2/ARE 信号通路及其相关药物研究进展

潘晓菲^{1,2}, 谭初兵¹, 时丽丽¹, 张洁^{1,2}, 徐为人¹, 汤立达^{1*}

1. 天津药物研究院, 天津 300193

2. 天津医科大学 药学院, 天津 300070

摘要: Nrf2/ARE 信号通路是细胞氧化应激反应中的关键通路, 其调控的下游抗氧化蛋白和Ⅱ相解毒酶在细胞防御保护中发挥重要作用。现有研究显示 Nrf2/ARE 通路在抗炎、抗肿瘤、神经保护、抗凋亡等多方面具有重要作用, 以 Nrf2 为靶点的药物有望用于多发性硬化、糖尿病、神经退行性疾病、肿瘤等多种疾病的治疗, 其中已有富马酸二甲酯、巴多克沙龙等多个新药进入临床研究阶段。就 Nrf2/ARE 通路及疾病的关系及其为靶点的新药研发进展做一综述。

关键词: Nrf2/ARE 通路; 抗氧化; 转录因子; 巴多克沙龙; 富马酸二甲酯

中图分类号: R96 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2013)01-0054-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2013.01.014

Advances in study on Nrf2/ARE signal pathway and its relevant drugs

PAN Xiao-fei^{1,2}, TAN Chu-bing¹, SHI Li-li¹, ZHANG Jie^{1,2}, XU Wei-ren¹, TANG Li-da¹

1. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

2. School of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

Abstract: Nrf2/antioxidant-response-element (ARE) signal pathway is vital in the regulation of cellular oxidative stress response, and the downstream anti-oxidant proteins and phase II detoxification enzyme, which were regulated by Nrf2/ARE pathway, play the important roles in the cellular defense protection. Nrf2/ARE pathway plays a key role in the anti-inflammatory, antitumor, neuroprotective, and anti-apoptotic effects. Drugs targeted on Nrf2 are expected to be used in the treatment of several diseases such as multiple sclerosis, diabetes, neurodegenerative diseases, and tumors; Some new drugs such as dimethyl fumarate and Bardoxolone have advanced into late clinical phase. This paper introduces the relationship between Nrf2/ARE pathway and diseases as well as the development of drugs targeted on it.

Key words: Nrf2/ARE pathway; anti-oxidation; transcription factor; Bardoxolone; dimethyl fumarate

Nrf2 是一种含有亮氨酸拉链基本结构的转录因子, 属于 Cap-n-collar (CNC) 调节蛋白家族。Nrf2 及其信号通路与肿瘤、炎症、糖尿病、慢性肾功能衰竭、哮喘、慢性阻塞性肺病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD)、神经系统疾病、自身免疫性疾病等多种疾病病理生理和发病过程密切相关, 已成为广受关注的药物靶点。Nrf2 包括 Neh1 到 Neh6 共 6 部分结构。Neh1 为碱性亮氨酸拉链基本序列, 是 Nrf2 和 Maf 形成异二聚体并与抗氧化反应元件 (anti-oxidant response element,

ARE) 结合的区域^[1]。Nrf2 与 ARE 结合的同时, 由具有转录活性的 Neh4 和 Neh5 与辅助蛋白结合后才能启动转录过程。Neh2 能与 Keap1 结合并被其负性调节, 正常情况下胞浆中的 Nrf2 大多与 Keap1 结合而被降解^[2]。氧化应激^[3]、亲电子试剂^[2]或磷酸化作用^[4]可导致 Nrf2 与 Keap1 解离和释放; 同时还可能减弱 Keap1 介导的蛋白酶对 Nrf2 的降解作用。Nrf2 与 Keap1 解离后转位进入细胞核, 进而和 ARE 结合, 启动下游基因的转录。由此可以看出, 通过阻止 Nrf2 与 Keap1 的结合、减弱 Keap1

收稿日期: 2012-12-10

基金项目: 国家重大新药创制专项 (2011ZX09401-009)

作者简介: 潘晓菲, 女, 硕士研究生, 研究方向为药理学。Tel: 18222285195 E-mail: sumu7@126.com

*通信作者 汤立达, 博士, 研究员, 博士生导师。E-mail: tangld@tjipr.com

介导的蛋白酶对 Nrf2 的降解作用都可以激活 Nrf2/ARE 通路。除此之外还可以通过调节 Nrf2 的核-浆穿梭或者诱导 Nrf2 的表达来调节 Nrf2。现有的 Nrf2 调节剂主要通过对 Keap1 的半胱氨酸残基进行修饰来阻止 Nrf2 和 Keap1 的结合, 调节 Nrf2 通路活性而达到治疗疾病的目的。

保护性基因包括 II 相解毒酶基因、抗氧化蛋白类基因、泛素酶基因和蛋白酶体基因、以及多向性抗药蛋白 2 (MRP2、ABCC2) 基因等^[2]。研究表明 Nrf2 在抗肿瘤、抗凋亡、抗炎症反应、抗动脉粥样硬化、神经保护等方面发挥着重要作用^[5-9]。简要介绍 Nrf2/ARE 通路在疾病发展中的作用及相关药物研发的新进展。

1 Nrf2/ARE 在疾病发展中的作用

1.1 Nrf2/ARE 通路与肿瘤

研究表明 Nrf2/ARE 通路参与了肿瘤的形成与发展。Yu 等^[10]发现 Nrf2 基因敲除小鼠更易发生化学诱导的 DNA 损伤, 在苯并芘致胃癌和亚硝基化合物致尿路上皮癌模型中表现出癌症高发性。大量证据表明 Nrf2 是推动结肠直肠癌发生和进展的重要因素, 以 Nrf2/ARE 通路为靶点可能是治疗结肠直肠癌的有效途径^[11]。此外, Nrf2 基因缺陷的小鼠比野生型小鼠更易生成肿瘤, Nrf2 诱导剂抑制肿瘤生长的研究结果进一步证明了 Nrf2 在肿瘤发生发展中的关键作用^[12-13]。

1.2 Nrf2/ARE 通路与炎症

炎症反应是机体对抗外界感染和组织损伤的一种生理保护机制, 但是炎症反应紊乱又会造成众多对机体有害的炎症性疾病, 如风湿、多发性硬化、银屑病、炎症肠病等。最近研究发现 Nrf2 能调节促炎症反应的刺激因素并能保护炎症损伤的细胞和组织, 在病理性炎症反应中起到保护作用^[14-15]。Nrf2 敲除小鼠发生类似狼疮的多器官免疫损伤、血管内免疫复合物沉积、早期死于肾小球肾炎等多种改变, 表明 Nrf2 在炎症发生发展中起重要作用^[16]。

Nrf2 诱导的下游靶基因 HO-1 是重要的抗炎酶, 其抗炎机制被认为是增加一氧化碳水平和抑制巨噬细胞的活性^[17]。Nrf2 本身能够负性调节炎症调节因子和酶类, 如炎症细胞因子、炎症趋化因子、细胞黏附分子、金属蛋白酶、环氧合酶 2 (COX-2) 等。Kim 等^[18]已经详细综述了 Nrf2 与先天性和自身性免疫疾病、肺部炎症、胃肠道炎症、动脉粥样硬化、肾炎、皮肤损伤、脑部炎症等炎症相关疾病

发生发展的密切关系, 因此 Nrf2 已成为研发治疗以上疾病的重要靶点。

1.3 Nrf2/ARE 通路与神经系统疾病

氧化应激是许多神经退行性疾病起始和发展的重要因素, 有研究表明帕金森病和阿尔茨海默病等神经退行性疾病与还原型谷胱甘肽减少以及 II 相解毒酶失调引起的氧化或过氧化有关^[19]。而 Nrf2/ARE 信号通路的神经保护作用已得到众多的实验验证, Lee 等^[20]认为 Nrf2 是通过拮抗线粒体复合物 VI 阻滞剂和提高细胞内钙浓度来发挥神经保护功能的。Nrf2/ARE 信号通路激动剂在肌萎缩侧索硬化鼠模型上以及其他神经退行性疾病模型上表现出良好的治疗潜力^[21]。

对于急性神经系统疾病, 如创伤性脑损伤、缺血性脑卒中、出血性脑卒中等, 氧化应激是发病机制中非常重要的组成部分。有实验证实在创伤性脑损伤时 Nrf2 及其调节的醌氧化还原酶 (NQO1) 等 II 相解毒酶水平显著增加, 说明 Nrf2/ARE 信号通路是创伤性脑损伤时的内源性适应机制。而且一系列体内实验已经证实了 Nrf2 的神经保护作用, Nrf2 信号通路诱导剂莱菔硫烷 (sulforaphane)、姜黄素等也在实验中表现出抗氧化应激、减少脑水肿和神经炎症等功能^[22]。

1.4 Nrf2/ARE 通路与糖尿病

糖尿病时的高糖状态所引起的氧化应激反应中产生的活性氧 (ROS) 在糖尿病急慢性并发症的发生发展上起关键作用。Nrf2/ARE 信号通路作为参与氧化应激的关键通路之一, 已有研究证实其与包括糖尿病肾病在内的多种病变密切相关。Tan 等^[23]在心肌细胞的体内实验中发现糖尿病时能通过细胞外信号调节激酶 (ERK) 下调 Nrf2 的功能, 导致氧化应激, 诱导胰岛素抵抗, 减少糖尿病患者心肌的葡萄糖利用。

Xue 等^[24]在高糖环境下培养微血管内皮细胞 HMEC-1 并用 Nrf2 的典型激动剂莱菔硫烷作用 6~48 h, 结果表明莱菔硫烷能够恢复高血糖引起的内皮细胞生物化学紊乱, 提示 Nrf2/ARE 可以作为口服药物研发的靶点。另外一项研究显示 Nrf2 诱导剂奥体普拉可改善高脂饮食诱导的小鼠肥胖和胰岛素抵抗, 说明 Nrf2 抗氧化系统抵抗胰岛素抵抗和肥胖的重要作用^[25]。用 Nrf2 基因敲除小鼠实验的结果证实了 Nrf2 基因缺失会损害葡萄糖耐量并加重高血糖症状^[26-27]。

2 以 Nrf2/ARE 通路为靶点的新药研发

由于 Nrf2/ARE 通路在糖尿病、神经性疾病、肿瘤等多种疾病发生发展过程中的重要作用,以 Nrf2 为靶点的药物研发在各领域展开了广泛的探索,其中治疗糖尿病肾病的巴多克沙龙(bardoxolone)和治疗多发性硬化的富马酸二甲酯(dimethyl fumarate)已进入了III期临床研究,有望诞生新药。

2.1 巴多克沙龙

巴多克沙龙是一种合成的三萜类化合物,主要用于糖尿病肾病的治疗。Dinkova-Kostova 等^[28]发现巴多克沙龙能够诱导II相解毒酶(如NQO1)表达,抑制诱导型氮氧化物合酶(iNOS)的表达,这种作用在 Nrf2^{-/-}和 keap1^{-/-}的小鼠胚胎成纤维细胞中消失,证实其作用主要由 Nrf2/ARE 通路介导的。目前 Reata 制药公司和雅培公司正在共同开展巴多克沙龙治疗糖尿病肾病的大规模III期临床试验。

一项随机、双盲、安慰剂对照的多中心II期临床试验中,270位糖尿病慢性肾病患者随机接受安慰剂或巴多克沙龙治疗(25、75、150 mg, po, 每日1次)共52周。结果显示,给药4周后巴多克沙龙各剂量组患者肾功能即有改善(肾小球滤过率升高),24周时25、75、150 mg 剂量组肾小球滤过率分别增加(8.2±1.5)、(11.4±1.5)、(10.4±1.5) mL/(min·1.73 m²),明显高于安慰剂对照组($P<0.001$),且治疗者肾小球滤过率(GRF)的升高一直持续至52周^[29]。另一个多中心的开放临床试验中,20位II型糖尿病慢性肾病患者接受巴多克沙龙25 mg/d 治疗28 d,随后加大剂量至75 mg/d,56 d时90%患者的GRF增加伴随血肌酐和血尿素氮减少,并显示出剂量和时间相关,说明巴多克沙龙治疗能明显改善糖尿病患者的肾功能^[30]。研究者和雅培制药公司称这种药物“有可能极大地改变慢性肾病的治疗状况、改善患者的预后”^[31]。

2.2 莱菔硫烷

从十字花科植物绿花椰菜提取的莱菔硫烷是一种II相酶诱导剂,可以预防多种化学致癌物诱导的DNA损伤和肿瘤的发生^[32]。绿花椰菜中富含萝卜硫苷(glucoraphanin),后者经水解形成莱菔硫烷。在细胞和动物实验中,莱菔硫烷已经表现出良好的抗肿瘤活性,主要作用机制是激活 Nrf2 信号通路,诱导II相酶(NQO1、谷胱甘肽巯基转移酶、 γ -谷氨酰半胱氨酸合成酶、葡萄糖醛酸基转移酶等)的表

达^[33-35]。

Ding 等^[36]给野生型和 Nrf2^{-/-}小鼠 ig 莱菔硫烷0、10、40 μ mol/kg,共5 d,随后ip给予4-苯基苯胺(ABP),24 h后处死动物,收集膀胱检测dG-C8-ABP和Nrf2调节的细胞保护基因。结果野生型小鼠莱菔硫烷对dG-C8-ABP的阻止效率是61%,在Nrf2^{-/-}小鼠中完全无作用;在野生型小鼠膀胱上皮细胞中能检测到显著的NQO1,Nrf2^{-/-}小鼠中则检测不到;这就证明莱菔硫烷能阻止ABP引起的膀胱细胞和组织的DNA损伤,其作用主要由Nrf2介导。

Kensle 等^[37]进行了莱菔硫烷激活 Nrf2/ARE 信号通路及其安全性、药动学、生物利用度和药效学等实验。其中一项优化剂量处方的安慰剂对照试验招募了291名志愿者,给予试验者富含莱菔硫烷40 μ mol和富含萝卜硫苷6 mmol的混合物,3个月后评价绿花椰菜芽饮料对空气污染生物标志物的影响以及莱菔硫烷的耐受性和有效性。但是该试验结果至今还没有公布。

2.3 富马酸二甲酯

富马酸二甲酯(BG-12)是治疗多发性硬化症的口服药,作用机制包括抑制NF- κ B、促进活化T淋巴细胞的凋亡、增加细胞因子IL-4和IL-5、激动Nrf2增加NQO1、HO-1以及谷胱甘肽的水平等^[38-41]。Lin 等^[41]用20 μ mol富马酸二甲酯和溶媒处理星状细胞,结果富马酸二甲酯组细胞核中检测到的Nrf2水平比对照组高,研究者认为富马酸二甲酯激动星状细胞的Nrf2/ARE通路,提高谷胱甘肽的表达,从而发挥对胶质细胞及其邻近神经元的保护作用。Scannevin 等^[42]用富马酸二甲酯或富马酸单甲酯处理动物或者神经细胞都能增加细胞核内Nrf2的水平,然而这个现象在Nrf2基因敲除小鼠中消失。

新药BG-12已经进入临床试验阶段,一个III期临床试验(DEFINE)是随机双盲、安慰剂对照、剂量比较研究,旨在确定其治疗复发缓解型多发性硬化患者的有效性和安全性。1200多名患者随机接受安慰剂或BG-12治疗,每日2次或每日3次,po,每次240 mg,共2年。结果2年后服用BG-12每日2次、每日3次组及安慰剂组的复发率分别为27%、26%、46%($P<0.001$);每日2次、每日3次BG-12组比安慰剂对照组的年复发率分别减少53%、48%($P<0.001$),确认的残疾进展分别减少38%($P=0.005$)、34%($P=0.01$)^[43]。另一项CONFIRM研究验证了DEFINE研究的结果,BG-12可显著降低

年复发率, 用药2年时, 服用BG-12每日2次、每日3次组分别比安慰剂组的年复发率低44% ($P < 0.0001$)、51% ($P < 0.0001$)^[44]。

3 结语

随着对Nrf2/ARE信号通路调控的分子机制及其病理生理意义的进一步明确, 基于此通路的药物研发也越来越受到重视。而巴多克沙龙在糖尿病肾病、富马酸二甲酯在多发性硬化症的临床试验中所展现出的良好效果, 更让研究者对Nrf2/ARE信号通路为靶点的药物在糖尿病、自身免疫性疾病、肿瘤等多种复杂疾病治疗中的应用前景充满期待。随着对该通路研究的深入, 将来会有更多的新药被开发出来。

参考文献

- [1] 刘文博, 谭晓斌, 贾晓斌, 等. 基于Nrf2通路的中药化学预防肿瘤的研究思路 [J]. 中草药, 2011, 42(7): 1429-1434.
- [2] Uruno A, Motohashi H. The Keap1/Nrf2 system as an *in vivo* sensor for electrophiles [J]. *Nitric Oxide*, 2011, 25(2): 153-160.
- [3] Niture S K, Kaspar J W, Shen J, *et al.* Nrf2 signaling and cell survival [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2010, 244(1): 37-42.
- [4] Li Y, Paonessa J D, Zhang Y S. Mechanism of chemical activation of Nrf2 [J]. *PLoS One*, 2012, 7(4): e35122-e35128.
- [5] Jin W, Wang H, Yan W. Role of Nrf2 in protection against traumatic brain injury in mice [J]. *J Neurotrauma*, 2009, 26(1): 131-139.
- [6] Cui W P, Bai Y, Miao X, *et al.* Prevention of diabetic nephropathy by sulforaphane: Possible role of Nrf2 upregulation and activation [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2012, 2012: 821936-821947.
- [7] Papaiahgari S, Yerrapureddy A, Reddy S R. Genetic and pharmacologic evidence links oxidative stress to ventilator-induced lung injury in mice [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2007, 176(12): 1222-1235.
- [8] Kim Y R, Oh J E, Kim M S, *et al.* Oncogenic NRF2 mutations in squamous cell carcinomas of oesophagus and skin [J]. *J Pathol*, 2010, 220: 446-451.
- [9] Dai G, Vanghn S, Zhang Y. Biomechanical forces in atherosclerosis-resistant vascular regions regulate endothelial redox balance via phosphoinositol 3-kinase/Akt-dependent activation of Nrf2 [J]. *Circ Res*, 2007, 101(7): 723-733.
- [10] Yu X, Kensler T. Nrf2 as a target for cancer chemoprevention [J]. *Mutat Res*, 2005, 591(1/2): 93-102.
- [11] Saw C L L, Kong T A N. Nrf2 as a chemopreventive target in colorectal cancer [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2011, 15(3): 281-295.
- [12] Myzak M C, Tong P, Dashwood W M, *et al.* Sulforaphane retards the growth of human pc-3 xenografts and inhibits hdac activity in human subjects [J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2007, 232(2): 227-234.
- [13] Li N, Alam J, Venkatesan M I, *et al.* Nrf2 is a key transcription factor that regulates antioxidant defense in macrophage and epithelial cells: Protecting against the proinflammatory and oxidizing effects of diesel exhaust chemicals [J]. *J Immunol*, 2004, 17(5): 3467-3481.
- [14] Arisawa T, Tahara T, Shibata T, *et al.* The relationship between helicobacter pylori infection and promoter polymorphism of the Nrf2 gene in chronic gastritis [J]. *Int J Mol Med*, 2007, 19(1): 143-148.
- [15] Chen X L, Dodd G, Thomas S, *et al.* Activation of Nrf2/ARE pathway protects endothelial cells from oxidant injury and inhibits inflammatory gene expression [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2006, 290(5): H1862-H1870.
- [16] Ma Q, Battelli L, Hubbs A F. Multiorgan autoimmune inflammation, enhanced lymphoproliferation, and impaired homeostasis of reactive oxygen species in mice lacking the antioxidant-activated transcription factor Nrf2 [J]. *Am J Pathol*, 2006, 168(6): 1960-1974.
- [17] Paine A, Eiz-Vesper B, Blasczyk R, *et al.* Signaling to heme oxygenase-1 and its anti-inflammatory therapeutic potential [J]. *Biochem Pharmacol*, 2010, 80(12): 1895-1903.
- [18] Kim J, Cha Y N, Surh Y J. A protective role of nuclear factor-erythroid 2-related factor-2 (Nrf2) in inflammatory disorders [J]. *Mutat Res*, 2010, 690(1/2): 12-23.
- [19] Johnson J A, Johnson D A, Lee J M, *et al.* The Nrf2-ARE pathway: A potential therapeutic target for neurodegenerative diseases [J]. *Int Congr Ser*, 2007, 1302: 143-153.
- [20] Lee I M, Shih A Y. NF-E2-related factor-2 mediates neuroprotection against mitochondrial complex I inhibitors and increased concentrations of intracellular calcium in primary cortical neurons [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(39): 37948-37956.
- [21] Petri S, Körner S, Kiaei M. Nrf2/ARE signaling pathway: key mediator in oxidative stress and potential therapeutic target in ALS [J]. *Neurol Res Int*, 2012, 2012: 878030.
- [22] Zhang M J, An C, Gao Y. Emerging roles of Nrf2 and phase II antioxidant enzymes in neuroprotection [J]. *Prog Neurobiol*, 2013, 100(1): 30-47.

- [23] Tan Y, Ichikawa T, Li J. Diabetic downregulation of Nrf2 activity via ERK contributes to oxidative stress-induced insulin resistance in cardiac cells *in vitro* and *in vivo* [J]. *Diabetes*, 2011, 60(2): 625-633.
- [24] Xue M Z, Qian Q. Activation of NF-E2-related factor-2 reverses biochemical dysfunction of endothelial cells induced by hyperglycemia linked to vascular disease [J]. *Diabetes*, 2008, 59(10): 2809-2817.
- [25] Yu Z, Shao W, Chiang Y. Oltipraz upregulates the nuclear respiratory factor 2 alpha subunit (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.
- [26] Aleksunes L M, Reisman S A, Yeager R L, *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.
- [27] Pearson K J, Lewis K N, Price N L, *et al.* Nrf2 mediates cancer protection but not longevity induced by caloric restriction [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(7): 2325-2330.
- [28] Dinkova-Kostova A T, Liby K T, Stephenson K K, *et al.* Extremely potent triterpenoid inducers of the phase 2 response: Correlations of protection against oxidant and inflammatory stress [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(12): 4584-4589.
- [29] Pergola P E, Raskin P, Toto R D, *et al.* Bardoxolone methyl and kidney function in CKD with Type 2 diabetes [J]. *N Engl J Med*, 2011, 365(18): 1745-1746.
- [30] Pergola P E, Krauth M, Huff J W, *et al.* Effect of bardoxolone methyl on kidney function in patients with T2D and Stage 3b-4 CKD [J]. *Am J Nephrol*, 2011, 33(5): 469-476.
- [31] 李敏华, 许关煜. 预测潜在的重磅炸弹药物 [J]. 上海医药, 2012, 33(5): 45-52.
- [32] 王舒然, 夏薇. 莱菔硫烷与肿瘤 [J]. 疾病控制杂志, 2004, 8(5): 452-455.
- [33] Thimmulappa R K, Mai K H, Srisuma S, *et al.* Identification of nrf2-regulated genes induced by the chemopreventive agent sulforaphane by oligonucleotide microarray [J]. *Cancer Res*, 2002, 62(18): 5196-5203.
- [34] Hu R, Khor T O, Shen G, *et al.* Cancer chemoprevention of intestinal polyposis in apcmin/+ mice by sulforaphane, a natural product derived from cruciferous vegetable [J]. *Carcinogenesis*, 2006, 27(10): 2038-2046.
- [35] Wang H, Khor T O, Yang Q, *et al.* Pharmacokinetics and pharmacodynamics of phase II drug metabolizing/antioxidant enzymes gene response by anticancer agent sulforaphane in rat lymphocytes [J]. *Mol Pharm*, 2012, 9(10): 2819-2827.
- [36] Ding Y, Paonessa J D, Randall K L, *et al.* Sulforaphane inhibits 4-aminobiphenyl-induced DNA damage in bladder cells and tissues [J]. *Carcinogenesis*, 2010, 31(11): 1999-2003.
- [37] Kensle T W, Egner P A, Agyeman A S, *et al.* Keap1-Nrf2 signaling: A target for cancer prevention by sulforaphane [J]. *Top Curr Chem*, 2013, 329: 163-177.
- [38] Vandermeeren M, Janssens S, Wouters H, *et al.* Dimethylfumarate is an inhibitor of cytokine-induced nuclear translocation of NF-kappa B1, but not RelA in normal human dermal fibroblast cells [J]. *Invest Dermatol*, 2001, 116(1): 124-130.
- [39] Treumer F, Zhu K, Gläser R, *et al.* Dimethylfumarate is a potent inducer of apoptosis in human T cells [J]. *J Invest Dermatol*, 2003, 121(6): 1383-1388.
- [40] Linker R A, Lee D H, Ryan S, *et al.* Fumaric acid esters exert neuroprotective effects in neuroinflammation via activation of the Nrf2 antioxidant pathway [J]. *Brain*, 2011, 134(3): 678-692.
- [41] Lin S X, Lisi L, Russo C D, *et al.* The anti-inflammatory effects of dimethyl fumarate in astrocytes involve glutathione and haem oxygenase-1 [J]. *ASN Neuro*, 2011, 3(2): 75-84.
- [42] Scannevin R H, Chollate S, Jung M, *et al.* Fumarates promote cytoprotection of central nervous system cells against oxidative stress via the nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2 pathway [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2012, 341(1): 274-284.
- [43] Gold R, Kappos L, Arnold D L, *et al.* Placebo-controlled phase 3 study of oral BG-12 for relapsing multiple sclerosis [J]. *N Engl J Med*, 2012, 367(12): 1098-1107.
- [44] Fox R J, Miller D H, Theodore Philips J, *et al.* Placebo-controlled phase 3 study of oral BG-12 or glatiramer in multiple sclerosis [J]. *N Engl J Med*, 2012, 367(12): 1087-1097.