

• 综 述 •

Nrf2 调节 NADPH 氧化酶 2 介导的脑缺血再灌注损伤的研究进展

许莉莉 高雅然 郭星 吕佩源

【中图分类号】 R743.3

【文献标识码】 A

【文章编号】 1007-0478(2022)05-0479-04

【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2022.05.018

恢复血供是治疗缺血性脑卒中的最有效方法,但是在治疗过程中缺血区域的再灌注可能会加速诱导神经细胞的损伤、凋亡,加重脑组织的缺血、缺氧,导致脑缺血再灌注损伤(Cerebral ischemia reperfusion injury, CIRI)。还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(Reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)氧化酶 2(NADPH oxidase 2, Nox2)生成的活性氧(Reactive oxygen species, ROS)诱导氧化应激可引起大脑氧化损伤。核转录因子相关因子 2(Nuclear factor erythroid 2 related factor 2, Nrf2)通过调节 CIRI 诱导的氧化应激、炎症、自噬等来减少缺血再灌注大脑组织 ROS 的产生,从而发挥保护作用。本研究主要对 Nrf2 和 Nox2 介导 CIRI 的近期研究进展以及二者在 CIRI 间的关联进行概述,为该类游戏的治疗和预防提供帮助。

脑卒中是威胁全球生命健康的主要疾病之一,具有较高的发病率、致残率和病死率,其中缺血性脑卒中治疗方法主要包括静脉溶栓和动脉溶栓、取栓,是目前减少组织损伤和改善神经功能的有效治疗方法^[1],但是在治疗过程中缺血区的再灌注可能会加速诱导神经细胞凋亡,导致脑缺血再灌注损伤(Cerebral ischemia reperfusion injury, CIRI),而后引起氧化应激加强、诱发炎症和自噬等病理生理机制,最终影响患者的预后^[2]。CIRI 由多种因素诱导,其中氧化应激是缺血再灌注损伤触发的信号级联反应的关键角色,再灌注后的血流恢复可进一步刺激氧化应激增强,导致活性氧(Reactive oxygen species, ROS)生成增多。大脑中 ROS 主要来源于线粒体呼吸链和 NADPH 氧化酶(NADPH oxidase, Nox)家族,小胶质细胞中的 ROS 主要由 Nox2 产生,抑制 Nox2 活性可以有效防止 ROS 的过度产生^[3]。目前研究证明, Nrf2 可通过调节机体氧化应激来减少 CIRI 诱发的 ROS 过度产生,从而发挥对大脑的保护作用。但是, Nrf2 是否可通过调控大脑中 Nox2 的活性来抑制 ROS 的产生,还需要进一步研

究,使之可能成为临床防治脑卒中再灌注损伤的 1 个新靶点。

1 ROS 参与 CIRI

氧化应激是指由过氧化氢、超氧化物和羟自由基在内的 ROS 过度产生或清除能力降低,导致机体氧化和抗氧化系统失衡引起组织损伤的病理过程^[4-5]。在正常情况下 ROS 可以维持细胞的正常功能, CIRI 发生可引起氧化磷酸解耦,导致 ROS 产生增加及脂质过氧化。

过量的 ROS 可以与 DNA、蛋白质、脂质等生物大分子物质产生一系列级联反应,从而影响细胞功能,导致细胞凋亡。ROS 的毒性机制主要包括(1)诱导 DNA 等大分子失去其原有活性或功能,双锥体框架核酸具有强抗氧化活性,是 ROS 的清除剂,对 CIRI 给予 DNA 框架干预表现出潜在的保护作用^[6];(2)作用于多不饱和脂肪酸,引起线粒体膜中的脂质过氧化,损害血管的内皮细胞,降解紧密连接蛋白,破坏血脑屏障^[7-8];(3)机体应激引起 ROS 水平增高,从而导致核苷酸结合寡聚结构域、富含亮氨酸重复序列和含 Pyrin 结构域 3(Nucleotide-binding oligomerization domain, leucine-rich repeat and pyrin domain-containing 3, NLRP3)炎症小体活化,介导炎症和免疫反应,加重 CIRI^[9];(4)激活瞬时感受器电位 M2 型(Transient receptor potential M2, TRPM2)通道(ROS 传感器),导致 Ca^{2+} 内流,影响自噬功能^[10];(5)导致兴奋性氨基酸的释放增加,促进脑缺血后延迟神经死亡的发展^[11];(6)促进多糖分子的聚合和降解。自由基可以攻击大量富含不饱和脂肪酸的神经膜和血管,引发脂质过氧化级联效应,细胞结构完整性破坏,从而严重影响细胞膜的通透性,导致谷氨酸神经毒性和神经元凋亡^[12]。

缺血性脑卒中导致大脑皮层和海马 ROS 的产生主要分为 3 个阶段:第一阶段主要发生在缺血后,在这阶段血流停止,脑组织中的线粒体遭受氧气和葡萄糖的剥夺,导致能量消耗,线粒体呼吸链解耦连,乳酸及还原性中间体堆积,这些中间体可以与氧相互作用产生 ROS;第二阶段的 ROS 产生主要发生在缺氧和葡萄糖剥夺的 25~35 min,主要来源于黄嘌呤氧化酶,由于细胞内腺嘌呤核苷三磷酸(Adenosine triphosphate, ATP)的消耗而积累的化合物;第三阶段 ROS 的产生发生在再灌注期间,此时脑组织氧合水平增加,是造成缺血再灌注损伤的主要原因;该研究同时证实再灌注后大部分 ROS 由 Nox 产生^[13]。Kelmanson 等^[14]利用原代海马神经元培养发现,在缺氧第一阶段 ROS 的产生主要是在神经元胞质中,体内实验发现在再灌注后第 2 d 才能检测到神经元线粒体中

基金项目:2019、2020 年河北省高端人才资助项目(编号为 6833452、83587216);2019 年河北省政府资助临床医学优秀人才培养项目(冀财社 2019-139-5);2020 年河北省引智项目(冀科专函 2020-19-2)

作者单位:075000 河北省张家口市河北北方学院研究生院[许莉莉(河北省人民医院神经内科在读研究生) 郭星(河北省人民医院神经内科在读研究生)];河北医科大学神经病学教研室[高雅然(河北省人民医院神经内科)];河北省人民医院神经内科[吕佩源(河北医科大学神经病学教研室)]

ROS的变化,说明 ROS 的产生可能存在延迟,但是该实验仅推测 CIRI 的氧化应激不是通过过氧化氢(H_2O_2)产生,ROS 的产生也有可能通过脂质过氧化、小胶质细胞激活以及中性粒细胞浸润引起炎症反应相关。积极抗氧化、清除自由基、减缓氧化应激可以保护神经元免受 CIRI 的损伤。

2 Nrf2 与 CIRI

Nrf2 属于碱性亮氨酸拉链家族,是体内内源性诱导防御系统的关键调控因子,该因子识别许多编码抗氧化剂和解毒酶等抗氧化反应元件(Antioxidant response element, ARE)如血红素加氧酶-1(Heme oxygenase 1, HO-1)、NAD(P)H:醌氧化还原酶 1(NADPH:quinone oxidoreductase-1, NQO1)、谷氨酸-半胱氨酸连接酶(Glutamate-cysteine ligase, GCL)、醛酮还原酶家族(Aldo-keto reductases, AKRs)等^[15]。Nrf2/HO-1 信号通路的激活可以调节细胞抗氧化应激和炎症并减弱 CIRI。在生理条件下 Nrf2 主要以失活状态位于细胞质中,与 Kelch 样 ECH 关联蛋白 1(Kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1)形成复合物与 E3 泛素连接酶结合,导致 Nrf2 降解和信号终止,从而维持该因子的稳定及低表达状态。然而,当氧化应激发生增强时 Nrf2 与 Keap1 解偶联,易位到细胞核并与特定的 DNA 结合,启动细胞保护基因的转录。其中,Nrf2 从 Nrf2/Keap1 复合体上解离导致 Nrf2 易位到细胞核并大量积聚,启动下游转录机制,是最终其发挥保护作用的关键之处^[16]。

当脑组织或细胞出现缺血、缺氧时 ROS 的生成能力超过了机体的抗氧化防御机制,导致缺血后炎症发生,加重脑组织损伤;当脑血流恢复会导致血管壁结构蛋白的降解和血脑屏障完整性的破坏,突然增强组织的氧合作用,则进一步加剧 ROS 的产生、炎症反应和氧化应激损伤,增强 Nrf2 活性可减少梗死面积和缺血后神经功能障碍^[17]。Han 等^[18]研究发现大脑中动脉阻塞(Middle cerebral artery occlusion, MCAO)模型中 Nrf2 及其通路相关蛋白 HO-1 和 NQO1 的表达被显著抑制,激活 Nrf2 可以减轻神经元损伤,抑制细胞凋亡、炎症和氧化应激。但是,Tang 等^[19]研究却表明 MCAO 模型可促进 Nrf2 的表达,经药物治疗会进一步增加 Nrf2 的表达。此外,该团队利用转染技术对 Nrf2 基因进行体外敲低,结果表明 Nrf2 敲低可导致超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)和过氧化氢酶(Catalase, CAT)活性降低以及丙二醛(Malondialdehyde, MDA)水平增高,消除药物的抗氧化应激作用;与野生型小鼠比较,Nrf2 敲除小鼠的细胞活力降低,氧化应激和认知功能障碍加重^[20]。Nrf2 下游的细胞保护蛋白如 HO-1 和 NQO1 在缺血后不久在梗死组织样品中显著增高 1.8~3.6 倍,但在 Nrf2 敲除小鼠中没有^[21]。富马酸二甲酯特异性激活 Nrf2,并通过 Nrf2/HO-1 途径对缺血性脑损伤发挥神经保护作用。有研究人员发现,富马酸二甲酯显著减少脑肿胀的面积、神经功能障碍的发生率以及活化的小胶质细胞和巨噬细胞的数量^[22-23]。此外,Nrf2 还参与调节血红蛋白和铁的代谢,并在避免脑出血后的神经损伤方面发挥作用^[24]。因此,Nrf2 是调节氧化和还原稳态的有效途径和有前途的治疗靶点。

3 Nox2 与 CIRI

Nox 是一种介导电子跨生物膜运输,产生超氧阴离子和随后的 ROS,包括 H_2O_2 和羟基自由基(OH^\cdot)的多亚基蛋白质复合物。目前 Nox 家族已经发现 7 种亚型,分别为 Nox1-5 和 2 种双氧化酶 DUox1-2,该家族在不同的细胞中表达不同,其中 Nox1, Nox2, Nox4 在神经系统的不同区域表达,主要包括神经元、星形胶质细胞、小胶质细胞和形成血脑屏障的脑血管细胞中^[25]。缺血再灌注暴露后的 Nox 水平会升高,这与氧自由基的产生有关,可以对大脑产生直接氧化损伤^[26]。最近有研究证实,Nox 不仅在再灌注阶段产生大量自由基,在缺血阶段血脑屏障的损伤中同样起着关键作用,使用 Nox 抑制剂可以减少血脑屏障损伤,延长动脉溶栓或血管内治疗的时间窗,减少脑出血风险,预防缺血性脑损伤^[27]。众所周知,缺血再灌注损伤诱导细胞线粒体功能障碍及细胞凋亡,但是近期有研究结果显示在体内和体外给予外源性 NADPH 可能会保护线粒体抑制心肌缺血再灌注诱导的细胞凋亡,降低心肌梗死面积^[28]。因此,了解 Nox 的表达调控机制是 CIRI 治疗的关键。

Nox 家族特别是 Nox2 和 Nox4 在神经胶质细胞中高度表达^[29-30]。有研究认为 Nox2 的缺乏在不同疾病模型中表现出结果不同,如在类风湿性关节炎报道中指出,Nox2 的缺乏会加重疾病的发展^[31],而中枢神经系统中 Nox2 缺乏可减少 ROS 的产生并减少氧化损伤,降低中枢神经系统疾病的严重程度,保护机体免受多发性硬化的发作和进展^[32]。缺血再灌注损伤时损伤脑组织中 Nox2 表达增加,同时伴有 ROS 产生,可能损伤自身或邻近的神经细胞^[33],而抑制 Nox2 的激活可减少 ROS 的产生,可改善脑缺血再灌注诱导的空间学习记忆能力^[34]。缺血再灌注后的脑梗死区 SOD 活性明显受抑制,MDA 和 ROS, Nox2 蛋白水平以及细胞凋亡率均显著增高,抑制 Nox2 的表达可能不仅降低 ROS 的生成和脂质过氧化,还可能会降低梗死面积,微小 RNA(miRNA, miR)-124 和 miR-652 已证实可以直接靶向 Nox2,调控 Nox2 介导的 ROS 生成、炎症微环境,抑制神经元凋亡,最终在 CIRI 中起到神经保护作用,但是该类药物给药方式是注射到大脑侧脑室,不符合现实的给药方式^[35-36]。Genovese 等^[37]发现利用 Nox2 抑制剂可以显著减少 MCAO 大鼠的脑梗死体积,降低炎症和细胞凋亡水平,改善神经功能。夹竹桃麻素是目前 Nox 家族中最具选择性的抑制剂,被认为通过防止 p47 的易位来抑制酶的活化。用夹竹桃麻素进行预处理可以减少野生型而不是 Nox2 基因敲除小鼠的神经损伤和病死率;在缺血再灌注后使用原位二氢乙锭法检测,用阿泊素预处理可显著降低超氧化物的产生^[38];然而 Nox2 敲除在大脑永久性局灶性缺血的情况下未能减轻梗死大小^[39]。Nox2 特异性抑制剂 gp91ds-tat 或强效 ROS 清除剂褪黑素预处理可降低大鼠脑组织梗死面积,有效抑制 CIRI 诱导的 ROS 水平升高、神经元凋亡和变性^[40-41]。据此推测 Nox2 参与 CIRI 诱导的神经细胞损伤,通过干预 Nox2 在机体内的过表达来抑制 ROS 的产生、减少 CIRI 过程中氧化应激增强,从而缓解缺血再灌注诱导的神经损伤及多种并发

症的出现,使该类疾病在临床获得更好的治疗效果。

4 Nrf2 与 Nox2 在 CIRI 的关系

CIRI 中当脑组织恢复血供后会诱导氧化应激增强,ROS 产生过多而超过机体的防御机制。刺激 Nrf2 使之激活,从而抑制氧化应激的发生。Deshmukh 等^[42]人认为,Nrf2 的激活可能对 ROS 过量引起的氧化应激具有潜在的治疗作用,特别是对于神经退行性疾病。NADPH 氧化酶比线粒体产生更多的 ROS,并且可以将 ROS 释放出细胞,被认为是脑卒中后 ROS 水平异常升高的关键因素^[43]。Nrf2 可以通过控制 Nox 2 来调节 ROS 的产生,从而维持细胞内氧化还原稳态^[44]。Kim 等^[45]在高脂肪饮食诱导的阿尔兹海默病肥胖小鼠模型及体外实验,人神经上皮瘤细胞(Human neuroepithelioma cell,SK-N-MC)细胞中高胆固醇模型发现稳定 Nrf2 可以削弱核转录因子- κ B(Nuclear transcription factor- κ B,NF- κ B)活化,降低 Nox2 水平。Nrf2 对 Nox2 具有重要的平衡作用,这种平衡在视网膜缺血时决定视网膜的氧化还原状态中起关键作用;有研究利用 Nrf2 敲除小鼠发现,在缺血后期 Nrf2 敲除小鼠视网膜疾病中 Nox2 诱导显著加重,抑制 Nox2 可消除 Nrf2 缺乏对修复性血管生成的不利影响^[46]。Chandran 等^[47]分别利用 Nox2 和 Nrf2 基因敲除小鼠在创伤性脑损伤中发现,当只有 Nox2 基因缺失时可显著降低该疾病导致的运动功能障碍及病变体积,而当 Nrf2 基因缺失却会加重该疾病的表现,最终导致认知功能更加恶化;单独使用罗布麻素(Nox2 抑制剂)或叔丁基对苯二酚(Tertiary butylhydroquinone,TBHQ)(Nrf2 激活剂)的治疗显著改善了创伤性脑损伤的运动功能,但对损伤体积没有影响。但是通过联合治疗(罗布麻素 + TBHQ)改善了运动和认知功能,并减少了皮质挫伤体积。最近研究利用糖尿病心肌缺血再灌注大鼠模型发现,上调 Nrf2 及其下游 HO-1 的表达,降低 Nox2 的表达,可以有效减少 ROS 的生成,最终使心肌梗死面积减小,心肌损伤减轻,心功能改善^[48]。ROS 的产生和处理都是氧化应激的重要调节因子,同时防止 ROS 形成和加强 ROS 处理的联合治疗在 CIRI 中是有效的。总体而言,Nrf2 可以调控 ROS 的产生与形成,Nox2 是大脑中 ROS 产生来源之一,Nrf2 与 Nox2 在 CIRI 中可能存在一定的联系,了解二者在该类疾病的联系对治疗可能有帮助。

恢复血供是目前治疗缺血性脑卒中的最有效方法,但治疗过程中缺血区域的再灌注会加速诱导受损神经细胞的凋亡,加重大脑缺血、缺氧导致 CIRI。其中,Nox2 生成 ROS 并诱导氧化应激引起大脑组织氧化损伤;Nrf2 通过调节 CIRI 期间能量消耗、减少缺血再灌注神经细胞 ROS 的产生来发挥神经保护作用。Nrf2 可能是调节 Nox2 的一条重要通路,可能成为治疗神经系统疾病的新靶点。

参 考 文 献

- [1] Campbell BV, De Silva DA, Macleod MR, et al. Ischaemic stroke[J]. Nat Rev Dis Primers, 2019, 5(1): 71.
- [2] Wu M, Gu X, Ma Z. Mitochondrial quality control in cerebral Ischemia-Reperfusion injury [J]. Mol Neurobiol, 2021, 58

- (10): 5253-5271.
- [3] Magnani F, Mattevi A. Structure and mechanisms of ROS Generation by NADPH oxidases[J]. Curr Opin Struct Biol, 2019, 59: 91-97.
- [4] Sajja RK, Kaiser MA, Vijay V, et al. In vitro modulation of redox and metabolism interplay at the brain vascular endothelium: genomic and proteomic profiles of sulforaphane activity [J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 12708.
- [5] Zhao Y, Xu J. Sanggenon C ameliorates cerebral Ischemia-Reperfusion injury by inhibiting inflammation and oxidative stress through regulating RhoA-ROCK signaling[J]. Inflammation, 2020, 43(4): 1476-1487.
- [6] Li SY, Jiang DW, Rosenkrans ZT, et al. Aptamer-Conjugated framework nucleic acids for the repair of cerebral Ischemia-Reperfusion injury[J]. Nano Lett, 2019, 19(10): 7334-7341.
- [7] Mukherjee A, Sarkar S, Jana S, et al. Neuro-protective role of nanocapsulated curcumin against cerebral ischemia-reperfusion induced oxidative injury[J]. Brain Res, 2019, 1704: 164-173.
- [8] He R, Jiang Y, Shi Y, et al. Curcumin-laden exosomes target ischemic brain tissue and alleviate cerebral ischemia-reperfusion injury by inhibiting ROS-mediated mitochondrial apoptosis [J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2020, 117: 111314.
- [9] Yao Y, Hu S, Zhang C, et al. Ginsenoside Rd attenuates cerebral ischemia/reperfusion injury by exerting an anti-pyrototic effect via the miR-139-5p/FoxO1/Keap1/Nrf2 axis[J]. Int Immunopharmacol, 2022, 105: 108582.
- [10] Hu X, Wu L, Liu X, et al. Deficiency of ROS-Activated TR-PM2 Channel protects neurons from cerebral Ischemia-Reperfusion injury through upregulating autophagy[J]. Oxid Med Cell Longev, 2021: 7356266.
- [11] Zhang J, Fang X, Zhou Y, et al. The possible damaged mechanism and the preventive effect of monosialotetrahexosylganglioside in a rat model of cerebral Ischemia-Reperfusion injury [J]. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2015, 24(7): 1471-1478.
- [12] Yuan Q, Yuan Y, Zheng Y, et al. Anti-cerebral ischemia reperfusion injury of polysaccharides: A review of the mechanisms[J]. Biomed Pharmacother, 2021, 137: 111303.
- [13] Abramov AY, Scorziello A, Duchon MR. Three distinct mechanisms generate Oxygen free radicals in neurons and contribute to cell death during anoxia and reoxygenation [J]. J Neurosci, 2007, 27(5): 1129-1138.
- [14] Kelmanson IV, Shokhina AG, Kotova DA, et al. In vivo dynamics of acidosis and oxidative stress in the acute phase of an ischemic stroke in a rodent model[J]. Redox Biol, 2021, 48: 102178.
- [15] Motterlini R, Foresti R. Heme oxygenase-1 as a target for drug discovery[J]. Antioxid Redox Signal, 2014, 20(11): 1810-1826.
- [16] Shaw P, Chattopadhyay A. Nrf2-ARE signaling in cellular protection: Mechanism of action and the regulatory mechanisms[J]. J Cell Physiol, 2020, 235(4): 3119-3130.
- [17] Sivandzade F, Prasad S, Bhalerao A, et al. NRF2 and NF- κ B interplay in cerebrovascular and neurodegenerative disorders: Molecular mechanisms and possible therapeutic approaches [J]. Redox Biol, 2019, 21: 101059.
- [18] Han M, Hu L, Chen Y. Rutaecarpine May improve neuronal injury, inhibits apoptosis, inflammation and oxidative stress by regulating the expression of ERK1/2 and Nrf2/HO-1 path-

- way in rats with cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2019, 13: 2923-2931.
- [19] Tang C, Hong J, Hu C, et al. Palmitine protects against cerebral ischemia/reperfusion injury by activation of the AMPK/Nrf2 pathway[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021: 6660193.
 - [20] Yang T, Sun Y, Li Q, et al. Ischemic preconditioning provides long-lasting neuroprotection against ischemic stroke: The role of Nrf2[J]. *Exp Neurol*, 2020, 325: 113142.
 - [21] Liu L, Vollmer MK, Fernandez VM, et al. Korean red ginseng pretreatment protects against Long-Term sensorimotor deficits after ischemic stroke likely through Nrf2[J]. *Front Cell Neurosci*, 2018, 12: 74.
 - [22] Yao Y, Miao W, Liu Z, et al. Dimethyl fumarate and monomethyl fumarate promote Post-Ischemic recovery in mice[J]. *Transl Stroke Res*, 2016, 7(6): 535-547.
 - [23] Lin R, Cai J, Kostuk EW, et al. Fumarate modulates the immune/inflammatory response and rescues nerve cells and neurological function after stroke in rats[J]. *J Neuroinflammation*, 2016, 13(1): 269.
 - [24] Kasai S, Mimura J, Ozaki T, et al. Emerging regulatory role of Nrf2 in Iron, Heme, and hemoglobin metabolism in physiology and disease[J]. *Front Vet Sci*, 2018, 5: 242.
 - [25] Tarafdar A, Pula G. The role of NADPH oxidases and oxidative stress in neurodegenerative disorders[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(12): 3824.
 - [26] El KI, Abdelsalam RM, Elbrairy AI, et al. Chrysin attenuates global cerebral ischemic reperfusion injury via suppression of oxidative stress, inflammation and apoptosis[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 112: 108619.
 - [27] Wang Y, Shen Y, Yu X, et al. Role of NADPH Oxidase-Induced Hypoxia-Induced factor-1 α increase in Blood-Brain barrier disruption after 2-Hour focal ischemic stroke in rat[J]. *Neural Plast*, 2021: 9928232.
 - [28] Zhu J, Yi W, Chai XM, et al. Exogenous NADPH ameliorates myocardial ischemia-reperfusion injury in rats through activating AMPK/mTOR pathway[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2020, 41(4): 535-545.
 - [29] Devanney N, Stewart AN, Gensel JC. Microglia and macrophage metabolism in CNS injury and disease: The role of immunometabolism in neurodegeneration and neurotrauma[J]. *Exp Neurol*, 2020, 329: 113310.
 - [30] Li H, Wang Y, Feng D, et al. Alterations in the time course of expression of the Nox family in the brain in a rat experimental cerebral ischemia and reperfusion model: effects of melatonin[J]. *J Pineal Res*, 2014, 57(1): 110-119.
 - [31] Huang YF, Lo PC, Yen CL, et al. Redox regulation of Pro-IL-1 β processing May contribute to the increased severity of Serum-Induced arthritis in Nox2-Deficient mice[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2015, 23(12): 973-984.
 - [32] Hu CF, Wu SP, Lin GJ, et al. Microglial Nox2 plays a key role in the pathogenesis of experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 638381.
 - [33] Lou Z, Wang AP, Duan XM, et al. Role of ALK5/SMAD2/3 signaling in the regulation of NOX expression in cerebral ischemia/reperfusion injury[J]. *Exp Ther Med*, 2018, 16(3): 1671-1678.
 - [34] Lou Z, Wang AP, Duan XM, et al. Upregulation of NOX2 and NOX4 mediated by TGF- β signaling pathway exacerbates cerebral ischemia/reperfusion oxidative stress injury[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 46(5): 2103-2113.
 - [35] Wu Y, Yao J, Feng K. miR-124-5p/NOX2 axis modulates the ROS production and the inflammatory microenvironment to protect against the cerebral I/R injury[J]. *Neurochem Res*, 2020, 45(2): 404-417.
 - [36] Zuo ML, Wang AP, Song GL, et al. miR-652 protects rats from cerebral ischemia/reperfusion oxidative stress injury by directly targeting NOX2[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 124: 109860.
 - [37] Genovese T, Mazzon E, Paterniti I, et al. Modulation of NADPH oxidase activation in cerebral ischemia/reperfusion injury in rats[J]. *Brain Res*, 2011, 1372: 92-102.
 - [38] Jackman KA, Miller AA, De Silva TM, et al. Reduction of cerebral infarct volume by apocynin requires pretreatment and is absent in Nox2-deficient mice[J]. *Br J Pharmacol*, 2009, 156(4): 680-688.
 - [39] Kim HA, Brait VH, Lee S, et al. Brain infarct volume after permanent focal ischemia is not dependent on Nox2 expression[J]. *Brain Res*, 2012, 1483: 105-111.
 - [40] Wang J, Liu Y, Shen H, et al. Nox2 and Nox4 participate in ROS-Induced neuronal apoptosis and brain injury during Ischemia-Reperfusion in rats[J]. *Acta Neurochir Suppl*, 2020, 127: 47-54.
 - [41] Liu L, Cao Q, Gao W, et al. Melatonin ameliorates cerebral ischemia-reperfusion injury in diabetic mice by enhancing autophagy via the SIRT1-BMAL1 pathway[J]. *FASEB J*, 2021, 35(12): e22040.
 - [42] Deshmukh P, Unni S, Krishnappa G, et al. The Keap1-Nrf2 pathway: promising therapeutic target to counteract ROS-mediated damage in cancers and neurodegenerative diseases[J]. *Biophys Rev*, 2017, 9(1): 41-56.
 - [43] Zhu G, Wang X, Chen L, et al. Crosstalk between the oxidative stress and Glia cells after stroke: from mechanism to therapies[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 852416.
 - [44] Kovac S, Angelova PR, Holmstroem KM, et al. Nrf2 regulates ROS production by mitochondria and NADPH oxidase[J]. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*, 2015, 1850(4): 794-801.
 - [45] Kim SY, Chae CW, Lee HJ, et al. Sodium butyrate inhibits high cholesterol-induced neuronal amyloidogenesis by modulating NRF2 stabilization-mediated ROS levels; involvement of NOX2 and SOD1[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(6): 469.
 - [46] Wei Y, Gong J, Xu Z, et al. Nrf2 promotes reparative angiogenesis through regulation of NADPH oxidase-2 in oxygen-induced retinopathy[J]. *Free Radic Biol Med*, 2016, c99: 234-243.
 - [47] Chandran R, Kim T, Mehta SL, et al. A combination antioxidant therapy to inhibit NOX2 and activate Nrf2 decreases secondary brain damage and improves functional recovery after traumatic brain injury[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2018, 38(10): 1818-1827.
 - [48] Zhang J, Cai X, Zhang Q, et al. Hydrogen sulfide restores sevoflurane postconditioning mediated cardioprotection in diabetic rats: Role of SIRT1/Nrf2 signaling-modulated mitochondrial dysfunction and oxidative stress[J]. *J Cell Physiol*, 2021, 236(7): 5052-5068.