

· 临床研究 ·

NRF2 基因多态性与非小细胞肺癌 放射性肺损伤的相关性研究

罗利民, 贾勇士, 吴数强, 毕爱红

(杭州医学院附属人民医院放疗科, 浙江 杭州 310000)

摘要:目的 探讨核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid-2-related factor 2, NRF2) 基因多态性与非小细胞肺癌 (non-small-cell lung cancer, NSCLC) 放射性肺损伤的关系。方法 收集 80 例行放疗的 NSCLC 患者。根据患者是否有放射性肺炎, 分为放射性肺炎组和非放射性肺炎组, 每组各 40 例。采用 Taqman 探针技术检测所有样本 DNA 中 NRF2 基因上单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 位点的表达。同时 ELISA 法检测血清中血红素氧合酶 1 (heme oxygenase-1, HO-1) 和血清超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 浓度。结果 NRF2 rs6721961、NRF2 rs718168 和 NRF2 rs3565212 多态性位点的分布符合 Hardy-Weinberg 平衡分布 (均 $P > 0.05$)。放射性肺炎组和非放射性肺炎组 NRF2 rs6712961 基因 AA 基因型比较, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); A 等位基因频率比较, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。放射性肺炎组中血清 HO-1 及 SOD 水平均高于非放射性肺炎组 (均 $P < 0.05$)。放射性肺炎组 AA 型患者血清 HO-1 水平高于 CC 型与 CA 型 (均 $P < 0.05$), AA 型患者血清 SOD 水平高于 CC 型 ($P < 0.05$)。结论 NRF2 基因多态性与放射性肺损伤有一定的关系, 并对 NSCLC 放射性肺损伤患者的抗氧化功能具有调控作用。

关键词: 癌, 非小细胞肺/病理学; NF-E2 相关因子 2/遗传学; 多态现象, 遗传; 辐射性肺炎/病因学; 超氧化物歧化酶; 血红素氧化酶(脱环)/遗传学

中图分类号: R734.2; R730.23 文献标志码: A 文章编号: 1001-1692(2019)05-0429-05

收稿日期: 2018-04-10

DOI: 10.13267/j.cnki.syzlzz.2019.05.008

基金项目: 浙江省医药卫生科技计划项目(2015KYB044)

作者简介: 罗利民(1977-), 男, 浙江杭州人, 副主任医师, 从事肺癌基础与临床研究

-
- [6] Ueda S, Tsuda H, Asakawa H, et al. Clinicopathological and prognostic relevance of uptake level using ^{18}F -fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computer tomography fusion imaging (^{18}F -FDG PET/CT) in primary breast cancer [J]. Jpn J Clin Oncol, 2008, 38(4): 250 - 258.
- [7] 王芳芳, 马攀江, 孙晶晶, 等. ABVS 与钼靶诊断乳腺疾病的对照研究 [J]. 实用肿瘤杂志, 2017, 32(3): 266 - 268.
- [8] 邵志敏. 走进新时代: 乳腺癌诊疗 30 年进展 [J]. 实用肿瘤杂志, 2016, 31(3): 195 - 200.
- [9] 任东栋, 孙达. ^{18}F -FDG PET 显像中标准化摄取值的临床应用价值 [J]. 实用肿瘤杂志, 2008, 23(3): 276 - 279.
- [10] Kaida H, Toh U, Hayakawa M, et al. The relationship between ^{18}F -FDG metabolic volumetric parameters and clinicopathological factors of breast cancer [J]. Nucl Med Commun, 2013, 34(6): 562 - 570.
- [11] 张倩, 辛军, 李红. ^{18}F -FDG PET/CT 显像半定量参数 MTV、TLG 联合 SUV 在乳腺癌诊断中的应用价值 [J]. 中国临床医学影像杂志, 2016, 27(9): 620 - 624.
- [12] Chen S, Ibrahim NK, Yan Y, et al. Risk stratification in patients with advanced-stage breast cancer by pretreatment [^{18}F]FDG PET/CT [J]. Cancer, 2015, 121(22): 3965 - 3974.
- [13] Gerdes J, Schwab U, Lemke H, et al. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation [J]. Int J Cancer, 1983, 31(1): 13 - 20.
- [14] 李红, 王晓明, 辛军, 等. 乳腺浸润性导管癌 ^{18}F -FDG 摄取的影响因素分析 [J]. 现代肿瘤医学, 2012, 20(6): 1187 - 1189.
- [15] 尹培, 柴鹏, 冯小伟, 等. PET/CT 显像 SUV_{max} 值与乳腺癌病理分型及组织分级的相关性分析 [J]. 浙江临床医学, 2017, 19(5): 855 - 856, 863.

Association of NRF2 gene polymorphism with radiation lung injury in patients with non-small-cell lung cancer

Luo Liming, Jia Yongshi, Wu Shuqiang, Bi Aihong

(Department of Radiotherapy, People's Hospital of Hangzhou Medical College, Hangzhou 310000, China)

Abstract: Objective To investigate the association of the gene polymorphism of nuclear factor erythroid-2-related factor 2 (NRF2) and radioactive lung injury in patients with non-small-cell lung cancer (NSCLC). **Methods** Eighty NSCLC patients receiving radiotherapy were enrolled, including 40 cases with radioactive pneumonia and 40 cases without radioactive pneumonia. Taqman probe technique was used to detect the single-nucleotide polymorphisms (SNPs) of NRF2 gene in the radioactive pneumonia group and the non-radioactive pneumonia group. Meanwhile, serum heme oxygenase-1 (HO-1) and superoxide dismutase (SOD) levels were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** The distribution of NRF2 rs6721961, NRF2 rs718168 and NRF2 rs3565212 polymorphic loci was consistent with the Hardy-Weinberg equilibrium distribution (all $P > 0.05$). There was significant difference in AA genotype of NRF2 rs6712961 gene and frequency of allele A between the two groups (both $P < 0.05$). Serum HO-1 and SOD levels in the radioactive pneumonia group were both higher than those in non-radioactive pneumonia group (both $P < 0.05$). The serum HO-1 level in AA type patients was higher than those in CC type and CA type patients in the radioactive pneumonia group (both $P < 0.05$), and the serum SOD level in AA type patients was higher than that in CC type patients ($P < 0.05$). **Conclusion** The NRF2 gene polymorphism has a certain relationship with radioactive lung injury, which may be associated with its regulatory effect on the antioxidant function in NSCLC patients with radioactive lung injury.

Key words: carcinoma, non-small-cell lung/pathology; NF-E2-related factor 2/genetics; polymorphism, genetic; radiation pneumonitis/etiology; superoxide dismutase; heme oxygenase (decyclizing)/genetics

肺癌是世界上最常见的恶性肿瘤之一,已成为我国城市人口恶性肿瘤死亡原因的第1位^[1]。非小细胞肺癌(non-small-cell lung cancer, NSCLC)约占所有肺癌的80%,约70%的患者在就诊时已属局部晚期或出现远处转移,失去手术治疗机会,放疗为不宜手术肺癌患者的重要治疗手段^[2-3]。放射性肺损伤是肺癌放疗的主要并发症之一,发生率高达15%~36%,直接影响放疗疗效及患者的生存质量^[4]。然而,生存状况和放射性损伤在不同的个体中差异较大,有研究指出基因变异是个体差异的根本原因^[5-7]。

大量研究表明,氧化应激在放射性肺损伤及纤维化形成中发挥着重要作用^[8-10],而核因子E2相关因子2(nuclear factor erythroid-2-related factor 2, NRF2)是细胞调节抗氧化应激和亲电性应激反应的重要转录因子^[11]。研究发现,NRF2-ARE信号通路介导内源性抗氧化应激调节,NRF2水平变化对调控肺内氧化/抗氧化平衡起重要作用。Marzec等^[12]在急性肺损伤小鼠模型中发现,NRF2及其下游所表达的抗氧化酶可以保护肺组织,减轻肺损伤。然而,在放射性肺损伤患者体内是否产生NRF2基因位点突变,这些突变能否成为未来预测放射性肺损伤发生的指标,目前尚不明确。

本研究拟通过Taqman探针技术检测所有NSCLC放疗治疗患者DNA中NRF2基因上单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)位点的表达。同时检测血清中血红素加氧酶1(heme oxygenase-1, HO-1)和血清超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)浓度。从分子水平上探讨NRF2基因多态性与放射性肺损伤的关系,揭示NRF2基因多态性与血清学指标HO-1和SOD之间的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2014年12月至2016年12月杭州医学院附属人民医院经病理或细胞学确诊的不可手术的NSCLC患者80例。其中男性43例,女性37例;年龄32~78岁,中位年龄64岁。所有NSCLC患者预期生存期>6个月,KPS评分>60分,并排除既往有胸部放疗史、行肺部手术和有严重慢性支气管炎、肺气肿、肺心病或其他严重疾病的患者。入组的NSCLC患者治疗前均进行常规病史采集、体格检查及血常规检查,并参照NCI CTCAE 3.0标准对放疗前呼吸道症状进行评分^[13]。该研究通过杭州医学院附属人民医院伦理委员会批准,所有患者均签署知情同意书。

1.2 放疗方案与分组

所有 NSCLC 患者均接受 6 MV X 线放疗 (varian600CD, 美国 Palo Alto 公司), 总剂量 60 ~ 70 Gy, 分次剂量 2 Gy, 5 d/周。采用三维适形调强放疗计划, 并采用 CT 模拟定位。放疗 20 次左右, 重复 CT 定位, 依据肿瘤大小重新勾画危及器官和临近器官, 制定新计划^[14-16]。治疗多采用 5 ~ 7 野共面照射技术, 双肺 V20 要求 < 30%, V30 要求 < 20%。根据患者一般状况和肺功能, NSCLC 患者接受放疗后分为放射性肺炎组和非放射性肺炎组, 各 40 例。

1.3 肺损伤评价

放疗过程中每周评价患者的肺损伤情况。治疗结束后 3 个月和 6 个月行胸部 CT 检查, 并根据 NCI

CTCAE 3.0 急性放射性肺损伤标准评价放射性肺损伤分级 (0 ~ 5 级)^[17-19]。评价须有 3 名中高级放疗专业医师共同完成。

1.4 NRF2 基因多态性的检测

抽取 NSCLC 患者外周静脉抗凝血 5 mL, 利用美国 Promega 公司的全基因组 DNA 提取试剂盒提取外周血基因组。查询 <http://www.hapmap.org> 人类基因组单体型数据库, 以明确中国汉族人群中 NRF2 基因的全部 SNP 位点, 并用 haploview 4.2.0.0 软件, 以最小等位基因频率 $\geq 5\%$, 两点间的 $R^2 \geq 0.8$ 标准进行筛选。PCR 操作过程在 ABI PRISM 7300 Sequence Detection System (美国 Applied Biosystems 公司) 完成。采用的 Taqman 探针序列见表 1。

表 1 探针序列和多态性分析条件

Table 1 Probe sequences and conditions for polymorphism analysis

SNP ID	序列	T _m	内切酶
NRF2 rs6721961	F 5'-GAAAGCCGTTGGTGTAGGAG-3' R 5'-GAATGGAGACACGTGGGAGT-3'	58℃	Ngo M IV
NRF2 rs718168	F 5'-AGTTTAGTGTCTCCCACTGT-3' R 5'-CTTAGTTTTCTGTATCCCT-3'	56℃	Rsa I
NRF2 rs35652124	F 5'-CCTTGCCTGCTTTTATCTC-3' R 5'-CTTCTCCGTTTGCCTTTGAC-3'	58℃	BseR I

注 SNP: 单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism); NRF2: 核因子 E2 相关因子 (nuclear factor erythroid-2-related factor 2); T_m: 溶解温度 (melting temperature); F: 正向引物; R: 反向引物

1.5 血清 HO-1 及 SOD 检测

放疗前、后抽取 NSCLC 患者外周静脉血 5 mL, 分离血清。采用分光光度计检测血清 HO-1 活性, 采用化学比色法测定血清 SOD 含量。

1.6 统计学分析

应用 SPSS 19.0 统计学软件进行数据处理。计数资料采用频数 (百分比) 表示, 组间比较采用 χ^2 检验。计量资料采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用 *t* 检验或方差分析。应用拟和优度 χ^2 检验计算基因型分布是否符合 Hardy-Weinburg (H-W) 平衡。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 总体情况

放射性肺炎组 40 例患者, 年龄 32 ~ 76 岁, 中位年龄 62 岁; 男性 22 例 (55.0%), 女性 18 例 (45.0%)。非放射性肺炎组 40 例, 年龄 39 ~ 78 岁, 中位年龄 64 岁; 男性 21 例 (52.5%), 女性 19 例 (47.5%)。两组在年龄、性别、吸烟史和病理分型方面比较, 差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$, 表 2)。

表 2 放射性肺炎组和非放射性肺炎组临床病理特征比较 (例, %)

Table 2 Comparison of clinicopathological features between the radiative pneumonia group and the non-radiative pneumonia group (case, %)

临床病理特征	放射性肺炎组	非放射性肺炎组	P 值
性别			0.72
男	22 (55.0)	21 (52.5)	
女	18 (45.0)	19 (47.5)	
年龄			0.16
< 45 岁	17 (42.5)	19 (47.5)	
≥ 45 岁	23 (57.5)	21 (52.5)	
吸烟史			0.33
有	14 (35.0)	16 (40.0)	
无	26 (65.0)	24 (60.0)	
病理类型			0.28
鳞癌	21 (52.5)	23 (57.5)	
腺癌	19 (47.5)	17 (42.5)	

2.2 NSCLC 放疗患者血清 HO-1 和 SOD 水平变化

NSCLC 患者放疗后血清 SOD 及 HO-1 水平均升高 [(228.8 \pm 40.5) $\mu\text{g/L}$ vs (180.6 \pm 30.4) $\mu\text{g/L}$, (9.47 \pm 1.05) ng/mL vs (4.83 \pm 1.23) ng/mL, 均 $P < 0.05$]。放疗后, 放射性肺炎组血清 SOD 及 HO-1 水平均高于非放射性肺炎组 [(255.3 \pm 60.2)

μg/L vs (210.8 ± 53.2) μg/L, (10.04 ± 2.33) ng/mL vs (7.83 ± 1.75) ng/mL, 均 $P < 0.05$]。

2.3 NRF2 基因多态性与 NSCLC 患者放射性肺损伤的相关性

NSCLC 患者中 3 个多态位点 NRF2 rs6721961、NRF2 rs718168 和 NRF2 rs3565212 的分布频率分别是 90.1%、42.3% 和 51.4%，3 个多态性位点的分布均符合 H-W 平衡分布 (均 $P > 0.05$)。选择分布

频率最高的 NRF2 rs6721961 基因型进行研究, 分析对比非放射性肺炎组与放射性肺炎组中 NRF2 rs6721961 基因型分布情况。两组 NRF2 rs6721961 位点 C 和 A 等位基因频率分布均符合 H-W 遗传平衡定律, 说明符合群体代表性。两组 NRF2 rs6721961 基因 AA 基因型比较, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), A 等位基因频率差异具有统计学意义 ($P < 0.05$, 表 3)。

表 3 非放射性肺炎组与放射性肺炎组 NRF2 rs6721961 基因型分布比较 (例, %)

Table 3 Comparison of genotype distribution of NRF2 rs6721961 in the radiative pneumonia group and the non-radiative pneumonia group (case, %)

基因型	放射性肺炎组	非放射性肺炎组	χ^2 值	P 值	OR(95% CI)
CC	9(22.5)	11(27.5)	7.142	0.061	0.542(0.324 ~ 0.754)
CA	12(30.0)	14(35.0)	3.245	0.076	0.520(0.372 ~ 0.83)
AA	16(40.0)	9(22.5)	8.947	0.031	0.718(0.490 ~ 1.326)
C	25(62.5)	27(67.5)	4.256	0.064	0.540(0.268 ~ 0.754)
A	32(80.0)	26(65.0)	9.872	0.016	0.780(0.540 ~ 1.537)

2.4 NRF2 基因不同基因型与 NSCLC 患者血清 HO-1 及 SOD 的相关性

与非放射性肺炎组比较, 放射性肺炎组各基因型血清 HO-1 及 SOD 水平均较高 (表 4)。放射性肺炎组 AA 型患者血清 HO-1 水平高于 CC 型与 CA 型 (均 $P < 0.05$), AA 型患者血清 SOD 水平高于 CC 型 ($P < 0.05$)。

大的威胁, 同时影响局部肿瘤的控制效果。放射性肺损伤常见的表现形式是急性放射性肺炎。典型的放射性肺炎一般发生在放疗期间或放疗后 1 ~ 3 个月, 发生肺组织充血、水肿和肺泡纤维蛋白渗出增多等, 其临床表现与一般肺炎几乎无特殊差别。

表 4 放射性肺炎组和非放射性肺炎组 NRF2 rs6721961 不同基因型血清指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of the serum indexes of NRF2 rs6721961 in the radiative pneumonia group and the non-radiative pneumonia group ($\bar{x} \pm s$)

指标	NRF2 rs6721961		
	CC	CA	AA
血清 HO-1 (ng/mL)			
放射性肺炎组	6.93 ± 1.57	7.81 ± 0.94	9.64 ± 1.63 **
非放射性肺炎组	6.02 ± 1.85 ^Δ	5.92 ± 1.55 ^Δ	6.72 ± 1.83 ^Δ
血清 SOD (μg/L)			
放射性肺炎组	224.9 ± 32.5	240.3 ± 45.2	248.3 ± 50.7 *
非放射性肺炎组	200.5 ± 44.2 ^Δ	215.7 ± 50.3 ^Δ	209.2 ± 47.2 ^Δ

注 HO-1: 血红素加氧酶 1 (Heme oxygenase-1); SOD: 超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase); * 与 CC 型比较, $P < 0.05$; # 与 CA 型比较, $P < 0.05$; ^Δ 与放射性肺炎组比较, $P < 0.05$

NRF2 是集体内氧化应激反应重要的转录活化因子, 在氧化应激反应中具有重要地位^[7]。NRF2 参与肺气肿小鼠肺内对抗体氧化应激过程^[8]。另外, NRF2 参与解毒途径、氧化和抗氧化多个基因如 HO-1 和 SOD 等的调控^[9-10]。HO-1 是一种至关重要的细胞保护蛋白, 可以被活化的 NRF2 激活。HO-1 被证实可以保护一些氧化相关的疾病如动脉粥样硬化、肾脏损伤与肺损伤^[11-13]。Marrot 等^[14] 研究发现, HO-1 在保护黑素细胞抵抗氧化应激中发挥重要作用。在对急性肺损伤疾病及胃炎这些氧化应激相关疾病中证实, 位于 NRF2 调控区的 NRF2 rs35652124 位点及 NRF2 rs6721961 位点的基因多态性与疾病易感性关联^[15], 提示 Nrf2 基因的多态性可能会影响 NRF2 功能和相关代谢基因的表达, 从而影响肺组织的抗氧化性, 增加肺损伤的风险。因此, 探讨 NRF2 基因多态性是否与 NSCLC 放射性肺损伤及其氧化应激状态有关具有一定的临床意义。

3 讨论

肺癌尤其是非小细胞肺癌患者行放疗常发生放射性肺损伤, 不仅对患者的预后及生活质量造成很

本研究从分子水平上探讨 NRF2 基因多态性与 NSCLC 患者放射性肺损伤、血清 HO-1 及 SOD 水平的关系。结果发现, NRF2 rs6721961、NRF2

rs718168 和 NRF2 rs3565212 多态位点在 NSCLC 患者分布均符合 H-W 遗传平衡定律,说明符合群体代表性。其中,NRF2 rs6721961 的分布频率最高,约为 90%,表明 NRF2 rs6721961 位点与 NSCLC 具有一定的相关性。因此,分析比较非放射性肺炎组与放射性肺炎组中 NRF2 rs6721961 位点不同基因型与血清中 HO-1 及 SOD 的活性水平的关系。结果显示,NRF2 rs6721961 位点各基因型 NSCLC 放射性肺炎患者血清 HO-1 及 SOD 水平均升高,但仅 AA 基因型差异具有统计学意义($P < 0.05$),表明 NRF2 单个基因型的变异可能通过调控下游靶基因 HO-1 及 SOD 的基因转录影响其蛋白质水平的变化。该结果表明,NRF2 基因多态性在一定程度上影响 NSCLC 放射性肺炎患者的氧化应激状态。

综上所述,本研究提示 NRF2 基因多态性与放射性肺损伤有一定的相关性,并对 NSCLC 放射性肺损伤患者肺内抗氧化功能具有调控作用,为放射性肺损伤的病因学研究提供指导依据,并为进一步分析 NRF2 基因多态性与 NSCLC 放射性肺损伤患者的预后情况奠定基础。

参考文献:

- [1] Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN. 2012 [J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(5): e359 - 386.
- [2] Huang Q, Xie F, Ouyang X. Predictive SNPs for radiation-induced damage in lung cancer patients with radiotherapy: a potential strategy to individualize treatment [J]. *Int J Biol Markers*, 2015, 30(1): 1 - 11.
- [3] Ettinger DS, Wood DE, Akerley W, et al. NCCN guidelines insights; non-small cell lung cancer, version 4. 2016 [J]. *J Nat Compr Cancer Netw*, 2016, 14(3): 255 - 264.
- [4] Andreassen CN, Alsner J, Overgaard J. Does variability in normal tissue reactions after radiotherapy have a genetic basis-where and how to look for it? [J]. *Radiother Oncol*, 2012, 64(1): 131 - 140.
- [5] 孙万良,游华,魏丽,等. 氧化应激在放射性肺损伤机制中的作用进展 [J]. *医学综述*, 2014, 20(4): 587 - 590.
- [6] 王祎. 急性放射性心脏损伤影响因素的相关研究 [D]. 石家庄:河北医科大学医学院, 2011.
- [7] 陈亚楠,左云,周芳,等. ERCC5 rs2296147 多态性与肺癌患者急性放射性肺炎的相关性研究 [J]. *实用肿瘤杂志*, 2016, 31(3): 255 - 262.
- [8] 刘仕鹏,邹绍静,赵建强,等. XRCC1 基因单核苷酸多态性与食管癌易感性的关系 [J]. *实用肿瘤杂志*, 2013, 28(3): 253 - 260.
- [9] 汪铁军,谢中华,郑元秀,等. CDA 基因 79 位点多态性预测吉西他滨治疗晚期难治性恶性肿瘤的疗效 [J]. *实用肿瘤杂志*, 2017, 32(3): 216 - 220.
- [10] Kensler TW, Wakabayashi N, Biswal S. Cell survival responses to environmental stresses via the Keap1-Nrf2-ARE pathway [J]. *Ann Rev Pharmacol Toxicol*, 2007, 47(1): 89 - 96.
- [11] 武红莉,叶青. 联合雾化吸入溴化异丙托品和沙丁胺醇对哮喘和慢性阻塞性肺病患者的肺功能及动脉血气的影响 [J]. *中国临床保健杂志*, 2009, 12(4): 352 - 354.
- [12] Marzec B, Monnette J. Antioxidant defense effects of an NRF2 ARE polymorphism on the activation of phase II enzymes [J]. *Physica A*, 2006, 368(2): 481 - 494.
- [13] 邱俏檬,郑金韬,南超,等. NRF2 基因启动子-617C/A 基因多态性对内毒素介导巨噬细胞炎症反应的影响 [J]. *中华医学杂志*, 2013, 93(14): 1114 - 1117.
- [14] Marrot L, Jones C, Perez P, et al. The significance of Nrf2 pathway in (photo)-oxidative stress response in melanocytes and keratinocytes of the human epidermis [J]. *Pigm Cell Res*, 2010, 21(1): 79 - 88.
- [15] Askenazi DJ, Halloran B, Patil N, et al. Genetic polymorphisms of heme-oxygenase 1 (HO-1) may impact on acute kidney injury, bronchopulmonary dysplasia, and mortality in premature infants [J]. *Pediatr Res*, 2015, 77(6): 793 - 798.
- [16] Luo Y, Sun G, Dong X, et al. Isorhamnetin attenuates atherosclerosis by inhibiting macrophage apoptosis via PI3K/AKT activation and HO-1 induction [J]. *PLoS One*, 2015, 10(3): e120259.
- [17] Song P, Li K, Liu L, et al. Genetic polymorphism of the Nrf2 promoter region is associated with vitiligo risk in Han Chinese populations [J]. *J Cell Mol Med*, 2016, 20(10): 1840 - 1850.
- [18] Tian Y, Liu Q, He X, et al. Emerging roles of Nrf2 signal in non-small cell lung cancer [J]. *J Hematol Oncol*, 2016, 9(1): 14 - 20.
- [19] Ishika W, Toshihi S. Genetic polymorphism in the NRF2 gene as a prognosis marker for cancer chemotherapy [J]. *Front Genet*, 2014, 5(1): 383 - 388.