

· 综 述 ·

硫化氢在炎症反应中的作用研究进展

饶春燕¹, 乐湘华²综述, 赵晓晏¹校审

(1. 第三军医大学新桥医院消化内科, 重庆 400037; 2. 中国人民解放军 75556 部队, 海口 571147)

关键词: 硫化氢; 过氧化物酶; 炎症; 胱硫醚- γ 裂解酶

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.06.037

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)06-0609-03

硫化氢(H_2S)对有机体的毒性早在 300 多年前即被人们发现, 至今, 它仍被认为是一种有毒的环境污染气体, 即使微小的剂量也能导致明显的病理生理作用^[1]。 H_2S 是一种小分子质量脂溶性的气体分子, 可以自由渗透入细胞膜发挥生物效应, 因此, 其毒性作用范围广, 可影响肺、脑、肾等多种器官功能^[2]。

1 H_2S 的合成、代谢及生理作用

现在已经证实, 哺乳动物体内可通过激活 5'-磷酸吡哆醛依赖性酶: 胱硫醚- γ 裂解酶 (cystathionine γ -lyase, CSE, EC 4.4.1.1) 和胱硫醚- β 合成酶 (cystathionine β -synthase, CBS, EC 4.2.1.22), 以 L-半胱氨酸为底物生成 H_2S ^[3]。 H_2S 对这些酶也有负反馈调节作用, 其他酶也能在体内合成少量 H_2S , 但至今没有更多的深入研究。大多数 CBS 存在于中枢神经系统中, 而外周组织中 CSE 活性较高, 尤其是肝、肾及血管。大鼠体内不同血管组织将外源性半胱氨酸合成 H_2S 的能力分级为尾动脉大于主动脉, 主动脉大于肠系膜动脉^[4]。但是在血管组织中合成 H_2S 的部位尚有争议, 有人认为是在内皮细胞, 而有人却认为是在平滑肌细胞。 H_2S 是有效的血管扩张剂^[3,5]。近年来越来越多的证据显示, H_2S 有广泛的病理生理作用, 然而许多机制尚不十分清楚。例如: H_2S 使血管平滑肌细胞、胃肠道平滑肌细胞、心肌细胞、神经元及胰腺 β 细胞的 K^+ ATP 通道处于开放状态, 从而调节血管、胃肠道、心肌收缩, 神经传递和胰岛素分泌^[3,5]。在神经系统中, H_2S 通过提高 N-甲基-D-门冬氨酸 (NMDA) 受体对谷氨酸的敏感性来诱导海马的长时程增强 (LTP)^[3,5]。此外, H_2S 能清除活性氮类物质 (RNS)、过氧化亚硝酸盐、氧自由基及脂类的过氧化反应, 从而形成对心血管和神经系统的保护作用。 H_2S 在体内可能有 2 种存在形式: 1/3 以气体 H_2S 形式存在, 2/3 以 NaHS 形式存在, 大鼠和人的血浆中大约含有 50 μmol H_2S 。

H_2S 在体内是通过在线粒体内被氧化或在细胞质内甲基化而代谢, 它也能被高铁血红蛋白^[2,6]、含有二硫化物的分子 (如被氧化的谷胱甘肽)^[7] 清除。某些酶也可使 H_2S 与血红蛋白结合生成 S-血红蛋白而从组织中清除, 但 H_2S 主要通过肾脏排出体外^[6]。因此, 平时所测到的血浆、组织中的 H_2S 浓度低于内源性合成 H_2S 的浓度。

2 H_2S 的促炎作用

迄今为止, 很多学者通过局部水肿、胰腺炎、败血症等动物模型研究认为 H_2S 在体内具有促炎作用。吸入大量 H_2S 气体可导致以支气管肺泡内大量嗜酸性液体渗出为特征的肺水肿^[8]。在角叉藻聚糖引起的爪子水肿模型中, 水肿组织中可检测到 H_2S 的合成明显增加, 给予 CSE 抑制剂 DL-炔丙基甘氨酸

(DL-propargylglycine, PAG) 后可抑制爪子水肿程度, 但与剂量相关, 同时还可降低组织中髓过氧化物酶 (MPO) 活性^[9]。参与该反应的机制目前尚未明确, 但可能与 H_2S 引起的血管舒张作用有关。由雨蛙肽诱导的急性胰腺炎 (AP) 模型中, 血浆 H_2S 水平升高, 预防性或治疗性给予 PAG 可显著降低血浆中 H_2S 浓度、胰腺组织中 CSE mRNA 表达、胰腺和肺组织的损伤程度^[10]、胰腺和肺组织中单核细胞趋化蛋白 (MCP)-1、单核细胞炎性蛋白 (MIP)-1 α 及 MIP-2 表达水平^[11], 同时还可检测到血浆、胰腺及肺组织中 p 物质 (SP) 浓度、前速激肽原 (PPT)-A mRNA 及神经激肽-1 受体 (NK-1R) mRNA 也明显降低, 可见在 AP 时, H_2S 可能会通过上调趋化因子的表达^[11] 或由 SP-NK-1R 介导的通路发挥促炎作用^[12]。用 10^{-7} M 雨蛙肽在 37 $^{\circ}\text{C}$ 环境温度下体外孵育胰腺腺泡细胞 60 min 后, 以及给予外源性 H_2S 载体 100 μM NaHS 后可发现丝氨酸家族激酶 (SFKs) 磷酸化、I κ B α 降解、NF- κ B 结合力、ICAM-1 及组织中 MPO 的活性均显著增加, 给予 PAG 或 SFKs 抑制剂 PP2 后, 抑制了 SFKs 磷酸化、I κ B α 降解、NF- κ B 结合力、ICAM-1 及组织中 MPO 的活性, 而给予 I κ B α 不可逆阻滞剂 BAY11-7082 后, NF- κ B 结合力及 ICAM-1 的表达降低, 并且给予抗 ICAM-1 抗体后 MPO 活性降低, 中性粒细胞转移减少。因此, 认为 H_2S 可以通过 SFKs-NF- κ B-ICAM-1 通路使 MPO 活性升高、中性粒细胞移动增加, 从而发挥着促炎作用^[13]。

Hui 等^[14] 第 1 次提出, 盲肠结扎穿孔法 (CLP) 引起的大鼠败血症休克时组织产生 H_2S 增多, 后来研究也证实 H_2S 在该模型中是一种炎症介质^[15]。CLP 引起的败血症组与假手术组相比, 血浆和组织中产生的 H_2S 明显增加, 尤其是肝脏中 CSE mRNA 水平上调明显; 另一方面, 预防性或治疗性给予 PAG 可降低 MPO 活性和组织损伤程度。向大鼠体内注射 NaHS 可显著加重败血症引起的系统性炎症。Zhang 等^[16] 认为 H_2S 通过激活 NF- κ B 上调炎症介质的产生并加重炎症反应。预防性或治疗性给予 PAG 能明显降低肺和肝中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、MCP-1 (CCL-2)、MIP-2 (CXCL-1) mRNA 及蛋白的表达水平, 并减少核转移、降低 NF- κ B 的活性; 抑制 H_2S 的产生可降低肺组织渗出和血浆中 ALT 的水平; 而向大鼠体内注射 NaHS 可明显加重炎症反应, 增强 NF- κ B 的活性。此外, NF- κ B 的阻滞剂 BAY11-7082 可抑制 H_2S 引起的肺损伤。另一项研究通过活体显微镜观察发现, 败血症时预防性或治疗性给予 PAG 后肠系膜小静脉中白细胞滚动、黏附明显减少, 同时, 肝、肺组织中黏附分子 (ICAM-1, P-选择蛋白和 E-选择蛋白) mRNA 和蛋白表达水平也降低了; 给予 NaHS 可提高肺组织中黏附分子和中性粒细胞浸润的水平, 然而, 这种变化可被 BAY

11-7082 逆转;并且, H₂S 处理后的大鼠中性粒细胞中 CXCR2 的表达明显上调, 这导致 MIP-2 直接迁移水平升高^[17]。更近的研究表明, H₂S 在多种微生物引起的败血症时通过激活细胞外信号调节激酶——NF-κB 通路调节炎症反应。在 CLP 处理大鼠后 4 h, 肝和肺组织中 ERK1/2 磷酸化活性、IκBα 降解程度达到最大, 且出现 NF-κB; 给予 PAG 抑制 H₂S 的生成, 降低了肝和肺组织中 ERK1/2 磷酸化活性、IκBα 降解程度及 NF-κB 活性, 减少细胞因子和趋化因子的产生, 但是给予 NaHS 却能进一步激活肝和肺中的 ERK1/2, 从而提高 NF-κB 的活性; 给予 MEK-1 阻滞剂 PD98059 后不仅抑制 NF-κB 的激活, 减少炎症介质的产生, 而且阻断了 NaHS 引起的 NF-κB 激活扩大、炎症因子、趋化因子产生增加的作用^[18]。由脂多糖引起的内毒素血症时也可观察到 H₂S 具有上述同样的促炎作用^[19]。

不仅在动物模型中, NaHS 作用于 IFN-γ 处理的人单核细胞系 U937 后, 明显增加 TNF-α、IL-1β 及 IL-6 的表达, 促进单核细胞表面 CD11b 表达, 诱发 IκBα 快速降解并随后激活 NF-κBp65, 而这种作用可被 NF-κB 的特异性抑制剂 Bay11-7082 减弱, 可见 H₂S 通过 ERK-NF-κB 信号通路激活人类单核细胞产生促炎因子^[20]。

3 H₂S 的抗炎作用

白细胞黏附和血浆渗出是炎症反应的重要标志。戴鸿雁等^[21]研究气体信号分子 H₂S 在脂多糖诱导大鼠肺急性炎症反应中的作用时发现, H₂S 具有明显地抑制肺内中性粒细胞聚集、减轻 LPS 引起的肺水肿和肺毛细血管通透性增高炎症反应的作用, 而且能有效地减少脂质过氧化物丙二醛 (MDA) 的产生, 可见 H₂S 在炎症发生早期具有抗炎、抗氧化性损伤的作用。给予 PAG 抑制大鼠体内产生 H₂S, 黏附于肠系膜小静脉内皮细胞的白细胞明显增加, PAG 还能加剧角叉藻聚糖在大鼠气囊中诱导的中性粒细胞浸润和爪子水肿程度^[22]。不仅如此, H₂S 供体 (NaHS、Na₂S) 也可有效抑制促炎肽甲酰甲硫氨酸-亮氨酸-苯丙氨酸 (FMLP) 表面灌流大鼠肠系膜小静脉引起的白细胞黏附^[22], 而这种抑制效应可被 K⁺ ATP 通道阻断剂格列本脲逆转, 提示 H₂S 的抗炎作用可能与 K⁺ ATP 通道有关。

不仅如此, H₂S 还可通过调节细胞因子及趋化因子产生抗炎作用。H₂S 供体能抑制由阿司匹林引起的白细胞黏附及黏附分子 (LFA-1、ICAM-1) 在白细胞和内皮细胞的表达上调, 但与剂量有关^[23]。Li 等^[24]发现 H₂S 供体能显著减少中性粒细胞在肝、肺组织中的聚集。大鼠尾静脉注射油酸诱导的急性肺损伤模型中, 给予 NaHS 可增加 PaO₂ 水平, 降低肺湿干比和多形核白细胞 (PMN) 浸润, 并减轻肺损伤程度; 同时, 降低血浆和肺组织中 IL-6 和 IL-8 水平, 增加 IL-10 水平, 因此认为 H₂S 通过调节 IL-6、IL-8 和 IL-10 而起着抑制炎症反应的作用^[25]。用鸡蛋清诱导的大鼠哮喘模型肺组织中 H₂S 浓度、CES 活性及蛋白表达与正常肺组织相比明显降低, 而诱生型一氧化氮合酶 (iNOS) 蛋白表达和活性均增高; 给予 NaHS 后气道炎症及重塑有所减轻, 最大呼气量 (PEF) 增加, 杯型细胞增生及胶原沉着程度降低, 支气管肺泡灌洗液 (BALF) 中细胞总数、嗜酸性粒细胞及中性粒细胞均减少, 肺组织中 iNOS 蛋白表达未见明显变化, 活性却明显下降^[26], 可见 H₂S 起着抗炎作用, 该作用与 iNOS 活性减低有关。雨蛙肽诱导的 AP 可

引起胰腺和肺组织中 MPO 活性明显增强, 预防性或治疗性给予释放 H₂S 的二氯芬酸衍生物 ACS15 能显著降低肺组织中 MPO 活性, 但对胰腺中 MPO 没有影响, 形态学也显示肺组织切片肺泡增厚及中性粒细胞浸润程度明显降低, 胰腺组织切片也没有明显变化; 但给以同样剂量的二氯芬酸却没有上述变化, 可见 ACS15 显著减轻胰腺炎引起的相关肺损伤^[27]的作用与 H₂S 有关。释放 H₂S 的 5-氨基水杨酸衍生物 ATB-429 也能减轻小鼠结肠炎模型中的白细胞渗出^[28]。用雨蛙肽体外孵育胰腺腺泡细胞可发现蛋白激酶 B (AKT) 磷酸化减少、IκBα 降解增加、NF-κB 活性、TNF-α、IL-1β 表达均升高, 给予孵育后的胰腺腺泡细胞 5 μM NaHS 后, 可检测到 AKT 磷酸化增加、IκBα 降解减少、NF-κB 活性、TNF-α、IL-1β 表达均降低, 而给予 PI3K/AKT 抑制剂 LY294002 后可发现外源性 H₂S 的上述作用。因此证明, PI3K 在 NaHS 处理后的腺泡细胞中起着负调节作用, 以及 H₂S 通过 PI3K/AKT-NF-κB 通路引起 TNF-α、IL-1β 表达下降, 从而起着抗炎作用^[29]。

在缺血再灌注损伤动物模型中, 给予 NaHS 可明显降低组织损伤程度, 减少再灌注组织中丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 磷酸化, 并激活 NF-κB, 降低 Caspase-3 活化水平^[30-31], 减弱抗凋亡基因 Bcl-2 和 NF-κB 依赖蛋白 (iNOS、COX2、ICAM-1) 的表达^[30], PAG 则能加剧上述反应。可见 H₂S 可能通过 MAPK-NF-κB 信号通路起保护性作用, 但该机制尚未在其他动物模型中证实。

总之, 大量证据显示内源性或外源性 H₂S 均能产生广泛的促炎或抗炎作用, 可能是由于动物模型不同, 各组织器官或细胞对 H₂S 的反应不一, 产生 H₂S 的量及浓度不同, 致使其产生的生物学效应不同。但 H₂S 在全身多系统中的病理生理功能揭示了某些疾病未知的发病机制, 并提出了新的治疗途径, 具有广阔的研究前景和应用价值。

参考文献:

- [1] US National Research Council, Subcommittee on Hydrogen Sulfide, Division of Medical Sciences. Hydrogen Sulfide[M]. Baltimore MD: University Park Press, 1979.
- [2] Beauchamp RO, Bus JS, Popp JA, et al. A critical review of the literature on hydrogen sulfide toxicity[J]. CRC Crit Rev Toxicol, 1984, 13(1): 25-97.
- [3] Moore PK, Bhatia M, Mochhala S. Hydrogen sulfide: from the smell of the past to the mediator of the future [J]. Trends Pharmacol Sci, 2003, 24(12): 609-611.
- [4] Zhao W, Wang R. H₂S-induced vasorelaxation and underlying cellular and molecular mechanisms[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2002, 283(2): H474-480.
- [5] Bhatia M. Hydrogen sulfide as a vasodilator[J]. IUBMB Life, 2005, 57(9): 603-606.
- [6] Wang R. The gasotransmitter role of hydrogen sulfide [J]. Antioxid Redox Signal, 2003, 5(4): 493-501.
- [7] Smith RP, Abbanat RA. Protective effect of oxidized glutathione on acute sulfide poisoning [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 1966, 9(2): 209-217.
- [8] Lopez A, Prior MG, Reiffenstein RJ, et al. Percutaneous effects of inhaled hydrogen sulfide and injected sodium

- hydrosulfide on the lungs of rats[J]. *Fundam Appl Toxicol*, 1989, 12(2):367-373.
- [9] Bhatia M, Sidhapuriwala J, Moochhala SM, et al. Hydrogen sulphide is a mediator of carrageenan-induced hind-paw oedema in the rat[J]. *Br J Pharmacol*, 2005, 145(2): 141-144.
- [10] Bhatia M, Wong FL, Fu D, et al. Role of hydrogen sulfide in acute pancreatitis and associated lung injury [J]. *FASEB J*, 2005, 19(6):623-625.
- [11] Tamizhselvi R, Moore PK, Bhatia M. Inhibition of hydrogen sulfide synthesis attenuates chemokine production and protects mice against acute pancreatitis and associated lung injury[J]. *Pancreas*, 2008, 36(4):24-31.
- [12] Madhav B, Jenab S, Wei NG, et al. Pro-inflammatory effects of hydrogen sulphide on substance P in caerulein-induced acute pancreatitis[J]. *J Cell Mol Med*, 2008, 12(2):580-590.
- [13] Tamizhselvi R, Koh YH, Suna J, et al. Hydrogen sulfide induces ICAM-1 expression and neutrophil adhesion to caerulein-treated pancreatic acinar cells through NF- κ B and Src-family kinases pathway[J]. *Exp Cell Res*, 2010, 316(9):1625-1636.
- [14] Hui Y, Du J, Tang C, et al. Changes in arterial hydrogen sulfide (H₂S) content during septic shock and endotoxic shock in rats[J]. *J Infect*, 2003, 47(2):155-160.
- [15] Zhang H, Zhi L, Moore PK, et al. Role of hydrogen sulfide in cecal ligation and puncture-induced sepsis in the mouse[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2006, 290(6):L1193-1201.
- [16] Zhang H, Zhi L, Moochhala S, et al. Hydrogen sulfide acts as an inflammatory mediator in cecal ligation and puncture-induced sepsis in mice by upregulating the production of cytokines and chemokines via NF-kappaB[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2007, 292(4): L960-971.
- [17] Zhang H, Zhi L, Moochhala SM, et al. Endogenous hydrogen sulfide regulates leukocyte trafficking in cecal ligation and puncture-induced sepsis[J]. *J Leukoc Biol*, 2007, 82(4):894-905.
- [18] Zhang H, Moochhala SM, Bhatia M. Endogenous hydrogen sulfide regulates inflammatory response by activating the ERK pathway in polymicrobial sepsis[J]. *J Immunol*, 2008, 181(6):4320-4331.
- [19] Li L, Bhatia M, Zhu YZ, et al. Hydrogen sulfide is a novel mediator of lipopolysaccharide-induced inflammation in the mouse[J]. *FASEB J*, 2005, 19(9):1196-1198.
- [20] Zhi L, Ang AD, Zhang H, et al. Hydrogen sulfide induces the synthesis of pro-inflammatory cytokines in human monocyte cell line U937 via ERK-NF- κ B pathway[J]. *J Leuk Biol*, 2007, 81(5):1322-1332.
- [21] 戴鸿雁, 凌亦凌, 黄新莉, 等. 硫化氢在内毒素血症大鼠动脉舒张反应性改变中的作用及其与一氧化氮的关系[J]. *河北医科大学学报*, 2004, 25(6):355.
- [22] Renata C, Zanardo O, Brancaleone V, et al. Hydrogen sulfide is an endogenous modulator of leukocyte-mediated inflammation[J]. *FASEB J*, 2006, 20(12):1411-1418.
- [23] Fiorucci S, Antonelli E, Distrutti E, et al. Inhibition of hydrogen sulfide generation contributes to gastric injury caused by anti-inflammatory nonsteroidal drugs[J]. *Gastroenterology*, 2005, 129(4):1210-1224.
- [24] Li L, Rossoni G, Sparatore A, et al. Anti-inflammatory and gastrointestinal effects of a novel diclofenac derivative[J]. *Free Radic Biol Med*, 2007, 42(5):706-719.
- [25] Li T, Zhao B, Wang C, et al. Regulatory effects of hydrogen sulfide on IL-6, IL-8 and IL-10 levels in the plasma and pulmonary tissue of rats with acute lung injury[J]. *Exp Biol Med*, 2008, 233(9):1081-1087.
- [26] Chen YH, Wu R, Geng B, et al. Endogenous hydrogen sulfide reduces airway inflammation and remodeling in a rat model of asthma[J]. *Cytokine*, 2009, 45(2):117-123.
- [27] Bhatia M, Sidhapuriwala JN, Sparatore A, et al. Treatment with H₂S-releasing diclofenac protects mice against acute pancreatitis-associated lung injury[J]. *Shock*, 2008, 29(1):84-88.
- [28] Fiorucci S, Orlandi S, Mencarelli A, et al. Enhanced activity of a hydrogen sulphidereleasing derivative of mesalamine (ATB-429) in a mouse model of colitis[J]. *Br J Pharmacol*, 2007, 150(8):996-1002.
- [29] Tamizhselvi R, Sun J, Koh YH, et al. Effect of hydrogen sulfide on the phosphatidylinositol 3-kinase-protein kinase B pathway and on caerulein-induced cytokine production in isolated mouse pancreatic acinar cells[J]. *JPET*, 2009, 329(3):1166-1178.
- [30] Tripatara P, Pate NSA, Collino M. Generation of endogenous hydrogen sulfide by cystathionine γ -lyase limits renal ischemia/reperfusion injury and dysfunction[J]. *Lab Invest*, 2008, 88(10):1038-1048.
- [31] Kang K, Zhao MY, Jiang HC. Role of hydrogen sulfide in hepatic ischemia-reperfusion-Induced Injury In Rats[J]. *Liver Transplantation*, 2009, 15(10):1306-1314.