

DOI: 10.13376/j.cbls/2018061

文章编号: 1004-0374(2018)05-0517-09

硫化氢在多种生理过程中作用的研究进展

陆丹¹, 李涛¹, 吴东栋^{2*}, 段少峰³, 姬新颖^{1*}

(1 河南大学基础医学院细胞与分子免疫学医学重点实验室, 开封 475004; 2 河南大学基础医学院生理学教研室, 开封 475004; 3 河南大学药学院创新药物设计与评价研究所, 开封 475004)

摘要: 硫化氢 (hydrogen sulfide, H₂S) 已被认为是继一氧化氮和一氧化碳之后的第三种气体信号分子, 广泛参与机体的生理与病理过程。现总结 H₂S 的合成、代谢、检测、在疾病中的作用及其相关供体, 以为临床研究和治疗提供新思路。

关键词: 硫化氢; 气体信号分子; 供体; 生理过程

中图分类号: R363; TQ125.12 **文献标志码:** A

Research progress of the role of hydrogen sulfide in various physiological processes

LU Dan¹, LI Tao¹, WU Dong-Dong^{2*}, DUAN Shao-Feng³, JI Xin-Ying^{1*}

(1 Henan Provincial Key Lab for Cellular and Molecular Immunology, Basic Medical School of Henan University, Kaifeng 475004, China; 2 Department of Physiology, Basic Medical School of Henan University, Kaifeng 475004, China; 3 Institute of Innovative Drug Design and Evaluation, School of Pharmacy, Henan University, Kaifeng 475004, China)

Abstract: Hydrogen sulfide has been considered as the third gaseous signaling molecule after nitric oxide and carbon monoxide, and is widely involved in the physiological and pathological processes. In this article, we summarize the synthesis, metabolism, and detection of H₂S, the role of H₂S in diseases and its related donors in order to provide new ideas for clinical research and treatment.

Key words: hydrogen sulfide; gaseous signaling molecule; donor; physiological process

硫化氢 (hydrogen sulfide, H₂S) 长期以来被认为是一种具有臭鸡蛋味, 在高浓度 (>0.05%) 下可引起人类死亡的无色、有毒的气体^[1]。1996年, Abe和Kimura^[2]首先提出生理剂量的H₂S是神经元的内源性调节剂, 由此打开了对H₂S深入研究的大门, 其功能也逐渐被揭晓。目前, H₂S已被认为是一种新的内源性气体信号分子^[3], 参与机体多个系统的生理病理调节, 如神经系统、心血管系统、呼吸系统、泌尿系统等^[4]。许多研究已证明H₂S具有抗炎^[5]、抗肿瘤^[6]、调节离子通道^[7]、保护心血管^[8]及抗氧化等作用^[9]。本文总结了H₂S的合成、代谢、检测、在疾病中的作用及其相关供体, 以为临床研究和治疗提供新思路。

1 H₂S的合成与代谢

1.1 合成

内源性H₂S可通过酶促反应途径或非酶促反应途径生成, 在哺乳动物体内主要为酶促反应途径。以L-半胱氨酸或L-半胱氨酸及同型半胱氨酸为底物, 在两种吡哆醛-5'-磷酸盐 (pyridoxal-5'-phosphate, PLP) 依赖性酶, 即胱硫醚-β-合成酶 (cystathionine-β-synthetase, CBS) 和胱硫醚-γ-裂解酶 (cystathionine-

收稿日期: 2018-01-06; 修回日期: 2018-02-09

基金项目: 国家自然科学基金科学基金项目(81670088, 81771307)

*通信作者: E-mail: ddwubiomed2010@163.com (吴东栋); jixinyign@yahoo.com (姬新颖)

γ -lyase, CSE) 的催化下与丝氨酸结合生成胱硫醚, 而后分解为半胱氨酸、 α -丙酮酸和 H_2S 。与 CBS 和 CSE 不同, 3-巯基丙酮酸硫基转移酶 (3-mercaptopyruvate sulphurtransferase, 3-MST) 和半胱氨酸氨基转移酶 (cysteine aminotransferase, CAT) 为非 PLP 依赖性酶, 3-MST 以 3-巯基丙酮酸 (3-mercaptopyruvate, 3MP) 为底物生成 H_2S , 而 3MP 是半胱氨酸和 CAT 的代谢物^[10-11]。以上几种酶的表达具有特异性, CBS 主要表达于神经系统和肝脏^[2]; CSE 主要表达于心血管系统, 在肝脏、肾脏、子宫、胎盘、胰岛等器官中也均有表达^[5,12]; 3-MST 和 CAT 主要在中枢神经系统中表达, 包括胶质细胞、海马锥体神经元、小脑浦肯野细胞和嗅球中的二尖瓣细胞^[11,13]。此外, 2013 年, Shibuya 等^[14]研究表明, 3-MST 和 D-氨基酸氧化酶 (D-amino acid oxidase, DAO) 在脑和肾中也参与了内源性 H_2S 的生成。

1.2 代谢

H_2S 在体液中相对稳定, 主要通过以下几种途径进行代谢: (1) H_2S 分解代谢的主要途径发生在线粒体中, 经醌氧化还原酶、S-双加氧酶和 S-转移酶氧化修饰将 H_2S 转化成硫代硫酸盐, 之后由氰化物硫转移酶催化进一步转化为亚硫酸盐, 最终亚硫酸盐氧化酶在肝、肾中将亚硫酸盐氧化成硫酸盐而经尿排出^[11]; (2) 在细胞质中, 通过硫醇 S-甲基转移酶催化的甲基化反应产生甲硫醇和二甲硫

醚; (3) 与高铁血红蛋白结合生成含硫血红蛋白而降解^[15]。这 3 种途径被认为是哺乳动物 H_2S 分解代谢的主要途径。另外, 还有少量 H_2S 以气体形式由呼气排出^[16]。

2 H_2S 的检测

检测 H_2S 的方法包括比色亚甲基蓝法、离子选择性、气相色谱法、电感耦合等离子体原子发射光谱法、火焰光度法、单溴代甲烷测定法 (MBB) 及各种荧光探针法等^[5]。 H_2S 的水平因检测方法的不同而有较大差异, 如用亚甲基蓝法测定小鼠血浆 H_2S 浓度为 $40 \mu\text{mol/L}$, 随后用 MBB 重复测定则为 $1.6 \mu\text{mol/L}$ ^[17]。但也有研究报道, 用 MBB 法测定的人类和小鼠血浆中游离 H_2S 水平范围为 $0.2\sim 0.8 \mu\text{mol/L}$ ^[18], 气相色谱结合质谱技术测定的猪和小鼠血液中 H_2S 的水平范围为 $0.5\sim 2.5 \mu\text{mol/L}$ 。目前, 对 H_2S 在血液或组织中的浓度还没有达成共识, 且 H_2S 测量最可靠的技术方法也尚未统一, 有待进一步研究^[19]。

3 H_2S 与相关疾病的研究

H_2S 在机体内处于相对平衡状态, 其异常增加或减少会导致多种疾病的发生发展。与 H_2S 代谢异常相关的疾病包括神经系统、心血管系统、消化系统及泌尿系统等疾病 (图 1)。

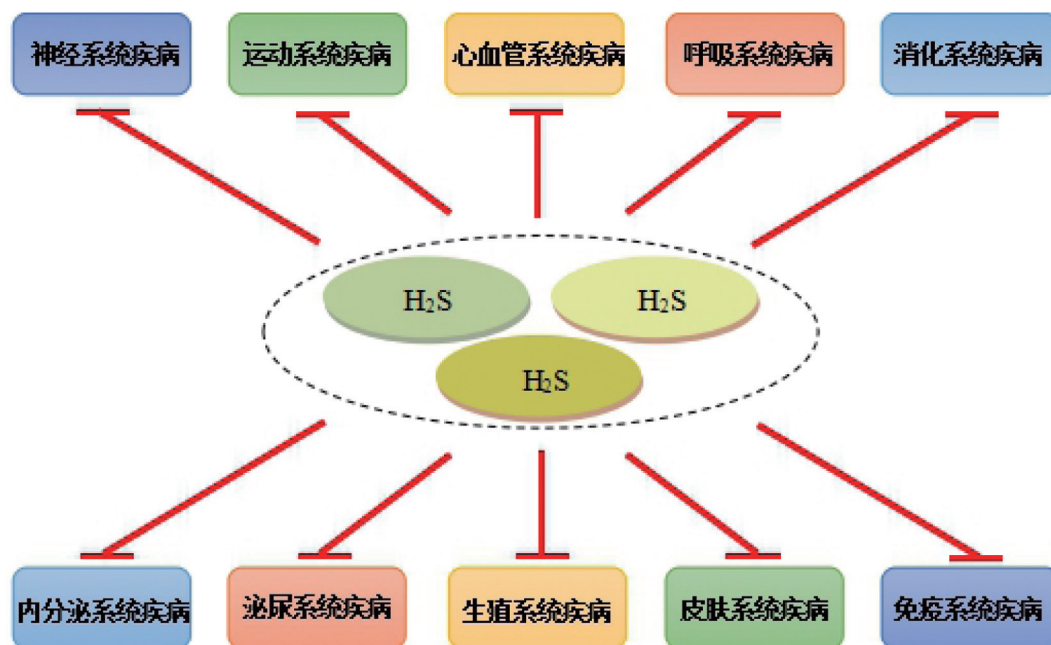


图1 硫化氢在各系统中的作用示意图

3.1 H₂S与神经系统

阿尔兹海默病 (Alzheimer disease, AD) 是慢性进行性中枢神经系统退行性病变,其主要病理变化是β淀粉样蛋白(Aβ)的形成、神经纤维缠结和神经元的丢失。研究发现,AD患者大脑中内源性H₂S的生成明显减少^[20],外源性H₂S的应用能够明显逆转Aβ₂₅₋₃₅引起的PC12细胞的凋亡^[21],这说明H₂S与AD的发生发展可能存在某些联系。在缺血性血管性痴呆的大鼠模型中,血浆H₂S水平降低,海马神经元数量减少。腹腔注射H₂S供体NaHS(14 μmol/kg)后神经元丢失减少,并改善了大鼠的学习和记忆能力^[22]。另有研究显示,在帕金森病(Parkinson's disease, PD)的进展中内源性H₂S的产生也逐渐减少。与假手术组相比,在6-羟基多巴胺(6-hydroxydopamine, 6-OHDA)诱导的PD大鼠模型中,纹状体内H₂S的含量明显降低,而H₂S治疗后能明显逆转PD的进展,减少黑质区域多巴胺分泌神经元的凋亡^[23],改善大鼠的运动功能^[24]。细胞水平的研究结果与此一致,当给予H₂S治疗后,由6-OHDA、1-甲基-4-苯基吡啶离子和鱼藤酮等毒素诱导的神经元细胞凋亡率明显降低,表明H₂S在PD中发挥着积极的抗凋亡作用^[25]。此外,脂多糖(LPS)处理小胶质细胞后,H₂S明显抑制了NO的释放和TNF-α的合成^[26]。亨廷顿病(Huntington disease, HD)是一种显性遗传性神经系统疾病,与编码亨廷顿蛋白的基因突变有关,导致突变型的多聚谷氨酰胺重复扩增,从而引起氧化应激、神经毒性以及运动行为改变。突变亨廷顿蛋白引起神经退化的特定分子机制目前还不确定,但在亨廷顿病组织中发现有CSE的缺失,这种缺失可能是由于突变亨廷顿蛋白与转录激活物特异性蛋白-1的结合降低了其活性,从而导致CSE水平的降低,而补充半胱氨酸逆转了亨廷顿病组织培养物及小鼠模型中的异常^[27-28]。以上结果均表明,H₂S参与中枢神经系统的调节,对痴呆的延缓与治疗有巨大价值。但关于H₂S与周围神经系统疾病的研究鲜有报道,尚且需要进一步的研究与探讨。

3.2 H₂S与运动系统

骨质疏松症是一种以骨质丢失、骨微观结构破坏而导致脆性增加为特征的年龄相关性骨骼疾病。骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)是骨组织工程中骨修复的种子细胞^[29]。骨髓间充质干细胞能够产生H₂S以维持其自我更新和成骨分化,H₂S缺乏可导致MSC分化障碍。动物实验表明,

H₂S缺乏的小鼠表现出骨质疏松体征,并可以通过补充H₂S而恢复,这表明H₂S调节MSC,并可能为H₂S缺陷引起的骨质疏松症等疾病提供治疗^[30]。还有研究发现,CSE促进原代成骨细胞中内源性H₂S的合成。过表达CSE促进了成骨细胞的分化和成熟,增加了骨形态发生蛋白2和骨桥蛋白的表达以及钙结节的形成,敲除CSE后效果相反;同时,成骨细胞发挥生物学效应需要与Runt相关的转录因子2(recombinant runt related transcription factor 2, RUNX2)的参与,而CSE可以增加核RUNX2的积累、DNA结合活性和靶基因转录。在骨折大鼠模型中,过表达CSE表现出骨愈合能力的增强^[31]。

脊髓损伤可致骨丢失,给予脊髓损伤模型大鼠H₂S治疗后,其股骨和胫骨骨矿物质密度、矿物结合率、骨形成率和成骨细胞表面明显增加,胫骨近端侵蚀表面和破骨细胞表面减少;血清和股骨中丙二醛(malondialdehyde, MDA)水平降低,基质金属蛋白酶9(matrix metalloproteinase 9, MMP9)活性降低,而股骨中Wnt3a、Wnt6、Wnt10和ctnbl1的表达上调。这些数据表明,H₂S可能通过减少氧化应激、抑制金属蛋白酶活性和激活Wnt/β-连环蛋白信号通路来减轻脊髓损伤引起的骨丢失^[32]。

类风湿关节炎和骨关节炎是一种以持续性炎症和关节破坏为特征的风湿性疾病。研究显示,H₂S在急性关节炎体内、体外模型中均表现出抗炎、抗分解代谢和抗氧化作用^[33]。另外,骨骼肌可以合成和释放H₂S,缺血-再灌注(ischemia-reperfusion, I-R)骨骼肌损伤大鼠骨骼肌内源H₂S的合成和释放均降低。H₂S可以保护大鼠骨骼肌免受I-R损伤,降低MDA、过氧化氢和超氧化物阴离子水平,上调超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)的活性和蛋白的表达,这说明H₂S在骨骼肌中起抗氧化作用^[34]。以上实验说明,H₂S在骨、骨关节和骨骼肌中均发挥着重要的生理作用。

3.3 H₂S与心血管系统

高血压是心脑血管疾病最主要的危险因素,其发生发展会严重影响心、脑、肾等重要脏器的功能,对人体的危害日益受到社会关注。据报道,在2级和3级高血压患者中血浆H₂S的浓度明显低于血压正常者^[35],这说明H₂S可能在人类高血压的发病中起重要作用。Yan等^[36]和Zhao等^[37]发现,应用H₂S供体NaHS(56 μmol/kg·d)持续5周可以显著降低自发性高血压大鼠(spontaneously hypertensive rats, SHR)高血压进展中的血压增高、主动脉结构重塑

和胶原积累。此外, Shi 等^[38]报道, 以 30 $\mu\text{mol/kg}\cdot\text{d}$ 和 90 $\mu\text{mol/kg}\cdot\text{d}$ 的剂量给予 NaHS 治疗 SHR 3 个月, 都可使收缩压、舒张压和平均动脉压降低。以上实验表明, 长期以较低剂量的 H_2S 给予治疗可能有助于降低血压。

C57BL/6J \times 129SvEv 混合遗传背景的 CSE^{+/-} 小鼠, 其血压随年龄的增加而逐渐升高, 收缩压在 12 周龄时增加至超过 135 mmHg, 高出正常小鼠 18 mmHg; CSE^{-/-} 小鼠 10 周龄后血压比 CSE^{+/-} 小鼠高 10 mmHg^[39]。当用 CSE 抑制剂和 CBS 抑制剂联合治疗时, 治疗 4 周期间平均动脉压由 (99 \pm 2) mmHg 逐渐增加到 (130 \pm 1) mmHg^[40]。这些数据表明, CSE 的缺乏与血压的升高密切相关, H_2S 在降低血压方面起着重要作用。

动脉粥样硬化是一种慢性循环系统疾病, 其特征是大动脉和中动脉内膜增厚、大量脂质沉积, 其发病机制尚未完全了解。但最近的研究提示, H_2S 代谢参与了该疾病的发展。载脂蛋白 E 敲除的小鼠中, 动脉粥样硬化的发生同时伴随着血液中 H_2S 水平的降低, NaHS 处理后, 小鼠动脉血管的增厚和硬化得到改善^[41]。Mani 等^[42]也发现, CSE^{-/-} 小鼠加速了动脉粥样硬化的发生, 这进一步说明了 H_2S 的保护作用。

此外, H_2S 在心肌细胞肥大模型中抑制心肌肥大。通过应用去氧肾上腺素诱导心肌细胞肥大的细胞模型, 25~200 $\mu\text{mol/L}$ NaHS 处理后能够增加心肌细胞的活性, 减轻肥大; 同时, NaHS 处理后增加了心肌细胞的葡萄糖摄取, 提高了糖酵解和柠檬酸循环的效率, 这提示 H_2S 可能通过提高葡萄糖的利用率来抑制心肌细胞肥大^[43]。

3.4 H_2S 与呼吸系统

研究显示, H_2S 的合成代谢与急慢性肺疾病的发病机制有关^[44]。 H_2S 供体 GYY4137 能够逆转内毒素诱导的氧化/氮化应激, 降低丙二醛、过氧化氢和 3-硝基酪氨酸水平, 增加总抗氧化能力 (total antioxidative capability, T-AOC)、过氧化氢酶 (catalase, CAT) 和 SOD 活性, 从而减弱内毒素诱导的肺炎^[45]。呼吸机诱发的肺损伤仍是机械通气患者的主要并发症。动物模型中, 机械通气期间持续吸入低浓度的 H_2S 可以降低炎症反应, 从而减轻肺损伤^[46]。

最近一项研究发现, H_2S 具有抗病毒作用。气道上皮细胞的呼吸道合胞病毒感染与 CSE 的 mRNA 和蛋白表达降低、细胞内合成 H_2S 的能力降低及硫醌还原酶的表达增加有关。抑制 CSE 表达后,

呼吸道合胞病毒感染中的细胞因子和趋化因子产生增加, 病毒感染性颗粒形成增加。进一步研究发现, 在呼吸道合胞病毒感染的小鼠模型中, 与对照组相比, CSE 敲除小鼠临床表现、气道反应性、病毒复制能力和肺部炎症均明显增强。这些数据表明, 内源性 H_2S 在控制呼吸道合胞病毒感染引起的肺疾病中起重要作用^[44]。

3.5 H_2S 与消化系统

H_2S 在胃肠道疾病方面的报道也屡见不鲜。在大鼠的结肠炎模型中, H_2S 合成的抑制会导致胃肠黏膜炎症; H_2S 供体治疗后, 促炎因子和趋化因子的表达明显减少, 结肠炎症减轻, 溃疡愈合加快^[10,47]。

非酒精性脂肪性肝病是最常见的肝脏疾病, 主要由肝细胞内甘油三酯的异常积累引起。CSE、CBS 和 MST 蛋白均表达于肝脏中, 有助于肝脏 H_2S 的生成, 内源性 H_2S 的失调可能与肝病的发展有关。给予小鼠高脂肪饮食 (high fat diet, HFD) 后发现, 与正常饮食组相比, HFD 可诱导肝脏中脂质的积累和肝脏结构的损伤。而 H_2S 处理后则逆转了这一现象: 改善了肝脏结构, 减少了肝脏中甘油三酯和总胆固醇的积累, 降低了脂肪酸合成酶的表达, 增加了 SOD 和谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GPx) 的活性。该实验表明, H_2S 通过改善脂质代谢及提高抗氧化能力来减轻脂肪肝^[48]。还有研究显示, 血浆 H_2S 水平与高密度脂蛋白胆固醇量呈正相关, 与低密度脂蛋白胆固醇呈负相关^[49]。

3.6 H_2S 与内分泌系统

高糖可通过氧化应激、内质网应激等多种机制引起细胞凋亡。在高脂肪饮食诱导糖尿病的小鼠模型中, CSE 敲除小鼠的葡萄糖耐量受损较对照组明显。硫氧还蛋白结合蛋白-2 (TBP-2) 是促进 β 细胞凋亡并参与糖尿病的氧化还原蛋白, 而 CSE 合成的 H_2S 可抑制 TBP-2 的表达, 并保护胰岛 β 细胞免受氧化应激。这些结果说明, H_2S 通过下调 TBP-2 表达水平来保护 β 细胞免受葡萄糖的毒性损害, 防止糖尿病的发生和发展。然而, 也有数据表明, 当胰岛 β 细胞受到严重刺激时或 H_2S 治疗浓度过高时, H_2S 反而会导致 β 细胞的凋亡^[50]。

CBS 和 CSE 也存在于鼠肾上腺皮质细胞中。CBS/CSE 抑制剂会导致肾上腺皮质线粒体氧化应激和功能障碍, 同时导致糖皮质激素对促肾上腺皮质激素反应的延迟。 H_2S 供体 GYY4137 治疗后, 上述现象明显改善, 这说明 H_2S 对肾上腺皮质中线粒体功能和糖皮质激素生成的维持至关重要^[51]。此外,

H₂S 能够直接诱导新生大鼠和成体大鼠肾上腺嗜铬细胞释放儿茶酚胺,在调节缺氧应激反应中发挥关键作用^[52]。

3.7 H₂S与泌尿系统

慢性肾脏疾病是肾脏慢性、进行性、不可逆损害,若不能及时治疗,最终会发展为终末期肾病。氧化应激和炎症是慢性肾病发生的危险因素,并在肾功能恶化及其相关并发症中发挥重要作用。高同型半胱氨酸血症(hyperhomocystinemia, HHcy)诱导的氧化应激通过上调 MMP 和炎症分子来增加肾小球中的胶原沉积,导致肾小球硬化, H₂S 则降低了肾脏中 MMP-2 和 MMP-9 的表达。此外,在 HHcy 小鼠模型中, Sen 等^[53]发现炎症分子、细胞间黏附分子-1 和血管细胞黏附分子-1 表达上调以及巨噬细胞浸润,应用 H₂S 后上述炎症现象大大缓解。Wu 等^[54]研究证明, H₂S 通过降低大鼠肾 52E 细胞中 ROS 介导的凋亡来减轻庆大霉素诱导的肾毒性;进一步实验显示, H₂S 能显著降低慢性肾损伤大鼠肾脏中凋亡蛋白 Bax、caspase-3 和 cleaved-caspase 3 的表达,增加抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达,并能降低 ROS 的水平,显著改善慢性肾损伤大鼠的肾脏结构和功能,提示 H₂S 可能通过抑制细胞凋亡和 ROS 信号转导通路来改善大鼠的慢性肾损伤。

肥胖是诱导肾脏疾病发展的重要因素。在高脂肪饮食诱导小鼠肥胖的实验中, H₂S 通过下调 NF- κ B 通路蛋白的表达来降低小鼠肾脏中脂质的积累、减轻肥胖小鼠的肾损伤^[55]。除上述作用外, H₂S 还可通过抗氧化、抗细胞凋亡和抗炎等作用来减轻肾缺血再灌注的损害^[11],且通过降低 Na⁺/K⁺-ATP 酶的活性来增加盐负荷大鼠钠的排泄量,从而降低由高盐引起的血压^[56]。因此,深入开展 H₂S 在泌尿系统疾病的研究具有重要的临床价值。

3.8 H₂S与生殖系统

睾丸和精子容易受到炎症和氧化应激的影响。不孕不育患者,特别是少弱精子症患者,其精子中 CBS 的表达减少,精浆中 H₂S 的浓度降低。在 H₂S 合成缺陷的动物模型,包括 LPS 处理的小鼠、糖尿病小鼠和 CBS^{-/-}小鼠中,可以观察到精子数量、精子活率、向前运动能力均明显下降。给予 GYY4137 和 NaSH 治疗后,精子质量得到改善。除此之外,实验还证明, H₂S 可以通过抑制 NF- κ B 的活性和 MAPK 通路的激活来减轻睾丸组织中的炎症水平,维持血睾屏障的完整性;通过 Nrf2 核移位来提高抗氧化能力、减轻氧化应激。由此说明, H₂S 可能

通过其抗炎和抗氧化作用,在生精功能衰竭和睾丸功能障碍中发挥重要作用^[57]。

在大鼠子宫内组织以及人胎盘、子宫肌层、羊膜和绒毛膜中均有 CBS 和 CSE 的表达。在子宫中, CBS 和 CSE 的上调或下调在很大程度上取决于女性的激素周期或妊娠。研究结果显示,在人怀孕组织中, GYY4137 和 NaHS 能显著降低由催产素刺激和高钾去极化引起的宫缩以及自发性活动^[58]。

3.9 H₂S与皮肤系统

皮肤是人体最大的器官,是人体的第一道防线,它使体内的组织和器官免受物理性、化学性和病原微生物的侵袭。皮肤损伤后若不能及时修复,将对机体造成巨大影响。

烧伤是以全身炎症反应为特征的全身性疾病。重度烧伤后能激活体内多种炎症细胞生成和释放大量细胞因子,造成患者全身炎症反应、多器官功能不全甚至衰竭。关于 H₂S 对皮肤损害的影响国内外鲜有报道。有研究报道,外源性 H₂S 对由烧伤引起的炎症反应具有保护作用^[59]。未培轩等^[60]研究结果显示,与非烧伤组相比,受烧伤打击的大鼠血清 H₂S 含量明显降低, CRP、IL-6、T-AOC 明显升高,而 NaHS 组升高不明显,初步说明 H₂S 在烧伤后炎症早期可能具有保护作用。吴晓伟^[61]也报道,外源性 H₂S 对严重烧伤大鼠的肠道免疫屏障有保护作用;通过给予 NaHS 干预发现, SIgA 水平升高, CD8⁺ 各时相点降低, CD3⁺、CD4⁺ 各时相点明显高于单纯烧伤组, CD4⁺/CD8⁺ 升高。但与上述结论相反的是,也有报道表明 H₂S 会加重烧伤后的炎症反应^[62]。上述结果提示,外源 H₂S 对烧伤创面的炎症反应具有两面性。不同的结论可能与实验环境及 H₂S 应用的浓度有关,其具体机制有待进一步研究。总之, H₂S 有望为烧伤修复、皮肤炎症的治疗开创更广阔的空间。

3.10 H₂S与免疫系统

H₂S 在炎症免疫系统中亦有着重要的调控作用,它可以通过诱导中性粒细胞和单核吞噬细胞释放多种促炎及抗炎因子来发挥其生理病理效应。H₂S 调节的炎症作用与诸多人类疾病有关,如类风湿关节炎、脂多糖所致的内毒素血症、哮喘、后足水肿和急性胰腺炎等^[63]。

类风湿关节炎是一种慢性炎症自身免疫性疾病。研究表明, H₂S 供体 S- 炔丙基半胱氨酸(S-propargyl-cysteine, SPRC)能够降低 IL-1 β 诱导的人类风湿性成纤维细胞样滑膜细胞 MH7A 中炎症介

质的表达、活性氧的产生以及 MMP-9 的表达和活性；另外，SPRC 能够阻断 IL-1 β 介导的 MH7A 细胞的迁移和侵袭，且 SPRC 的保护作用可以被 H₂S 合成酶抑制剂 DL- 炔丙基甘氨酸 (DL-propargylglycine, PAG) 抑制。体内研究还表明，SPRC 治疗显著改善了佐剂诱导的关节炎大鼠中类风湿关节炎的严重程度，并且该效应与抑制炎症反应相关^[64]。

败血症是危重患者死亡的主要原因，最常见的原因是革兰氏阴性菌感染，其特征在于血液 LPS 水平升高，也称为内毒素血症。在内毒素模型中，GYY4137 能够抑制 LPS 诱导的大鼠血液中促炎因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 的产生，并抑制 LPS 诱导的 RAW 264.7 巨噬细胞中 NF- κ B 的活化，降低诱导型一氧化氮合酶 / 环氧合酶 -2 的表达以及硝酸盐 / 亚硝酸盐的产生^[65]。

支气管哮喘是由气道炎症细胞，如肥大细胞、嗜酸性粒细胞、T 淋巴细胞、气道上皮细胞等多种细胞参与的气道慢性炎症性疾病。慢性炎症引起气道特征性结构改变——气道重塑。气道重塑包括上皮纤维化、气道平滑肌增生和肥大，最终导致气道变窄。在卵清蛋白诱导的哮喘大鼠模型中发现，H₂S 是气道炎症和气道重塑的重要介质，给予 NaHS 可以升高呼气峰流速，促进杯状细胞增生，有效降低气道高反应性以及炎症细胞的浸润^[66]。

4 H₂S 相关供体

H₂S 的深入研究及其广泛的生理学作用促进了基于 H₂S 合成与释放药物的开发。目前，无机 H₂S 供体硫化钠 (NaHS) 和硫化钠 (Na₂S) 是 H₂S 生物学领域最常用的供体^[67]，但其过快、不可控的释放速度及可能会导致的急性毒性限制了其临床应用^[68]。

理想的 H₂S 供体应该具有释放速率缓慢、浓度低且持久的特征。GYY4137 是 Li 等^[69]于 2008 年首次报道的二硫代磷酸二氢钾缓冲释放化合物。与硫化物盐不同，GYY4137 释放 H₂S 的速度缓慢、持续时间较长，在水溶液中缓慢释放可维持一周。研究表明，GYY4137 在抗炎、抗癌、降压、血管舒张等方面均显示出保护作用^[70-71]。FW1256 是 GYY4137 的类似物，与 GYY4137 相比，FW1256 的抗癌活性提高了 100 倍，可为进一步研究提供指导^[72]。SPRC 是一种新型大蒜衍生化合物^[73]，不仅可以缓慢、持续地释放 H₂S，而且还可以增强哺乳动物细胞中 CSE 的表达^[74]，具有较强的抗炎、抗凋亡作用^[75-76]。SG-1002 是 SulfaGENIX 公司正在

开发的无机硫化物的混合物，主要针对心力衰竭的治疗；动物模型研究证实，SG-1002 可有效降低心肌梗死面积，增加血管生成，减少炎症及梗死后的氧化应激，改善心脏功能，具有心脏保护作用^[5]。此外，硫代甘氨酸和硫代缬氨酸也可在碳酸氢盐的存在下缓慢释放 H₂S^[77]。

非甾体类抗炎药 (nonsteroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs) 的主要副作用是胃肠道炎症。H₂S 供体基团与 NSAIDs 合成的一系列释放 H₂S 的合成物表现出巨大的应用前景，如合成的阿司匹林、萘普生、布洛芬及双氯芬酸等衍生物，不仅表现出更好的母体药物治疗效果，而且其释放的 H₂S 显著减少了 NSAIDs 引起的副作用。ATB-346 是 4- 羟基硫代苯甲酰胺与萘普生合成的化合物，已进入 I 期临床试验，能延长血液中萘普生的治疗时间，在减轻关节炎症、水肿及改善胃肠道损伤等方面作用显著。ATB-340 是释放 H₂S 的阿司匹林衍生物，在体外模型中，不仅能有效抑制 COX-1 的活性，而且改善了由阿司匹林导致的胃肠损伤。衍生自双氯芬酸的 ATB 337 与双氯芬酸相比，在显著降低胃肠道毒性的同时，增强了抗炎作用，且不影响血细胞比容^[78-79]。此外，1,2- 二硫杂环戊三烯与乙酰水杨酸构成的 ACS14 也是一种释放 H₂S 的阿司匹林衍生物，给予 ACS14 治疗可显著降低血浆中环氧合酶产物并减轻氧化应激，且相应副作用明显减少^[77]。

5 未来展望

H₂S 在机体内发挥的生理学作用逐渐被揭晓，如心肌缺血损伤的保护、抗氧化应激的细胞保护、神经传递的调节、胰岛素信号转导抑制、炎症调节、血管扩张等。强大而广泛的生理效应推动了基于 H₂S 治疗药物的开发，为临床治疗带来了福音。药物开发是一个复杂的问题，需要考虑其药代动力学、代谢、渗透性、毒性、功效、易于结构改造和药物间相互作用等^[80]。开发 H₂S 药物存在不小的挑战，如挥发性及其气味问题。H₂S 的治疗窗较窄，且其挥发性使其浓度不能得到精确控制；再者，其特殊气味也使患者的依从性大大减低，同时也会影响到药物的储存和运输；此外，靶向输送 H₂S 也是目前面临的一个巨大挑战，若实现靶向部位定向传输 H₂S 的目标，无疑是 H₂S 研究中的又一里程碑。

[参 考 文 献]

- [1] Smith RP, Gosselin RE. Hydrogen sulfide poisoning. J

- Occupat Environ Med, 1979, 21: 93-7
- [2] Abe K, Kimura H. The possible role of hydrogen sulfid as an endogenous neuromodulator. *J Neurosci*, 1996, 16: 1066-71
- [3] Gadalla MM, Snyder SH. Hydrogen sulfide as a gasotransmitter. *J Neurochem*, 2010, 113: 14-26
- [4] Kimura H, Shibuya N, Kimura Y. Hydrogen sulfide is a signaling molecule and a cytoprotectant. *Antioxid Redox Sign*, 2012, 17: 45-57
- [5] Wallace JL, Wang R. Hydrogen sulfide-based therapeutics: exploiting a unique but ubiquitous gasotransmitter. *Nat Rev Drug Discov*, 2015, 14: 329-45
- [6] Hellmich MR, Szabo C. Hydrogen sulfide and cancer. *Chemistry, biochemistry and pharmacology of hydrogen sulfide*. Springer Int Pub, 2015, 230: 233-41
- [7] Zhao W, Zhang J, Lu Y, et al. The vasorelaxant effect of H₂S as a novel endogenous gaseous K_{ATP} channel opener. *EMBO J*, 2001, 20: 6008-16
- [8] Lisjak M, Srivastava N, Teklic T, et al. A novel hydrogen sulfide donor causes stomatal opening and reduces nitric oxide accumulation. *Plant Physiol Biochem*, 2010, 48: 931-5
- [9] Xie L, Feng H, Li S, et al. SIRT3 mediates the antioxidant effect of hydrogen sulfide in endothelial cells. *Antioxid Redox Sign*, 2016, 24: 329-43
- [10] Shibuya N, Tanaka M, Yoshida M, et al. 3-Mercaptopyruvate sulfurtransferase produces hydrogen sulfide and bound sulfane sulfur in the brain. *Antioxid Redox Sign*, 2009, 11: 703-14
- [11] Wu D, Wang J, Li H, et al. Role of hydrogen sulfide in ischemia-reperfusion injury. *Oxid Med Cell Longev*, 2015, 2015: 186908
- [12] Hosoki R, Matsuki N, Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous smooth muscle relaxant in synergy with nitric oxide. *Biochem Biophys Res Commun*, 1997, 237: 527-31
- [13] Zheng Y, Yu B, La Cruz LK, et al. Toward hydrogen sulfide based therapeutics: critical drug delivery and developability issues. *Med Res Rev*, 2017, 38: 57-100
- [14] Shibuya N, Koike S, Tanaka M, et al. A novel pathway for the production of hydrogen sulfide from D-cysteine in mammalian cells. *Nat Commun*, 2013, 4: 1366
- [15] Yang G, Cao K, Wu L, et al. Cystathionine γ -lyase overexpression inhibits cell proliferation via a H₂S-dependent modulation of ERK1/2 phosphorylation and p21Cip/WAK-1. *J Biol Chem*, 2004, 279: 49199-205
- [16] Insko MA, Deckwerth TL, Hill P, et al. Detection of exhaled hydrogen sulphide gas in rats exposed to intravenous sodium sulphide. *Br J Pharmacol*, 2009, 157: 944-51
- [17] Olson KR. A practical look at the chemistry and biology of hydrogen sulfide. *Antioxid Redox Sign*, 2012, 17: 32-4
- [18] Shen X, Peter EA, Bir S, et al. Analytical measurement of discrete hydrogen sulfide pools in biological specimens. *Free Rad Biol Med*, 2012, 52: 2276-83
- [19] McCook O, Radermacher P, Volani C, et al. H₂S during circulatory shock: some unresolved questions. *Nitric Oxide*, 2014, 41: 48-61
- [20] Eto K, Asada T, Arima K, et al. Brain hydrogen sulfide is severely decreased in Alzheimer's disease. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 293: 1485-8
- [21] Tang XQ, Yang CT, Chen J, et al. Effect of hydrogen sulphide on β -amyloid-induced damage in PC12 cells. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2008, 35: 180-6
- [22] Zhang LM, Jiang CX, Liu DW. Hydrogen sulfide attenuates neuronal injury induced by vascular dementia via inhibiting apoptosis in rats. *Neurochem Res*, 2009, 34: 1984-92
- [23] Abeliovich A. Parkinson's disease: pro-survival effects of PINK1. *Nature*, 2007, 448: 759-60
- [24] Hu LF, Lu M, Tiong C X, et al. Neuroprotective effects of hydrogen sulfide on Parkinson's disease rat models. *Aging Cell*, 2010, 9: 135-46
- [25] Yin WL, He JQ, Hu B, et al. Hydrogen sulfide inhibits MPP⁺-induced apoptosis in PC12 cells. *Life Sci*, 2009, 85: 269-75
- [26] Hu LF, Wong PT, Moore PK, et al. Hydrogen sulfide attenuates lipopolysaccharide-induced inflammation by inhibition of p38 mitogen-activated protein kinase in microglia. *J Neurochem*, 2007, 100: 1121-8
- [27] Paul BD, Sbodio JI, Xu R, et al. Cystathionine γ -lyase deficiency mediates neurodegeneration in Huntington's disease. *Nature*, 2014, 509: 96
- [28] Paul BD, Snyder SH. Neurodegeneration in Huntington's disease involves loss of cystathionine γ -lyase. *Cell Cycle*, 2014, 13: 2491-3
- [29] Carbonare LD, Valenti MT, Zanatta M, et al. Circulating mesenchymal stem cells with abnormal osteogenic differentiation in patients with osteoporosis. *Arthritis Rheumatol*, 2009, 60: 3356-65
- [30] Liu Y, Yang R, Liu X, et al. Hydrogen sulfide maintains mesenchymal stem cell function and bone homeostasis via regulation of Ca²⁺ channel sulphydration. *Cell Stem Cell*, 2014, 15: 66-78
- [31] Zheng Y, Liao F, Lin X, et al. Cystathionine γ -lyase-hydrogen sulfide induces Runt-related transcription factor 2 sulphydration, thereby increasing osteoblast activity to promote bone fracture healing. *Antioxid Redox Sign*, 2017, 27: 742-53
- [32] Yang X, Hao D, Zhang H, et al. Treatment with hydrogen sulfide attenuates sublesional skeletal deterioration following motor complete spinal cord injury in rats. *Osteoporosis Int*, 2017, 28: 687-95
- [33] Burguera EF, Mejjide-Failde R, Blanco FJ. Hydrogen sulfide and inflammatory joint diseases. *Curr Drug Targets*, 2017, 18: 1641-52
- [34] Du JT, Li W, Yang JY, et al. Hydrogen sulfide is endogenously generated in rat skeletal muscle and exerts a protective effect against oxidative stress. *Chn Med J*, 2013, 126: 930-6
- [35] Sun NL, Xi Y, Yang SN, et al. Plasma hydrogen sulfide and homocysteine levels in hypertensive patients with different blood pressure levels and complications. *Chinese J Cardiol* 2007, 35: 1145-8

- [36] Yan H, Du J, Tang C. The possible role of hydrogen sulfide on the pathogenesis of spontaneous hypertension in rats. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 313: 22-7
- [37] Zhao X, Zhang L, Zhang C, et al. Regulatory effect of hydrogen sulfide on vascular collagen content in spontaneously hypertensive rats. *Hypertens Res*, 2008, 31: 1619-30
- [38] Shi YX, Chen Y, Zhu YZ, et al. Chronic sodium hydrosulfide treatment decreases medial thickening of intramyocardial coronary arterioles, interstitial fibrosis, and ROS production in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2007, 293: H2093-100
- [39] Yang G, Wu L, Jiang B, et al. H₂S as a physiologic vasorelaxant: hypertension in mice with deletion of cystathionine γ -lyase. *Science*, 2008, 322: 587-90
- [40] Roy A, Khan AH, Islam MT, et al. Interdependency of cystathionine γ -lyase and cystathionine β -synthase in hydrogen sulfide-induced blood pressure regulation in rats. *Am J Hypertens*, 2012, 25: 74-81
- [41] Wang Y, Zhao X, Jin H, et al. Role of hydrogen sulfide in the development of atherosclerotic lesions in apolipoprotein E knockout mice. *Arterioscle Thromb Vas Biol*, 2009, 29: 173-9
- [42] Mani S, Li H, Untereiner A, et al. Decreased endogenous production of hydrogen sulfide accelerates atherosclerosis. *Circulation*, 2013, 127: 2523-34
- [43] Liang M, Jin S, Wu DD, et al. Hydrogen sulfide improves glucose metabolism and prevents hypertrophy in cardiomyocytes. *Nitric Oxide*, 2015, 46: 114-22
- [44] Bazhanov N, Ansar M, Ivanciuc T, et al. Hydrogen sulfide: a novel player in airway development, pathophysiology of respiratory diseases, and antiviral defenses. *Am J Resp Cell Mol Biol*, 2017, 57: 403-10
- [45] Zhang HX, Liu SJ, Tang XL, et al. H₂S attenuates LPS-induced acute lung injury by reducing oxidative/nitrative stress and inflammation. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 40: 1603-12
- [46] Spassov SG, Donus R, Ihle PM, et al. Hydrogen sulfide prevents formation of reactive oxygen species through PI3K/Akt signaling and limits ventilator-induced lung injury. *Oxid Med Cell Longev* 2017, 2017: 3715037
- [47] Wallace JL, Blackler RW, Chan MV, et al. Anti-inflammatory and cytoprotective actions of hydrogen sulfide: translation to therapeutics. *Antioxid Redox Sign*, 2015, 22: 398-410
- [48] Wu D, Zheng N, Qi K, et al. Exogenous hydrogen sulfide mitigates the fatty liver in obese mice through improving lipid metabolism and antioxidant potential. *Med Gas Res*, 2015, 5: 1-8
- [49] Jain SK, Micinski D, Lieblong BJ, et al. Relationship between hydrogen sulfide levels and HDL-cholesterol, adiponectin, and potassium levels in the blood of healthy subjects. *Atherosclerosis*, 2012, 225: 242-5
- [50] Okamoto M, Ishizaki T, Kimura T. Protective effect of hydrogen sulfide on pancreatic β -cells. *Nitric Oxide*, 2015, 46: 32-6
- [51] Wang CN, Liu YJ, Duan GL, et al. CBS and CSE are critical for maintenance of mitochondrial function and glucocorticoid production in adrenal cortex. *Antioxid Redox Sign*, 2014, 21: 2192-207
- [52] Wang K, Zhu D, Yu X, et al. Differences in the H₂S-induced quantal release of catecholamine in adrenal chromaffin cells of neonatal and adult rats. *Toxicology*, 2013, 312: 12-7
- [53] Sen U, Munjal C, Qipshidze N, et al. Hydrogen sulfide regulates homocysteine-mediated glomerulosclerosis. *A J Nephrol*, 2010, 31: 442-55
- [54] Wu D, Luo N, Wang L, et al. Hydrogen sulfide ameliorates chronic renal failure in rats by inhibiting apoptosis and inflammation through ROS/MAPK and NF- κ B signaling pathways. *Sci Rep*, 2017, 7: 455
- [55] Wu D, Gao B, Li M, et al. Hydrogen sulfide mitigates kidney injury in high fat diet-induced obese mice. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 2016: 2715718
- [56] Ge SN, Zhao MM, Wu DD, et al. Hydrogen sulfide targets EGFR Cys797/Cys798 residues to induce Na⁺/K⁺-ATPase endocytosis and inhibition in renal tubular epithelial cells and increase sodium excretion in chronic salt-loaded rats. *Antioxid Redox Sign*, 2014, 21: 2061-82
- [57] Wang J, Wang W, Li S, et al. Hydrogen sulfide as a potential target in preventing spermatogenic failure and testicular dysfunction. *Antioxid Redox Sign*, 2018, 28: 1447-62
- [58] d'Emmanuele di Villa Bianca R, Fusco F, Mirone V, et al. The role of the hydrogen sulfide pathway in male and female urogenital system in health and disease. *Antioxid Redox Sign*, 2017, 27: 654-68
- [59] Zeng J, Lin X, Fan H, et al. Hydrogen sulfide attenuates the inflammatory response in a mouse burn injury model. *Molecular medicine reports*, 2013, 8: 1204-8
- [60] 未培轩, 李毅, 王洪瑾, 等. 硫化氢对大鼠烧伤后炎症反应的影响. *中华损伤与修复杂志(电子版)*, 2012, 7: 40-3
- [61] 吴晓伟, 李毅, 王洪瑾. 硫化氢对烧伤大鼠肠道SIgA和T淋巴细胞亚群的影响. *中华损伤与修复杂志(电子版)*, 2013, 8: 22-5
- [62] Zhang J, Sio SW, Mochhala S, et al. Role of hydrogen sulfide in severe burn injury-induced inflammation in mice. *Mol Med*, 2010, 16: 417-24
- [63] Chen YH, Wu R, Geng B, et al. Endogenous hydrogen sulfide reduces airway inflammation and remodeling in a rat model of asthma. *Cytokine*, 2009, 45: 117-23
- [64] Wu WJ, Jia WW, Liu XH, et al. S-propargyl-cysteine attenuates inflammatory response in rheumatoid arthritis by modulating the Nrf2-ARE signaling pathway. *Redox Biol*, 2016, 10: 157-67
- [65] Li L, Salto-Tellez M, Tan CH, et al. GYY4137, a novel hydrogen sulfide-releasing molecule, protects against endotoxic shock in the rat. *Free Radic Biol Med*, 2009, 47: 103-13
- [66] Chen YH, Wu R, Geng B, et al. Endogenous hydrogen sulfide reduces airway inflammation and remodeling in a rat model of asthma. *Cytokine*, 2009, 45: 117-23
- [67] Li L, Hsu A, Moore PK. Actions and interactions of nitric oxide, carbon monoxide and hydrogen sulphide in the

- cardiovascular system and in inflammation--a tale of three gases! *Pharmacol Ther*, 2009, 123: 386-400
- [68] Baskar R, Bian J. Hydrogen sulfide gas has cell growth regulatory role. *Eur J Pharmacol*, 2011, 656: 5-9
- [69] Li L, Whiteman M, Guan YY, et al. Characterization of a novel, water-soluble hydrogen sulfide-releasing molecule (GYY4137). *Circulation*, 2008, 117: 2351-60
- [70] Lin S, Visram F, Liu W, et al. GYY4137, a slow-releasing hydrogen sulfide donor, ameliorates renal damage associated with chronic obstructive uropathy. *J Urol*, 2016, 196: 1778-87
- [71] Karwi QG, Whiteman M, Wood ME, et al. Pharmacological postconditioning against myocardial infarction with a slow-releasing hydrogen sulfide donor, GYY4137. *Pharmacol Res*, 2016, 111: 442-51
- [72] Feng W, Teo XY, Novera W, et al. Discovery of new H₂S releasing phosphordithioates and 2, 3-dihydro-2-phenyl-2-sulfanylenebenzo [d][1,3,2] oxazaphospholes with improved antiproliferative activity. *J Med Chem*, 2015, 58: 6456-80
- [73] Wang Q, Liu H R, Mu Q, et al. S-propargyl-cysteine protects both adult rat hearts and neonatal cardiomyocytes from ischemia/hypoxia injury: the contribution of the hydrogen sulfide-mediated pathway. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2009, 54: 139-46
- [74] Kaium MA, Liu Y, Zhu Q, et al. H₂S donor, S-propargyl-cysteine, increases CSE in SGC-7901 and cancer-induced mice: evidence for a novel anti-cancer effect of endogenous H₂S? *PLoS One*, 2011, 6: e20525
- [75] Wang M, Tang W, Xin H, et al. S-propargyl-cysteine, a novel hydrogen sulfide donor, inhibits inflammatory hepcidin and relieves anemia of inflammation by inhibiting IL-6/STAT3 pathway. *PLoS One*, 2016, 11: e0163289
- [76] Wen YD, Zhu YZ. The pharmacological effects of S-propargyl-cysteine, a novel endogenous H₂S-producing compound. *Handb Exp Pharmacol*, 2015: 325-36
- [77] Calderone V, Martelli A, Testai L, et al. Using hydrogen sulfide to design and develop drugs. *Expert Opin Drug Discov*, 2016, 11: 163-75
- [78] Gemici B, Elsheikh W, Feitosa KB, et al. H₂S-releasing drugs: anti-inflammatory, cytoprotective and chemopreventative potential. *Nitric Oxide*, 2015, 46: 25-31
- [79] Caliendo G, Cirino G, Santagada V, et al. Synthesis and biological effects of hydrogen sulfide (H₂S): development of H₂S-releasing drugs as pharmaceuticals. *J Med Chem*, 2010, 53: 6275-86
- [80] Kerns EH, Di L. Pharmaceutical profiling in drug discovery. *Drug Discov Today*, 2003, 8: 316-23