

. 综 述 .

硫化氢保护脑缺血再灌注损伤的研究进展

黄 坦 综述 黄书岚 陈谦学 审校

【关键词】脑缺血;缺血再灌注损伤;硫化氢;研究进展

【文章编号】1009-153X(2016)10-0652-03 【文献标志码】A 【中国图书资料分类号】R 743

缺血性脑卒中致残率、病死率高,发生机制十分复杂,包括细胞能量代谢障碍、兴奋毒性、氧化应激反应、炎症反应、神经细胞凋亡以及血脑屏障受损等。当前,治疗缺血性脑卒中最有效的方法是人类重组纤溶蛋白酶激活剂,但是这种方式的治疗时间窗太窄(3~4.5 h),超出此范围之后仍旧会导致缺血再灌注损伤(ischemia/reperfusion injury, I/RI)^[1]。研究表明,硫化氢(H_2S)具有抗氧化应激、抗炎反应、抗神经细胞凋亡、保护血脑屏障等效应;低剂量生理浓度范围内 H_2S 对各种器官和组织 I/RI 有保护作用^[2]。因此,阐明 H_2S 在脑组织的生成及作用机制,或许可通过 H_2S 的干预对脑缺血后 I/RI 进行防治。本文就 H_2S 在脑缺血后 I/RI 中的作用及机制进行综述。

1 H_2S 的化学性质及生成

1.1 H_2S 的化学性质 过去认为 H_2S 是一种无色、臭鸡蛋味、剧毒性气体,但现今被公认是除一氧化氮和一氧化碳外的第三类气体信号分子。其在 37℃ 和 pH 7.4 生理盐水中,约有五分之一的 H_2S 以未解离的形式存在,而其余五分之四则以 HS^- 和 S_2^{2-} 的形式存在。然而,有研究认为由氯离子通道或其他阴离子通道转运的 HS^- 可能不会发挥生理作用^[3]。在人体内,大部分 H_2S 可氧化生成二氧化硫,溶于水后可生成亚硫酸盐,再经过进一步氧化可形成硫酸盐,之后经各种代谢器官排出体外; H_2S 也可经甲基化代谢生成二甲硫醚,最后经肝脏或肠道排出体外^[4]。

1.2 H_2S 的生成 内源性的 H_2S 在哺乳动物体内的生

成主要有 3 种途径:胱硫醚- β -合酶(cystathionine- β -synthase, CBS)、胱硫醚- γ -裂解酶(cystathionine- γ -lyase, CSE)和 3-巯基丙酮酸转硫酶(3-mercaptopyruvate sulfur transferase, 3-MST)途径。早期认为,CBS 途径是脑组织中产生 H_2S 最主要途径^[5]。然而事实上,CBS 虽然优先地表达在小脑胶质细胞和整个大脑组织,但是其在大脑中的活性只有其在肝脏中活性的 1%,而 CSE 则主要表达在心血管系统^[6]。研究表明,脑组织 90% 的 H_2S 都是通过 3-MST 途径由 L-型-半胱氨酸和 α -酮戊二酸通过半胱氨酸氨基转移酶(cysteine aminotransferase, CAT)生成^[7]。除此之外,由于 D-型-氨基酸氧化酶在脑胶质细胞和神经元广泛表达,可由 D-型-半胱氨酸通过 3-MST 途径产生 H_2S ,因此有学者提出 D-型半胱氨酸作为生成 H_2S 的一种新途径,具有潜在的治疗意义^[8]。

2 H_2S 保护 I/RI 的机制

2.1 H_2S 的抗氧化效应 氧化应激条件下,过量活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)会导致动脉粥样硬化、神经元变性炎症反应等。在 I/RI 时,氧化应激是导致脑损伤的一个关键机制^[9]。NADPH 氧化酶(NADPH oxidase, NOX)家族是唯一专门形成 ROS 的蛋白酶家族,包括五个亚型 NOX1~5。NOX3 主要表达在内耳组织,在血管和脑组织中并没有表达,因此其最不可能与脑 I/RI 相关。而 NOX1、NOX2 和 NOX4 在生理条件下表达于中枢神经系统,包括颅内血管和神经组织^[10]。Wany 等^[11]证实,在局灶性 I/RI 模型中,脑组织 NOX4 mRNA 表达上调,而 NOX2 mRNA 并没有上调, H_2S 干预后,NOX4 mRNA 表达被明显抑制;同时, H_2S 干预后缺血半球 NOX1 mRNA 表达虽然也受到抑制,但是其在对照组的同侧半球表达量却低于假手术组,而认为其表达并不会加重 I/RI。因此,我们推测,NOX1 表达上调可能与保护脑缺血导致的相关损伤有关。与此不同的是,Yin 等

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2016.10.032

基金项目:湖北省自然科学基金(2011CHB027)

作者单位:430060 武汉,武汉大学人民医院神经外科(黄 坦、黄书岚、陈谦学)

通讯作者:黄书岚, E-mail:huang_shulan@msn.com

^[12]报道,在全脑缺血模型中,H₂S 干预可以显著抑制 I/RI 后 p22phox 和 gp91phox(NOX2)表达上调。

在脑 I/RI 导致的相关氧化反应中,丙二醛(malondialdehyde,MDA)和超氧化物歧化酶(super-oxide dismutase,SOD)发挥重要作用。MDA 是膜脂过氧化最重要的产物之一,能加剧质膜损伤,对线粒体呼吸链及 α -酮戊二酸脱氢酶、丙酮酸脱氢酶等存在不同程度的损伤。而 SOD 是体内对抗氧化代谢毒性效应的最重要的防御因素之一,I/RI 后脑组织内 MDA 的含量显著上升而 SOD 的活性明显下降,H₂S 干预后,MDA 水平明显降低,但 SOD 的活性却显著上调,减轻了脑 I/RI^[13]。

2.2 H₂S 的抗炎效应 相关促炎因子的上调是脑 I/RI 的关键因素之一,也是导致血脑屏障破坏的重要原因^[14]。虽然基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase,MMP)-9 在成人脑中的表达和活性很低,但是脑缺血后表达上调。即使在恢复阶段,MMP-9 可能发挥着有益作用,但在急性期高表达和活化的 MMP-9 是一个明显的毒性介质,是诱导炎症促进血脑屏障损伤的重要因素^[15, 16]。而肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor,TNF)- α 在脑 I/RI 的发病过程中发挥多种作用,诱导血管内皮细胞的粘附分子大量产生,促进白细胞浸润,放大炎症反应,增加 ROS 的生成,促进细胞凋亡^[17]。单核细胞趋化蛋白(monocyte chemotactic protein,MCP)-1 是中枢神经系统最常见趋化因子,参与局部缺血的炎症反应并调节粘附分子及细胞因子的表达^[18]。在脑缺血模型中,H₂S 干预可显著抑制 I/RI 后 MMP-9、TNF- α 及 MCP-1 的表达,从而减轻炎症反应及一系列级联反应^[12]。

白细胞介素(interleukin,IL)-1 β 和 IL-10 是脑 I/RI 发病机制中两种关键物质,分别参与促炎和抗炎反应。在脑 I/RI 模型中,IL-1 β 表达上调,H₂S 干预后其表达显著被抑制,同时促使 IL-10 表达上调^[11, 12]。

此外,核因子- κ B(nuclear factor κ B,NF- κ B)也是脑 I/RI 时值得注意的关键因子之一。NF- κ B 的活化可以触发众多炎性因子的上调以及 NOX4 基因的表达^[9],H₂S 可抑制 NF- κ B 核易位,从而减少局部炎症反应和 NOX4 衍生出的 ROS 产物^[12]。虽然 H₂S 抑制 NF- κ B 核易位的具体机制仍不清楚,但是最近发现,H₂S 的供体包含体内代谢的 ADP,可以通过钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶 2 的活化转导信号^[13]。这可能是 H₂S 抑制 NF- κ B 核易位的一种机制。

2.3 H₂S 的抗凋亡效应 脑 I/RI 可导致神经元大量凋亡,而 H₂S 明显抑制细胞凋亡,提高神经元存活率

^[20]。研究发现,H₂S 不仅降低脑 I/RI 后 ROS 水平,而且还抑制 ROS 介导 caspase-3 通路激活,从而减少神经元凋亡^[21]。也有文献报道,在 I/RI 动物和细胞模型中,NaHS 上调抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达,降低促凋亡蛋白 Bax 表达,从而增加神经细胞的存活率^[22]。

2.4 H₂S 的脑血管舒张与再生作用 I/RI 时,会诱导血管内皮细胞产生内源性 H₂S,并且通过激活血管平滑肌细胞 ATP 敏感的钾离子通道,导致平滑肌细胞超极化和血管舒张反应。有研究报道,外源性给予大鼠 NaHS 作为 H₂S 供体,可通过抑制 L-型电压敏感的 Ca²⁺通道,使大鼠大脑中动脉舒张^[23]。Han 等^[24]通过大鼠 I/R 模型研究发现,由 NaHS 处理的大鼠脑血管组织内内皮依赖性超极化因子上调,从而诱导大鼠脑动脉舒张。

脑损伤后伴随而来的是组织的修复再生过程,如血管的生成和血管重塑。在血管生成中,其关键作用的是血管内皮生长因子,调节内皮细胞的生长和分化,并且可以联合血管生成素-1 促进血管结构的形成。Jang 等^[25]研究发现,H₂S 可通过 Akt 和 ERK 磷酸化诱导 Ang-1、Ang-2 表达,并且通过 PI3K-Akt 信号途径介导内皮细胞生长因子基因的表达,共同参与脑 I/RI 后血管再生。

2.5 H₂S 对认知的保护作用 大脑海马区神经元对缺血十分敏感,容易受损,严重影响学习和记忆功能。H₂S 可通过抑制 PI3K/Akt 信号途径,增加 Akt 磷酸化,从而改善 I/RI 后海马神经元存活,进而减轻学习和认知功能障碍^[22]。也有报道指出,缺血后海马 NOX2 表达增加,具体作用及机制不详^[26]。

综上所述,脑 I/RI 的各种机制并不是单独发挥作用,而是联系相互促进,互为使动因素。虽然 H₂S 保护脑 I/RI 的机制仍不明确,但 H₂S 作为一种新的神经活性物质,广泛地参与生理及病理过程,具有抗氧化、抗炎、抗凋亡等效应。对正确认识和理解脑 I/RI 的发生、发展的机制具有重要意义,为神经系统相关疾病的临床诊断和治疗开辟了新思路。

【参考文献】

[1] Murray V, Norrving B, Sandercock PA, *et al.* The molecular basis of thrombolysis and its clinical application in stroke [J]. J Intern Med, 2010, 267(2): 191-208.
[2] Bos EM, Wang R, Snijder PM, *et al.* Cystathionine γ -lyase protects against renal ischemia/reperfusion by modulating oxidative stress [J]. J Am Soc Nephrol, 2013, 24: 759-770.

- [3] Mathai JC, Missner A, Kugler P, *et al.* No facilitator required for membrane transport of hydrogen sulfide [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(39): 16633–16638.
- [4] Wang R. Hydrogen sulfide: the third gasotransmitter in biology and medicine [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2010, 12(9): 1061–1064.
- [5] Abe K, Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator [J]. *J Neurosci*, 1996, 16(3): 1066–1071.
- [6] Diwakar L, Ravindranath V. Inhibition of cystathionine- γ -lyase leads to loss of glutathione and aggravation of mitochondrial dysfunction mediated by excitatory amino acid in the CNS [J]. *Neurochem Int*, 2007, 50(2): 418–426.
- [7] Shibuya N, Tanaka M, Yoshida M, *et al.* 3-Mercaptopyruvate sulfurtransferase produces hydrogen sulfide and bound sulfane sulfur in the brain [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2009, 11(4): 703–714.
- [8] Shibuya N, Kimura H. Production of hydrogen sulfide from d-cysteine and its therapeutic potential [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2013, 4: 87.
- [9] Den Hertog HM, van der Worp HB, Tseng MC, *et al.* Cooling therapy for acute stroke [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2009, (1): CD001247.
- [10] Infanger DW, Sharma RV, and Davisson RL. NADPH oxidases of the brain: distribution, regulation, and function [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2006, 8(9–10): 1583–1596.
- [11] Wang Y, Jia J, Ao G, *et al.* Hydrogen sulfide protects blood-brain barrier integrity following cerebral ischemia [J]. *J Neurochem*, 2014, 129(5): 827–838.
- [12] Yin J, Tu C, Zhao J, *et al.* Exogenous hydrogen sulfide protects against global cerebral ischemia/reperfusion injury via its anti-oxidative, anti-inflammatory and anti-apoptotic effects in rats [J]. *Brain Res*, 2013, 1491: 188–196.
- [13] Zhou X, Cao Y, Ao G, *et al.* CaMKK β -dependent activation of AMP-activated protein kinase is critical to suppressive effects of hydrogen sulfide on neuroinflammation [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2014, 21(12): 1741–1758.
- [14] Huang J, Li Y, Tang Y, *et al.* CXCR4 antagonist AMD3100 protects blood-brain barrier integrity and reduces inflammatory response after focal ischemia in mice [J]. *Stroke*, 2013, 44(1): 190–197.
- [15] Lakhan SE, Kirchgessner A, Tepper D, *et al.* Matrix metalloproteinases and blood-brain barrier disruption in acute ischemic stroke [J]. *Front Neurol*, 2013, 4: 32.
- [16] Fagan SC, Lapchak PA, Liebeskind DS, *et al.* Recommendations for preclinical research in hemorrhagic transformation [J]. *Transl Stroke Res*, 2013, 4(3): 322–327.
- [17] Zhi L, Ang AD, Zhang H, *et al.* Hydrogen sulfide induces the synthesis of proinflammatory cytokines in human monocyte cell line U937 via the ERK–NF κ B pathway [J]. *J Leukoc Biol*, 2007, 81(5): 1322–1332.
- [18] Stamatovic SM, Shaku P, Keep RF, *et al.* Monocyte chemoattractant protein-1 regulation of blood-brain barrier permeability [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2005, 25(5): 593–606.
- [19] Williams CR, Lu X, Sutliff RL, *et al.* Rosiglitazone attenuate NF- κ B-mediated Nox4 upregulation in hyperglycemia-activated endothelial cells [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2012, 303(2): C213–223.
- [20] Gheibi S, Aboutaleb N, Khaksari M, *et al.* Hydrogen sulfide protects the brain against ischemic reperfusion injury in a transient model of focal cerebral ischemia [J]. *J Mol Neurosci*, 2014, 54(2): 264–270.
- [21] Luo Y, Yang X, Zhao S, *et al.* Hydrogen sulfide prevents OGD/R-induced apoptosis via improving mitochondrial dysfunction and suppressing an ROS-mediated caspase-3 pathway in cortical neurons [J]. *Neurochem Int*, 2013, 63(8): 826–831.
- [22] Wen X, Qi D, Sun Y, *et al.* H₂S attenuates cognitive deficits through Akt1/JNK3 signaling pathway in ischemic stroke [J]. *Behav Brain Res*, 2014, 269: 6–14.
- [23] Tian XY, Wong WT, Sayed N, *et al.* NaHS relaxes rat cerebral artery in vitro via inhibition of l-type voltage-sensitive Ca²⁺ channel [J]. *Pharmacol Res*, 2012, 65(2): 239–246.
- [24] Han J, Chen ZW, He GW. Acetylcholine- and sodium hydrosulfide-induced endothelium-dependent relaxation and hyperpolarization in cerebral vessels of global cerebral ischemia-reperfusion rat [J]. *J Pharmacol Sci*, 2013, 121(4): 318–326.
- [25] Jang H, Oh MY, Kim YJ, *et al.* Hydrogen sulfide treatment induces angiogenesis after cerebral ischemia [J]. *J Neurosci Res*, 2014, 92(11): 1520–1528.
- [26] Radermacher KA, Wingler K, Langhauser F, *et al.* Neuroprotection after stroke by targeting NOX4 as a source of oxidative stress [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2013, 18(12): 1418–1427.

(2015-07-05 收稿, 2015-08-07 修回)