

炎症介导的 PI3K/Akt/Sp1 信号通路激活及内源性 H₂S 生成加剧重症急性胰腺炎肠道损伤*

唐亚, 廖日斌, 薛力玮, 刘颖[△]

(桂林医学院第二附属医院消化科, 广西 桂林 541100)

[摘要] 目的: 探讨内源性硫化氢(hydrogen sulphide, H₂S)对重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)肠道动力的调控及相关机制。方法: 构建 SAP 大鼠模型, 观察大鼠粪便颗粒的排出情况及肠道炎症水平; 采用 SAP 大鼠血浆、TNF- α 和 IL-6 处理大鼠肠道平滑肌细胞, RT-qPCR、Western blot 和免疫荧光染色等方法检测 H₂S 合成酶胱硫醚- γ -裂解酶(cystathionine- γ -lyase, CSE)、胱硫醚- β -合成酶(cystathionine- β -synthase, CBS)、转录因子 Sp1 和 PI3K/Akt 信号通路关键蛋白的表达; 采用 PI3K 特异性抑制剂 LY294002 处理细胞或转染 Sp1 的干扰序列至细胞中, 以验证 PI3K/Akt/Sp1 信号通路在肠道 H₂S 产生过程中的调控作用。结果: SAP 大鼠排便减少($P < 0.05$), 内源性 H₂S 生成增加($P < 0.05$), 血清 TNF- α 和 IL-6 含量增加($P < 0.05$)。SAP 大鼠血浆、TNF- α 和 IL-6 可诱导肠道平滑肌细胞 CSE 和 CBS 的表达上调($P < 0.05$)。阻断 PI3K/Akt/Sp1 信号通路可以显著抑制肠道平滑肌细胞 CSE 和 CBS 的表达($P < 0.05$)。结论: 炎症反应介导的 PI3K/Akt/Sp1 信号通路激活和内源性 H₂S 产生增多是 SAP 肠道动力减退的潜在机制。

[关键词] 重症急性胰腺炎; 硫化氢; 炎症; 肠道; PI3K/Akt/Sp1 信号通路

[中图分类号] R576; R363.2

[文献标志码] A

doi:10.3969/j.issn.1000-4718.2019.08.020

Inflammation driven activation of PI3K/Akt/Sp1 signaling pathway and endogenous H₂S production aggravate intestinal injury in severe acute pancreatitis

TANG Ya, LIAO Ri-bin, XUE Li-wei, LIU Ying

(Department of Gastroenterology, The Second Affiliated Hospital of Guilin Medical University, Guilin 541100, China.

E-mail: liuying1009@sina.com)

[ABSTRACT] **AIM:** To investigate the potential role of endogenous hydrogen sulphide (H₂S) in severe acute pancreatitis (SAP). **METHODS:** A rat model of SAP was used to evaluate the role of H₂S on intestinal motility by counting the number of fecal pellets and the effect of H₂S on the expression of inflammation-related molecule in intestine was investigated. The colonic muscle cells (CMCs) were treated with plasma of SAP rats, tumor necrosis factor- α (TNF- α) or interleukin-6 (IL-6), and the expression of cystathionine- γ -lyase (CSE), cystathionine- β -synthase (CBS), Sp1 and PI3K/Akt related proteins at mRNA and protein levels were determined by RT-qPCR, Western blot and immunohistochemical staining, respectively. The PI3K inhibitor LY294002 and the siRNA-Sp1 were used to suppress the activity of PI3K/Akt/Sp1 signaling pathway. **RESULTS:** H₂S facilitated an inhibitory effect on the intestinal motility and enhanced the inflammatory responses in SAP ($P < 0.05$). The expression of CSE and CBS in CMCs was significantly increased after treatment with TNF- α or IL-6 ($P < 0.05$). Blockage of the PI3K/Akt/Sp1 signaling pathway remarkably inhibited the synthesis of CSE and CBS in CMCs ($P < 0.05$). **CONCLUSION:** Inflammation driven activation of PI3K/Akt/Sp1 signaling pathway and endogenous production of H₂S play a vital role in the pathogenesis of SAP.

[KEY WORDS] Severe acute pancreatitis; Hydrogen sulphide; Inflammation; Intestine; PI3K/Akt/Sp1 signaling pathway

重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP) 在病程初期即可表现为胃肠功能紊乱, 如麻痹性肠

[收稿日期] 2018-09-14

[修回日期] 2019-02-01

* [基金项目] 国家自然科学基金项目(No. 81660097; No. 81460111)

[△]通讯作者 Tel: 0773-5587900; E-mail: liuying1009@sina.com

梗阻、肠道细菌的移位和肠道脓毒症等,对 SAP 预后具有重要影响^[1-3]。近年来发现的硫化氢 (hydrogen sulphide, H₂S) 是体内一种具有多种生物学活性的新型气性分子^[4-5]。肠道组织可表达 H₂S 合成酶胱硫醚-γ-裂解酶 (cystathionine-γ-lyase, CSE) 及胱硫醚-β-合成酶 (cystathionine-β-synthase, CBS), 能合成内源性 H₂S, H₂S 对肠道动力具有抑制作用^[6]。

目前 H₂S 与 SAP 肠道动力及炎症的关系尚未见相关报道,有研究发现 PI3K/Akt/Sp1 信号通路 with CSE 的表达调控存在一定联系^[7]。本研究运用 SAP 大鼠模型,探讨 H₂S 对 SAP 肠道动力及炎症的影响及相关机制。

材 料 和 方 法

1 动物及细胞

健康成年雄性 Wistar 大鼠由桂林医学院动物实验中心提供,动物在室温 20~25 °C、湿度 (55 ± 5)% 环境下笼内饲养,术前给予足够饲料及饮水。动物实验方案获得桂林医学院伦理委员会批准。大鼠结肠平滑肌细胞 (colonic muscle cells, CMCs) 分离自距回盲部 2 cm 的近端结肠组织,用含 0.15% 胶原酶 II、0.1% 胰蛋白酶抑制剂以及 0.25% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基 37 °C 条件下常规培养。免疫荧光染色检测 α-actin 对 CMCs 进行鉴定。

2 主要试剂

抗 CSE、CBS、磷脂酰肌醇 3 激酶 (phosphatidylinositol 3 kinase, PI3K)、p-PI3K、蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt)、p-Akt、Sp1 以及 GAPDH 抗体均购自 Abcam。PI3K 的抑制剂 LY294002 购自 Sigma。

3 主要方法

3.1 SAP 大鼠模型构建 30 只大鼠随机分为 3 组,每组 10 只。假手术 (sham) 组仅进行剖腹手术并对十二指肠和胰腺等部位进行触碰;SAP 模型 (SAP) 组采用微量注射泵恒速注入新鲜溶于生理盐水的 5% 牛磺胆酸钠进胰胆管 (1 mL/kg、0.1 mL/min),持续 10 min 后缝合伤口;SAP + 丙炔基甘氨酸 (propargylglycine, PAG) 组在注射牛磺胆酸钠溶液后腹腔注射 30 μmol/kg PAG (CSE 抑制剂)。所有大鼠手术完成后立即皮下注射 10 mL 生理盐水,并禁食 24 h 后处死大鼠。

3.2 CMCs 的处理 为了探讨炎症反应对 CSE 的调控及相关机制,我们给体外培养的 CMCs 分别添加 5% 的 SAP 大鼠血浆、10 μg/L 的 TNF-α 或 10 μg/L 的 IL-6 进行处理。后续通过 RT-qPCR 及 Western blot 检测细胞中 CSE, CBS, Sp1 和 PI3K/Akt 的表

达。

3.3 敲减 CMCs 内 Sp1 基因的表达 特异性 Sp1 的 siRNA 序列 (5'-GCAACAUGGGAAUUAUGAATT-3') 由上海吉玛公司设计,合成双链后连接至 pGL3 穿梭载体。转染过程使用试剂 Lipofectamine 2000 (Invitrogen), 并按照其操作说明进行。实验分为 4 组, NC 对照组: 正常培养的 CMCs; LY294002 组: CMCs 细胞加入 5.0 μmol/L 的 LY294002 孵育 24 h; 空载体转染对照组: CMCs 细胞转染空的 pGL3 载体; Sp1 干扰组: CMCs 细胞转染 Sp1 的 siRNA。每个实验设置 3 个复孔。

3.4 肠动力评估 检测术前 1 h 及术后 4、14 和 24 h 内大鼠自然排便颗粒数以评估肠道动力。

3.5 炎症因子检测 实验大鼠麻醉处死后并眼眶采集外周血,采用 ELISA 法检测炎症因子 TNF-α 和 IL-6 的浓度,具体操作方法参考试剂盒说明书进行。

3.6 免疫组织化学染色检测 免疫组织化学染色检测 CSE 和 CBS 表达,对距回盲部 2 cm 的近端结肠组织进行固定包埋、切片、脱蜡并进行抗原修复处理;滴加 3% 的 H₂O₂ 溶液孵育 15 min 以封闭内源性过氧化物酶;漂洗后加入 I 抗 CSE (1:200) 或 CBS (1:500), 37 °C 孵育 30 min 后, 4 °C 过夜;PBS 漂洗后加入 II 抗, 37 °C 孵育 30 min;PBS 漂洗后加入带标记抗生物素蛋白 37 °C 孵育 30 min, DAB 染色 3~10 min。玻片干燥后用苏木精复染。Aperio ScanScope GL 拍照。

3.7 RT-qPCR 实验 提取距回盲部 2 cm 的近端结肠组织或细胞的总 RNA。β-actin 为内参照。采用 BioTeke 的 Super M-MLV 反转录试剂盒处理总 RNA 获取 cDNA 模板, 20 μL qPCR 反应体系包含 10 μL 的 SYBR 荧光染料及 Taq II 酶混合物, 0.5 μL 对应引物 (引物序列见表 1), 1 μL cDNA 模板以及 8 μL 去除 RNA 酶的 H₂O。扩增循环参数为: 95 °C 10 min;

表 1 RT-qPCR 的引物序列

Table 1. Primer sequences of CSE, CBS and Sp1 for RT-qPCR

Name	Sequence (5' - 3')	Product (bp)
β-actin	F: GGAGATTACTGCCCTGGCTCCTA	150
	R: GACTCATCGTACTCCTGCTTGCTG	
CSE	F: TGATGACGAAGAGGAAGCAGG	127
	R: GATGGCAGTGACAAAACGAGG	
CBS	F: TGAACCAGACGGAGCAAAC	248
	R: GGGCAGGATGACCACACA	
Sp1	F: GCCGCCTTTTCTCAGACTC	131
	R: TTGGGTGACTCAATTCTGCTG	

F: forward; R: reverse.

95 °C 10 s、60 °C 20 s、72 °C 30 s,40 个循环。利用 Data Assist Software version 3.0 软件,按照 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 的方法分析计算出目标基因的相对表达水平。

3.8 Western blot 分析 采用 Wanleibio 总蛋白提取试剂盒提取距回盲部 2 cm 的近端结肠组织或细胞样品。GAPDH 为内参照。BCA 方法确定样品蛋白浓度,取 40 μ g 的蛋白进行 10% 的 SDS-PAGE。将条带转膜至 PVDF 膜, TBST 清洗膜 5 min,然后用脱脂牛奶溶液封闭处理 1 h。分别孵育 I 抗 CSE (1:500)、CBS (1:1 000)、PI3K (1:2 000)、p-PI3K (1:1 000)、Akt (1:2 000)、p-Akt (1:1 000)、Sp1 (1:2 500) 和 GAPDH (1:2 000),4 °C 过夜。TBST 振荡漂洗 4 次,4 °C 孵育 HRP 标准的 IgG (1:5 000) II 抗 45 min。TBST 漂洗 6 次, Beyo ECL Plus 显色条带并用 Gel Imaging System 拍照。采用 Gel-Pro-Analyzer 分析条带灰度值评估以上蛋白的表达水平。

3.9 免疫荧光检测 免疫荧光方法检测敲减 *Sp1* 表达后 CSE 蛋白在细胞内的表达分布。将细胞接种至 24 孔培养板, PBS 漂洗后加入 4% 的多聚甲醛固定 15 min;添加 5% Triton X-100 处理 30 min 增加细胞膜通透性, PBS 清洗 3 次, 每次 5 min;10% 的山羊血清处理 15 min;添加 CSE 的 I 抗(1% 的山羊血清稀释:稀释比例 1:50),4 °C 孵育过夜;显色时使用 Alexa Fluor 594 结合的 II 抗室温孵育 1 h;之后清洗细胞添加 DAPI 染料,室温染色 5 min;PBS 缓冲液漂洗 5 次,每次 5 min。待玻片干燥后采用荧光显微镜拍照。

4 统计学处理

所有数据都是以均数 \pm 标准差(mean \pm SD) 的形式表示。组间数据的多重比较采用单因素方差分析。方差齐则采用 Tukey 检验方法, 方差不齐则采用 Tamhane's T2 检验方法。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。采用 GraphPad Prism 6 软件制图以及做统计分析处理。

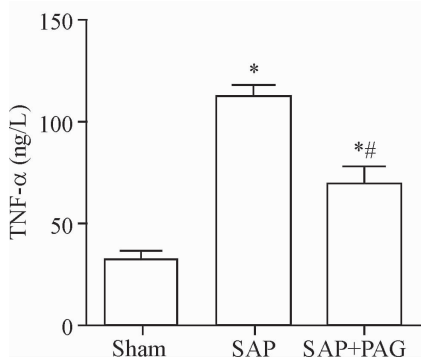


Figure 2. The concentrations of inflammatory cytokines in the plasma of peripheral venous blood by ELISA. Mean \pm SD. $n = 10$. * $P < 0.05$ vs sham group; # $P < 0.05$ vs SAP group.

图2 外周血炎症因子水平的比较

结 果

1 H_2S 参与肠动力减退的发生

SAP 组大鼠造模后 24 h 内的排便颗粒数显著少于假手术组 ($P < 0.05$), SAP + PAG 组排便颗粒数较 SAP 组显著增加 ($P < 0.05$), 见图 1, 提示内源性 H_2S 生成与重症急性胰腺炎大鼠的肠动力减退相关。

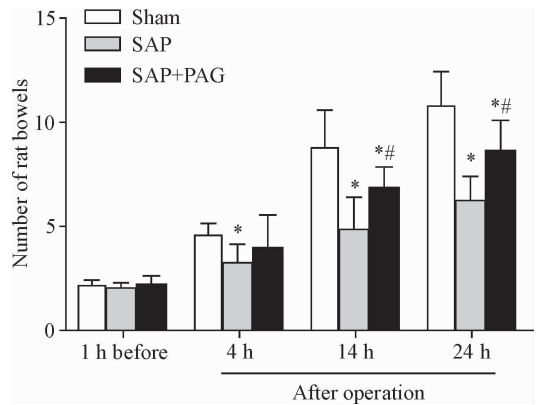


Figure 1. The number of fecal pellets in the rats with different treatment at different time points. Mean \pm SD. $n = 10$. * $P < 0.05$ vs sham group; # $P < 0.05$ vs SAP group.

图1 各组大鼠不同时间排便颗粒数的比较

2 SAP 诱导的炎症反应与内源性 H_2S 生成相关

ELISA 结果显示, SAP 组血浆中 TNF- α 和 IL-6 的含量显著增加 ($P < 0.05$), 使用 PAG 抑制 H_2S 生成后可降低 TNF- α 和 IL-6 含量 ($P < 0.05$), 见图 2。免疫组化显示 SAP 组结肠黏膜、黏膜下层和肌层均有 CSE 和 CBS 的分布, 而 SAP + PAG 组 CSE 分布明显减少, CBS 分布无明显变化; RT-qPCR 结果显示, SAP 组的近端结肠 CSE 和 CBS mRNA 表达增加; SAP + PAG 组的 CSE mRNA 表达较 SAP 组明显降低 ($P < 0.05$), 而 CBS mRNA 表达较 SAP 组无明显变化, 见图 3。结果提示内源性 H_2S 与 SAP 诱导的炎症反应存在密切联系。

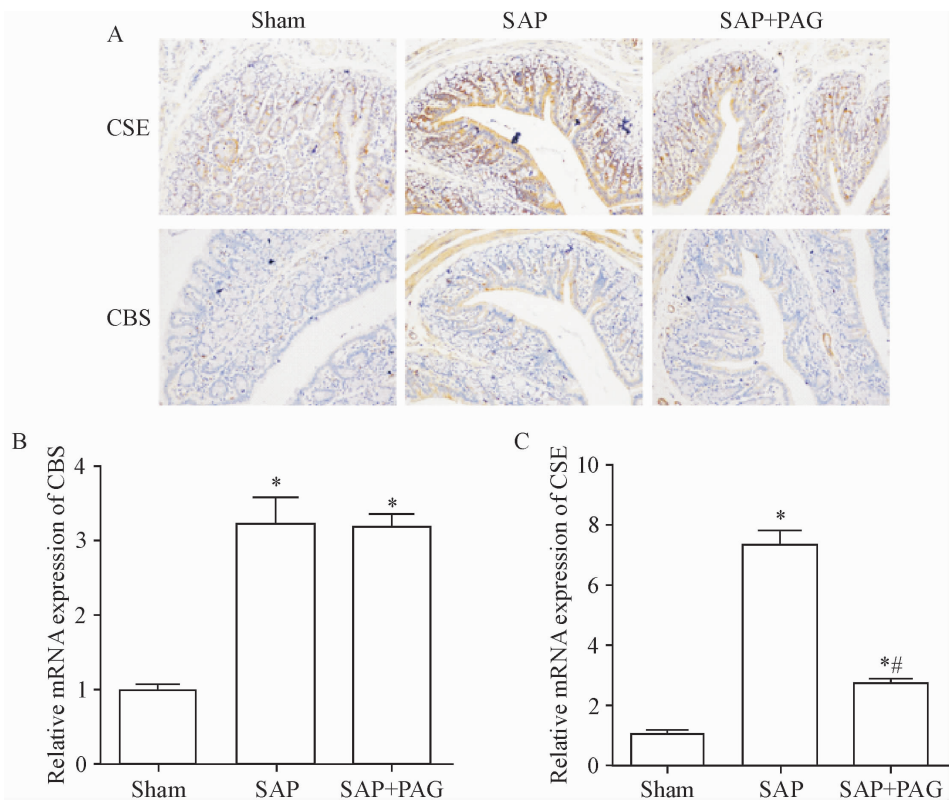


Figure 3. Production of H₂S synthesizing enzymes were induced by SAP. A; the images of immunohistochemical staining (×200); B; the mRNA expression of CBS and CSE in colon of rats. Mean ± SD. n = 10. *P < 0.05 vs sham group; #P < 0.05 vs SAP group.

图3 SAP诱导H₂S合成酶的产生

3 PI3K/Akt/Sp1 通路的激活

SAP组近端结肠CBS和CSE蛋白表达水平均高于假手术组,SAP+PAG组的CSE蛋白表达水平下调($P < 0.05$),见图4A;SAP组与SAP+PAG组PI3K、Akt的磷酸化水平均明显高于假手术组($P < 0.05$),Sp1表达上调($P < 0.05$);而SAP组和SAP+PAG组比较PI3K和Akt磷酸化水平及Sp1的表达差异无统计学显著性见图4。

4 SAP激活炎症反应促进内源性H₂S的生成

分离培养CMCs,使用DAPI标记细胞核,使用α-actin对CMCs进行鉴定,见图5。分别使用SAP组大鼠的血浆,或TNF-α和IL-6处理培养的CMCs 24 h,发现均能显著提高CBS和CSE的mRNA表达水平($P < 0.05$),见图6A;与对照组(细胞不做任何处理)相比,SAP组、TNF-α组和IL-6组PI3K/Akt/Sp1通路及CSE蛋白表达也是呈现被激活的状态($P < 0.05$),见图6B、C。使用免疫荧光方法检测CSE在CMCs中的表达分布,其结果与RT-qPCR结果一致,见图7。上述结果提示SPA血浆及促炎症因子TNF-α、IL-6可促进肠道平滑肌细胞CBS和CSE的表达。

5 验证SAP激活PI3K/Akt/Sp1通路促进内源性H₂S的生成

使用PI3K的特异性抑制剂LY294002以及Sp1的siRNA(si-Sp1)干预SAP血浆培养的CMCs 24 h后,PI3K、Akt蛋白磷酸化水平及Sp1蛋白表达明显下降($P < 0.05$),CMCs的CSE蛋白表达水平降低($P < 0.05$),见图8。CSE的免疫荧光检测得到同样结果,见图9。提示SAP大鼠血浆处理的CMCs内CSE表达增加与PI3K/Akt/Sp1通路的激活有关。

讨 论

转硫化通路是细胞内提供半胱氨酸及合成氧化还原调控分子的一个重要的机制,其可以防止活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)引起的细胞损害^[8]。在肿瘤及其它多类疾病发展进程中转硫化通路的缺失会引起促炎症因子的过度生成,进而导致慢性炎症的发展^[8]。内源性H₂S合成受CSE和CBE参与的转硫化通路调控^[9]。近年来研究发现,H₂S参与多种生理功能的信号转导,且H₂S生成与炎症反应相关^[10-11]。然而,H₂S与炎症反应相互关系错综复杂,Wallace等^[12]认为H₂S可以抑制TNF-α的生成及白细胞黏附在血管内皮细胞,从而保护胃肠功能;Tamizhselvi等^[11]报道胰腺炎大鼠中H₂S可诱发炎症反应。而H₂S在SAP中与肠道的关系未见相

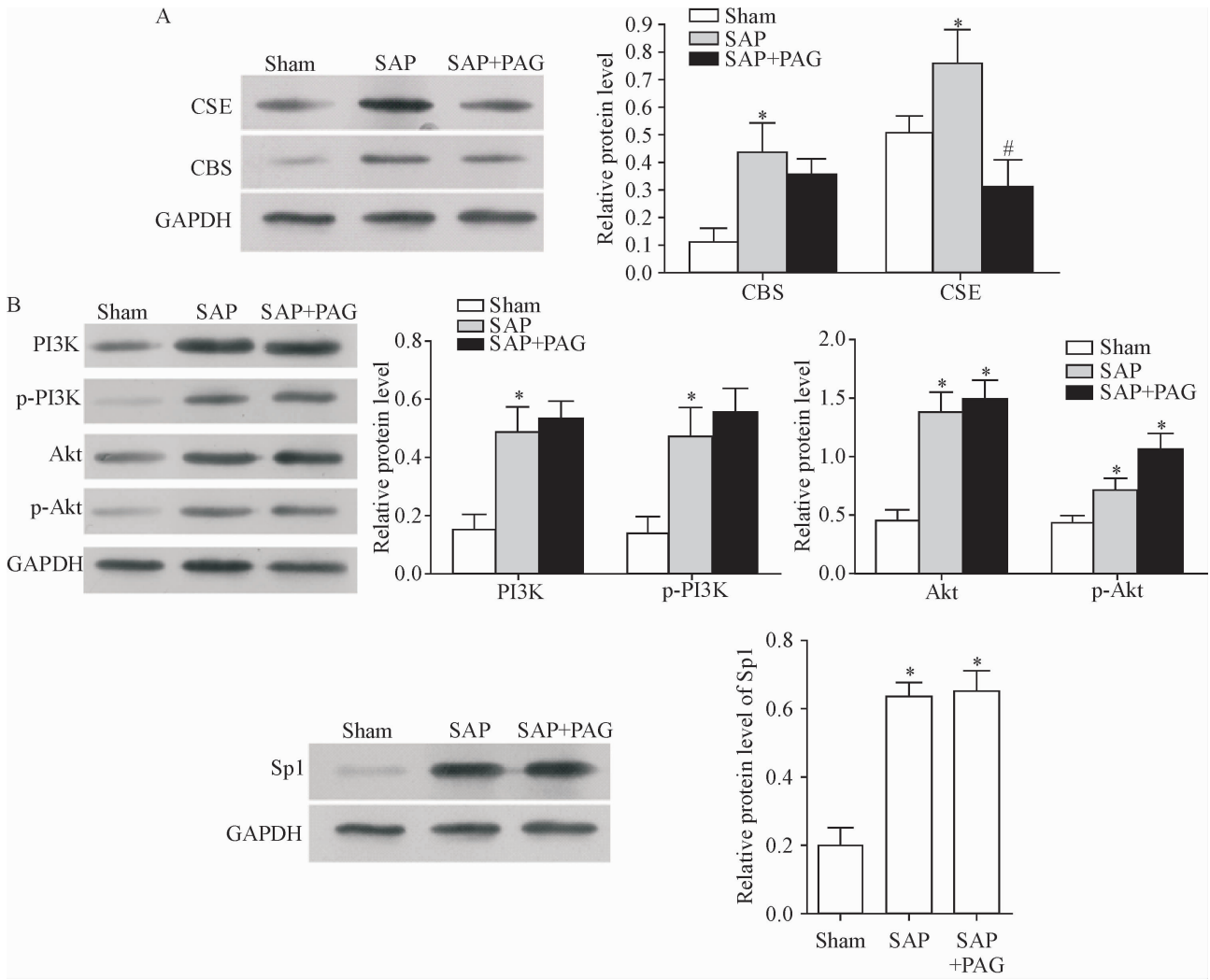


Figure 4. The protein levels of CSE, CBS (A) and PI3K/Akt/Sp1 (B) in colon of rats were determined by Western blot. Mean ± SD. n = 5. * P < 0.05 vs sham group; # P < 0.05 vs SAP group.

图4 SAP时PI3K/Akt/Sp1信号通路激活



Figure 5. Separation, culture and identification of CMCs (×200).

图5 CMCs的分离培养及鉴定

关报道,本研究从炎症及肠动力减退探讨 H₂S 在 SAP 中的作用。

已明确 H₂S 可抑制肠道动力,本研究发现 SAP 大鼠结肠 CSE 和 CBS 的表达增加,提示内源性 H₂S 生成增加可能是 SAP 结肠动力减退的机制之一。ATP 敏感性钾通道 (ATP-sensitive potassium channels, K_{ATP}) 是 H₂S 主要的靶通道^[13-14], K_{ATP} 通道开放

使膜电位超极化,电压门控钙离子通道关闭,通过降低胞内 Ca²⁺ 的浓度使得平滑肌松弛^[15]。推测在 SAP 时 H₂S 生成增加,通过促进 K_{ATP} 通道开放从而抑制结肠蠕动。

本研究发现 SAP 组血浆中 TNF-α 和 IL-6 的浓度增加;使用 CSE 抑制剂 PAG 后 H₂S 合成减少,血浆中 TNF-α 和 IL-6 的浓度显著降低,提示 H₂S 和炎

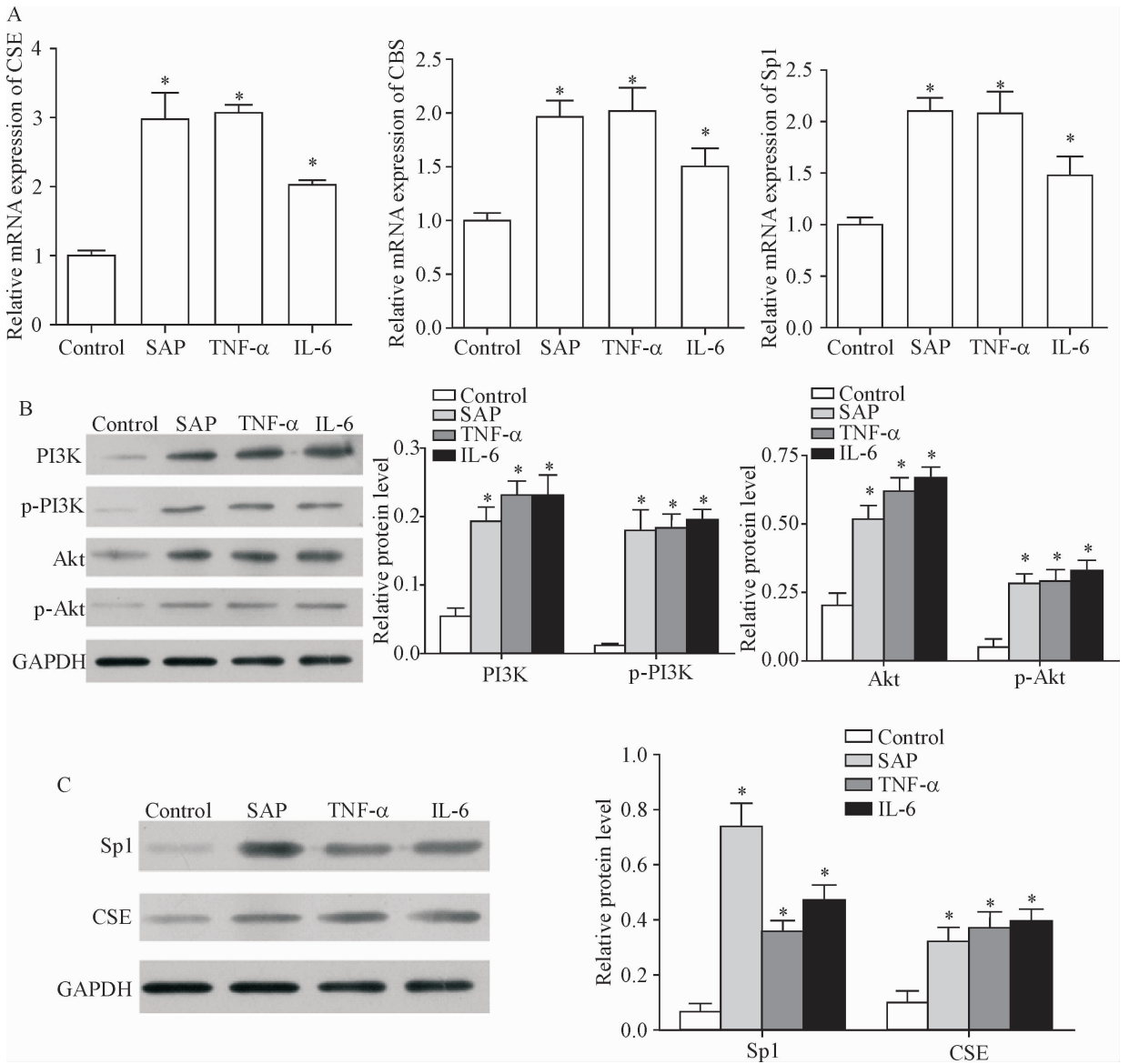


Figure 6. The expression of inflammatory cytokines and PI3K/Akt/Sp1 signaling pathway related molecules in the CMCs treated with 5% plasma from rats with SAP, TNF-α or IL-6. A: the relative mRNA expression of CSE, CBS and Sp1 was detected by RT-qPCR; B: the results of Western blot for determining the protein levels of PI3K, p-PI3K, Akt, p-Akt; C: the results of Western blot for determining the protein levels of Sp1 and CSE. Mean ± SD. n = 5. * P < 0.05 vs control group.

图 6 SAP 血浆、TNF-α 和 IL-6 促进肠道平滑肌细胞 PI3k/Akt/Sp1 信号通路激活及 H₂S 生成

症因子之间可能存在相关性。使用 SAP 大鼠血浆及 TNF-α 和 IL-6 分别培养肠道平滑肌细胞,均发现 CSE 和 CBS 表达上调。以上结果提示在 SAP 时 H₂S 可能为促炎因子,但导致 H₂S 为促炎因子的始动因素尚不清楚。

CSE 和 CBS 是内源性的 H₂S 主要合成酶,而在结肠以 CSE 表达为主^[6-7]。有研究发现 PI3K/Akt 通路可以通过 Sp1 调控 CSE 的表达^[7], IL-6 和 TNF-α 通过多种机制诱导 PI3K/Akt 通路的激活^[16-17]。本研究发现 SAP 血浆中 IL-6 和 TNF-α 升高,同时 PI3K/Akt 通路被激活且进一步上调了 Sp1 的表达,

从而促进了 CSE 蛋白的合成;采用 PI3K 的抑制剂 LY294002 可抑制 Sp1 活性及 CSE 合成。从而我们推测 SAP 时炎症介质的产生增加激活了 PI3K/Akt 通路,通过上调 Sp1 的表达从而使内源性 H₂S 产生增加。

综上所述, H₂S 可能参与 SAP 大鼠肠动力减退的发病机制,并且可能作为促炎因子加速了 SAP 炎症进程,肠道内源性 H₂S 的生成受炎症因子激活的 PI3K/Akt/Sp1 的信号通路影响。本研究初步表明 H₂S 在 SAP 的发病机制中可能具有重要作用,为探讨 SAP 肠功能紊乱的治疗方法提供了新的线索。

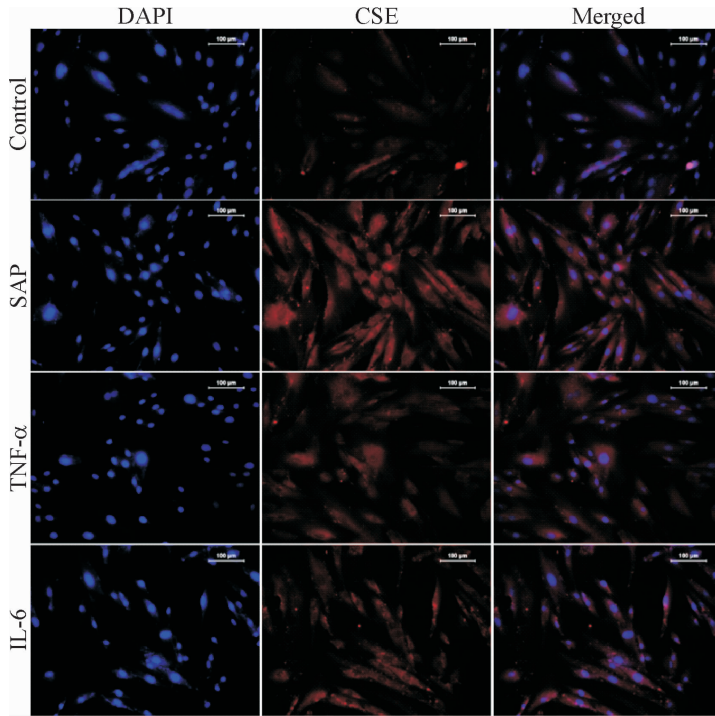


Figure 7. The expression and distribution of CSE in the CMCs treated with SAP plasma, TNF- α or IL-6 ($\times 200$).

图7 SAP 血浆、TNF- α 和 IL-6 促进肠道平滑肌细胞 CSE 表达

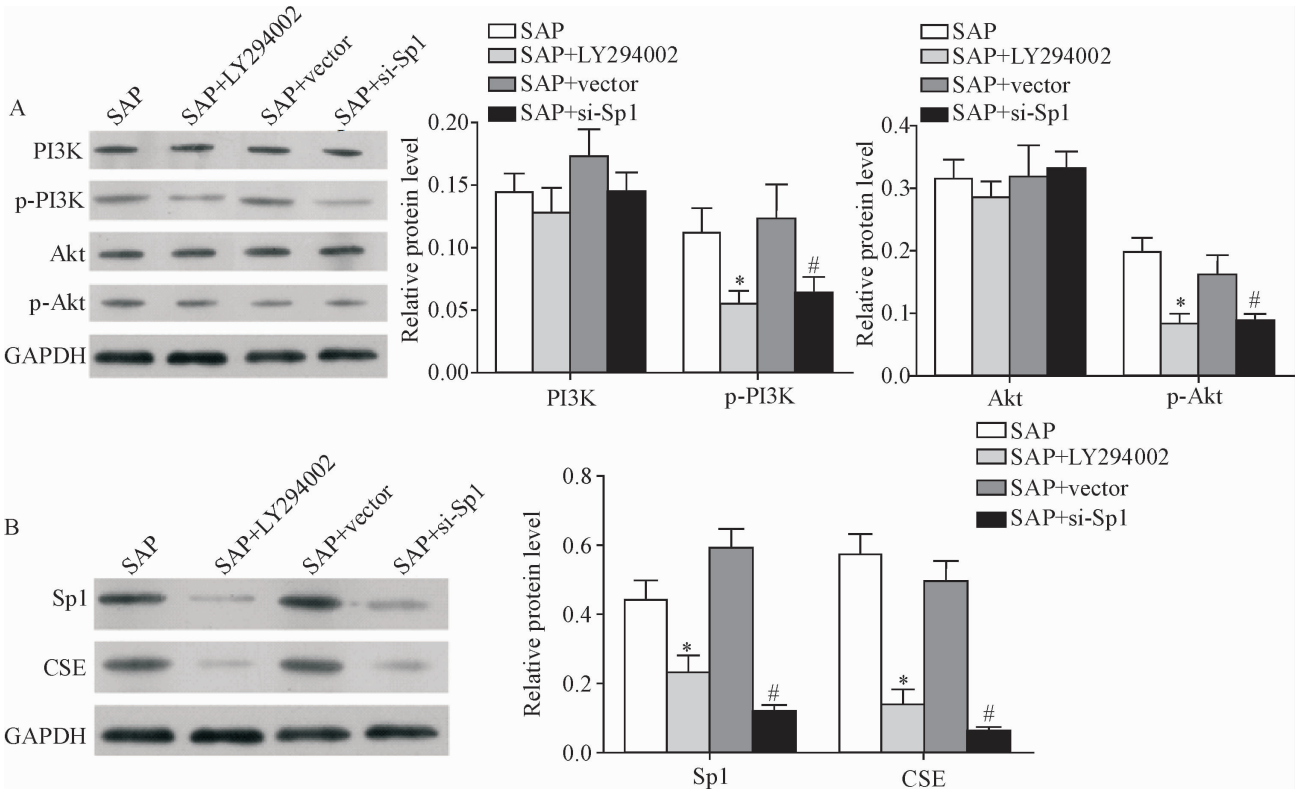


Figure 8. The protein levels of PI3K, Akt (A), Sp1 and CSE (B) in the CMCs treated with LY294002 or si-Sp1. Mean \pm SD. $n = 5$. * $P < 0.05$ vs SAP group; # $P < 0.05$ vs SAP + vector group.

图8 Western blot 检测 LY294002 处理及转染 Sp1 siRNA 后的 CMCs 内 PI3K/Akt/Sp1 信号通路及 CSE 的蛋白水平变化

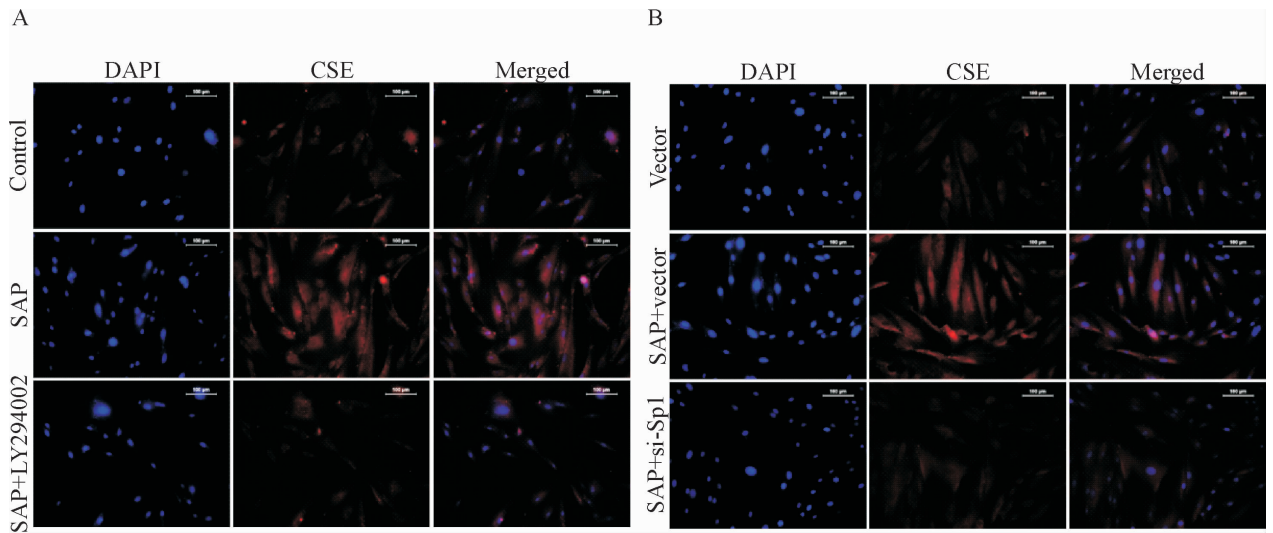


Figure 9. The expression and distribution of CSE in CMCs was limited by administration of PI3K inhibitor LY294002 (A) or Sp1 siRNA (B) as detected by immunofluorescence staining (×200).

图9 免疫荧光方法检测 LY294002 处理以及转染 Sp1 siRNA 后 CMCs 内 CSE 的表达和分布

【参 考 文 献】

[1] Carter DC. Acute and chronic pancreatitis: pathophysiology and management[M]. Diseases of the Gastrointestinal Tract and Liver. 3rd ed. 1997, 8.

[2] Andersson R, Wang XD. Gut barrier dysfunction in experimental acute pancreatitis[J]. Ann Acad Med Singapore, 1999, 28(1):141-146.

[3] Foitzik T. The enteral factor in pancreatic infection[J]. Pancreatology, 2001, 1(3): 217-223.

[4] Olson KR, Whitfield NL, Bearden SE, et al. Hypoxic pulmonary vasodilation: a paradigm shift with a hydrogen sulfide mechanism[J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2010, 298(1):R51-R60.

[5] Dombkowski RA, Naylor MG, Shoemaker E, et al. Hydrogen sulfide (H₂S) and hypoxia inhibit salmonid gastrointestinal motility: evidence for H₂S as an oxygen sensor[J]. J Exp Biol, 2011, 214(Pt 23):4030-4040.

[6] Liu Y, Luo HS, Liang CB, et al. Actions of hydrogen sulfide and ATP-sensitive potassium channels on colonic hypermotility in a rat model of chronic stress[J]. PLoS One, 2013, 8(2):e55853.

[7] Yin P, Zhao C, Li Z, et al. Sp1 is involved in regulation of cystathionine gamma-lyase gene expression and biological function by PI3K/Akt pathway in human hepatocellular carcinoma cell lines[J]. Cell Signal, 2012, 24(6): 1229-1240.

[8] Rosado JO, Salvador M, Bonatto D. Importance of the trans-sulfuration pathway in cancer prevention and promotion[J]. Mol Cell Biochem, 2007, 301(1-2):1-12.

[9] Wang R. Hydrogen sulfide: the third gasotransmitter in biology and medicine[J]. Antioxid Redox Signal, 2010, 12(9):1061-1064.

[10] Li L, Bhatia M, Moore PK. Hydrogen sulphide-a novel

mediator of inflammation? [J]. Curr Opin Pharmacol, 2006, 6(2):125-129.

[11] Tamizhselvi R, Moore PK, Bhatia M. Hydrogen sulfide acts as a mediator of inflammation in acute pancreatitis: in studies using isolated mouse pancreatic acinar cells[J]. J Cell Mol Med, 2007, 11(2): 315-326.

[12] Wallace JL, Caliendo G, Santagada V, et al. Gastrointestinal safety and anti-inflammatory effects of a hydrogen sulfide-releasing diclofenac derivative in the rat[J]. Gastroenterology, 2007, 132(1): 261-271.

[13] Tang GH, Wu LY, Liang WB, et al. Direct stimulation of KATP channels by exogenous and endogenous hydrogen sulfide in vascular smooth muscle cells[J]. Mol Pharmacol, 2006, 68(5):1757-1764.

[14] Standen NB, Quayle JM, Davies NW, et al. Hyperpolarizing vasodilators activate ATP-sensitive K⁺ channels in arterial smooth muscle[J]. Science, 1989, 245(4914): 177-180.

[15] Nelson MT, Quayle JM. Physiological roles and properties of potassium channels in arterial smooth muscle[J]. Am J Physiol, 1995, 268(4 Pt 1): C799-C822.

[16] Xu H, He Y, Yang X, et al. Anti-malarial agent artesunate inhibits TNF-alpha-induced production of proinflammatory cytokines via inhibition of NF-kappaB and PI3 kinase/Akt signal pathway in human rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes[J]. Rheumatology (Oxford), 2007, 46(6): 920-926.

[17] Lee CW, Lin CC, Lin WN, et al. TNF-alpha induces MMP-9 expression via activation of Src/EGFR, PDGFR/PI3K/Akt cascade and promotion of NF-kappaB/p300 binding in human tracheal smooth muscle cells[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2007, 292(3): L799-L812.

(责任编辑: 陈妙玲, 余小慧)