

硫化氢对 ATP 敏感性钾通道作用的研究进展

陈协辉 李 鹏 黄小平 王东明 许文敏 陈丽萍

硫化氢 (hydrogen sulfide, H_2S) 是继一氧化氮和一氧化碳后发现的体内第 3 个气体信号分子。许多实验证实它通过调节 ATP 敏感性钾通道产生调节血流、神经递质传递、免疫反应、激素分泌、肌收缩、炎症、疼痛、伤害感觉及凋亡等细胞效应。这篇综述目的是讨论 H_2S 在不同的病理和生理条件下调节 ATP 敏感性钾通道的机制及意义。

一、气体信号分子硫化氢

H_2S 是一种无色,臭鸡蛋气味的气体。生理浓度下有特定生理功能,已经证实其在神经、心血管、内分泌、消化等多个系统中具有特定的生理调节作用。 H_2S 在体内 1/3 以气体 H_2S 形式存在,2/3 以硫氢化钠 (NaHS) 形式存在, H_2S 与 NaHS 存在动态平衡。这样既保证了 H_2S 在体内的稳定,又不改变内环境的 pH 值。

二、ATP 敏感性钾离子通道

Noma 首先利用膜片钳技术在豚鼠心室肌细胞发现一种弱的内向整流钾通道,其特征是通道活性随胞内 ATP 浓度升高而被显著抑制,因此将其命名为 ATP 敏感性钾通道 (ATP-sensitive potassium channel, K_{ATP})。 K_{ATP} 可以分成 2 类:一是位于细胞膜上的 K_{ATP} (sarcolemmal K_{ATP} channel, sK_{ATP});二是位于线粒体膜上的 K_{ATP} (mitochondrial K_{ATP} channel, $mitoK_{ATP}$)。目前对 sK_{ATP} 结构研究较清楚,它是由 4 个内向整流钾通道亚单位 (inwardly rectified potassium channel, Kir) 和 4 个调节性磺酰脲类受体 (sulfonylurea receptor, SUR) 组成相对分子质量约为 9.5 kDa 的八聚体。Kir6.1 形成 K_{ATP} 通道的 K^+ 穿通孔道,家族中共有 6 个亚型 (Kir6.1 ~ Kir6.6)。Kir6.1 为高度保守序列,具有 ATP 结合抑制点,控制 K_{ATP} 通道对 K^+ 的选择性,也有 ATP 感受器的作用。SUR 是转运 ATP 酶超家族多相关耐药蛋白或 ATP 结合盒成员,是 K_{ATP} 开放剂或抑制剂与二磷酸核苷的作用靶点。

三、 H_2S 对 K_{ATP} 的调节

H_2S 能通过与血管平滑肌细胞、心肌细胞、胰腺 β 细胞、神经元、肠胃平滑肌细胞上的 ATP 敏感性钾通道作用,产生调节血管紧张度、心肌收缩力、胰岛素分泌、激素分泌、神经递质传递、肠胃平滑肌收缩等效应。同时 H_2S 还能通过作用于 ATP 敏感性钾通道产生抗炎、镇痛、抗凋亡等细胞保护作用。

1. H_2S 对心脏及血管 K_{ATP} 的作用:心脏产生的 H_2S 具有调节心功能的作用,NAHS 能保护体外培养的心肌细胞免受低氧引起的坏死,体内及体外实验证实 H_2S 诱导的负性肌力作用及降压作用能部分地被 K_{ATP} 拮抗剂格列本脲阻断^[1]。激活心肌细胞的 K_{ATP} 对预防不可逆的局部缺血及再灌注引起的心肌细胞损伤具有重要作用。有研究显示 NaHS 呈浓度依赖性的限制冠状动脉结扎的大鼠心肌梗死范围,这种保护作用能被 K_{ATP} 拮抗剂格列本脲和 5-HD 阻断^[2]。5-HD 是线粒体 K_{ATP} 阻断剂,同时发现它还具有对抗 H_2S 抗凋亡作用。这些研究显示 H_2S 的心脏保护作用至少部分通过激活 K_{ATP} 起作用。膜片钳技术带来的更直接的电生理证据证明 H_2S 对 K_{ATP} 的作用。在单个心肌细胞中,NAHS 能通过增加 K_{ATP} 的开放概率,而不是改变它的电导率来增加的 K_{ATP} 活性。 H_2S 增加 K_{ATP} 的开放概率的效应能被格列本脲阻断。 H_2S 的心脏保护作用不仅是通过激活心肌细胞的 K_{ATP} ,同时与激活 (ERK) and/or Akt 通路相关。虽然 PKC 不参予 H_2S 诱导的血管舒张,但 H_2S 能通过激活 PKC 保护心肌细胞免受缺血再灌注损伤^[3]。 H_2S 的预处理激活心肌细胞 PKC 3 种亚型 (α 、 ϵ 和 δ),推测 PKC 兴奋心脏保护作用可能与 H_2S 诱导的 K_{ATP} 激活相关。激活 K_{ATP} 是否是激活 PKC 的上游仍需进一步研究。大量的研究显示 H_2S 能产生血管舒张效应。这个结果来源于 K_{ATP} 拮抗剂格列本脲能抑制 H_2S 的血管舒张效应^[4]。电生理研究直接证明外源性 H_2S 能增加 K_{ATP} 电流,这种作用同样能被格列本脲抑制^[5]。 H_2S 诱导的细胞膜超极化也能被格列本脲抑制。此外,研究显示 H_2S 的血管舒张效应是内皮依赖性的,也可能是通过释放 NO 或者内皮依赖性

基金项目:广东省科技重点攻关项目 (2008B080702015);深圳市科技计划项目 (ZYC200903200031A);深圳市福田区科技计划项目 (FTWS025)

作者单位:518049 深圳市福田区第二人民医院

超极化因子,这也就解释为什么 H_2S 对大鼠主动脉的舒张效应是部分通过作用于 K_{ATP} ^[6]。最近有研究显示 H_2S 能通过与细胞外 SUR_1 亚型的半胱氨酸残基相互作用,激活克隆的 rvKir6.1/rvSUR1 通道。同血管平滑肌相似, H_2S 也能舒张结肠平滑肌,吡那地尔能产生相同的效应,但这种效应能被格列本脲阻断^[7]。值得注意的是 H_2S 收缩特定的血管及非血管组织,不通过 ATP 敏感性钾通道。 H_2S 能通过作用于初级感觉神经元的 capsaicin 依赖性 TRPV1 通道,呈剂量依赖性收缩大鼠膀胱。低剂量的 H_2S (10 ~ 20 $\mu\text{mol/L}$) 能通过抑制 NO 活性或抑制 NO 合酶收缩大鼠主动脉和人类内乳动脉。

2. H_2S 对胰腺 β 细胞 K_{ATP} 作用: K_{ATP} 在胰腺 β 细胞分泌胰岛素的过程中发挥重要作用。降低 INS-1E 细胞(来源于大鼠胰岛素细胞瘤)的 H_2S 水平能明显减少 K_{ATP} 电流,这种效应能被格列齐特阻断^[8]。在 INS-1E 细胞过表达 CSE 基因促进内源性 H_2S 表达能增加细胞 K_{ATP} 通道电流。通过膜片钳技术提示外源性 H_2S 能明显地将 K_{ATP} 通道开放频率增加 2 倍以上,但是不改变 K_{ATP} 通道单通道电导率及对 ATP 的敏感性。更进一步,不管是外源性的 H_2S ,还是通过转染 CSE 基因到 INS-1E 细胞促进内源性 H_2S 表达,都能减少细胞受葡萄糖刺激引起的胰岛素分泌^[9]。

3. H_2S 作用于 K_{ATP} 引起的抗炎作用:低剂量的 H_2S (向腹膜内注射 10 $\mu\text{mol/kg}$) 能明显地抑制非甾体抗炎药诱导的白细胞黏附,这种效应能被格列本脲阻断。NaHS 和 Na_2S 能单独抑制大鼠肠系膜炎引起的白细胞黏附,这种效应同样能被格列本脲阻断^[10]。血浆渗出导致水肿是炎症的标志之一,角叉藻聚糖诱导的气道水肿能被 NaHS 和 Na_2S 抑制,而氰丙氨酸(一种 CSE 抑制剂)具有相反作用。而 NaHS 和 Na_2S 抑制炎性水肿作用能被格列本脲抑制,这提示 H_2S 抑制 K_{ATP} 至少部分参与治疗水肿的病理过程。疼痛也是炎症的特点之一, K_{ATP} 激活是非甾体抗炎药镇痛机制之一^[11]。非甾体抗炎药减少胃黏膜 CSE 表达及 H_2S 合成。格列本脲和 PPG 加重非甾体抗炎药诱导的胃损伤,而吡那地尔具有抑制非甾体抗炎药诱导的胃损伤。因此 H_2S 可能通过激活 K_{ATP} 产生预防非甾体抗炎药诱导的胃损伤的作用,具有调节胃微循环及抗炎反应作用^[12]。

4. H_2S 对神经系统 K_{ATP} 的作用: H_2S 对神经系统离子通道的效应是复杂的^[13]。NAHS 对 CA1 的超极化神经元和背缝神经核具有毒性作用。这个效应可

能通过与不同的 K^+ 通道作用增加 K^+ 内流。 H_2S 能通过激活谷氨酸受体及钙蛋白酶来促进初级神经元坏死。钙蛋白酶是钙激活的中性蛋白酶,它能调节基因转录、信号传导、细胞增生等^[14]。相反, H_2S 能保护皮质神经元被谷氨酸盐介导的毒性作用。 H_2S 与细胞膜上的 K_{ATP} 作用产生的神经保护作用及对抗谷氨酸盐介导的毒性作用的证据可能有以下几方面:① H_2S 保护 HT₂₂ 细胞免受氧化应激引起作用能被格列本脲剂量依赖性抑制;②吡那地尔剂量依赖性抑制谷氨酸盐介导的毒性作用;③同时应用吡那地尔和 H_2S 能增加神经保护作用,与细胞外半胱氨酸与吡那地尔共用一样。 H_2S 对 K_{ATP} 通道线粒体通道的激动剂及阻滞剂不起作用,提示线粒体 K_{ATP} 通道不参与保护作用^[15]。

5. H_2S 对线粒体 K_{ATP} SUR 亚单位的直接作用: H_2S 可能与靶蛋白的半胱氨酸残基作用而增加蛋白活性。另一方面,DTT 还原剂在 INS-1E 细胞中不能模拟 H_2S 对 K_{ATP} 通道的激活作用,因此不支持 H_2S 与 K_{ATP} 通道相互作用是还原机制。目前研究热点是 H_2S 对 K_{ATP} 通道的分子作用靶点,在 HEK-293 细胞, H_2S 对 rvKir6.1 通道不起作用^[16]。只有将 rvSUR1 基因与 rvKir6.1 基因共表达产生 rvSUR1 亚单位, H_2S 才对 K_{ATP} 通道起作用。因此 rvSUR1 亚单位是 H_2S 在 K_{ATP} 通道的作用靶点^[17]。 H_2S 对 rvKir6.1/rvSUR1 刺激作用能被巯基烷化剂 NEM 取消。NEM 是不能通过细胞膜。NEM 单独对 rvKir6.1/rvSUR1 通道电流不起作用。推测当缺乏 H_2S 时,细胞外 SUR1 亚基环上的巯基将不能被 NEM 利用^[18]。 H_2S 能破坏半胱氨酸残基间的二硫键,使 NEM 能与巯基相互作用。有研究利用突变方法将结构相似的丝氨酸残基代替细胞外半胱氨酸残基,在这些 SUR1 亚基上被替换的半胱氨酸残基中(定位在 6、26、1051 和 1057),只有 C6 或 C26 上的半胱氨酸残基被替换后, K_{ATP} 通道对 H_2S 敏感性会丢失,这证实这两个位点是 H_2S 在 K_{ATP} 通道的靶点。目前尚不清楚它们之间是否存在二硫键,还是它们与其他 Kir6.1 亚基上的半胱氨酸残基形成二硫键起作用。同样还不清楚的是, H_2S 诱导激活 K_{ATP} 通道是通过直接破坏二硫键,还是 H_2S 与暴露的半胱氨酸自由基形成 S-氢硫化物。

四、展 望

目前证实 H_2S 能通过激动心血管系统、内分泌系统、神经系统的 K_{ATP} 产生相关效应,但是机制尚不明白,需进一步研究。探讨在不同的病理及生理条件

下 H_2S 对 K_{ATP} 的不同作用是目前的研究热点。随着我们对其合成、代谢情况的深入了解,对其生理功能和药理作用的全面揭示,及对其作用机制的进一步阐明, H_2S 必将有着广阔的治疗性应用前景。

参考文献

- Mustafa AK, Gadalla MM, Snyder SH. Signaling by gasotransmitters. *Sci Signal*,2009,2(68): re2:1-17
- Zhang Z, Huang H, Liu P, Tang C, Wang J. Hydrogen sulfide contributes to cardioprotection during ischemia - reperfusion injury by opening K_{ATP} channels. *Can J Physiol Pharmacol*,2007,85(12):1248-1253
- Zanardo RC, Brancaleone V, Distrutti E, *et al.* Hydrogen sulfide is an endogenous modulator of leukocyte - mediated inflammation. *FASEB J*,2006,20(12):2118-2120
- Hu Y, Chen X, Pan TT, *et al.* Cardioprotection induced by hydrogen sulfide preconditioning involves activation of ERK and PI3K/Akt pathways. *Pflugers Arch*,2007,455(4):607-616
- Pan TT, Neo KL, Hu LF, Yong QC, Bian JS. H₂S preconditioning - induced PKC activation regulates intracellular calcium handling in rat cardiomyocytes. *Am J Physiol Cell Physiol*,2008,294(1):C169-177
- Kimura Y, Kimura H. Hydrogen sulfide protects neurons from oxidative stress. *FASEB J*,2004,18(10):1165-1657
- Webb GD, Lim LH, Oh VM *et al.* Contractile and vasorelaxant effects of hydrogen sulfide and its biosynthesis in the human internal mammary artery. *J Pharmacol Exp Ther*,2008,324(2):876-882
- Yang W, Yang G, Jia X, Wu L, Wang R. Activation of K_{ATP} channels by H_2S in rat insulin - secreting cells and the underlying mechanisms. *J Physiol*,2005,569(Pt 2):519-531
- Xu M, Wu YM, Li Q, *et al.* Electrophysiological effects of hydrogen sulfide on pacemaker cells in sinoatrial nodes of rabbits. *Sheng Li Xue Bao (Acta Physiol Sin)*,2008,60(2):175-180
- Distrutti E, Sediari L, Mencarelli A, *et al.* 5 - Amino - 2 - hydroxybenzoic acid 4 - (5 - thioxo - 5H - [1,2] dithiol - 3yl) - phenyl es-

- ter (ATB - 429), a hydrogen sulfide releasing derivative of mesalamine, exerts antinociceptive effects in a model of postinflammatory hypersensitivity. *J Pharmacol Exp Ther*,2006,319(1):447-458
- Sivarajah A, Collino M, Yasin M, *et al.* Anti - apoptotic and anti - inflammatory effects of hydrogen sulfide in a rat model of regional myocardial I/R. *Shock*,2009,31(3):267-274
- Cheung NS, Peng ZF, Chen MJ, *et al.* Hydrogen sulfide induced neuronal death occurs via glutamate receptor and is associated with calpain activation and lysosomal rupture in mouse primary cortical neurons. *Neuropharmacology*,2007,53(4):505-514
- Johansen D, Ytrehus K, Baxter GF. Exogenous hydrogen sulfide (H_2S) protects against regional myocardial ischemia - reperfusion injury Evidence for a role of K_{ATP} channels. *Basic Res Cardiol*,2006,101(1):53-60
- Pan TT, Feng ZN, Lee SW, *et al.* Endogenous hydrogen sulfide contributes to the cardioprotection by metabolic inhibition preconditioning in the rat ventricular myocytes. *J Mol Cell Cardiol*,2006,40(1):119-130
- Distrutti E, Sediari L, Mencarelli A, *et al.* Evidence that hydrogen sulfide exerts antinociceptive effects in the gastrointestinal tract by activating K_{ATP} channels. *J Pharmacol Exp Ther*,2006,316(1):325-335
- Whiteman M, Li L, Kostetski I, *et al.* Evidence for the formation of a novel nitrosothiol from the gaseous mediators nitric oxide and hydrogen sulphide. *Biochem Biophys Res Commun*,2006,343(1):303-310
- Tang G, Wu L, Liang W, *et al.* Direct stimulation of K_{ATP} channels by exogenous and endogenous hydrogen sulfide in vascular smooth muscle cells. *Mol Pharmacol*,2005,68(6):1757-1764
- Mustafa AK, Gadalla MM, Sen N, *et al.* H_2S signals through protein S - sulfhydration. *Sci Signal*,2009,2(96):ra72:1-8

(收稿:2010-04-19)

(修回:2010-04-27)

酒精依赖治疗的研究进展

高丽波 钟树荣 包建军 景 强

酒精现已成为世界范围内被普遍滥用的一种物质。目前,美国每年由酒精引发疾病造成的死亡人数为 10 万人,有 810 万人喝酒成瘾^[1]。在我国每 65 个

家庭中就有一个家庭受到酒精依赖的折磨,每年因酒精中毒的人数逾千万。大规模流行病学调查研究表明^[2-4]:全球酒精消费发展的总体趋势是西方发达国家人均年饮酒量大幅度下降,发展中国家人均年饮酒量逐步地上升;在中国酒精消费的职业构成以工人农民为主,但所占比重逐年下降;而干部、科技人员、个体工商业者、无业人员比重反而有增大趋势,且近几年来高文化层次结构的人对酒精消费的量呈上涨趋势;青年饮酒所占的比重越来越大,并有低龄化的倾

基金项目:云南省自然科学基金资助(2007C223M);云南省教委基金(07Z10336);昆明医学院研究生创新基金资助(KM2008J02);云南省自然科学基金资助(2009CD211)

作者单位:650500 昆明医学院法医学院(高丽波、钟树荣、景强);云南省精神病医院(包建军)

通讯作者:景强,电子信箱:zengshi6@public.km.yn.cn