

硫化氢在细胞自噬中的作用及机制

魏亚新 矫立杰 李鸿珠

摘要 硫化氢(hydrogen sulfide, H_2S)是一种无色、有臭鸡蛋味的气体,是继一氧化氮、一氧化碳之后被发现的第3种内源性气体信号分子,近年来成为研究热点。生理浓度下的 H_2S 参与多种重要的生理反应且 H_2S 的代谢失调与多种疾病的发生、发展有着密不可分的关系,例如糖尿病、神经退行性疾病、癌症等。自噬是一种复杂的胞内过程,是细胞的一种保护机制,过高或过低的自噬水平均可以导致细胞死亡。多项研究表明, H_2S 可以调节细胞自噬,进而影响疾病的进展,本文着重总结此方面的内容。

关键词 硫化氢 自噬 AMPK - mTOR PI_3K - Akt - mTOR

中图分类号 R3 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2020.12.005

一直以来,硫化氢(hydrogen sulfide, H_2S)以一种有毒有害气体为人们所熟知,近年来发现 H_2S 是一种内源性气体信号分子,具有抗氧化、调节炎症反应、抗纤维化、舒张血管、血管重塑等生理作用,也可调节细胞增殖和凋亡^[1,2]。基础水平的细胞自噬是细胞实现自身代谢和细胞器更新的重要生理过程。细胞自噬在不同状态、不同细胞中表达水平不尽相同,其异常表达与多种疾病密切相关^[3,4]。据报道, H_2S 通过调控多种机制影响细胞自噬,在多种疾病的发生、发展中起着重要的作用。

一、细胞自噬

细胞自噬(autophagy)普遍存在于真核生物中,是细胞吞噬自身胞质蛋白和损坏的细胞器并降解的

过程(图1)。根据细胞自噬发生机制的不同可将细胞自噬分为微自噬、巨自噬和分子伴侣介导的自噬,巨自噬便是研究通常所说的自噬^[4]。在自噬诱导的过程中首先形成了双层膜结构的自噬前体,自噬前体不断延伸直至闭合形成自噬体并包裹待降解物质,随后自噬体与溶酶体融合,内容物在水解酶作用下被降解。基础水平的细胞自噬是细胞的一种保护机制,参与机体内环境稳态的调节:(1)自噬具有使细胞耐受饥饿的作用:细胞处于饥饿状态时,胞内蛋白质和细胞器在自噬的调控下被水解酶降解并释放,为细胞提供必需的营养物质^[5]。(2)细胞自噬参与胞内脂质、蛋白质等大分子的代谢循环^[6]。(3)细胞自噬可以参与RNA的降解等^[7]。

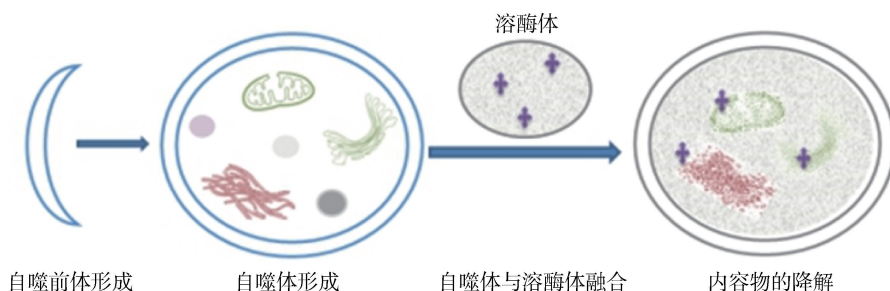


图1 自噬的诱导过程

二、 H_2S 的产生及其作用

H_2S 的内源性合成主要依赖于 H_2S 合成酶催化其

底物 L-半胱氨酸和同型半胱氨酸生成。胱硫醚- β -合成酶(cystathionine- β -synthetase, CBS)、胱硫醚- γ -裂解酶(cystathionine- γ -lyase, CSE)、3-巯基丙酮酸转硫酶(3-mercaptopyruvate sulfurtransferase, 3-MST)是体内催化 H_2S 合成的3种主要酶类^[8]。 H_2S 是机体内重要的信号传递分子,对多种组

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81770486)

作者单位:150086 哈尔滨医科大学

通讯作者:李鸿珠,教授,博士生导师,电子信箱:hongzhuli61@

163.com

织器官具有重要的保护作用。例如, H_2S 可抑制动脉粥样硬化、心力衰竭、糖尿病肾病、肝癌、肺损伤及脑损伤等^[1,2,9-12]。 H_2S 发挥作用的机制主要包括抑制细胞增殖、调节凋亡、调节炎症反应、抗氧化、调控线粒体通透转运、调控离子通道及在细胞内信号转导等^[1,2]。除此之外, H_2S 调控细胞自噬也是其发挥作用的重要机制。

三、 H_2S 通过调控细胞自噬发挥生物学功能

H_2S 可以通过调节细胞自噬发挥抗肿瘤作用, 使用外源性 H_2S 上调了人黑色素瘤细胞系 A375、SK-MEL-28 细胞自噬的表达且抑制黑色素瘤的进展, 而进一步敲低自噬相关基因 ATG7 的表达不仅抑制了细胞自噬的活化, 更促进了细胞凋亡, 表明 H_2S 的抗肿瘤作用至少部分是通过促进肿瘤细胞自噬实现的, 这可能成为治疗黑色素瘤的新的突破点^[13]。糖尿病时长期存在的高血糖易导致其他组织如心脏、肾脏和神经系统等的病变和功能障碍, 这些并发症往往是导致糖尿病患者死亡的真正原因。 H_2S 可以通过调控自噬抑制糖尿病心血管病变、糖尿病肾病等的发生、发展^[10,14,15]。 H_2S 还通过对血管平滑肌细胞自噬的调节发挥动脉粥样硬化的保护作用^[15]。此外 NaHS 可以增加老年心脏的自噬, 从而恢复缺血后适应对老年心肌细胞的保护作用^[1]。另外, H_2S 通过影响自噬在肝癌、呼吸衰竭、脑部疾病等疾病过程中起着调节作用。综上所述, H_2S 通过调控自噬在多种疾病中发挥着重要的调节作用。

四、 H_2S 调控自噬的机制

H_2S 通过多种信号通路调控细胞自噬, 其主要通过单磷酸腺苷蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK)-雷帕霉素的哺乳动物靶标 (mammalian target of rapamycin, mTOR)、磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI_3K)-蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB/Akt)-mTOR、 PI_3K -血清和糖皮质激素应答激酶-1 (glucocorticoid response kinase-1, SGK1)-糖原合酶激酶 (glycogen synthase kinase-3, GSK3 β)、丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK)、核因子- κB (nuclear factor kappa-B, NF- κB) 信号通路等途径调控细胞自噬^[1]。

1. AMPK-mTOR 信号通路: AMPK-mTOR 信号通路是参与细胞自噬调节的重要信号通路。mTOR 是自噬诱导过程中关键的负调节因子, 它的活化可以抑制细胞自噬。AMPK 感应细胞内能量状态, 可以通

过磷酸化 ULK1 并与 ULK1 结合, 抑制 mTOR 的活化继而诱导细胞自噬^[16]。外源性 H_2S 可以通过激活 AMPK-mTOR 信号通路增强细胞自噬, 恢复由链脲佐霉素 (streptozocin, STZ) 诱导的糖尿病大鼠模型中心肌细胞的自噬水平, 改善高糖血症引起的呼吸链损伤、抑制细胞凋亡, 从而改善糖尿病心肌病的细胞损伤^[14]。NaHS 还可以通过抑制 AMPK-mTOR 通路的活化, 下调高糖环境下血管平滑肌细胞的过度自噬, 提高细胞活力, 进而对 2 型糖尿病中血管平滑肌产生保护作用^[15]。 H_2S 在不同细胞中对细胞自噬展现出两种截然相反的效应, 这可能与细胞的基础自噬水平不同及 H_2S 的来源不同等因素有关, 内源性 H_2S 与外源性 H_2S 是否对细胞自噬产生相同的效果还有待证明。

2. PI_3K -Akt-mTOR 信号通路: mTOR 也受 PI_3K -Akt 的调节。mTORC1 和 mTORC2 分别是 mTOR 存在的两种复合物形式, 二者发挥不同的作用。其中 mTORC1 主要调节细胞生长、能量代谢, 是 Akt 的下游信号分子, 且磷酸化的 Akt 可以激活 mTORC1^[17]。已有多项研究证实 PI_3K -Akt-mTOR 信号通路参与对细胞自噬的调节。而 H_2S 可以通过 PI_3K -Akt-mTOR 信号通路调节细胞自噬。 H_2S 激活 PI_3K -Akt-mTOR 信号通路并抑制了颅脑损伤 (traumatic brain injury, TBI) 诱导的细胞自噬过表达, 并通过促进轴突再生、恢复线粒体功能和减少 TBI 诱导的神经细胞死亡以发挥神经保护作用^[12]。有研究表明, NaHS 上调肝癌细胞 HepG2、HLE 中的 LC3 II、ATG5 蛋白的表达, 下调 p62 蛋白的表达并抑制了 PI_3K -Akt-mTOR 信号通路的活性, 这与自噬激动剂雷帕霉素的作用相似^[18]。表明 H_2S 可以通过抑制 PI_3K -Akt-mTOR 信号通路的活性, 上调肝癌细胞自噬并发挥抗肿瘤作用。由此可见, H_2S 通过 PI_3K -Akt-mTOR 信号通路对细胞自噬的调控作用具有双面性, 不同的细胞作用不同。

3. PI_3K -SGK1-GSK3 β 信号通路: SGK1 拥有与 Akt 相似的催化结构域, 与 Akt 共享多种下游底物, 二者都可以被 PI_3K 激活。GSK3 β 是 SGK1 和 Akt 的重要下游信号传递分子, 其参与了对自噬的调节^[19]。有研究指出 NaHS 抑制低氧/复氧 (hypoxia/reoxygenation, H/R) 处理的心肌细胞自噬相关基因 (ATG5、Beclin-1、Atg9) mRNA 的表达, 降低了 H/R 诱导的新生大鼠心肌细胞自噬的过度活化并发挥心肌保护作用, 这种保护作用至少部分是 H_2S 通过调节 PI_3K -

SGK1 – GSK3 β 信号通路并抑制细胞自噬实现的^[19]。

4. MAPK 信号通路: MAPK 是一组丝氨酸 – 苏氨酸蛋白激酶, 是细胞内外信号传递的重要信号分子, 包括细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinases, ERK)、应激活化蛋白激酶 (stress – activated protein kinase, SAPK/JNK)、p38MAPK, MAPK 信号通路参与多种重要的细胞生理病理过程^[20]。NaHS 预处理减轻肝脏缺血/再灌注 (ischemia/reperfusion, I/R) 损伤, 减少肝细胞凋亡, 此外 NaHS 预处理显著降低了蛋白 LC3、Beclin – 1 的表达并抑制 JNK1 的磷酸化。表明 JNK1 信号通路的活性被抑制可能是 H₂S 对肝脏 I/R 损伤产生保护作用的相关机制, 且这种保护作用与自噬有关^[21]。使用循环菌株法处理的肺泡上皮细胞 L2 细胞中检测到 p38MAPK、JNK、ERK 表达水平上调, H₂S 治疗后抑制了其表达并抑制了循环菌株诱导的自噬水平增加, 表明 H₂S 可能通过 MAPK 信号通路调节细胞自噬^[2]。虽然已经有实验证明 JNK 信号通路参与了 H₂S 对细胞自噬的调节, 但是目前还没有直接证据能够证明 p38MAPK、ERK 信号通路参与了 H₂S 对细胞自噬的调节, 这为细胞自噬受 H₂S 调节相关机制的研究作出了可能的假设^[21]。

5. NF – κ B 信号通路: NF – κ B 是一种转录因子, 感知细胞内外各种刺激并做出反应, 可调节许多涉及炎症反应、免疫应答的基因, 并与癌症的发展有关^[22]。此外, NF – κ B 信号通路还参与了对细胞自噬的调节。通过腹腔注射 NaHS 治疗降低了由 STZ 诱导的自噬标记蛋白 LC3、Atg3、Atg5、Atg7、Atg12 和 Atg16 的表达, 降低了细胞自噬活性和 NF – κ B 信号通路的活化, 这证实 H₂S 通过调节 NF – κ B 信号通路影响细胞自噬, 为 H₂S 调控细胞自噬机制的研究及糖尿病的治疗提供了新的思路^[10]。

6. 其他: 自由基产生过多或者清除不及时导致自由基的过度累积可诱导细胞的氧化应激, 而过度的氧化应激可以导致细胞自噬的活化。NaHS 预处理可以降低 H₂O₂ 诱导的成纤维细胞的自噬, 清除胞内 ROS, 降低细胞损伤, 这种保护作用至少部分是通过直接抑制 ROS 的产生并保持线粒体功能来实现的, 这表明 H₂S 可以通过减少 ROS 的形成来抑制细胞自噬。此外, H₂S 还可以通过清除 ROS 间接地影响细胞自噬。在单侧输尿管梗阻 (unilateral ureteral obstruction, UUO) 的小鼠模型中观察到 ROS 累积和自噬的过度活化, AMPK 感知胞内能量状态, 可由过度

累积的 ROS 激活进而诱导细胞自噬。NaHS 治疗不仅改善了 UUO 小鼠肾脏组织学改变, 上调 CBS、CSE 两种 H₂S 合成酶的表达并提高血清 H₂S 水平, 而且减少 ROS 的产生抑制了细胞自噬的过度激活。表明 H₂S 可以通过抑制 ROS – AMPK 的过度激活进而抑制细胞自噬, 证明 H₂S 在阻塞性肾病中通过细胞自噬发挥保护作用, 有助于对肾脏疾病的治疗提供新疗法。

五、展 望

细胞自噬是哺乳动物细胞中一组复杂的胞内生理过程, 于机体稳定具有重要意义。H₂S 可以直接或间接地通过 AMPK – mTOR、PI₃K – Akt – mTOR 等多种信号通路调节细胞自噬的表达水平。虽然目前对 H₂S 调控细胞自噬的相关机制尚没有一个完整系统的认知, 但是 H₂S 已被证实具有调节炎症反应、促进血管舒张、抗氧化应激、抗纤维化、调节细胞增殖和凋亡等重要的生理作用。同时, H₂S 通过对细胞自噬的调节在多种疾病如肿瘤、糖尿病等疾病过程中发挥保护作用, 这为多种疾病的防治提供了新思路和新靶点。

参考文献

- 1 Luo W, Gui DD, Yan BJ, *et al.* Hydrogen sulfide switch phenomenon regulating autophagy in cardiovascular diseases [J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2020, 34(1): 113 – 121
- 2 Ge X, Sun J, Fei A, *et al.* Hydrogen sulfide treatment alleviated ventilator – induced lung injury through regulation of autophagy and endoplasmic reticulum stress [J]. *Int J Biol Sci*, 2019, 15(13): 2872 – 2884
- 3 瞿利花, 陈超, 陈阳晔, 等. 自噬在急性肺损伤炎症中的研究进展 [J]. *医学研究杂志*, 2019, 48(6): 14 – 17
- 4 Todde V, Veenhuis M, van der Klei IJ. Autophagy: principles and significance in health and disease [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1792(1): 3 – 13
- 5 李翘翘, 李力群, 黄春霞, 等. 自噬通过抑制凋亡促进体外饥饿状态下脂肪细胞存活 [J]. *中国病理生理杂志*, 2015, 31(12): 2228 – 2232
- 6 Khawar MB, Gao H, Li W. Autophagy and lipid metabolism [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1206: 359 – 374
- 7 Frankel LB, Lubas M, Lund AH. Emerging connections between RNA and autophagy [J]. *Autophagy*, 2017, 13(1): 3 – 23
- 8 Rose P, Moore PK, Zhu YZ. H₂S biosynthesis and catabolism: new insights from molecular studies [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2017, 74(8): 1391 – 1412
- 9 Zhang L, Wang Y, Li Y, *et al.* Hydrogen sulfide (H₂S) – releasing compounds: therapeutic potential in cardiovascular diseases [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 1066

(下转第 149 页)

错误中学习正确的手术知识和方法,这些 VR 技术都非常受医学生的欢迎,具有很大的发展潜力。

四、展 望

VR 技术代表了医学教育的未来,尽管这项技术还处于起步阶段,但目前的教学应用已经证明了 VR 是有效的教学工具。在急诊医学教学中要充分发挥 VR 技术的交互性、沉浸感和构想性的特点,通过 VR 技术进行培训以提高医学生的学习兴趣,增强临床技能操作能力。随着计算机和工程技术的飞速发展,VR 已经体现出在医学教育方面巨大的发展潜力。虽然 VR 具有成本高和容易导致学生视觉疲劳等缺点,但随着科学技术的发展,这些问题一定会得到解决。目前在 VR 基础上发展的增强现实(augmented reality,AR)技术和混合现实(mix reality,MR)技术也逐步应用于医学教育,这些技术把虚拟世界和真实世界结合起来,互相弥补不足,能够提高临床教学效果,随着 VR、AR 和 MR 技术的广泛应用,将显著提高我国的医学教育水平。

参考文献

- 张珂嘉,王志丹,魏予昕. 虚拟现实技术在孤独症患儿中的应用进展[J]. 护理研究, 2020, 34(6): 1026-1029
- Freeman D, Reeve S, Robinson A, *et al.* Virtual reality in the assessment, understanding, and treatment of mental health disorders[J]. Psychol Med, 2017, 47(14): 2393-2400
- 范益,孙秀兰. 虚拟现实的时代:模拟医学教育的机遇与挑战[J]. 南京医科大学学报:社会科学版, 2018, 18(2): 156-158
- 吴满婷,曾庆,李荣东,等. 虚拟现实技术在脑卒中后下肢康复的应用进展[J]. 广东医学, 2019, 40(15): 2125-2129
- 王晓露,陈锋,邓琪. 沉浸式虚拟现实技术在药学实验教学中的应用[J]. 中华医学教育杂志, 2020, 40(2): 111-114
- Völter S, Krämer KL. Virtual reality in medicine[J]. Radiologe, 1995, 35(9): 563-568
- Ungar OJ, Handzel O, Haviv L, *et al.* Optimal head position following intratympanic injections of steroids, as determined by virtual reality[J]. Otolaryngol Head Neck Surg, 2019, 161(6): 1012-1017
- Pottle J. Virtual reality and the transformation of medical education[J]. Future Health J, 2019, 6(3): 181-185
- 任鹏鹏,张启栋. 虚拟现实技术在骨科领域的研究进展[J]. 中国矫形外科杂志, 2018, 26(21): 1980-1983
- 张军,唐茂芝,张湖海,等. 三维动画模式 PPT 在肾内科教学的应用[J]. 医学研究杂志, 2020, 49(1): 178-180, 177
- 王长远,王征,朱丹丹,等. PBL 结合高仿真电脑模拟人在医学生急诊实习中的应用[J]. 医学研究杂志, 2019, 48(11): 192-194
- 曹怡妹,王长远,王晶,等. 生理驱动高仿真模拟人在全科医生急救非技术技能培训中的应用[J]. 中华全科医学, 2019, 17(1): 1-3, 86
- Aim F, Lonjon G, Hannouche D, *et al.* Effectiveness of virtual reality training in orthopaedic surgery[J]. Arthroscopy, 2016, 32(1): 224-232
- Wang M, Tang W, Zhu YZ. An update on AMPK in hydrogen sulfide pharmacology[J]. Front Pharmacol, 2017, 8: 810
- Xu F, Na L, Li Y, *et al.* Roles of the PI₃K/Akt/mTOR signalling pathways in neurodegenerative diseases and tumours[J]. Cell Biosci, 2020, 10: 54
- Wang SS, Chen YH, Chen N, *et al.* Hydrogen sulfide promotes autophagy of hepatocellular carcinoma cells through the PI₃K/Akt/mTOR signaling pathway[J]. Cell Death Dis, 2017, 8: e2688
- Jiang H, Xiao J, Kang B, *et al.* PI₃K/SGK1/GSK3 β signaling pathway is involved in inhibition of autophagy in neonatal rat cardiomyocytes exposed to hypoxia/reoxygenation by hydrogen sulfide[J]. Exp Cell Res, 2016, 345(2): 134-140
- Kim EK, Choi EJ. Compromised MAPK signaling in human diseases: an update[J]. Arch Toxicol, 2015, 89(6): 867-882
- Cheng P, Wang F, Chen Kan, *et al.* Hydrogen sulfide ameliorates ischemia/reperfusion-induced hepatitis by inhibiting apoptosis and autophagy pathways[J]. Mediat Inflamm, 2014, 2014: 935251
- Hwang KA, Hwang YJ, Song J. Aster yomena extract ameliorates pro-inflammatory immune response by suppressing NF- κ B activation in RAW 264.7 cells[J]. J Chin Med Assoc, 2018, 81(2): 102-110
- Li L, Xiao T, Li F, *et al.* Hydrogen sulfide reduced renal tissue fibrosis by regulating autophagy in diabetic rats[J]. Mol Med Rep, 2017, 16(2): 1715-1722
- Wu D, Zhong P, Wang J, *et al.* Exogenous hydrogen sulfide mitigates LPS + ATP-induced inflammation by inhibiting NLRP3 inflammasome activation and promoting autophagy in L02 cells[J]. Mol Cell Biochem, 2019, 457: 145-156
- Xu K, Wu F, Xu K, *et al.* NaHS restores mitochondrial function and inhibits autophagy by activating the PI₃K/Akt/mTOR signalling pathway to improve functional recovery after traumatic brain injury[J]. Chem Biol Interact, 2018, 286: 96-105
- Xiao Q, Ying J, Qiao Z, *et al.* Exogenous hydrogen sulfide inhibits human melanoma cell development via suppression of the PI₃K/Akt/mTOR pathway[J]. J Dermatol Sci, 2020, 98: 26-34
- Yang F, Zhang L, Gao Z, *et al.* Exogenous H₂S protects against diabetic cardiomyopathy by activating autophagy via the AMPK/mTOR pathway[J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 43(3): 1168-1187
- Qiu X, Liu K, Xiao L, *et al.* Alpha-lipoic acid regulates the autophagy of vascular smooth muscle cells in diabetes by elevating hydrogen sulfide level[J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2018, 1864(11): 3723-3738

(收稿日期: 2020-04-30)

(修回日期: 2020-05-21)

(上接第 20 页)

(收稿日期: 2020-06-29)

(修回日期: 2020-07-02)