文章编号:1000-5404(2011)17-1803-05

论著

PI3K/Akt通路在硫化氢后处理保护心肌细胞缺氧复氧损伤中的作用

李 钢,杨双强 (400016 重庆,重庆医科大学附属第一医院胸心外科)

[摘要] **目的** 探讨硫化氢后处理对原代培养的新生大鼠心肌细胞缺氧复氧损伤的保护作用及可能机制。**方法** 以硫氢化钠(NaHS)作为外源性硫化氢供体。原代培养新生大鼠的心肌细胞随机分为5组:①正常对照组;②缺氧复氧组(hypoxia-reoxygenation,HR组);③二甲基亚砜组(dimethyl sulfoxide,DMSO组);④硫化氢后处理组(hydrogen sulfide post-conditioning,H_2S组);⑤LY294002 + H_2S后处理组(LY + H_2S组)。分别于缺氧前和复氧2 h检测各组的心肌细胞存活率、培养液中CK和LDH的活性;复氧末,用流式细胞学技术检测各组心肌细胞凋亡情况;Western blot检测HIF-1α、p-Akt与Akt蛋白的表达情况。**结果** 通过比较可知,复氧2 h时,H_2S组心肌细胞存活率较HR组升高显著[(71.55 ± 1.46)% *vs* (62.03 ± 1.29)%,$P<0.01$],CK、LDH活性以及心肌细胞凋亡率明显降低[(244.99 ± 21.38)U/L *vs* (329.53 ± 26.14)U/L,(371.64 ± 18.62)U/L *vs* (427.69 ± 13.25)U/L,(10.37 ± 1.51)% *vs* (17.38 ± 2.04)%,$P<0.01$];同时,HIF-1α和p-Akt蛋白表达水平明显升高[(63.93 ± 4.64)% *vs* (41.82 ± 6.14)%,(62.59 ± 2.11)% *vs* (41.04 ± 4.01)%,$P<0.01$]。然而,在H_2S后处理同时加入PI3K/Akt信号通路特异性抑制剂LY294002后,与H_2S组相比,LY + H_2S组心肌细胞存活率降低明显(63.65 ± 2.01)%,CK、LDH活性以及心肌细胞凋亡率升高显著[(307.80 ± 21.68)U/L,(421.51 ± 15.95)U/L,(15.17 ± 1.56)%,$P<0.01$];HIF-1α和p-Akt蛋白表达水平亦降低明显[(51.79 ± 4.27)%,(47.42 ± 3.15)%,$P<0.05$和$P<0.01$]。**结论** H_2S后处理可通过PI3K/Akt信号通路促进HIF-1α表达,从而拮抗心肌细胞的缺氧复氧损伤。

[关键词] 硫化氢;心肌缺血再灌注损伤;缺氧诱导因子-1α;凋亡;PI3K/Akt
[中图法分类号] R322.11; R329.26; R364.12 [文献标志码] A

Role of PI3K/Akt pathway in protection of cardiomyocytes against hypoxia-reoxygenation injury induced by hydrogen sulfide post-conditioning

Li Gang, Yang Shuangqiang (Department of Cardiothoracic Surgery, First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China)

[**Abstract**] **Objective** To study the protective effect of hydrogen sulfide (H_2S) post-conditioning on hypoxia-reoxygenation injury in primary cultured cardiomyocytes from neonatal rats and its possible mechanism. **Methods** Sodium hydrosulfide (NaHS) was used as an exogenous donor of H_2S. Primary cultured cardiomyocytes from neonatal rats were randomly divided into control group, hypoxia-reoxygenation (HR) group, dimethyl sulfoxide (DMSO) group, H_2S post-conditioning group, and LY294002 + H_2S post-conditioning group. Survival rate of cardiomyocytes and activity of creatine kinase (CK) and lactate dehydrogenase (LDH) in cultured cardiomyocytes were assayed before hypoxia and 2 h after hypoxia-reoxygenation, respectively. Apoptosis in the cardiomyocytes was detected by flow cytometry and expression of hypoxia-inducible factor-1alpha (HIF-1α), p-Akt and Akt protein was detected by Western blotting. **Results** In 2 h after reoxygenation, the survival rate of cardiomyocytes was significantly higher in H_2S post-conditioning group than in HR group [(71.55 ± 1.46)% *vs* (62.03 ± 1.29)%, $P<0.01$], but the activity of CK and LDH and the apoptosis in the cardiomyocytes were significantly lower in H_2S post-conditioning group than in HR group[(244.99 ± 21.38)U/L *vs* (329.53 ± 26.14)U/L, (371.64 ± 18.62)U/L *vs* (427.69 ± 13.25)U/L, (10.37 ± 1.51)% *vs* (17.38 ± 2.04)%, $P<0.01$], and the expression level of HIF-1αand p-Akt was significantly higher in H_2S post-conditioning group than in HR group [(63.93 ± 4.64)% *vs* (41.82 ± 6.14)%, (62.59 ± 2.11)% *vs* (41.04 ± 4.01)%, $P<0.01$]. However, after PI3K/Akt pathway inhibitor LY294002 was added during H_2S post-conditioning, when compared with H_2S post-conditioning group, the survival rate of cardiomyocytes was significantly lower (63.65 ± 2.01)%, the activity of CK and LDH and the apoptosis of cardiomyocytes were signifi-

[通信作者] 杨双强,E-mail:yysqiang@163.com

cantly higher [(307.80 ± 21.68) U/L, (421.51 ± 15.95) U/L, (15.17 ± 1.56)%, $P < 0.01$], and the expression level of HIF-1αand p-Akt protein was markedly lower[(51.79 ± 4.27)%, (47.42 ± 3.15)%, $P < 0.05$ and $P < 0.01$] in LY + H_2S group. **Conclusion** H_2S post-conditioning promotes the expression of HIF-1α through the PI3K/Akt signaling pathway, thus protecting cardiomyocytes against myocardial ischemia-reperfusion injury.

[**Key words**] hydrogen sulfide; myocardial ischemia-reperfusion injury; hypoxia-inducible factor-1alpha; apoptosis; PI3K/Akt

Corresponding author: Yang Shuangqiang, E-mail: yysqiang@163.com

心肌缺血再灌注损伤(myocardial ischemia-reperfusion injury, MIRI)是心脏外科研究的重点和热点问题,是临床常见的病理生理现象。Zhao 等[1]首先提出了缺血后处理(ischemic post-conditioning, IPO)概念,即心肌缺血再灌注后立刻给予一次或多次短暂重复心肌缺血与再灌注,能提高其对之前发生的较长时间缺血的耐受能力。后处理的心肌保护作用是众多因素参与的复杂过程,其机制主要涉及再灌注损伤补救激酶(reperfusion injury salvage kinase, RISK)途径激活[2]、中性粒细胞聚集和活性氧产生的减少以及钙离子浓度降低[3]等。已有研究表明[4-5],H_2S 作为第3种内源性气体信号分子,对缺血再灌注心肌有确切的保护作用,大量实验证实[6-9],H_2S 能促进心肌细胞、肌浆网或线粒体 K_{ATP} 通道的开放,增加细胞内 K^+ 的外流,抑制 Ca^{2+} 内流及心肌的收缩,降低心肌细胞的耗氧量,舒张血管平滑肌,降低心脏前后负荷效应等,但具体机制还有待进一步研究。因此,本实验通过观察心肌细胞 HR 损伤中 HIF-1α、p-Akt 和 Akt 蛋白表达变化,探讨 H_2S 后处理对 MIRI 的保护作用及机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物与试剂

1~3 d 龄 SPF 级 SD 大鼠乳鼠约 200 只,雌雄混合,第三军医大学实验动物中心,动物生产许可证:SCXK(军)2007-016,SCXK(渝)2007-0003;动物使用许可证:SYXK(渝)2007-0002。硫氢化钠(sodium hydrosulfide, NaHS)、MTT 和溴脱氧尿嘧啶核苷(Brdu)(Sigma 公司);DMEM 培养基、胎牛血清和胰蛋白酶(Gibco 公司);p-Akt 和 Akt 兔多克隆抗体(CST);HIF-1α 兔多克隆抗体(Santa Cruz 公司);小鼠抗 β-actin 单克隆抗体、HRP 标记的山羊抗小鼠和抗兔 IgG(北京中杉公司);细胞凋亡检测试剂盒(Bender 公司);BCA 蛋白定量试剂盒、SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液、SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒(碧云天生物技术研究所);其余化学试剂为国产分析纯产品。

1.2 大鼠乳鼠心肌细胞原代培养及鉴定

无菌取 SD 乳鼠心室,剪碎后,经胰酶与胶原酶消化,每次 10 min,消化后的上清弃去。重复上述消化过程 6 次,并将各次所得消化液,经 200 目不锈钢网过滤后移入 15 ml 离心管中,1 000 r/min,离心 5 min,弃上清。以培养液重悬细胞沉淀,接种于 50 ml 培养瓶中,置于 37 ℃,5% CO_2 培养箱中培养 90 min,按差速贴壁分离法纯化心肌细胞;同时加入 0.1 mmol/L 5-溴脱氧核苷(5-Brdu)以抑制非心肌细胞的增殖。收集悬浮细胞,台盼蓝染色计数,调节细胞密度后接种于细胞培养板或培养瓶中,置于 37 ℃,5% CO_2 培养箱内继续培养。每 24 小时换 1 次培养液。培养过程中观察细胞贴壁,形态变化,折光性,搏动幅度及频率等。选用培养 72 h 的单层心肌细胞进行实验。

1.3 心肌细胞缺氧复氧损伤(hypoxia-reoxygenation, HR)模型的建立

为了模拟心肌缺血再灌注损伤,根据文献[10]配置缺氧液和复氧液。将心肌细胞用高纯氮气(99%)饱和(1 L/min × 30 min),血气 $p(O_2) \leqslant 4.0$ kPa,含有高浓度的 K^+、乳酸和 H^+,低氧浓度,不含葡萄糖等能量底物的缺氧液(mmol/L, NaH_2PO_4 0.9, $NaHCO_3$ 6.0, $CaCl_2$ 1.0, $MgSO_4$ 1.2,乳酸钠 40, HEPES 20, NaCl 98.5, KCl 10.0, pH 6.8)中,并置于 37℃ 含 95% N_2、5% CO_2 的密闭容器中缺氧 2 h;然后换为预先用纯氧饱和 30 min 的复氧液(mmol/L, NaH_2PO_4 0.9, $NaHCO_3$ 20, $CaCl_2$ 1.0, $MgSO_4$ 1.2,葡萄糖 5.5, HEPES 20, NaCl 129.5, KCl 5.0, pH 7.4)中,并置于 37℃ 含 95% 空气、5% CO_2 培养箱中复氧 2 h,复制心肌细胞缺氧复氧损伤模型。

1.4 分组与方法

原代培养的心肌细胞同步化后分为以下 5 组:①正常对照组:将心肌细胞放入 37 ℃ 常规 CO_2 培养箱中,用复氧液孵育 4 h。②缺氧复氧组(HR 组):将心肌细胞放入 37℃ 含 95% N_2、5% CO_2 的三气培养箱中,用缺氧液孵育 2 h,然后换为复氧液在常规 CO_2 培养箱中孵育 2 h。③二甲基亚砜组(dimethyl sulfoxide, DMSO 组):缺氧干预 2 h 后,即给予含 0.02% DMSO 复氧液孵育 30 min,换无 DMSO 的复氧液孵育 1.5 h。④H_2S 后处理组(终浓度为 40 μmol/L)(hydrogen sulfide post-conditioning, H_2S 组):缺氧干预 2 h 后,即给予含 NaHS 的复氧液孵育 30 min,再用无 NaHS 的复氧液继续培养 1.5 h。⑤LY294002(终浓度为 15 μmol/L) + H_2S 后处理组(终浓度为 40 μmol/L)(LY + H_2S 组):缺氧干预 2 h 后,即给予含 LY294002 和 NaHS 的复氧液孵育 30 min,再用无二者的复氧液继续培养 1.5 h。分别检测各组缺氧前和复氧 2 h 的心肌细胞存活率、心肌细胞培养液中肌酸激酶(creatine kinase, CK)和乳酸脱氢酶(actate dehydrogenase, LDH)的活性;并在复氧 2 h,用流式细胞仪检测各组心肌细胞凋亡情况,Western blot 检测 HIF-1α、p-Akt 和 Akt 蛋白表达情况。

1.5 心肌细胞存活率检测

原代培养心肌细胞接种到 96 孔板,每组 6 个复孔,每孔体

积200 μl,含20 %胎牛血清培养基培养72 h后,更换无血清培养基同步化后,按实验方案处理后吸弃培养基,每孔加入5 mg/ml MTT(5 mg/ml用PBS配制,pH=7.4)20 μl继续孵育4 h,弃上清液,每孔加150 μl DMSO,振荡10 min,使结晶物充分融解。选择490 nm波长,在酶标仪测定各孔光吸收值。实验结果以心肌细胞存活率表示,按公式计算。

细胞存活率=(试验组光吸收值-空白对照组光吸收值)/(对照组光吸收值-空白对照组光吸收值)×100 %。

1.6 心肌细胞培养液中CK与LDH活性检测

根据分组给予相应处理,分别于缺氧前、复氧2 h吸取细胞培养液,2 500 r/min,离心10 min,取上清液,按CK与LDH试剂盒方法检测细胞培养液中两者活性。

1.7 心肌细胞凋亡检测

各组细胞处理后,以0.125%胰蛋白酶消化贴壁心肌细胞并及时以含胎牛血清的培养基终止消化;收集细胞悬液至离心管中,1 000 r/min离心5 min,弃上清;加入4℃预冷的PBS液0.5 ml洗涤细胞2次;用250 μl结合缓冲液重新悬浮细胞并调整浓度;取100 μl的细胞悬液于5 ml流式管中,加入5 μl Annexin V/FITC和10 μl 120 μg/ml的PI,混匀后于室温避光反应15 min。在反应管中加入400 μl PBS,流式细胞仪激发光波长为488 nm,用一波长为515 nm的通带滤器检测FITC荧光,另一波长大于560 nm的滤器检测PI;以早期凋亡细胞(LR)+晚期凋亡细胞(UR)所占比例表示细胞凋亡率(%)。

1.8 心肌细胞总蛋白提取及Western blot检测p-Akt、Akt和HIF-1α蛋白表达水平

严格按照BCA蛋白定量试剂盒说明书提取各组心肌细胞总蛋白并测定蛋白浓度。常规法进行Western blot检测,HIF-1α、p-Akt、Akt和β-actin抗体(均为1∶300),二抗(均为1∶2 000),ECL显影。利用Gel-PRO ANALYZER凝胶定量分析软件分析蛋白电泳条带亮度,即累积光密度(IOD),β-actin为内参,比较各组蛋白的相对表达情况。相对蛋白含量=HIF-1α、p-Akt或Akt蛋白的IOD/内参β-actin的IOD×100%。

1.9 统计学分析

数据以$\bar{x}\pm s$表示,采用SPSS 17.0统计软件,各组间比较采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 心肌细胞存活率检测

通过比较可知,缺氧前各组心肌细胞存活率基本一致,约为(98.64±2.10)%。复氧2 h,H_2S组心肌心肌细胞存活率升高,较HR组差异明显($P<0.01$);而在H_2S后处理的同时加入LY294002,细胞存活率又下降,与单纯H_2S后处理组比较有显著差异($P<0.01$);同时,HR组与DMSO组细胞存活率无显著差异($P>0.05$),见表1。

表1 复氧2 h各组心肌细胞存活率以及CK、LDH活性的比较
($n=6,\bar{x}\pm s$)

组别	心肌细胞存活率(%)	CK活性(U/L)	LDH活性(U/L)
正常对照组	95.24±1.32	132.75±19.02	238.47±16.28
HR组	62.03±1.29[a]	329.53±26.14[a]	427.69±13.25[a]
DMSO组	60.86±2.12[a]	333.76±28.18[a]	421.81±13.20[a]
H_2S组	71.55±1.46[abc]	244.99±21.38[abc]	371.64±18.62[abc]
LY+H_2S组	63.65±2.01[a]	307.80±21.68[a]	421.51±15.95[a]

a:$P<0.01$,与正常对照组比较;b:$P<0.01$,与HR组比较;c:$P<0.01$,与LY+H_2S组比较

2.2 心肌细胞培养液中CK和LDH活性检测

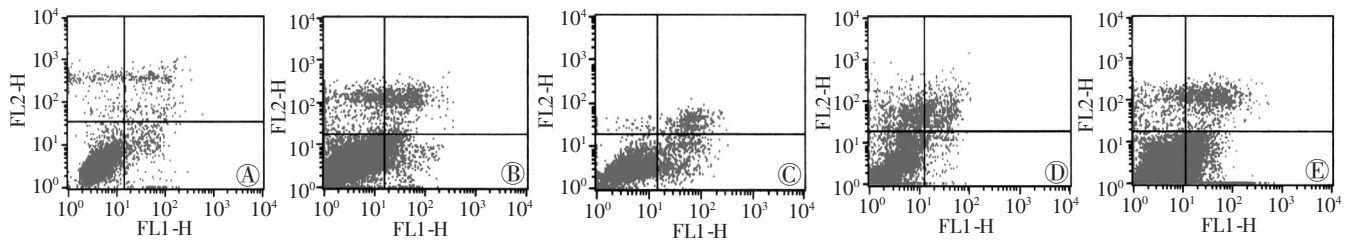
通过比较可知,缺氧前各组心肌细胞培养液中CK与LDH活性基本一致,分别为(140.40±21.28)U/L和(226.79±18.07)U/L;复氧2 h时,与HR组比较,H_2S组CK和LDH活性降低显著(均为$P<0.01$);加入LY294002后,上述二者活性又较H_2S组升高明显(均为$P<0.01$);同时,HR组与DMSO组CK与LDH活性无显著差异($P>0.05$),见表1。

2.3 心肌细胞凋亡检测

流式细胞仪将细胞分为3部分,分别为左下象限的正常细胞(LL),AnnexinV/FITC,PI均低染;右下象限的早期凋亡细胞(LR),Annexin V/FITC高染,PI低染;右上象限的晚期凋亡细胞(UR),Annexin V/FITC,PI均高染。其检测结果显示:H_2S组心肌细胞凋亡率[(10.37±1.51)%]与HR组[(17.38±2.04)%]和LY+H_2S组[(15.17±1.56)%]相比较明显降低(均为$P<0.01$);而HR组与DMSO组[(17.48±2.47)%]间无显著差异($P>0.05$),见图1。

2.4 心肌细胞HIF-1α、p-Akt和Akt蛋白表达情况

与正常对照组相比较,其他4组心肌细胞中HIF-1α与p-Akt蛋白表达水平均有不同程度的升高;其中,H_2S组升高最为明显;与HR组相比,H_2S组HIF-1α与p-Akt蛋白表达水平升高显著(均为$P<0.01$);与LY+H_2S组比较,H_2S组HIF-1α与p-Akt蛋白表达明显升高(分别为$P<0.05$和$P<0.01$);而HR组与DMSO组HIF-1α与p-Ak蛋白表达无显著差异($P>0.05$)。同时,各组心肌细胞Akt蛋白表达亦无明显差异($P>0.05$),见表2。



A:正常对照组;B:HR组;C:DMSO组;D:H_2S组;E:LY+H_2S组

图1 流式细胞仪检测复氧2 h各组心肌细胞凋亡情况

表2 复氧2 h各组心肌细胞HIF-1α、p-Akt和Akt蛋白表达比较
($n=3, \bar{x} \pm s$)

组别	HIF-1α/β-actin(%)	p-Akt/β-actin(%)	Akt/β-actin(%)	p-Akt/Akt
正常对照组	29.03 ±4.49	25.66 ±4.61	33.63 ±9.92	0.80 ±0.07
HR组	41.82 ±6.14[a]	41.04 ±4.01[b]	35.57 ±7.87	1.14 ±0.16[a]
DMSO组	43.37 ±6.68[a]	39.98 ±4.45[b]	33.25 ±8.42	1.27 ±0.13[b]
H_2S组	63.93 ±4.64[bde]	62.59 ±2.11[bdf]	34.76 ±9.38	1.95 ±0.13[bde]
LY+H_2S组	51.79 ±4.27[b]	47.42 ±3.15[b]	33.74 ±11.05	1.59 ±0.21[b]

a:$P<0.05$, b:$P<0.01$, 与正常对照组比较; c:$P<0.05$, d:$P<0.01$, 与HR组比较; e:$P<0.05$, f:$P<0.01$, 与LY+H_2S组比较

3 讨论

近年来,新型气体信号分子H_2S受到人们的广泛关注。大量研究指出[9,11-13]H_2S具有心肌保护作用,主要体现在它能扩张冠脉、提高心肌灌注、降低心脏前后负荷和血压、调节心肌收缩力、减少心肌梗死面积、抗氧化、抑制炎症等。最近有研究提示:H_2S能通过诱导糖原合成酶激酶3β(glycogen synthase kinase 3beta, GSK-3β)的磷酸化进而禁止线粒体通透性转换孔(mitochondrial permeability transition pore, mPTP)的开放从而抑制心肌细胞凋亡[14]。亦有研究提示:H_2S的心肌保护作用与K_{ATP}的开放有关[15],但H_2S对MIRI的具体保护机制仍未阐明。

缺氧诱导因子-1α(hypoxia-indμcible factor-1alpha, HIF-1α)是在缺血缺氧条件下哺乳动物组织细胞产生的一种核转录因子,在基因的转录调控中起主导作用。已有多项研究证实[16-18]在心肌缺血缺氧时,机体一般通过上调HIF-1α的表达,进而使其下游靶基因如血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、血红素加氧酶1(heme oxygenase-1, HO-1)、诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)等表达增加,从而发挥心肌保护作用。我们的前期实验得出H_2S后处理的心肌保护效应与HIF-1α的激活以及下游VEGF表达上调有关,这与Liu等[19]的结论一致。

PI3K/Akt途径是RISK途径中最为重要的信号通路之一,与细胞生命活动息息相关,参与诸如蛋白合成、葡萄糖转运及血管生成等重要生理功能的调控,并介导外界刺激信号诱导细胞生长、分化、凋亡等过程[20]。PI3K下游有多种效应分子,而Akt处在这一通路的中心环节,是PI3K直接靶点和最主要的靶酶。只有磷酸化的Akt才能发挥抗凋亡、蛋白合成及促细胞生存等功能[21]。LY294002为PI3K/Akt特异性抑制剂,可以阻断PI3K的下游靶点Akt的磷酸化。

通过本实验,我们发现:在经历了HR后,相对于HR组,H_2S组心肌细胞存活率显著升高,CK与LDH活性以及心肌细胞凋亡比率明显降低,这提示H_2S后处理能明显改善心肌细胞HR损伤,抑制CK与LDH的释放以及心肌细胞凋亡;但加入PI3K/Akt特异性抑制剂LY294002后,H_2S的上述保护效应减弱或消失,这提示LY294002拮抗了H_2S后处理的心肌保护效应。同时,我们还发现:常氧情况下心肌细胞中HIF-1α和p-Akt蛋白的表达较少;缺氧复氧后,二者表达水平上调;但同HR组比较,H_2S组HIF-1α和p-Akt蛋白表达水平明显增多,提示H_2S后处理可能会诱导增加上述蛋白表达;在应用LY294002后,上述蛋白的表达水平下降,提示LY294002显著下调了H_2S后处理诱导HIF-1α和p-Akt蛋白表达的能力。并且,各组心肌细胞中总Akt蛋白表达水平未见明显差异,这也同样证实了只有磷酸化的Akt才能发挥促进下游蛋白表达、抗凋亡等功能[18]。上述结果均提示,H_2S后处理保护心肌细胞HR损伤可能是通过激活Akt的磷酸化进而诱导HIF-1α的表达而实现的。

综上所述,H_2S后处理保护心肌细胞缺氧复氧损伤与HIF-1α表达上调有关,该机制可能涉及PI3K/Akt信号途径的激活;但H_2S后处理的心肌保护效应仅是通过这一途径激活HIF-1α,还是存在其他信号通路目前还未明确。同时,H_2S后处理具体是激活了此信号通路的哪些效应分子还有待进一步研究。

参考文献:

[1] Zhao Z Q, Corvera J S, Halkos M E, *et al*. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2003, 285(2): H579-H588.

[2] Hausenloy D J, Tsang A, Yellon D M. The reperfusion injury salvage kinase pathway: a common target for both ischemic preconditioning and postconditioning[J]. Trends Cardiovasc Med, 2005, 15(2): 69-75.

[3] Sun H Y, Wang N P, Kerendi F, *et al*. Hypoxic postconditioning reduces cardiomyocyte loss by inhibiting ROS generation and intracellular Ca^{2+} overload[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2005, 288(4): H1900-H1908.

[4] Hu Y, Chen X, Pan T T, *et al*. Cardioprotection induced by hydrogen sulfide preconditioning involves activation of ERK and PI3K/Akt pathways[J]. Pflugers Arch, 2008, 455(4): 607-616.

[5] Ji Y, Pang Q F, Xu G, *et al*. Exogenous hydrogen sulfide postconditioning protects isolated rat hearts against ischemia-reperfusion injury [J]. Eur J Pharmacol, 2008, 587(1/3): 1-7.

[6] Pan T T, Feng Z N, Lee S W, *et al*. Endogenous hydrogen sulfide contributes to the cardioprotection by metabolic inhibition preconditioning in the rat ventricular myocytes[J]. J Mol Cell Cardiol, 2006, 40(1): 119-130.

[7] Bian J S, Yong Q C, Pan T T, *et al*. Role of hydrogen sulfide in the cardioprotection caused by ischemic preconditioning in the rat heart and cardiac myocytes[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2006, 316(2): 670-678.

[8] Hu X, Li T, Bi S, *et al*. Possible role of hydrogen sulfide on the preservation of donor rat hearts[J]. Transplant Proc, 2007, 39(10): 3024-3029.

[9] Zhang Z, Huang H, Liu P, *et al*. Hydrogen sulfide contributes to cardio-

protection during ischemia-reperfusion injury by opening K ATP channels [J]. Can J Physiol Pharmacol, 2007, 85(12): 1248 – 1253.
[10] Koyama T, Temma K, Akera T. Reperfusion-induced contracture develops with a decreasing [Ca^{2+}]i in single heart cells[J]. Am J Physiol, 1991, 261(4 Pt 2): H1115 – H1122.
[11] Pan L L, Liu X H, Gong Q H, *et al*. S-Propargyl-cysteine (SPRC) attenuated lipopolysaccharide-induced inflammatory response in H9c2 cells involved in a hydrogen sulfide-dependent mechanism[J]. Amino Acids, 2011, 41(1): 205 – 215.
[12] Zhu Y Z, Wang Z J, Ho P, *et al*. Hydrogen sulfide and its possible roles in myocardial ischemia in experimental rats[J]. J Appl Physiol, 2007, 102 (1): 261 – 268.
[13] Elrod J W, Calvert J W, Morrison J, *et al*. Hydrogen sulfide attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury by preservation of mitochondrial function[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007, 104(39): 15560 – 15565.
[14] Yao L L, Huang X W, Wang Y G, *et al*. Hydrogen sulfide protects cardiomyocytes from hypoxia/reoxygenation-induced apoptosis by preventing GSK-3beta-dependent opening of mPTP[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2010, 298(5): H1310 – H1319.
[15] Zhong G Z, Li Y B, Liu X L, *et al*. Hydrogen sulfide opens the KATP channel on rat atrial and ventricular myocytes[J]. Cardiology, 2010,115(2): 120 – 126.
[16] Kido M, Du L, Sullivan C C, *et al*. Hypoxia-inducible factor 1-alpha reduces infarction and attenuates progression of cardiac dysfunction after myocardial infarction in the mouse[J]. J Am Coll Cardiol, 2005, 46(11): 2116 – 2124.
[17] Tipoe G L, Lau T Y, Nanji A A, *et al*. Expression and functions of vasoactive substances regulated by hypoxia-inducible factor-1 in chronic hypoxemia [J]. Cardiovasc Hematol Agents Med Cbem, 2006, 4 (3): 199 – 218.
[18] Belaidi E, Beguin P C, Levy P, *et al*. Prevention of HIF-1 activation and iNOS gene targeting by low-dose cadmium results in loss of myocardial hypoxic preconditioning in the rat[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2008, 294(2): H901 – H908.
[19] Liu X, Pan L, Zhuo Y, *et al*. Hypoxia-inducible factor-1alpha is involved in the pro-angiogenic effect of hydrogen sulfide under hypoxic stress[J]. Biol Pharm Bull, 2010, 33(9): 1550 – 1554.
[20] Cantley L C. The phosphoinositide 3-kinase pathway[J]. Science, 2002, 296(5573): 1655 – 1657.
[21] Lindsley C W, Barnett S F, Layton M E, *et al*. The PI3K/Akt pathway: recent progress in the development of ATP-competitive and allosteric Akt kinase inhibitors[J]. Curr Cancer Drug Targets, 2008, 8 (1): 7 – 18.

(**收稿**:2011-02-06;**修回**:2011-05-23)
(编辑　栾　嘉)

文章编号:1000-5404(2011)17-1807-01

个案与短篇

肺中央型基底细胞样鳞癌 CT 表现 1 例

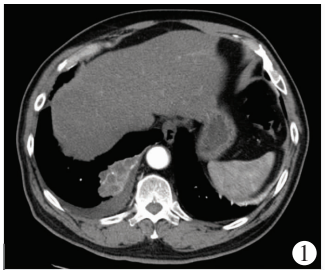
江岷芮[1],贾　颖[1],李增鹏[2],张伟国[1]　(400042 重庆,第三军医大学大坪医院野战外科研究所:放射科[1],病理科[2])

[**关键词**]　肺癌;基底细胞样鳞癌;CT 表现
[**中图法分类号**]　R730.44　[**文献标志码**]　B

肺基底细胞样鳞癌(basaloid squamous carcinoma, BSC)是一种罕见的肺部恶性肿瘤,具有特殊的组织病理学特点[1]。其临床特点及预后尚存在争议,部分研究[2]报道其预后比非小细胞癌差,术后生存率及复发率都有别于其他非小细胞癌。我院收治 1 例,现报告如下。

1　临床资料

患者,男性,78 岁,以"反复咯血 2 月余"于 2010 年 8 月 20 日入我院。患者 2 个月前无明显诱因出现咯血,痰中带血,无潮热、盗汗、气促、胸痛等症状。既往有数十年吸烟史。查体:胸廓呈桶状,右胸壁外侧有压痛及叩击痛,叩诊呈过清音,呼吸音降低,余未见明显阳性体征。纤维支气管镜检查结果:右下后基底段支气管可见肿物突出阻塞管腔。CT 检查:右肺下叶后基底段可见一团状软组织密度影,大小约 5.8 cm×3.8 cm×3.8 cm,呈分叶状,边缘见短小毛刺,邻近胸膜凹陷,肿块内密度不均。增强后呈分隔样不均匀强化,可见肿块由多个大小基本相同的类圆形无强化低密度区及均匀强化的分隔样结构构成,其分隔厚度基本一致,形似"葡萄"样(图 1),以延迟期表现显著,动脉期可见肿块内多个点状血管影,其密度与胸主动脉相当,并无受侵改变,另可见右肺下动脉远端被肿块包绕,对应右肺下叶后基底段支气管管腔阻塞,右侧少量胸腔积液。增强扫描过程中,肿块内多个类圆形低密度区均无强化,而分隔样结构呈"递减"强化方式,并趋于均匀强化,故可见在延迟期"葡萄"样结构更为显著。手术所见:肿瘤位于右肺下叶,质硬,大小约 5 cm×4 cm×4 cm。病理结果:右肺下叶中央型基底细胞样鳞癌,肿瘤细胞细胞核大、细胞质少,可见癌巢和角化珠形成(图 2),支气管残端及支气管旁、第 10 组淋巴结未见癌组织转移。



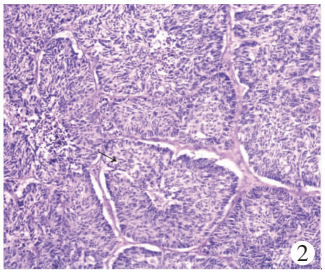


图 1　肺中央型基底细胞样鳞癌患者胸部 64 排 CT 增强表现
图 2　肺中央型基底细胞样鳞癌组织病理学变化(HE ×200)　蓝染细胞为肿瘤细胞,并可见癌巢和角化珠形成(箭头所示)

[**通信作者**]　张伟国,电话:(023)68757621,E-mail:wguo. zhang@ gmail. com

(下转 1819 页)