论著

文章编号:1000-5404(2013)08-0784-05

硫化氢对离体大鼠胰腺腺泡细胞炎症因子表达的影响

付兰英,饶春燕,赵晓晏 (400037 重庆,第三军医大学新桥医院消化内科)

[摘要] **目的** 以雨蛙素刺激的大鼠胰腺腺泡细胞为体外急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)模型,研究硫化氢(H_2S)对AP时胰腺腺泡细胞炎症因子表达的影响及机制。**方法** 分离25只SD大鼠胰腺腺泡细胞,用雨蛙素(10^{-7} mol/L)诱导体外AP模型,用不同浓度NaHS(5、10、20、40 μmol/L)及不同时间(10、30、60 min)NaHS(5 μmol/L)处理,Real-time PCR检测炎症因子mRNA水平。再用CSE抑制剂PAG处理,Real-time PCR检测炎症因子mRNA水平及CSE mRNA水平。进一步用NF-κB抑制剂BAY 11-7082处理后,Real-time PCR检测炎症因子mRNA水平,Western blot检测浆内IκBα及核内NF-κBp65的蛋白表达。**结果** 当5 μmol/L NaHS预处理60 min时,TNF-α水平(14.70±1.10)、IL-1β水平(14.42±0.83)显著低于雨蛙素组($P<0.05$),IL-10水平(12.20±0.55)显著高于雨蛙素组($P<0.05$);CSE抑制剂PAG预处理60 min后,TNF-α水平(37.38±0.89)、IL-1β水平(24.45±0.76)显著高于雨蛙素组($P<0.05$),CSE水平(0.14±0.03)、IL-10水平(0.14±0.03)显著低于雨蛙素组($P<0.05$);NF-κB抑制剂BAY 11-7082预处理30 min,TNF-α水平(9.17±0.96)、IL-1β水平(2.90±0.17)显著低于雨蛙素组($P<0.05$),IL-10水平(40.00±1.00)显著高于雨蛙素组($P<0.05$),并且胞浆内IκBα(0.90±0.01)的降解及细胞核内NF-κBp65(0.70±0.04)的蛋白表达明显低于雨蛙素组($P<0.05$)。**结论** 小剂量H_2S供体NaHS在雨蛙素孵育的胰腺腺泡细胞中具有一定抗炎作用,且该作用是通过抑制NF-κB通路从而抑制腺泡细胞表达促炎因子实现的。

[关键词] H_2S;胰腺腺泡细胞;NF-κB;细胞活素
[中图法分类号] R576;R914.3;R967 [文献标志码] A

Effect of hydrogen sulfide on caerulein-induced inflammatory cytokines in rat pancreatic acinar cells

Fu Lanying, Rao Chunyan, Zhao Xiaoyan (Department of Gastrointestinal, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400037, China)

[**Abstract**] **Objective** To study the effect of hydrogen sulfide (H_2S) on caerulein-induced inflammatory cytokines in rat pancreatic acinar cells through NF-κB pathway. **Methods** Pancreatic acinar cells were isolated from 25 SD rats, and caerulein (10^{-7} mol/L) was used to induce acute pancreatitis (AP) *in vitro*. The pancreatic acinar cells were pre-incubated with NaHS (5, 10, 20 and 40 μmol/L) for 30 min, NaHS (5 μmol/L) for different time (10, 30 and 60 min), cystathionine-γ-lyase (CSE) inhibitor of PAG (3 μmol/L) for 60 min, and NF-κB inhibitor of BAY 11-7082 for 30 min plus NaHS (5 μmol/L) for another 60 min, respectively, and then were treated with caerulein for 60 min. The cells treated with caerulein alone were served as control. The mRNA levels of inflammatory cytokines and CSE were measured by real-time PCR, and the levels of IκBα and NF-κBp65 were measured by Western blotting. **Results** As compared with the caerulein group, the levels of TNF-α (14.70±1.10) and IL-1β (14.42±0.83) were significantly decreased and IL-10(12.20±0.55) were significantly increased in cells pretreated with 5 μmol/L of NaHS for 60 min ($P<0.05$), while the levels of TNF-α (37.38±0.89) and IL-1β (24.45±0.76) were significantly increased and the level of CSE (0.14±0.03) and IL-10(0.14±0.03) were significantly decreased in cells pretreated with PAG for 60 min ($P<0.05$). In the cells pretreated with BAY 11-7082 for 30 min, the levels of TNF-α (9.17±0.96), IL-1β (2.90±0.17) and nuclear NF-κBp65 (0.70±0.04) were significantly decreased, but the level of IL-10(40.00±1.00) and IκBα (0.90±0.01) were increased as compared with

[通信作者] 赵晓晏,电话:(023)68774195,E-mail:zhaoxx@medmail.com.cn
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20130125.1504.013.html(2013-01-25)

the caerulein group ($P < 0.05$). **Conclusion** A low dose of NaHS can inhibit the caerulein-induced expression of inflammatory cytokines and increase anti-inflammatory cytokines through suppressing the activation of NF-κB pathway, suggesting the low dose of H_2S plays an anti-inflammatory role in AP.

[**Key words**] H_2S; pancreatic acinar cell; NF-κB; cytokine

Corresponding author: Zhao Xiaoyan, Tel: 86-23-68774195, E-mail: zhaoxx@medmail.com.cn

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是以恶心、呕吐、急性腹痛伴有血淀粉酶及脂肪酶升高的常见急腹症[1]。临床上75%～80%的患者为轻型自限性,而20%～25%的患者为重症急性胰腺炎,其中病死率达20%～30%[2-3]。其发病机制有很多学说,如消化酶过早激活、微循环障碍、白细胞过度激活及肠道菌群移位学说[4]。目前,炎症反应被认为是AP的主要发病机制[5],而腺泡细胞在AP炎症反应的发生、发展中发挥重要作用。在AP发生早期,腺泡细胞可作为炎性细胞分泌促炎细胞活素,募集白细胞向损伤胰腺组织迁移,加重全身炎症反应[6]。细胞核转录因子NF-κB对AP时细胞活素的表达起关键调节作用[7]。硫化氢(H_2S)是继CO、NO后的第3种新型气体分子[8]。其在调节血管、胃肠道、心肌收缩、神经传递和胰岛素分泌等方面起着重要的作用,但在炎症过程中的作用尚存争议[9]。因此,本研究观察H_2S的外源性供体NaHS对雨蛙素刺激的腺泡细胞表达炎症细胞活素功能的影响,旨在进一步阐明AP的发病机制,为AP早期治疗找到新的靶点。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

雨蛙素购自德国Bachem公司,硫氢化钠、Ⅰ型胶原酶、大豆胰蛋白酶抑制剂、PAG(DL-proargylgycine)、牛血清白蛋白、4-羟乙基哌嗪黄酸(HEPES)购自美国Sigma-Aldrich公司,BAY 11-7082(NF-κB抑制剂)购自santa公司,小牛血清购自四季青公司,1640购自Gbico公司,寡核苷酸及测序(上海生工合成),Real-time PCR反应体系(system7500),Rever Tre Ace-a逆转录试剂盒、SYBRGreen购自TOYOBO公司,兔抗鼠NF-κB p65、IκBα购自碧云天生物技术研究生,小鼠抗Beta-actin购自NOVUS Biologicals,山羊抗GAPDH购自SANT CRUZ公司,抗兔、抗鼠、抗山羊HRP-IgG购自美国Sigma-Aldrich公司。其余均为新鲜配置的国内分析纯试剂。

1.2 方法

1.2.1 离体胰腺腺泡的分离、处理 20只5～6周龄雄性SD大鼠由第三军医大学新桥医院实验动物中心提供,体质量180～220 g,禁食不禁水12 h,腹腔注射无菌麻药致死后,迅速摘胰腺组织放入盛有HE PES缓冲液的平皿中(缓冲液:130 mmol/L NaCl,5 mmol/L KCl,10 mmol/L HEPES,11 mmol/L葡萄糖,9 mmol/L丙酮酸钠,1 mmol/L $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, 1 mmol/L $CaCl_2$, 0.01% 胰蛋白酶原抑制剂,4 mol/L NaOH调整pH值为7.4)[10]。尽量摘除胰腺组织中的血管、淋巴及筋膜组织,用缓冲液清洗干净后,用5 mL缓冲液配制的混合消化液(含2 mg/mL Ⅰ型胶原酶和1 mg/mL胰蛋白酶抑制剂)胰腺被膜下多点注射,使成发泡状,在平皿内将胰腺剪成0.5 mm^3左右大小碎片,移入25 mL三角烧瓶中,37 ℃振荡水浴,10 min后改用新的混合消化液7 mL处理,过程中用滴管轻轻吹打,约30 min后,直至显微镜下见大量由数个胰腺腺泡细胞围成的腺泡团见,150目不锈钢网筛过滤,用含4%的牛血清白蛋白的缓冲液终止混合消化酶,分离的胰腺腺泡细胞重悬与含20%小牛血清的1640培养液,放入37 ℃、5% CO_2孵箱平衡30 min恢复其功能。用4%的台盼蓝染色,活力大于90%。取1 mL胰腺腺泡细胞悬液于12孔板中,用0、5、10、20、40 μmol/L的NaHS处理0、10、30、60 min后,加入10^{-7} mol/L的雨蛙素处理60 min(选出NaHS最优浓度及时间进行下一步实验)。PAG(3 mmol/L)在NaHS处理前60 min孵育细胞,BAY(50 μmol/L)在NaHS处理前30 min孵育细胞。

1.2.2 Real-time PCR检测TNF-α、IL-1β、IL-10、CSE(cystathionine-δlyase)mRNA表达 按TRNzol试剂盒说明使用氯仿和异丙醇抽提总RNA。使用逆转录试剂盒,采用Oligo DT和逆转录酶合成cRNA链。PCR引物采用Primer Permier 5.0引物设计软件设计,由上海生工公司合成。Real-time PCR在System7500机器上进行反应实验操作,采用两步法,进行引物扩增。TNF-α上游:5′-GCGCCCAGCCTTCCTTAC-3′,下游:5′-GCCCCGGCCTTCCAAATAAATAC-3′; IL-1β上游:5′-CTCGTGCTGTCTGACCCATGTG-3′,下游:5′-GGGTGGGTGTGCCGTCTTTCAT-3′;IL-10上游:5′-CCTGGGAGAGAAGCTGAAGACC-3′,下游:5′-ATGCCGGGTGGTTCAATTTTTC-3′;CSE上游:5′-GCGCTGCTCCAACTGCTGTATAA-3′,下游:5′-GGGTCCGGTTTCAGCATGTTT-3′; β-actin上游:5′-ACCCCGTGCTGCTGACCGAG-3′,下游:5′-TCCCGGCCAGCCAGGTCCA-3′。反应条件设置:预变性94 ℃ 5 min;94 ℃ 30 s→57 ℃ 30 s→72 ℃ 30 s,45个循环;72 ℃ 10 min;溶解曲线条件:94 ℃ 30 s;56 ℃ 30 s;72 ℃ 30 s。Real-time PCR反应完成后,进行一个循环的溶解曲线反应扩增的特有度。待测基因的表达水平通过$2^{-\Delta\Delta Ct}$方法进行计算。

1.2.3 Western blot检测IκBα及核蛋白NF-κB的表达 将处理完的悬浮胰腺腺泡细胞经HEPES缓冲液清洗,离心弃上清收集细胞,加入1 000 μL冰冷的缓冲液A(10 mmol/L KCl、1.5 mmol/L $MgCl_2$、1 mmol/L DTT、0.2 mmol/L EDTA、1 mmol/L PMSF、5%甘油、3 mg/L aprotinin、3 mg/L phenanthroline、1% NP 40、10 mmol/L HEPES),超声波破碎,放置冰上15 min。16 000×g,离心15 min,去上清胞浆蛋白。加入400 μL冰冷的缓冲液B(420 mmol/L NaCl、1.5 mmol/L $MgCl_2$、0.5 mmol/L DTT、

0.2 mmol/L EDTA、0.5 mmol/L PMSF、25%甘油、5 mg/L aprotinin、5 mg/L phenanthroline、3 mg/L pestatin A、20 mmol/L HEPES),漩涡混匀15 s,放置冰上10 min,重复4次。16 000×g,离心15 min(上清即为核蛋白),采用蛋白考马斯亮蓝法测定蛋白浓度。SDS-PAGE凝胶电泳分离,电转法将蛋白质从SDS-PAGE凝胶转移至硝酸纤维素膜。后者在含6%脱脂奶粉的pH 7.2的PBS中37 ℃封闭2 h,置4 ℃冰箱过夜。室温下加入一抗(兔抗鼠NF-κB、IκBα)1∶500,同时加入(小鼠抗β-actin、山羊抗GAPDH)1∶200,室温摇匀反应1 h。分别加入3% BSA封闭的HRP标记二抗(抗兔、抗鼠、抗山羊HRP-IgG),温室下反应1 h;放射自显影系统进行X线片曝光定影。化学荧光表达以光密度表示,以目的蛋白/GAPDH(β-actin)表示蛋白的相对表达。

1.3 统计学分析

采用SPSS 18.0软件进行数据统计分析,实验数据采用组间比较单因素方差分析。

2 结果

2.1 NaHS预处理后胰腺腺泡细胞炎症因子的表达水平

不同浓度H_2S供体NaHS(0、5、10、20、40 μmol/L)在37 ℃条件下预处理腺泡细胞30 min后,与雨蛙素(10^{-7} mol/L)共同孵育60 min,Real-time PCR检测TNF-α、IL-1β、IL-10的水平(图1)。NaHS在5、10 μmol/L浓度时TNF-α、IL-1β的水平降低,IL-10的水平升高。且5 μmol/L时TNF-α、IL-1β、IL-10的水平与雨蛙素组比较有统计学意义($P<0.05$)。但当NaHS浓度升至20、40 μmol/L时增加TNF-α、IL-1β的表达。

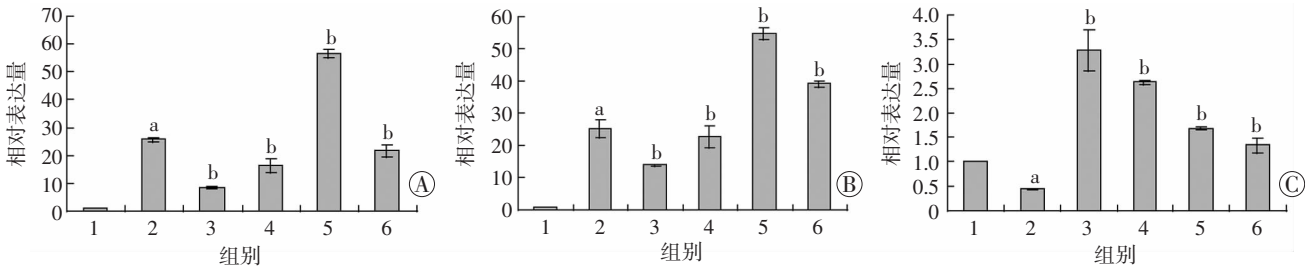
5 μmol/L NaHS不同时间(10、30、60 min)孵育细胞后,与雨蛙素(10^{-7} mol/L)共同孵育60 min,Real-time PCR检测TNF-α、IL-1β、IL-10的水平(图2)。随着时间的增加,TNF-α、IL-1β表达逐渐降低。60 min时,TNF-α、IL-1β的水平显著低于雨蛙素组($P<0.05$),IL-10显著高于雨蛙素组($P<0.05$)。

2.2 PAG处理后胰腺腺泡细胞炎症因子的表达水平

3 μmol/L PAG预处理细胞60 min后,与10^{-7} mol/L浓度的雨蛙素共同孵育60 min,Real-time PCR检测TNF-α、IL-1β、IL-10、CSE的水平(图3)。与正常组比较,雨蛙素组CSE的表达水平明显降低($P<0.05$);PAG预处理后,CSE的水平进一步降低($P<0.05$)。PAG组TNF-α及IL-1β的水平明显高于雨蛙素组($P<0.05$),而IL-10的水平显著低于雨蛙素组($P<0.05$);NaHS处理组与PAG组比较,CSE的水平较明显升高($P<0.05$),TNF-α、IL-1β的水平明显降低($P<0.05$),IL-10的水平显著升高($P<0.05$)。

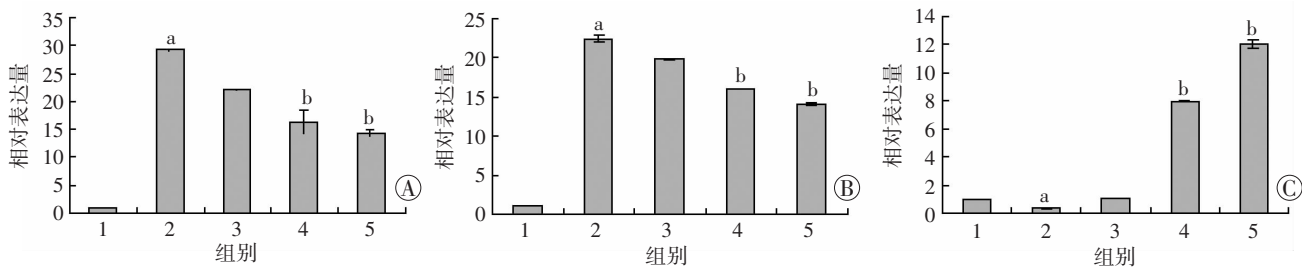
2.3 BAY 11-7082处理后腺泡细胞炎症因子的表达水平

用BAY 11-7082预处理细胞30 min,与5 μmol/L NaHS共同孵育60 min后,再加入雨蛙素共同孵育细胞60 min,Real-time PCR检测TNF-α、IL-1β、IL-10的水平(图4)。BAY 11-7082与NaHS共同孵育,与雨蛙素组比较,TNF-α、IL-1β的水平显著降低($P<0.05$),IL-10的水平明显升高($P<0.05$)。



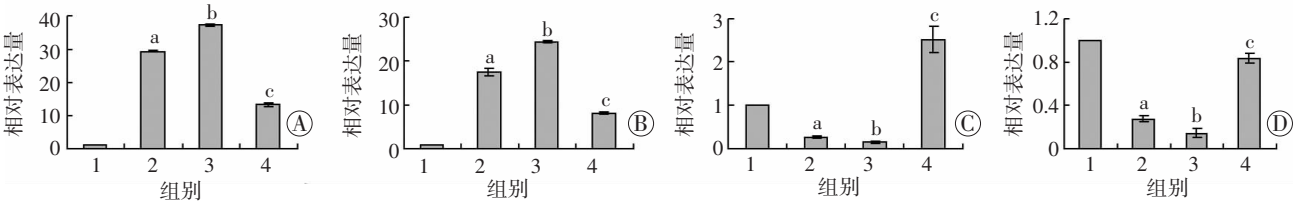
A:TNF-α mRNA表达;B:IL-1β mRNA表达;C:IL-10 mRNA表达;1:正常组;2:雨蛙素组(10^{-7} mol/L);3:雨蛙素组(10^{-7} mol/L)+5 μmol/L NaHS组;4:雨蛙素组(10^{-7} mol/L)+10 μmol/L NaHS组;5:雨蛙素组(10^{-7} mol/L)+20 μmol/L NaHS组;6:雨蛙素组(10^{-7} mol/L)+40 μmol/L NaHS组;a:$P<0.05$,与正常组比较;b:$P<0.05$,与雨蛙素组比较

图1 Real-time PCR检测不同浓度NaHS预处理后各组腺泡细胞炎症因子表达水平



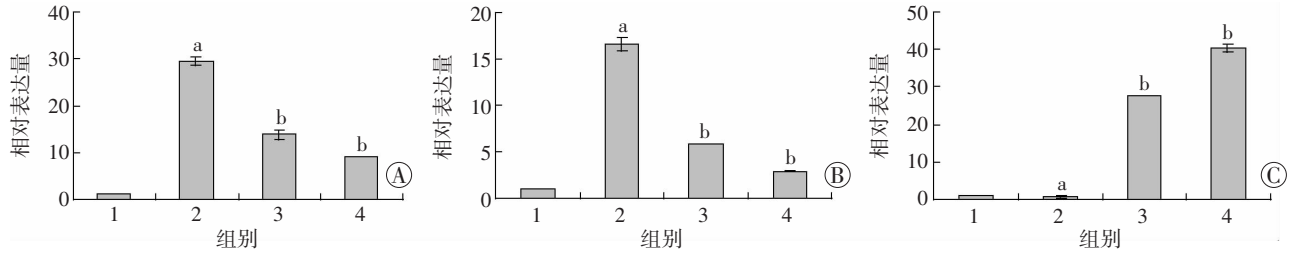
A:TNF-α mRNA表达;B:IL-1β mRNA表达;C:IL-10 mRNA表达;1:正常组;2:雨蛙素组(10^{-7} mol/L);3:雨蛙素组(10^{-7} mol/L)+5 μmol/L NaHS共孵育10 min;4:雨蛙素组(10^{-7} mol/L)+5 μmol/L NaHS共孵育30 min;5:雨蛙素组(10^{-7} mol/L)+5 μmol/L NaHS共孵育60 min;a:$P<0.05$,与正常组比较;b:$P<0.05$,与雨蛙素组比较

图2 Real-time PCR检测5 μmol/L NaHS不同时间预处理后各组腺泡细胞炎症因子表达水平



A:TNF-α mRNA 表达水平;B:IL-1β mRNA 表达水平;C:IL-10 mRNA 表达水平;D:CSE mRNA 表达水平; 1:正常组;2:雨蛙素组(10^{-7} mol/L); 3: 雨蛙素(10^{-7} mol/L) +3 mmol/L PAG 组;4:雨蛙素(10^{-7} mol/L) +5 μmol/L NaHS 组;a:$P<0.05$,与正常组比较;b:$P<0.05$,与雨蛙素组比较;c:$P<0.05$,与雨蛙素(10^{-7} mol/L) +3 mmol/L PAG 组比较

图 3　Real-time PCR 检测 PAG 预处理后各组腺泡细胞炎症因子及 CSE 表达水平

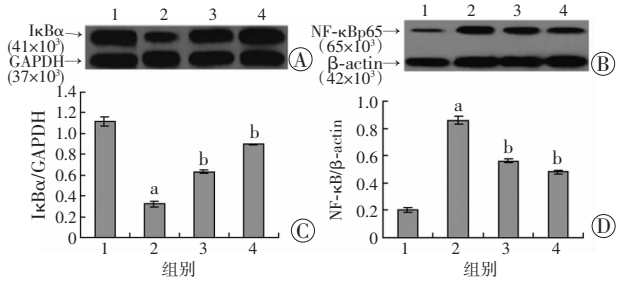


A:TNF-α mRNA 表达水平;B:IL-1β mRNA 表达水平;C:IL-10 mRNA 表达水平;1:正常组;2:雨蛙素组(10^{-7} mol/L); 3: 雨蛙素(10^{-7} mol/L) + 5 μmol/L NaHS 组;4:雨蛙素(10^{-7} mol/L) +5 μmol/L NaHS +50 μmol/L BAY 组; a:$P<0.05$,与正常组比较;b:$P<0.05$,与雨蛙素组比较

图 4　Real-time PCR 检测 BAY 11-7082 预处理后各组腺泡细胞炎症因子表达水平

2.4　NaHS 预处理后腺泡细胞 IκBα、NF-κBp65 表达的水平

BAY 11-7082 预处理细胞 30 min,与 5 μmol/L NaHS 共同孵育 60 min 后,再加入雨蛙素共同孵育细胞 60 min。Western blot 检测细胞浆 IκBα、细胞核 NF-κBp65 的蛋白表达水平(图 5)。与雨蛙素组比较,NaHS 预处理后,IκBα 的降解及细胞核 NF-κBp65 的水平明显降低($P<0.05$);BAY 11-7082 与 NaHS 共同孵育预处理细胞后,IκBα 的降解及细胞核 NF-κBp65 的水平进一步降低($P<0.05$)。



A、B:Western blot 检测结果;C、D:半定量分析结果;A、C:IκBα; B、D:NF-κB; 1:正常组;2:雨蛙素组(10^{-7} mol/L); 3: 雨蛙素(10^{-7} mol/L) + 5 μmol/L NaHS 组;4:雨蛙素(10^{-7} mol/L) + 5 μmol/L NaHS +50 μmol/L BAY 组;a:$P<0.05$,与正常组比较; b:$P<0.05$,与雨蛙素组比较

图 5　Western blot 检测 NaHS 预处理后各组腺泡细胞中 IκBα、NF-κBp65 表达水平

3　讨论

H_2S 在 AP 动物模型中的作用存在争议。Sidhapuriwala 等[11]在雨蛙素诱导的大鼠胰腺炎模型中证实 NaHS 浓度为 10 mg/kg 时,有明显抑制炎症反应的作用。而 Bhatia 等[12]研究认为,在 AP 动物模型中,H_2S 起促炎作用。本课题组前期用精氨酸诱导大鼠建立体内 AP 模型的研究表明,H_2S 具有抑制炎症的作用[13]。鉴于 H_2S 作用的多样性,我们采用雨蛙素刺激离体 SD 大鼠胰腺腺泡细胞,建立体外胰腺炎模型,运用不同浓度 H_2S 预处理腺泡细胞,进一步探讨 H_2S 在 AP 中的作用机制。实验证实随着 H_2S 供体 NaHS 浓度变化,其在 AP 中的作用相应改变,低浓度(5、10 μmol/L)时,明显抑制促炎因子 TNF-α 及 IL-1β 的表达,而增加抑炎因子 IL-10 的表达,而高浓度(20、40 μmo/L)时,增加促炎因子 TNF-α 及 IL-1β 的表达,而下调抑炎因子 IL-10 的表达。本课题主要讨论 H_2S 对 AP 的抑炎作用,因此采用低浓度 5 μmol/L NaHS 进行下一步实验。当 5 μmol/L NaHS 预处理时,随着时间的增加,促炎因子 TNF-α 及 IL-1β 的表达逐渐降低而抑炎因子 IL-10 的表达逐渐增高。因此 H_2S 在低浓度时抑制 AP 的炎症反应。

在 AP 时,胰腺腺泡细胞能通过分泌炎症细胞因子[14-15],促进白细胞向损伤胰腺组织趋化,加重局部及全身炎症反应。最近研究[16]表明,炎症细胞尤其是中性粒细胞能通过 TNF-α 激活胰蛋白酶原,促进腺泡细胞坏死,加重炎症反应。因此,炎症因子在 AP 时炎症反应中具有重要作用[17]。而腺泡细胞在 AP 早期,最早开始分泌细胞活素,因此抑制腺泡细胞炎症因子的分泌能早期干预炎症反应的发生。

在哺乳动物体内主要以 L-半胱氨酸为底物通过激活 5′-磷酸吡哆醛依赖性酶:胱硫醚-γ 裂解酶(cysta-

thionine γ-lyase, CSE, EC 4.4.1.1)和胱硫醚-β 合成酶(cystathionine β-synthase, CBS, EC 4.2.1.22)生成 H_2S[18]。CBS 主要作用于中枢神经系统 H_2S 的合成,而在外周器官,H_2S 的合成主要是 CSE 发挥作用[19]。因此,本实验采用 CSE 抑制剂 PAG 抑制腺泡细胞内源性 H_2S 的生成。结果显示,PAG 预处理后,增加促炎因子 TNF-α 及 IL-1β 的表达,降低抑炎因子IL-10的表达。与正常组比较,雨蛙素处理腺泡细胞组,CSE 及 IL-10 的表达明显降低,TNF-α、IL-1β 的表达明显增高。而外源性给予 H_2S 供体 5 μmol/L NaHS 后,明显抑制促炎细胞活素的表达,而增加抑炎细胞活素的表达。证明抑制内源性 H_2S 生成能够促进 AP 时炎症反应,而外源性给予低浓度 H_2S 供体 NaHS 抑制 AP 时炎症反应,认为 H_2S 在 AP 反应时起负性调节作用。

NF-κB 是一种广泛存在于细胞中的核转录因子,参与调节细胞生长、免疫应答、炎症反应和凋亡等信号通路的关键细胞因子[20-22]。其在 AP 的发病机制中起重要作用[7]。静息状体下,NF-κB 与 IκBα 形成复合体处于细胞浆内,当在某些因素的刺激下 IκBα 降解,NF-κB 活化进入细胞核内,调控下游炎症基因的转录。因此降低 IκBα 的降解,抑制 NFκB 入核是抑制 AP 时炎症反应的关键靶点。在本研究中,与正常组比较,雨蛙素组增加了 IκBα 的降解及细胞核内 NF-κB 的表达水平,5 μmol/L NaHS 预处理细胞后,IκBα 的降解减少,细胞核内 NF-κB 的水平降低。与 NaHS 组比较,NF-κB 抑制剂 BAY 11-7082 与 NaHS 供体孵育细胞后,进一步降低 TNF-α、IL-1β 的表达,增加抑炎因子 IL-10 的表达,BAY 11-7082 与 NaHS 抑制 AP 的炎症反应具有协同作用。说明 NaHS 能通过抑制 NF-κB 活化,从而抑制下游炎症因子,如 TNFα、IL-1β 的表达。

本实验发现,在雨蛙素孵育的胰腺腺泡细胞中,内源性 H_2S 减少参与了 AP 的炎症反应过程。外源性给予低浓度 H_2S 的供体 NaHS,能抑制腺泡细胞分泌促炎细胞因子,其机制是通过减少 IκBα 的降解,抑制 NF-κB 活化,进而抑制 AP 时炎症因子基因的表达,缓解炎症反应。因此,低浓度 H_2S 在 AP 反应中具有一定的抗炎作用,为今后 AP 治疗提供新的临床思路。

参考文献:

[1] Bradley E L 3rd. A clinically based classification system for acute pancreatitis. Summary of the International Symposium on Acute Pancreatitis, Atlanta, Ga, September 11 through 13, 1992[J]. Arch Surg, 1993, 128(5): 586-590.

[2] Gaisano H Y, Gorelick F S. New insights into the mechanisms of pancreatitis[J]. Gastroenterology, 2009, 136(7): 2040-2044.

[3] Saluja A K, Lerch M M, Phillips P A, *et al*. Why does pancreatic overstimulation cause pancreatitis? [J]. Annu Rev physiol, 2007, 69: 249-269.

[4] Bhatia M, Wong F L, Cao Y, *et al*. Pathophysiology of acute pancreatitis [J]. Pancreatology, 2005, 5(2/3): 132-144.

[5] Hoque R, Malik A F, Gorelick F, *et al*. Sterile inflammatory response in acute pancreatitis [J]. Pancreas, 2012, 41(3): 353-357.

[6] Dios I D. Inflammatory role of the acinar cells during acute pancreatitis [J]. World J Gastrointest Pharmacol Ther, 2010, 1(1): 15-20.

[7] Rakonczay Z Jr, Hegyi P, Takacs T, *et al*. The role of NF-kappaB activation in the pathogenesis of acute pancreatitis [J]. Gut, 2008, 57(2): 259-267.

[8] Tan B H, Wong P T, Bian J S. Hydrogen sulfide: A novel signaling molecule in the central nervous system [J]. Neurochem Int, 2010, 56(1): 3-10.

[9] Li L, Bhatia M, Moore P K. Hydrogen sulphide--a novel mediator of inflammation? [J]. Curr Opin Pharmacol, 2006, 6(2): 125-129.

[10] 黄刚, 汤为学, 陶小红. 生长抑素对大鼠胰腺腺泡细胞内骨架蛋白 F-actin 分布和细胞外分泌功能的影响[J]. 第三军医大学学报, 2010, 32(7): 672-676.

[11] Sidhapuriwala J N, Ng S W, Bhatia M. Effects of hydrogen sulfide on inflammation in caerulein-induced acute pancreatitis [J]. J Inflamm (Lond), 2009, 6: 35.

[12] Bhatia M, Wong F L, Fu D, *et al*. Role of hydrogen sulfide in acute pancreatitis and associated lung injury[J]. FASEB J, 2005, 19(6): 623-625.

[13] 饶春燕, 付兰英, 赵晓晏. 硫化氢对急性坏死性胰腺炎及相关肺损伤作用的初步探讨[J]. 中华胰腺病杂志, 2012, 12(2): 129-131.

[14] Gukovskaya A S, Gukovsky I, Zaninovic V, *et al*. Pancreatic acinar cells produce, release, and respond to tumor necrosis factor-alpha. Role in regulating cell death and pancreatitis [J]. J Clin Invest, 1997, 100(7): 1853-1862.

[15] Ramudo L, Manso M A, Vicente S, *et al*. Pro- and anti-inflammatory response of acinar cells during acute pancreatitis. Effect of N-acetyl cysteine [J]. Cyokine, 2005, 32(3/4): 125-131.

[16] Sendler M, Dummer A, Weiss F U, *et al*. Tumour necrosis factor α secretion induces protease activation and acinar cell necrosis in acute experimental pancreatitis in mice [J]. Gut, 2013, 62(3): 430-439.

[17] Norman J. The role of cytokines in the pathogenesis of acute pancreatitis [J]. Am J Surg, 1998, 175(1): 76-83.

[18] Zanardo R C, Brancaleone V, Distrutti E, *et al*. Hydrogen sulfide is an endogenous modulator of leukocyte-mediated inflammation [J]. FASEB J, 2006, 20(12): 2118-2120.

[19] Paul B D, Snyder S H. H_2S signalling through protein sulfhydration and beyond [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2012, 13(8): 499-507.

[20] Hayden M S, Ghosh S. Shared principles in NF-kappaB signaling [J]. Cell, 2008, 132(3): 344-362.

[21] Hoffmann A, Natoli G, Ghosh G. Transcriptional regulation *via* the NF-kappaB signaling module [J]. Oncogene, 2006, 25(51): 6706-6716.

[22] Schreiber J, Jenner R G, Murray H L, *et al*. Coordinated binding of NF-kappaB family members in the response of human cells to lipopolysaccharide [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006, 103(15): 5899-5904.

(收稿:2012-11-06;修回:2013-01-15)

(编辑 王 红)