

# 硫化氢对肠缺血 / 再灌注损伤大鼠 核转录因子 $\kappa$ B 及下游基因表达的影响

卢根林<sup>1</sup> 吴爱兵<sup>2</sup> 王宏宾<sup>3</sup>

(1. 义乌中心医院普通外一科, 浙江 义乌 322000; 2. 广东医学院附属医院肿瘤中心, 广东 湛江 523808;  
3. 青海大学附属医院胆胰外科, 青海 西宁 810001)

**【摘要】** 目的 探讨硫化氢( $H_2S$ )对肠缺血/再灌注(I/R)损伤大鼠核转录因子  $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)及下游基因表达的影响。方法 雄性 Wistar 大鼠 24 只,按随机数字表法分为假手术组(Sham 组)、I/R 组, I/R + 硫化氢钠(NaHS)组(NaHS 组),每组 8 只。NaHS 组在再灌注前 10 min 静脉注射(静注)100  $\mu$ mol/kg NaHS 后按  $1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$  持续静注直到再灌注 2 h, Sham 组和 I/R 组静注等体积的生理盐水。用原位末端缺刻标记试验(TUNEL)观察回肠上皮细胞凋亡情况,并计算凋亡指数(AI),蛋白质免疫印迹试验(Western Blot)检测回肠组织 NF- $\kappa$ B 蛋白及 NF- $\kappa$ B 磷酸化(pNF- $\kappa$ B)水平,酶联免疫吸附试验(ELISA)测定血白细胞介素(IL-1、IL-6)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )水平,敏感硫电极法测定血  $H_2S$  水平,动态浊度法测定血内毒素水平。采用直线相关分析法分析 pNF- $\kappa$ B、TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 与  $H_2S$ 、AI、内毒素及内毒素、AI 与  $H_2S$  的相关性。结果 Sham 组未见凋亡细胞, I/R 组可见较多的棕褐色凋亡回肠黏膜腺上皮细胞, AI 明显增加[(39.62 $\pm$ 4.50)% 比 (4.30 $\pm$ 1.09)%]。NaHS 组可见较稀疏的棕褐色凋亡回肠黏膜腺上皮细胞, AI 较 I/R 组明显降低[(24.41 $\pm$ 2.76)% 比 (39.62 $\pm$ 4.50)% ,  $P<0.01$ ]。与 Sham 组比较, I/R 组 NF- $\kappa$ B 蛋白表达降低(灰度值:0.82 $\pm$ 0.08 比 0.87 $\pm$ 0.07), pNF- $\kappa$ B(灰度值:0.82 $\pm$ 0.07 比 0.15 $\pm$ 0.02)、TNF- $\alpha$  (ng/L:49.02 $\pm$ 1.62 比 4.08 $\pm$ 0.94)、IL-6(ng/L:437.08 $\pm$ 12.43 比 227.97 $\pm$ 12.92)、IL-1(96.12 $\pm$ 12.35 比 47.97 $\pm$ 9.68)、内毒素均明显升高(U/L:0.710 $\pm$ 0.071 比 0.302 $\pm$ 0.069),  $H_2S$  明显降低( $\mu$ mol/L:24.38 $\pm$ 2.69 比 42.57 $\pm$ 7.18); 与 I/R 组比较, NaHS 组 TNF- $\alpha$  (ng/L:39.27 $\pm$ 1.54)、IL-6(ng/L:349.43 $\pm$ 17.20)、IL-1(ng/L:67.38 $\pm$ 14.57)、pNF- $\kappa$ B(0.78 $\pm$ 0.09)、内毒素(U/L:0.558 $\pm$ 0.074)均降低, NF- $\kappa$ B 蛋白表达(灰度值:0.84 $\pm$ 0.06)和  $H_2S$  水平升高( $\mu$ mol/L:35.27 $\pm$ 3.14)。pNF- $\kappa$ B、TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 与  $H_2S$  呈负相关( $r$ 值分别为 -0.637、-0.778、-0.819、-0.675,均  $P<0.01$ ),与 AI 呈正相关( $r$ 值分别为 0.672、0.643、0.759、0.556,均  $P<0.01$ ),与内毒素呈正相关( $r$ 值分别为 0.680、0.580、0.720、0.560,均  $P<0.01$ ),内毒素、AI 与  $H_2S$  呈负相关( $r$ 值分别为 -0.790、-0.843,均  $P<0.01$ )。结论 提示  $H_2S$  能降低 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 及 pNF- $\kappa$ B 水平,减轻肠 I/R 损伤大鼠回肠黏膜上皮细胞凋亡、内毒素血症,对大鼠小肠 I/R 损伤起保护作用。

**【关键词】** 缺血 / 再灌注, 肠; 硫化氢; 核转录因子  $\kappa$ B; 肿瘤坏死因子; 白细胞介素

**Influence of hydrogen sulfide on expressions of nuclear factor- $\kappa$ B and downstream gene in rats with intestinal ischemia/reperfusion injury** Lu Genlin\*, Wu Aibing, Wang Hongbin. \*Department of the First General Surgery, Yiwu Central Hospital, Yiwu 322000, Zhejiang, China

Corresponding author: Lu Genlin, Email: lugenlin007@163.com

**【Abstract】 Objective** To study the influence of hydrogen sulfide ( $H_2S$ ) on expressions of nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) and downstream gene in rats with intestinal ischemia/reperfusion (I/R) injury. **Methods** Twenty-four male Wistar rats were randomly divided into sham operation group (Sham group), I/R group, I/R and sodium hydrosulfide (NaHS) group ( $n = 8$  in each group). In NaHS group, 10 minutes prior to the onset of reperfusion, intravenous injection of 100  $\mu$ mol/kg NaHS was given to the rat, and afterwards  $1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$  of NaHS was persistently infused into the vein until reperfusion for 2 hours, whereas in Sham and I/R groups, equal volume of normal saline was intravenously infused to the rat. Ileal epithelial cell apoptosis was studied by TdT-mediated dUTP nick end labeling staining (TUNEL) and apoptosis index (AI) was calculated. The protein expression of ileal tissue NF- $\kappa$ B protein and the level of phosphorylated NF- $\kappa$ B (pNF- $\kappa$ B) were determined by Western Blot. The levels of serum interleukin (IL-1, IL-6), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The content of plasma  $H_2S$  was tested by sensitive sulfide electrode. Endotoxin was detected by the dynamic turbidity method. The correlation between pNF- $\kappa$ B, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 and  $H_2S$ , AI, endotoxin, and endotoxin, AI and  $H_2S$  were analysed. **Results** No apoptotic ileal epithelial cells were seen in Sham group, while in I/R group, the brown apoptotic ileal epithelial cell was significantly increased, and AI was also obviously elevated [(39.62 $\pm$ 4.50)% vs. (4.30 $\pm$ 1.09)%]. In the NaHS group,

doi: 10.3969/j.issn.1008-9691.2016.03.011

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(81201672); 浙江省义乌市引进人才科研项目(2012-R-04)

通讯作者: 卢根林, Email: lugenlin007@163.com

sparsely distributed brown apoptotic ileal mucosal glandular epithelial cells could be seen, and AI was significantly lower than that in I/R group [(24.41 ± 2.76)% vs. (39.62 ± 4.50)%,  $P < 0.01$ ]. Compared with Sham group, the protein expression of NF- $\kappa$ B (gray value: 0.82 ± 0.07 vs. 0.15 ± 0.02), pNF- $\kappa$ B (gray value: 0.82 ± 0.07 vs. 0.15 ± 0.02), TNF- $\alpha$  (ng/L: 49.02 ± 1.62 vs. 4.08 ± 0.94), IL-6 (ng/L: 437.08 ± 12.43 vs. 227.97 ± 12.92), IL-1 (ng/L: 96.12 ± 12.35 vs. 47.97 ± 9.68, endotoxin (U/L: 0.710 ± 0.071 vs. 0.302 ± 0.069) were markedly elevated, and H<sub>2</sub>S was significantly lowered ( $\mu$ mol/L: 24.38 ± 2.69 vs. 42.57 ± 7.18) in I/R group; compared with I/R group, TNF- $\alpha$  (ng/L: 39.27 ± 1.54), IL-6 (ng/L: 349.43 ± 17.20), IL-1 (ng/L: 67.38 ± 14.57), pNF- $\kappa$ B (0.78 ± 0.09), endotoxin (U/L: 0.558 ± 0.074) were all lowered, the protein expression of NF- $\kappa$ B (gray value: 0.84 ± 0.06) and H<sub>2</sub>S was significantly heightened ( $\mu$ mol/L: 35.27 ± 3.14) in NaHS group. Correlation analysis showed: the correlations between pNF- $\kappa$ B, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 and H<sub>2</sub>S were negative ( $r$  values: -0.637, -0.778, -0.819, -0.675, all  $P < 0.01$ ), and AI presented positive ( $r$  values: 0.672, 0.643, 0.759, 0.556, all  $P < 0.01$ ), endotoxin were positive ( $r$  values: 0.680, 0.580, 0.720, 0.560, all  $P < 0.01$ ), and the correlations between endotoxin, AI and H<sub>2</sub>S were negative ( $r$  value: -0.790, -0.843, both  $P < 0.01$ ). **Conclusions** The experimental results suggest that H<sub>2</sub>S have a protective effect on intestinal I/R injury in rats as it attenuates ileal mucosal epithelial cell apoptosis and endotoxemia by down-regulating the levels of pNF- $\kappa$ B, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1.

**【Key words】** Ischemic-reperfusion; Hydrogen sulfide; Nuclear factor- $\kappa$ B; Tumor necrosis factor- $\alpha$ ; Interleukin

硫化氢(H<sub>2</sub>S)是继一氧化氮(NO)和一氧化碳(CO)之后的第三气体信号分子,由胱硫醚- $\gamma$ -裂解酶(CSE)、胱硫醚- $\beta$ -合成酶(CBS)等关键酶催化L-半胱氨酸作用下产生<sup>[1-4]</sup>。本课题组前期研究结果显示, H<sub>2</sub>S对肠缺血/再灌注(I/R)损伤大鼠肠黏膜屏障功能<sup>[5]</sup>、肝脏功能起保护作用<sup>[6-7]</sup>。白细胞介素(IL-1、IL-6)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )是核转录因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)的下游基因<sup>[8-10]</sup>。本实验通过建立大鼠肠I/R损伤模型,探讨H<sub>2</sub>S对肠I/R损伤大鼠NF- $\kappa$ B、TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-6表达的影响。

## 1 材料与方法

**1.1 主要实验材料:** 清洁级雄性Wistar大鼠,由浙江大学医学院动物中心提供,动物合格证号:201001018;敏感硫电极和PXS-270离子计购于上海雷磁仪器厂,原位末端缺刻标记试验(TUNEL)检测试剂盒购自华美生物工程公司,NF- $\kappa$ B及磷酸化抗体、三磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)抗体、辣根过氧化物酶(HRP)标记的IgG二抗均购于美国Santa Cruz公司。

**1.2 动物分组及模型制备:** 6周龄雄性Wistar大鼠24只,体质量(210 ± 15)g,按随机数字表法分为假手术(Sham)组、I/R组、I/R + 硫化氢钠(NaHS)组(NaHS组)。NaHS组在灌注前10 min静脉注射(静注)100  $\mu$ mol/kg NaHS然后按1 mg · kg<sup>-1</sup> · h<sup>-1</sup>输注直到再灌注2 h, Sham组和I/R组静注相同体积生理盐水,作用和持续时间同NaHS组<sup>[4-6]</sup>。I/R组和NaHS组剖腹、游离及钳夹肠系膜上动脉(SMA),60 min和再灌注120 min建立大鼠I/R损伤模型<sup>[4-5]</sup>; Sham组仅行剖腹及游离SMA。

本实验中动物处置方法符合动物伦理学标准。

**1.3 检测指标及方法:** 处死大鼠取心脏离心分离

血浆;取距末端回肠组织10 cm,用生理盐水清洗,5 cm用10%甲醛水溶液固定,5 cm置于冷冻管中液氮中保存。

**1.3.1 血浆检测:** 用敏感硫电极法<sup>[11]</sup>测定血浆H<sub>2</sub>S水平;动态浊度法检测血浆内毒素水平;酶联免疫吸附试验(ELISA)测定血浆IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$ 水平。

**1.3.2 回肠组织TUNEL染色及细胞凋亡率检测:** 参照TUNEL检测试剂盒说明书步骤进行<sup>[8-9]</sup>。凋亡指数(AI) = 凋亡细胞数 / 细胞总数 × 100%,以5个视野的AI均值代表每只大鼠回肠组织细胞的凋亡率。

**1.3.3 回肠组织标本检测:** 用蛋白质免疫印迹试验(Western Blot)检测NF- $\kappa$ B蛋白及其磷酸化(pNF- $\kappa$ B)水平。取回肠组织冰冻标本0.5 g于RIPA裂解液中碾磨,以Bard-ford法测定蛋白浓度。取50  $\mu$ g蛋白进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),转膜2(0.65 mA/cm<sup>2</sup>);室温预杂交3 h,加入一抗(NF- $\kappa$ B及磷酸化抗体按1:500比例稀释)4 °C过夜。漂洗后加入HRP标记的IgG二抗室温反应1.5 h;0.1%含吐温的磷酸盐缓冲液(TBST)洗膜,化学发光法(ECL)发光压片显影。所得结果以GAPDH为内参照,以NF- $\kappa$ B、pNF- $\kappa$ B与GAPDH的比值作为NF- $\kappa$ B、pNF- $\kappa$ B的蛋白表达量。

**1.3.4 相关性分析:** 采用直线相关分析法分析pNF- $\kappa$ B、TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1与H<sub>2</sub>S、AI、内毒素的相关性及内毒素、AI与H<sub>2</sub>S的相关性。

**1.4 统计学处理:** 使用SPSS 13.0软件处理数据,计量资料以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,多样本均数比较采用单因素方差分析,多样本均数间两两比较用 $q$ 检验,相关性检测采用直线相关分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组血浆 H<sub>2</sub>S、内毒素水平变化(表 1): NaHS 组 H<sub>2</sub>S 水平低于 Sham 组、高于 I/R 组(均  $P < 0.01$ ); NaHS 组内毒素水平低于 I/R 组、高于 Sham 组(均  $P < 0.01$ )。

表 1 各组大鼠血浆 H<sub>2</sub>S、内毒素水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数(只)	H <sub>2</sub> S(μmol/L)	内毒素(U/L)
Sham 组	8	42.57 ± 7.18	0.302 ± 0.069
I/R 组	8	24.38 ± 2.69 <sup>a</sup>	0.710 ± 0.071 <sup>a</sup>
NaHS 组	8	35.27 ± 3.14 <sup>ab</sup>	0.558 ± 0.074 <sup>ab</sup>

注:与 Sham 组比较,<sup>a</sup> $P < 0.01$ ;与 I/R 组比较,<sup>b</sup> $P < 0.01$

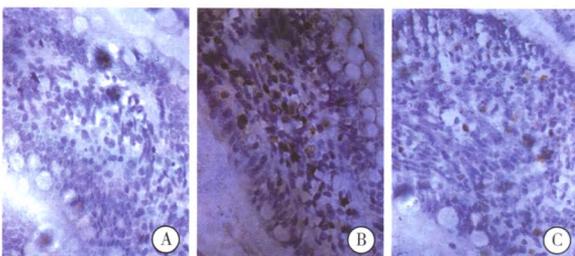
2.2 各组血浆 TNF-α、IL-6、IL-1 水平比较(表 2): NaHS 组 TNF-α、IL-6、IL-1 显著低于 I/R 组、高于 Sham 组( $P < 0.01$ )。

表 2 各组大鼠 TNF-α、IL-6、IL-1 水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数(只)	TNF-α (ng/L)	IL-6 (ng/L)	IL-1 (ng/L)
Sham 组	8	4.08 ± 0.94	227.97 ± 12.92	47.97 ± 9.68
I/R 组	8	49.02 ± 1.62 <sup>a</sup>	437.08 ± 12.43 <sup>a</sup>	96.12 ± 12.35 <sup>a</sup>
NaHS 组	8	39.27 ± 1.54 <sup>ab</sup>	349.43 ± 17.20 <sup>ab</sup>	67.38 ± 14.57 <sup>ab</sup>

注:与 Sham 组比较,<sup>a</sup> $P < 0.01$ ;与 I/R 组比较,<sup>b</sup> $P < 0.01$

2.3 回肠黏膜上皮细胞凋亡率及回肠组织 NF-κB、pNF-κB 蛋白表达的变化(图 1~2;表 3): Sham 组未见凋亡细胞;I/R 组可见较多的棕褐色凋亡腺上皮细胞, AI 明显增加;NaHS 组可见较稀疏的棕褐色凋亡的回肠黏膜腺上皮细胞, AI 显著低于 I/R 组( $P < 0.01$ )。各组 NF-κB 蛋白表达水平比较差异无统计学意义(均  $P > 0.05$ ), I/R 组 pNF-κB 表达较 Sham 组明显升高, NaHS 组较 I/R 组明显降低( $P < 0.01$ )。



注: A 为 Sham 组; B 为 I/R 组; C 为 NaHS 组

图 1 各组大鼠回肠黏膜上皮细胞凋亡情况 (TUNEL 染色 高倍放大)

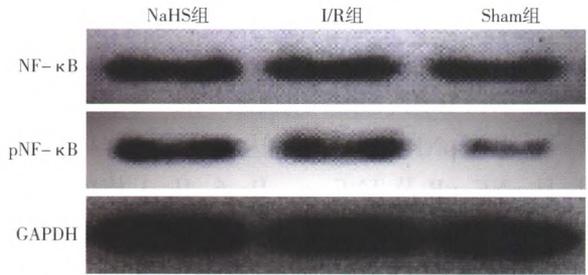


图 2 各组大鼠回肠黏膜上皮 NF-κB、pNF-κB 的蛋白表达水平比较

表 3 各组大鼠回肠上皮细胞 AI 和回肠组织 NF-κB、pNF-κB 蛋白表达水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数(只)	AI (%)	NF-κB (灰度值)	pNF-κB (灰度值)
Sham 组	8	4.30 ± 1.09	0.87 ± 0.07	0.15 ± 0.02
I/R 组	8	39.62 ± 4.50 <sup>a</sup>	0.82 ± 0.08	0.82 ± 0.07 <sup>a</sup>
NaHS 组	8	24.41 ± 2.76 <sup>ab</sup>	0.84 ± 0.06	0.78 ± 0.09 <sup>ab</sup>

注:与 Sham 组比较,<sup>a</sup> $P < 0.01$ ;与 I/R 组比较,<sup>b</sup> $P < 0.01$

2.4 相关性分析(表 4): 直线相关性分析显示, pNF-κB、TNF-α、IL-6、IL-1 与 H<sub>2</sub>S 均呈负相关, 与 AI 均呈正相关, 与内毒素均呈正相关, 内毒素、AI 与 H<sub>2</sub>S 呈负相关(均  $P < 0.01$ )。

表 4 大鼠各检测指标的相关性分析

相关指标	r 值	P 值	相关指标	r 值	P 值
pNF-κB 与 H <sub>2</sub> S	-0.637	< 0.01	IL-1 与 AI	0.556	< 0.01
TNF-α 与 H <sub>2</sub> S	-0.778	< 0.01	pNF-κB 与内毒素	0.680	< 0.01
IL-6 与 H <sub>2</sub> S	-0.819	< 0.01	TNF-α 与内毒素	0.580	< 0.01
IL-1 与 H <sub>2</sub> S	-0.657	< 0.01	IL-6 与内毒素	0.720	< 0.01
pNF-κB 与 AI	0.672	< 0.01	IL-1 与内毒素	0.560	< 0.01
TNF-α 与 AI	0.643	< 0.01	内毒素与 H <sub>2</sub> S	-0.790	< 0.01
IL-6 与 AI	0.759	< 0.01	AI 与 H <sub>2</sub> S	-0.843	< 0.01

3 讨论

本课题组前期研究结果表明, 肠 I/R 伤大鼠小肠黏膜屏障功能障碍, 电镜下表现为小肠上皮微绒毛脱失, 线粒体内质网空泡变性, 紧密连接不清<sup>[8]</sup>。本研究结果显示, I/R 组 AI、内毒素显著高于 NaHS、Sham 组, 提示肠 I/R 损伤大鼠小肠黏膜上皮细胞凋亡, 肠源性细菌移位, 出现内毒素血症。白静慧等<sup>[12]</sup>研究表明, 脓毒症早期发挥促炎关键作用的细胞因子如 TNF-α、IL-1 可通过促进中性粒细胞与内皮细胞黏附, 激活凝血系统, 进而释放大炎症介质和细胞因子, 形成炎症“瀑布样”连锁反应, 最终导致多器官功能衰竭(MOF)的发生。NF-κB 是由 RelA(p65), c-Rel, RelB, p50(NF-κB1) 和 p52

(NF-κB2) 5 个亚基组成的同源或者异源二聚体<sup>[10]</sup>。IL-1、IL-6、TNF-α 是 NF-κB 的下游基因<sup>[10]</sup>。本研究显示, I/R 组、NaHS 组血浆 TNF-α、IL-6、IL-1 及回肠组织 pNF-κB 蛋白表达水平均显著高于 Sham 组, 且 pNF-κB 及 TNF-α、IL-6、IL-1 与内毒素水平呈正相关, 提示肠 I/R 损伤大鼠发生内毒素血症, pNF-κB 介导 TNF-α、IL-6、IL-1 高表达。本研究结果也显示, I/R 组 AI 显著高于 NaHS 组, TNF-α、IL-6、IL-1、pNF-κB 与 AI 呈正相关, 提示 pNF-κB 磷酸化及其下游靶基因 (TNF-α、IL-6、IL-1) 高表达介导肠 I/R 损伤大鼠回肠上皮细胞凋亡。

H<sub>2</sub>S 是继 NO 和 CO 之后的第三气体信号分子, 由 CSE 和 CBS 等关键酶催化 L- 半胱氨酸作用下产生。本研究结果显示, Sham 组血浆 H<sub>2</sub>S 水平为 (42.57 ± 7.18) μmol/L 与 Sodha 等<sup>[8]</sup>报道的结果一致。本课题组前期的研究结果显示, H<sub>2</sub>S 对肠 I/R 损伤大鼠肠黏膜屏障功能障碍<sup>[6]</sup>、肝脏功能障碍有保护作用<sup>[5, 7]</sup>。本研究结果显示, NaHS 组回肠黏膜上皮细胞 AI、内毒素水平显著低于 I/R 组, 高于 Sham 组, 且 NaHS 与 AI 及内毒素呈负相关, 提示 NaHS 能减轻肠 I/R 损伤大鼠回肠黏膜上皮细胞凋亡、内毒素血症, 对大鼠小肠 I/R 损伤起保护作用, 与文献<sup>[5-6]</sup>一致。

有研究发现, 抑制 TNF-α、IL-6 及 NF-κB 是治疗脓毒症一个思路<sup>[11-16]</sup>。本研究发现, NaHS 组肠组织 pNF-κB 蛋白表达及血浆 TNF-α、IL-6、IL-1 水平显著低于 I/R 组, 且 H<sub>2</sub>S 与 pNF-κB、TNF-α、IL-6、IL-1 水平呈负相关。提示 NaHS 下调 pNF-κB 和 TNF-α、IL-6、IL-1 的表达, 减轻肠 I/R 损伤大鼠回肠黏膜上皮细胞凋亡、内毒素血症, 对大鼠小肠 I/R 损伤起保护作用。

NF-κB 作为一种具有广泛生物学活性的核转录因子, 能与多种细胞基因的启动子和增强子中的 NF-κB 序列位点特异结合。NF-κB 活化往往受感染、创伤、氧化应激、内毒素等多种刺激的影响, 从而启动和调控众多炎性介质的基因转录, 在应激反应、免疫应答及细胞凋亡的调节中起主导作用<sup>[17]</sup>。Toll 样受体 2 单克隆抗体 (TLR2-mAb) 阻断 TLR2、NF-κB、髓样分化因子 88 (MyD88) 炎症信号通路后, 可抑制细胞炎症信号转导, 减少炎性因子释放, 在一定程度上影响了呼吸机相关性肺损伤 (VILI) 的进展<sup>[18]</sup>。NaHS 能否作为一种药物用于治疗大鼠肠 I/R 损伤, 待进一步研究。

### 参考文献

- [1] Wang R. Two's company, three's a crowd: can H<sub>2</sub>S be the third endogenous gaseous transmitter? [J]. FASEB J, 2002, 16(13): 1792-1798.
- [2] Fiorucci S, Antonelli E, Distrutti E, et al. Inhibition of hydrogen sulfide generation contributes to gastric injury caused by anti-inflammatory nonsteroidal drugs [J]. Gastroenterology, 2005, 129(4): 1210-1224.
- [3] Distrutti E, Sediari L, Mencarelli A, et al. Evidence that hydrogen sulfide exerts antinociceptive effects in the gastrointestinal tract by activating KATP channels [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2006, 316(1): 325-335.
- [4] 耿彬, 杜军保, 唐朝枢. 敏感硫电极法在测定心血管组织细胞及血浆胱硫醚-γ-裂解酶/硫化氢的应用 [J]. 北京大学学报(医学版), 2005, 37(5): 545-548.
- [5] 卢根林, 闫兴军, 邓勇, 等. 硫化氢在肠缺血-再灌注损伤大鼠肝脏功能障碍中的作用 [J]. 中华实验外科杂志, 2010, 27(7): 907-910.
- [6] 闫兴军, 卢根林, 邓勇. 硫化氢在肠缺血/再灌注损伤大鼠肠黏膜屏障功能障碍中的作用 [J]. 中华实验外科杂志, 2010, 27(1): 71-74.
- [7] Kang K, Zhao M, Jiang H, et al. Role of hydrogen sulfide in hepatic ischemia-reperfusion-induced injury in rats [J]. Liver Transpl, 2009, 15(10): 1306-1314.
- [8] Sodha NR, Clements RT, Feng J, et al. The effects of therapeutic sulfide on myocardial apoptosis in response to ischemia-reperfusion injury [J]. Eur J Cardiothorac Surg, 2008, 33(5): 906-913.
- [9] Oh GS, Pae HO, Lee BS, et al. Hydrogen sulfide inhibits nitric oxide production and nuclear factor-κB via heme oxygenase-1 expression in RAW264.7 macrophages stimulated with lipopolysaccharide [J]. Free Radic Biol Med, 2006, 41(1): 106-119.
- [10] Biswas SK, Bist P, Dhillon MK, et al. Role for MyD88-independent, TRIF pathway in lipid A/TLR4-induced endotoxin tolerance [J]. J Immunol, 2007, 179(6): 4083-4092.
- [11] 卢根林, 吴爱兵, 王宏宾. 急性胰腺炎患者内源性硫化氢水平的变化及与凝血功能的关系 [J]. 中华危重病急救医学, 2016, 28(3): 217-220.
- [12] 白静慧, 丁环, 蒋雷, 等. 槲皮素对脓毒症急性肺损伤大鼠肿瘤坏死因子-α/白细胞介素-1β 的影响 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2011, 18(5): 293-295.
- [13] 宋菲, 张蓓, 马莉, 等. 槲皮素和姜黄素对脓毒症大鼠炎症因子的影响 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2012, 19(4): 216-219.
- [14] 张慧妍, 朱文献, 苏文利, 等. 大承气汤对脓毒症大鼠髓系细胞触发受体-1 表达的影响 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2014, 21(4): 285-288.
- [15] 李银平, 乔佑杰, 武子霞, 等. 血必净注射液对脓毒症大鼠组织肿瘤坏死因子-α 及凝血功能的影响 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2007, 14(2): 104-107.
- [16] 吴嘉骏, 赵冰, 苏文利, 等. 大承气汤对脓毒症大鼠肝脏 Toll 样受体 4 表达的影响 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2010, 17(5): 285-287.
- [17] 孙艺铸, 王静, 于鲁欣, 等. 过氧化物酶体增殖物激活受体-γ/核转录因子 κB 转导通路在脓毒症所致凝血功能障碍中的作用 [J]. 中华危重病急救医学, 2015, 27(6): 520-524.
- [18] 傅瑞丽, 潘灵辉, 林飞, 等. 调控 Toll 样受体 2/核转录因子 κB 信号通路对呼吸机相关性肺损伤大鼠的影响 [J]. 中华危重病急救医学, 2014, 26(12): 856-859.

(收稿日期: 2015-06-01)  
(本文编辑: 邸美仙 李银平)