

## 硫化氢通过抑制 iNOS-NO 通路对抗化学性缺氧引起的 PC12 细胞损伤

郑东诞<sup>1</sup>, 兰爱平<sup>2</sup>, 莫利求<sup>3</sup>, 杨战利<sup>2</sup>, 杨春涛<sup>2</sup>, 王秀玉<sup>2</sup>, 郭润民<sup>2</sup>, 陈培熹<sup>2</sup>, 冯鉴强<sup>2\*</sup>

(中山大学 1.附属第一医院黄埔院区心血管科;2.中山医学院生理学教研室;  
3.附属第一医院黄埔院区麻醉科,广东 广州 510080)

**摘要:**【目的】探讨硫化氢(H<sub>2</sub>S)是否通过抑制 iNOS-NO 通路对抗化学性缺氧诱导的 PC12 细胞损伤。【方法】应用化学性低氧模拟剂氯化钴(CoCl<sub>2</sub>)处理 PC12 细胞建立化学性缺氧损伤模型。应用 CCK-8 比色法检测细胞存活率;Hoechst33258 染色法观察细胞凋亡的形态学改变;PI 染色流式细胞仪检测细胞凋亡率;Griess 试剂盒检测细胞培养液中的亚硝酸盐(NO 的代谢物)的浓度;Western blot 法检测 iNOS 蛋白的表达水平。【结果】应用 600 μmol/L CoCl<sub>2</sub> 处理 PC12 细胞 24 h 可使诱导型一氧化氮合酶(iNOS)表达明显增多;在应用 600 μmol/L CoCl<sub>2</sub> 处理 PC12 细胞前 30 min,应用 400 μmol/L NaHS(H<sub>2</sub>S 的供体)预处理细胞不仅可明显地抑制 CoCl<sub>2</sub> 诱导的 iNOS 表达及 NO 生成的增多,还能保护 PC12 细胞对抗 600 μmol/L CoCl<sub>2</sub> 引起的损伤,使细胞存活率升高,凋亡细胞数目减少;在 CoCl<sub>2</sub> 损伤 PC12 细胞前 60 min 应用 iNOS 抑制剂 L-Canavanine(10 μmol/L)预处理也能产生类似 NaHS 的作用。SB203580(p38MAPK 特异性抑制剂)预处理 60 min 也可以下调 CoCl<sub>2</sub> 引起的 iNOS 高表达。【结论】iNOS-NO 通路介导 CoCl<sub>2</sub> 引起 PC12 细胞的损伤作用;H<sub>2</sub>S 通过抑制 iNOS-NO 通路对抗化学性缺氧诱导的 PC12 细胞损伤。

**关键词:**硫化氢;氯化钴;诱导型一氧化氮合酶;一氧化氮;刀豆氨酸;凋亡

**中图分类号:**Q28 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-3554(2011)06-0741-06

### Hydrogen Sulfide Protects PC12 Cells against Chemical Hypoxia-induced Injury by Inhibiting iNOS-NO Pathway

ZHENG Dong-dan<sup>1</sup>, LAN Ai-ping<sup>2</sup>, MO Li-qiu<sup>3</sup>, YANG Zhan-li<sup>2</sup>, YANG Chun-tao<sup>2</sup>, WANG Xiu-yu<sup>2</sup>,  
GUO Run-min<sup>2</sup>, CHEN Pei-xi<sup>2</sup>, FENG Jian-qiang<sup>2\*</sup>

(1.Department of Cardiology, Region of Huangpu, First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, 2.Department of Physiology, Zhongshan School of Medical Science, 3.Department of Anesthesia, Region of Huangpu, First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

**Abstract:** 【Objective】 To investigate whether hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) protected PC12 cells against chemical hypoxia-induced injury by inhibiting iNOS-NO pathway.【Method】 PC12 cells were treated with cobalt chloride (CoCl<sub>2</sub>) to set up a chemical hypoxia-induced cellular injury model. Cell viability was tested by Cell Counter Kit (CCK-8); morphological changes of apoptotic cells were detected by Hoechst33258 staining; Apoptotic rate was evaluated by propidium iodide staining and flow cytometry (FCM); Nitrite accumulation, an indicator of nitrogen monoxidum (NO) production, was measured in cell culture supernatants using the Griess reagent; the expression of the inducible enzyme of NO (iNOS) was determined by Western blot assay. 【Results】 Exposure of PC12 cells to 600 μmol/L CoCl<sub>2</sub> for 24 h significantly enhanced iNOS expression. Pretreatment with 400 μmol/L NaHS (a donor of H<sub>2</sub>S) for 30 min prior to exposure of PC12 cells to 600 μmol/L CoCl<sub>2</sub> not only inhibited CoCl<sub>2</sub>-induced increase in expression of iNOS and NO production, but also protected PC12 cells against injuries induced by 600 μmol/L CoCl<sub>2</sub>, enhancing cell viability and decreasing amount of apoptotic cells. Similarly, pretreatment with L-Canavanine (10 μmol/L), an inhibitor of iNOS for 60 min prior to exposure

收稿日期:2011-07-11

基金项目:广东省科技计划项(2010B080701035, 2008B080703053)

作者简介:郑东诞,主治医师,医学硕士,主要从事心脑血管疾病的基础与临床研究, E-mail: yunsenzheng@live.cn. \* 通信作者:冯鉴强,教授,博士研究生导师,主要从事心脑血管保护, E-mail: fengjq-sums@163.com

of PC12 cells to  $\text{CoCl}_2$  also conferred the same cytoprotective effect of  $\text{H}_2\text{S}$ . In addition, pretreatment with SB203580, an inhibitor of p38MAPK, for 60 min prior exposure of PC12 cells to 600  $\mu\text{mol/L}$   $\text{CoCl}_2$  could also down-regulate the expression of iNOS induced by  $\text{CoCl}_2$ . 【Conclusions】 The iNOS-NO pathway mediates  $\text{CoCl}_2$ -induced injury and  $\text{H}_2\text{S}$  can protect PC12 cells against chemical hypoxia-induced injury by inhibiting iNOS-NO pathway.

**Key words:** hydrogen sulfide; cobalt chloride; iNOS; NO; L-canavine; apoptosis

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2011, 32(6):741-746]

缺氧引起的细胞损伤常常是临床上不少心脑血管疾病,如冠心病、脑梗塞等的病理生理机制之一。因此,探讨对抗低氧引起的神经损伤及其保护机制具有重要理论意义及临床价值。近年,化学性低氧模拟剂氯化钴(cobalt chloride)常被用来损伤 PC12 细胞(来源于大鼠的嗜铬细胞瘤的细胞株,具有神经元的形态结构与功能特点)以建立化学性低氧神经细胞损伤模型<sup>[1-2]</sup>,并应用此模型探讨体内第三种气体信号分子硫化氢(hydrogen sulfide,  $\text{H}_2\text{S}$ )的神经细胞保护作用及其机制。Meng<sup>[2]</sup>和兰爱平等<sup>[3]</sup>报道, $\text{H}_2\text{S}$ 能保护 PC12 细胞对抗  $\text{CoCl}_2$  引起的神经损伤,此作用可能与  $\text{H}_2\text{S}$  的抗氧化作用与上调热休克蛋白 90 (HSP90)<sup>[2]</sup> 及抑制 p38 丝裂原激活蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinase, 38MAPK)有关<sup>[3]</sup>。据 Hu 等<sup>[4]</sup>报道, $\text{H}_2\text{S}$ 可通过抑制 p38MAPK 介导的诱导型一氧化氮合酶(iNOS)-NO(一氧化氮)通路对抗脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)引起的小胶质细胞炎症反应。但是, $\text{H}_2\text{S}$ 能否通过抑制 iNOS-NO 通路保护 PC12 细胞对抗  $\text{CoCl}_2$  诱导的损伤迄今尚未明瞭,为此,本文重点探讨:① $\text{CoCl}_2$ 对 iNOS 表达及 NO 生成的影响;②iNOS-NO 通路在  $\text{H}_2\text{S}$  保护 PC12 细胞对抗化学性低氧损伤中的作用。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

$\text{CoCl}_2$ , NaHS, Hoechst33258 购自美国 sigma Aldrich 公司, CCK-8 试剂盒购自日本 Dojindo Lab, DMEM-F12 培养基购自 Gibco 公司,抗 iNOS 抗体购自 santa cruz 公司, Western blot 检测试剂盒购自 Cell signaling Technology Inc (CST)。NO 检测试剂盒和 L-刀豆氨酸(L-Canavanine, iNOS 抑制剂)购自碧云天生物技术研究 所(中国,海门市)。SB203580(p38 抑制剂)购自康城生物工程有限公司,(中国,上海),酶标仪,4℃离心机,电泳仪。

### 1.2 细胞培养和预处理方法

PC12 细胞由中山大学实验动物中心提供,置于含 100 mL/L 新生牛血清的 DMEM 高糖培养基中,于 37℃,体积分数 5%  $\text{CO}_2$  条件下培养,选取对数生长期细胞进行实验。iNOS 抑制剂 L-Canavanine (10  $\mu\text{mol/L}$ ) 在加入  $\text{CoCl}_2$  前 60 min 加入培养液,作用 60 min 后撤去,用 PBS 洗两次,接着给予 600  $\mu\text{mol/L}$   $\text{CoCl}_2$  作用 24 h。

### 1.3 Hoechst 33258 核染色观察凋亡细胞形态和数量改变

将 PC12 细胞( $1 \times 10^7/\text{L}$ )接种于 35 mm 的小号培养皿中,各实验组按要求给予不同的处理因素(400  $\mu\text{mol/L}$  NaHS 预处理 30 min,然后 600  $\mu\text{mol/L}$   $\text{CoCl}_2$  损伤 48 h)后,加入新鲜配置的 40 g/L 多聚甲醛(pH = 7.4)于 4℃固定细胞 10 min,用 PBS 洗两次,加入 5 mg/L Hoechst33258 染色液染色 10 min,用 PBS 洗两遍,加入适量的 PBS 后用荧光显微镜观察,摄片。正常细胞核出现弥散均匀的低密度荧光;细胞核呈固缩形态或颗粒状荧光,计为凋亡细胞。

### 1.4 细胞存活率的测定

取对数生长期的 PC12 细胞,以  $1 \times 10^5/\text{L}$  接种于 96 孔板,100  $\mu\text{L}/\text{孔}$ 。在 37℃,体积分数 5%  $\text{CO}_2$  条件下常规培养过夜后,按实验要求给予不同处理(600  $\mu\text{mol/L}$   $\text{CoCl}_2$  损伤前用 400  $\mu\text{mol/L}$  NaHS 预处理 30 min)后,每孔设 8 个平行孔,处理完后,每孔加入 10  $\mu\text{L}$  的 CCK-8,37℃继续孵育 4 h,用酶标仪(450 nm)记录各孔的吸光度(OD)。取 4 孔 OD 值的平均数,按下列公式计算细胞存活率。细胞存活率(%)=处理组 OD/对照组 OD × 100%,重复 3 次。

### 1.5 NO 的测定

取对数生长期 PC12 细胞,将 PC12 细胞( $1 \times 10^5/\text{L}$ )接种于 96 孔板,各实验组按要求给予不同的处理因素(400  $\mu\text{mol/L}$  NaHS 预处理 30 min,然后 600  $\mu\text{mol/L}$   $\text{CoCl}_2$  损伤 48 h)后,用 Griess 试剂盒来检测细胞培养液中的亚硝酸盐,(NO 产物的指示剂),首先将悬浮的细胞培养液与 Griess 试剂

按 1:1 混匀,然后在室温下孵育 10 min,用酶标仪(540 nm)记录各孔的吸光度(OD),亚硝酸盐的浓度用  $\text{NaNO}_2$  的标准曲线进行计算。

### 1.6 Western blot 法测定 iNOS 蛋白的表达

PC12 细胞接种于 60 mm 培养皿中,各实验组给予不同的处理时间(0、6、12、24、36、48 h)后,用预冷的 PBS 洗两次,加入细胞裂解液,4 °C 静置 30 min,12 000  $\times g$  离心 10 min,取上清,采用 BCA 法进行蛋白定量。总蛋白 30  $\mu\text{g}$  经 8% SDS-PAGE 分离后,转移到 PVDF 膜上。用 50 g/L 脱脂奶粉封闭 1.5 h,随后加入兔抗大鼠 iNOS 抗体(1:500),4 °C 过夜,用 TBST 洗 3 次,10 min/次。ECL 法显色,曝光到 X 线片上,凝胶成像系统扫描分析结果,所有实验结果均重复 3 次。

### 1.7 统计学处理

实验结果使用 spss 13.0 软件进行统计学分析,所有结果以  $\bar{x} \pm s$  表示。两组之间比较采用 *t* 检验,多组之间比较用单因素方差分析(one-way ANOVA),用 LSD 进行均数间的比较, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 $\text{CoCl}_2$ 促进 PC12 细胞的 iNOS 表达

图 1 结果显示,应用 600  $\mu\text{mol/L}$   $\text{CoCl}_2$  分别对 PC12 细胞处理 6、12、24、36 和 48 h,可明显地促进 iNOS 表达,其中  $\text{CoCl}_2$  处理 24 h 时,iNOS 表达达到最高峰,是正常对照组的( $5.8 \pm 0.2$ )倍( $P < 0.01$ )。 $\text{CoCl}_2$  处理 36 h 或 48 h 对 iNOS 表达仍然有促进作用,但对 iNOS 的上调作用逐渐减弱。

### 2.2 $\text{H}_2\text{S}$ 和 p38MAPK 抑制剂阻断 $\text{CoCl}_2$ 对 iNOS 表达的上调作用

为了探讨  $\text{H}_2\text{S}$  和 p38MAPK 通路对  $\text{CoCl}_2$  上调 iNOS 表达的影响,本文在应用 600  $\mu\text{mol/L}$   $\text{CoCl}_2$  处理 PC12 细胞 24 h 前,应用 400  $\mu\text{mol/L}$  NaHS (硫化氢的供体)或 20  $\mu\text{mol/L}$  SB203580(p38MAPK 抑制剂)预处理 60 min。图 2 结果显示, $\text{CoCl}_2$  对 iNOS 表达具有上调作用,与对照组比较,具有统计学意义( $P < 0.01$ )。NaHS 预处理或 SB203580 预处理能显著地阻断  $\text{CoCl}_2$  对 iNOS 表达的上调作用,分别使 iNOS 表达降低,与  $\text{CoCl}_2$  处理组比较,差异具有统计学意义( $P$  值均  $< 0.01$ )。NaHS 或 SB203580 本身对 PC12 细胞内 iNOS 的基础表达

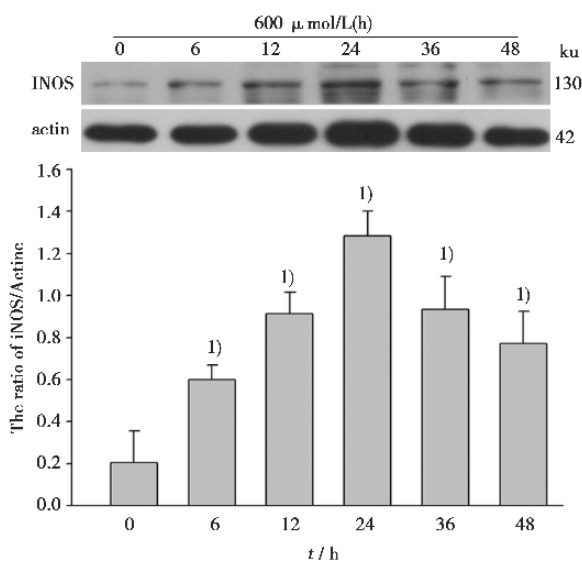


图 1  $\text{CoCl}_2$  在不同时间对 PC12 细胞 iNOS 表达的上调作用

Fig.1  $\text{CoCl}_2$  upregulates the expression of iNOS at different time in PC12 cells

PC12 cells were treated with  $\text{CoCl}_2$  at 600  $\mu\text{mol/L}$  for indicated times. Each bar expressed as the relative protein level to  $\beta$ -actin on the graph. 1)  $P < 0.01$  compare with control.

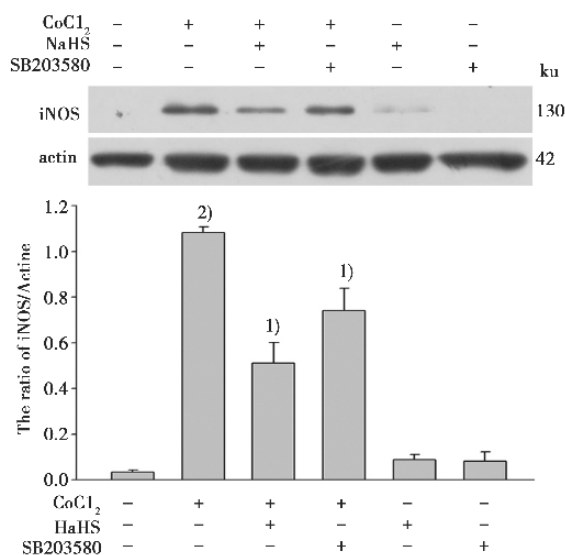


图 2  $\text{H}_2\text{S}$  和 p38MAPK 抑制剂阻断  $\text{CoCl}_2$  对 iNOS 表达的促进作用

Fig.2  $\text{H}_2\text{S}$  and specific inhibitor of p38MAPK down-regulates  $\text{CoCl}_2$ -induced overexpression of iNOS

Each bar presents as the relative protein concentration to  $\beta$ -actin on the graph. 1)  $P < 0.01$  compare to the control, 2)  $P < 0.01$  compare with the  $\text{CoCl}_2$  group.

无明显影响( $P > 0.05$ )。上述结果提示, $\text{H}_2\text{S}$  能抑制

iNOS表达, p38MAPK 介导  $\text{CoCl}_2$  对 iNOS 表达的上调作用。

### 2.3 $\text{H}_2\text{S}$ 阻断 $\text{CoCl}_2$ 对 NO 生成的促进作用

图 3 显示, 应用  $600 \mu\text{mol/L}$   $\text{CoCl}_2$  分别处理 PC12 细胞 48 h, 均使 NO 水平明显升高, 与对照组分别比较, 具有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。  $400 \mu\text{mol/L}$  NaHS 预处理 PC12 细胞 60 min 能明显地拮抗  $600 \mu\text{mol/L}$   $\text{CoCl}_2$  处理 48 h 引起 NO 水平升高, 与  $\text{CoCl}_2$  处理组比较, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。

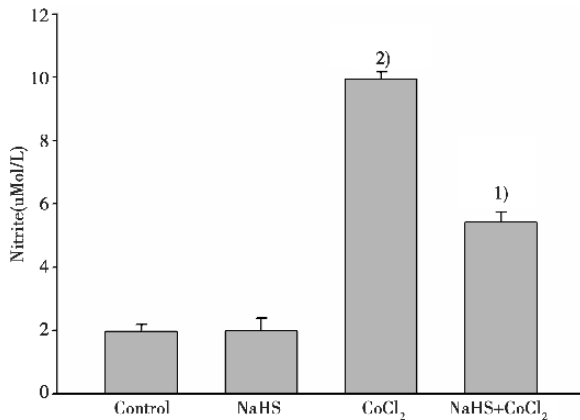


图 3  $\text{H}_2\text{S}$  拮抗  $\text{CoCl}_2$  对 NO 生成的促进作用

### Fig.3 $\text{H}_2\text{S}$ inhibits $\text{CoCl}_2$ -induced accumulation of NO

1)  $P < 0.01$  compare with the control, 2)  $P < 0.01$  compare with the  $\text{CoCl}_2$  group.

### 2.4 $\text{H}_2\text{S}$ 和 iNOS 抑制剂抑制 $\text{CoCl}_2$ 诱导的细胞毒性

图 4 显示,  $400 \mu\text{mol/L}$  NaHS 预处理 PC12 细胞 30 min 能明显地抑制  $600 \mu\text{mol/L}$   $\text{CoCl}_2$  引起的细胞毒性, 使细胞存活率从  $(41 \pm 2.1)\%$  ( $\text{CoCl}_2$  处理组) 升高至  $(62.1 \pm 1.3)\%$  ( $P < 0.01$ )。与 NaHS 的神经保护作用相似, iNOS 抑制剂 L-Canavanine ( $5 \mu\text{mol/L}$ ) 预处理 PC12 细胞 30 min 也能拮抗  $\text{CoCl}_2$  细胞毒性, 使细胞存活率增加至  $(64.2 \pm 2.2)\%$ , 与  $\text{CoCl}_2$  处理组比较, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 上述结果提示, iNOS 介导  $\text{CoCl}_2$  细胞毒性,  $\text{H}_2\text{S}$  可通过抑制 iNOS 表达保护 PC12 细胞对抗  $\text{CoCl}_2$  的细胞毒性。

### 2.5 $\text{H}_2\text{S}$ 和 iNOS 抑制剂对抗 $\text{CoCl}_2$ 的致细胞凋亡作用

图 5 显示,  $600 \mu\text{mol/L}$   $\text{CoCl}_2$  处理 PC12 细胞 48 h 可使凋亡细胞数目明显增多, 与对照组比较,

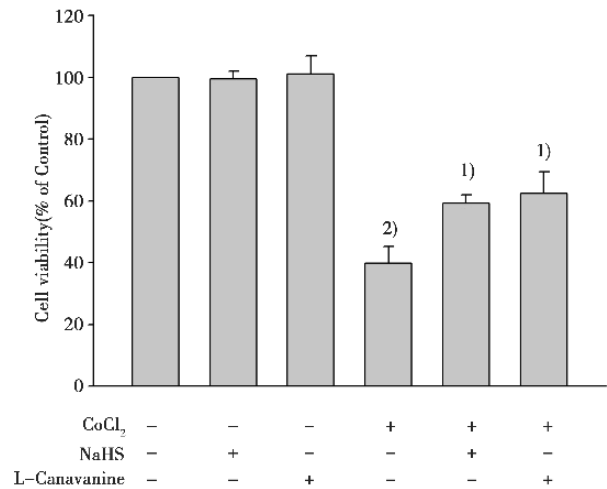


图 4  $\text{H}_2\text{S}$  和 iNOS 抑制剂抑制  $\text{CoCl}_2$  诱导的细胞毒性  
Fig.4  $\text{H}_2\text{S}$  and inhibitor of iNOS repress  $\text{CoCl}_2$ -induced cytotoxicity in PC12 cells

1)  $P < 0.01$  compare with the Control, 2)  $P < 0.01$  compare with the  $\text{CoCl}_2$  group.

差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。  $400 \mu\text{mol/L}$  NaHS 预处理 PC12 细胞 30 min 能明显地抑制  $\text{CoCl}_2$  的致细胞凋亡作用, 使凋亡细胞的百分比从  $(37 \pm 1.2)\%$  下降到  $(22 \pm 2.3)\%$  ( $P < 0.01$ )。与 NaHS 的抗凋亡作用相似, iNOS 抑制剂 L-Canavanine ( $5 \mu\text{mol/L}$ ) 预处理也能阻断  $\text{CoCl}_2$  的致细胞凋亡作用, 使凋亡细胞的百分比从  $(37 \pm 1.2)\%$  下降到  $(18 \pm 2.1)\%$  ( $P < 0.01$ )。上述结果提示, iNOS 介导  $\text{CoCl}_2$  的致细胞凋亡作用,  $\text{H}_2\text{S}$  的抗凋亡作用可能与其抑制 iNOS 有关。

## 3 讨论

$\text{CoCl}_2$  是化学性低氧模拟剂, 常用来损伤各类细胞以建立缺氧/缺血的细胞模型。Zou 等人证实  $\text{CoCl}_2$  能引起神经细胞凋亡, 此损伤作用可能与激活凋亡效应器 Caspase-3, 促进活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 生成, 激活 p38MAPK 及 AP-1 有关<sup>[1,5]</sup>。近年, 我们在 PC12 细胞和心肌细胞模型分别证实  $\text{CoCl}_2$  能诱导细胞毒性、细胞凋亡、线粒体功能损伤及氧化应激反应<sup>[2-3,6]</sup>, 此作用可能与激活 p38MAPK 通路有关<sup>[3]</sup>。本文进一步证实  $\text{CoCl}_2$  能促进 PC12 细胞内 iNOS 表达及 NO 生成。NO 在细胞内被 3 种 NO 合成酶 (NOS): 即神经型 NOS、内皮型 NOS 和诱导型 NOS (iNOS) 作用于 L-

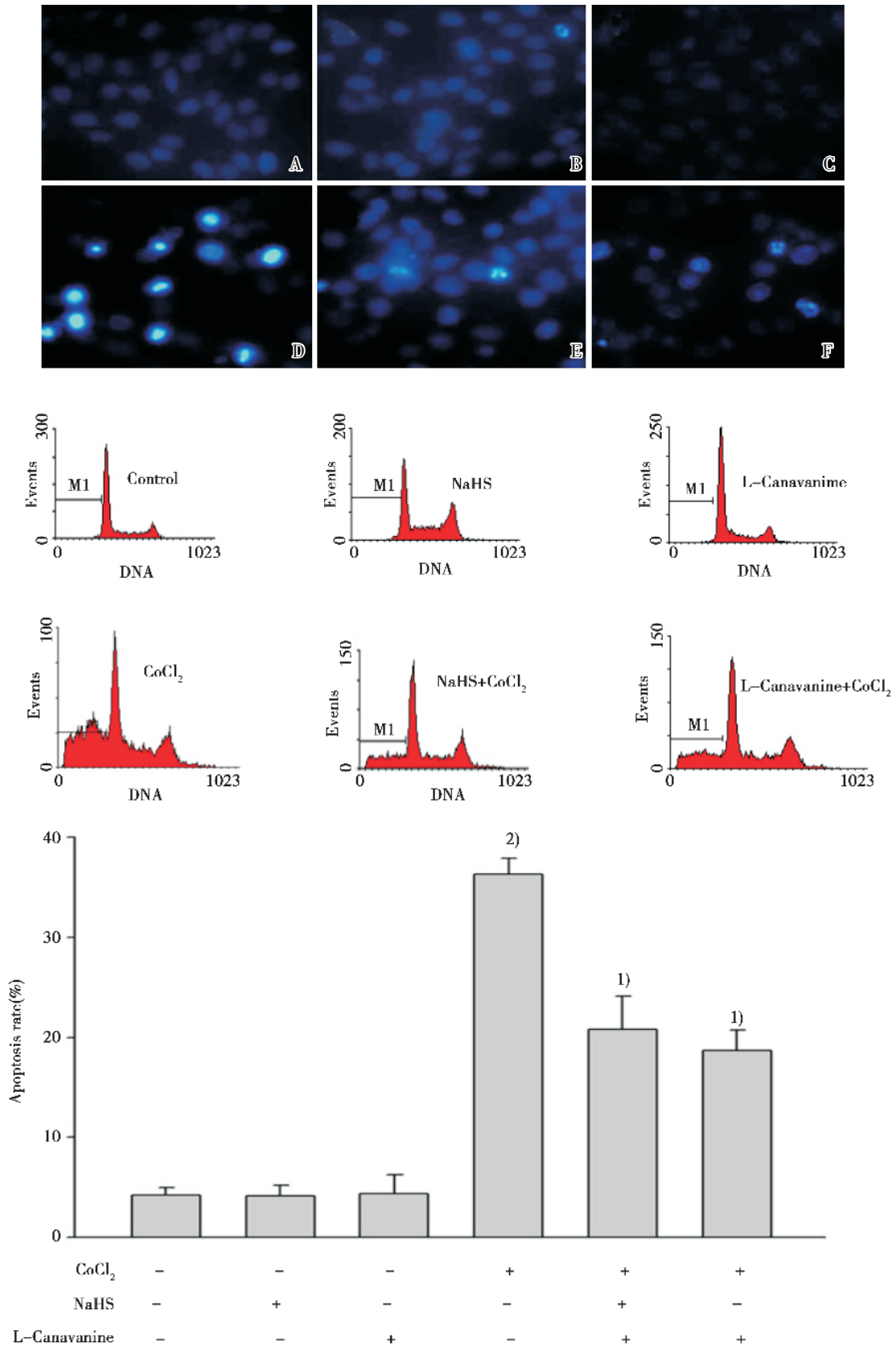


图 5 H<sub>2</sub>S 和 iNOS 抑制剂阻断 CoCl<sub>2</sub> 的致细胞凋亡作用

Fig.5 H<sub>2</sub>S and inhibitor of iNOS reduces CoCl<sub>2</sub>-induced apoptosis in PC12 cells

1)  $P < 0.01$  compare to the Control, 2)  $P < 0.01$  compare with the CoCl<sub>2</sub> group.

精氨酸而生成。其中 iNOS 能被炎症刺激如 LPS 迅速诱导。在小胶质细胞, LPS 刺激产生的 NO 主要来源于 iNOS<sup>[7-8]</sup>。小胶质细胞释放的几种前炎症因子(proinflammatory factors)当中, NO 被认为是一种主要的有毒物质。它能迅速地与超氧阴离子(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)反应形成过氧亚硝酸盐阴离子(peroxynitrite anion)及过氧亚硝酸根离子(peroxynitrous acid, ONOOH), 后者对生物系统的毒性比 O<sub>2</sub><sup>-</sup>或 NO 更强<sup>[9]</sup>。本文发现 iNOS 抑制剂(L-Canavanine)能明显地抑制 CoCl<sub>2</sub> 诱导的神经细胞损伤, 使细胞存活率增加, 凋亡细胞数目减少, 提示 iNOS(NO)介导 CoCl<sub>2</sub> 引起的细胞毒性与细胞凋亡, 并提示前炎症因子可能参与 CoCl<sub>2</sub> 引起的神经细胞损伤, 这为深入阐明 CoCl<sub>2</sub> 的神经细胞损伤机制提供了新的实验资料。

长期以来, H<sub>2</sub>S 被认为是带有臭鸡蛋气味的、具有刺激性的有毒气体。但是, 近年来, 越来越多的研究证实, H<sub>2</sub>S 是一种内源性的气体信号分子及新颖的神经调质, 具有重要的神经保护作用。Kmura 等<sup>[10]</sup>于 2004 年首先证实 H<sub>2</sub>S 能保护大鼠大脑皮层神经元对抗氧化应激引起的损伤<sup>[10]</sup>。H<sub>2</sub>S 也能保护 PC12 细胞对抗 β-淀粉样多肽诱导的细胞毒性和细胞凋亡<sup>[11]</sup>。近年, 我们证实 H<sub>2</sub>S 能对抗化学性低氧引起的神经细胞损伤<sup>[2-3]</sup>, 其保护机制之一可能与抑制 p38MAPK 表达有关<sup>[3]</sup>。本文发现 H<sub>2</sub>S 在保护 PC12 细胞对抗 CoCl<sub>2</sub> 引起的损伤作用的同时, 能明显地抑制 CoCl<sub>2</sub> 对 iNOS 表达及 NO 生成的促进作用, 提示抑制 iNOS 和 NO 可能是 H<sub>2</sub>S 的神经保护机制之一。本文进一步研究证实, p38MAPK 抑制剂 SB203580 也具有与 H<sub>2</sub>S 相似的神经保护作用, 能显著地阻断 CoCl<sub>2</sub> 对 iNOS 表达和 NO 生成的促进作用。这与 Hu 等人的报道相一致<sup>[5]</sup>。

综上所述, 本文证实化学性低氧模拟剂 CoCl<sub>2</sub> 能促进 PC12 细胞 iNOS 表达及 NO 生成, iNOS-NO 途径可能介导 CoCl<sub>2</sub> 诱导的神经细胞损伤。H<sub>2</sub>S 可通过抑制 iNOS-NO 通路保护 PC12 细胞对抗化学性低氧引起的损伤。本文为进一步阐明 H<sub>2</sub>S 的抗缺氧性损伤机制提供了新颖的实验资料。

#### 参考文献:

- [1] Zou W, Zeng J, Zhuo M, et al. Involvement of Caspase-3 and p38 mitogen-activated protein kinase in Cobalt Chloride-induced apoptosis in PC12 cells[J]. *J Neurosci Res*, 2002, 67(6): 837-843.
- [2] Meng JL, Mei WY, Dong YF, et al. Heat shock protein 90 mediates cytoprotection by H<sub>2</sub>S against chemical hypoxia-induced injury in PC12 cells [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2011, 38(1): 42-49.
- [3] 兰爱平, 梅卫义, 孟金兰, 等. 硫化氢通过抑制 p38MAPK 保护 PC12 细胞对抗化学性缺氧损伤 [J]. *中国药理学通报*, 2010, 26(10): 1339-1343.
- [4] Hu LF, Wong PT, Moore PK, et al. Hydrogen Sulfide attenuates lipopolysaccharide-induced inflammation by inhibition of p38 mitogen-activated protein kinase in microglia [J]. *J Neurochem*, 2007, 100(4): 1121-1128.
- [5] Zou W, Yan M, Xu W, et al. Cobalt Chloride induces PC12 cells apoptosis through reactive oxygen species and accompanied by AP-1 activation [J]. *J Neurosci Res*, 2001, 64(6): 646-653.
- [6] Chen SL, Yang CT, Yang ZL, et al. Hydrogen sulphide protects H9c2 cells against chemical hypoxia-induced injury[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2010, 37(3): 316-321.
- [7] Jung KK, Lee HS, Cho JY, et al. Inhibitory effect of curcumin on nitric oxide production from Lipopolysaccharide-activated primary microglia[J]. *Life Sci*, 2006, 79(21): 2022-2031.
- [8] Kaminska B. MAPK signaling pathways as molecular targets for anti-inflammatory therapy-from molecular mechanisms to therapeutic benefits[J]. *Biochem Biophys Acta*, 2006, 1754(1-2): 253-262.
- [9] Ferdinandy P, Dhanil H, Ambrus I, et al. Peroxynitrite is a major contributor to cytokine-induced myocardial contractile failure[J]. *Circ Res*, 2000, 87(3): 241-247.
- [10] Kimura Y, Kimura H. Hydrogen sulfide protects neurons from oxidative stress[J]. *FASEB J*, 2004, 18(3-4): 1165-1167.
- [11] Tang XQ, Yang CT, Chen J, et al. Effect of hydrogen sulphide on beta-amyloid-induced damage in PC12 cell [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2008, 35(2): 180-186.

(编辑 孙慧兰)