

DOI:10.3969/j.issn.1000-9760.2022.06.014

硫化氢抑制动脉钙化的研究进展*

黄言 综述 梁秋华[△]审校

(济宁医学院临床医学院, 济宁 272013; 济宁医学院附属医院, 济宁 272029)

摘要 动脉钙化是一种导致动脉血管硬化和功能障碍的疾病, 可以导致不良心血管事件的发生, 常见于衰老、慢性肾脏病、糖尿病等。硫化氢是一种气体信号分子, 既可以引起中毒也可以抗炎、抗氧化、抗凋亡。近年来发现硫化氢可以通过多种机制抑制动脉钙化。本文就近年来硫化氢抑制动脉钙化的机制研究做一综述, 以期治疗动脉钙化提供新的思路。

关键词 硫化氢; 动脉钙化; 信号通路

中图分类号: R543.5 文献标识码: B 文章编号: 1000-9760(2022)12-444-04

Research progress in the inhibition of arterial calcification by hydrogen sulfide

HUANG Yan, LIANG Qiu-hua[△]

(School of Clinical Medicine, Jining Medical University, Jining 272013, China;

Affiliated Hospital of Jining Medical University, Jining 272029, China)

Abstract: Arterial calcification is a disease that leads to arteriosclerosis and dysfunction that may cause adverse cardiovascular events. It is common in aging, chronic kidney disease, diabetes and so on. Hydrogen sulfide is a kind of gas signal molecule which can not only cause poisoning but also anti-inflammatory, anti-oxidation and anti-apoptosis. In recent years, it has been found that hydrogen sulfide can inhibit arterial calcification through a variety of mechanisms. This article reviews the mechanism of hydrogen sulfide inhibiting arterial calcification in recent years in order to provide new ideas for the treatment of arterial calcification.

Keywords: Hydrogen sulfide; Arterial calcification; Signal pathway

动脉钙化是一种导致动脉血管硬化和功能障碍的疾病。慢性肾脏病、糖尿病、高血压等疾病常伴有动脉钙化, 严重的动脉钙化可以导致心力衰竭、动脉粥样硬化斑块破裂、心肌梗死等疾病^[1]。动脉血管壁中的血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMCs)在各种因素刺激下, 会从正常的收缩表型转变为具有分泌功能的成骨样表型^[2], 这一过程是动脉钙化的关键。根据动脉血管壁钙化的部位, 可以大致的将动脉钙化分为两种不同的形式: 中层钙化, 类似 VSMCs 内层羟基磷灰石矿化导致的血管内膜的骨化过程; 内膜钙化, 一

种以粥样斑或斑块为特征的血管内膜内进行性炎症综合征^[3]。硫化氢(hydrogen sulfide, H₂S)是一种水溶性气体信号分子, 是许多生理过程的重要介质, 比如抗氧化、抗炎、抗凋亡、细胞保护、促血管生成的作用^[4]。因此, 深入探索 H₂S 在动脉钙化的发生发展中的作用, 有望为动脉钙化患者的防治提供新的方向。

1 H₂S

H₂S 是一种带有典型臭鸡蛋味的水溶性气体, 可导致人突然短暂的意识丧失^[4]。H₂S 是生理性血管舒张和血压调节剂。心血管系统的 H₂S 是由胱硫醚-Y-裂解酶生理产生的, 小鼠缺乏胱硫醚-Y-裂解酶时会表现出明显的高血压, 并且呈内皮依赖性血管舒张减弱^[5]。H₂S 的产生主要受三种吡哆

* [基金项目] 国家自然科学基金青年基金(81400860); 山东省自然科学基金面上项目(ZR2019MH087)

[△][通信作者] 梁秋华, E-mail: liangqiu-hua_meta@163.com

醛 5'-磷酸依赖酶(胱硫醚-β-合酶、胱硫醚-Y-裂解酶和 3-巯基丙酮酸硫转移酶)的调控^[6]。H₂S 通过调节 Ca²⁺通道的 Ca²⁺流入来控制基质细胞的功能,从而使胱硫醚-β-合酶缺陷小鼠表现出一种骨减少表型,用 H₂S 供体吗啉-4-4 甲氧基苯基(吗啉代)次磷酸二硫代酯补充血液 H₂S 水平可预防或逆转骨质的流失^[7]。

2 H₂S 与动脉钙化

2.1 H₂S 与磷酸盐转运蛋白对动脉钙化的影响

通过 III 型钠依赖性磷酸盐共转运蛋白(sodium-dependent phosphate, Pit-1)吸收磷酸盐对 VSMCs 钙化和磷酸盐升高导致的 VSMCs 表型调节至关重要^[8]。抑制胱硫醚-Y-裂解酶活性减少内源性 H₂S 的生成可导致 VSMCs 成骨样分化和矿化增加,而内源性或外源性 H₂S 都通过抑制 Pit-1 减轻高磷诱导的人主动脉平滑肌细胞钙化^[9]。

2.2 H₂S 与细胞内应激反应对动脉钙化的影响

2.2.1 H₂S 与氧化应激对动脉钙化的影响

氧化应激是指体内氧化与抗氧化作用失衡的一种状态,氧化物引起组织的分子氧化,造成组织损伤。机体内存在两类抗氧化的系统:1)酶抗氧化系统,包括超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶等。2)非酶抗氧化系统,包括维生素 C、维生素 E、谷胱甘肽、褪黑素等。核因子 κB(nuclear factor kappa-B, NF-κB)蛋白家族可以与 B 细胞上的 κ-轻链增强子结合调控细胞对外界各种刺激因子的反应。VSMCs 在外界不利因素刺激下发生氧化应激以及 NF-κB 对刺激因子的反应与动脉钙化有关^[10]。H₂S 可以通过对抗氧化应激减轻高磷、高糖诱导的 VSMCs 钙化。具体机制可能是直接清除氧化物,或者促进抗氧化物超氧化物歧化酶等的生成^[11]。

2.2.2 H₂S 与内质网应激对动脉钙化的影响

内质网是真核细胞中最大的细胞器之一,大量的遗传和环境损伤阻碍了细胞正确折叠和翻译后修饰内质网中分泌和跨膜蛋白的能力,导致错误折叠的蛋白质在细胞器中积聚,这种情况称为内质网应激。内质网应激与多种心血管疾病以及动脉钙化的发生和发展有关^[12]。内质网应激引起的 VSMCs 凋亡会促进动脉钙化的发生,并促进 VSMCs 的表型转化^[13]。H₂S 可通过抑制内质网应激来改善大鼠

动脉钙化,这可能是通过上调 Akt(一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,可抑制细胞凋亡)和磷酸化 Akt 的蛋白质水平,激活 Akt 信号通路改善内质网应激,从而减轻动脉钙化^[14]。

2.3 H₂S 与成骨样转化因子对动脉钙化的影响

碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)是成骨细胞的一种细胞外酶,可促进骨的形成,在动脉钙化成骨样分化中发挥重要作用^[15]。核心结合因子 α-1(core-binding factor alpha-1, Cbfa1)是成骨细胞分化,骨基质基因表达以及骨矿化所需的成骨细胞特异性转录因子^[16]。骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)信号传导在 VSMCs 的成骨样分化中具有重要作用,是动脉钙化的关键,其可以通过诱导氧化应激和内质网应激促进 VSMCs 钙化^[17]。H₂S 可以通过减少细胞内外钙沉积并抑制 VSMCs 成骨样转化的基因的表达而减轻动脉钙化^[18]。H₂S 也可以通过抑制血浆 ALP 活性升高,从而发挥抗动脉钙化作用^[19]。内源性或外源性 H₂S 都能通过抑制成骨细胞特异性基因(如 ALP, BMP 和 Cbfa1)的上调来减轻动脉钙化^[20]。

2.4 H₂S 与动脉钙化相关的信号通路间的联系

2.4.1 H₂S 与 Stat3/CAS 信号通路

信号转导和转录激活因子(Signal Transducer and Activator of Transcription, Stat)蛋白是一个细胞质转录因子家族,共有 7 个成员,其中 Stat3 与动脉钙化显著相关^[21]。组织蛋白酶 S 是一种半胱氨酸蛋白酶,可刺激炎症以及巨噬细胞趋化性并促进钙化^[22]。弹性蛋白是血管壁细胞外基质主要结构成分之一,内皮细胞和成纤维细胞等可以合成并分泌弹性蛋白,当弹性蛋白降解时动脉钙化明显增加^[23]。以高糖条件诱导人主动脉 VSMCs 钙化,予以胱硫醚-Y-裂解酶抑制剂会加剧人主动脉 VSMCs 钙化,刺激 Stat3 活化,增加组织蛋白酶 S 活性,降低弹性蛋白表达,而胱硫醚-Y-裂解酶过表达时结果相反。由此证明 H₂S 可能通过抑制 Stat3/CAS 信号来增加弹性蛋白水平,从而减轻动脉钙化^[24]。H₂S 可以降低 Stat3、组织蛋白酶 S 活性,改善主动脉弹性蛋白的表达。外源性 NaHS 处理可恢复糖尿病大鼠的胱硫醚-Y-裂解酶活性,抑制主动脉成骨样转化^[25]。

2.4.2 H₂S 与 MAPK 信号通路

丝裂原激活蛋白激酶(mitrogen-activated protein kinase, MAPK)是细

胞内的一类丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶。MAPK 信号转导通路存在于大多数细胞内,参与分化细胞的减数分裂,有丝分裂和有丝分裂后功能的调控^[26]。H₂S 可以通过 MAPK 途径抑制 VSMCs 的增殖减轻动脉钙化,并且这种效果在一定范围内与 H₂S 的剂量呈正比^[27]。

2.4.3 H₂S 与 Keap1/Nrf2/NQO1 信号通路 核因子红系 2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid-2 related factor 2, Nrf2) 是一种抗氧化应激的氧化还原敏感的转录因子,而 Kelch 样 ECH 相关蛋白 1 (Kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1) 通过靶向蛋白酶体降解来负调节 Nrf2 活性,Nrf2-Keap1 是一种旨在保持细胞内环境稳定的防御系统^[28]。NAD(P)H:醌氧化还原酶 1 (NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1, NQO1) 是一种双电子还原酶,由 Nrf2 调控,对体内抗氧化物质起着重要的保护作用^[29]。NQO1 受 Keap1/Nrf2 途径的转录控制,而 HS⁻ 会导致 Nrf2 易位到细胞核中,随后诱导 NQO1。当 NQO1 或上游转录因子 Nrf2 沉默时,H₂S 的钙化抑制作用丧失,并且损害 Nrf2 的活性会加剧动脉钙化程度,这证明 H₂S 可以通过激活 Keap1/Nrf2/NQO1 减轻 VSMCs 钙化^[30]。

3 小结与展望

综上所述,H₂S 可通过抑制血管平滑肌细胞膜上的 Pit-1,从而抑制磷酸盐吸收;通过直接清除氧化物,或者促进抗氧化物超氧化物歧化酶等的生成对抗氧化应激发挥抗动脉钙化作用;通过 Akt 信号通路改善内质网应激、抑制成骨细胞特异性基因的上调、抑制 Stat3/CAS 信号来增加弹性蛋白水平、通过 MAPK 途径抑制 VSMCs 的增殖、通过激活 Keap1/Nrf2/NQO1 信号通路保护抗氧化物质,进而减轻动脉钙化。

虽然近年来,H₂S 抑制动脉钙化的分子机制已逐渐被认识,但目前研究仍较少,并且大部分研究集中在体外研究,对体内研究较少,同时由于 H₂S 的毒性作用,如何控制其药理和毒理作用需进一步研究。未来可以扩展 H₂S 抑制动脉钙化的体内研究,为临床试验提供可靠依据。总之 H₂S 能够抑制动脉钙化的现象为临床预防及治疗动脉钙化提供了新思路。随着研究的不断深入,H₂S 有望成为临床治疗动脉钙化、预防心血管疾病的可行方法。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

参考文献:

- [1] Lanzer P, Hannan FM, Lanzer JD, et al. Medial arterial calcification: JACC state-of-the-art review[J]. J Am Coll Cardiol, 2021, 78 (11): 1145-1165. DOI: 10. 1016/j. jacc. 2021. 06. 049.
- [2] Yao H, Sun Z, Zang G, et al. Epidemiological research advances in vascular calcification in diabetes[J]. J Diabetes Res, 2021, 2021: 4461311. DOI: 10. 1155/2021/4461311.
- [3] Van den Bergh G, Opdebeeck B, D'Haese P C, et al. The vicious cycle of arterial stiffness and arterial media calcification[J]. Trends Mol Med, 2019, 25 (12): 1133-1146. DOI: 10. 1016/j. molmed. 2019. 08. 006.
- [4] Moretti M, Ballardini M, Siodambro C, et al. Fatal poisoning of four workers in a farm: Distribution of hydrogen sulfide and thiosulfate in 10 different biological matrices[J]. Forensic Sci Int, 2020, 316: 110525. DOI: 10. 1016/j. forsciint. 2020. 110525.
- [5] Yang G, Wu L, Jiang B, et al. H₂S as a physiologic vasorelaxant: Hypertension in mice with deletion of cystathionine-lyase [J]. Science, 2008, 322 (5901): 587-590. DOI: 10. 1126/science. 1162667.
- [6] Vandiver MS, Snyder SH. Hydrogen sulfide: a gasotransmitter of clinical relevance [J]. J Mol Med (Berl), 2012, 90 (3): 255-263. DOI: 10. 1007/s00109-012-0873-4.
- [7] Liu Y, Yang R, Liu X, et al. Hydrogen sulfide maintains mesenchymal stem cell function and bone homeostasis via regulation of Ca(2+) channel sulfhydration[J]. Cell Stem Cell, 2014, 15 (1): 66-78. DOI: 10. 1016/j. stem. 2014. 03. 005.
- [8] Ding M, Zhang Q, Zhang M, et al. Phosphate overload stimulates inflammatory reaction via PiT-1 and induces vascular calcification in uremia[J]. J Ren Nutr, 2022, 32 (2): 178-188. DOI: 10. 1053/j. jrn. 2021. 03. 008.
- [9] Zavaczki E, Jeney V, Agarwal A, et al. Hydrogen sulfide inhibits the calcification and osteoblastic differentiation of vascular smooth muscle cells[J]. Kidney Int, 2011, 7 (80): 731-739.
- [10] Zhang X, Li Y, Yang P, et al. Trimethylamine-N-oxide promotes vascular calcification through activation of NLRP3 (nucleotide-binding domain, leucine-rich-containing family, pyrin domain-containing-3) inflammasome and NF-kappaB (Nuclear Factor kappaB) Signals[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2020, 40 (3): 751-765. DOI:

10. 1161/ATVBAHA. 119. 313414.
- [11] 武慧娟,李桂忠. 外源性硫化氢通过对抗氧化应激减轻血管平滑肌细胞钙化[J]. 宁夏医科大学学报, 2015, 37 (7) : 764-768. DOI: 10. 16050/j. cnki. issn1674-6309. 2015. 07. 010.
- [12] Furmanik M, van Gorp R, Whitehead M, et al. Endoplasmic reticulum stress mediates vascular smooth muscle cell calcification via increased release of Grp78 (glucose-regulated protein, 78 kDa)-loaded extracellular vesicles[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2021, 41 (2) : 898-914. DOI: 10. 1161/ATVBAHA. 120. 315506.
- [13] Duan S, Chen X, Liu Y, et al. Endoplasmic reticulum stress mediates parathyroid hormone-induced apoptosis in vascular smooth muscle cells[J]. *Ren Fail*, 2022, 44 (1) : 126-136. DOI: 10. 1080/0886022X. 2022. 2027248.
- [14] Yang R, Teng X, Li H, et al. Hydrogen sulfide improves vascular calcification in rats by inhibiting endoplasmic reticulum stress[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 2016 : 9095242. DOI: 10. 1155/2016/9095242.
- [15] Furmanik M, Shanahan CM. ER stress regulates alkaline phosphatase gene expression in vascular smooth muscle cells via an ATF4-dependent mechanism[J]. *BMC Res Notes*, 2018, 11 (1) : 483. DOI: 10. 1186/s13104-018-3582-4.
- [16] Guo T, Xing Y, Chen Z, et al. Core-binding factor beta is required for osteoblast differentiation during fibula fracture healing[J]. *J Orthop Surg Res*, 2021, 16 (1) : 313. DOI: 10. 1186/s13018-021-02410-9.
- [17] Liberman M, Johnson RC, Handy DE, et al. Bone morphogenetic protein-2 activates NADPH oxidase to increase endoplasmic reticulum stress and human coronary artery smooth muscle cell calcification[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 413 (3) : 436-441. DOI: 10. 1016/j. bbrc. 2011. 08. 114.
- [18] Subhash N, Sriram R, Kurian GA. Sodium thiosulfate protects brain in rat model of adenine induced vascular calcification[J]. *Neurochem Int*, 2015, 90 : 193-203. DOI: 10. 1016/j. neuint. 2015. 09. 004.
- [19] Li H, Teng X, Yang R, et al. Hydrogen Sulfide Facilitates the Impaired Sensitivity of Carotid Sinus Baroreflex in Rats with Vascular Calcification[J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8 : 629. DOI: 10. 3389/fphar. 2017. 00629.
- [20] Zavaczki E, Jeney V, Agarwal A, et al. Hydrogen sulfide inhibits the calcification and osteoblastic differentiation of vascular smooth muscle cells[J]. *Kidney Int*, 2011, 80 (7) : 731-739. DOI: 10. 1038/ki. 2011. 212.
- [21] Kakutani Y, Shioi A, Shoji T, et al. Oncostatin M promotes osteoblastic differentiation of human vascular smooth muscle cells through JAK3-STAT3 pathway[J]. *J Cell Biochem*, 2015, 116 (7) : 1325-1333. DOI: 10. 1002/jcb. 25088.
- [22] Andrault P M, Panwar P, Mackenzie N, et al. Elastolytic activity of cysteine cathepsins K, S, and V promotes vascular calcification[J]. *Sci Rep*, 2019, 9 (1) : 9682. DOI: 10. 1038/s41598-019-45918-1.
- [23] Wahart A, Hocine T, Albrecht C, et al. Role of elastin peptides and elastin receptor complex in metabolic and cardiovascular diseases[J]. *FEBS J*, 2019, 286 (15) : 2980-2993. DOI: 10. 1111/febs. 14836.
- [24] Zhou Y B, Zhou H, Li L, et al. Hydrogen sulfide prevents elastin loss and attenuates calcification induced by high glucose in smooth muscle cells through suppression of Stat3/cathepsin s signaling pathway[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20 (17) : 4202. DOI: 10. 3390/ijms20174202.
- [25] Wang F Z, Zhou H, Wang H Y, et al. Hydrogen sulfide prevents arterial medial calcification in rats with diabetic nephropathy[J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2021, 21 (1) : 495. DOI: 10. 1186/s12872-021-02307-9.
- [26] Maik-Rachline G, Wortzel I, Seger R. Alternative splicing of MAPKs in the regulation of signaling specificity[J]. *Cells*, 2021, 10 (12) : 3466. DOI: 10. 3390/cells10123466.
- [27] Du J, Hui Y, Cheung Y, et al. The possible role of hydrogen sulfide as a smooth muscle cell proliferation inhibitor in rat cultured cells[J]. *Heart Vessels*, 2004, 2 (19) : 75-80.
- [28] Bellezza I, Giambanco I, Minelli A, et al. Nrf2-Keap1 signaling in oxidative and reductive stress[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2018, 1865 (5) : 721-733. DOI: 10. 1016/j. bbamcr. 2018. 02. 010.
- [29] Zhang K, Chen D, Ma K, et al. NAD(P)H: Quinone Oxidoreductase 1 (NQO1) as a Therapeutic and Diagnostic Target in Cancer[J]. *J Med Chem*, 2018, 61 (16) : 6983-7003. DOI: 10. 1021/acs. jmedchem. 8b00124.
- [30] Aghagolzadeh P, Radpour R, Bachtler M, et al. Hydrogen sulfide attenuates calcification of vascular smooth muscle cells via KEAP1/NRF2/NQO1 activation[J]. *Atherosclerosis*, 2017, 265 : 78-86. DOI: 10. 1016/j. atherosclerosis. 2017. 08. 012.

(收稿日期 2022-03-24)

(本文编辑 : 石俊强)