

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2017.03.002

文章编号: 1005-8982(2017)03-0007-06

硫化氢通过 p38MAPK 和 TGF- β_1 影响 糖尿病小鼠心肌纤维化的研究*

丁利¹, 宋冰², 张浩强¹

(1. 锦州医科大学研究生学院, 辽宁 锦州 121001; 2. 锦州医科大学
附属第一医院 内分泌科, 辽宁 锦州 121001)

摘要:目的 探讨硫化氢 (H₂S) 对糖尿病小鼠心肌组织中 p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38MAPK)、转化生长因子- β_1 (TGF- β_1) 及 I 型胶原蛋白 (Collagen I) 表达的影响, 以及对糖尿病小鼠心肌纤维化的保护作用。**方法** 18 只雄性 C57BL/6J 小鼠随机分为正常对照组 (NC 组)、糖尿病对照组 (ALX 组)、H₂S 治疗组 (ALX+H₂S 组), 每组 6 只。采用四氧嘧啶 (ALX) 200 mg/kg 腹腔注射复制糖尿病小鼠模型; 模型复制成功后, NC 组和 ALX 组每天自由饮用自来水; ALX+H₂S 组自由饮用浓度为 90 μ mol/L 的 NaHS (H₂S 供体) 溶液。8 周后取材, 监测空腹血糖、血脂; 苏木精-伊红染色法观察心肌组织形态学变化; 采用 Western blot 检测 p-p38MAPK、TGF- β_1 及 Collagen I 蛋白表达; 实时定量荧光聚合酶链反应检测 p38MAPK 和 TGF- β_1 mRNA 的表达。**结果** 与 NC 组比较, ALX 组血糖、血脂升高 ($P < 0.05$), 心肌组织胶原表达量增加, 心肌间质出现明显纤维化, p-p38MAPK、TGF- β_1 及 Collagen I 蛋白表达增高 ($P < 0.05$), p38MAPK 和 TGF- β_1 mRNA 表达增加 ($P < 0.05$); 糖尿病小鼠经 H₂S 干预, 血糖、血脂改善 ($P < 0.05$), 心肌间质胶原纤维明显减少, p-p38MAPK、TGF- β_1 及 Collagen I 蛋白表达下降 ($P < 0.05$), p38MAPK 和 TGF- β_1 mRNA 表达减少 ($P < 0.05$)。**结论** H₂S 可改善糖尿病小鼠血糖、血脂及心肌纤维化, 可能与调节 p38MAPK 和 TGF- β_1 的表达有关。

关键词: 硫化氢; 糖尿病小鼠心肌纤维化; p38 丝裂原活化蛋白激酶; 转化生长因子- β_1 ; I 型胶原蛋白

中图分类号: R587.1

文献标识码: A

Hydrogen sulfide influences myocardial fibrosis in diabetic mice by p38MAPK and TGF- β_1 *

Li Ding¹, Bing Song², Hao-qiang Zhang¹

(1. Graduate School, Jinzhou Medical University, Jinzhou, Liaoning 121001, China;

2. Department of Endocrinology, the First Affiliated Hospital of Jinzhou
Medical University, Jinzhou, Liaoning 121001, China)

Abstract: Objective To study the effect of exogenous hydrogen sulfide (H₂S) on the expressions of p38 mitogen-activated protein kinase (p38MAPK) and transforming growth factor- β_1 (TGF- β_1) and on the protection of diabetic myocardial fibrosis. **Methods** Eighteen male adult C57BL/6J mice were randomly divided into normal control group (NC group), diabetes mellitus group (ALX group), and diabetes mellitus treated with H₂S group (ALX+H₂S group) with six mice in each group. The diabetic mouse model was established by intraperitoneal injection (i.p.) of 200 mg/kg ALX. The mice in the normal control and ALX groups drank tap water freely everyday. The mice of the ALX+H₂S group freely drank NaHS (H₂S donor) solution at a concentration of 90 μ mol/L. After 8 weeks, fasting blood glucose and serum lipid were tested. The pathological changes of myocardial fibers were observed by HE staining. The expressions of p-p38MAPK, TGF- β_1 and collagen I were detected using Western blot. The expressions of p38MAPK mRNA and TGF- β_1 mRNA were tested by

收稿日期: 2016-08-01

* 基金项目: 辽宁省自然科学基金 No: 201602308; 辽宁省博士启动课题 No: 20131067

[通信作者] 宋冰, E-mail: songbing1978@163.com; Tel: 0416-4673872

qRT-PCR. **Results** Compared with the NC group, the fasting blood glucose and serum lipid increased ($P < 0.05$), the expression of collagen in myocardium increased and there was apparent myocardial interstitial fibrosis; the expressions of p-p38MAPK and TGF- β_1 proteins and collagen I increased ($P < 0.05$), the mRNA expressions of p38MAPK and TGF- β_1 increased ($P < 0.05$) in the ALX group. After the intervention of H₂S, the fasting blood glucose and serum lipid were improved ($P < 0.05$), the collagen fibers in the myocardial interstitium apparently decreased, the protein expressions of p-p38MAPK, TGF- β_1 and collagen I were decreased ($P < 0.05$), the mRNA expressions of p38MAPK and TGF- β_1 were decreased ($P < 0.05$). **Conclusions** H₂S can ameliorate fasting blood glucose, serum lipid and myocardial fibrosis in diabetic mice, which might be related to the regulation of p38MAPK and TGF- β_1 expressions.

Keywords: hydrogen sulfide; diabetic myocardial fibrosis; p38 mitogen-activated protein kinase; transforming growth factor-beta1; collagen I

糖尿病预计在世界最常见死亡原因中排第 5 位^[1]。糖尿病心肌病已成为糖尿病相关发病率和死亡率的一个主要原因^[2]。转化生长因子- β (Transforming growth factor-beta1, TGF- β_1) 是一种由 2 条多肽链组成的生长因子,具有多种生物活性。有研究表明,TGF- β_1 的异常表达和活化可能参与糖尿病心肌病的发生和发展^[3]。有证据表明,TGF- β_1 在心肌重塑过程中发挥重要作用,特别是在心肌纤维化中^[4]。有研究显示,在糖尿病肾病中,活化的 p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38-mitogen-activated protein kinase, p38MAPK) 可以进入到细胞核,调控下游代表性致纤维化因子——TGF- β_1 的表达及其生物效应^[5],最终促进细胞外基质过度沉积而形成肾纤维化^[6]。硫化氢 (hydrogen sulfide, H₂S) 可以抑制 TGF- β_1 信号^[7],且有证据表明,在各种纤维化相关疾病中,H₂S 具有保护和抗炎作用^[8-10]。本实验欲通过观察糖尿病小鼠心肌中 p38MAPK 和 TGF- β_1 表达的变化,探讨 H₂S 对糖尿病心肌纤维化,以及 p38MAPK 和 TGF- β_1 表达的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 雄性 C57BL/6J 小鼠 18 只,3 周龄,体重 11~13 g,购于北京华阜康公司,实验动物质量许可证号:SCXX(京)[2009-0015],动物饲养在温度 (20~25℃) 和湿度 50%~55% 恒定的环境中,12 h 昼/夜循环照明 (7:00~19:00)。定期消毒,可以自由获得水和食物。涉及动物的实验均按美国国立卫生研究院颁布的《实验动物的照料和使用指南》要求进行。

1.1.2 主要实验试剂 四氧嘧啶 (Alloxan, ALX) 购于大连美仑科技公司,硫氢化钠 NaHS (H₂S 供体)

购于美国 Sigma 公司,脱脂奶粉、TGF- β_1 和 Collagen I 兔抗小鼠抗体购于武汉博士德生物技术有限公司,p-p38MAPK、 β -actin 兔抗小鼠抗体、辣根过氧化物酶 horseradish peroxidase, HRP) 标记的山羊抗兔二抗均购于北京博奥森公司,细胞核/浆蛋白抽提试剂盒购于弗德生物科技有限公司,聚氰基丙烯酸正丁酯 bichinchonic acid, BCA) 蛋白定量试剂盒购于上海碧云天生物技术有限公司,逆转录试剂盒购于日本 TaKaRa 公司,定量聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 试剂盒购于韩国 Bioneer 公司,实时 PCR 引物由上海生物工程有限公司合成。

1.2 仪器与设备

雅培安妥超越血糖仪购于美国 Abbott 公司,日立全自动化学分析仪购于北京泰林东方商贸有限公司,日立 CF-16RX II 型高速冷冻离心机购于香港天美科技有限公司,徕卡手动石蜡切片仪购于北京中仪科技发展有限公司,酶标分析仪购于南京德铁实验设备有限公司, BG-power 600 电泳仪电源购于北京百晶生物技术有限公司,增强化学发光 (enhanced chemiluminescence, ECL) 化学发光自动成像分析系统购于日本富士公司,组织匀浆机购于德国 IKA 公司,实时荧光定量聚合酶链反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 仪购于美国伯乐 Bio-rad 公司;PCR 扩增仪购于美国伯乐 Bio-rad 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 实验分组及糖尿病模型的复制 动物适应性饲养 1 周,18 只 C57BL/6J 小鼠随机分为 3 组 (每组 6 只): 正常对照组 (NC 组)、糖尿病对照组 ALX 组、H₂S 治疗组 ALX+H₂S 组)。NC 组予正常饮食,ALX 组、ALX+H₂S 组予高脂饮食。8 周后,ALX 组、ALX+H₂S 组按体重 (200 mg/kg) 腹腔注射 ALX 复制

模型,ALX 分 2 次给药,第 1 次腹腔注射 120 mg/kg,间隔 24 h 后再次腹腔注射 80 mg/kg,为防止低血糖的发生,4.5~5.0 h 后予以 50%葡萄糖灌胃,注射药物 72 h 后于小鼠尾端断尾取血,用血糖仪检测小鼠禁食 12 h 的血糖浓度^[11],血糖浓度 ≥ 11.1 mmol/L 时判断模型复制成功。ALX+H₂S 组每天自由饮用浓度为 90 μ mol/L 的 NaHS 溶液^[12],换 NaHS 溶液 1 次/d; NC 组和 ALX 组予以自来水。实验持续 8 周。

1.3.2 苏木精-伊红染色法 (hematoxylin-eosin staining, HE) 染色观察心肌纤维组织学变化 取心肌组织,4%多聚甲醛固定后,常规石蜡包埋、切片后,以 HE 染色法染色,显微镜下观察摄像。

1.3.3 Western blot 检测 p-p38MAPK、TGF- β 1 及 Collagen I 蛋白的表达 取各组小鼠左心室心肌组织,提取蛋白,采用二喹啉甲酸 (bicinchoninic acid, BCA) 比色法进行蛋白定量。配制 12%聚丙烯酰胺凝胶电泳分离胶用于电泳分离蛋白,上样前蛋白样品 95 $^{\circ}$ C 煮 5 min,每孔组织蛋白上样量相等,置于电泳缓冲液中电泳,分离目的蛋白。将目的条带切下,60 V 湿转膜 2 h,将蛋白质转移至聚偏氟乙烯膜。用三羟甲基氨基甲烷缓冲溶液 (tris buffered saline and tween 20, TBST) 配制的 5%脱脂奶粉封闭 2 h,封闭后用 p-p38MAPK、TGF- β 1 及 Collagen I 一抗 稀释比例为 1:100 37 $^{\circ}$ C 孵育 1 h 后 4 $^{\circ}$ C 过夜。TBST 洗膜 3 次,5 min/次,用 HRP 标记的山羊抗兔二抗 稀释比例为 1:2 000,37 $^{\circ}$ C 孵育 1 h, TBST 洗膜 3 次,5 min/次。增强化学发光法 (enhanced chemiluminescence, ECL) 显色,曝光后扫描,用 Image J 图像分析软件进行光密度分析,以 β -actin 为内参。

1.3.4 qRT-PCR 检测 p38MAPK 和 TGF- β 1 mRNA 的表达水平 取各组左心室心肌组织,按照试剂盒说明书用 RNAiso Plus 提取 RNA,逆转录试剂盒合成 cDNA,含 SYBR Green I 的 Accu Power[®] 2X Green Star qPCR Master Mix 进行 PCR 反应 (见表 1)。逆转录反应条件:37 $^{\circ}$ C 预变性 15 min,85 $^{\circ}$ C 变性 5 s,

4 $^{\circ}$ C 退火。PCR 反应条件:95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min,95 $^{\circ}$ C 变性 5 s,60 $^{\circ}$ C 退火 30 s,65~90 $^{\circ}$ C 中每 1 $^{\circ}$ C 都延伸 1 s,共 45 个循环。用熔解曲线来判断引物的特异性,用 2^{- $\Delta\Delta$ C_t} 法对组织 p38MAPK 和 NF- κ Bp65 mRNA 水平进行相对定量分析。

表 1 qRT-PCR 引物

基因	引物序列
p38MAPK	正向: CCCGAACGATACCAGAACC
	反向: GCGTGAATGATGGACTGAAA
TGF- β 1	正向: TTGGAGCCTGGACACACA
	反向: GTAGTAGACGATGGCAGTGG
β -actin	正向: AACAGTCCGCTAGAAGCAC
	反向: CGTTGACATCCGTAAGACC

1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 19.0 统计软件,计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示,各组间比较用单因素方差分析,检验方差齐性,两组间比较用 q 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血糖、血脂比较

NC 组、ALX 组及 ALX+H₂S 组空腹血糖 (fasting plasma glucose, FPG)、三酰甘油 (Triglycerides, TG)、总胆固醇 (total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL) 及高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL) 比较,经方差分析,差异有统计学意义 ($P<0.05$)。ALX 组与 NC 组 FPG、TG、TC、LDL、HDL 比较,经 q 检验,差异有统计学意义 ($q = -11.735$ 、 -14.703 、 -11.811 、 -12.347 和 10.883 , $P = 0.000$), ALX 组 FPG、TG、TC、LDL 升高, HDL 降低。ALX+H₂S 组与 ALX 组 FPG、TG、TC、LDL、HDL 比较,经 q 检验,差异有统计学意义 ($q = 11.025$ 、 13.019 、 11.703 、 9.562 和 -6.073 , $P = 0.000$), ALX+H₂S 组 FPG、TG、TC、LDL 降低, HDL 升高。见表 2。

表 2 糖尿病小鼠的血糖、血脂变化 ($n=6$, mmol/L, $\bar{x}\pm s$)

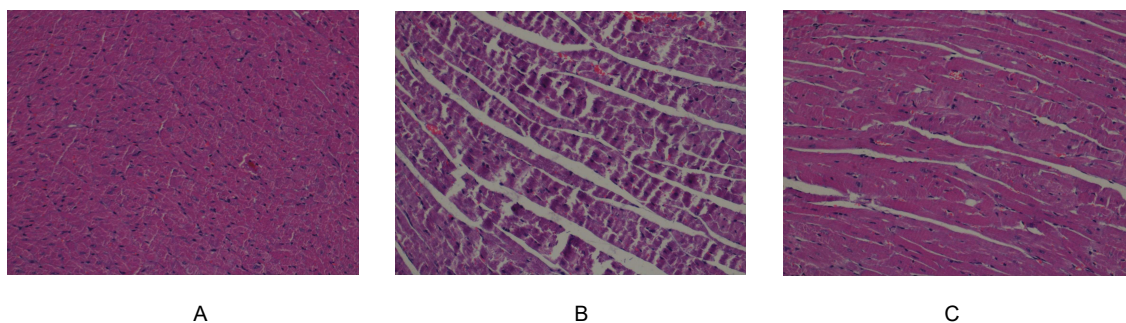
组别	FPG	TG	TC	HDL	LDL
NC 组	9.71 \pm 0.13	0.46 \pm 0.08	2.65 \pm 0.08	1.32 \pm 0.05	1.50 \pm 0.09
ALX 组	15.00 \pm 0.12 ¹⁾	1.10 \pm 0.08 ¹⁾	3.74 \pm 0.06 ¹⁾	1.02 \pm 0.04 ¹⁾	2.17 \pm 0.09 ¹⁾
ALX+H ₂ S 组	10.03 \pm 0.10 ²⁾	0.52 \pm 0.07 ²⁾	2.66 \pm 0.06 ²⁾	1.19 \pm 0.02 ²⁾	1.65 \pm 0.06 ²⁾
F 值	86.589	114.808	92.155	59.501	83.870
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注: 1) 与 NC 组比较, $P<0.05$; 2) 与 ALX 组比较, $P<0.05$

2.2 各组糖尿病小鼠心肌病理形态学变化

ALX 组与 NC 组比较,心肌细胞间隙增宽,心肌纤维排列明显紊乱,组织胶原表达量增加,心肌间质

可见纤维化改变。ALX+H₂S 组与 ALX 组比较,细胞间隙变窄,心肌纤维排列较整齐,结构清晰,胶原表达量减少,间质有少量疏松结缔组织。见图 1。



A: NC 组; B: ALX 组; C: ALX+H₂S 组
图 1 各组小鼠心肌组织 (HE×200)

2.3 H₂S 对 Collagen I、p-p38MAPK 及 TGF-β₁ 蛋白表达的影响

Western blot 检测 3 组小鼠 Collagen I、p-p38MAPK 及 TGF-β₁ 蛋白表达,结果显示,各指标在 3 组中的表达比较,经方差分析,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与 NC 组比较,ALX 组小鼠心肌组织 Collagen I、p-p38MAPK 及 TGF-β₁ 蛋白表达增加 ($q = 16.900$ 、 8.788 和 13.386 , $P = 0.000$)。ALX+H₂S 组与 ALX 组比较,小鼠心肌组织 Collagen I、p-p38

MAPK 及 TGF-β₁ 蛋白表达减少 ($q = 15.721$ 、 12.467 和 11.354 , $P = 0.000$)。见表 3 和图 2。

2.4 H₂S 对各组小鼠心肌组织中 p38MAPK 和 TGF-β₁ mRNA 表达的影响

2.4.1 H₂S 对心肌组织中 p38MAPK mRNA 表达的影响

qRT-PCR 检测 p38MAPK mRNA 的表达,结果显示,在各组 p38MAPK mRNA 表达比较,经方差分析,差异有统计学意义 ($F = 14.981$, $P = 0.005$)。与 NC 组比较,ALX 组小鼠心肌组织中 p38MAPK mRNA 表达增加 ($q = 4.404$, $P = 0.005$);与 ALX 组比较,ALX+H₂S 组小鼠心肌组织中 p38MAPK mRNA 表达减少 ($q = 5.017$, $P = 0.002$)。结果提示 H₂S 治疗抑制糖尿病小鼠心肌组织 p38MAPK mRNA 的表达。见图 3。

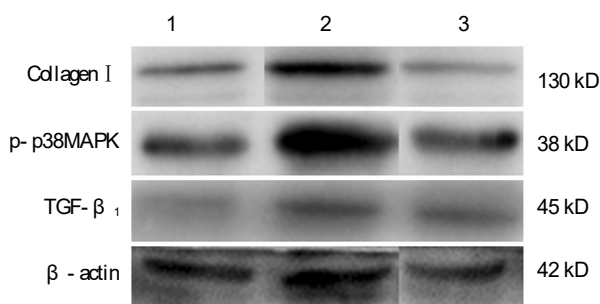
2.4.2 H₂S 对心肌组织中 TGF-β₁ mRNA 表达的影响

qRT-PCR 检测 TGF-β₁ mRNA 的表达,结果显示,各组 TGF-β₁ mRNA 表达比较,经方差分析,差异有统计学意义 ($F = 26.550$, $P = 0.001$)。与 NC 组比较,ALX 组小鼠心肌组织中 TGF-β₁ mRNA 表达增加 ($q = 6.966$, $P = 0.000$);与 ALX 组比较,ALX+H₂S

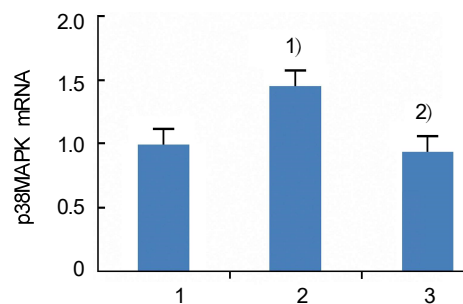
表 3 糖尿病小鼠 Collagen I、p-p38MAPK 及 TGF-β₁ 蛋白表达的变化 ($n = 6, \bar{x} \pm s$)

组别	Collagen I	p-p38MAPK	TGF-β ₁
NC 组	1.8347±0.1926	0.7184±0.0844	0.3541±0.0512
ALX 组	3.7118±0.1889 ¹⁾	1.1474±0.0857 ¹⁾	0.7521±0.0517 ¹⁾
ALX+H ₂ S 组	1.9656±0.1922 ²⁾	0.5388±0.0916 ²⁾	0.4145±0.0515 ²⁾
F 值	178.042	82.063	104.073
P 值	0.000	0.000	0.000

注:1)与 NC 组比较, $P < 0.05$; 2)与 ALX 组比较, $P < 0.05$



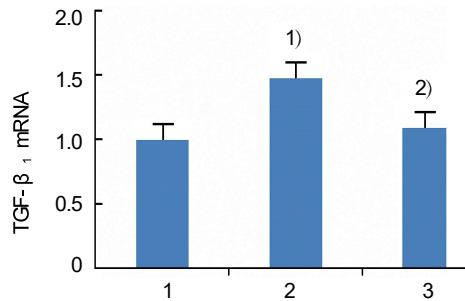
1: NC 组; 2: ALX 组; 3: ALX+H₂S 组
图 2 H₂S 对 Collagen I、p-p38MAPK 及 TGF-β₁ 表达的影响



1: NC 组; 2: ALX 组; 3: ALX+H₂S 组。1) 与 NC 组比较, $P < 0.05$; 2) 与 ALX 组比较, $P < 0.05$

图 3 p38MAPK mRNA 的相对表达

组小鼠心肌组织中 TGF- β_1 mRNA 表达减少 ($q = -5.336, P=0.002$)。结果提示 H₂S 治疗抑制糖尿病小鼠心肌组织 TGF- β_1 mRNA 表达。见图 4。



1: NC组; 2: ALX组; 3: ALX+H₂S组。1) 与 NC组比较, $P < 0.05$; 2) 与 ALX组比较, $P < 0.05$

图 4 TGF- β_1 mRNA 的相对表达

3 讨论

糖尿病心肌病是独立于冠状动脉疾病和高血压,与糖尿病相关的心脏结构和功能的相关改变^[13-14],心血管并发症被认为是糖尿病患者死亡的首要原因^[15],其中心肌纤维化是在许多不同的心脏疾病条件下发生的一种常见的病理过程,可以加重心肌僵硬,妨碍心室收缩和舒张功能,最终引发心力衰竭,甚至猝死^[16-17]。有研究显示,氧化苦参碱通过影响 TGF- β_1 /p38MAPK 信号转导通路的级联反应,减弱相关信号分子的表达,发挥抑制心肌纤维化作用^[18]。TGF- β_1 是 TGF- β 超家族的主要亚型,在心脏中由心肌成纤维细胞、成肌纤维细胞和心肌细胞产生。TGF- β_1 异常增高在心肌纤维化的发生、发展中发挥重要作用^[19]。TGF- β_1 可以刺激心肌成纤维细胞 I 和 III 型胶原纤维及纤联蛋白合成增加,分解减少^[9]。有研究报道, TGF- β_1 是胎鼠心肌成纤维细胞中胶原产生的强有力的刺激物,且由 TGF- β_1 刺激产生的胶原产物在新生大鼠心肌成纤维细胞中大幅高于新生大鼠肺成纤维细胞^[20]。

H₂S 是一种新型气体信号分子,一些研究发现, H₂S 在心血管疾病中发挥多种生物作用^[21],可以改善左心室功能,减轻心肌肥厚和心肌纤维化^[14]。在本实验中,通过 HE 染色可观察到经 H₂S 治疗的糖尿病小鼠,心肌间质纤维化明显减轻。研究发现,在链脲佐菌素处理的糖尿病大鼠中,血浆和心肌组织中 H₂S 水平下降,且每天给予 NaHS 后可使 H₂S 水平恢复正常^[14]。有研究表明,在四氯化碳诱导的肝纤维化模型中,外源性 H₂S 抑制 TGF- β_1 表达,改善肝纤维化^[22]。在输

尿管梗阻引起的肾脏纤维化模型中, H₂S 的抗纤维化作用与 TGF- β_1 信号通路下调有关,从而减少炎症反应和氧化应激^[7]。

本研究显示,在糖尿病小鼠心肌中 p38MAPK 和 TGF- β_1 无论在 mRNA 水平,还是在蛋白水平都有所提高,经外源性 H₂S 治疗后 p38MAPK、TGF- β_1 及 Collagen I 表达减少,胶原重塑得以改善,进而改善心肌纤维化。对于糖尿病引起的心肌纤维化, H₂S 可能是一种潜在的治疗方法。H₂S 对糖尿病模型的心肌损伤具有保护作用,并可抑制糖尿病模型的肾小管间质纤维化,但 H₂S 是否与糖尿病心肌病中心肌纤维化的发病机制有关,以及其是否通过 TGF- β_1 /p38MAPK 信号转导通路影响糖尿病小鼠心肌纤维化,尚不十分清楚,具体机制有待进一步研究。

参 考 文 献:

- [1] GUARIGUATA L. By the numbers: new estimates from the IDF diabetes atlas update for 2012[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2012, 98(3): 524-525.
- [2] WEI WB, HU X, ZHUANG XD, et al. GYY4137, a novel hydrogen sulfide-releasing molecule, likely protects against high glucose-induced cytotoxicity by activation of the AMPK/mTOR signal pathway in H9c2 cells[J]. Mol Cell Biochem, 2014, 389(1/2): 249-256.
- [3] GU YY, WANG H, WANG S, et al. Effects of cordyceps sinensis on the expressions of NF- κ B and TGF- β_1 in myocardium of diabetic rats[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2015, 2015: DOI: org/10.1155/2015/369631.
- [4] SUN LL, JIN HF, SUN LJ, et al. Hydrogen sulfide alleviates myocardial collagen remodeling in association with inhibition of TGF- β /Smad signaling pathway in spontaneously hypertensive rats[J]. Mol Med, 2014, 20: 503-515.
- [5] LI G, LI Y, LIU S, et al. Gremlin aggravates hyperglycemia-induced podocyte injury by a TGF- β /Smad dependent signaling pathway[J]. J Cell Biochem, 2013, 114(9): 2101-2113.
- [6] LAKSHMANAN AP, THANDAVARAYAN RA, WATANABE K, et al. Modulation of AT-1R/MAPK cascade by an dmesartan treatment attenuates diabetic nephropathy in streptozotocin-induced diabetic mice[J]. Mol Cell Endocrinol, 2012, 348(1): 104-111.
- [7] JUNG KJ, JANG HS, IN KJ, et al. Involvement of hydrogen sulfide and homocysteine transsulfuration pathway in the progression of kidney fibrosis after ureteral obstruction[J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1832(12): 1989-1997.
- [8] HUANG JL, WANG DM, ZHENG JB, et al. Hydrogen sulfide attenuates cardiac hypertrophy and fibrosis induced by abdominal aortic coarctation in rats[J]. Mol Med Rep, 2012, 5(4): 923-928.
- [9] ZHOU X, AN GY, CHEN JC. Inhibitory effects of hydrogen

- sulphide on pulmonary fibrosis in smoking rats via attenuation of oxidative stress and inflammation[J]. *J Cell Mol Med*, 2014, 18(6): 1098-1103.
- [10] BABAEI-KARAMSHAHLOU M, HOOSHMAND B, HAJIZADEH S, et al. The role of endogenous hydrogen sulfide in pathogenesis of chronotropic dysfunction in rats with cirrhosis[J]. *Eur J Pharmacol*, 2012, 696 (1/2/3): 130-135.
- [11] 杨润军, 李青旺, 赵蕊. 四氧嘧啶与链脲佐菌素诱导小鼠糖尿病模型的效果比较[J]. *西北农林科技大学学报*, 2006, 2006(2): 17-20.
- [12] KUNDU S, PUSHPAKUMAR S, SEN U, et al. MMP-9 and NMDA receptor-mediated mechanism of diabetic renovascular remodeling and kidney dysfunction: hydrogen sulfide is a key modulator [J]. *Nitric Oxide*, 2015, 46(2015): 172-185.
- [13] BUGGER H, ABEL E D. Molecular mechanisms of diabetic cardiomyopathy[J]. *Diabetologia*, 2014, 57(4): 660-671.
- [14] ZHOU X, AN G Y, LU X. Hydrogen sulfide attenuates the development of diabetic cardiomyopathy[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2015, 128(5): 325-335.
- [15] REN J, SOWERS J R. Application of a novel curcumin analog in the management of diabetic cardiomyopathy [J]. *Diabetes*, 2014, 63(10): 3166-3168.
- [16] KONG P, CHRISTIA P, FRANGOIANNIS N G. The pathogenesis of cardiac fibrosis[J]. *Cell and Mol Life Sci*, 2014, 71(4): 549-574.
- [17] TSOUTSMAN T, WANG X Y, GARCHOW K, et al. CCN2 plays a key role in extracellular matrix gene expression in severe hypertrophic cardiomyopathy and heart failure[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2013, 62: 164-178.
- [18] 肖海, 徐旖旎, 罗红, 等. 氧化苦参碱下调 p38MAPK 磷酸化及改善胶原沉积抑制 TGF- β_1 诱导的 CFBs 增殖[J]. *中国中药杂志*, 2015, 40(11): 2168-2173.
- [19] LI J, PENG L, DU H, et al. The protective effect of beraprost sodium on diabetic cardiomyopathy through the inhibition of the p38 MAPK signaling pathway in high-fat-induced SD rats[J]. *Int J Endocrinol*, 2014, 2014: DOI:org/10.1155/2014901437.
- [20] WANG L L, YUAN T, DU G L, et al. The impact of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on the expression of connective tissue growth factor and transforming growth factor- β_1 in the myocardium of rats with diabetes[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2014, 104(2): 226-233.
- [21] KIMURA H. Production and physiological effects of hydrogen sulfide[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2014, 20(5): 783-793.
- [22] FAN H N, WANG H J, REN L, et al. Decreased expression of p38 MAPK mediates protective effects of hydrogen sulfide on hepatic fibrosis[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2013, 17(5): 644-652.

(童颖丹 编辑)