

## 脐血浆中硫化氢与分娩宫缩发动关系的探讨

张涛<sup>1</sup>,董淑君<sup>1\*</sup>,张雪莉<sup>2</sup>,庄宝祥<sup>2</sup>,刘红丽<sup>1</sup>,张圣明<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>潍坊市中医院产科,山东 潍坊 261042,<sup>2</sup>潍坊医学院组织学与胚胎学教研室,山东 潍坊 261053)

**[摘要]** 目的:研究脐血浆中硫化氢(H<sub>2</sub>S)在分娩宫缩发动中的意义。方法:在新生儿娩出后采集脐带静脉血浆60例,根据分娩时有否发动宫缩分为两组,用敏感硫电极检测脐血浆中硫离子的浓度,并换算出H<sub>2</sub>S的含量;免疫组织化学方法检测胎盘中胱硫醚-γ-裂解酶(CSE)和胱硫醚-β-合成酶(CBS)的表达程度。结果:未发动宫缩组脐血浆中H<sub>2</sub>S含量高于发动宫缩组,差异有统计学意义( $P=0.017$ )。免疫组化见CSE表达于胎盘绒毛的细胞滋养层胞浆中,未发动宫缩组的表达明显高于发动宫缩组,CBS在两组中均未见表达。结论:胎盘绒毛的细胞滋养层胞浆中含有CSE,不含CBS;脐血浆中H<sub>2</sub>S由细胞滋养层细胞参与调控生成;孕产妇脐血浆中H<sub>2</sub>S与宫缩发动有密切关系。

**[关键词]** 硫化氢;子宫平滑肌细胞;分娩;脐血浆;免疫组化

**[中图分类号]** R714.3

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2013)02-235-04

**doi:**10.7655/NYDXBNS20130220

## The relationship of hydrogen sulfide in cord plasma and the contraction of myometrium

Zhang Tao<sup>1</sup>, Dong Shujun<sup>1\*</sup>, Zhang Xueli<sup>2</sup>, Zhuang Baoxiang<sup>2</sup>, Liu Hongli<sup>1</sup>, Zhang Shengming<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, Weifang Chinese Medical Hospital, Weifang 261042; <sup>2</sup>Department of Histology and Embryology, Weifang Medical University, Weifang 261053, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the relationship between endogenous hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) of the blood plasma and the contraction of myometrium. **Methods:** The sixty cord plasma samples were collected and divided into two groups according to the delivery has not launched the contractions. The concentration of H<sub>2</sub>S was assayed by sensitive sulphur electrode. The expressions of cystathionine beta-synthase (CBS) and cystathionine gamma-lyase (CSE) in placenta were measured by using immunohistochemistry. **Results:** H<sub>2</sub>S contents in the group which mothers did not start uterine contraction were higher than that mother started uterine contraction ( $P=0.01$ ); The expressions of CSE were detected in cytoplasm of placental villi trophoblast cells and at higher levels in the group with mothers did not start uterine contraction. The expressions of CBS had not seen in both two groups. **Conclusion:** Cytoplasm of placental villi trophoblast cells are included CSE and no CBS. The production of H<sub>2</sub>S in cord plasma is regulated by trophoblast cells. H<sub>2</sub>S content in cord placenta is related to initiation of parturition.

**[Key words]** hydrogen sulfide; uterine smooth muscle cell; parturition; cord plasma; immuno-histochemistry

[Acta Univ Med Nanjing, 2013, 33(02): 235-238]

人类妊娠分娩是一个相对漫长、复杂的生理过程,在此期间胎儿、胎盘和母体合成、分泌一些介质调控分娩进展,维持子宫肌收缩和舒张的平衡,直至分娩发动。而子宫平滑肌的过早兴奋将导致提前分娩发动,由此引发的早产是产科工作者们面临的重要课题,深入了解平滑肌的兴奋性是研究早产的热

点问题。最近的研究表明,“有毒”气体硫化氢(H<sub>2</sub>S)是继一氧化氮(NO)和一氧化碳(CO)后的气体信号家族中新的一员,它是由胱硫醚-γ-裂解酶(CSE)和胱硫醚-β-合成酶(CBS)作用于L-半胱氨酸产生,受体内代谢途径调控作为终产物的H<sub>2</sub>S对这些酶有负反馈调节作用<sup>[1]</sup>,H<sub>2</sub>S在人体内有着广泛的生物学效应,那么H<sub>2</sub>S在分娩发动中变化如何?这种变化具有何种意义?本研究观察新生儿娩出后脐带静脉血浆中H<sub>2</sub>S含量的变化,初步探讨气体信号分子H<sub>2</sub>S在分娩发动中的作用。

**[基金项目]** 潍坊市科技局资助(20112033)

\*通信作者 (Corresponding author), E-mail: wfszyydsj@163.com

## 1 资料与方法

### 1.1 资料

收集潍坊市中医院 2011 年 3 月~2012 年 5 月初产妇脐血血浆 60 例,所有产妇无产科并发症和内科合并症。根据是否发动宫缩分成 2 组:发动宫缩组 41 例、未发动宫缩组 19 例(均因臀位、巨大儿等因素行剖宫产术)。

仪器设备有:离子计,敏感硫电极;抗氧化剂配制:维生素 C 65 g,氢氧化钠 85 g,水杨酸钠 250 g,双蒸水加至 1 000 ml。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 脐血标本采集

孕产妇分娩时无菌抽取脐血 5 ml,置于抗凝试管中,4℃保存备用。以 2 000 r/min 离心 5 min,取血浆存于室温待测。取胎盘小叶 0.5 cm<sup>3</sup>,常规石蜡包埋备用。

#### 1.2.2 标准硫离子溶液配置

用分析天平准确称取硫化钠 (NaHS)0.014 g,加入 2.5 ml 的脐血血浆,溶液浓度为 100 mmol/L,等比稀释成 10、1、10<sup>-1</sup>、10<sup>-2</sup>、10<sup>-3</sup> mmol/L。用敏感硫电极测量各浓度液的硫离子含量,对数换算出 H<sub>2</sub>S 含量,绘制标准曲线。

#### 1.2.3 敏感硫电极测量硫离子浓度

每次使用电极前须在 NaHS 溶液中浸泡(时间 ≥ 1 h)活化 2 h 以上。打开离子计电源,将测定项调至 mV 档,斜率调至 100%,将敏感硫电极与参比电极一起浸入到样品中,测量时间为 2 min,并记录测量数据,然后用去离子水充分冲洗电极,每测一个样品结束,电极必须浸入 NaHS 溶液中以保持其活化状态。记录所测数值,进行分析处理。根据测定标本中硫离子浓度,按标准曲线换算出 H<sub>2</sub>S 的浓度。

#### 1.2.4 免疫组织化学方法测定 CSE 和 CBS 的表达程度

将已包埋好的石蜡组织块切片,厚度为 6 μm,免疫组织化学 SP 法检测胎盘组织内 CSE 和 CBS 的表达状况,操作步骤严格按照试剂盒的说明书进行。

### 1.3 统计学方法

应用 SPSS10.0 统计软件,数据用均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验,*P* ≤ 0.05 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 脐血浆中 H<sub>2</sub>S 浓度

用敏感硫电极测量各浓度液的硫离子含量,对数换算出 H<sub>2</sub>S 含量,绘制标准曲线见图 1。按标准曲线换算出发动宫缩组和未发动宫缩组脐血浆中 H<sub>2</sub>S 的浓度(表 1)。

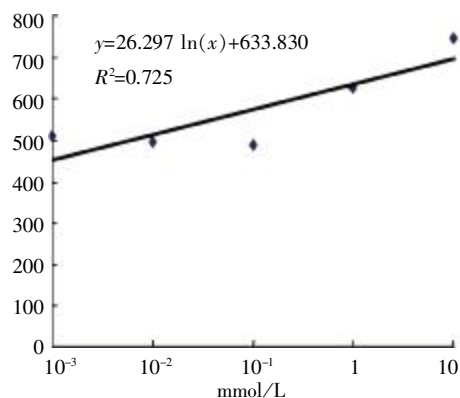


图 1 H<sub>2</sub>S 浓度的标准曲线

Figure 1 The standard curve of H<sub>2</sub>S

表 1 发动宫缩和未发动宫缩脐血浆中 H<sub>2</sub>S 含量比较

Table 1 The concentration of H<sub>2</sub>S with started uterine contraction compare to without start uterine contraction ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	H <sub>2</sub> S(μmol/L)
发动宫缩组	41	15.35±0.02
未发动宫缩组	19	27.89±0.20

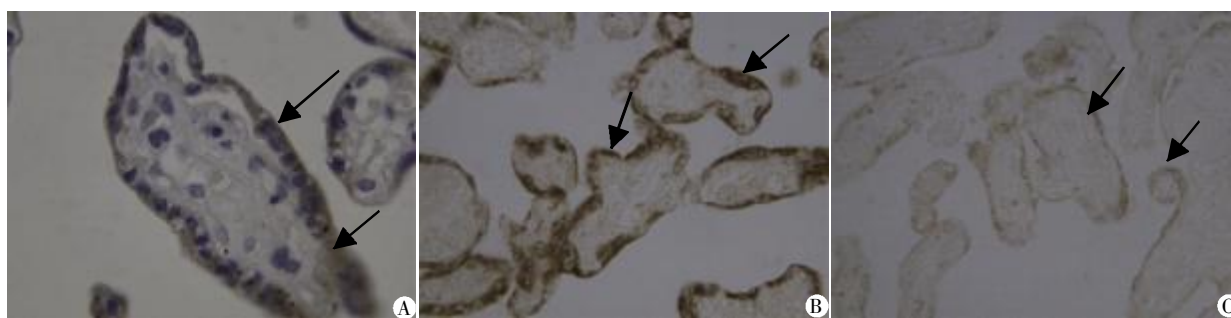
两组比较,*t* = 2.132,*P* = 0.017。

### 2.2 胎盘组织中 CSE 和 CBS 的表达状况

CSE 表达于胎盘绒毛的细胞滋养层胞浆中(呈棕黄色阳性显色)(图 1A),未发动宫缩组 CSE 呈现高表达(图 1B),发动宫缩组 CSE 表达较弱(图 1C)。CBS 在任何组中均未见阳性表达。

## 3 讨论

长期以来,人们对于 H<sub>2</sub>S 的认识仅限于它对细胞的毒性作用。自上世纪 90 年代中后期不断有学者发现 H<sub>2</sub>S 可以与含有金属的蛋白质结合,解耦电子运输链,干扰平滑肌细胞的收缩,从而对它有了新的认识。近年来,H<sub>2</sub>S 被认为是继 NO 和 CO 之后发现的第 3 种气体信号分子,具有分子量小、持续产生、弥散迅速等特点,发挥着重要的生物活性<sup>[2]</sup>。H<sub>2</sub>S 在机体内主要由 CBS 和 CSE 催化产生,CBS 和 CSE 的分布存在组织差异,CBS 在神经系统内高度表达,还存在于大鼠的肝脏、胰腺、肾脏中。CSE 存在于各种血管组织中,在主动脉、肺动脉和门静脉上均有表达<sup>[3-4]</sup>。肝中的 CSE 含量是脑内的 100 倍以上,肝脏可能是体内 H<sub>2</sub>S 生成的主要部位,对维持循环血液



A:未发动宫缩组,细胞滋养层CSE表达较强(苏木素复染,棕黄色阳性显示, $\times 1000$ );B:未发动宫缩组(苏木素未复染, $\times 400$ );C:发动宫缩组,细胞滋养层CSE表达较弱(苏木素未复染, $\times 400$ )。

图1 CSE在胎盘绒毛细胞滋养层胞浆中的表达(免疫组织化学SP法)

Figure 1 The expressions of CSE in cytoplasm of placental villi trophoblast cells (Immunohistochemistry SP method)

中 $H_2S$ 浓度起到了重要作用<sup>[5]</sup>。2009年Patel<sup>[6]</sup>首次报道了人类子宫平滑肌可表达CSE和CBS两种酶。

目前对于 $H_2S$ 生理效应的研究主要集中在心血管系统、中枢神经系统、呼吸系统和消化系统。 $H_2S$ 可舒张包括血管平滑肌、消化道平滑肌、气管平滑肌在内的多种平滑肌<sup>[7-10]</sup>,而在生殖系统,相关文献报道较少,低水平的 $H_2S$ 可以剂量依赖性地抑制孕鼠子宫平滑肌的收缩作用和因催产素诱导产生宫缩的大鼠未孕子宫平滑肌的收缩<sup>[11]</sup>。Xu等<sup>[12]</sup>研究表明内源性 $H_2S$ 抑制人类子宫平滑肌收缩幅度的效应是通过激活ATP敏感性钾通道( $K_{ATP}$ )起作用。

关于人类分娩启动机制的学说,多数学者倾向于多种因素的作用,妊娠末期的机械性刺激、神经介质和内分泌变化的释放均能促使宫颈下段和宫颈软化成熟,继发子宫肌细胞内钙离子浓度增加,使子宫转变为分娩时的兴奋状态,子宫肌出现规律宫缩,形成分娩发动<sup>[13]</sup>。在人类子宫平滑肌细胞膜上存在着一系列收缩相关蛋白,主要包括3种:①离子通道蛋白;②子宫收缩/舒张激动剂受体;③细胞间隙连接。这些蛋白在子宫平滑肌细胞内协调表达,在孕期的大部分时间使子宫保持松弛状态,分娩发动后触发强烈协调的宫缩促使胎儿娩出<sup>[13-14]</sup>。子宫平滑肌在妊娠期保持静息状态及分娩宫缩发动很可能是受到了细胞内蛋白受体的调节。近年来研究发现,在大鼠和人类的子宫平滑肌细胞中也有钾离子通道蛋白的表达<sup>[15]</sup>, $K_{ATP}$ 在妊娠的不同时期的表达含量不同,这种特点与平滑肌的兴奋性改变有着密切联系<sup>[16]</sup>。胡蓉等<sup>[17]</sup>研究发现,临产后平滑肌细胞中的 $K_{ATP}$ 两个功能性亚基表达下调,推断在人类妊娠子宫平滑肌上可能是通过功能性亚基水平的改变起到调节平滑肌收缩的作用。

Sidhu等<sup>[14]</sup>的研究证实,外源性 $H_2S$ 可以抑制离

体大鼠平滑肌的自发性收缩,胡蓉等<sup>[17]</sup>通过研究离体人类子宫平滑肌,发现外源性 $H_2S$ 对自主宫缩的子宫平滑肌和催产素诱导的子宫平滑肌的收缩都有抑制作用,并且呈剂量依赖性,催产素诱导的临产子宫平滑肌对 $H_2S$ 的敏感性强于自主宫缩的临产子宫肌。上述对子宫平滑肌的研究都观察了外源性 $H_2S$ 的作用,而在人体中存在内源性的 $H_2S$ ,其血清浓度为 $10\sim 100\mu\text{mol/L}$ <sup>[18]</sup>,那么内源性 $H_2S$ 浓度的变化对子宫平滑肌收缩起了什么样的作用?本研究初步发现不同宫缩状态下脐带静脉血浆中的 $H_2S$ 浓度发生了明显变化,这是否表明内源性 $H_2S$ 参与了子宫平滑肌的收缩和分娩的发动,还需继续实验观察。今后将研究在不同的妊娠时期人体内源性 $H_2S$ 浓度的变化,深入分析两者之间的关系。

综上所述,本实验发现了胎盘绒毛的滋养细胞胞浆中含有CSE不含有CBS;推测脐血浆中的 $H_2S$ 由细胞滋养细胞参与调控生成;孕产妇脐血浆中 $H_2S$ 的浓度与分娩发动关系密切。这对探讨分娩发动、积极预防和治疗早产具有重要的临床意义。

#### [参考文献]

- [1] Geng B, Yang J, Qi Y, et al.  $H_2S$  generated by heart in rat and its effects on cardiac function [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 313(2): 362-368
- [2] Lowicka E, Beltowski J. Hydrogen sulfide( $H_2S$ )-the third gas of interest for pharmacologists [J]. *Pharmacol Rep*, 2007, 59(1): 4-24
- [3] Abe K, Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator [J]. *J Neurosci*, 1996, 16(3): 1066-1071
- [4] Zhao W, Zhang J, Lu Y, et al. The vasorelaxant effect of  $H_2S$  as a novel endogenous gaseous  $K_{ATP}$  channel opener [J]. *EMBO J*, 2001, 20(21): 6008-6016
- [5] Zhao W, Ndisang JF, Wang R. Modulation of endogenous

- production of H<sub>2</sub>S in rat tissues [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2003, 81(9):848-853
- [6] Patel P, Vatish M, Heptinstall J, et al. The endogenous production of hydrogen sulphide in intrauterine tissues [J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2009, 7:10
- [7] Hosoki R, Matsuki N, Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous smooth muscle relaxant in synergy with nitric oxide [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1997, 237(3):527-531
- [8] Zhao P, Huang X, Wang ZY, et al. Dual effect of exogenous hydrogen sulfide on the spontaneous contraction of gastric smooth muscle in guinea-pig [J]. *Eur J Pharmacol*, 2009, 616(1-3):223-228
- [9] Al-Magableh MR, Hart JL. Mechanism of vasorelaxation and role of endogenous hydrogen sulfide production in mouse aorta [J]. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 2011, 383(4):403-413
- [10] Teague B, Asiedu S, Moore PK. The smooth muscle relaxant effect of hydrogen sulphide in vitro; evidence for a physiological role to control intestinal contractility [J]. *Br J Pharmacol*, 2002, 137(2):139-145
- [11] Hayden LJ, Goeden H, Roth SH. Growth and development in the rat during sub-chronic exposure to low levels of hydrogen sulfide [J]. *Toxicol Ind Health*, 1990, 6(3-4):389-401
- [12] Xu C, You X, Gao L, et al. Expression of ATP-sensitive potassium channels in human pregnant myometrium [J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2011, 9:35
- [13] Sawada K, Morishige K, Hashimoto K, et al. Gestational change of K<sup>+</sup> channel opener effect is correlated with the expression of uterine K<sub>ATP</sub> channel subunits [J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2005, 122(1):49-56
- [14] Sidhu R, Singh M, Samir G, et al. L-cysteine and sodium hydrosulphide inhibit spontaneous contractility in isolated pregnant rat uterine strips in vitro [J]. *Pharmacol Toxicol*, 2001, 88(4):198-203
- [15] Curley M, Cairns MT, Friel AM, et al. Expression of mRNA transcripts for ATP-sensitive potassium channels in human myometrium [J]. *Mol Hum Reprod*, 2002, 8(10):941-945
- [16] Aguilar-Bryan L, Clement JP 4th, Gonzalez G, et al. Toward understanding the assembly and structure of K<sub>ATP</sub> channels [J]. *Physiol Rev*, 1998, 78(1):227-245
- [17] 胡蓉, 徐晨, 高路, 等. ATP敏感性钾通道在人类妊娠不同状态的子宫平滑肌的表达 [J]. *第二军医大学学报*, 2009, 30(9):1084-1086
- [18] 刘祥琴, 刘小琦, 蒋萍, 等. 阿尔茨海默病和血管性痴呆患者血浆硫化氢与同型半胱氨酸水平的变化及意义 [J]. *中华医学杂志*, 2008, 88(32):2246-2248
- [收稿日期] 2012-10-09

**热烈祝贺《南京医科大学(自然科学版)》编辑部  
荣获第四届江苏省科技期刊“金马奖”优秀团队奖!**