

DOI:10.16781/j.0258-879x.2016.09.1121

芥子气中毒机制及防护药物研究进展

杨玉彦,高焕焕,孙铭学,孟文琪,赵杰,肖凯*

第二军医大学热带医学与公共卫生学系防化医学教研室,上海 200433

[摘要] 芥子气(SM)是一种双功能烷化剂,能与蛋白质、DNA、RNA等多种生物大分子发生烷化反应,其中与DNA发生反应是其最重要的毒理机制之一。SM损伤机制主要包括DNA损伤、多聚腺苷二磷酸核糖聚合酶(PARP)激活、氧化应激、炎症及免疫调节反应和蛋白水解酶激活等。目前临床上尚无SM特效药物,主要是对症治疗。目前对症治疗SM使用的主要药物有自由基清除剂及抗氧化剂、PARP抑制剂、抗炎药物及蛋白酶抑制剂等。本文总结了SM的毒理机制及相应的防护药物研究进展。

[关键词] 芥子气;中毒机制;预防和防护用药

[中图分类号] R 827.174 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2016)09-1121-07

Poisoning mechanism and protective drugs of sulfur mustard: an update

YANG Yu-yan, GAO Huan-huan, SUN Ming-xue, MENG Wen-qi, ZHAO Jie, XIAO Kai*

Department of Chemical Defense Medicine, Faculty of Tropical Medicine and Public Health, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

[Abstract] Sulfur mustard (SM) is a bifunctional alkylating agent that can react with multiple biochemical molecules such as DNA, RNA, proteins, and so on, and its alkylation with DNA is one of the major poisoning mechanisms. Presently the pathogenesis of SM included DNA alkylation, poly ADP-ribose polymerase (PARP) activation, oxidative stress, inflammation, activation of immunoregulation and proteolytic enzymes, etc. By now there have been no specific antidotes in clinical treatment, and all the existing drugs are mainly used for symptomatic treatment. The drugs used clinically and currently being under development include free radical scavengers, antioxidant agents, PARP inhibitors, anti-inflammatory drugs and protease inhibitors. This review summarized the advances in pathogenesis of SM and the corresponding protective drugs.

[Key words] mustard gas; toxicity mechanism; protective agents

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2016, 37(9): 1121-1127]

芥子气(sulfur mustard, SM)是一种糜烂性毒剂,多次被用于战争冲突^[1]。因SM具有理化性质稳定、穿透性强、中毒途径多等特点,其在现代战争中仍然发挥重要作用,是重大化学威胁之一。而且它的结构简单,容易合成,易被恐怖分子掌握和利用,也是中国面临的重要化学恐怖威胁^[2]。另外,尽管《禁止化学武器公约》已签订多年,但是日军在华遗留的化学武器在短时间内对中国公民的危害难以

消除,其中SM是主要化学毒剂^[3]。因此,加强SM损伤防治研究对保持中国军队战斗力、维护国家安全及人民健康均有重大意义。SM中毒机制复杂,至今仍未阐明;而且多数防护药物尚处于实验阶段,仅有极少数用于临床,且效果均不理想,因此对SM损伤的毒理机制及防护药物的研究是国内外SM研究领域重点之一。

[收稿日期] 2016-05-11 **[接受日期]** 2016-08-26

[基金项目] 国家科技新药创制重大专项(2013ZX09J13103-02C),全军后勤科研项目重大子项(AWS11C004 重大子项-08),上海市卫生和计划生育委员会公共卫生建设三年行动计划,上海市卫生计生系统核生化支撑项目。Supported by National Science and Technology Major Project for Drug Discovery (2013ZX09J13103-02C), Sub Item of the Major Project of PLA Logistic Research (AWS11C004 sub item-08), Public Health Construction "Three-year Action" Plan of Shanghai Municipal Commission of Health and Family Planning, and NBC Supporting Program from Shanghai Municipal Commission of Health and Family Planning.

[作者简介] 杨玉彦,硕士生。E-mail: 1158339272@qq.com

*通信作者 (Corresponding author). Tel: 021-81871771, E-mail: kaixiao@smmu.edu.cn

1 SM 毒理机制研究

1.1 DNA 损伤 据文献报道体内 DNA 对 SM 最为敏感,不仅是 SM 攻击的主要靶分子,也是 SM 中毒的重要始发部位^[4]。SM 与 DNA 的烷化反应速度快,毒性效应高。烷化方式主要有双烷化和单烷化 2 种,其中双烷化又分为链内交联和链间交联^[5]。双烷化可以是在 SM 的两个烷化功能基团与 DNA 的两条互补链之间或同一链内的交联,也可以是 SM 的两个烷化功能基团与 DNA 和蛋白质之间的交联;而单烷化则是 SM 的单个烷化功能基团与 DNA 间的交联。SM 与 DNA 多个碱基部位可发生烷化,其中与鸟嘌呤的 N-7 与 O-6、腺嘌呤的 N-3 烷化最为常见,如 SM 与 2 个鸟嘌呤的 N-7 发生双烷化可形成常见的双(2-乙基-N7-鸟嘌呤)硫醚[bis(2-ethyl-N7-guanine) thioether (Bis-G)]^[6]。DNA 的链间交联易直接诱导细胞死亡;而单烷化则多引起 DNA 遗传信息障碍,如 SM 与鸟嘌呤 O-6 的烷化作用是遗传信息障碍的重要原因^[7]。DNA 损伤后激活的毛细血管扩张性共济失调突变蛋白激酶(ataxia-telangiectasia mutated protein kinase, ATM)可使多种下游蛋白如 P53 (Ser15)、Chk2、nibrin(NBS1)、Brca1 等磷酸化^[8];激活的共济失调毛细血管扩张 Rad3 蛋白激酶(ataxia-telangiectasia and Rad3-related protein kinase, ATR)可磷酸化细胞周期关键点激酶 Chk1;此外,ATM 和 ATR 在调节 DNA 修复、阻滞细胞周期等过程中发挥重要作用^[9]。

1.2 聚腺苷酸二磷酸核糖聚合酶[poly (ADP-ribose) polymerase, PARP]激活 高浓度 SM 中毒后能迅速激活 PARP-1,后者消耗大量 NAD⁺^[10],从而抑制葡萄糖分解和乳酸形成,进而消耗更多的 ATP,最终导致细胞坏死。实验研究证实用 SM 染毒 HaCat 细胞后半胱氨酸蛋白酶 3(caspase-3)呈剂量依赖性激活^[11-12],因 PARP-1 是 caspase-3 的作用底物之一,故该结果表明 PARP-1 可通过激活 caspase-3 参与 SM 导致的细胞早期凋亡过程。PARP 还可通过诱导核蛋白聚 ADP-核糖基化作用,活化 p53 基因,诱导细胞死亡^[11]。同样浓度 SM 染毒后,PARP^{-/-}成纤维细胞的死亡方式由坏死变为凋亡,而 PARP^{-/-}角质形成细胞的死亡方式则不受

影响,表明 PARP 的激活依据细胞损伤程度、细胞类型而异^[13]。

1.3 氧化应激 目前认为 SM 介导氧化应激的主要原因是谷胱甘肽(glutathione, GSH)的耗竭与细胞内巯基的释放^[14]。SM 中毒造成机体内大分子损伤后,产生大量自由基可直接攻击体内生物大分子如 DNA、RNA、不饱和脂肪酸等造成细胞损伤,也可耗竭体内 GSH、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)及血红素氧合酶-1(heme oxygenase-1, HO-1)等,从而引起体内抗氧化防御体系受损以及蛋白质氧化物、脂质过氧化产物等增多,最终导致细胞损伤。Paromov 等^[15]检测到 SM 染毒后小鼠肺组织中产生大量自由基,致使 HO-1 的表达不断增加;然而随时间增加其过度消耗,表达明显降低。Tahmasbpour 等^[16]研究发现 SM 损伤的患者氧化应激反应蛋白 1(oxidative stress responsive-1, OXSR1)、叉头盒转录因子(forkhead box M1, FOXM1)及谷胱甘肽过氧化物酶 2(glutathione peroxidase-2, GPX2)基因的表达显著上调,而金属硫蛋白 3(metallothionein-3, MT3)和谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GSR)基因的表达受抑制,以上结果提示 SM 肺损伤可显著改变缺氧诱导基因、抗氧化剂、活性氧物质产生的基因的表达,表明 SM 肺损伤与氧化应激是密切相关的。

1.4 炎症反应 目前相关文献均已证实 SM 中毒可引起炎症反应及免疫失衡反应。如在建立的 SM 肺损伤模型中经吸入或气管滴注 SM 后,可在呼吸道发现大量炎性细胞浸润^[17-18],以及环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)及诱导性一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)等炎症反应标志物的含量增加,而抗炎相关的胶原凝集素的含量却减少^[14]。另外,Pal 等^[19]建立豚鼠肺损伤模型后发现,SM 或其类似物 2-氯乙基乙基硫醚(2-chloroethyl ethyl sulfide, CEES)可激活 NF- κ B 参与炎症反应。Dillman 等^[20]和 Emad 等^[21]研究证实 SM 染毒后可诱导 P38 磷酸化,进而激活白介素(IL)-1 α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8 及肿瘤坏死因子 α (TNF- α)等炎症因子,且 P38 抑制剂能够显著抑制上述炎症因子,该结果表明 P38 在 SM 引起的炎症反应中也发挥着重要作用。

1.5 免疫调节反应 SM 损伤后,招募炎症细胞迁

移至受损部位是一个由细胞因子及趋化因子组成的网状系统共同调节的复杂过程。MCP-1/CCL2、MIP-1 α /CCL3、MIP-1 β /CCL4、RANTES/CCL5 主要参与趋化单核-巨噬细胞的聚集及趋化过程^[21-22]；KC/CXCL1、MIP-2/CXCL2 主要参与趋化中性粒细胞的过程^[23-24]；IP-10/CXCL-10、MIP-1 α /CCL3、MIP-1 β /CCL4 主要参与 T 细胞的激活、趋化过程^[21-22]。多种趋化因子过表达后,促进免疫细胞激活,导致免疫调节紊乱,加重损伤反应。Emad 等^[21]研究发现,SM 肺损伤伤员的肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)中趋化因子 MCP-1/CCL2、MIP-1 α /CCL3 和 MIP-1 β /CCL4 的水平增高。Claudia 等^[22]利用氮芥(NM, 200~400 mmol/L)处理人呼吸表皮细胞时发现 SM 染毒可引起多种促炎、趋化因子的分泌增高,包括 TNF- α 、IL-1 α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8、RANTES/CXCL5、MCP-1/CCL2、IP-10/CXCL10、G-CSF、GM-CSF 和 IL-15。Mishra 等^[23]建立大鼠及猴的 SM 中毒模型,3 d 后发现 SM 损伤肺组织后促炎因子 TNF- α 、IL-2、IL-6 及趋化因子 MCP-1/CCL2、MIP-1 α /CCL3、CCL11 和 KC/CXCL1 的 mRNA 水平增加,且 BALF 中的 TNF- α 、IL-1 β 的表达升高。Mouret 等^[24]在 SM 暴露的小鼠模型上观察到趋化因子 MIP-1 α 、MIP-2、MIP-1 α R 及 KC 的水平升高,且具有 SM 中毒剂量及时间依赖性。另外研究发现 Th17 细胞在 SM 肺损伤后期肺纤维化中发挥重要作用,SM 致肺纤维化患者的 IL-17⁺ 细胞显著增高^[23, 25]。以上研究表明 SM 损伤引起的机体炎症反应与免疫调节密切相关。

1.6 蛋白水解酶激活 皮肤是 SM 染毒的敏感部位。SM 接触到皮肤可迅速渗入,易引起红斑、水疱、糜烂、溃疡等症状。SM 引起的水疱与基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)有关,尤其是 MMP-2、MMP-9^[26]。Shakarjian 等^[27]将鼠耳暴露于 SM(0.08 mg)后发现 MMP-9 可迅速被激活;7 d 后其蛋白水平升高 9 倍,而 mRNA 水平升高 27 倍;之后 MMP 就迅速降解基底膜中的胶原及其他组分,造成表皮、真皮分离,形成水疱。进一步研究发现 SM 的毒性可能与胰蛋白酶/糜蛋白酶样丝氨酸蛋白酶激活有关^[28]。

1.7 细胞凋亡 SM 诱导的细胞凋亡是 SM 致器

官急性损伤的特征之一。孟晓等^[29]利用 SM 直接损伤大鼠气管壁的研究结果显示上皮层和黏膜下层凋亡细胞的 capases-3 及 capases-9 表达阳性。另外,Keyser 等^[30]发现利用 300 μ mol/L SM 处理人支气管上皮细胞后 capases-3 被激活,且发现 SM 可通过调节 FAS 反应通道来诱导细胞凋亡;而 FasR siRNA 及 ZB4 可抑制 SM 对 capases-3 激活的诱导作用。另外,SM 可导致细胞周期调控失调,增加细胞凋亡标志物,且具有时间和剂量依赖性^[31]。

1.8 钙离子失调 Stenger 等^[32]发现 CEES 和 SM 等烷化剂均可激活瞬时受体电位阳离子通道蛋白 1 (TRPA1),从而引起大量钙离子内流,造成细胞功能紊乱,诱导组织损伤。而 TRP 通道抑制剂 AP-18 能够显著抑制钙离子内流。该结果表明钙离子失调在 SM 损伤机制中发挥重要作用,且钙离子通道抑制剂可有效地减少 SM 引起的细胞损伤。

2 SM 损伤防治药物研究进展

自 SM 引入战争以来,虽然对其防护治疗药物的研究从未间断,但目前尚未发现特效抗毒药物,临床治疗主要为对症治疗,所选用的药物大多针对单个靶点,现在的研究主要集中于自由基清除剂及抗氧化剂、PARP 抑制剂、抗炎药物及蛋白酶抑制剂等。

2.1 自由基清除剂及抗氧化剂 自由基清除剂及抗氧化剂在 SM 防治中研究最多。研究的化合物种类繁多,包括氮乙酰半胱氨酸(*N*-acetylcysteine, NAC)、氨磷汀及类似物、金属卟啉类抗氧化物、褪黑素(*N*-乙酰-5-甲氧基色胺)、雌马酚和水飞蓟宾等。文献报道 NAC 和氨磷汀可清除 SM 染毒后体内的自由基,但不易透过细胞膜到达靶标,仅可清除细胞外的自由基,因此防治效果并不理想^[33-34]。Vijayaraghavan 等^[35]进一步研究提出,脂质体能够携带 NAC、GSH 或超氧化氢酶(catalase, CAT)等自由基清除剂透过细胞膜进入胞内,提高细胞内自由基的清除率而有效缓解 SM 损伤。Kannan 等^[36]通过结构改造合成了如 DRDE-07 [S-2 (2-aminoethylamino) ethyl phenyl sulfide]等氨磷汀衍生物,发现在 SM 染毒前 30 min 给药能有效预防 SM 损伤,但尚未有相关临床应用报道。金属卟啉类抗氧化物 AEOL-10150 具有提高 SOD 和 CAT 活

性的作用^[37]。在大鼠吸入 5%CEES 15 min 之后,1 h 和 9 h 分别给予 AEOL-10150 (5 mg/kg, SC) 处理, SM 暴露 18 h 后检测中性粒细胞、红细胞、IgM、肺中髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)及氧化指标 8-OHdG 和 4-HNE 等的水平,结果显示 AEOL-10150 可明显减轻 CEES 导致的肺损伤^[38]。自由基清除剂褪黑素(*N*-乙酰-5-甲氧基色胺)可通过直接清除自由基和抑制 NF- κ B 激活,减轻脂质过氧化作用^[39]。另外,雌马酚(大豆异黄酮的代谢产物之一)可通过清除自由基调节一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)的作用,促进 SM 损伤家兔皮肤愈合^[35, 39]。CEES 染毒 30 min 后的 SKH-1 小鼠局部使用强抗氧化剂水飞蓟宾,可抑制 AP-1 和 NF- κ B 的活性,并降低 8-OHdG 和 4-HNE 的含量,从而减轻皮肤损伤^[40];此外,研究发现其墩果酸和莱菔硫烷能够激活 NCTC2544 细胞内的 Nrf-2 通路、增加 GSH 合成,并且作用后的细胞活力提高 3 倍多^[41]。

2.2 PARP 抑制剂 Kehe 等^[42]研究提出 SM 染毒可诱导 HaCaT 细胞凋亡,且具有 SM 剂量和时间高依赖性。实验中发现 SM (1 mmol/L) 染毒 45 min 后可明显激活细胞内 PARP-1, 6 h 后消耗细胞内 22% ATP, 加入 PARP 可逆性抑制剂 3-氨基苯甲酰胺(3 mmol/L)可直接完全抑制 ATP 耗竭,但 18 h 后不再起作用;同时研究还发现 3-氨基苯甲酰胺并不影响 SM 染毒后的细胞活力,而是改变细胞的死亡方式,即增加凋亡、减少坏死^[42]。烟酰胺等 PARP 抑制剂也能够降低 SM 毒性并减轻炎症反应,其作用机制是通过改变 DNA 的动力学过程,即阻止、延缓凋亡细胞转变为坏死细胞,进而减轻细胞毒性;但其并不能阻止 DNA 链的断裂,且保护作用与中毒严重程度有密切关系,对重度患者的治疗效果有限^[43]。最近研究提示 PARP 抑制剂 ABT-888 对 SM 损伤具有一定治疗效果,不仅在 SM 染毒鼠耳模型中观察到 ABT-888 可减轻鼠耳的水肿、表皮细胞坏死等症状;而且其作用于 SM 染毒的 HaCaT 细胞后,可减慢 NAD⁺/ATP 耗竭及减少细胞凋亡和坏死^[44]。

2.3 蛋白酶抑制剂 目前文献已经证实蛋白酶抑制剂可以通过直接抑制蛋白酶活性,达到有效降低 SM 损伤的目的^[16, 45-47]。非选择性 MMP 抑制剂伊

洛马司他(ilomastat)是目前研究较多的蛋白酶抑制剂,研究已证实伊洛马司他可通过抑制 MMP-9、MMP-2 的表达发挥抗炎作用^[45]。另外研究者发现抑肽酶(aprotinin)在减轻 SM 所导致的肺损伤方面也具有较好的效果^[46];实验中在建立 SM 肺损伤模型前 1 min 给予抑肽酶(4.4 mg/kg, 静脉注射)或伊洛马司他(25 mg/kg, 腹腔注射),均可有效地减轻肺功能损伤和病理组织学改变,而抑肽酶的效果相对更好。另外,抑肽酶还可抑制 IL-1 α 和总蛋白水平升高,而伊洛马司他可有效地抑制促炎因子 IL-13 的释放^[46]。豚鼠在经气管滴入 0.2 mg/kg SM 前 3 h 时给予多西环素(doxycycline)30 mg/kg, 24 h 后测定 MMP 活性,发现其可显著降低明胶酶活性、减轻细胞损伤及炎症反应^[47]。Kadar 等^[48]研究发现若长时间持续使用多西环素不仅可以有效减轻急性损伤,还可以减轻迟发性损伤。

2.4 抗炎药物 抗炎药物也是研究较多的一种防治药物,目前用于 SM 损伤治疗或者实验研究的抗炎药物主要有类固醇类药物和吡喹美辛等非甾体类抗炎药物。地塞米松等类固醇类药物曾被报道用于 SM 眼睛损伤的治疗,地塞米松通过降低血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、COX-2 水平及减少炎性因子、炎性细胞的过度产生缓解炎症反应;然而,考虑到此类药物的不良反应,不建议长期应用,仅在 SM 中毒后早期使用效果更好^[48-49]。Arroyo 等^[50]在细胞水平上发现,类固醇类药物 1 α -25-二羟基维生素 D₃ 不仅可以通过抑制促炎因子 IL-6 与 IL-8 的表达促进 SM 中毒皮肤的愈合,而且可以减轻 SM 皮肤损伤后的色素过度沉着,且其不良反应较类固醇激素类药物明显降低。Casillas 等^[51]在小鼠的 SM 染毒鼠耳模型上证实了吡喹美辛可抑制 COX-2, 短时间内显著减轻鼠耳水泡症状,但 72 h 后则鼠耳水肿现象改善不明显。最新研究发现一种新型的吡喹美辛类抗胆碱能的前体药 4388 不仅可通过抑制 COX 及乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AchE)的活性,而且还抑制 NM 的细胞毒性,减少创面厚度及疤痕形成;此外它还可通过抑制肥大细胞脱粒、抑制角质细胞的 iNOS、COX-2 表达及表皮细胞增殖,从而有效改善 NM 引起的急性皮肤损伤^[52]。另外, Irene 等^[53]研究发现大麻素受体 1、大麻素受体 2、过氧化物酶体

增殖物激活受体 (peroxisome proliferator-activated receptor α , PPAR α) 以及酰胺水解酶 (fatty acid amide hydrolase, FAAH) 的表达可抑制内源性大麻素 AEA 和 2-AG 的表达; 而应用 FAHH 抑制剂香草醇氨基甲酸酯可有效地缓解 SM 对小鼠皮肤的损伤, 提示了 FATT 抑制剂有望成为一种有效改善 SM 损伤的抗炎药物。

2.5 其他 除上述 4 类药物外还有多种方法可用于治疗 SM 引起的急慢性损伤, 如生物治疗方法 [表皮生长因子 (EGF)、碱性细胞成纤维因子 (bFGF)、粒细胞集落刺激因子 (G-CSF) 和干细胞治疗等]、免疫调节剂、钙离子抑制剂及益生菌等。

3 结论

综上所述, 由于 SM 能与机体内多种大分子物质发生烃化反应, 损伤器官、组织较多, 且其损伤的毒理机制极其复杂。目前尚无特效抗毒药物, 临床上主要是对症治疗, 但效果均不理想, 因此研究 SM 损伤的毒理机制及特效防治药物仍是一个艰巨的任务。SM 抗毒治疗必须采取多靶点、多方位的综合治疗方式。对于已发现的化学治疗药物, 我们可以尝试联合用药以提高药效; 同时注意新方法的探索, 如今生物治疗的研究为 SM 中毒治疗开启了一个新篇章, 将生物治疗与其他治疗方法联合应用也是一个理想的发展方向。但生物治疗也存在一定不足, 如价格昂贵、存在一定排斥反应等, 仍需进一步深入研究。

[参考文献]

- [1] GHABILI K, AGUTTER P S, GHAANEI M, ANSARIN K, PANAHY Y, SHOJA M M. Sulfur mustard toxicity: history, chemistry, pharmacokinetics, and pharmacodynamics[J]. Crit Rev Toxicol, 2011, 41: 384-403.
- [2] WATTANA M, BEY T. Mustard gas or sulfur mustard; an old chemical agent as a new terrorist threat[J]. Prehosp Disaster Med, 2009, 24: 19-29.
- [3] GRAHAM J S, SCHONEBOOM B A. Historical perspective on effects and treatment of sulfur mustard injuries[J]. Chemico Biol Interact, 2013, 206: 512-522.
- [4] DINESH G G, NEERA T, DEEPANSHI D, DILEEP K, CHAPLA A, DAVID A A, et al. Nitrogen mustard-induced corneal injury involves DNA damage and pathways related to inflammation, epithelial-stromal separation, and neovascularization [J]. Cornea, 2016, 35: 257-266.
- [5] LAWLEY P, BROOKES P. Interstrand cross-linking of DNA by difunctional alkylating agents[J]. J Mol Biol, 1967, 25: 143-160.
- [6] WANG P, ZHANG Y J, CHEN J, GUO L, XU B, WANG L, et al. Analysis of different fates of DNA adducts in adipocytes post-sulfur mustard exposure *in vitro* and *in vivo* using a simultaneous UPLC-MS/MS quantification method[J]. Chem Res Toxicol, 2015, 28: 1224-1233.
- [7] YUE L J, WEI Y X, CHEN J, SHI H Q, LIU Q, ZHANG Y J, et al. Abundance of four sulfur mustard-DNA adducts *ex vivo* and *in vivo* revealed by simultaneous quantification in stable isotope dilution-ultrahigh performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Chem Res Toxicol, 2014, 27: 490-500.
- [8] ROOS W P, KAINA B. DNA damage-induced cell death by apoptosis[J]. Trends Mol Med, 2006, 12: 440-450.
- [9] ISMAIL I H, NYSTROM S, NYGREN J, HAMMARSTEN O. Activation of ataxia telangiectasia mutated by DNA strand break-inducing agents correlates closely with the number of DNA double strand breaks[J]. J Biol Chem, 2005, 280: 4649-4655.
- [10] MANGERICH A, DEBIAK M, BIRTEL M, PONATH V, BALSZUWEIT F, LEX K, et al. Sulfur and nitrogen mustards induce characteristic poly (ADP-ribose) ation responses in HaCaT keratinocytes with distinctive cellular consequences [J]. Toxicol Lett, 2016, 244: 56-71.
- [11] 时辉宁, 应翔宇, 钟玉绪, 方厚华. 芥子气诱发细胞凋亡分子机制研究进展[J]. 军事医学科学院院刊, 2006, 30: 273-275.
- [12] LEVITT J M, LODHI I J, NGUYEN P K, NGO V, CLIFT R, HINSHAW D B, et al. Low-dose sulfur mustard primes oxidative function and induces apoptosis in human polymorphonuclear leukocytes[J]. Int Immunopharma, 2003, 3: 747-756.
- [13] DEBIAK M, KEHE K, BURKLE A. Role of poly (ADP-ribose) polymerase in sulfur mustard toxicity [J]. Toxicol, 2009, 263: 20-25.
- [14] NOURANI M R, HOSSEINI H M, FOOLADI A A. Comparative transcriptional and translational analysis of heme oxygenase expression in response to sulfur

- mustard[J]. *J Recept Signal Transduct Res*, 2015, 35: 479-484.
- [15] PAROMOV V, SUNTRES Z, SMITH M, ANDERSON D R, HOLMES W W, CONTI M L, et al. Sulfur mustard toxicity following dermal exposure: role of oxidative stress, and antioxidant therapy[J]. *J Burns Wounds*, 2007, 7: 60-85.
- [16] TAHMASBPOUR E, GHANEI M, QAZVINI A, VAHEDI E, PANAHI Y. Gene expression profile of oxidative stress and antioxidant defense in lung tissue of patients exposed to sulfur mustard[J]. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*, 2016, 800-801: 12-21.
- [17] MALAVIYA R, SUNIL V R, VENOSA A, VAYAS K N, HECK D E, LASKIN J D, et al. Inflammatory mechanisms of pulmonary injury induced by mustards[J]. *Toxicol Lett*, 2016, 244: 2-7.
- [18] 朱双双, 祝筱姬, 赵建, 钟玉绪, 杨华, 王涛, 等. 芥子气不同途径染毒致大鼠急性肺损伤的观察[J]. *中华劳动卫生职业病杂志*, 2015, 33: 685-688.
- [19] PAL A, TEWARI-SINGH N, GU M, AGARWAL C, HUANG J, DAY B J, et al. Sulfur mustard analog induces oxidative stress and activates signaling cascades in the skin of SKH-1 hairless mice[J]. *Free Radic Biol Med*, 2009, 47: 1640-1651.
- [20] DILLMAN J F, MCGARY K L, SCHLAGER J J. An inhibitor of p38 MAP kinase downregulates cytokine release induced by sulfur mustard exposure in human epidermal keratinocytes[J]. *Toxicol In Vitro*, 2004, 18: 593-599.
- [21] EMAD A, EMAD V. Elevated levels of MCP-1, MIP-1 and MIP-2 in the bronchoalveolar lavage (BAL) fluid of patients with mustard gas-induced pulmonary fibrosis[J]. *Toxicol*, 2007, 240(1/2): 60-69.
- [22] CLAUDIA K, NAGA S, ELLIOTT K. A clinically relevant *in vitro* model for evaluating the effects of aerosolized vesicants[J]. *Toxicol Lett*, 2009, 185: 38-44.
- [23] MISHRA N C, RIR-SIMA-AH J, GROTENDORST G R, LANGLEY R, SINGH S P, GUNDAVARAPU S, et al. Inhalation of sulfur mustard causes long-term T cell-dependent inflammation: possible role of Th17 cells in chronic lung pathology [J]. *Int Immunopharmacol*, 2012, 13: 101-108.
- [24] MOURET S, WARTELE J, BATAL M, EMORINE S, BERTONI M, POYOT T, et al. Time course of skin features and inflammatory biomarkers after liquid sulfur mustard exposure in SKH-1 hairless mice[J]. *Toxicol Lett*, 2014, 232: 68-78.
- [25] AWASTHI A, KUCHROO V K. Th17 cells: from precursors to players in inflammation and infection[J]. *Int Immunol*, 2009, 21: 489-498.
- [26] DACHIR S, COHEN M, SAHAR R, GRAHAM J, EISENKRAFT A, HORWITZ V, et al. Beneficial effects of activated macrophages on sulfur mustard-induced cutaneous burns, an *in vivo* experience[J]. *Cutan Ocul Toxicol*, 2014, 33: 317-326.
- [27] SHAKARJIAN M P, BHATT P, GORDON M K, CHANG Y C, CASBOHM S L, RUDGE T L, et al. Preferential expression of matrix metalloproteinase-9 in mouse skin after sulfur mustard exposure[J]. *J Appl Toxicol*, 2006, 26: 239-246.
- [28] RAY P, CHAKEABARTI A K, BROOMFIELD C A, RAY R. Sulfur mustard stimulated protease: a target for antivesicant drugs[J]. *J Appl Toxicol*, 2002, 22: 139-140.
- [29] 孟晓, 朱筱姬, 徐睿, 赵超, 连承进, 季鹏, 等. 芥子气致大鼠气管损伤的形态学研究[J]. *国际呼吸杂志*, 2014, 34: 567-572.
- [30] KEYSER B M, ANDRES D K, NEALLEY E, HOLMES W W, BENTON B, PARADISO D, et al. Postexposure application of Fas receptor small-interfering RNA to suppress sulfur mustard-induced apoptosis in human airway epithelial cells: implication for a therapeutic approach[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2013, 344: 308-316.
- [31] ZHU X J, XU R, MENG X, JI P, ZHAO C, HAN W, et al. Study on mechanism of sulfur mustard induced acute tracheal injury in rat[J]. *Chongqing Medicine*, 2014, 43: 3412-3415.
- [32] STENGER B, ZEHFUSS F, MÜCKTER H, SCHMIDT A, BALSZUWEIT F, SCHÄFER E, et al. Activation of the chemosensing transient receptor potential channel A1 (TRPA1) by alkylating agents[J]. *Arch Toxicol*, 2015, 89: 1631-1643.
- [33] SHOHRATI M, KARIMZADEH I, SABURI A, KHALILI H, GHANEI M. The role of N-acetylcysteine in the management of acute and chronic pulmonary complications of sulfur mustard: a literature review[J]. *Inhal Toxicol*, 2014, 26: 507-523.
- [34] VIJAYANV, PATHAK U, MESHRAM G P. Mutagenicity and antimutagenicity studies of DRDE-07 and its analogs against sulfur mustard in the *in vitro* Ames *Salmonella*/microsome assay[J]. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*, 2014, 773: 39-45.
- [35] VIJAYARAGHAVAN R, GAUTAM A, SHARMA M, SATISH H T, PANT S C, GANESAN K. Comparative evaluation of some flavonoids and

- tocopherol acetate against the systemic toxicity induced by sulphur mustard[J]. *Indian J Pharmacol*, 2008, 40: 114-120.
- [36] KANNAN G M, KUMAR P, BHASKAR A B, PATHAK U, KUMAR D, NAGAR D P, et al. Prophylactic efficacy of S-2 (2-aminoethylamino) ethyl phenyl sulfide (DRDE-07) against sulfur mustard induced lung toxicity in mice[J]. *Drug Chem Toxicol*, 2016, 39: 182-189.
- [37] MCGOVEM T, DAY B J, WHITE C W, POWELL W S, MARTIN J G. AEOL 10150: a novel therapeutic for rescue treatment after toxic gas lung injury[J]. *Free Radic Biol Med*, 2011, 50: 602-608.
- [38] O'NEILL H C, WHITE C W, VERESS L A, HENDRY-HOFER T B, LOADER J E, MIN E, et al. Treatment with the catalytic metalytic metalloporphyrin AEOL 10150 reduces inflammation and oxidative stress due to inhalation of the sulfur mustard analog 2-chloroethyl ethyl sulfide[J]. *Free Radic Biol Med*, 2010, 48: 1188-1196.
- [39] 邹仲敏,赵吉清,赛燕,单国蓉,蔡颖,赵远鹏,等. 美国糜烂性毒剂损伤和救治研究项目及其进展[J]. *军事医学*, 2012, 36: 460-464.
- [40] TEWARI-SINGH N, JAIN A K, INTURI S, AGARWAL C, WHITE C W, AGARWAL R, et al. Silibinin attenuates sulfur mustard analog-induced skin injury by targeting multiple pathways connecting oxidative stress and inflammation[J]. *PLoS One*, 2012, 7: e46149.
- [41] ABEL E, BUBEL J, SIMPER M, POWELL L, MCCLELLAN S A, ANDREEFF M, et al. Protection against 2-chloroethyl ethyl sulfide (CEES)-induced cytotoxicity in human keratinocytes by an inducer of the glutathione detoxification pathway[J]. *Toxicol Appl Pharm*, 2011, 255: 176-183.
- [42] KEHE K, RAITHEL K, KREPPPEL H, JOCHUM M, WOREK F, THIERMANN H, et al. Inhibition of poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) influences the mode of sulfur mustard (SM)-induced cell death in HaCaT cells[J]. *Arch Toxicol*, 2008, 82: 461-470.
- [43] 安文华,钟玉绪,应翔宇. 芥子气中毒治疗药物的研究进展[J]. *军事医学科学院院刊*, 2005, 28: 569-572.
- [44] LIU F, JIANG N, XIAO Z Y, CHENG J P, MEI Y Z, ZHENG P, et al. Effects of poly (ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) inhibition on sulfur mustard-induced cutaneous injuries *in vitro* and *in vivo* [J]. *Peer J*, 2016, 4: e1890.
- [45] WEINBERGER B, LASKIN J D, SUNIL V R, SINKO P J, HECK D E, LASKIN D L. Sulfur mustard-induced pulmonary injury: therapeutic approaches to mitigating toxicity[J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2011, 24: 92-99.
- [46] ANDERSON D R, TAYLOR S L, FETTERER D P, HOLMES W W. Evaluation of protease inhibitors and an antioxidant for treatment of sulfur mustard-induced toxic lung injury[J]. *Toxicol*, 2009, 263: 41-46.
- [47] GUIGNABERT C, TAYSSE L, CALVET J H, PLANUS E, DELAMANCHE S, GALIACY S, et al. Effect of doxycycline on sulfur mustard-induced respiratory lesions in guinea pigs[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2005, 289: L67-L74.
- [48] KADAR T, DACHIR S, COHEN L, SAHAR R, FISHBINE E, COHEN M, et al. Ocular injuries following sulfur mustard exposure-pathological mechanism and potential therapy [J]. *Toxicol*, 2009, 263: 59-69.
- [49] TEWARI-SINGH N, JAIN A K, NTURI S, AMMAR D A, AGARWAL C, TYAGI P, et al. Silibinin, dexamethasone, and doxycycline as potential therapeutic agents for treating vesicant-inflicted ocular injuries[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2012, 264: 23-31.
- [50] ARROYO C M, KAN R K, BURMAN D L, KAHLER D W, NELSON M R, CORUN C M, et al. Regulation of 1- α , 25-dihydroxyvitamin D₃ on interleukin-6 and interleukin-8 induced by sulfur mustard (HD) on human skin cells[J]. *Pharmacol*, 2003, 92: 204-213.
- [51] CASILLAS R P, KISER R C, TRUXALL J A, SINGER A W, SHUMAKER S M, NIEMUTH N A, et al. Therapeutic approaches to dermatotoxicity by sulfur mustard in Modulation of sulfur mustard-induced cutaneous injury in the mouse ear vesicant model[J]. *J Appl Toxicol*, 2000, 20: 145-151.
- [52] GABRIELLA M C, JEFFREY D L, DEBRA L L, DONALD R G, ROBERT P C, NED D H, et al. Mitigation of nitrogen mustard mediated skin injury by a novel indomethacin bifunctional prodrug[J]. *Exp Mol Pathol*, 2016, 14: 522-531.
- [53] IRENE M W, GABRIELLA M C, DIANE E H, NED D HEINDEL, JEFFREY L, CHRISTOPHE D G, et al. Mustard vesicants alter expression of the endocannabinoid system in mouse skin[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2016, 303: 30-44.