

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.11.014

FAP α 在胞外信号传递中与整合素的关系 *

田 甜¹ 温秋婷² 杨薇薇¹ 李春红¹ 郑 芳¹ 蒋淑婉¹ 李 云¹ 刘端阳¹
曲雪梅¹ 陈 鹤^{1△}

(1 哈尔滨医科大学病理教研室 黑龙江 哈尔滨 150081; 2 齐齐哈尔医学院病理诊断中心 黑龙江 齐齐哈尔 161006)

摘要 目的: 研究成纤维激活蛋白 (Fibroblast Activation Protein, FAP) 在促进卵巢癌细胞发生侵袭、迁移、增殖过程中与整合素 $\alpha 3\beta 1$ 、尿激酶型纤溶酶原激活剂受体 (uPAR) 的关系。**方法:** 1). 免疫共沉淀共同检测整合素 $\alpha 3\beta 1$ 、uPAR 在 HO-8910PM 上是否为二聚体。2). transwell 侵袭实验、迁移实验检测抑制整合素 $\alpha 3\beta 1$ 、uPAR 后, 卵巢癌细胞系 HO-8910PM 的侵袭迁移能力; 3). 抑制整合素 $\alpha 3\beta 1$ 、uPAR 后, 再给予 FAP α 对 HO-8910PM 侵袭、迁移和增殖的影响。**结果:** 1). 整合素 $\alpha 3\beta 1$ 、uPAR 在 HO-8910PM 细胞外同一个位置表达; 2). 抑制整合素 $\alpha 3\beta 1$ 能够明显抑制 HO-8910PM 的侵袭、迁移、增殖能力, 并且可以抑制 FAP 对肿瘤的作用。3). PAI-1 抑制 uPAR 后, HO-8910PM 的侵袭、迁移、增殖无明显变化, 同时对 FAP 也无明显作用。**结论:** 整合素 $\alpha 3\beta 1$ 和 uPAR 在 HO-8910PM 是一个复合体, FAP α 在细胞外是通过整合素 $\alpha 3\beta 1$ 传递信号进入细胞内而不是通过 uPAR, 整合素 $\alpha 3\beta 1$ 是通过 uPAR 与肿瘤细胞相连接。

关键词: 成纤维细胞激活蛋白 (FAP); 卵巢癌细胞系 (HO-8910PM); 整合素 $\alpha 3\beta 1$; 尿激酶型纤溶酶原激活剂受体 (uPAR)

中图分类号: R730.231 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2014)11-2058-04

The Relationship between FAP α in Extracellular Signal Transduction and Integrin*

TIAN Tian¹, WEN Qiu-ting², YANG Wei-wei¹, LI Chun-hong¹, ZHENG Fang¹, JIANG Shu-wan¹, LI Yun¹,

LIU Duan-yang¹, QU Xue-mei¹, CHEN He^{1△}

(1 Department of Pathology, Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150081, China;

2 The center of pathological diagnosis, Qiqihar Medical university, Qiqihar, Heilongjiang, 161006, China)

ABSTRACT Objective: To study the relationship of integrin $\alpha 3\beta 1$, urokinase-type plasminogen activator receptor (uPAR) and fibroblast activation protein (Fibroblast Activation Protein, FAP) in promoting invasion, migration, proliferation of ovarian cancer cells. **Methods:** 1) Co-immunoprecipitation was used to detected to whether integrin $\alpha 3\beta 1$ uPAR was a trimer of HO-8910PM; 2) Transwell invasion assay, migration assay and MTT assay were to detect the impact on the invasion, migration and proliferation of HO-8910PM, which imposed by inhibition of integrin $\alpha 3\beta 1$, uPAR alone and with combined effects of FAP; 3) Inhibition of integrin $\alpha 3\beta 1$, uPAR, and then give FAP α on HO-8910PM invasion, migration and proliferation. **Results:** 1) Integrin $\alpha 3\beta 1$, uPAR in HO-8910PM expression of extracellular same position; 2) Inhibiting integrin $\alpha 3\beta 1$ can inhibit HO-8910PM invasion, migration, proliferation, and can inhibit the FAP α function; 3) PAI-1 inhibition of uPAR, the ability of HO-8910PM invasion, migration, proliferation reduced and didn't have any significant changes on the FAP α function. **Conclusions:** Integrin $\alpha 3\beta 1$ and uPAR in HO-8910PM is a complex, FAP α in the extracellular pass through integrin $\alpha 3\beta 1$ signal into the cell rather than through uPAR, integrins $\alpha 3\beta 1$ by uPAR connected with tumor cells.

Key words: Fibroblast activation protein (FAP); Ovarian cancer cell line (HO-8910PM); Integrin $\alpha 3\beta 1$, urokinase-type plasminogen activator receptor (uPAR)

Chinese Library Classification: R730.231 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)11-2058-04

前言

肿瘤的侵袭和转移是一个多步骤的过程, 主要包括细胞的黏附、细胞外基质 (extracellular matrix ECM) 的降解和细胞转移 3 个步骤。

整合素介导着细胞与细胞之间的黏附, 是肿瘤发生侵袭转

移的前提, 同时又有一些降解细胞外基质的蛋白水解酶的参与, 将细胞外基质降解, 从而利于肿瘤细胞发生侵袭和转移^[1]。成纤维细胞激活蛋白 (fibroblast activatin protein, FAP) 作为一种丝氨酸蛋白酶, 可以水解基质中许多底物、降解 ECM, 利于肿瘤细胞从原发部位脱离, 从而促进肿瘤的侵袭和转移^[2]。uPA 是一种多功能丝氨酸蛋白酶, 它与肿瘤细胞表面特异性受体

* 基金项目: 黑龙江省自然科学基金 (D201049)

作者简介: 田甜 (1980-), 女, 讲师, 研究方向: 肿瘤转移和侵袭

△ 通讯作者: 陈鹤, 电话: 18245161892, Email: chenhe_2008@aliyun.com

(收稿日期: 2013-09-23 接受日期: 2013-10-18)

uPAR 结合后被激活使其在细胞表面的浓度大大提高,从而可以非特异性地溶解 ECM 和基膜中的蛋白,破坏 ECM 和基膜,而促进肿瘤细胞向远处转移^[3]。

FAP α 是如何发挥其细胞外信号转导作用的机制尚不清楚。整合素 $\alpha 3\beta 1$ 的 $\alpha 3$ 链可与 uPAR 相互粘着^[4,5]。因此,推测通过 $\alpha 3$ 链将整合素 $\beta 1$ 与 FAP, uPAR 联结在一起,通过粘着、蛋白水解、信号转导三个步骤来发挥 FAP α 其促肿瘤侵袭、迁移、增殖的作用。

1 材料与方法

1.1 材料

高转移性卵巢癌细胞系 HO-8910PM (中科院上海生物科学研究所细胞库)FAP α (台湾 Abnova 公司),整合素 $\alpha 3$ 抗体(美国 Santa 公司)整合素 $\beta 1$ 抗体(美国 Santa 公司)PAI-1(美国 PeproTech 公司)uPAR 抗体(美国 PeproTech 公司)

1.2 方法

1.2.1 免疫共沉淀反应 卵巢癌细胞系 HO-8910PM, 加入裂解液,离心取上清。分别加入抗整合素 $\alpha 3$ 抗体、抗整合素 $\beta 1$ 抗体、抗 uPAR 的抗体 4℃ 过夜,加入蛋白 G 4 h,离心去上清后,用 RIPA 洗沉淀,加入 loading buffer 后煮沸,离心后电泳,转膜,封闭 1 h, 加入抗 uPAR 抗体、抗整合素 $\alpha 3$ 和整合素 $\beta 1$ 的抗体,4℃ 过夜孵育后, TBST 洗膜,加入相应二抗,37℃ 1 h,洗膜,western blot 避光显色。

1.2.2 迁移实验 HO-8910PM 细胞胰酶消化, 加入 transwell 小室上室, 下室加入 800 μ l 10%FBS RPMI 1640 完全培养基。实验分为 6 组:(a) 空白对照组 (b)FAP α 组对照 (c) 整合素 $\alpha 3\beta 1$ 抗体对照组(d)PAI-1(uPAR 抑制剂)组(e)整合素 $\alpha 3\beta 1$ 抗体 +FAP α 组(f)PAI-1+FAP α 组, 置于 37℃ 孵育 48 小时。取出小室乙醇固定,苏木素染色,用棉棒擦拭掉小室上面未穿过的细胞,显微镜观察统计结果。

1.2.3 侵袭实验 Matrigel 基质胶按 1:15 与无血清培养基稀释,铺在 transwell 小室膜上,放入孵箱内平衡 5 小时。与步骤同上迁移实验。

1.2.4 MTT 增殖试验 96 孔板接种 HO-8910PM 细胞,实验分成 6 组(分组同前)每孔加入各种试剂 20 μ l 37℃ 孵育 4h。加入 DMSO,摇床振荡酶联免疫检测仪的 OD490nm 处测量吸光值。

1.3 统计学分析

统计分析应用 SPSS 统计软件, 两两比较采用 Two-tailed 检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 免疫共沉淀验证整合素 $\alpha 3$ 、整合素 $\beta 1$ 、uPAR 的相互关系

结果表明用整合素 $\alpha 3$ 、整合素 $\beta 1$ 、uPAR 其中一种抗体免疫共沉淀, Western blotting 均能检测到免疫复合物中含有整合素 $\alpha 3$ 、整合素 $\beta 1$ 、uPAR 蛋白。

2.2 Transwell 迁移实验检测整合素 $\alpha 3\beta 1$ 、uPAR、FAP 对 HO-8910PM 迁移能力的影响

FAP 可以明显促进肿瘤细胞的迁移作用(如图 4B);整合素 $\alpha 3\beta 1$ 能够明显抑制肿瘤细胞的迁移作用(P<0.0001)(如图 4C);整合素 $\alpha 3\beta 1$ 能够抑制 FAP 对肿瘤细胞的促迁移作用(如

图 4D);PAI-1 对肿瘤细胞迁移能力无明显影响(如图 4E);PAI-1 对 FAP 促迁移能力的影响不明显(如图 4F)。

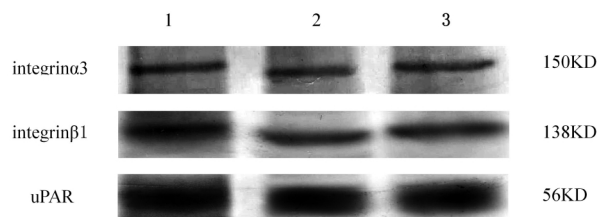


图 1 整合素 $\alpha 3$ 、整合素 $\beta 1$ 、uPAR 免疫共沉淀

Fig.1 Integrin $\alpha 3$, integrin $\beta 1$, uPAR co-immunoprecipitation

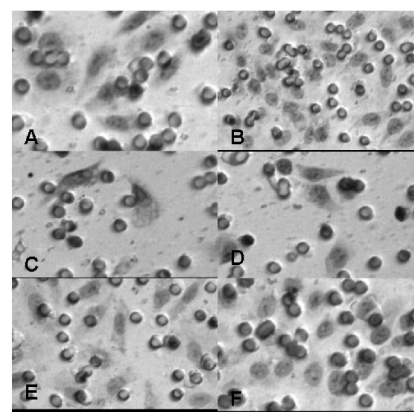


图 2 整合素 $\alpha 3\beta 1$ 、uPAR、FAP、PAI-1 对 HO-8910PM 迁移能力的影响($\times 400$)

(A-F 分别为对照组、FAP、整合素 $\alpha 3\beta 1$ 、整合素 $\alpha 3\beta 1$ +FAP、PAI-1、PAI-1+FAP)

Fig.2 Effect of integrin $\alpha 3\beta 1$, uPAR, FAP, PAI-1 on migration ability of HO-8910PM cells($\times 400$)

(A-F: control group, FAP, integrin $\alpha 3\beta 1$, integrin $\alpha 3\beta 1$ +FAP, PAI-1, PAI-1+ FAP)

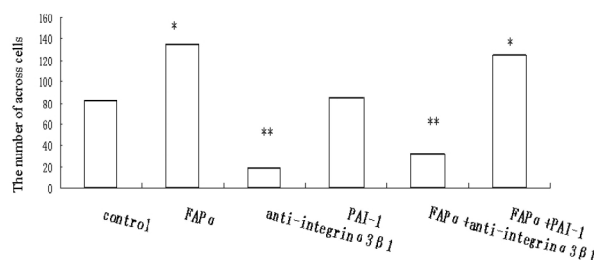


图 3 整合素 $\alpha 3\beta 1$ 、uPAR、FAP、PAI-1 对 HO-8910PM 迁移能力的影响 *P<0.05, ** P<0.01

Fig.3 Effect of integrin $\alpha 3\beta 1$, uPAR, FAP, PAI-1 on migration ability of HO-8910PM cells *P<0.05, ** P<0.01

统计学分析 FAP α 可促进细胞的迁移(*P<0.05)、整合素 $\alpha 3\beta 1$ 抗体及 FAP α 与整合素 $\alpha 3\beta 1$ 抗体联合可显著减少细胞的迁移(**P<0.01);PAI-1 及 PAI-1 与 FAP 联合组均无明显统计学意义(见图 3)。

2.3 Transwell 侵袭实验检测整合素 $\alpha 3\beta 1$ 、uPAR、FAP 对 HO-8910PM 侵袭能力的影响

结果显示,FAP α 可以明显促进肿瘤细胞的侵袭作用(如图 4A);整合素 $\alpha 3\beta 1$ 抗体能够明显抑制肿瘤细胞的侵袭作用(如图 4C);整合素 $\alpha 3\beta 1$ 能够抑制 FAP 对肿瘤细胞的促侵袭作用(如图 4D);PAI-1 对肿瘤细胞的侵袭能力影响不明显(如图 4E);PAI-1 对 FAP 的促侵袭能力影响不明显(如图 4F)。

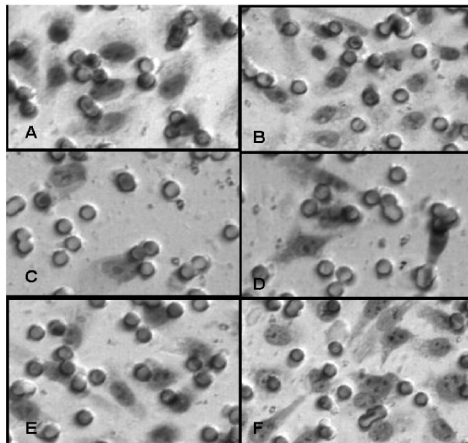


图4 整合素 $\alpha 3\beta 1$ 、uPAR、FAP、PAI-1 对 HO-8910PM 侵袭能力的影响($\times 400$)

(A-F 对照组、FAP α 、整合素 $\alpha 3\beta 1$ 、整合素 $\alpha 3\beta 1$ +FAP、PAI-1、PAI-1+FAP)

Fig. 4 Effect of different drugs on invasion ability of HO-8910PM cells($\times 400$)

(A-F control group, FAP α , integrin $\alpha 3\beta 1$, integrin $\alpha 3\beta 1$, FAP, PAI-1, PAI-1 FAP)

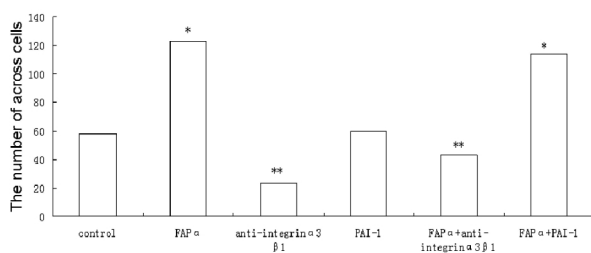


图5 整合素 $\alpha 3\beta 1$ 、uPAR、FAP、PAI-1 对 HO-8910PM 侵袭能力的影响 * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

Fig. 5 integrin $\alpha 3\beta 1$, uPAR, FAP, PAI-1 on HO-8910PM Invasion of the comparison * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

3 讨论

FAP α 的 β 螺旋区作为一个中间桥梁,介导着 FAP 与整合素 α 之间的连接。另外还有报道表明^[6,7],整合素通过其 β 螺旋区与 uPAR 相连接,发挥其细胞外信号传导作用。以上一系列的研究,将 FAP 与整合素及 uPAR 联系到一起,为我们研究 FAP 促侵袭、迁移、增殖的机制提供了有力的依据。

FAP 可以明显促进卵巢癌 HO-8910PM 的迁移和侵袭,并具有浓度依赖性,但是 FAP 是如何发挥其促进作用的机制尚不清楚^[8]。

本实验证实,整合素 $\alpha 3$ 、整合素 $\beta 1$ 与 uPAR 在卵巢癌细胞系表达在同一位置,用其中一个抗体免疫沉淀,均可以检测到另两种蛋白的存在,充分证实整合素 $\alpha 3\beta 1$ 与 uPAR 是一个三聚体。然后我们又对 FAP 促进卵巢癌细胞系 HO-8910PM 发生侵袭、迁移、增殖的机制做了进一步的研究,分别采用了 transwell 侵袭实验、迁移实验。

结果发现,抑制整合素 $\alpha 3\beta 1$ 后可以明显抑制卵巢癌细胞的侵袭、迁移、增殖能力,与对照组相比有统计学意义(P 值均 < 0.01),并且整合素 $\alpha 3\beta 1$ 受到抑制后,FAP 对卵巢癌的促

侵袭、迁移及增殖能力也有所减弱,与 FAP 对照组相比有统计学意义(P 值均 < 0.01),由此可以证实 FAP 在促进卵巢癌发生侵袭、迁移、增殖过程中是通过其 β 螺旋区与整合素的 β 螺旋区相联结来实现的。国外也有一些关于整合素 $\beta 1$ 在多种恶性肿瘤的侵袭迁移过程的作用的报道,研究发现,整合素 $\beta 1$ 的表达与非小细胞肺癌的淋巴结转移密切相关,整合素 $\beta 1$ 表达阳性的癌细胞侵袭迁移能力也随之增强^[9-11]。同时也有研究发现^[12,13],给予整合素 $\beta 1$ 抗体后,可明显抑制肿瘤细胞对胶原蛋白 IV 的黏附,而胶原蛋白 IV 是细胞外基质的重要组成部分,说明整合素 $\beta 1$ 在肿瘤细胞与细胞外基质的黏附过程中是必不可少的。从而为肿瘤细胞发生转移提供了有利条件。整合素在多种恶性肿瘤的表达情况都可以作为较好的诊断指标,对肿瘤的早期诊断预后的评估有重要的意义^[14,15]。

Raqhu 等报道^[16] uPAR 最先在乳腺癌的研究中被发现,在乳腺癌中表达水平发生变化,并对乳腺癌的辅助化疗,内分泌治疗效果有预测意义,针对它的靶向治疗也在研究中。在研究 uPA 与前列腺癌的关系中发现^[17],uPA 系统与前列腺癌的分期、分级和转移紧密相关,在前列腺癌患者循环血中检测 uPA 的表达时发现,术前 uPA 水平与 T-PSA、Gleason 总分、临床分期都对前列腺癌有独立的预后作用。uPA/uPAR 还可以作为诊断和筛查小细胞肺癌的指标^[18],其高表达活性不仅与癌细胞侵袭能力相关,而且还和癌细胞的耐药有关。uPA 系统在胃肠道肿瘤中的检测提示^[19],uPA 与肿瘤分级分期相关,并能够提示癌前病变的危险程度,可能与其预后密切相关。目前关于 uPA 系统与卵巢癌侵袭、迁移及预后的关系还有待于进一步研究^[20]。

在此基础上,我们又在 HO-8910PM 细胞系中加入了 uPAR 的生理性抑制剂 PAI-1 发现,高侵袭卵巢 HO-8910PM 细胞系发生侵袭、迁移、增殖的作用没有明显减弱,与不加药前 HO-8910PM 的侵袭、迁移能力比较没有统计学意义($P > 0.05$),又将 FAP 蛋白和 PAI-1 同时加入到高侵袭卵巢癌细胞系 HO-8910PM 中,发现 PAI-1 并不能抑制 FAP 对肿瘤的促侵袭、迁移及增殖的作用,仅仅表现出 FAP 促 HO-8910PM 细胞侵袭、迁移的能力,无统计学意义($P > 0.05$)。

我们证实,在卵巢癌细胞的促迁移过程中,整合素 $\alpha 3\beta 1$ 与 uPAR 共同作用,将细胞外信号,穿入细胞内,或者将细胞内信号穿入细胞外,介导肿瘤细胞的迁移。

本实验可以推断,整合素 $\alpha 3\beta 1$ 与 uPAR 是一个复合体,FAP 作用于整合素 $\alpha 3\beta 1$,通过 uPAR 介导细胞外信号,将细胞信号传入细胞内,从而发挥对卵巢癌的促迁移作用。

参考文献(References)

- [1] Trulsson M, Yu H, Gisselsson L, et al. HAMLET Binding to α -Actinin Facilitates Tumor Cell Detachment[J]. PLoS One, 2011, 6(3):171-179
- [2] Cheng JD, Dunbrack RL Jr, Valianou M, et al. Promotion of tumor growth by murine fibroblast activation protein, a serine protease, in an animal model[J]. Cancer Res, 2002, 62(16):4767-4772
- [3] Crippa MP. Urokinase-type plasminogen activator [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2007, 39(4):690-698
- [4] Yano H, Mazaki Y, Kurokawa K. Roles played by a subset of integrin- signaling molecules in cadherin-based cell-cell adhesion [J]. The Journal of Cell, 2009, (2):61-66

- [5] David A, Fishman, Yueying Liu, et al. Lyso- phosphatidic acid pro-motes matrix metalloproteinase (MMP) activation and MMP-2 depend invasion in ovarian cancer cells [J].Cancer Res, 2001,61(7): 3194-3199
- [6] Zhang F, Tom CC, Kugler MC, et al. Distinct ligand binding sites in integrin $\alpha 3\beta 1$ regulate matrix adhesion and cell-cell contact [J]. Cell Biol, 2003,163(1):177-188
- [7] Chen X, Liu S, Hou Y. Micro PET imaging of breast cancer alphav-integrin expression with 64 Cu-labeled dimeric RGD peptides[J]. Mol Imaging Biol, 2004, 6(5):350-359
- [8] Xie H, Diagaradjane P, Deorukhkar AA, et al. Integrin $\alpha (v)\beta (3)$ -targeted gold nanoshells augment tumor vasculature-specific imaging and therapy[J]. Nanomedicine, 2011, 6:259-269
- [9] Kim M, Carman CV, Springer TA. Biodirectional transmembrane signaling by cytoplasmic domain separation in integrins[J].Science, 2003, 301(5640):1720-1728
- [10] He Chen, Wei-Wei Yang, Qiu-Ting Wen, et al. TGF- β - induced increases the proliferation, adhesion, and migration of HO-8910PM [J]. 2009,87(3):189-194
- [11] Rettig WJ, Garin-Chesa P, Beresford HR, et al. Cell-surface glycoproteins of human sarcomas: differential expression in normal and malignant tissues and cultured cells [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 85(9):3110-3124
- [12] Jeong SJ, Luo R, Singer K, et al. GPR56 Functions Together with $\alpha 3\beta 1$ Integrin in Regulating Cerebral Cortical Development[J]. PLoS One, 2013, 8(7):e68781
- [13] Park CC, Zhang H, Pallavicini M, et al. Beta1 integrin inhibitory antibody induces apoptosis of breast cancer cells, inhibits growth, and distinguishes malignant from normal phenotype in three dimensional cultures and in vivo [J].Cancer Res, 2006,66 (3): 1526-1535
- [14] Nakada M, Nambu E, Furuyama N, et al. Integrin $\alpha 3$ is overexpressed in glioma stem-like cells and promotes invasion [J]. Br J Cancer, 2013, 108(12):2516-2524
- [15] Chen X, Liu S, Hou Y. Micro PET imaging of breast cancer alphav-integrin expression with 64 Cu-labeled dimeric RGD peptides[J]. Mol Imaging Biol, 2004,6(5):350-359
- [16] Raghu H, Sodadasu PK, Malla RR, et al. Localization of uPAR and MMP-9 in lipid rafts is critical for migration, invasion and angiogenesis in human breast cancer cells [J]. BMC Cancer, 2010,2 (4):620-647
- [17] Gregory KJ, Zhao B, Bielenberg DR, et al. Vitamin D binding protein-macrophage activating factor directly inhibits proliferation, migration, and uPAR expression of prostate cancer cells [J]. PLoS One, 2010,5(10):e13428
- [18] Gutova M, Najbauer J, Gevorgyan A, et al. Identification of uPARpositive chemoresistant cells in small cell lung cancer[J]. PLoS One, 2007, 2(2):243-252
- [19] Almasi CE, Brasso K, Iversen P, et al. Prognostic and predictive value of intact and cleaved forms of the urokinase plasminogen activator receptor in metastatic prostate cancer [J]. Prostate, 2011, 71 (8):899-907
- [20] Crippa MP. Urokinase-type plasminogen activator [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2007, 39(4):690-698

(上接第 2051 页)

- [19] Taniguchi S, Kang L, Kimura T, Niki I. Hydrogen sulphide protects mouse pancreatic beta-cells from cell death induced by oxidative stress, but not by endoplasmic reticulum stress [J]. Br J Pharmacol, 2011, 162(5):1171-1178
- [20] Sivarajah A, Collino M, Yasin M, et al. Anti-apoptotic and anti-inflammatory effects of hydrogen sulfide in a rat model of regional myocardial I/R [J]. Shock, 2009, 31(3):267-274
- [21] Zhuo Y, Chen PF, Zhang AZ, et al. Cardioprotective effect of hydrogen sulfide in ischemic reperfusion experimental rats and its influence on expression of survivin gene [J]. Biol Pharm Bull, 2009, 32(8): 1406-1410
- [22] Neff TA, Guo RF, Neff SB, et al. Relationship of acute lung inflammatory injury to Fas/FasL system [J]. Am J Pathol, 2005, 166(3): 685-694
- [23] Pan G, O'Rourke K, Dixit VM. Caspase-9, Bcl-XL, and Apaf-1 form a ternary complex [J]. J Biol Chem, 1998, 273(10):5841-5845
- [24] Adams JM, Cory S. The Bcl-2 protein family: arbiters of cell survival [J]. Science, 1998, 281(5381):1322-1326
- [25] Li L, Salto-Tellez M, Tan CH, et al. GYY4137, a novel hydrogen sulfide-releasing molecule, protects against endotoxic shock in the rat [J]. Free Radic Biol Med, 2009, 47(1):103-113
- [26] Rossoni G, Sparatore A, Tazzari V, et al. The hydrogen sulphide-releasing derivative of diclofenac protects against ischaemia-reperfusion injury in the isolated rabbit heart [J]. Br J Pharmacol, 2008, 153 (1):100-109
- [27] Sidhapuriwala J, Li L, Sparatore A, Bhatia M, et al. Effect of S-diclofenac, a novel hydrogen sulfide releasing derivative, on carrageenan-induced hindpaw oedema formation in the rat [J]. Eur J Pharmacol, 2007, 569(1-2):149-154