

右美托咪定对子宫内膜癌细胞增殖、凋亡及 Wnt/ β -catenin 通路的影响

王艳青, 张鑫淼

河北生殖妇产医院 麻醉科, 河北 石家庄 050000

摘要:目的 探究右美托咪定对子宫内膜癌细胞增殖、凋亡及 Wnt/ β -连环蛋白(β -catenin)通路的影响。方法 将 Ishikawa、RL95-2 细胞分为对照组, 右美托咪定 1、10、100 nmol/L 组, 右美托咪定(100 nmol/L)+LiCl 组。CCK-8 法和 EdU 检测细胞增殖, 流式细胞术检测细胞凋亡, Western blotting 检测增殖细胞核抗原(PCNA)、B 淋巴细胞瘤-2 蛋白(Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)、 β -连环蛋白(β -catenin)、c-Myc 基因(c-Myc)、细胞周期蛋白 D1(Cyclin D1)表达水平。构建子宫内膜癌裸鼠模型, 分为对照组、右美托咪定组、右美托咪定+LiCl 组, 测量肿瘤质量与体积, 苏木精-伊红(HE)染色观察移植瘤组织形态, 免疫组化法检测移植瘤组织 Ki-67、 β -catenin 蛋白表达。结果 与对照组相比, 不同浓度右美托咪定处理后 Ishikawa、RL95-2 细胞吸光度(A)值、EdU 阳性细胞率、迁移细胞数、侵袭细胞数、PCNA、Bcl-2、 β -catenin、c-Myc、Cyclin D1 蛋白表达显著降低, 凋亡率、Bax 表达上升($P < 0.05$); 与右美托咪定 100 nmol/L 组相比, 右美托咪定+LiCl 组 A 值、EdU 阳性细胞率、迁移细胞数、侵袭细胞数、PCNA、Bcl-2、 β -catenin、c-Myc、Cyclin D1 蛋白表达显著升高, 凋亡率、Bax 表达下降($P < 0.05$)。右美托咪定能抑制移植瘤质量和体积, 促进肿瘤凋亡, 降低 β -catenin、Ki-67 蛋白表达($P < 0.05$); LiCl 能逆转右美托咪定对移植瘤的抑制作用($P < 0.05$)。结论 右美托咪定能抑制子宫内膜癌细胞增殖, 促进凋亡, 其作用机制可能与抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路有关。

关键词: 子宫内膜癌; 右美托咪定; 增殖; 凋亡; 细胞核抗原; 细胞周期蛋白 D1; Wnt/ β -连环蛋白通路

中图分类号: R965 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2023)12-2929-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2023.12.004

Impacts of dexmedetomidine on proliferation, apoptosis, and Wnt/ β -catenin pathway of endometrial cancer cells

WANG Yan-qing, ZHANG Xin-miao

Department of Anesthesiology, Hebei Maternity Hospital, Shijiazhuang 050000, China

Abstract: Objective To investigate the impacts of dexmedetomidine on the proliferation, apoptosis, and Wnt/ β -catenin pathway of endometrial cancer cells. **Methods** Ishikawa and RL95-2 cells were divided into control group, dexmedetomidine 1, 10, 100 nmol/L, and dexmedetomidine (100 nmol/L) + LiCl group. CCK-8 method and EdU were applied to detect cell proliferation, flow cytometry was applied to detect cell apoptosis, Western blotting was applied to detect the expression levels of PCNA, Bcl-2, Bax, β -catenin, c-Myc, and cyclin D1. An endometrial cancer nude mice model was constructed and divided into control group, dexmedetomidine group, and DEX + LiCl group, the mass and volume of the tumor are measured, HE staining was applied to observe the morphology of transplanted tumor tissue, immunohistochemical methods were applied to detect the expression of Ki-67 and β -catenin proteins in transplanted tumor tissue. **Results** Compared with control group, the A value, EdU positive cell rate, migration cell number, invasion cell number, PCNA, Bcl-2, β -catenin, c-Myc, and Cyclin D1 protein expression of Ishikawa and RL95-2 cells were obviously reduced after treatment with different concentrations of dexmedetomidine, the apoptosis rate and Bax expression increased ($P < 0.05$). Compared with dexmedetomidine 100 nmol/L group, the A value, EdU positive cell rate, migration cell number, invasion cell number, PCNA, Bcl-2, β -catenin, c-Myc, and Cyclin D1 protein expression in dexmedetomidine + LiCl group obviously increased, the apoptosis rate and Bax expression decreased ($P < 0.05$). Dexmedetomidine was able to inhibit the mass and volume of transplanted tumors, promote tumor apoptosis, and reduce the expression of β -catenin and Ki-67 proteins ($P < 0.05$), LiCl reversed the inhibitory effect of dexmedetomidine on transplanted tumors ($P < 0.05$). **Conclusion** Dexmedetomidine can inhibit proliferation and promote apoptosis

收稿日期: 2023-10-02

基金项目: 石家庄市科学技术研究与发展计划项目(211200883)

作者简介: 王艳青, 女, 主治医师, 本科, 研究方向为临床麻醉。E-mail: wyq8510@sina.com

of endometrial cancer cells, and its mechanism of action may be related to the inhibition of the Wnt/ β -catenin signaling pathway.

Key words: endometrial cancer; dexmedetomidine; proliferation; apoptosis; PCNA; Cyclin D1; Wnt/ β -catenin pathway

子宫内膜癌是常见的女性生殖恶性肿瘤,起源于子宫内膜上皮,具有较高的发病率和死亡率^[1]。尽管大多数子宫内膜癌患者通过手术、放疗、化疗和激素等综合治疗得到有效控制,但晚期或转移性子宫内膜癌患者的预后仍然很差。因此,对子宫内膜癌发生和发展的机制进行深入探索,有助于早期预防、诊断和治疗该疾病。右美托咪定是一种 α_2 -肾上腺素受体激动剂,临床上主要用作镇静、镇痛剂。右美托咪定在肿瘤细胞的生长、增殖和凋亡中起重要作用,能抑制食管癌^[2]、胃癌^[3]细胞的增殖。因此,猜测右美托咪定在子宫内膜癌的增殖、凋亡中发挥作用。Wnt/ β -连环蛋白(β -catenin)通路在细胞分化、增殖、存活和迁移等多种生物过程中起着关键作用。研究发现,Wnt/ β -catenin 信号通路在癌症中也起重要作用,与妇科恶性肿瘤的发生发展关系密切,在子宫内膜癌中激活 Wnt/ β -catenin 途径能促进其细胞增殖、迁移、侵袭^[4]。此外,右美托咪定已被证实可通过抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路抑制卵巢癌生长^[5]。而右美托咪定能否通过调节 Wnt/ β -catenin 信号通路影响子宫内膜癌细胞增殖、凋亡尚不清楚,本研究对此进行探讨。

1 材料与方法

1.1 细胞与动物

人子宫内膜癌细胞系:Ishikawa、RL95-2 购自武汉普诺赛生命科技有限公司。

雌性 BALB/c 裸鼠,体质量 16~18 g,4~6 周龄,购自武汉贝赛模式生物科技有限公司,生产许可证号 SCXK(鄂)2022-0029,实验伦理批准单位为河北生殖妇产医院(伦理批号 202204X-009)。

1.2 主要试剂与仪器

盐酸右美托咪定氯化钠注射液(批号 20210623,规格 20 mL,四川国瑞药业有限责任公司);胰蛋白酶、胎牛血清(FBS)、DMEM 培养基(货号 15400054、16140089、10569010,美国 Gibco 公司);Wnt/ β -catenin 通路激活剂-氯化锂(LiCl,货号 BLL-Ry12317,上海佰利莱生物科技有限公司);CCK-8 检测试剂盒、AnnexinV-FITC/PI 检测试剂盒(货号 C0037、C1062M,上海碧云天公司);5-乙炔基-2'-脱氧尿苷(EdU)试剂盒(货号 IE2300,北京索莱宝公司);一抗增殖细胞核抗原(PCNA)、B 淋巴

细胞瘤-2 蛋白(Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)、 β -连环蛋白(β -catenin)、c-Myc 基因(c-Myc)、细胞周期蛋白 D1(Cyclin D1)、Ki-67 和甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体(货号 ab92552、ab32124、ab243140、ab246504、ab185656、ab134175、ab231172、ab8245,美国 Abcam 公司);二抗山羊抗兔 IgG-HRP(货号 sc-2748,美国 Santa 公司)。

FACSCanto II 流式细胞仪(美国 BD 公司);Axio Observer A1 光学倒置显微镜(德国 Zeiss 公司);1658033 蛋白电泳仪(美国 Bio-rad 公司);DNM-9602 全自动酶标仪(上海巴玖公司)。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养与分组 将 Ishikawa、RL95-2 细胞在添加 10% PBS 的 DMEM 培养基中培养,并置于 37 °C、含 5% CO₂ 培养箱中,当细胞复苏至 80% 时,胰蛋白酶消化传代,2~3 d 传代 1 次。将细胞分为对照组,右美托咪定 1、10、100 nmol/L 组,以及右美托咪定+LiCl 组。其中右美托咪定 1、10、100 nmol/L 组细胞参照文献报道^[5],分别选用 1、10、100 nmol/L 右美托咪定进行培养;右美托咪定+LiCl 组细胞用 100 nmol/L 右美托咪定和 10 mmol/L LiCl^[6]培养。

1.3.2 CCK-8 法检测细胞活性 将各组细胞加入 96 孔板中,每孔 1×10^4 个细胞,培养 24 h,每组 3 个重复,每孔加入 10% CCK-8 溶液(10 μ L)在 37 °C 孵育 2 h,酶标仪于 450 nm 处测量吸光度(A)值。

1.3.3 EdU 检测细胞增殖 将各组细胞加入 96 孔板中,每孔 1×10^4 个细胞,培养 24 h 后按照 EdU 染色试剂盒进行操作,并用 DAPI 核染,观察 EdU 阳性细胞率。

1.3.4 流式细胞术检测细胞凋亡 将各组细胞加入 6 孔板中,每孔 1×10^7 个细胞,培养 12 h,按照 AnnexinV-FITC/PI 细胞凋亡双染试剂盒说明书逐步进行染色,用流式细胞仪检测细胞凋亡。

1.3.5 Transwell 小室实验检测细胞迁移和侵袭 取各组细胞悬浮液 100 μ L (1×10^5 个/mL)接种于 Transwell 小室上室,其中侵袭实验 Transwell 小室涂有基质胶,迁移实验 Transwell 小室未涂基质胶,下室加入含有 10% FBS 的 DMEM 培养基,在 37 °C、5% CO₂ 中培养 24 h。弃去上室培养基,擦

去上室细胞后, PBS 洗涤、固定染色, 显微镜下随机选取 5 个视野计算穿膜细胞数。

1.3.6 Western blotting 检测蛋白表达 将各组细胞破碎后提取总蛋白, 定量后按步骤将蛋白 SDS-PAGE 电泳、转膜, 5%脱脂奶粉封闭 2 h, 在 4 ℃ 下加入一抗 PCNA、Bcl-2、Bax、 β -catenin、c-Myc、Cyclin D1、GAPDH 过夜孵育, 清洗, 在 4 ℃ 下加入二抗山羊抗兔 IgG (1:2000), 孵育 2 h。用 ECL 发光显影, 观察拍照, 各条带灰度值用 Image J 软件处理分析。

1.3.7 体内肿瘤形成实验 将 24 只 BALB/c 裸鼠用于体内实验, 适应性饲养 1 周后, 在右腋下注射 1×10^5 个 (200 μ L) Ishikawa 细胞构建子宫内膜癌裸鼠模型, 根据成瘤情况将小鼠随机分为对照组、右美托咪定组、右美托咪定+LiCl 组, 每组 8 只。当肿瘤体积达到 100 mm³ 时^[7]开始给药, 右美托咪定组 ip 5.0 μ g/kg 右美托咪定^[8], 右美托咪定+LiCl 组 ip 5.0 μ g/kg 右美托咪定和 20 mmol/kg LiCl^[9], 对照组给予相同剂量的生理盐水, 1 次/d, 连续 21 d。处死小鼠分离肿瘤, 测量肿瘤质量与体积。

1.3.8 苏木精-伊红(HE)染色和免疫组化法观察移植瘤组织 取裸鼠瘤组织, 固定于 4%多聚甲醛中, 石蜡包埋, 切片 (5 μ m) 后用 HE 染色, 在光学显微镜下观察。另取裸鼠瘤组织石蜡切片, 封闭

和透化后, 使用抗 Ki-67、 β -catenin (1:1000) 抗体孵育过夜, 与二抗 (1:1000) 在 37 ℃ 下孵育 1 h。洗涤完成后, DAB 显色, 封片观察, 使用 Imagepro Plus 6.0 分析 Ki-67、 β -catenin 阳性细胞率。

1.4 统计学分析

数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析, 多组间比较用单因素方差分析, 两两比较采用 SNK-q 检验, 当 $P < 0.05$ 时则为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 右美托咪定对细胞增殖能力的影响

与对照组相比, 右美托咪定 1、10、100 nmol/L 组 Ishikawa、RL95-2 细胞 A 值、EdU 阳性细胞率显著降低 ($P < 0.05$), 说明右美托咪定可以抑制 Ishikawa、RL95-2 细胞的增殖; 与右美托咪定 100 nmol/L 组相比, 右美托咪定+LiCl 组细胞 A 值、EdU 阳性细胞率显著升高 ($P < 0.05$), 见图 1、2 和表 1。

2.2 右美托咪定对细胞凋亡的影响

与对照组相比, 右美托咪定 1、10、100 nmol/L 组 Ishikawa、RL95-2 细胞凋亡率显著升高 ($P < 0.05$); 与右美托咪定 100 nmol/L 组相比, 右美托咪定+LiCl 组细胞凋亡率显著降低 ($P < 0.05$), 见图 3、表 2。

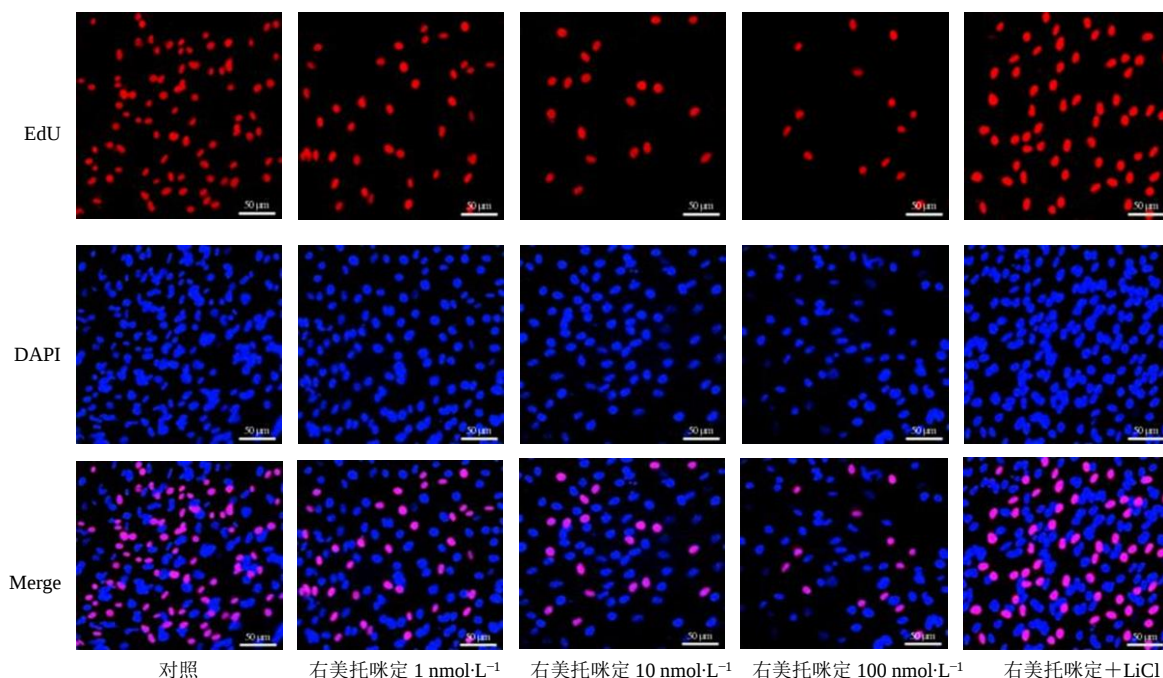


图 1 EdU 检测各组 Ishikawa 细胞增殖情况 (×200)

Fig. 1 EdU detection of Ishikawa cell proliferation in each group (×200)

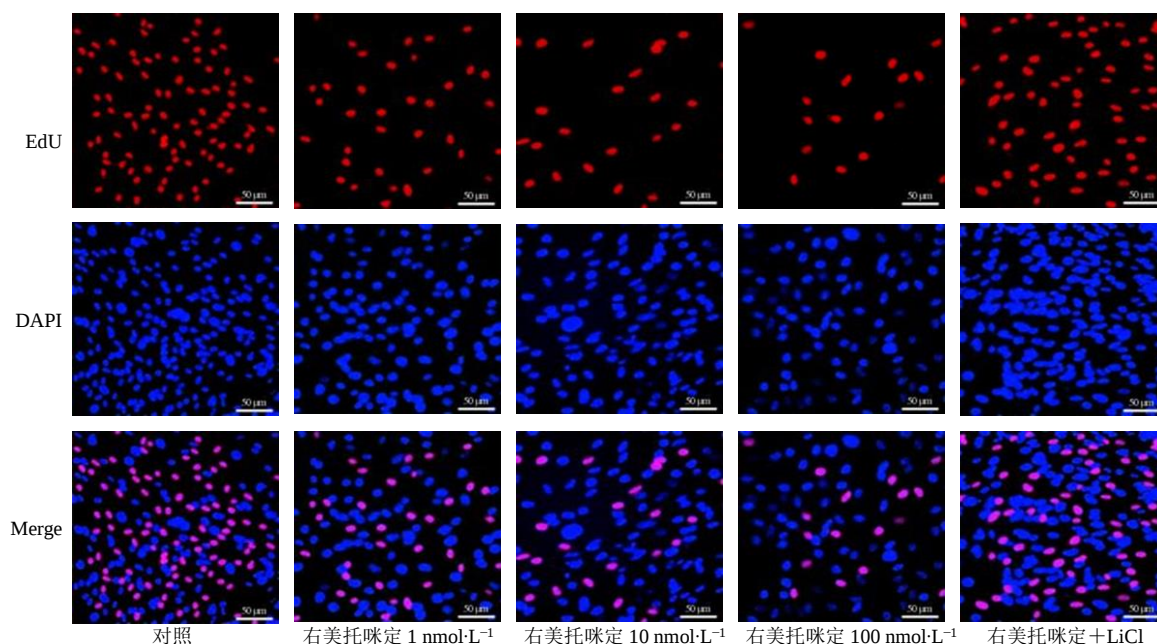


图 2 EdU 检测各组 RL95-2 细胞增殖情况 (×200)

Fig. 2 EdU detection of RL95-2 cell proliferation in each group (×200)

表 1 各组细胞增殖活力和 EdU 阳性细胞率变化 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Table 1 Changes in cell proliferation activity and EdU positive cell rate in each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	浓度/(nmol·L ⁻¹)	A ₄₅₀ 值		EdU 阳性细胞率/%	
		Ishikawa 细胞	RL95-2 细胞	Ishikawa 细胞	RL95-2 细胞
对照组	—	1.08 ± 0.12	1.05 ± 0.11	42.83 ± 4.37	42.59 ± 4.46
右美托咪定	1	0.68 ± 0.08*	0.72 ± 0.09*	28.32 ± 3.01*	29.71 ± 3.15*
	10	0.55 ± 0.06*	0.59 ± 0.06*	20.65 ± 2.26*	22.62 ± 2.47*
	100	0.39 ± 0.05*	0.41 ± 0.06*	15.37 ± 1.69*	16.93 ± 1.75*
右美托咪定 + LiCl	100 + 10	0.85 ± 0.10 [#]	0.88 ± 0.09 [#]	32.28 ± 3.79 [#]	34.95 ± 3.58 [#]

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与右美托咪定 100 nmol·L⁻¹ 组比较: [#] $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs dexmedetomidine 100 nmol·L⁻¹ group

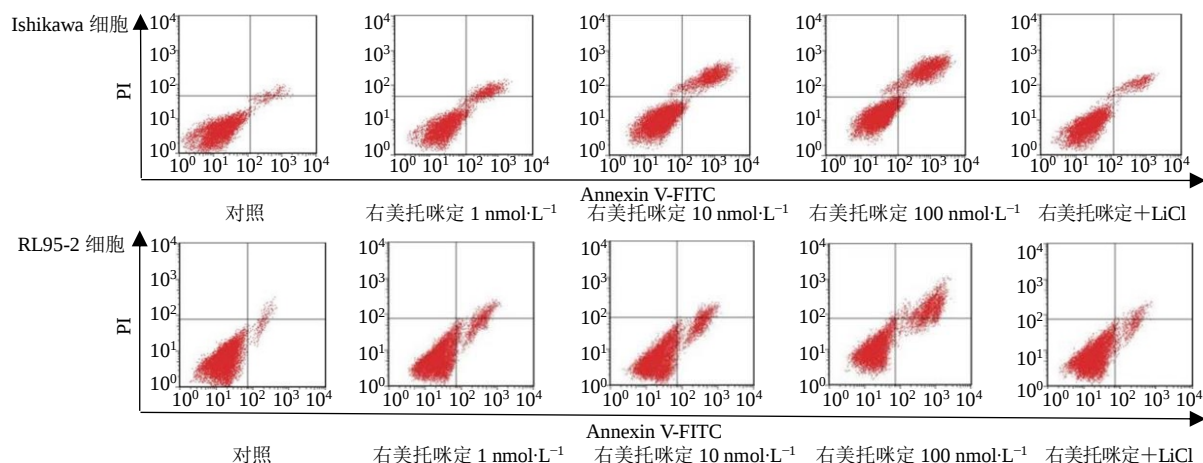


图 3 流式细胞术检测细胞凋亡

Fig. 3 Detection of cell apoptosis by flow cytometry

表 2 各组细胞凋亡情况 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)Table 2 Cell apoptosis in each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	剂量/(nmol·L ⁻¹)	凋亡率/%	
		Ishikawa 细胞	RL95-2 细胞
对照组	—	5.18 ± 1.29	5.24 ± 1.11
右美托咪定	1	27.62 ± 2.81*	25.29 ± 2.74*
	10	37.49 ± 3.71*	30.96 ± 3.65*
	100	48.65 ± 4.58*	40.57 ± 4.81*
右美托咪定+LiCl	100+10	20.81 ± 2.14 [#]	19.25 ± 2.08 [#]

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与右美托咪定 100 nmol·L⁻¹ 组比较:[#] $P < 0.05$ * $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs dexmedetomidine 100 nmol·L⁻¹ group

2.3 右美托咪定对细胞迁移和侵袭能力的影响

与对照组相比,右美托咪定 1、10、100 nmol/L 组 Ishikawa、RL95-2 细胞迁移、侵袭细胞数显著降低 ($P < 0.05$); 与右美托咪定 100 nmol/L 组相比,右美托咪定+LiCl 组细胞迁移、侵袭细胞数显著升高 ($P < 0.05$), 见图 4、表 3。

2.4 右美托咪定对细胞 Wnt/β-catenin 通路蛋白表达的影响

与对照组相比,右美托咪定 1、10、100 nmol/L 组 Ishikawa、RL95-2 细胞 PCNA、Bcl-2、β-catenin、c-Myc、Cyclin D1 蛋白表达下降, Bax 蛋白表达升

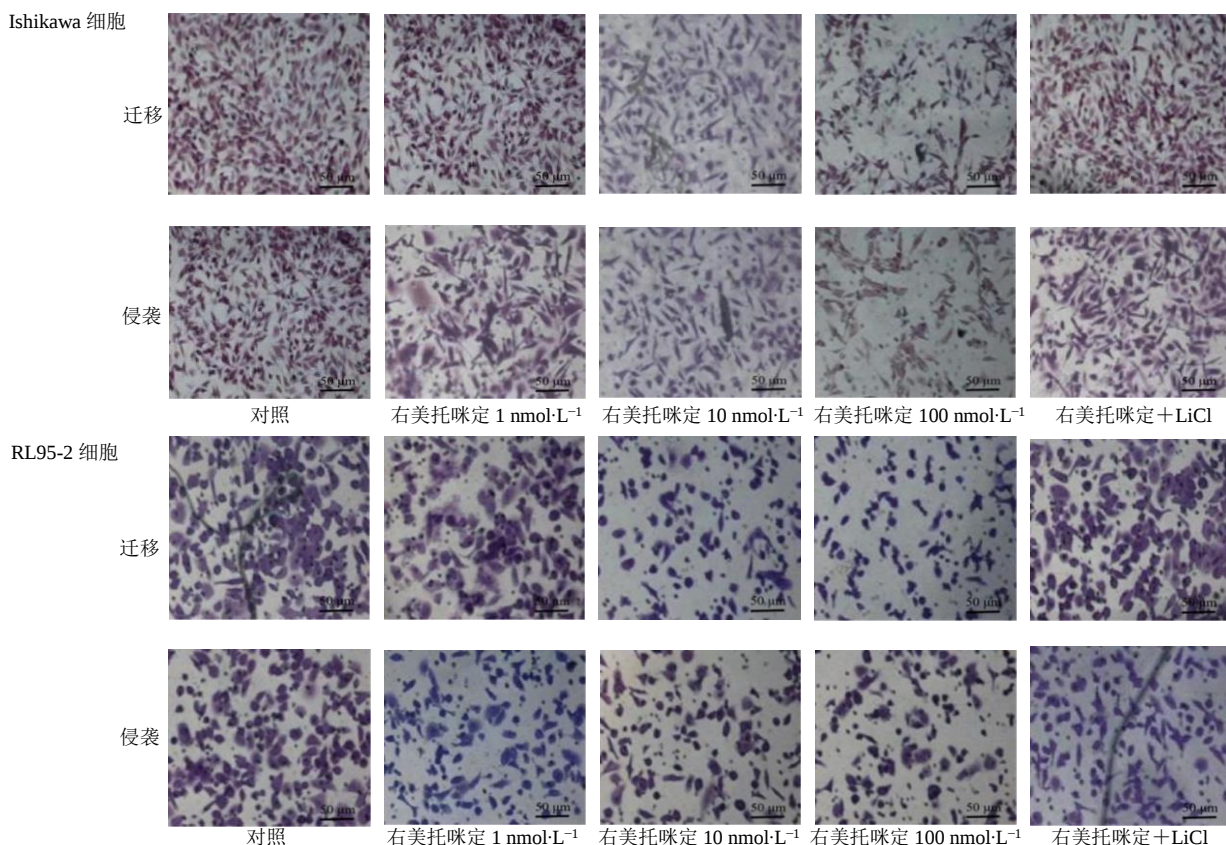


图 4 细胞迁移和侵袭情况比较 (×200)

Fig. 4 Comparison of cell migration and invasion (×200)

表 3 各组细胞迁移和侵袭情况比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)Table 3 Comparison of cell migration and invasion in each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	剂量/(nmol·L ⁻¹)	迁移细胞数		侵袭细胞数	
		Ishikawa 细胞	RL95-2 细胞	Ishikawa 细胞	RL95-2 细胞
对照	—	186.35 ± 9.13	188.59 ± 9.67	153.72 ± 8.31	152.73 ± 8.42
右美托咪定	1	135.37 ± 8.41*	142.63 ± 9.57*	123.64 ± 7.15*	129.37 ± 7.83*
	10	107.29 ± 9.51*	113.07 ± 8.05*	98.36 ± 9.08*	103.68 ± 9.37*
	100	83.56 ± 7.90*	89.34 ± 7.91*	75.21 ± 8.32*	81.05 ± 8.38*
	100+10	146.26 ± 9.17 [#]	149.43 ± 8.35 [#]	131.49 ± 9.53 [#]	134.58 ± 9.26 [#]

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与右美托咪定 100 nmol·L⁻¹ 组比较: [#] $P < 0.05$ * $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs dexmedetomidine 100 nmol·L⁻¹ group

高 ($P<0.05$); 与右美托咪定 100 nmol/L 组相比, 右美托咪定+LiCl 组 PCNA、Bcl-2、 β -catenin、c-

Myc、Cyclin D1 蛋白表达上升, Bax 蛋白表达降低 ($P<0.05$), 见图 5、表 4。

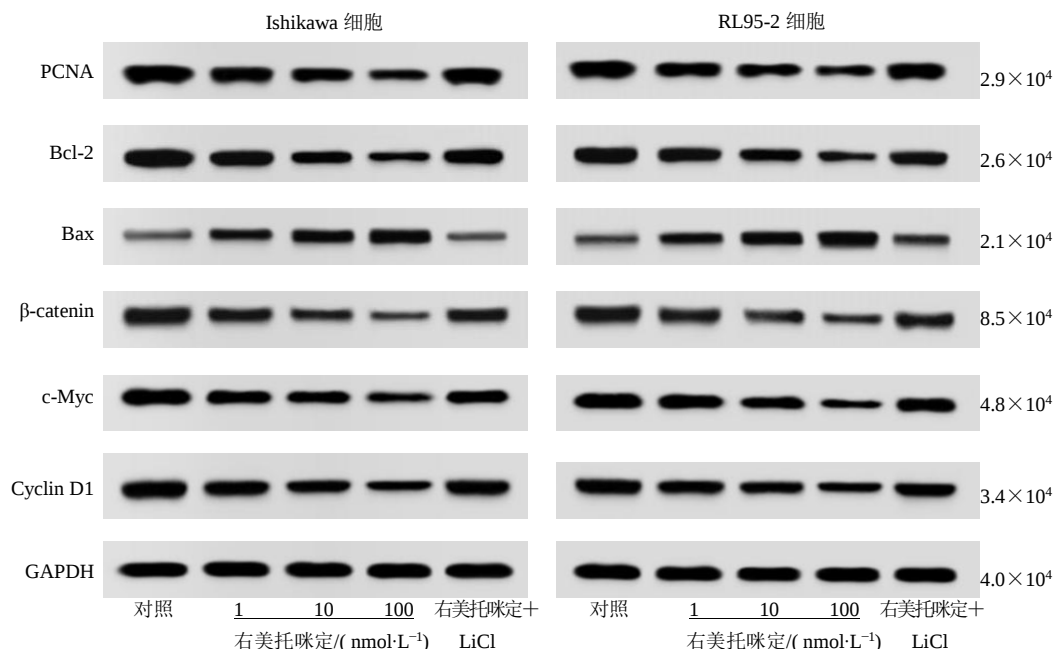


图 5 各组 Wnt/ β -catenin 通路蛋白变化

Fig. 5 Changes of Wnt/ β -catenin pathway proteins in each group

表 4 各组 Wnt/ β -catenin 通路蛋白相对表达量 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Table 4 Relative protein expression of Wnt/ β -catenin pathway proteins in each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	剂量/(nmol·L ⁻¹)	PCNA		Bcl-2		Bax	
		Ishikawa 细胞	RL95-2 细胞	Ishikawa 细胞	RL95-2 细胞	Ishikawa 细胞	RL95-2 细胞
对照	—	1.08 ± 0.11	1.06 ± 0.10	1.13 ± 0.15	1.12 ± 0.13	0.32 ± 0.05	0.33 ± 0.04
右美托咪定	1	0.75 ± 0.08*	0.80 ± 0.09*	0.76 ± 0.08*	0.82 ± 0.10*	0.72 ± 0.08*	0.68 ± 0.07*
	10	0.62 ± 0.07*	0.67 ± 0.08*	0.60 ± 0.07*	0.65 ± 0.08*	0.83 ± 0.10*	0.80 ± 0.09*
	100	0.43 ± 0.05*	0.49 ± 0.06*	0.40 ± 0.06*	0.45 ± 0.05*	1.05 ± 0.11*	1.01 ± 0.12*
右美托咪定+LiCl	100+10	0.85 ± 0.07 [#]	0.88 ± 0.09 [#]	0.81 ± 0.10 [#]	0.89 ± 0.09 [#]	0.48 ± 0.05 [#]	0.43 ± 0.04 [#]

组别	剂量/(nmol·L ⁻¹)	β -catenin		c-Myc		Cyclin D1	
		Ishikawa 细胞	RL95-2 细胞	Ishikawa 细胞	RL95-2 细胞	Ishikawa 细胞	RL95-2 细胞
对照	—	1.13 ± 0.12	1.12 ± 0.11	1.22 ± 0.15	1.23 ± 0.14	0.98 ± 0.10	0.99 ± 0.09
右美托咪定	1	0.83 ± 0.10*	0.89 ± 0.09*	0.93 ± 0.09*	0.99 ± 0.10*	0.62 ± 0.08*	0.68 ± 0.07*
	10	0.62 ± 0.07*	0.68 ± 0.07*	0.72 ± 0.09*	0.78 ± 0.08*	0.48 ± 0.06*	0.53 ± 0.06*
	100	0.41 ± 0.05*	0.47 ± 0.06*	0.48 ± 0.06*	0.53 ± 0.06*	0.31 ± 0.04*	0.37 ± 0.05*
右美托咪定+LiCl	100+10	0.90 ± 0.10 [#]	0.96 ± 0.11 [#]	1.01 ± 0.10 [#]	1.06 ± 0.12 [#]	0.67 ± 0.07 [#]	0.71 ± 0.08 [#]

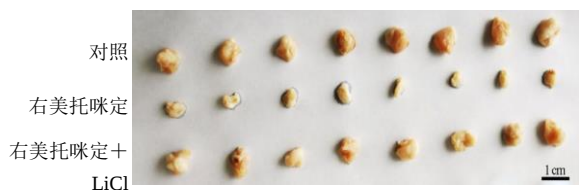
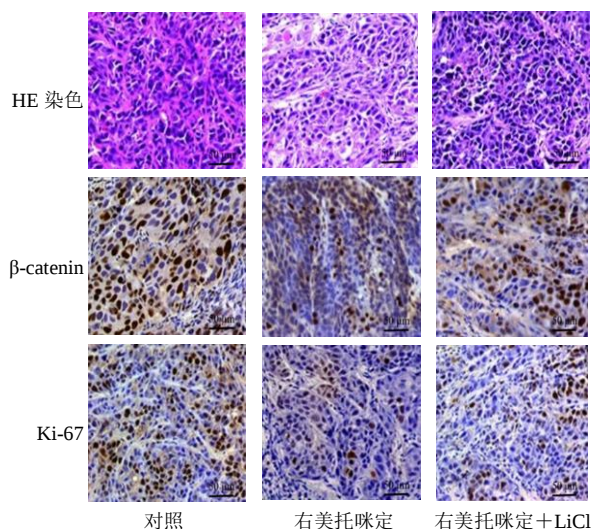
与对照组比较: * $P<0.05$; 与右美托咪定 100 nmol·L⁻¹ 组比较: [#] $P<0.05$

* $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs dexmedetomidine 100 nmol·L⁻¹ group

2.5 右美托咪定对裸鼠移植瘤生长的影响

与对照组比较, 右美托咪定组移植瘤质量和体积、 β -catenin、Ki-67 阳性表达显著降低 ($P<0.05$); 与右美托咪定组比较, 右美托咪定+LiCl 组移植瘤

质量和体积、 β -catenin、Ki-67 阳性表达均显著升高 ($P<0.05$)。HE 染色结果显示, 右美托咪定组相比于对照组肿瘤组织明显凋亡, 右美托咪定+LiCl 组肿瘤组织凋亡被逆转, 见图 6、7 和表 5。

图 6 各组裸鼠移植瘤生长情况 ($n = 8$)Fig. 6 Growth of transplanted tumors in nude mice in each group ($n = 8$)图 7 肿瘤组织 HE 染色和 β -catenin、Ki-67 蛋白表达 ($\times 200$)Fig. 7 HE staining and expression of β -catenin and Ki-67 proteins in tumor tissue ($\times 200$)表 5 右美托咪定对裸鼠移植瘤生长和 β -catenin、Ki-67 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)Table 5 Effect of dexmedetomidine on the growth and expression of β -catenin and Ki-67 proteins in nude mouse transplanted tumors ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

组别	剂量	瘤体积/ mm^3	移植瘤质量/g	β -catenin 阳性率/%	Ki-67 阳性率/%
对照	—	$1\,035 \pm 106$	1.43 ± 0.14	42.07 ± 4.12	38.57 ± 4.01
右美托咪定	$5.0 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	$426 \pm 45^*$	$0.45 \pm 0.08^*$	$23.68 \pm 2.41^*$	$18.09 \pm 1.93^*$
右美托咪定+LiCl	$5.0 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} + 20 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$	$752 \pm 77^\#$	$1.04 \pm 0.11^\#$	$31.28 \pm 3.50^\#$	$28.50 \pm 2.73^\#$

与对照组比较: $^*P < 0.05$; 与右美托咪定组比较: $^\#P < 0.05$ $^*P < 0.05$ vs control group; $^\#P < 0.05$ vs dexmedetomidine group

右美托咪定对子宫内膜癌细胞的增殖、凋亡具有调节作用。

细胞增殖凋亡是影响多种癌症进展的关键因素,在一定程度上决定恶性细胞的命运。其中 PCNA 主要是反映细胞增殖水平的标志物^[15]; Bcl-2 家族蛋白是细胞凋亡的关键调节因子, Bax 是 Bcl-2 家族的重要成员, Bcl-2 下调和 Bax 上调可以促进细胞凋亡^[16]。本研究中,右美托咪定抑制 PCNA、Bcl-

3 讨论

子宫内膜癌是最常见的子宫恶性肿瘤,主要症状为子宫异常出血、阴道分泌异常、下腹部疼痛和肿块发生,其发病率逐年上升,且有年轻化趋势。目前,子宫内膜癌的主要治疗方法仍然是手术和化疗,但其存在肝肾毒性、胃肠道毒性、骨髓抑制、月经不调等严重不良反应,部分患者还存在复发和远处转移风险,影响患者预后^[10]。因此,探索子宫内膜癌发病机制和新疗法具有重要意义。

右美托咪定是临床手术中经常使用的镇痛药,可显著减少术中和术后对阿片类药物的需求。目前研究表明,右美托咪定调节免疫功能,减少围手术期手术患者的炎症反应,进而抑制癌症进展^[11]。已有研究表明,右美托咪定以浓度相关性方式有效抑制骨肉瘤细胞的增殖、侵袭、转移,促进其凋亡^[12];右美托咪定还能抑制食管癌细胞的活性,促进细胞凋亡降低其侵袭和迁移能力^[13]。右美托咪定对妇科相关肿瘤也具有调节作用,如 Tian 等^[8]发现右美托咪定可提高卵巢癌大鼠的免疫功能,抑制卵巢癌细胞的侵袭和迁移。本研究发现,右美托咪定能显著降低子宫内膜癌细胞的 A 值、EdU 阳性细胞率、迁移细胞数、侵袭细胞数,提升凋亡率,提示右美托咪定能抑制子宫内膜癌细胞增殖活性、迁移和侵袭能力,促进其凋亡,参与子宫内膜癌细胞的发生发展。这与杨利利等^[14]发现右美托咪定可增强宫颈癌细胞的顺铂敏感性,抑制其凋亡,结果相似。提示

2 蛋白表达,促进 Bax 表达,进一步说明右美托咪定具有促进细胞凋亡,抑制增殖的作用。此外,在裸鼠实验中,右美托咪定能抑制移植瘤的生长,降低肿瘤细胞增殖标志物 Ki-67 的表达,进一步验证右美托咪定能够抑制子宫内膜癌细胞增殖和肿瘤生长,促进凋亡。

Wnt 信号通路是一种高度保守的通路,控制着胚胎发育、组织生长和细胞命运等关键生物过程,

β -catenin 是 Wnt/ β -catenin 途径中关键信号转导蛋白。该通路在激活状态下, β -catenin 分离并积聚在细胞质中, 进一步易位到细胞核中, 与 T 细胞因子/淋巴增强因子转录因子相互作用, 并促进下游靶标 c-Myc、Cyclin D1 的表达^[17]。研究表明, Wnt/ β -catenin 信号通路的失调与癌症(包括子宫内膜癌)的发病、进展、恶性转化相关, Park 等^[18]发现在子宫内膜癌细胞中 Wnt/ β -catenin 活性增加, 促进子宫内膜癌细胞的增殖、迁移和侵袭; Liu 等^[19]发现通过激活 Wnt/ β -catenin 途径促进子宫内膜癌细胞增殖, 抑制凋亡, 加速肿瘤生长。Tian 等^[5]还发现右美托咪定通过抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路来抑制卵巢癌的发展。基于以上结果, 右美托咪定可能通过调控 Wnt/ β -catenin 信号通路发挥对子宫内膜癌细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用, 促进其凋亡。本研究发现, 右美托咪定处理后子宫内膜癌细胞中 β -catenin、c-Myc、Cyclin D1 蛋白表达下降, 提示右美托咪定可能通过抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路的激活参与调节子宫内膜癌细胞的发生发展。Liang 等^[20]发现, 丁酸盐通过抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路对胃癌的迁移、侵袭和有氧糖酵解有抑制作用, 但被 Wnt/ β -catenin 信号通路激活剂 LiCl 逆转。为进一步探究 Wnt/ β -catenin 信号通路在右美托咪定抑制子宫内膜癌增殖中的作用, 本研究在右美托咪定 100 nmol/L 组的基础上使用 LiCl, 结果显示 LiCl 可逆转右美托咪定对子宫内膜癌细胞增殖、迁移、侵袭的抑制, 减少细胞凋亡。进一步证实右美托咪定可能通过抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路参与调节子宫内膜癌细胞的增殖、凋亡。

综上所述, 右美托咪定能抑制子宫内膜癌细胞增殖, 促进凋亡, 其作用机制可能与抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路有关。本研究为治疗子宫内膜癌提供了新的方法和思路。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Makker V, MacKay H, Ray-Coquard I, et al. Endometrial cancer [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2021, 7(1): 88.
- [2] Hu Y, Qiu L L, Zhao Z F, et al. Dexmedetomidine represses proliferation and promotes apoptosis of esophageal cancer cells by regulating C-Myc gene expression via the ERK signaling pathway [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2021, 25(2): 950-956.
- [3] Gao X, Wang X L. Dexmedetomidine promotes ferroptotic cell death in gastric cancer via hsa_circ_0008035/miR-302a/E2F7 axis [J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2023, 39(4): 390-403.
- [4] Wang H, Yang Q, Li J, et al. MicroRNA-15a-5p inhibits endometrial carcinoma proliferation, invasion and migration via downregulation of VEGFA and inhibition of the Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. *Oncol Lett*, 2021, 21(4): 310.
- [5] Tian H, Hou L, Xiong Y, et al. Dexmedetomidine upregulates microRNA-185 to suppress ovarian cancer growth via inhibiting the SOX9/Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. *Cell Cycle*, 2021, 20(8): 765-780.
- [6] 李晓媛, 郭昊翔, 郭敏娟, 等. 橙皮素通过 Wnt/ β -catenin 信号通路调控肝癌细胞增殖、凋亡、侵袭和迁移的机制研究 [J]. *中国免疫学杂志*, 2022, 38(3): 348-352.
- [7] 张红, 康朋朋, 种肖宇, 等. CRABP2 通过 Wnt/ β -catenin 通路调控子宫内膜样腺癌细胞的增殖与侵袭 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2023, 30(2): 135-141.
- [8] Tian H, Hou L, Xiong Y, et al. Effect of dexmedetomidine-mediated insulin-like growth factor 2 (IGF2) signal pathway on immune function and invasion and migration of cancer cells in rats with ovarian cancer [J]. *Med Sci Monit*, 2019, 25: 4655-4664.
- [9] Wei W, Liu H, Yuan J, et al. Targeting Wnt/ β -catenin by anthelmintic drug niclosamide overcomes paclitaxel resistance in esophageal cancer [J]. *Fundam Clin Pharmacol*, 2021, 35(1): 165-173.
- [10] Huvila J, Pors J, Thompson E F, et al. Endometrial carcinoma: molecular subtypes, precursors and the role of pathology in early diagnosis [J]. *J Pathol*, 2021, 253(4): 355-365.
- [11] Cai Q, Liu G, Huang L, et al. The role of dexmedetomidine in tumor-progressive factors in the perioperative period and cancer recurrence: A narrative review [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2022, 16: 2161-2175.
- [12] Liu Y, Gu X, Liu Y. The effect of dexmedetomidine on biological behavior of osteosarcoma cells through miR-1307 expression [J]. *Am J Transl Res*, 2021, 13(5): 4876-4883.
- [13] Zhang W, Zhang L, Cai X J, et al. Dexmedetomidine inhibits the growth and metastasis of esophageal cancer cells by down-regulation of lncRNA MALAT1 [J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2022, 38(6): 585-593.
- [14] 杨利利, 胡强夫, 闵娜, 等. 右美托咪定对宫颈癌细胞 HSP90/ERK 通路及顺铂敏感性的影响 [J]. *实用医学杂志*, 2022, 38(16): 2019-2023.
- [15] Cardano M, Tribioli C, Prosperi E. Targeting proliferating

- cell nuclear antigen (PCNA) as an effective strategy to inhibit tumor cell proliferation [J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2020, 20(4): 240-252.
- [16] Zhou L, Li S, Sun J. Ginkgolic acid induces apoptosis and autophagy of endometrial carcinoma cells via inhibiting PI3K/Akt/mTOR pathway *in vivo* and *in vitro* [J]. *Hum Exp Toxicol*, 2021, 40(12): 2156-2164.
- [17] McMellen A, Woodruff E R, Corr B R, *et al.* Wnt signaling in gynecologic malignancies [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(12): 4272.
- [18] Park S A, Kim L K, Kim Y T, *et al.* Long non-coding RNA steroid receptor activator promotes the progression of endometrial cancer via Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. *Int J Biol Sci*, 2020, 16(1): 99-115.
- [19] Liu D, Song Z, Wang X, *et al.* Ubiquitin C-terminal hydrolase L5 (UCHL5) accelerates the growth of endometrial cancer via activating the wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 992496.
- [20] Liang Y, Rao Z, Du D, *et al.* Butyrate prevents the migration and invasion, and aerobic glycolysis in gastric cancer via inhibiting Wnt/ β -catenin/c-Myc signaling [J]. *Drug Dev Res*, 2023, 84(3): 532-541.

[责任编辑 高源]