

## · 实验研究 ·

## 右美托咪定对口腔鳞癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响

吴朱昊 张晓昕 泥艳红 孙国文 董迎春

**【摘要】** 目的 探讨右美托咪定对口腔鳞癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响及机制。方法 实验一:选用人口腔鳞癌细胞系 HN6 和 CAL27,根据右美托咪定浓度不同随机均分为六组:阴性对照组(NC 组)、右美托咪定 1 nmol/L 组(D1 组)、右美托咪定 10 nmol/L 组(D2 组)、右美托咪定 100 nmol/L 组(D3 组)、右美托咪定 1  $\mu$ mol/L 组(D4 组)和右美托咪定 10  $\mu$ mol/L 组(D5 组)。培养 24、48 h 后分别采用 CCK-8 法、划痕实验和 Transwell 实验检测细胞增殖、迁移和侵袭能力。实验二:利用转录组测序技术筛选右美托咪定 1  $\mu$ mol/L 处理 HN6 细胞 12 h 后差异表达的基因。采用慢病毒转染细胞,建立稳定敲低细胞色素 P450 1B1(CYP1B1)的 HN6 细胞株。将细胞随机分为四组:shCtrl 组(C 组)、shCYP1B1 组(CYP 组)、shCtrl+右美托咪定组(CD 组)和 shCYP1B1+右美托咪定组(CYPD 组)。采用划痕实验和 Transwell 实验检测 HN6 细胞迁移和侵袭能力。**结果** 实验一:与 NC 组比较,D2 组、D3 组、D4 组和 D5 组 HN6 和 CAL27 细胞迁移率均明显升高,基质胶内穿膜细胞数均明显增多;D1 组 HN6 细胞迁移率明显升高( $P < 0.05$ )。与 D1 组比较,D2 组、D3 组、D4 组和 D5 组 HN6 和 CAL27 细胞迁移率均明显升高,基质胶内穿膜细胞数均明显增多( $P < 0.05$ )。与 D2 组比较,D3 组、D4 组和 D5 组 HN6 和 CAL27 细胞迁移率均明显升高,基质胶内穿膜细胞数均明显增多( $P < 0.05$ )。与 D3 组比较,D4 组 HN6、CAL27 细胞和 D5 组 HN6 细胞迁移率明显升高,基质胶内穿膜细胞数均明显增多( $P < 0.05$ )。与 D4 组比较,D5 组 HN6 细胞迁移率明显升高,基质胶内穿膜细胞数明显增多;D5 组 CAL27 细胞迁移率明显降低,基质胶内穿膜细胞数明显减少( $P < 0.05$ )。培养 24、48 h 后六组 HN6 和 CAL27 细胞存活率差异均无统计学意义。实验二:对右美托咪定处理后的 HN6 细胞进行转录组测序,筛选出 54 个差异表达基因,其中 CYP1B1 表达明显上调。慢病毒成功转染 HN6 细胞,构建稳定敲低 CYP1B1 的 HN6 细胞株。与 C 组比较,CYP 组迁移率明显降低,基质胶内穿膜细胞数明显减少;CD 组和 CYPD 组迁移率明显升高,基质胶内穿膜细胞数明显增多( $P < 0.05$ )。与 CYP 组比较,CD 组和 CYPD 组迁移率明显升高,基质胶内穿膜细胞数增多( $P < 0.05$ )。与 CD 组比较,CYPD 组迁移率明显降低,基质胶内穿膜细胞数明显减少( $P < 0.05$ )。**结论** 右美托咪定能增强口腔鳞癌细胞迁移能力和侵袭能力,该作用可能与右美托咪定处理后 CYP1B1 表达相关。

**【关键词】** 细胞色素 P450 1B1;右美托咪定;口腔鳞癌;增殖;迁移;侵袭

**Effects of dexmedetomidine on abilities of cell proliferation, migration and invasion of oral squamous cell carcinoma cells** WU Zhuohao, ZHANG Xiaoxin, NI Yanhong, SUN Guowen, DONG Yingchun. Department of Oral Anesthesiology, Nanjing Stomatological Hospital, Affiliated Hospital of Medical School, Nanjing University, Nanjing 210008, China

Corresponding author: DONG Yingchun, Email: dongyingchun@nju.edu.cn

**【Abstract】** **Objective** To investigate the effects of dexmedetomidine on the abilities of cell proliferation, migration, and invasion of oral squamous cell carcinoma (OSCC) cells and molecular mechanism. **Methods** Experiment 1: human OSCC HN6 and CAL27 cells were both randomly divided into 6 groups based on the concentrations of dexmedetomidine: negative control group (group NC), dexmedetomidine 1 nmol/L group (group D1), dexmedetomidine 10 nmol/L group (group D2), dexmedetomidine 100 nmol/L group (group D3), dexmedetomidine 1  $\mu$ mol/L group (group D4) and dexmedetomidine 10  $\mu$ mol/L group (group D5). The abilities of cell proliferation, migration, and invasion of HN6 and CAL27 cells after dexmedetomidine treatment for 24 to 48 hours were examined using cell counting kit-8, wound healing and

DOI: 10.12089/jca.2023.06.013

基金项目:国家自然科学基金青年项目(82002865)

作者单位:210008 南京大学医学院附属口腔医院 南京市口腔医院口腔麻醉科(吴朱昊、董迎春),中心实验室(张晓昕、泥艳红),口腔颌面外科(孙国文)

通信作者:董迎春,Email: dongyingchun@nju.edu.cn

Transwell assays, respectively. Experiment 2: the differentially expressed genes in HN6 cells under 1  $\mu\text{mol/L}$  dexmedetomidine treatment for 12 hours were screened by transcriptome sequencing. HN6 cells were transfected with lentivirus to knockdown Cytochrome P450 1B1 (CYP1B1) gene expression. HN6 cells were randomly divided into four groups: group shCtrl (group C), group shCYP1B1 (group CYP), group shCtrl + DEX (group CD) and group shCYP1B1 + DEX (group CYPD). The migration and invasion abilities of HN6 cells were detected. **Results** Experiment 1: compared with group NC, the migration rate and the number of cells penetrating the membrane in the matrix glue of HN6 and CAL27 cell were significantly increased in groups D2, D3, D4, and D5, the migration rate of HN6 cell in group D1 was significantly increased ( $P < 0.05$ ). Compared with group D1, the migration rate and the number of cells penetrating the membrane in the matrix glue of HN6 and CAL27 cell in groups D2, D3, D4, and D5 were significantly increased ( $P < 0.05$ ). Compared with group D2, the migration rate and the number of cells penetrating the membrane in the matrix glue of HN6 and CAL27 cell in groups D3, D4, and D5 were significantly increased ( $P < 0.05$ ). Compared with group D3, the migration rate and the number of cells penetrating the membrane in matrix glue of HN6, CAL27 cells in group D4, and HN6 cell in group D5 were significantly increased ( $P < 0.05$ ). Compared with group D4, the migration rate and the number of cells penetrating the membrane in the matrix glue of HN6 cell in group D5 were significantly increased, the migration rate of CAL27 cell and the number of cells penetrating the membrane in the matrix glue were significantly decreased ( $P < 0.05$ ). After 24 and 48 hours of cultivation, there were no significant differences in the survival rates of HN6 and CAL27 cells between the six groups. Experiment 2: fifty-four differentially expressed genes were screened via transcriptome sequencing, among which CYP1B1 was upregulated significantly. The lentivirus transfection successfully constructed HN6 cell line with stable CYP1B1 down regulation. Compared with group C, the migration rate and the number of cells penetrating the membrane in the matrix glue were significantly decreased in group CYP, while the migration rate and the number of cells penetrating the membrane in the matrix glue were significantly increased in groups CD and CYPD ( $P < 0.05$ ). Compared with group CYP, the migration rate and the number of cells penetrating the membrane in the matrix glue were significantly increased in groups CD and CYPD ( $P < 0.05$ ). Compared with group CD, the migration rate and the number of cells penetrating the membrane in the matrix glue were significantly decreased in group CYPD ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Dexmedetomidine can enhance the abilities of migration and invasion of OSCC cells, which may be related to CYP1B1 expression following dexmedetomidine treatment.

**【Key words】** Cytochrome P450 1B1; Dexmedetomidine; Oral squamous cell carcinoma; Proliferation; Migration; Invasion

围术期是影响恶性肿瘤复发和转移的重要时期,其中全麻药物的使用可能会影响恶性肿瘤细胞增殖和侵袭等生物学行为,促使残余肿瘤细胞远处转移,直接或间接影响肿瘤患者预后<sup>[1-2]</sup>。右美托咪定是高选择性  $\alpha_2$  肾上腺素受体激动药,由于具有中枢性镇静、镇痛和抗交感作用被广泛应用于肿瘤患者的全身麻醉、术后镇痛、ICU 镇静以及术后认知功能障碍的治疗中<sup>[3-5]</sup>。口腔鳞癌是口腔颌面外科最常见的恶性肿瘤,手术时间长,创伤大。本实验研究通过检测右美托咪定对口腔鳞癌细胞 HN6 和 CAL27 增殖、迁移及侵袭的影响,探讨右美托咪定在口腔鳞癌生长、复发和转移中的作用,为口腔鳞癌患者围术期应用右美托咪定的安全性提供参考。

### 材料与方 法

**实验细胞培养** 选择人舌鳞癌细胞株 HN6 和 CAL27(购于中科院上海生物细胞研究所),置于含 100 U/ml 青霉素-链霉素溶液和 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基中,于 37  $^{\circ}\text{C}$ 、95% 相对湿度、含 5%

$\text{CO}_2$  的培养箱中常规培养。待细胞铺满皿底 80% 左右时,以 0.25% 胰蛋白酶消化,并按照 1:3 比例传代,选择长势良好的第 3—5 代对数生长期细胞进行实验。

**实验分组与处理** 实验一:根据用右美托咪定处理细胞的浓度将 HN6 和 CAL27 细胞各分为六组:对照组(NC 组)、右美托咪定 1 nmol/L 组(D1 组)、右美托咪定 10 nmol/L 组(D2 组)、右美托咪定 100 nmol/L 组(D3 组)、右美托咪定 1  $\mu\text{mol/L}$  组(D4 组)和右美托咪定 10  $\mu\text{mol/L}$  组(D5 组)。

实验二:将处于对数生长期的 HN6 细胞以每孔  $2 \times 10^5$  个细胞接种至 6 孔细胞板后,置于细胞培养箱中常规培养。将 HN6 细胞随机分为两组:实验组和对照组,实验组采用含右美托咪定 1  $\mu\text{mol/L}$  无血清培养基处理,对照组在无血清培养基中加入等容积生理盐水。37 $^{\circ}\text{C}$  培养箱中培养 12 h 后收集细胞,采用 Trizol 法提取总 RNA 后进行转录组测序分析,筛选出差异常表达基因,筛选条件为:  $\text{FDR} < 0.05$ ,  $|\log_2\text{FC}| \geq 1$ ,筛选出差异常基因 CYP1B1。将细胞随

机分为四组: 阴性对照短发夹 RNA (shRNA) (shCtrl) 组 (C 组)、CYP1B1 shRNA (shCYP1B1) 组 (CYP 组)、shCtrl+右美托咪定组 (CD 组) 和 shCYP1B1+右美托咪定组 (CYPD 组)。C 组和 CYP 组在 HN6 细胞融合达 75% 时, 分别参照慢病毒转染说明书将阴性对照 shRNA 和 CYP1B1shRNA 序列转染至细胞中, 转染 12 h 后更换新鲜培养基, 转染后 72 h 在倒置相差荧光显微镜下观察细胞绿色荧光蛋白表达情况判断转染效率。CD 组和 CYPD 组转染后, 细胞再以右美托咪定 1 μmol/L 处理 12 h。CYP1B1 shRNA 干扰序列 5'-CCGCCCCAAGTCATT-TAAAGTCAATCTCGAGATTGACTTTAAATGACTTGG GTTTTTTG-3', 阴性对照序列 5'-CCTAAGGTTA-AGTCGCCCTCGCTCTAGGGAGGGCGACTTAACCTTAG GTTTTTG-3'。

**CCK-8 法** 采用 CCK-8 试剂盒检测 HN6 和 CAL27 细胞的增殖能力。将处于对数生长期的细胞按照每孔 3 000 个细胞接种到 96 孔细胞板上, 置于细胞培养箱中常规培养。为了去除血清对细胞增殖的影响, 培养 24 h 后更换为无血清培养基, 然后每组设 6 个复孔, 放入培养箱中继续培养 24、48 h 后加入 CCK-8 溶液 10 μl。37 °C 继续培养 1 h 后采用酶标仪检测 HN6 细胞在 450 nm 的吸光度 (A 值), 并按照公式计算细胞存活率 = (药物组 A 值 - 空白组 A 值) ÷ (对照组 A 值 - 空白组 A 值) × 100%, 其中空白对照组为单纯培养基<sup>[6]</sup>。

**划痕实验** 采用划痕实验检测 HN6 和 CAL27 细胞的迁移能力。将处于对数生长期的细胞常规消化后, 以 2 × 10<sup>5</sup>/ml 密度接种于含胎牛血清培养基的 6 孔板内, 接种后十字摇晃使细胞分布均匀, 待细胞铺满皿底至 90% 时, 用 200 μl 无菌枪头每孔轻划孔板 4 次, 各划线尽量平行, 后用 PBS 轻轻吹打以去除脱落的细胞, 后更换为无血清培养基, 分组处理后置于 37 °C 恒温箱培养 12 h。采用倒置显微镜观察细胞迁移情况, 采用 ImageJ 进行图像分析, 根据划痕宽度计算迁移率 = (0 h 划痕宽度 - 培养 12 h 后划痕宽度) ÷ 0 h 划痕宽度 × 100%<sup>[7]</sup>。

**Transwell 小室法** 采用 Transwell 小室法检测 HN6 和 CAL27 细胞的侵袭能力。将处于对数生长期的细胞常规消化后转移至 15 ml 离心管中, 4 °C 下 1000 转/分离心 5 min, 弃上清, 用无血清培养基重悬细胞后再重复离心一次, 细胞分组处理后调整细胞浓度为 1 × 10<sup>5</sup> 个/ml。取细胞悬液 200 μl 加入基质胶包被的 Transwell 小室上室中, 并在下室中加入

含血清的培养基 600 μl, 置于细胞培养箱中。12 h 后取出小室, 用棉签小心擦去上室残留的细胞后, 以 4% 多聚甲醛固定细胞 30 min, 再以 0.1% 结晶紫染色 20 min。采用倒置显微镜随机选择 3 个视野观察基质胶内穿膜细胞数, 并计算平均值。

**qRT-PCR** 采用 Trizol 法提取 HN6 细胞总 RNA, HiScript III RT SuperMix 进行反转录, 以 cDNA 为模板进行 qRT-PCR 检测。反应条件为 95 °C 预变性 30 s、95 °C 变性 30 s、60 °C 退火 30 s、70 °C 延伸 30 s, 共 40 个循环。采用 2<sup>-ΔΔCT</sup> 法计算 CYP1B1 相对表达量, 引物序列见表 1。

表 1 qPCR 引物序列

基因	位置	扩增引物序列
CYP1B1	上游	5'-GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT-3'
	下游	5'-GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG-3'
GAPDH	上游	5'-GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT-3'
	下游	5'-GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG-3'

**统计分析** 采用 SPSS 22.0 软件进行数据分析。正态分布计量资料以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 两组间比较采用成组 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析。P < 0.05 为差异有统计学意义。

## 结 果

### 实验一

**增殖能力** 培养 24、48 h 后六组 HN6 和 CAL27 细胞存活率差异均无统计学意义 (表 2)。

**迁移能力** 与 NC 组比较, D2 组、D3 组、D4 组和 D5 组 HN6 和 CAL27 细胞迁移率均明显升高, D1 组 HN6 细胞迁移率明显升高 (P < 0.05)。与 D1 组比较, D2 组、D3 组、D4 组和 D5 组 HN6 和 CAL27 细胞迁移率均明显升高 (P < 0.05)。与 D2 组比较, D3 组、D4 组和 D5 组 HN6 和 CAL27 细胞迁移率均明显升高 (P < 0.05)。与 D3 组比较, D4 组 HN6、CAL27 细胞和 D5 组 HN6 细胞迁移率明显升高 (P < 0.05)。与 D4 组比较, D5 组 HN6 细胞迁移率明显升高 (P < 0.05), D5 组 CAL27 细胞迁移率明显降低 (P < 0.05) (表 3, 图 1)。

**侵袭能力** 与 NC 组比较, D2 组、D3 组、D4 组和 D5 组 HN6 和 CAL27 细胞基质胶内穿膜细胞数均明显增多 (P < 0.05)。与 D1 组比较, D2 组、D3 组、D4 组和 D5 组 HN6 和 CAL27 细胞基质胶内穿

表 2 两个细胞株不同浓度细胞不同时点存活率的比较(%, $\bar{x}\pm s$ )

细胞株	组别	培养 24 h	培养 48 h
HN6	NC 组	100	100
	D1 组	104.1±9.9	105.4±9.9
	D2 组	104.8±11.9	105.5±10.6
	D3 组	109.2±12.6	102.6±6.6
	D4 组	105.4±6.4	105.6±5.6
	D5 组	101.5±7.0	103.9±6.1
CAL27	NC 组	100	100
	D1 组	106.2±9.9	106.7±4.4
	D2 组	105.8±11.9	104.9±4.9
	D3 组	107.2±5.2	105.8±9.5
	D4 组	103.3±6.4	108.2±8.2
	D5 组	102.9±4.6	107.5±4.9

表 3 两个细胞株不同浓度细胞不同时点划痕宽度和迁移率的比较( $\bar{x}\pm s$ )

细胞株	组别	0 h 划痕宽度(μm)	培养 12 h 后 划痕宽度(μm)	迁移率(%)
HN6	NC 组	256.7±3.2	141.8±5.3	44.8±2.6
	D1 组	245.3±6.4	99.9±10.2	59.3±4.5 <sup>a</sup>
	D2 组	238.4±8.3	84.3±8.3	64.7±4.1 <sup>ab</sup>
	D3 组	258.6±3.6	81.2±7.7	68.6±3.2 <sup>abc</sup>
	D4 组	250.2±3.8	56.6±6.9	77.4±2.9 <sup>abcd</sup>
	D5 组	252.4±4.2	42.9±9.3	83.0±3.4 <sup>abcde</sup>
CAL27	NC 组	252.7±3.3	165.5±4.5	34.5±1.0
	D1 组	250.3±1.5	156.9±3.2	37.3±0.7
	D2 组	242.4±2.8	135.2±5.4	44.2±1.5 <sup>ab</sup>
	D3 组	251.6±4.2	123.1±4.6	51.1±2.2 <sup>abc</sup>
	D4 组	249.2±3.3	99.9±5.7	59.9±2.1 <sup>abcd</sup>
	D5 组	251.4±2.4	120.9±4.7	51.9±1.7 <sup>abcde</sup>

膜细胞数均明显增多( $P<0.05$ )。与 D2 组比较, D3 组、D4 组和 D5 组 HN6 和 CAL27 细胞基质胶内穿膜细胞数均明显增多( $P<0.05$ )。与 D3 组比较, D4 组 HN6、CAL27 细胞和 D5 组 HN6 细胞基质胶内穿膜细胞数均明显增多( $P<0.05$ )。与 D4 组比较, D5 组 HN6 细胞基质胶内穿膜细胞数明显增多( $P<0.05$ ), D5 组 CAL27 细胞基质胶内穿膜细胞数明显减少( $P<0.05$ ) (图 2—3)。

注:与 NC 组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与 D1 组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ ;与 D2 组比较,<sup>c</sup> $P<0.05$ ;与 D3 组比较,<sup>d</sup> $P<0.05$ ;与 D4 组比较,<sup>e</sup> $P<0.05$

实验二

转录组测序筛选差异表达基因 筛选出 54 个差异表达基因,其中 20 个上调表达,34 个下调表达,热图及火山图见图 4—5,其中 CYP1B1 表达上调 3.1 倍。

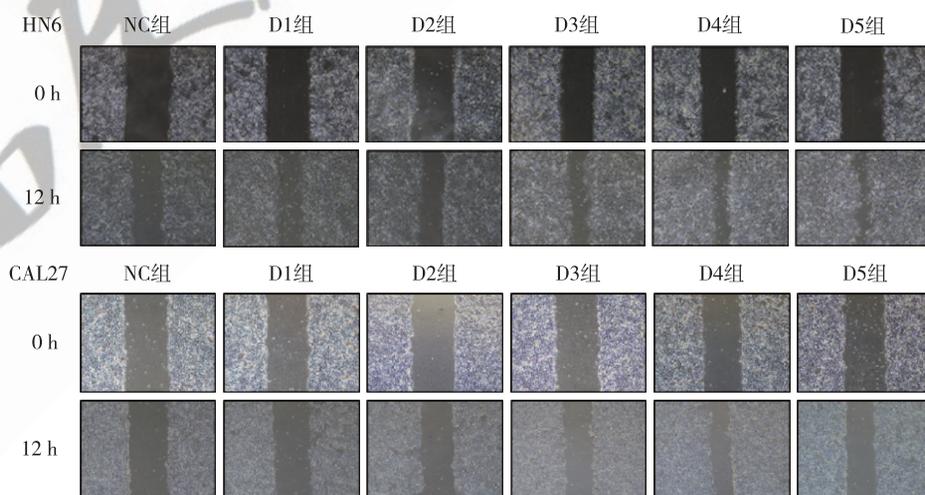


图 1 两个细胞株不同浓度细胞不同时点倒置显微镜下划痕宽度图(×40)

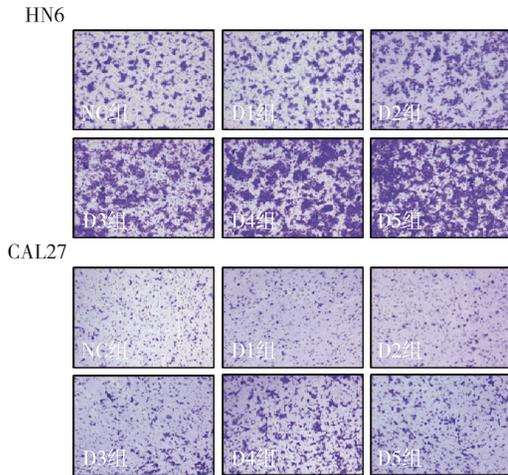
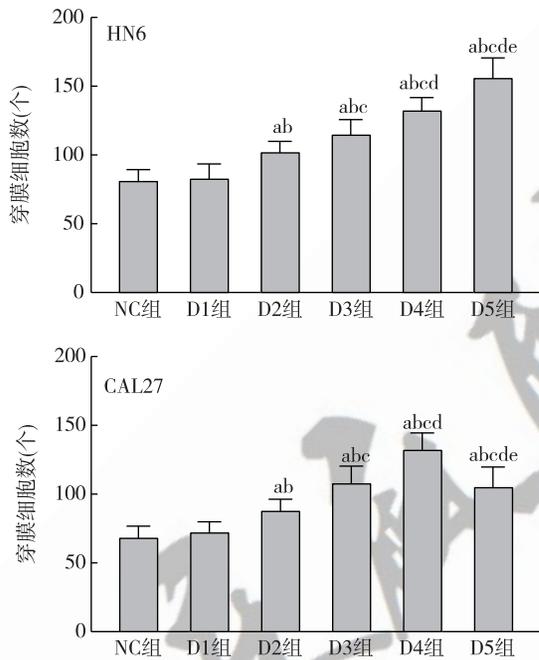


图 2 两个细胞株不同浓度细胞基质胶内穿膜细胞结晶紫染色图 (×8)



注:与 NC 组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 D1 组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与 D2 组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$ ;与 D3 组比较,<sup>d</sup> $P < 0.05$ ;与 D4 组比较,<sup>e</sup> $P < 0.05$

图 3 两个细胞株不同浓度细胞基质胶内穿膜细胞数的比较

**转染效率及 CYP1B1 mRNA 表达量** C 组和 CYP 组细胞慢病毒转染 72 h 后细胞转染效率达 90% 以上,细胞生长状态良好,能持续表达绿色荧光蛋白,两组无明显差异(图 6)。与 C 组比较,CYP 组 CYP1B1 mRNA 表达量明显降低( $P < 0.05$ )(图 7)。

**迁移能力** 与 C 组比较,CYP 组迁移率明显降

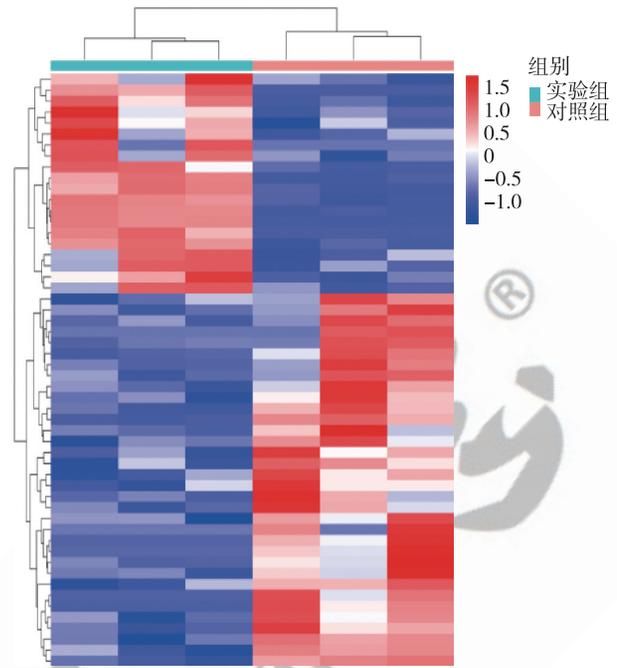


图 4 差异表达基因热图

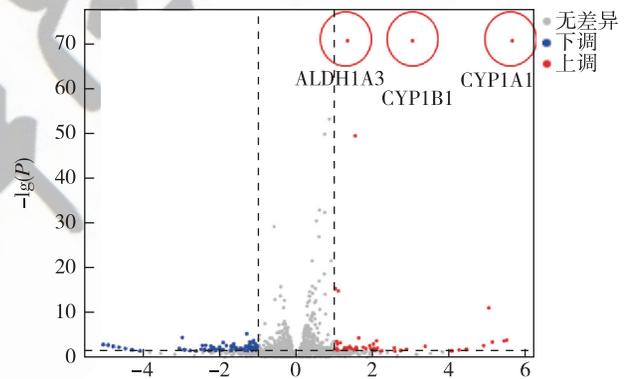


图 5 差异表达基因火山图

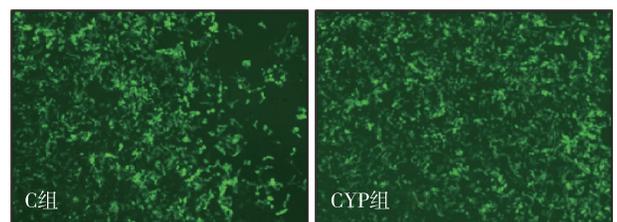


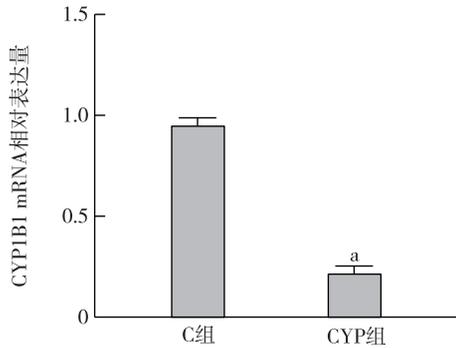
图 6 两组细胞慢病毒转染后绿色荧光蛋白(GFP)荧光图(×40)

低,CD 组和 CYPD 组迁移率明显升高( $P < 0.05$ )。与 CYP 组比较,CD 组和 CYPD 组迁移率明显升高( $P < 0.05$ )。与 CD 组比较,CYPD 组迁移率明显降低( $P < 0.05$ )(表 4,图 8)。

**侵袭能力** 与 C 组比较,CYP 组基质胶内穿膜

细胞数明显减少,CD 组和 CYPD 组基质胶内穿膜细胞数明显增多( $P<0.05$ )。与 CYP 组比较,CD 组和

CYPD 组基质胶内穿膜细胞数明显增多。与 CD 组比较,CYPD 组基质胶内穿膜细胞数明显减少( $P<0.05$ ) (图 9—10)。



注:与 C 组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$

图 7 两组细胞 CYP1B1 mRNA 表达量的比较

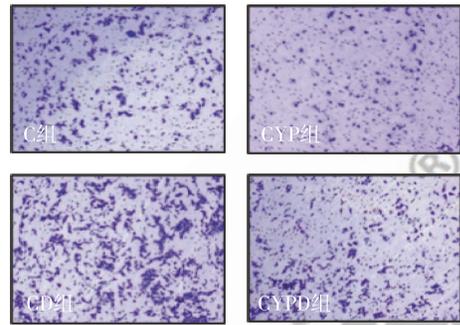
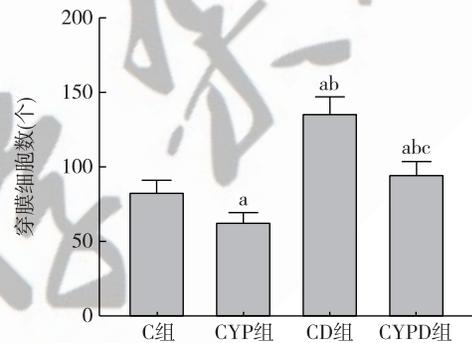


图 9 四组细胞基质胶内穿膜细胞结晶紫染色图( $\times 8$ )

表 4 四组细胞不同时点划痕宽度和迁移率的比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	0 h 划痕宽度 ( $\mu\text{m}$ )	培养 12 h 后 划痕宽度 ( $\mu\text{m}$ )	迁移率 (%)
C 组	238.4 $\pm$ 3.2	122.0 $\pm$ 3.3	48.8 $\pm$ 2.7
CYP 组	258.6 $\pm$ 3.4	173.2 $\pm$ 2.0	33.0 $\pm$ 3.2 <sup>a</sup>
CD 组	250.2 $\pm$ 4.2	67.6 $\pm$ 3.7	73.0 $\pm$ 2.2 <sup>ab</sup>
CYPD 组	252.4 $\pm$ 3.6	118.1 $\pm$ 2.3	53.2 $\pm$ 3.3 <sup>abc</sup>

注:与 C 组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与 CYP 组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ ;与 CD 组比较,<sup>c</sup> $P<0.05$



注:与 C 组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与 CYP 组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ ;与 CD 组比较,<sup>c</sup> $P<0.05$

图 10 四组细胞基质胶内穿膜细胞数的比较

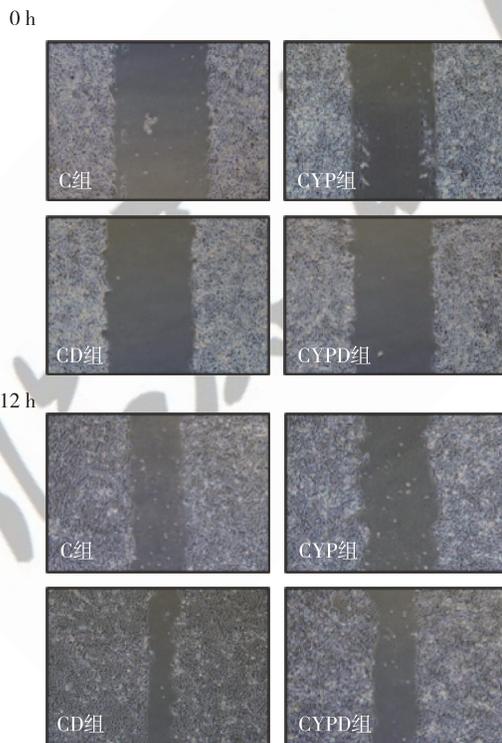


图 8 四组细胞倒置显微镜下划痕宽度图( $\times 40$ )

## 讨 论

鉴于右美托咪定在口腔癌患者中广泛、长时间的应用,本实验研究探讨了其对口腔鳞癌细胞生物学行为的影响和机制。根据既往文献选择右美托咪定浓度范围为 1 nmol/L~10  $\mu\text{mol/L}$ <sup>[7-8]</sup>,结果显示不同浓度右美托咪定对口腔鳞癌细胞增殖无明显影响,但能明显促进细胞侵袭和迁移,且具有剂量依赖性。

近年来右美托咪定对恶性肿瘤细胞生物学行为影响的研究较多,右美托咪定可促进胃癌<sup>[9]</sup>、肺癌<sup>[10]</sup>、乳腺癌<sup>[11]</sup>、淋巴瘤<sup>[12]</sup>、结直肠癌<sup>[6]</sup>、肝癌<sup>[13]</sup>等增殖和迁移,抑制凋亡,但对骨肉瘤<sup>[14]</sup>、骨巨细胞瘤<sup>[7]</sup>、食管癌<sup>[15]</sup>和卵巢癌<sup>[16]</sup>等增殖、迁移和侵袭起抑制作用,对凋亡起促进作用。由于不同类型细胞系的生物学行为不一致,使用不同细胞系评估右美托咪定对恶性肿瘤细胞生物学行为的影响十分重要<sup>[17]</sup>。本实验研究选择两种口腔鳞癌细胞系 HN6

和 CAL27,结果显示右美托咪定培养 24、48 h 对口腔鳞癌细胞增殖无明显影响,该结果与童建华等<sup>[9]</sup>研究相似,后者采用 CCK-8 法未观察到右美托咪定影响胃腺癌细胞的增殖,但能明显促进细胞迁移和侵袭。

右美托咪定促进乳腺癌细胞生物学行为可能通过催乳素自分泌/旁分泌环介导,与信号转录激活子 5 和蛋白激酶 B 信号通路激活有关<sup>[17]</sup>,促进结肠癌 Lovo 细胞侵袭和迁移与 miR-196a-5p 水平上调<sup>[6]</sup>。右美托咪定通过  $\alpha_2$  肾上腺素受体诱导术后单核细胞髓系来源抑制性细胞的增殖,并与血管内皮生长因子结合,诱导肿瘤血管生成,促进肺癌侵袭和转移<sup>[18]</sup>,对骨巨细胞瘤细胞增殖、侵袭及迁移的明显抑制作用可能是通过抑制 p38 MAPK/NF- $\kappa$ B 信号通路实现<sup>[7]</sup>。

由于 HN6 细胞的侵袭和迁移能力增强呈明显剂量依赖性,并且在相同浓度右美托咪定处理下,HN6 的迁移及侵袭能力均高于 CAL27 细胞,因此本实验研究选择 HN6 细胞进行机制研究。实验一结果显示,当右美托咪定浓度为 1  $\mu$ mol/L 时,HN6 及 CAL27 细胞均呈现较强的迁移及侵袭能力,因此,本实验研究选择右美托咪定 1  $\mu$ mol/L 进行实验二。将右美托咪定处理 12 h 后的 HN6 细胞进行转录组测序,结果显示 ALDH1A3、CYP1B1 和 CYP1A1 表达显著升高,分别升高 1.4 倍、3.1 倍和 5.7 倍。CYP1B1 是 CYP 超家族的一个重要成员,参与外源性物质如前致癌物的代谢和激活,通过生物转化将前致癌物激活为致癌物<sup>[19-20]</sup>。Kwon 等<sup>[21]</sup>研究表明,CYP1B1 能够促进乳腺癌 MCF-7 和 MCF-10A 细胞的增殖、侵袭和迁移,此作用可能通过 Sp1 诱导上皮间质转化和 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号传导实现。Morvan 等<sup>[22]</sup>研究表明,CYP1B1 多态性与头颈鳞癌细胞增殖、迁移和化疗耐药性相关,从而明显缩短头颈部癌症患者的生存时间。Presa 等<sup>[23]</sup>研究表明,头颈部癌中 CYP1B1、CYP1A1 和 CYP2W1 高表达,因此提出了一种潜在的靶向治疗头颈部癌方法,即通过利用肿瘤内 CYP 的高表达来代谢激活某些化疗药物前药从而治疗头颈部癌。本实验研究结果显示,敲低 CYP1B1 表达后,右美托咪定处理下 HN6 细胞的侵袭能力和迁移能力均明显降低,提示右美托咪定促进 HN6 细胞侵袭和迁移能力与 CYP1B1 有关,具体机制还有待进一步研究。

综上所述,右美托咪定以剂量依赖的方式增强口腔鳞癌细胞迁移能力和侵袭能力,该作用机制可

能与 CYP1B1 有关。

## 参 考 文 献

- [1] Buggy DJ, Borgeat A, Cata J, et al. Consensus statement from the BJA Workshop on Cancer and Anaesthesia. *Br J Anaesth*, 2015, 114(1): 2-3.
- [2] Heaney A, Buggy DJ. Can anaesthetic and analgesic techniques affect cancer recurrence or metastasis. *Br J Anaesth*, 2012, 109 Suppl 1: i17-i28.
- [3] Liu R, Suo S, Wang Y, et al. Effects of dexmedetomidine and propofol on postoperative analgesia and the cellular immune function of patients undergoing radical gastrectomy for gastric cancer. *Contrast Media Mol Imaging*, 2022, 2022: 7440015.
- [4] 张转, 谭潮, 张冬生, 等. 不同剂量右美托咪定对胃肠道恶性肿瘤根治术患者围术期电解质及术后康复的影响. *临床麻醉学杂志*, 2022, 38(6): 587-593.
- [5] Huang L, Qin C, Wang L, et al. Effects of dexmedetomidine on immune response in patients undergoing radical and reconstructive surgery for oral cancer. *Oncol Lett*, 2021, 21(2): 106.
- [6] 冯锋, 郭志鹏, 王琰. 右美托咪定对结肠癌 LOVO 细胞侵袭和迁移影响的实验研究. *中国现代普通外科进展*, 2021, 24(4): 253-256.
- [7] 罗栩伟, 吴辉, 贺景国, 等. 右美托咪定对骨巨细胞瘤细胞增殖、侵袭及迁移的影响. *医学分子生物学杂志*, 2020, 17(1): 6-12.
- [8] Xia M, Ji NN, Duan ML, et al. Dexmedetomidine regulate the malignancy of breast cancer cells by activating  $\alpha_2$ -adrenoceptor/ERK signaling pathway. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2016, 20(16): 3500-3506.
- [9] 童建华, 姬宁宁, 段满林, 等. 右美托咪定对胃腺癌 SGC-7901 细胞生长和转移的影响. *临床麻醉学杂志*, 2017, 33(11): 1096-1098.
- [10] Wang C, Dato T, Zhao H, et al. Midazolam and dexmedetomidine affect neuroglioma and lung carcinoma cell biology in vitro and in vivo. *Anesthesiology*, 2018, 129(5): 1000-1014.
- [11] Liu Y, Sun J, Wu T, et al. Effects of serum from breast cancer surgery patients receiving perioperative dexmedetomidine on breast cancer cell malignancy: a prospective randomized controlled trial. *Cancer Med*, 2019, 8(18): 7603-7612.
- [12] Inada T, Shirane A, Hamano N, et al. Effect of subhypnotic doses of dexmedetomidine on antitumor immunity in mice. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2005, 27(3): 357-369.
- [13] 虞乐, 黄春霞, 胡军, 等. 右美托咪定对人肝癌 Huh-7 细胞增殖和迁移的影响. *安徽医科大学学报*, 2020, 55(7): 1019-1023.
- [14] Liu Y, Gu X, Liu Y. The effect of dexmedetomidine on biological behavior of osteosarcoma cells through miR-1307 expression. *Am J Transl Res*, 2021, 13(5): 4876-4883.
- [15] Zhang P, He H, Bai Y, et al. Dexmedetomidine suppresses the progression of esophageal cancer via miR-143-3p/epidermal growth factor receptor pathway substrate 8 axis. *Anticancer Drugs*, 2020, 31(7): 693-701.

- [16] 连红梅, 姜丽华. 右美托咪定对卵巢癌细胞相关生物学行为的影响. 实用药物与临床, 2018, 21(4): 369-373.
- [17] Castillo LF, Rivero EM, Goffin V, et al. Alpha(2)-adrenoceptor agonists trigger prolactin signaling in breast cancer cells. Cell Signal, 2017, 34: 76-85.
- [18] Su X, Fan Y, Yang L, et al. Dexmedetomidine expands monocytic myeloid-derived suppressor cells and promotes tumour metastasis after lung cancer surgery. J Transl Med, 2018, 16(1): 347.
- [19] Rendic S, Guengerich FP. Contributions of human enzymes in carcinogen metabolism. Chem Res Toxicol, 2012, 25(7): 1316-1383.
- [20] Dutkiewicz Z, Mikstacka R. Structure-based drug design for cytochrome P450 family 1 inhibitors. Bioinorg Chem Appl, 2018, 2018: 3924608.
- [21] Kwon YJ, Baek HS, Ye DJ, et al. CYP1B1 enhances cell proliferation and metastasis through induction of EMT and activation of Wnt/ $\beta$ -Catenin signaling via Sp1 upregulation. PLoS One, 2016, 11(3): e0151598.
- [22] Morvan VL, Richard É, Cadars M, et al. Cytochrome P450 1B1 polymorphism drives cancer cell stemness and patient outcome in head-and-neck carcinoma. Br J Cancer, 2020, 123(5): 772-784.
- [23] Presa D, Khurram SA, Zubir A, et al. Cytochrome P450 isoforms 1A1, 1B1 AND 2W1 as targets for therapeutic intervention in head and neck cancer. Sci Rep, 2021, 11(1): 18930.

(收稿日期:2022-12-12)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

## 《临床麻醉学杂志》可直接使用缩略语的词汇

美国麻醉医师学会 (ASA)	聚合酶链反应 (PCR)	美国纽约心脏病协会 (NYHA)
酶联免疫吸附试验 (ELISA)	N-甲基-D-天冬氨酸 (NMDA)	吸入氧浓度 (FiO <sub>2</sub> )
$\gamma$ -氨基丁酸 (GABA)	血浆靶浓度 (C <sub>p</sub> )	白细胞介素 (IL)
效应室靶浓度 (C <sub>e</sub> )	肿瘤坏死因子 (TNF)	心率 (HR)
血红蛋白 (Hb)	血压 (BP)	血小板 (Plt)
收缩压 (SBP)	红细胞压积 (Hct)	舒张压 (DBP)
红细胞计数 (RBC)	心率与收缩压乘积 (RPP)	白细胞计数 (WBC)
平均动脉压 (MAP)	体重指数 (BMI)	中心静脉压 (CVP)
心肺转流 (CPB)	脉搏血氧饱和度 (SpO <sub>2</sub> )	靶控输注 (TCI)
潮气量 (V <sub>T</sub> )	患者自控静脉镇痛 (PCIA)	呼吸频率 (RR)
患者自控硬膜外镇痛 (PCEA)	呼气末二氧化碳分压 (P <sub>ET</sub> CO <sub>2</sub> )	患者自控镇痛 (PCA)
动脉血二氧化碳分压 (PaCO <sub>2</sub> )	呼气末正压 (PEEP)	动脉血氧分压 (PaO <sub>2</sub> )
间歇正压通气 (IPPV)	静脉血氧分压 (PvO <sub>2</sub> )	最低肺泡有效浓度 (MAC)
静脉血二氧化碳分压 (PvCO <sub>2</sub> )	脑电双频指数 (BIS)	视觉模拟评分法 (VAS)
听觉诱发电位指数 (AAI)	重症监护病房 (ICU)	麻醉后恢复室 (PACU)
四个成串刺激 (TOF)	天门冬氨酸氨基转移酶 (AST)	心电图 (ECG)
丙氨酸氨基转移酶 (ALT)	警觉/镇静状态评定 (OAA/S)	核因子 (NF)
磁共振成像 (MRI)	羟乙基淀粉 (HES)	计算机断层扫描 (CT)
伊红染色 (HE)	术后认知功能障碍 (POCD)	急性呼吸窘迫综合征 (ARDS)