

- [19] ZHAO F Y, PENG C W, LI H L, et al. Paeoniae Radix Rubra extract attenuates cerebral ischemia injury by inhibiting ferroptosis and activating autophagy through the PI3K/AKT signalling pathway [J]. J Ethnopharmacol, 2023, 315: 116567.
- [20] KHAN Z, NATH N, RAUF A, et al. Multifunctional roles and pharmacological potential of beta-sitosterol: Emerging evidence toward clinical applications [J]. Chem Biol Interact, 2022, 365: 110117.
- [21] AWAD A B, DOWNIE A C, FINK C S. Inhibition of growth and stimulation of apoptosis by beta-sitosterol treatment of MDA-MB-231 human breast cancer cells in culture [J]. Int J Mol Med, 2000, 5 (5): 541-545.
- [22] WEI Y Y, ZHU Z H, HU H T, et al. Eupaformosanin induces apoptosis and ferroptosis through ubiquitination of mutant p53 in triple-negative breast cancer [J]. Eur J Pharmacol, 2022, 924: 174970.
- [23] SIERSBAEK R, SCABIA V, NAGARAJAN S K, et al. IL6/STAT3 signaling hijacks estrogen receptor alpha enhancers to drive breast cancer metastasis [J]. Cancer Cell, 2020, 38 (3): 412-423.
- [24] LI H, YANG P, WANG J, et al. HLF regulates ferroptosis, development and chemoresistance of triple-negative breast cancer by activating tumor cell-macrophage crosstalk [J]. J Hematol Oncol, 2022, 15 (1): 2.
- [25] ZHAO L N, QIU T, JIANG D W, et al. SGCE promotes breast cancer stem cells by stabilizing EGFR [J]. Adv Sci (Weinh), 2020, 7 (14): 1903700.
- [26] WU X H, SHENG H, ZHAO L P, et al. Co-loaded lapatinib/PAB by ferritin nanoparticles eliminated ECM-detached cluster cells via modulating EGFR in triple-negative breast cancer [J]. Cell Death Dis, 2022, 13 (6): 557.
- [27] CAO Q, MUSHAJIANG M, TANG C Q, et al. Role of hypoxia-inducible factor-1alpha and survivin in breast cancer recurrence and prognosis [J]. Heliyon, 2023, 9 (3): e14132.
- [28] YANG H, GENG Y H, WANG P, et al. Extracellular ATP promotes breast cancer chemoresistance via lpha signaling [J]. Cell Death Dis, 2022, 13 (3): 199.
- [29] GUAN Z Y, JIN X, GUAN Z Q, et al. The gut microbiota metabolite capsate regulate SLC2A1 expression by targeting HIF-1α to inhibit knee osteoarthritis-induced ferroptosis [J]. Aging Cell, 2023, 22 (6): e13807.
- [30] YADAV R K, CHAUHAN A S, ZHUANG L, et al. FoxO transcription factors in cancer metabolism [J]. Semin Cancer Biol, 2018, 50: 65-76.
- [31] BOURGEOIS B, MADL T. Regulation of cellular senescence via the FOXO4-p53 axis [J]. FEBS Lett, 2018, 592 (12): 2083-2097.

## • 基础研究 •

# 右美托咪定对大鼠利多卡因局部静脉麻醉的影响机制

陈丽君 卢希林 洁林 岑

**【摘要】 目的** 探讨右美托咪定对利多卡因局部静脉麻醉 (IVRA) 的影响及其机制。**方法** 建立大鼠尾静脉 IVRA 模型给药后, 分别通过甩尾和夹尾试验评估大鼠尾静脉 IVRA 镇痛和麻醉效果。**结果** 右美托咪定可以延长利多卡因 IVRA 镇痛和麻醉持续时间。哌唑嗪、育亨宾以及 ZD7288 不影响右美托咪定延长利多卡因 IVRA 持续时间的作用。毛喉素可以逆转右美托咪定延长利多卡因 IVRA 持续时间的作用。**结论** 右美托咪定通过抑制超极化激活环核苷酸门控通道, 延长利多卡因 IVRA 持续时间。

**【关键词】** 局部静脉麻醉; 利多卡因; 右美托咪定;  $\alpha$  肾上腺素能受体; 超极化激活环核苷酸门控通道

**【中图分类号】** R614 **【文献标识码】** B **【文章编号】** 1002-2600(2024)01-0112-04

局部静脉麻醉 (intravenous regional anesthesia, IVRA) 是一种操作简便、安全有效的麻醉方式, 可以用于组织清创缝合等短时程四肢手术<sup>[1]</sup>。

利多卡因 IVRA 主要缺点是由于止血带疼痛无法维持较长时间的麻醉<sup>[2]</sup>。右美托咪定是高选择性  $\alpha_2$  肾上腺素能受体 ( $\alpha_2$ -AR)

**基金项目:** 福建省中青年教师教育科研项目 (JAT210195)

**作者单位:** 福建中医药大学附属人民医院麻醉科, 福州 350004

**通信作者:** 林 岑, Email: 526045910@qq.com

**DOI:** 10.20148/j.fmj.2024.01.031

激动剂,能够产生镇静、抗交感、镇痛等药理学效应<sup>[3]</sup>。右美托咪定复合利多卡因 IVRA 可以减轻止血带疼痛,并延长麻醉和镇痛持续时间<sup>[4-5]</sup>。然而,右美托咪定产生上述作用的具体机制尚不明确。本研究采用大鼠尾静脉 IVRA 模型,探索右美托咪定对利多卡因 IVRA 的影响及其机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

64 只健康清洁级雄性 Sprague-Dawley 大鼠(8~10 周龄,250~300 g),购自上海斯莱克实验动物有限公司,生产许可证号:SCXK(沪)2022-0004,质量合格证号:2022000515493。饲养于福建中医药大学动物实验中心,参照中国动物福利标准进行饲养,昼夜节律 12 h,大鼠自由活动、摄食和饮水。

### 1.2 试剂及仪器

盐酸右美托咪定(Dexmedetomidine,纯度 $\geq 98\%$ ,Sigma-Aldrich);盐酸利多卡因(Lidocaine,纯度 $> 98\%$ ,Sigma-Aldrich);育亨宾(Yohimbine,纯度 $\geq 98\%$ ,Sigma-Aldrich);哌唑嗪(Prazosin,纯度 $\geq 99\%$ ,Sigma-Aldrich);ZD7288(纯度 $\geq 98\%$ ,Sigma-Aldrich);毛喉素(Forskolin,纯度 $> 98\%$ ,Sigma-Aldrich)。PL-200 热刺激仪(单道型,成都泰盟软件有限公司)。

### 1.3 建模

参照文献[6]的方法建立大鼠尾静脉 IVRA 模型,具体如下:固定大鼠并暴露尾静脉,使用 24G 静脉留置针在远端 1/3 处行尾静脉穿刺置管。尾静脉驱血后在近端 1/3 处使用橡皮筋止血,通过静脉留置针缓慢推注药物,给药 10 min 后松开橡皮筋。

### 1.4 分组与给药

64 只 SD 大鼠随机分为下列 8 组,均使用 0.5 mL 研究药物进行尾静脉 IVRA:(1) Lido 组:0.5%利多卡因;(2) Lido+Dex 组:0.5%利多卡因+6.8  $\mu\text{mol/L}$  右美托咪定;(3) Lido+Dex+Prazosin 组:0.5%利多卡因+6.8  $\mu\text{mol/L}$  右美托咪定(约 3  $\mu\text{g/kg}$ )+1.3 mmol/L 哌唑嗪;(4) Lido+Dex+Yohimbine 组:0.5%利多卡因+6.8  $\mu\text{mol/L}$  右美托咪定+1.6 mmol/L 育亨宾;(5) Lido+ZD7288 组:0.5%利多卡因+2.2 mmol/L ZD7288;(6) Lido+Dex+ZD7288 组:0.5%利多卡因+6.8  $\mu\text{mol/L}$  右美托咪定+2.2 mmol/L ZD7288;(7) Lido+Forskolin 组:0.5%利多卡因+153.6  $\mu\text{mol/L}$

L 毛喉素;(8) Lido+Dex+Forskolin 组:0.5%利多卡因+6.8  $\mu\text{mol/L}$  右美托咪定+153.6  $\mu\text{mol/L}$  毛喉素。

### 1.5 检测指标

通过甩尾试验评估大鼠尾静脉 IVRA 镇痛效果。使用 PL-200 型热刺激仪(成都泰盟软件有限公司,参数设置:热辐射强度 90%,截止时间 10 s)测定甩尾反射潜伏期(tail-flick latency, TFL)。TFL 定义为热刺激开始至大鼠产生甩尾动作的时间。分别于 IVRA 给药后 1、3、5、10 min,之后每 5 min 测试 1 次 TFL,直至 90 min。采用最大效应百分比(percentage of maximum possible effect, %MPE) =  $(\text{TFL}_{\text{给药后}} - \text{TFL}_{\text{基线}}) / (\text{截止时间} - \text{TFL}_{\text{基线}})$  标化镇痛效果。镇痛起效时间定义为 IVRA 给药后至 %MPE 大于 50% 的时间;镇痛持续时间定义为止血带松开后至 %MPE 小于 50% 的时间。

通过夹尾试验评估大鼠尾静脉 IVRA 麻醉效果。甩尾试验结束 10 s 后,止血钳钳夹鼠尾 5 s,若大鼠出现退缩、嘶叫等逃避反应,判断为夹尾试验阳性。麻醉起效时间定义为 IVRA 给药后至夹尾试验阴性的时间;麻醉持续时间定义为止血带松开至出现夹尾试验阳性的时间。

### 1.6 统计学分析

采用 SPSS 25.0 统计学软件进行数据描述与检验。Shapiro-Wilk 检验对计量资料进行正态性检验,正态分布数据以  $\bar{x} \pm s$  描述,采用单因素方差分析比较各组差异, LSD-*t* 检验进行组间两两比较。检验水准  $\alpha=0.05$  (双侧)。

## 2 结果

与 Lido 组相比, Lido+Dex 组 IVRA 镇痛持续时间延长 ( $t=4.093$ ,  $P<0.001$ ),麻醉持续时间延长 ( $t=3.913$ ,  $P<0.001$ ); Lido+ZD7288 组镇痛持续时间延长 ( $t=4.448$ ,  $P<0.001$ ),麻醉持续时间延长 ( $t=4.240$ ,  $P<0.001$ ); Lido+Forskolin 组镇痛持续时间缩短 ( $t=2.135$ ,  $P=0.036$ ),麻醉持续时间缩短 ( $t=2.120$ ,  $P=0.037$ )。与 Lido+Dex 组相比, Lido+Dex+Prazosin 组镇痛持续时间相似 ( $t=0.534$ ,  $P=0.595$ ),麻醉持续时间相似 ( $t=0.652$ ,  $P=0.516$ ); Lido+Dex+Yohimbine 组镇痛持续时间相似 ( $t=0.356$ ,  $P=0.723$ );麻醉持续时间相似 ( $t=0.163$ ,  $P=0.871$ ); Lido+Dex+ZD7288 组镇痛持续时间相似 ( $t=0.890$ ,  $P=0.377$ ),麻醉

持续时间相似 ( $t = 0.652$ ,  $P = 0.516$ ); Lido + Dex + Forskolin 组镇痛持续时间缩短 ( $t = 3.203$ ,  $P = 0.002$ ); 麻醉持续时间缩短 ( $t = 2.935$ ,  $P = 0.004$ )。见表 1。

表 1 各组大鼠 IVRA 镇痛及麻醉作用比较 ( $n=8$ , min,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	镇痛起效时间	麻醉起效时间	镇痛持续时间	麻醉持续时间
Lido 组	1.0±0.0	1.0±0.0	16.3±5.2	16.9±5.3
Lido+Dex 组	1.0±0.0	1.0±0.0	28.8±3.5 <sup>①</sup>	30.6±4.2 <sup>①</sup>
Lido+Dex+Prazosin 组	1.0±0.0	1.0±0.0	30.0±6.5	30.0±7.1
Lido+Dex+Yohimbine 组	1.0±0.0	1.0±0.0	32.5±6.0	33.1±7.5
Lido+ZD7288 组	1.0±0.0	1.0±0.0	29.4±4.2 <sup>①</sup>	30.0±5.3 <sup>①</sup>
Lido+Dex+ZD7288 组	1.0±0.0	1.0±0.0	28.1±4.6 <sup>①</sup>	31.9±4.9 <sup>①</sup>
Lido+Forskolin 组	1.0±0.0	1.0±0.0	10.6±3.2 <sup>①</sup>	11.9±2.6 <sup>①</sup>
Lido+Dex+Forskolin 组	1.0±0.0	1.0±0.0	16.9±4.6 <sup>②</sup>	18.8±5.8 <sup>②</sup>
F 值	③	③	12.17	10.82
P 值			$P < 0.001$	$P < 0.001$

注: 与 Lido 组比较, ①  $P < 0.05$ ; 与 Lido+Dex 组比较, ②  $P < 0.05$ ; ③ 数值一样, 不适合统计。

### 3 讨论

为避免右美托咪定的镇静作用影响大鼠 IVRA 镇痛与麻醉效果的测定, 本研究大鼠尾静脉 IVRA 右美托咪定剂量设置为  $3 \mu\text{g}/\text{kg}$  (约  $6.8 \mu\text{mol}/\text{L}$ ), 与右美托咪定临床常用剂量 ( $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) 相对应<sup>[7]</sup>。本研究结果表明:  $3 \mu\text{g}/\text{kg}$  右美托咪定对大鼠尾静脉 IVRA 不产生明显的镇静作用, 延长利多卡因 IVRA 镇痛及麻醉持续时间, 这与 MEMİŞ 等<sup>[4]</sup>的临床研究结论基本一致。

$\alpha_1$ -AR 是一种 G 蛋白偶联跨膜受体, 广泛分布于血管平滑肌, 可与交感神经节后纤维释放的儿茶酚胺类递质结合, 引起血管收缩<sup>[8]</sup>。血管收缩可以延缓局麻药吸收速度从而延长局部麻醉作用时间。本研究结果显示: 哌唑嗪 ( $\alpha_1$ -AR 抑制剂) 不能逆转右美托咪定延长利多卡因 IVRA 持续时间的的作用。推测其原因可能是由于右美托咪定作为高选择性  $\alpha_2$ -AR 激动剂 ( $\alpha_2 : \alpha_1$  为 1 600 : 1), 对  $\alpha_1$ -AR 的兴奋作用不是其主要的药理学效应。此外  $\alpha_2$ -AR 广泛分布于中枢和外周神经系统, 其在脊髓水平调控突触前膜伤害类神经递质的释放从而减少痛觉传导<sup>[9-10]</sup>。本研究结果显示: 育亨宾 ( $\alpha_2$ -AR 抑制剂) 不能逆转右美托咪定延长利多卡因 IVRA 持续时间的的作用。KOSUGI 等<sup>[11]</sup>的研究表明: 右美托咪定呈剂量依赖性抑制坐骨神经动作电位, 但该作用同样不能被  $\alpha_2$ -AR 拮抗剂所逆转, 这与本研究结果相似。上述研究结果提示: 右美托咪定延长利多卡因 IVRA 持续时间的的作用可能与  $\alpha$ -AR 无关。

超极化激活环核苷酸门控通道 (hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channel,

HCN channel) 是一种非选择性阳离子通道, 参与了局麻药阻滞外周神经的作用机制<sup>[12]</sup>。研究 HCN 离子通道功能的常用工具药物有 ZD7288 和毛喉素: ZD7288 是非选择性的 HCN 通道抑制剂; 毛喉素能够上调细胞内 cAMP 水平, 使其与 HCN 通道 CNBD 区结合, 间接促进 HCN 通道的开放<sup>[13]</sup>。本研究结果显示: ZD7288 延长了利多卡因 IVRA 持续作用时间; 毛喉素缩短了利多卡因 IVRA 持续作用时间, 提示 HCN 通道参与了利多卡因 IVRA 的作用机制。此外, 有研究表明: 右美托咪定可通过抑制 HCN 通道延长罗哌卡因坐骨神经阻滞持续时间<sup>[14]</sup>。同样, 本研究发现: 右美托咪定与 ZD7288 合用不能进一步延长利多卡因 IVRA 作用持续时间, 而毛喉素逆转了右美托咪定延长利多卡因 IVRA 持续时间的的作用。上述结果提示, 抑制 HCN 通道参与了右美托咪定延长利多卡因 IVRA 持续时间的的作用。因此, 选用抑制 HCN 通道的药物 (例如氯胺酮等) 作为 IVRA 佐剂<sup>[15]</sup>, 理论上可以延长利多卡因 IVRA 的作用时间, 尚有待进一步临床研究证实。

综上所述, 右美托咪定延长利多卡因 IVRA 持续时间的的作用与抑制外周神经 HCN 通道有关。

### 参考文献

- [1] TEUNKENS A, VERMEULEN K, BELMANS A, et al. Patient satisfaction with intravenous regional anaesthesia or an axillary block for minor ambulatory hand surgery: A randomised controlled study [J]. Eur J Anesthesiol, 2020, 37 (10): 847-856.
- [2] LOSER B, PETZOLDT M, LOSER A, et al. Intravenous re-

- gional anesthesia; a historical overview and clinical review [J]. J Anesth Hist, 2019, 5 (3): 99-108.
- [3] LEE S. Dexmedetomidine: present and future directions [J]. Korean J Anesthesiol, 2019, 72 (4): 323-330.
- [4] MEMIS D, TURAN A, KARAMANLIOGLU B, et al. Adding dexmedetomidine to lidocaine for intravenous regional anesthesia [J]. Anesth Analg, 2004, 98 (3): 835-840.
- [5] KARMANIOLOU I, STAIKOU C, SURDA P. The Role of Dexmedetomidine as an additive to intravenous regional anesthesia; a systematic review and meta-analysis [J]. Balkan Med J, 2021, 38 (3): 156-164.
- [6] LUO W J, CHAI Y F, LIU J, et al. A model of intravenous regional anesthesia in rats [J]. Anesth Analg, 2010, 110 (4): 1227-1232.
- [7] BRUMMETT C M, PADDA A K, AMODEO F S, et al. Perineural dexmedetomidine added to ropivacaine causes a dose-dependent increase in the duration of thermal antinociception in sciatic nerve block in rat [J]. Anesthesiology, 2009, 111 (5): 1111-1119.
- [8] ZACHARIA J, MAUBAN J R, RAINA H, et al. High vascular tone of mouse femoral arteries in vivo is determined by sympathetic nerve activity via  $\alpha_1$ A- and  $\alpha_1$ D-adrenoceptor subtypes [J]. PLoS One, 2013, 8 (6): e65969.
- [9] MATSUSHITA Y, MANABE M, Kitagawa I, et al. Inhibition of transient receptor potential vanilloid type 1 through  $\alpha_2$  adrenergic receptors at peripheral nerve terminals relieves pain [J]. J Vet Med Sci, 2021, 83 (10): 1570-1581.
- [10] HAO J W, QIAO W L, LI Q, et al. Suppression of P2X3 receptor-mediated currents by the activation of  $\alpha_2$ A-adrenergic receptors in rat dorsal root ganglion neurons [J]. CNS Neurosci Ther, 2022, 28 (2): 289-297.
- [11] KOSUGI T, MIZUTA K, FUJITA T, et al. High concentrations of dexmedetomidine inhibit compound action potentials in frog sciatic nerves without  $\alpha_2$  adrenoceptor activation [J]. Br J Pharmacol, 2010, 160 (7): 1662-1676.
- [12] ZHOU C, KE B, ZHAO Y, et al. Hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channels may contribute to regional anesthetic effects of lidocaine [J]. Anesthesiology, 2015, 122 (3): 606-618.
- [13] BEAUMONT V, ZUCKER R S. Enhancement of synaptic transmission by cyclic AMP modulation of presynaptic Ih channels [J]. Nat Neurosci, 2000, 3 (2): 133-141.
- [14] BRUMMENTT C M, HONG E K, JANDA A M, et al. Perineural dexmedetomidine added to ropivacaine for sciatic nerve block in rats prolongs the duration of analgesia by blocking the hyperpolarization-activated cation current [J]. Anesthesiology, 2011, 115 (4): 836-843.
- [15] SHIMIZU M, MI X, TOYODA F, et al. Propofol, an anesthetic agent, inhibits HCN channels through the allosteric modulation of the cAMP-dependent gating mechanism [J]. Biomolecules, 2022, 12 (4): 570.

## • 基础研究 •

# miR-586 通过 SFRP1 调控骨肉瘤细胞增殖、迁移、侵袭的机制研究

周子杰<sup>1,2</sup> 张家豪<sup>2</sup> 姜吉霖<sup>1,2</sup> 李书林<sup>2,3</sup> 付解辉<sup>4</sup> 汤发强<sup>1,2,3</sup>

**【摘要】** 目的 探究 miR-586 调控人骨肉瘤细胞 U2OS 的生物学行为的可能机制。方法 通过比较骨肉瘤细胞系和人成骨细胞中 miR-586 的差异表达筛选目标细胞株, 干扰 miR-586 表达后检测其对目标细胞株增殖、迁移、侵袭能力的影响; 用双荧光素酶实验、实时荧光定量聚合酶链式反应、Western blot 验证 miR-586 与 SFRP1 相关性, 检测干预 miR-586、SFRP1 后对目标细胞株迁移、侵袭能力的影响。结果 相较于人成骨细胞 hFOB1.19, 骨肉瘤细胞系中 U2OS 细胞的 miR-586 表达量显著增加; 调低 miR-586 后 U2OS 细胞增殖、侵袭、迁移能力下降, SFRP1 的 mRNA 及蛋白表达增加; 过表达 miR-586 后 U2OS 细胞增殖、侵袭、迁移能力上升, SFRP1 的 mRNA 及蛋白表达下降; 同时调低 miR-586、SFRP1 后, U2OS 细胞侵袭及迁移能力较敲低 miR-586 组上升。结论 在本研究中, miR-586/SFRP1 轴调控骨肉瘤细胞 U2OS 的增殖与生物学行为, 具有作为骨肉瘤的潜在诊断、治疗标志物的可能性。

**【关键词】** 骨肉瘤; 微小 RNA; 分泌型卷曲相关蛋白 1; SFRP1

**【中图分类号】** R738 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1002-2600(2024)01-0115-05

作者单位: 1 福建中医药大学 中西医结合学院, 福州 350122; 2 福建医科大学 省立临床医学院, 福州 350001; 3 福建省立医院骨一科, 福州 350001; 4 福建中医药大学 附属康复医院, 福州 350122

通信作者: 汤发强, Email: faqiangtang@163.com

DOI: 10.20148/j.fmj.2024.01.032