右美托咪定增加分泌型SERPINE1表达对甲状腺癌细胞恶性生物学行为的影响Δ

童雪燕[1*]，蒋文锋[2]，曾亮平[3]，林　燕[4#]（1.上饶市中心医院药剂科，江西 上饶　334000；2.上饶市中心医院手足显微外科，江西 上饶　334000；3.上饶市中心医院骨科，江西 上饶　334000；4.上饶市人民医院药剂科，江西 上饶　334000）

中图分类号　R965；R736.1　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2025）10-1179-07
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2025.10.05

摘　要　目的　探讨右美托咪定（DEX）增加分泌型丝氨酸蛋白酶抑制剂家族E成员1（SERPINE1）蛋白表达对甲状腺癌（THCA）细胞恶性生物学行为的影响。**方法**　使用1、10、100 nmol/L的DEX处理THCA细胞（KTC-1、TPC-1），检测其活力、克隆形成率、迁移率和侵袭数。通过全基因组测序和基因本体等富集分析探讨DEX在THCA中的潜在生物学功能；通过蛋白质-蛋白质相互作用网络挖掘DEX的核心靶点，并评估DEX核心靶点的表达特征及其与患者预后的关系。检测DEX对2种THCA细胞中核心靶点mRNA、蛋白表达及蛋白分泌的影响，通过敲减核心靶点来初步验证该靶点对DEX相关作用的影响。**结果**　与对照（0 nmol/L DEX）组比较，1、10、100 nmol/L DEX组2种THCA细胞的活力（1 nmol/L DEX组KTC-1细胞24 h时除外）均显著升高，克隆形成率、迁移率（1 nmol/L DEX组2种THCA细胞除外）和侵袭数亦显著升高且呈浓度依赖性（$P<0.05$）。DEX处理或不处理的2种THCA细胞中，共有287个差异表达基因（75个上调、212个下调），富集于磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶B、Wnt和衰老相关分泌表型等信号通路；SERPINE1是DEX促THCA的核心靶点，其mRNA及蛋白在THCA组织/细胞中的表达均显著升高，且与患者的不良预后有关（$P<0.05$）；与对照组比较，1、10、100 nmol/L DEX组2种THCA细胞中SERPINE1 mRNA及蛋白的表达均显著上调，且在条件培养基中该蛋白的分泌亦显著增多，均呈浓度依赖性（$P<0.05$）。敲减*SERPINE1*后，DEX对2种THCA细胞增殖、克隆形成、迁移、侵袭能力的促进作用受到了显著抑制（$P<0.05$）。**结论**　DEX能够促进THCA细胞的增殖、迁移和侵袭，上述作用可能与增加分泌型SERPINE1蛋白的表达有关。

关键词　右美托咪定；甲状腺癌；SERPINE1；恶性生物学行为

Effects of increased secretory SERPINE1 expression by dexmedetomidine on the malignant biological behavior of thyroid carcinoma cells

TONG Xueyan[1], JIANG Wenfeng[2], ZENG Liangping[3], LIN Yan[4] (1. Dept. of Pharmacy, Shangrao Central Hospital, Jiangxi Shangrao 334000, China; 2. Dept. of Hand and Foot Microsurgery, Shangrao Central Hospital, Jiangxi Shangrao 334000, China; 3. Dept. of Orthopedics, Shangrao Central Hospital, Jiangxi Shangrao 334000, China; 4. Dept. of Pharmacy, Shangrao People's Hospital, Jiangxi Shangrao 334000, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE To explore the effects of dexmedetomidine (DEX) increasing serpin peptidase inhibitor clade E member 1 (SERPINE1) protein on the malignant biological behavior of thyroid carcinoma (THCA) cells. **METHODS** THCA cells (KTC-1, TPC-1) were treated with 1, 10 and 100 nmol/L DEX, and their viabilities, clone formation rates, migration rates and invasion number were examined. Potential biological functions of DEX in THCA cells were analyzed through whole genome sequencing and gene ontology enrichment analysis. The core targets of DEX were mined through a protein-protein interaction network. The expression characteristics of DEX core targets and their relationship with patient prognosis were evaluated. The effects of DEX on mRNA and protein expressions of core targets and protein secretion in 2 types of THCA cells were detected, and the effects of this target on DEX-related effects were validated preliminarily by knocking down the core target. **RESULTS** Compared with the control group (0 nmol/L DEX), DEX at 1, 10 and 100 nmol/L significantly increased the viabilities of 2 types of THCA cells (except for the KTC-1 cells in the 1 nmol/L DEX group at 24 h), concentration-dependently elevated the rates of clone formation, migration rates (except for 2 types of THCA cells in 1 nmol/L DEX group), and the number of invasion ($P<0.05$). A total of 287 differently expressed genes (75 up-regulated and 212 down-regulated) were enriched in signaling pathways such as phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B, Wnt, and senescence-associated secretory phenotypes in

Δ**基金项目** 江西省卫生健康委科技计划项目（No.202212777，No.20197555）；上饶市科技计划项目（No.2023CZDX82）

＊**第一作者** 副主任药师。研究方向：药理学、医院药学。E-mail：tongxueyan180@163.com

＃**通信作者** 副主任药师。研究方向：药理学、医院药学。E-mail：19581192@qq.com

the 2 kinds of DEX-treated or non-treated THCA cells. SERPINE1 was a core target of DEX for THCA, and its mRNA and protein expression in THCA tissues/cells were significantly elevated and associated with poor prognosis of the patients ($P<0.05$). Compared with the control group, mRNA and protein expression of SERPINE1 was significantly up-regulated in 2 types of cells in the 1, 10 and 100 nmol/L DEX groups, while the secretion of this protein in conditioned medium was also significantly increased, all of which showed concentration-dependence ($P<0.05$). After knocking down *SERPINE1*, the promoting effects of DEX on the proliferation, colony formation, migration and invasion abilities of two types of THCA cells were significantly inhibited ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** DEX can promote the proliferation, migration and invasion of THCA cell, and the above effects may be associated with the expression of increased secretory SERPINE1 protein.

KEYWORDS dexmedetomidine; thyroid carcinoma; SERPINE1; malignant biological behavior

甲状腺癌（thyroid carcinoma，THCA）是常见的内分泌系统恶性肿瘤，每年新发病例约58万，是全球第九大癌症类型[1]。对于THCA，目前临床首选的治疗方法是手术切除。随着诊断工具和治疗手段的不断进步，患者的5年相对总生存率可达98.2%[2]，但仍有10%～30%的THCA患者术后会出现复发和转移的情况，这是癌症相关死亡的主要原因[3—4]。近年来，越来越多的学者开始关注围手术期麻醉与恶性肿瘤治疗结局的关系，并发现某些麻醉药物可能对肿瘤细胞的生长、侵袭和转移存在潜在影响，进而影响肿瘤患者术后临床结局[5—6]。因此，优化THCA患者围手术期麻醉方案，对于抑制肿瘤细胞恶性生物学行为、降低患者手术风险、改善患者整体预后至关重要。

右美托咪定（dexmedetomidine，DEX）是一种高选择性的α2肾上腺素能受体激动剂，具有催眠、镇痛、镇静、抗焦虑、调节免疫等多种药理活性，并可减轻患者手术应激和器官损伤，被广泛用于围手术期镇静[7]。然而，随着研究的深入，学者发现，DEX对不同恶性肿瘤细胞生物学行为的影响存在矛盾[8]。基于此，本研究通过体外细胞实验，结合微阵列测序和生物信息学等方法初步探讨DEX对THCA细胞恶性生物学行为的影响，并分析其潜在生物学机制，旨在为THCA临床治疗方法的开发提供理论依据。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括iMark型吸收光酶标仪（美国Bio-Rad公司）、DMIL LED型倒置光学显微镜（德国Leica公司）、Q2000A型荧光定量聚合酶链式反应（PCR）系统（杭州朗基科学仪器有限公司）、SCG-W3000型化学发光成像系统（武汉赛维尔生物科技有限公司）等。

1.2 主要药品与试剂

盐酸右美托咪定注射液[批号145108-58-3，规格1 mL∶100 μg（按DEX计）]购自江苏恒瑞医药股份有限公司；胎牛血清（fetal bovine serum，FBS）、RP 1640培养基、DMEM高糖培养基（批号分别为A5670701、11875093、11965092）均购自美国Gibco公司；CCK-8试剂盒、Trizol试剂、SYBR®实时PCR试剂盒、RIPA裂解液、BCA蛋白浓度测定试剂盒、兔丝氨酸蛋白酶抑制剂家族E成员1（serpin peptidase inhibitor clade E member 1，SERPINE1）单克隆抗体、辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔免疫球蛋白G二抗（批号分别为C0037、R0016、D7268S、P0013C、P0012、AF7965、A0208）均购自上海碧云天生物技术有限公司；PrimeScript™逆转录试剂盒（批号RR047Q）购自日本Takara公司；兔β-肌动蛋白（β-actin）单克隆抗体（批号GB11015）购自武汉赛维尔生物科技有限公司；化学发光试剂盒、Lipofectamine 2000转染试剂（批号分别为WB7104、11668019）均购自美国Thermo Fisher Scientific公司；Vivaspin® 15R超滤浓缩管（批号VS15RH12）购自德国Sartorius公司；RNeasy试剂盒（批号74126）购自德国Qiagen公司；靶向SERPINE1的小干扰RNA（si-SERPINE1）及其对应阴性对照（si-NC）、PCR相关引物（*SERPINE1*的正、反向引物分别为5′-GCAAGGCACCTCTGAGAACT-3′、5′-GGGTGAGAAAACCACGTTGC-3′，β-actin的正、反向引物分别为5′-ACAGAGCCTCGCCTTTGCC-3′、5′-TGGCCATCTCTTGCTCGAAG-3′）均由上海吉玛制药技术有限公司提供。

1.3 细胞

人甲状腺滤泡上皮细胞Nthy-ori 3-1以及人THCA细胞KTC-1、TPC-1均购自中国科学院细胞库。所有细胞均于－80 ℃下保存，备用。

2 方法

2.1 细胞的培养

取Nthy-ori 3-1细胞，置于含10%FBS、100 U/mL青霉素和100 μg/mL链霉素的RP 1640培养基中培养；取KTC-1、TPC-1细胞，置于含10%FBS、100 U/mL青霉素和100 μg/mL链霉素的DMEM高糖培养基中培养。培养条件均为37 ℃、5%CO_2，下同。

2.2 DEX对THCA细胞恶性生物学行为影响的检测

2.2.1 增殖能力

采用CCK-8法检测。取对数生长期的KTC-1、TPC-1细胞，分别以每孔5×10^3个接种于96孔板中，并分为对照组和不同浓度（1、10、100 nmol/L，浓度参考相关文献[9]设置，下同）DEX组，同时设置不含细胞、不含药物的空白组，每组设置3个复孔。对照组和空白组直接加入培养基，不同浓度DEX组分别加入含相应浓度DEX的培

养基。分别在培养0、24、48、72 h时，于各孔中加入CCK-8试剂10 μL，再于37 ℃下孵育2 h，使用酶标仪于450 nm波长处检测各孔的光密度（OD）值，计算细胞活力[细胞活力（%）=（实验组OD值－空白组OD值）/（对照组OD值－空白组OD值）×100%]，并绘制浓度-时间曲线。

2.2.2　细胞克隆形成能力

采用克隆形成实验检测。取对数生长期的KTC-1、TPC-1细胞，分别以每孔1 000个接种于6孔板中，并按“2.2.1”项下方法分组（勿需设置空白组）、处理。培养14 d后，收集细胞，用磷酸盐缓冲液（PBS）洗涤3次后，用4%多聚甲醛溶液固定15 min，然后用0.1%结晶紫染液染色10 min；将细胞洗涤、干燥后，使用倒置光学显微镜对各组细胞的克隆形成情况（将细胞数＞50个的集落记为1个克隆）进行观察，并使用Image J软件处理并计算克隆形成率[克隆形成率（%）=克隆细胞数/接种细胞数×100%]。

2.2.3　细胞迁移能力

采用划痕实验检测。取对数生长期的KTC-1、TPC-1细胞，分别以每孔1×10^5个接种于6孔板中，培养，待细胞融合至100%时，更换不含血清的培养基，并用移液器枪头在各孔底部中央划一直线，用PBS清洗后，将细胞按“2.2.1”项下方法分组（勿需设置空白组）、处理。分别于培养0、24 h时使用倒置光学显微镜观察各组细胞的划痕宽度，并使用Image J软件计算细胞迁移率[细胞迁移率（%）=（0 h时划痕宽度－24 h时划痕宽度）/0 h时划痕宽度×100%]。

2.2.4　细胞侵袭能力

采用Transwell实验检测。取对数生长期的KTC-1、TPC-1细胞，用不含血清的培养基重悬后，分别以每孔1×10^5个接种于预先用基质胶处理的Transwell小室上层；将含10%FBS的培养基置于小室下层；上层细胞按“2.2.1”项下方法分组（勿需设置空白组）、处理。培养24 h，收集穿膜细胞，用4%多聚甲醛溶液固定30 min，再用0.1%结晶紫染液染色10 min，使用倒置光学显微镜观察侵袭细胞（呈紫色）并使用Image J软件统计侵袭数。

2.3　DEX对THCA细胞恶性生物学行为影响的靶点预测

2.3.1　差异表达基因分析

首先，使用RNeasy试剂盒从DEX（100 nmol/L）处理48 h或不处理的THCA细胞中分离总RNA（一式3份），利用DNBSEQ测序平台以微阵列技术进行全基因组测序（由深圳华大基因科技有限公司完成）。根据全基因组测序结果，使用R 4.3.0软件的“Limma”包，以$|\log_2$变化倍数（fold change，FC）$|>2$、校正$P<0.05$为标准[10]筛选差异表达基因（differently expressed genes，DEGs）并绘制火山图。

2.3.2　DEGs富集分析

将DEGs导入Metascape平台（http://metascape.org/gp/index.html），在“input as species”和“analysis as species”项下选择“homo sapiens”，将最小重叠（mini overlap）设为3（$P<0.01$）、最小富集（mini enrichment）设为1.5，进行基因本体（gene ontology，GO）、京都基因和基因组数据库（Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes，KEGG）、维基代谢通路（WikiPathway）富集分析。

2.3.3　DEGs相关网络构建及核心靶点识别

将DEGs导入String数据库（http://cn.string-db.org），进行蛋白质-蛋白质相互作用（protein-protein interaction，PPI）网络分析（置信阈值≥0.4），并以Cytoscape 3.8.0软件进行可视化展示；随后，使用该软件的“cytoNCA”插件计算网络中各节点的介数中心度（betweenness centrality，BC），并由大到小排序，以识别核心靶点[11]。

2.3.4　核心靶点在THCA中的表达特征及预后分析

借助UALCAN数据库（http://ualcan.path.uab.edu/index.html）中的癌症基因组图谱（the Cancer Genome Atlas，TCGA）模块，以癌旁正常甲状腺组织为参照，探索THCA组织中核心靶点mRNA的表达特征（以每百万转录本数表示）。

以Nthy-ori 3-1细胞为对照，采用Western blot法检测核心靶点的表达，以比较正常甲状腺细胞与THCA细胞中核心靶点蛋白的表达特征。具体操作如下：取对数生长期的Nthy-ori 3-1、KTC-1、TPC-1细胞，分别以每孔1×10^6个接种于96孔板中，培养24 h；收集细胞，用PBS清洗后，加入RIPA裂解液裂解、提取总蛋白，经浓度检测后进行变性处理；取变性蛋白适量，进行10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离并转移至聚偏二氟乙烯膜上，于室温下以5%脱脂牛奶封闭1 h；加入一抗（核心靶点、β-actin的稀释比例均为1∶1 000），于4 ℃下孵育过夜；加入相应二抗（稀释比例为1∶1 000），于室温下孵育2 h；洗膜后，以化学发光试剂显影，并于化学发光成像系统下成像，以β-actin为内参计算核心靶点的蛋白表达水平。

采用Kaplan-Meier Plotter数据库（https://kmplot.com/analysis/）分析THCA患者体内核心靶点表达与预后关系。

2.4　DEX对THCA细胞恶性生物学行为影响的靶点验证

2.4.1　DEX对核心靶点mRNA及蛋白表达影响的检测

采用实时荧光定量PCR（real-time quantitative fluorescence PCR，RT-qPCR）法检测核心靶点mRNA的表达。取对数生长期的KTC-1、TPC-1细胞，分别以每孔1×10^6个接种于96孔板中，按“2.2.1”项下方法分组（勿需设置空白组）、处理、培养24 h。收集细胞，使用Trizol

试剂分离总RNA，经浓度、纯度检测后，根据相应试剂盒说明书将其逆转录为cDNA。随后，以此cDNA为模板进行PCR扩增。反应体系包括cDNA模板1.6 μL，正、反向引物各1 μL，SYBR Green mix 10 μL，ddH$_2$O 6.4 μL。PCR反应条件为95 ℃预变性10 min；95 ℃变性15 s，60 ℃退火1 min，72 ℃延伸15 s，共循环40次。以β-actin作为内参，使用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算核心靶点mRNA的表达水平。

采用Western blot法检测核心靶点蛋白的表达。取对数生长期的KTC-1、TPC-1细胞，分别以每孔1×10^6个接种于96孔板中，按“2.2.1”项下方法分组（勿需设置空白组）、处理、培养24 h。收集细胞，其余按“2.3.4”项下方法操作。

2.4.2　DEX对核心靶点蛋白分泌的影响检测

为进一步阐明核心靶点表达上调的机制，本研究采用Western blot法评估经DEX处理后的THCA细胞能否分泌核心靶点蛋白。取对数生长期的KTC-1、TPC-1细胞，以每孔1×10^6个接种于6孔板中，按“2.2.1”项下方法分组（勿需设置空白组）、处理、培养。待细胞融合至80%左右时，再继续培养24 h，然后移除培养基，加入不含FBS的条件培养基（conditioned medium，CM），培养6 h后，回收CM并在4 ℃下离心10 min，按“2.4.1”项下实验操作检测各组细胞CM中核心靶点蛋白的表达水平。

2.4.3　敲减核心靶点对DEX作用的影响检测

取对数生长期的KTC-1、TPC-1细胞，分别以每孔3×10^6个接种于12孔板中，并分为si-SERPINE1组和si-NC组，每组设置3个复孔。使用Lipofectamine 2000转染试剂分别转染si-SERPINE1或其阴性对照。转染24 h后，通过“2.4.1”项下RT-qPCR法检测其SERPINE1 mRNA的表达水平来验证转染效果，再按“2.2”项下方法检测各组细胞的增殖、克隆形成、迁移、侵袭能力。

2.5　统计学方法

采用SPSS 22.0、GraphPad Prism 9.5软件对数据进行统计分析并作图。计数资料以率表示，组间比较采用χ^2检验；计量资料以$\bar{x}\pm s$表示，多组间比较采用单因素方差分析，进一步两两比较采用SNK-q检验。检验水准$\alpha=0.05$。

3　结果

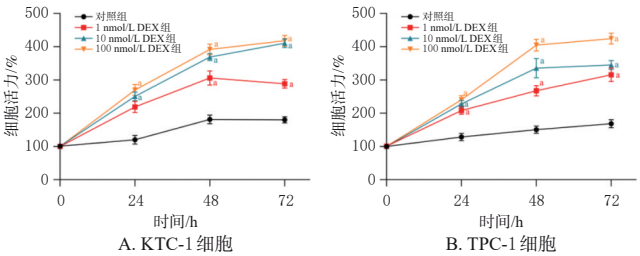
3.1　DEX对THCA细胞恶性生物学行为的影响

3.1.1　增殖能力

与对照组比较，1、10、100 nmol/L DEX组2种THCA细胞24、48、72 h时的细胞活力均显著升高（$P<0.05$），且有随DEX浓度增加而升高的趋势。结果见图1。

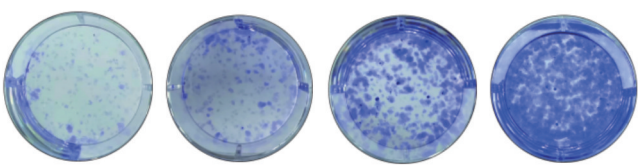
3.1.2　细胞克隆形成能力

与对照组[KTC-1细胞：(8.67±1.06)%；TPC-1细胞：(10.60±1.01)%]比较，1、10、100 nmol/L DEX组2种THCA细胞的克隆形成率[KTC-1细胞：(14.00±0.53)%、(17.73±1.04)%、(24.07±1.10)%；TPC-1细胞：(16.97±0.93)%、(22.27±0.90)%、(28.10±2.25)%]均显著升高，且呈浓度依赖性（$P<0.05$）。结果见图2（限于篇幅，仅展示KTC-1细胞结果，TPC-1细胞结果可扫描本文首页二维码链接页面中“增强出版”板块查看附图1）。



a：与对照组比较，$P<0.05$。

图1　不同浓度DEX对THCA细胞增殖能力的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）



A. 对照组　B. 1 nmol/L DEX组　C. 10 nmol/L DEX组　D. 100 nmol/L DEX组

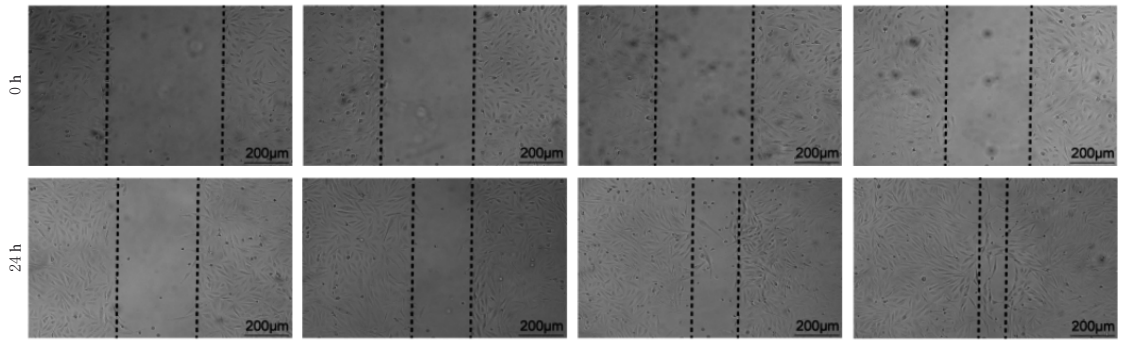
图2　不同浓度DEX对KTC-1细胞克隆形成能力的影响（结晶紫染色，培养皿直径3.5 cm）

3.1.3　细胞迁移能力

与对照组[KTC-1细胞：(16.93±4.06)%；TPC-1细胞：(7.03±1.52)%]比较，10、100 nmol/L DEX组2种THCA细胞的迁移率[KTC-1细胞：(36.34±1.89)%、(43.98±1.73)%；TPC-1细胞：(32.76±2.81)%、(45.08±1.36)%]均显著升高，且呈浓度依赖性（$P<0.05$），而1 nmol/L DEX组2种THCA细胞的迁移率[KTC-1细胞：(15.97±4.31)%；TPC-1细胞：(4.71±1.64)%]无明显变化，差异均无统计学意义（$P>0.05$）。结果见图3（限于篇幅，仅展示KTC-1细胞结果，TPC-1细胞结果可扫描本文首页二维码链接页面中“增强出版”板块查看附图2）。

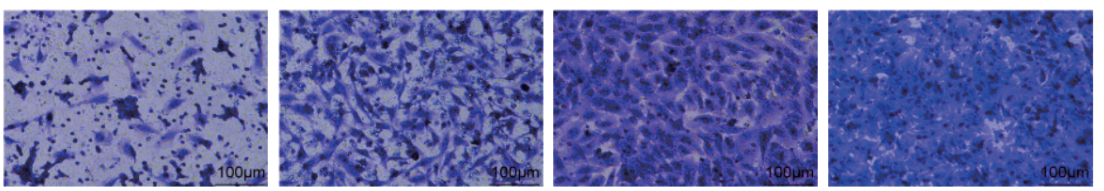
3.1.4　细胞侵袭能力

与对照组[KTC-1细胞：(75.33±17.39)个；TPC-1细胞：(27.67±6.03)个]比较，1、10、100 nmol/L DEX组2种THCA细胞的侵袭数[KTC-1细胞：(151.00±13.89)、(209.00±12.12)、(280.67±10.97)个；TPC-1细胞：(68.33±13.43)、(164.00±11.53)、(228.67±19.22)个]均显著升高，且呈浓度依赖性（$P<0.05$）。结果见图4（限于篇幅，仅展示KTC-1细胞结果，TPC-1细胞结果可扫描本文首页二维码链接页面中“增强出版”板块查看附图3）。



A. 对照组　B. 1 nmol/L DEX组　C. 10 nmol/L DEX组　D. 100 nmol/L DEX组

图3　不同浓度DEX对KTC-1细胞迁移能力的影响（划痕试验）



A. 对照组　B. 1 nmol/L DEX组　C. 10 nmol/L DEX组　D. 100 nmol/L DEX组

图4　不同浓度DEX对KTC-1细胞侵袭能力的影响（结晶紫染色）

3.2　DEX对THCA细胞恶性生物学行为影响的靶点预测结果

3.2.1　DEGs筛选及富集分析结果

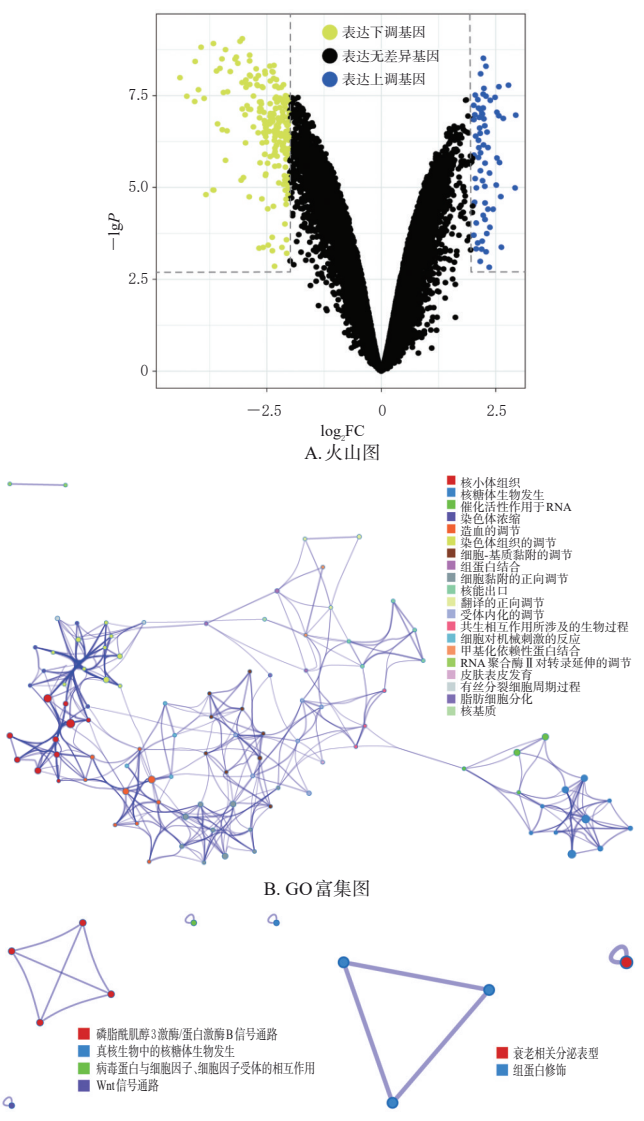
火山图（图5A）显示，DEX处理或不处理的2种THCA细胞（KTC-1和TPC-1细胞）共有287个DEGs，其中75个表达上调、212个表达下调。上述DEGs的GO富集（图5B）主要涉及核小体组织等部位以及核糖体生物发生、造血的调节等功能；KEGG富集（图5C）主要涉及磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶B、Wnt等信号通路；WikiPathway富集（图5D）主要涉及衰老相关分泌表型、组蛋白修饰等信号通路。

3.2.2　DEGs的PPI网络构建及核心靶点识别结果

基于DEGs构建的PPI网络所示，SERPINE1是核心靶点，BC为4 073.149 2（限于篇幅，PPI网络图可扫描本文首页二维码链接页面中“增强出版”板块查看）。

3.2.3　核心靶点在THCA中的表达特征及预后分析结果

UALCAN数据库相关数据（图6A）显示，与癌旁正常甲状腺组织比较，THCA组织中SERPINE1 mRNA的表达显著上调（$P<0.05$）。Western blot实验结果（图6B；限于篇幅，电泳图可扫描本文首页二维码链接页面中“增强出版”板块查看）显示，与正常甲状腺细胞（Nthy-ori 3-1细胞）比较，2种THCA细胞中SERPINE1蛋白的表达均显著上调（$P<0.05$）。Kaplan-Meier Plotter数据库相关数据集证实，SERPINE1高表达THCA患者的总体生存率显著低于低表达患者（$P<0.05$）。

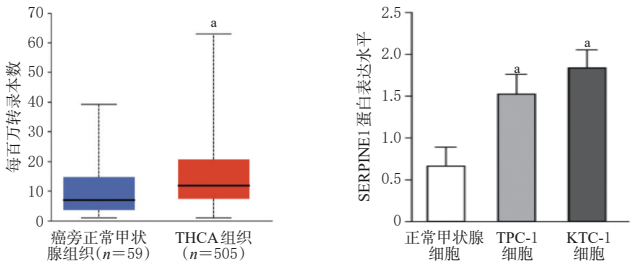


A. 火山图

B. GO富集图

C. KEGG富集图　D. WikiPathway富集图

图5　DEGs及富集分析结果



A. mRNA表达箱式图　　B. 蛋白表达柱形图（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

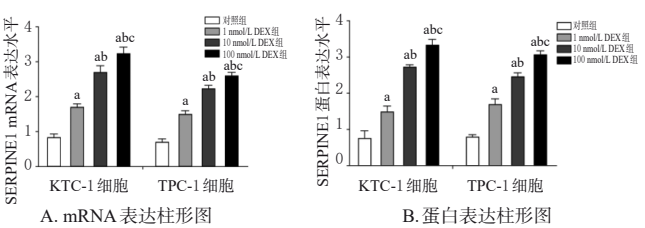
a：与癌旁正常甲状腺组织/正常甲状腺细胞相比，$P<0.05$。

图6　核心靶点在THCA中的表达特征及预后分析结果

3.3　DEX对THCA细胞恶性生物学行为影响的靶点验证结果

3.3.1　DEX对核心靶点mRNA、蛋白表达的影响

与对照组比较，1、10、100 nmol/L DEX组2种THCA细胞中SERPINE1 mRNA及蛋白的表达均显著上调，且呈浓度依赖性（$P<0.05$）。结果见图7（限于篇幅，电泳图可扫描本文首页二维码链接页面中“增强出版”板块查看）。



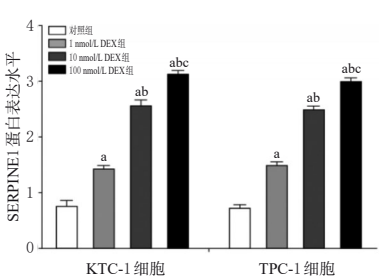
A. mRNA表达柱形图　　B. 蛋白表达柱形图

a：与对照组比较，$P<0.05$；b：与1 nmol/L DEX组比较，$P<0.05$；c：与10 nmol/L DEX组比较，$P<0.05$。

图7　不同浓度DEX对SERPINE1 mRNA及蛋白表达的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

3.3.2　DEX对核心靶点蛋白分泌的影响

与对照组比较，1、10、100 nmol/L DEX组2种THCA细胞CM中SERPINE1蛋白的分泌显著增多，且呈浓度依赖性（$P<0.05$），表明SERPINE1可能是一种分泌蛋白。结果见图8（限于篇幅，电泳图可扫描本文首页二维码链接页面中“增强出版”板块查看）。



a：与对照组比较，$P<0.05$；b：与1 nmol/L DEX组比较，$P<0.05$；c：与10 nmol/L DEX组比较，$P<0.05$。

图8　不同浓度DEX对THCA细胞CM中SERPINE1蛋白表达的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

3.3.3　敲减核心靶点对DEX作用的影响

与si-NC组[KTC-1细胞：0.98±0.13；TPC-1细胞：0.95±0.21]比较，si-SERPINE1组2种THCA细胞中SERPINE1 mRNA的表达[KTC-1细胞：0.24±0.08；TPC-1细胞：0.37±0.07]均显著降低（$P<0.05$），提示转染成功。

与si-NC组比较，si-SERPINE1组2种THCA细胞的活力、克隆形成率、迁移率、侵袭数均显著降低（$P<0.05$）。结果见表1（细胞克隆、迁移、侵袭实验观察/显微图略）。

表1　敲减核心靶点对DEX作用的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

细胞	组别	细胞活力/%			克隆形成率/%	迁移率/%	侵袭数
		24 h	48 h	72 h			
KTC-1	si-NC组	140.00±10.00	220.00±10.00	280.00±10.00	0.41±0.02	70.56±1.19	235.00±28.16
	si-SERPINE1组	106.67±5.77[a]	150.00±10.00[a]	203.33±11.55[a]	0.30±0.01[a]	41.40±3.82[a]	90.33±8.14[a]
TPC-1	si-NC组	146.67±5.77	236.67±5.77	306.67±15.28	0.38±0.01	62.44±2.45	284.67±17.79
	si-SERPINE1组	110.00±10.00[a]	156.67±5.77[a]	196.67±11.55[a]	0.18±0.01[a]	32.63±2.89[a]	147.33±19.55[a]

a：与si-NC组比较，$P<0.05$。

4　讨论

本研究体外细胞实验结果显示，经DEX处理后，2种THCA细胞的增殖、克隆形成、迁移、侵袭能力均显著增强，且普遍呈浓度依赖性，提示DEX具有一定的促癌活性。然而，DEX诱导THCA细胞恶性生物学行为的具体机制尚未阐明。为此，本研究进行了潜在机制探索和初步验证。

首先，本研究通过微阵列全基因组测序和生物信息学分析发现，DEX处理或不处理的2种THCA细胞共有287个DEGs（75个上调、212个下调）；这些DEGs主要富集于磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶B、Wnt、衰老相关分泌表型等信号通路。通过后续的PPI网络分析进一步发现，DEX促THCA的核心靶点为SERPINE1。既往研究表明，磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶B和Wnt是经典的癌症相关信号通路，广泛参与细胞的增殖、转化、代谢及肿瘤的发生[12—13]。其中，Wnt信号通路被激活后可进一步调控包括*SERPINE1*在内的多种基因的转录，与恶性肿瘤的发生发展密切相关[14]。SERPINE1是丝氨酸蛋白酶抑制剂家族E的重要成员，其编码基因位于人7号染色体（7q21.3～q22）长臂上，能迅速抑制纤溶酶活性，并参与调节炎症反应、伤口愈合、细胞黏附、恶性肿瘤进展等多种生理病理过程[15—16]。

已有研究证实，SERPINE1在胃癌、结肠癌组织中呈高表达，并与患者的不良预后密切相关[17—18]，其机制可能与调节肿瘤细胞周期、凋亡、血管生成和肿瘤微环境有关[19]。本研究结合UALCAN、Kaplan-Meier Plotter数据库相关信息和Western blot实验结果也得出了相似结论，即与癌旁甲状腺组织/正常甲状腺细胞比较，SERPINE1 mRNA及蛋白的表达均显著升高，且其高表

达与THCA患者更差的预后有关。既往研究指出，SERPINE1是一种分泌型蛋白，可参与调控细胞的生物学行为[20]。为探究DEX能否通过促进SERPINE1蛋白的分泌进而发挥相应作用，本研究以CM替换含血清培养基，借助Western blot技术检测SERPINE1蛋白的表达情况。结果显示，DEX可促进SERPINE1蛋白在2种THCA细胞中的表达。随后，本研究进一步通过敲减核心靶点来评价下调SERPINE1表达对DEX相应作用的影响。结果显示，敲减核心靶点后，DEX对2种THCA细胞增殖、克隆形成、迁移、侵袭能力的促进作用受到了抑制，提示DEX促进THCA细胞恶性生物学行为的作用可能是通过增加分泌型SERPINE1蛋白的表达来实现的。

综上所述，DEX能够促进THCA细胞的增殖、迁移和侵袭，上述作用可能与增加分泌型SERPINE1蛋白的表达有关。这提示临床应谨慎使用DEX，且SERPINE1有望成为THCA的潜在治疗靶点。但本研究存在以下不足：首先，本研究仅限于体外细胞实验，所得结论尚需体内研究进一步验证；其次，本研究并未探索DEX与SERPINE1间的具体作用机制及上/下游信号转导途径；最后，本研究尚缺乏DEX处理后的细胞形态学观察及更全面的毒性评估。

参考文献

[1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249.

[2] GALLARDO E, MEDINA J, SÁNCHEZ J C, et al. SEOM clinical guideline thyroid cancer: 2019[J]. Clin Transl Oncol, 2020, 22(2): 223-235.

[3] WANG H X, ZHANG C, LI Q R, et al. Development and validation of prediction models for papillary thyroid cancer structural recurrence using machine learning approaches[J]. BMC Cancer, 2024, 24(1): 427.

[4] DE CARVALHO A Y, KOHLER H F, GOMES C C, et al. Predictive factors for recurrence of papillary thyroid carcinoma: analysis of 4, 085 patients[J]. Acta Otorhinolaryngol Ital, 2021, 41(3): 236-242.

[5] LEAL P D C, ALBUQUERQUE M A C, DIEGO L A D S, et al. Anesthesia and cancer[J]. Rev Assoc Med Bras, (1992), 2024, 70(Suppl. 1): e2024S102.

[6] CHANG C Y, WU M Y, CHIEN Y J, et al. Anesthesia and long-term oncological outcomes: a systematic review and meta-analysis[J]. Anesth Analg, 2021, 132(3): 623-634.

[7] YUKI K. The immunomodulatory mechanism of dexmedetomidine[J]. Int Immunopharmacol, 2021, 97: 107709.

[8] CAI Q, LIU G Q, HUANG L S, 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.

[9] TIAN H, HOU L, XIONG Y M, 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.

[10] LIU T T, LI R, HUO C, et al. Identification of CDK2-related immune forecast model and ceRNA in lung adenocarcinoma, a pan-cancer analysis[J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 682002.

[11] TANG Y, LI M, WANG J X, et al. CytoNCA: a cytoscape plugin for centrality analysis and evaluation of protein interaction networks[J]. Biosystems, 2015, 127: 67-72.

[12] JIN S, BORKHUU O, BAO W, et al. Signaling pathways in thyroid cancer and their therapeutic implications[J]. J Clin Med Res, 2016, 8(4): 284-296.

[13] YUAN Y M, WU D P, HOU Y F, et al. Wnt signaling: modulating tumor-associated macrophages and related immunotherapeutic insights[J]. Biochem Pharmacol, 2024, 223: 116154.

[14] MO Y Z, WANG Y M, ZHANG L S, et al. The role of Wnt signaling pathway in tumor metabolic reprogramming [J]. J Cancer, 2019, 10(16): 3789-3797.

[15] CHEN T Y, ZHOU M, LIN M Q, et al. Research progress on the SERPINE1 protein and chronic inflammatory diseases of the upper respiratory tract: a literature review[J]. Int Arch Allergy Immunol, 2021, 182(11): 1097-1102.

[16] MORROW G B, MUTCH N J. Past, present, and future perspectives of plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) [J]. Semin Thromb Hemost, 2023, 49(3): 305-313.

[17] CHEN S J, LI Y Q, ZHU Y H, et al. SERPINE1 overexpression promotes malignant progression and poor prognosis of gastric cancer[J]. J Oncol, 2022, 2022: 2647825.

[18] WANG Y G, WANG J Y, GAO J C, et al. The expression of SERPINE1 in colon cancer and its regulatory network and prognostic value[J]. BMC Gastroenterol, 2023, 23(1): 33.

[19] KUBALA M H, DECLERCK Y A. The plasminogen activator inhibitor-1 paradox in cancer: a mechanistic understanding[J]. Cancer Metastasis Rev, 2019, 38(3): 483-492.

[20] SAKAMOTO H, KOMA Y I, HIGASHINO N, et al. PAI-1 derived from cancer-associated fibroblasts in esophageal squamous cell carcinoma promotes the invasion of cancer cells and the migration of macrophages[J]. Lab Invest, 2021, 101(3): 353-368.

（收稿日期：2024-09-24　修回日期：2025-02-28）

（编辑：张元媛）