doi:10.11659/jjssx.09E025070

·基础研究·

瑞芬太尼对脑胶质瘤细胞恶性生物学行为的影响机制研究

吕文静[1],唐润栋[2],刘 昆[3],张华山[1],司敬栋[1],张兴月[1] (1.聊城市第二人民医院麻醉科,山东 聊城 252600;2.青岛大学附属医院麻醉科,山东 青岛 266000;3.聊城市第二人民医院神经外科,山东 聊城 252600)

[摘 要] **目的** 探讨瑞芬太尼对脑胶质瘤细胞恶性生物学行为的影响及可能机制。**方法** 用0、0.5、1.0、2.0、4.0、8.0 mg/mL瑞芬太尼处理脑胶质瘤细胞U87 MG,CCK-8检测细胞活性,计算IC_{50};将U87 MG细胞分为对照组(Control组)、瑞芬太尼组(Remifentanil组)、瑞芬太尼+Jagged-1/Notch信号通路激活剂组(Remifentanil+Jagged-1组)、Jagged-1/Notch信号通路抑制剂组(DAPT组)、瑞芬太尼+Jagged-1/Notch信号通路抑制剂组(Remifentanil+DAPT组);细胞克隆实验检测细胞增殖能力;流式细胞术检测细胞凋亡情况;Western blot检测细胞增殖、凋亡、上皮间质转化(EMT)及Jagged-1/Notch信号通路相关蛋白表达。建立裸鼠移植瘤模型,分析瑞芬太尼对移植瘤生长及Jagged-1/Notch信号通路相关蛋白表达的影响;免疫组化检测瘤组织增殖、凋亡、EMT相关蛋白表达。**结果** 与Control组比较,Remifentanil组和DAPT组细胞克隆数减少($P<0.05$),Ki67、PCNA、Snail、N-cadherin、Vimentin、Jagged-1、Notch1、Hes1蛋白表达降低($P<0.05$),细胞凋亡率、Bax、C-caspase-3表达升高($P<0.05$);与Remifentanil组比较,Remifentanil+Jagged-1组细胞克隆数增加($P<0.05$),Ki67、PCNA、Snail、N-cadherin、Vimentin、Jagged-1、Notch1、Hes1表达升高($P<0.05$),细胞凋亡率,Bax、C-caspase-3蛋白表达降低($P<0.05$);与Remifentanil组和DAPT组比较,Remifentanil+DAPT组细胞克隆数减少($P<0.05$),Ki67、PCNA、Snail、N-cadherin、Vimentin、Jagged-1、Notch1、Hes1蛋白表达降低($P<0.05$),细胞凋亡率,Bax、C-caspase-3蛋白表达升高($P<0.05$)。裸鼠移植瘤实验结果显示,与NC组比较,REM组移植瘤体积、瘤质量及Jagged-1、Notch1、Hes1、Ki67、PCNA、Snail、N-cadherin和Vimentin表达降低($P<0.05$),Bax、C-caspase-3表达升高($P<0.05$)。**结论** 瑞芬太尼可抑制脑胶质瘤细胞的增殖及EMT,并促进其凋亡,该作用与抑制Jagged-1/Notch信号通路相关。

[关键词] 瑞芬太尼;Jagged-1/Notch信号通路;脑胶质瘤;增殖;凋亡;上皮间质转化

[中图分类号] R739.41;R971+.2 [文献标志码] A [收稿日期] 2025-09-18

[基金项目] 山东省医药卫生科技项目(202404041077)

[通信作者] 张兴月,E-mail:13869512532@163.com

[15] Guo Z, Zhang Y, Wang H, et al. Hypoxia-induced downregulation of PGK1 crotonylation promotes tumorigenesis by coordinating glycolysis and the TCA cycle [J]. Nat Commun, 2024, 15(1): 6915. doi: 10.1038/s41467-024-51232-w.

[16] Li Z, Yin M, Zhang H, et al. BMX represses thrombin-PAR1-mediated endothelial permeability and vascular leakage during early sepsis [J]. Circ Res, 2020, 126(4): 471-485. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.119.315769.

[17] Siddall E, Khatri M, Radhakrishnan J. Capillary leak syndrome: etiologies, pathophysiology, and management [J]. Kidney Int, 2017, 92(1): 37-46. doi: 10.1016/j.kint.2016.11.029.

[18] Girardis M, David S, Ferrer R, et al. Understanding, assessing and treating immune, endothelial and haemostasis dysfunctions in bacterial sepsis [J]. Intensive Care Med, 2024, 50(10): 1580-1592. doi: 10.1007/s00134-024-07586-2.

[19] Molema G, Zijlstra J, van Meurs M, et al. Renal microvascular endothelial cell responses in sepsis-induced acute kidney injury [J]. Nat Rev Nephrol, 2022, 18(2): 95-112. doi: 10.1038/s41581-021-00489-1.

[20] Li R, Meng M, Chen Y, et al. ATP-citrate lyase controls endothelial gluco-lipogenic metabolism and vascular inflammation in sepsis-associated organ injury [J]. Cell Death Dis, 2023, 14(7): 401. doi: 10.1038/s41419-023-05932-8.

[21] Deng Z, He M, Hu H, et al. Melatonin attenuates sepsis-induced acute kidney injury by promoting mitophagy through SIRT3-mediated TFAM deacetylation [J]. Autophagy, 2024, 20(1): 151-165. doi: 10.1080/15548627.2023.2252265.

[22] Qiao J, Tan Y, Liu H, et al. Histone H3K18 and Ezrin lactylation promote renal dysfunction in sepsis-associated acute kidney injury [J]. Adv Sci (Weinh), 2024, 11(28): e2307216. doi: 10.1002/advs.202307216.

[23] Gong T, Wang Q, Loughran P, et al. Mechanism of lactic acidemia-promoted pulmonary endothelial cells death in sepsis: role for CIRP-ZBP1-PANoptosis pathway [J]. Mil Med Res, 2024, 11(1): 71. doi: 10.1186/s40779-024-00574-z.

[24] Liu B, Li N, Liu Y, et al. BRD3308 suppresses macrophage oxidative stress and pyroptosis via upregulating acetylation of H3K27 in sepsis-induced acute lung injury [J]. Burns Trauma, 2024, 12: tkae033. doi: 10.1093/burnst/tkae033.

[25] Sharpe A, McKenzie M. Mitochondrial fatty acid oxidation disorders associated with short-chain enoyl-CoA hydratase (ECHS1) deficiency [J]. Cells, 2018, 7(6): 46. doi: 10.3390/cells7060046.

(编辑:龙小芬)

Research on the mechanism of remifentanil on the malignant biological behaviors of glioma cells

LYU Wen-jing[1], TANG Run-dong[2], LIU Kun[3], ZHANG Hua-shan[1], SI Jing-dong[1], ZHANG Xing-yue[1] (1.Department of Anesthesiology, Liaocheng Second People's Hospital, Liaocheng Shandong 252600, China; 2.Department of Anesthesiology, the Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao Shandong 266000, China; 3.Department of Neurosurgery, Liaocheng Second People's Hospital, Liaocheng Shandong 252600, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of remifentanil on malignant biological behaviors of glioma cells and its potential mechanism. **Methods** U87 MG glioma cells were treated with remifentanil at concentrations of 0, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, and 8.0 mg/mL. Cell viability was assessed by CCK-8 assay, and IC_{50} was calculated. U87 MG cells were divided into the Control group, the Remifentanil group, the Remifentanil+Jagged-1/Notch signaling pathway activator group (the Remifentanil+Jagged-1 group), the Jagged-1/Notch signaling pathway inhibitor group (the DAPT group), and the Remifentanil+Jagged-1/Notch signaling pathway inhibitor group (the Remifentanil+DAPT group). Cell colony formation assay was used to detect cell proliferation ability. Flow cytometry was used to detect cell apoptosis. Western blot was used to detect the expression levels of proteins related to cell proliferation, apoptosis, epithelial-mesenchymal transition (EMT), and the Jagged-1/Notch signaling pathway. A nude mouse xenograft tumor model was established to evaluate the effects of remifentanil on tumor growth and the expression levels of proteins related to Jagged-1/Notch signaling pathway. Immunohistochemistry was used to detect the expression levels of proliferation, apoptosis, and EMT-related proteins in tumor tissues. **Results** Compared with the Control group, the number of cell colonies and the expression levels of Ki67, PCNA, Snail, N-cadherin, Vimentin, Jagged-1, Notch1 and Hes1 proteins in both the Remifentanil group and the DAPT group were decreased ($P<0.05$), while the apoptosis rate and the expression levels of Bax and C-caspase-3 proteins were increased ($P<0.05$). Compared with the Remifentanil group, the number of cell colonies and the expression levels of Ki67, PCNA, Snail, N-cadherin, Vimentin, Jagged-1, Notch1 and Hes1 proteins in the Remifentanil+Jagged-1 group were increased ($P<0.05$), while the apoptosis rate and the expression levels of Bax and C-caspase-3 proteins were decreased ($P<0.05$). Compared with the Remifentanil group and the DAPT group, the number of cell colonies and the expression levels of Ki67, PCNA, Snail, N-cadherin, Vimentin, Jagged-1, Notch1 and Hes1 proteins in the Remifentanil+DAPT group were decreased ($P<0.05$), while the apoptosis rate and the expression levels of Bax and C-caspase-3 proteins were increased ($P<0.05$). The results of the nude mouse xenograft tumor experiment showed that compared with the NC group, the tumor volume and tumor weight, as well as the expression levels of Jagged-1, Notch1, Hes1, Ki67, PCNA, Snail, N-cadherin and Vimentin in the REM group were decreased ($P<0.05$), while the expression levels of Bax and C-caspase-3 were increased ($P<0.05$). **Conclusion** Remifentanil inhibits the proliferation and EMT and promotes apoptosis of glioma cells, and this effect is associated with the inhibition of Jagged-1/Notch signaling pathway.

Keywords: remifentanil; Jagged-1/Notch signaling pathway; glioma; proliferation; apoptosis; epithelial-mesenchymal transition

脑胶质瘤是发生于颅腔内的一种神经系统恶性肿瘤，随着肿瘤体积的增大会引起颅内压增高，导致患者出现抽搐、头痛、昏迷等症状，严重者可出现语言、活动等神经功能障碍甚至死亡[1]。脑胶质瘤病死率高，且随着年龄增长，其发病率持续升高[2]。手术是目前脑胶质瘤的主要治疗手段，但由于脑胶质瘤具有极强的浸润性，难以实现完全切除，术后常需辅以放疗、化疗、免疫治疗等。尽管这些辅助治疗能在一定程度上缓解病情，但无法根治，病情易反复且会产生显著副作用，患者5年生存率极低[3]。因此，寻求脑胶质瘤的新型治疗药物与策略仍是当前研究的重点。研究表明，阿片类药物对癌症的发生与发展具有一定抑制作用[4]。瑞芬太尼作为一种超短效阿片受体激动剂，具有镇静镇痛、稳定血流动力学、减轻应激反应的作用，还可抑制肝癌细胞的增殖、迁移与侵袭[4]，在麻醉管理中应用广泛，但其对脑胶质瘤的影响目前尚不明确。Jagged-1/Notch信号通路是一类高度保守的信号转导途径，参与调控肿瘤细胞增殖、凋亡等多种生物学行为；其中，抑制Notch信号通路可有效抑制胶质瘤细胞的增殖、迁移、侵袭、上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)及血管生成拟态[5]。本研究旨在探究瑞芬太尼是否可通过调控Jagged-1/Notch信号通路影响脑胶质瘤细胞的恶性生物学行为，以期为脑胶质瘤的临床治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要材料

人脑胶质瘤细胞U87 MG(批号：HT-X1726)购自深圳市豪地华拓生物科技有限公司；4周龄BALB/c裸鼠购自山东艾茂达康生命科学有限公司[生产许可证号：SCXK(鲁) 2023 0010]。瑞芬太尼(批号：AD4090011)购自宜昌人福药业有限责任公司；Jagged-1(纯度≥95%，批号：J658621)购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司；Jagged-1/Notch信号通路抑制剂DAPT

(纯度≥98%)购自翌圣生物科技(上海)股份有限公司;兔源多克隆Ki67、PCNA抗体(批号:DL98546A、DL90859A)购自无锡市东林科技发展有限责任公司;兔源多克隆Bax、C-caspase-3抗体(批号:WL01637、WL01992)购自沈阳万类生物科技有限公司;兔源多克隆Snail、N-cadherin、Vimentin抗体(批号:38667、48495、33541)购自南京莱富赛生物科技有限公司;兔源多克隆Jagged-1抗体(批号:YM-Y1448R)购自上海远慕生物科技有限公司;兔源多克隆Notch1、Hes1抗体(批号:orb256723、orb77206)购自武汉博欧特生物科技有限公司。

1.2 *方法*

1.2.1 细胞培养 将人脑胶质瘤细胞U87 MG接种于DMEM培养基(含10%胎牛血清、100 U/mL链霉素、100 U/mL青霉素)并放置在5% CO_2、37 ℃恒温培养箱中,消化传代,取第3代对数期细胞进行后续实验研究。

1.2.2 CCK-8检测细胞活性 将对数期U87 MG细胞接种于96孔板培养24 h,分别加入0、0.5、1.0、2.0、4.0、8.0 mg/mL瑞芬太尼处理24 h,参照CCK-8细胞活力检测试剂盒说明书,加入CCK-8试剂孵育1.5 h,测定各组细胞在450 nm波长处吸光度,计算细胞存活率。

1.2.3 细胞分组与处理 将对数期U87 MG细胞分为对照组(Control组)、瑞芬太尼组(Remifentanil组)、瑞芬太尼+Jagged-1/Notch信号通路激活剂组(Remifentanil+Jagged-1组)、Jagged-1/Notch信号通路抑制剂组(DAPT组)、瑞芬太尼+Jagged-1/Notch信号通路抑制剂组(Remifentanil+DAPT组)。其中Remifentanil组给予4.0 mg/mL瑞芬太尼处理24 h;Remifentanil+Jagged-1组给予4.0 mg/mL瑞芬太尼及10 μmol/L Jagged-1处理24 h[6];DAPT组给予20 μmol/L DAPT处理24 h[7];Remifentanil+DAPT组给予4.0 mg/mL瑞芬太尼及20 μmol/L DAPT处理24 h。

1.2.4 细胞克隆实验检测细胞增殖能力 将对数期U87 MG细胞参照1.2.3项下处理后接种于6孔板,37 ℃培养2周,清洗后固定染色,观察并计算菌落克隆形成数。

1.2.5 流式细胞术检测细胞凋亡情况 将对数期U87 MG细胞参照1.2.3项下处理后,收集细胞,加入Annexin V-FITC、PI染色试剂反应,流式细胞仪检测细胞凋亡情况。

1.2.6 Western blot检测细胞增殖、凋亡、EMT及Jagged-1/Notch信号通路相关蛋白表达 将对数期U87 MG细胞参照1.2.3项下处理后,收集细胞,用蛋白裂解液充分裂解提取总蛋白并定量,先将蛋白变性后行SDS-PAGE电泳,然后湿转至PVDF膜,牛奶封闭,加入一抗4 ℃孵育,次日加入二抗室温孵育,再与ECL孵育,采集图像并用Image J软件进行灰度分析。

1.2.7 裸鼠移植瘤建立 在12只BALB/c裸鼠右腋皮下注射10^6/mL对数期U87 MG细胞,待肿瘤长至约100 mm^3时,将裸鼠均分REM组和NC组,分别腹腔注射8 mg/kg瑞芬太尼[8]及生理盐水,每日1次,连续21 d,然后每3 d测量肿瘤体积,绘制肿瘤体积变化曲线。给药结束次日,颈椎脱臼处死裸鼠,剥离出移植瘤并称重,取部分瘤组织检测Jagged-1/Notch信号通路相关蛋白表达,剩余瘤组织甲醛固定待用。

1.2.8 免疫组化检测瘤组织增殖、凋亡、EMT及Jagged-1/Notch信号通路相关蛋白表达 将上述甲醛固定的移植瘤组织浸蜡包埋制作石蜡切片,然后脱蜡至水,抗原修复,灭活后进行血清封闭,与一抗4 ℃反应,次日与二抗反应1 h,然后显色处理,荧光显微镜下观察并用Image J软件进行光密度分析。

1.3 *统计学方法*

采用SPSS 25.0软件进行统计学分析,符合正态分布的计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用*SNK-q*检验。$P<0.05$表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 *瑞芬太尼对脑胶质瘤细胞活性的影响*

瑞芬太尼可抑制U87 MG细胞的活性,且随着浓度增加细胞活性逐渐降低。瑞芬太尼处理U87 MG细胞的IC_{50}为5.097 mg/mL,本研究选择最接近IC_{50}的浓度4 mg/mL作为实验处理浓度进行后续研究,见图1。

2.2 *瑞芬太尼对脑胶质瘤细胞增殖的影响*

与Control组比较,Remifentanil组和DAPT组细

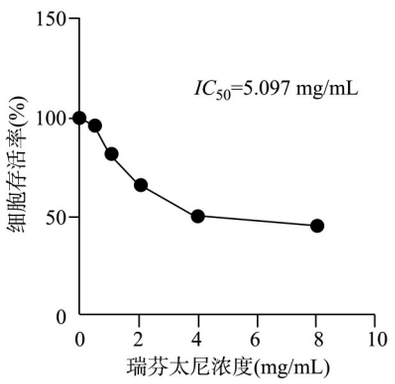


图1 瑞芬太尼处理U87 MG细胞的IC_{50}

胞克隆数减少(P<0.05),Ki67、PCNA蛋白表达降低(P<0.05);与Remifentanil组比较,Remifentanil+Jagged-1组细胞克隆数增加(P<0.05),Ki67、PCNA蛋白表达升高(P<0.05);与Remifentanil组和DAPT组比较,Remifentanil+DAPT组细胞克隆数减少(P<0.05),Ki67、PCNA蛋白表达降低(P<0.05),见图2、图3、表1。

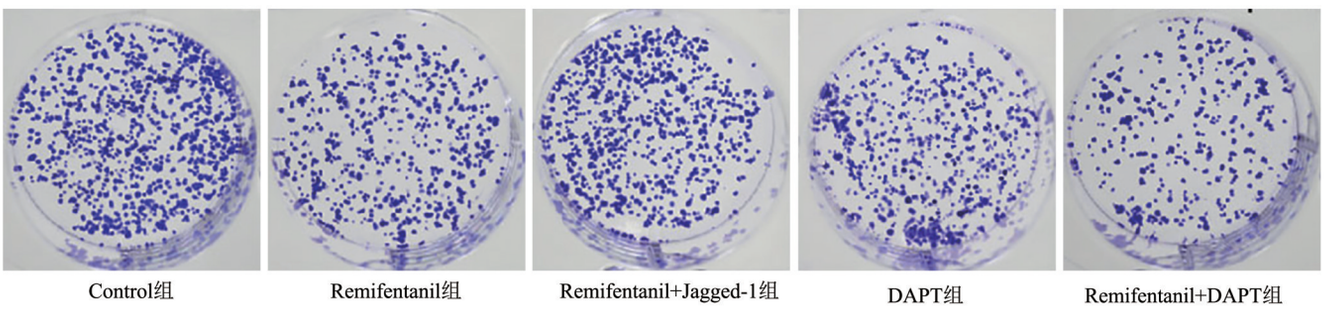


图2 细胞克隆实验检测细胞增殖能力

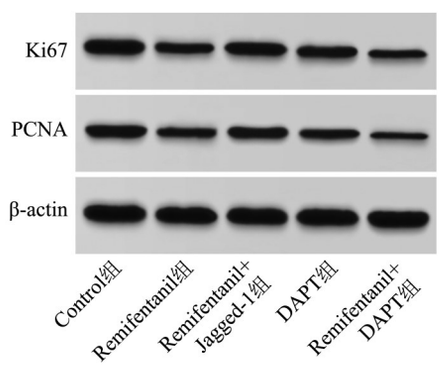


图3 Western blot检测各组细胞Ki67、PCNA蛋白表达

表1 各组细胞增殖情况比较($\bar{x}\pm s$)

组别	细胞克隆数(个)	Ki67	PCNA
Control组	411.33±44.86	0.91±0.10	0.83±0.09
Remifentanil组	256.50±26.55*	0.55±0.06*	0.42±0.05*
Remifentanil+Jagged-1组	376.67±39.47#	0.84±0.09#	0.76±0.09#
DAPT组	273.83±28.76*	0.59±0.07*	0.48±0.06*
Remifentanil+DAPT组	140.17±15.39#△	0.38±0.05#△	0.27±0.04#△

*:与Control组比较,P<0.05;#:与Remifentanil组比较,P<0.05;△:与DAPT组比较,P<0.05

2.3 瑞芬太尼对脑胶质瘤细胞凋亡的影响

与Control组比较,Remifentanil组和DAPT组细胞凋亡率及Bax、C-caspase-3蛋白表达升高(P<0.05);与Remifentanil组比较,Remifentanil+Jagged-1组细胞凋亡率及Bax、C-caspase-3蛋白表达降低(P<0.05);与Remifentanil组和DAPT组比较,Remifentanil+DAPT组细胞凋亡率及Bax、C-caspase-3蛋白表达升高(P<0.05),见图4、图5、表2。

2.4 瑞芬太尼对脑胶质瘤细胞EMT的影响

与Control组比较,Remifentanil组和DAPT组细胞Snail、N-cadherin和Vimentin蛋白表达降低(P<0.05);与Remifentanil组比较,Remifentanil+Jagged-1组细胞Snail、N-cadherin和Vimentin蛋白表达升高(P<0.05);与Remifentanil组和DAPT组比较,Remifentanil+DAPT组细胞Snail、N-cadherin和Vimentin蛋白表达降低(P<0.05),见图6、表3。

2.5 瑞芬太尼对Jagged-1/Notch信号通路的影响

与Control组比较,Remifentanil组和DAPT组Jagged-1、Notch1、Hes1蛋白表达降低(P<0.05);与Remifentanil组比较,Remifentanil+Jagged-1组Jagged-1、Notch1、Hes1蛋白表达升高(P<0.05);与Remifentanil组和DAPT组比较,Remifentanil+DAPT组Jagged-1、Notch1、Hes1蛋白表达降低(P<0.05),见图7、表4。

2.6 瑞芬太尼对脑胶质移植瘤的影响

与NC组比较,REM组移植瘤体积、瘤质量及Jagged-1、Notch1、Hes1蛋白表达降低(P<0.05),见图8、表5。

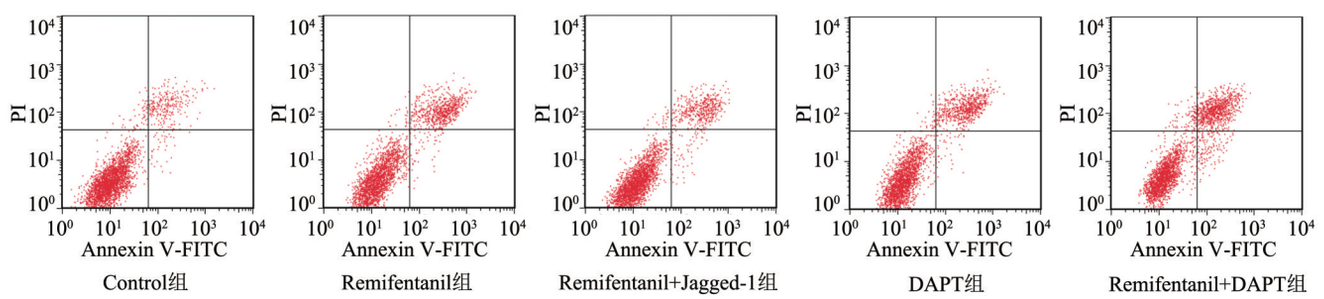


图4 流式细胞术检测细胞凋亡情况

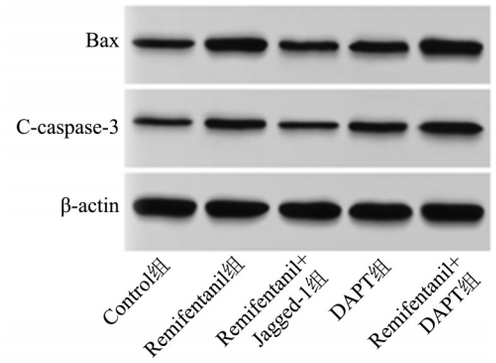


图5 Western blot检测各组细胞Bax、C-caspase-3蛋白表达

表2 各组细胞凋亡情况比较($\bar{x}\pm s$)

组别	细胞凋亡率(%)	Bax	C-caspase-3
Control组	5.11±0.53	0.30±0.04	0.22±0.03
Remifentanil组	20.73±2.16*	0.63±0.07*	0.48±0.06*
Remifentanil+Jagged-1组	9.56±1.02#	0.36±0.05#	0.27±0.04#
DAPT组	19.84±2.12*	0.59±0.07*	0.45±0.05*
Remifentanil+DAPT组	37.62±3.85#△	0.85±0.09#△	0.76±0.08#△

*:与Control组比较,$P<0.05$;#:与Remifentanil组比较,$P<0.05$;△:与DAPT组比较,$P<0.05$

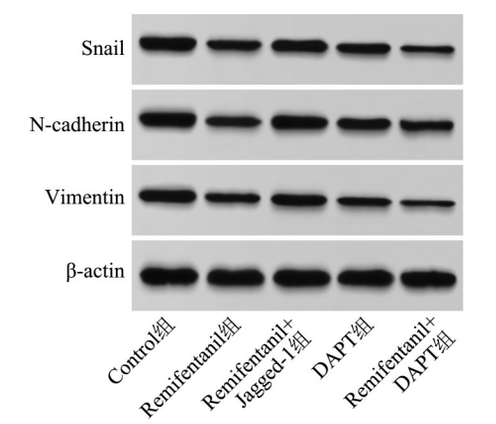


图6 Western blot检测各组细胞Snail、N-cadherin和Vimentin蛋白表达

表3 各组细胞EMT相关蛋白表达比较($\bar{x}\pm s$)

组别	Snail	N-cadherin	Vimentin
Control组	0.87±0.10	0.93±0.10	0.85±0.09
Remifentanil组	0.48±0.06*	0.54±0.06*	0.41±0.05*
Remifentanil+Jagged-1组	0.79±0.09#	0.88±0.10#	0.72±0.08#
DAPT组	0.53±0.06*	0.61±0.07*	0.47±0.06*
Remifentanil+DAPT组	0.28±0.04#△	0.40±0.05#△	0.22±0.03#△

*:与Control组比较,$P<0.05$;#:与Remifentanil组比较,$P<0.05$;△:与DAPT组比较,$P<0.05$

2.7 瑞芬太尼对脑胶质瘤增殖、凋亡、EMT相关蛋白表达的影响

与NC组比较,REM组瘤组织Ki67、PCNA、Snail、N-cadherin和Vimentin表达降低,Bax、C-caspase-3表达升高($P<0.05$),见图9、表6。

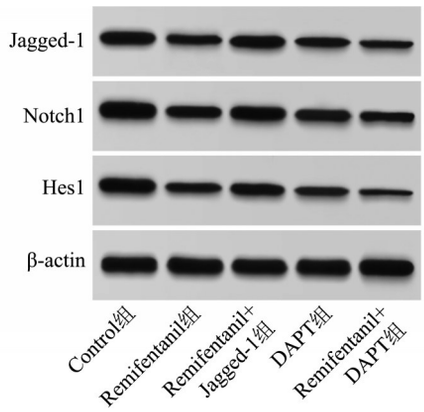
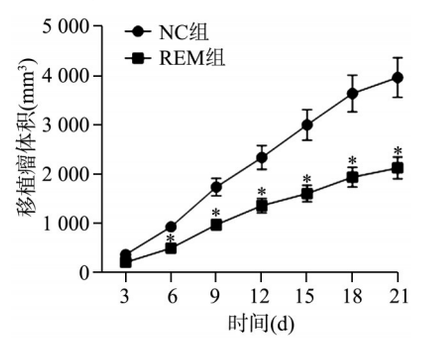


图7 Western blot检测各组细胞Jagged-1、Notch1、Hes1蛋白表达

表4 各组细胞Jagged-1/Notch信号通路相关蛋白表达比较($\bar{x}\pm s$)

组别	Jagged-1	Notch1	Hes1
Control组	0.96±0.11	1.02±0.11	0.91±0.10
Remifentanil组	0.54±0.06*	0.64±0.07*	0.49±0.06*
Remifentanil+Jagged-1组	0.90±0.10#	0.95±0.10#	0.83±0.09#
DAPT组	0.60±0.07*	0.69±0.08*	0.55±0.06*
Remifentanil+DAPT组	0.36±0.05#△	0.43±0.05#△	0.27±0.04#△

*:与Control组比较,$P<0.05$;#:Remifentanil组比较,$P<0.05$;△:与DAPT组比较,$P<0.05$



*:与NC组比较,$P<0.05$

图8 裸鼠移植瘤体积变化

3 讨论

脑胶质瘤作为最常见的脑肿瘤之一,治疗手段有限,积极研发新型治疗药物是当前的核心重点。瑞芬太尼作为临床常用麻醉剂,已被证实可抑制多种癌症的进展,如抑制卵巢癌细胞的增殖与转移,并促进细胞凋亡[9];抑制胃癌细胞增殖并诱导细胞凋亡[10];阻碍肾癌细胞增殖、迁移和侵袭[11]。本研究结果显示,瑞芬太尼可抑制胶质瘤细胞增殖及EMT,促进细胞凋亡,还可抑制裸鼠脑胶质瘤生长,说明其对脑胶质瘤细胞的恶性生物学行为具有潜在抑制作用。

癌细胞的恶性增殖、异常凋亡与转移是影响脑胶质瘤细胞恶性发展的重要因素。细胞周期紊乱是影

表5 2组裸鼠瘤体积、瘤质量及Jagged-1/Notch信号通路相关蛋白表达比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	瘤体积(mm^3)	瘤质量(g)	Jagged-1	Notch1	Hes1
NC组	6	3 981.24±423.69	4.66±0.49	0.90±0.10	0.94±0.10	0.85±0.10
REM组	6	2 145.67±239.82*	2.51±0.27*	0.57±0.07*	0.66±0.07*	0.51±0.06*

*:与NC组比较,$P<0.05$

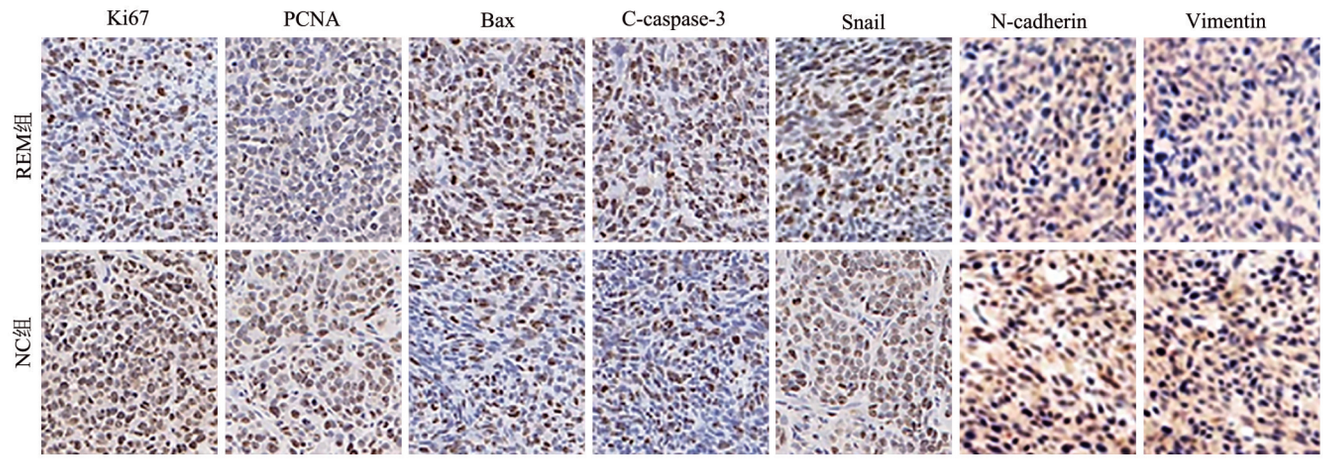


图9 免疫组化检测瘤组织中Ki67、PCNA、Bax、C-caspase-3、Snail、N-cadherin和Vimentin表达

表6 2组裸鼠瘤组织中增殖、凋亡、EMT相关蛋白平均光密度值比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	Ki67	PCNA	Bax	C-caspase-3	Snail	N-cadherin	Vimentin
NC组	6	0.97±0.11	0.90±0.10	0.39±0.05	0.33±0.04	0.89±0.10	0.93±0.10	0.84±0.09
REM组	6	0.52±0.06*	0.58±0.07*	0.82±0.09*	0.74±0.08*	0.46±0.06*	0.55±0.06*	0.40±0.05*

*:与NC组比较,$P<0.05$

响癌细胞恶性增殖的关键,Ki67属于细胞周期相关核蛋白,参与细胞分裂过程,其高表达与脑胶质瘤细胞恶性增殖密切相关[12]。PCNA是细胞核DNA合成过程中的关键蛋白,其表达水平可反映癌细胞的增殖活性,而且其在脑胶质瘤细胞中高表达[13]。有研究显示,抑制Ki67、PCNA表达可阻滞G2/M期,抑制胶质瘤细胞增殖,从而抑制神经胶质瘤生长[14]。降低Ki67、PCNA表达可抑制体内外胶质瘤细胞的生长,延长BALB/c-A裸鼠的存活时间[15]。细胞凋亡是一种常见的细胞程序性死亡过程,也是抗肿瘤药物诱导癌细胞死亡,抑制肿瘤发展的常见形式。Bax、C-caspase-3是细胞凋亡进程中的关键蛋白,促进Bax、C-caspase-3表达可促进细胞凋亡,进而抑制神经胶质瘤细胞生长[16]。EMT是调控癌细胞转移的关键生物学过程,其核心表现为促使癌细胞丧失细胞极性与细胞间黏附能力,获得间充质特征,从而使细胞具备迁移与侵袭能力,促进癌细胞转移[17]。N-cadherin和Vimentin是EMT过程中的间充质标志性蛋白,其表达上调预示EMT的发生,而Snail属于EMT转录因子,可通过上调间充质标志物N-cadherin、Vimentin等表达,促进EMT的发生[18]。研究显示,抑制Snail、N-cadherin和Vimentin表达可减少胶质瘤细胞的EMT和转移,进而抑制胶质瘤恶性进展[19-20]。本研究体内外实验均证实,瑞芬太尼可抑制脑胶质瘤组织和细胞中Ki67、PCNA、Snail、N-cadherin和Vimentin表达,促进Bax、C-caspase-3表达。推测瑞芬太尼可能通过抑制胶质瘤细胞增殖及EMT,促进细胞凋亡,抑制脑胶质瘤细胞恶性进展,其可作为治疗胶质瘤的潜在药物。

Jagged-1/Notch信号通路在多种癌症的发展进程中发挥重要作用。Jagged-1在多种癌症中高表达,而且其是Notch重要配体,当肿瘤发生,Jagged-1可通过细胞间相互作用激活Notch信号通路,进而激活其下游转录因子Hes1,促进肿瘤的恶性发展[21]。本研究体外实验结果显示,瑞芬太尼与DAPT均可抑制Jagged-1、Notch1、Hes1表达,两者共同作用效果更显著;体内实验结果同样显示,瑞芬太尼同样抑制移植瘤生长及Jagged-1、Notch1、Hes1表达。另有研究显示,抑制Jagged-1/Notch信号通路可抑制胶质母细胞瘤细胞增殖和侵袭[22]。沉默Jagged-1可通过调控Notch信号通路抑制胶质瘤细胞增殖及免疫逃逸[23]。而本研究在瑞芬太尼处理后再用Jagged-1处理可使Jagged-1、Notch1、Hes1表达升高,部分逆转瑞芬太尼对脑胶质瘤细胞恶性发展的抑制作用,推测瑞芬太尼可能通过抑制Jagged-1/Notch信号通路抑制脑胶质瘤细胞恶性

进展。

综上所述,瑞芬太尼可抑制脑胶质瘤细胞的增殖与EMT,促进其凋亡,这与抑制Jagged-1/Notch信号通路相关。但脑胶质瘤的发病机制较为复杂,本研究内容较为单一,后续将增设实验设计,深入探究瑞芬太尼对脑胶质瘤的作用机制。

[参考文献]

[1] Schaff LR, Mellinghoff IK. Glioblastoma and other primary brain malignancies in adults: a review[J]. JAMA, 2023, 329(7): 574-587. doi:10.1001/jama.2023.0023.

[2] Colopi A, Fuda S, Santi S, et al. Impact of age and gender on glioblastoma onset, progression, and management[J]. Mech Ageing Dev, 2023, 211(1): 111801-111811. doi: 10.1016/j.mad.2023.111801.

[3] Wang LM, Englander ZK, Miller ML, et al. Malignant glioma[J]. Adv Exp Med Biol, 2023, 1405(1): 1-30. doi: 10.1007/978-3-031-23705-8_1.

[4] Liang W, Ke J. Remifentanil reduces the proliferation, migration and invasion of HCC cells via lncRNA NBR2/miR-650/TIMP3 axis[J]. Int J Exp Pathol, 2022, 103(2): 44-53. doi:10.1111/iep.12429.

[5] Ran Y, Han S, Gao D, et al. Interference of FZD2 suppresses proliferation, vasculogenic mimicry and stemness in glioma cells via blocking the Notch/NFκB signaling pathway[J]. Exp Ther Med, 2024, 28(4): 373-384. doi:10.3892/etm.2024.12662.

[6] Luo Y, Yu X, Zhao P, et al. Effects of resveratrol on tight junction proteins and the Notch1 pathway in an HT-29 cell model of inflammation induced by lipopolysaccharide[J]. Inflammation, 2022, 45(6): 2449-2464. doi:10.1007/s10753-022-01704-2.

[7] 夏德国,颜克实,陆大浩,等. 瑞芬太尼抑制人肝癌细胞Notch信号通路及细胞生长的研究[J]. 实用临床医药杂志,2022,26(8):32-36. doi:10.7619/jcmp.20214486.

[8] 李 艳,侯梓杰,阮中繁. 基于NF-κB iNOS-COX-2信号通路探究瑞芬太尼对脑缺血再灌注损伤大鼠神经功能的作用机制[J]. 中国老年学杂志,2023,43(13):3232-3235. doi:10.3969/j.issn.1005-9202.2023.13.042.

[9] 邱卫华,郭晴晴,罗建喜. 瑞芬太尼通过上调lncRNA DGCR5表达影响卵巢癌细胞增殖和转移的机制研究[J]. 实用临床医药杂志,2023,27(16):43-49. doi:10.7619/jcmp.20231854.

[10] 孙成成,刘 宇,胡旭明. 瑞芬太尼通过miR-519d-3p/STAT3对胃癌细胞增殖、凋亡的影响[J]. 世界华人消化杂志,2019,27(16):984-990. doi:10.11569/wcjd.v27.i16.984.

[11] 赵 铤,赵全丰,李坤庆,等. 瑞芬太尼通过调控lncRNA SUMO1P3表达抑制肾癌细胞786-O的增殖、迁移和侵袭[J]. 山西医科大学学报,2021,52(11):1396-1402. doi:10.13753/j.issn.1007-6611.2021.11.003.

[12] Fu J, Zhu SH, Xu HB, et al. Xihuang pill potentiates the anti-tumor effects of temozolomide in glioblastoma xenografts through the Akt/mTOR-dependent pathway[J]. J Ethnopharmacol, 2020, 261(1): 113071-113081. doi:10.1016/j.jep.2020.113071.

[13] Zuo J, Liu C, Ni H, et al. WDR34 affects PI3K/Akt and Wnt/β-catenin pathways to regulates malignant biological behaviors of glioma cells[J]. J Neurooncol, 2022, 156(2): 281-293. doi:10.1007/s11060-021-03932-2.

[14] Tian Z, Dai Q, Liu B, et al. LncARSR promotes glioma tumor growth by mediating glycolysis through the STAT3/HK2 axis[J]. Cytokine, 2024, 180(1): 156663-156673. doi:10.1016/j.cyto.2024.156663.

[15] Nan Y, Guo L, Zhen Y, et al. miRNA-451 regulates the NF-κB signaling pathway by targeting IKKβ to inhibit glioma cell growth[J]. Cell Cycle, 2021, 20(19): 1967-1977. doi: 10.1080/15384101.2021.1969496.

[16] Ren C, Tu Q, He J. Fabrication of pH-responsive temozolomide (TMZ)-clacked tannic acid-altered zeolite imidazole nanoframeworks (ZIF-8) enhance anticancer activity and apoptosis induction in glioma cancer cells[J]. J Biomater Sci Polym Ed, 2024, 35(13): 1978-1998. doi:10.1080/09205063.2024.2364533.

[17] Babaei G, Aziz SG, Jaghi NZZ. EMT, cancer stem cells and autophagy; the three main axes of metastasis[J]. Biomed Pharmacother, 2021, 133(1): 110909-110919. doi:10.1016/j.biopha.2020.110909.

[18] Saitoh M. Transcriptional regulation of EMT transcription factors in cancer[J]. Semin Cancer Biol, 2023, 97(1): 21-29. doi:10.1016/j.semcancer.2023.10.001.

[19] Nan Y, Guo L, Lu Y, et al. miR-451 suppresses EMT and metastasis in glioma cells[J]. Cell Cycle, 2021, 20(13): 1270-1278. doi: 10.1080/15384101.2021.1933303.

[20] Wang W, Hao Y, Zhang A, et al. miR-19a/b promote EMT and proliferation in glioma cells via SEPT7-AKT-NF-κB pathway[J]. Mol Ther Oncolytics, 2021, 20(1): 290-305. doi: 10.1016/j.omto.2021.01.005.

[21] Xiu MX, Liu YM, Kuang BH. The oncogenic role of Jagged1/Notch signaling in cancer[J]. Biomed Pharmacother, 2020, 129(1): 110416-110426. doi:10.1016/j.biopha.2020.110416.

[22] Ham SW, Kim JY, Seo S, et al. Annexin A2 stabilizes oncogenic JAG1 intracellular domain by inhibiting proteasomal degradation in glioblastoma cells[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(19): 14776-14790. doi:10.3390/ijms241914776.

[23] Shi B, Ge F, Cai L, et al. Significance of NotchScore and JAG1 in predicting prognosis and immune response of low-grade glioma[J]. Front Immunol, 2023, 14(1): 1247288-1247298. doi:10.3389/fimmu.2023.1247288.

(编辑:贺绍梅)