doi:10.11659/jjssx.11E025149

·智能麻醉与围术期策略·

艾司氯胺酮对卵巢癌细胞增殖的影响及机制研究

李 蕾[1],白耀武[1],李 雪[2],杨鸿源[1] (1.唐山市妇幼保健院麻醉科,河北 唐山 063000;2.唐山市妇幼保健院手术室,河北 唐山 063000)

[摘 要] **目的** 探讨艾司氯胺酮(ESK)对卵巢癌细胞增殖的影响及作用机制。**方法** 体外培养卵巢癌SKOV3细胞,用不同浓度(0.5 mmol/L、1.0 mmol/L、2.0 mmol/L)的ESK处理SKOV3细胞,同时设置对照组(0 mmol/L ESK)。采用CCK-8法和平板克隆法分别检测细胞增殖和克隆形成;采用流式细胞术检测细胞凋亡和细胞周期分布;采用Western blot检测细胞中Wnt/β-catenin通路相关蛋白Wnt3a和β-catenin蛋白,凋亡相关蛋白B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)、胱天蛋白酶-3(Caspase-3)和Bcl-2相关X蛋白(Bax)蛋白,增殖相关蛋白Ki67和cyclin D1蛋白的表达。**结果** 与对照组比较,不同浓度ESK处理组的SKOV3细胞增殖抑制率、凋亡率和细胞周期G0/G1期占比及Bax、Caspase-3蛋白表达均明显升高($P<0.05$),克隆形成数目、细胞周期G2/M期占比及Wnt3a、β-catenin、Ki67、cyclin D1、Bcl-2蛋白表达均明显降低($P<0.05$),并均呈浓度依赖性($P<0.05$)。**结论** ESK能够抑制卵巢癌细胞增殖,其作用可能是通过调控Wnt/β-catenin信号通路实现的。

[关键词] 艾司氯胺酮;卵巢癌;细胞增殖;细胞凋亡;细胞周期;Wnt/β-catenin

[中图分类号] R737.31 [文献标志码] A [收稿日期] 2025-11-26

Effects of esketamine on the proliferation of ovarian cancer cells and its mechanisms

LI Lei[1], BAI Yao-wu[1], LI Xue[2], YANG Hong-yuan[1] (1. Department of Anesthesiology, Tangshan Maternity and Child Health Hospital, Tangshan Hebei 063000, China; 2. Department of Operating Room, Tangshan Maternity and Child Health Hospital, Tangshan Hebei 063000, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of esketamine (ESK) on the proliferation of ovarian cancer cells and its mechanism of action. **Methods** Ovarian cancer SKOV3 cells were cultured in vitro and treated with different concentrations (0.5 mmol/L, 1.0 mmol/L, 2.0 mmol/L) of ESK, while the control group (0 mmol/L ESK) was established simultaneously. Cell proliferation and colony formation were detected by CCK-8 assay and colony formation assay, respectively. Flow cytometry was used to detect cell apoptosis and cell cycle distribution. Western blot was used to detect the expression levels of Wnt/β-catenin pathway-related proteins (Wnt3a and β-catenin), apoptosis-related proteins [B-cell lymphoma-2 (Bcl-2), Caspase-3, and Bcl-2-associated X protein (Bax)], and proliferation-related proteins (Ki67 and cyclin D1). **Results** Compared with the control group, ESK treatment at different concentrations significantly increased the proliferation inhibition rate of SKOV3 cells, apoptosis rate, percentage of cells in the G0/G1 phase, as well as the expression of Bax and Caspase-3 proteins ($P<0.05$). Meanwhile, the number of colonies, percentage of cells in the G2/M phase, and the expression levels of Wnt3a, β-catenin, Ki67, cyclin D1, and Bcl-2 proteins were significantly decreased ($P<0.05$), showing a concentration-dependent effect ($P<0.05$). **Conclusion** ESK can inhibit the proliferation of ovarian cancer cells, and its effect may be achieved by regulating the Wnt/β-catenin signaling pathway.

Keywords: esketamine; ovarian cancer; cell proliferation; cell apoptosis; cell cycle; Wnt/β-catenin

卵巢癌是一种常见的致命性妇科恶性肿瘤,约占女性癌症的3%,全球每年新发约240 000例,死亡约150 000例[1]。由于卵巢癌缺乏早期特异性症状,患者确诊时往往已处于晚期,单纯手术切除难以治愈,且临床病程中经常复发,导致卵巢癌患者预后不良、存活率低。尽管目前已有有效的手术减瘤方案及多种抗癌药物应用于临床,近几十年来患者的生存率仅略有提高,其中晚期卵巢癌患者的整体5年生存率仍不足40%[2]。因此,开发新疗法及新药物仍然是卵巢癌领域研究人员的基本目标。

艾司氯胺酮(esketamine,ESK)为N-甲基-D-天门冬氨酸受体拮抗剂,与氯胺酮相比,ESK具有更强的镇静镇痛效果,且对呼吸的抑制作用更弱,患者血流动力学更稳定、术后苏醒时间更短,因此常应用于临床麻醉,尤其是小儿麻醉和产科麻醉[3]。此外,ESK还具有与氯胺酮相似的抗抑郁作用及明显的神经保护作

[基金项目] 河北省医学科学研究课题计划(20240471)

[通信作者] 杨鸿源,E-mail:290416007@qq.com

用[4]。目前ESK在麻醉、镇静、神经保护等领域的研究较多,但在肿瘤治疗方面的研究较少。近年来,有研究报道ESK可抑制乳腺癌[5]、食管鳞癌[6]、鼻咽癌[7]等肿瘤细胞增殖、侵袭、迁移,并诱导其凋亡,发挥抗肿瘤作用。然而,ESK对卵巢癌发生发展的影响尚不清楚。因此,本研究以卵巢癌SKOV3细胞为研究对象,探讨ESK对卵巢癌细胞增殖的影响及其可能的机制,以期为卵巢癌的治疗提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 细胞、主要试剂及仪器

人卵巢癌SKOV3细胞株购自美国ATCC公司。ESK购自江苏恒瑞医药股份有限公司;胎牛血清、RPMI 1640培养基购自美国Gibco公司;CCK-8增殖检测试剂盒购自北京索莱宝公司;细胞凋亡检测试剂盒购自北京百奥莱博公司;BCA蛋白检测试剂盒购自上海碧云天公司;ECL发光试剂盒购自上海雅酶生物医药公司;兔抗人Wnt3a、β-catenin、Bax、Caspase-3、cyclin D1单克隆抗体购自美国Santa Cruz公司;兔抗人Bcl-2、Ki67、GAPDH单克隆抗体购自英国Abcam公司;羊抗兔二抗IgG购自上海艾博抗公司。CX23型光学显微镜购自日本Olympus公司;Elx800酶标仪购自美国Bio-Tek公司;流式细胞仪购自美国BD公司。

1.2 细胞处理与分组

卵巢癌SKOV3细胞株采用含10%胎牛血清和1%青-链霉素的RPMI 1640培养基培养,置于37 ℃、5% CO_2环境中常规孵育。取生长状态良好的对数生长期卵巢癌SKOV3细胞株接种于96孔板,用不同浓度(0.5 mmol/L、1.0 mmol/L、2.0 mmol/L)的ESK处理细胞,同时设置对照组(0 mmol/L ESK),处理后的细胞分别标记为对照组、0.5 mmol/L ESK组、1.0 mmol/L ESK组、2.0 mmol/L ESK组,处理48 h后更换新鲜培养基,收集各组细胞进行后续实验。

1.3 CCK-8法检测细胞增殖

收集各组SKOV3细胞接种于96孔细胞板,继续孵育24 h、48 h、72 h后,向每孔中加入10 μL CCK-8溶液,继续孵育2 h,使用Elx800酶标仪检测450 nm波长处的吸光度(obsorbance,A)值,计算细胞增殖抑制率。细胞增殖抑制率=(对照组A值-药物处理组A值)/对照组A值×100%。

1.4 平板克隆法检测细胞克隆形成

收集各组SKOV3细胞,以每孔1 000个细胞的密度接种至6孔细胞板中,每孔加入2 mL细胞培养液,置入37 ℃、5%CO_2环境中孵育,每3~4 d更换培养液,培养14 d左右,当出现肉眼可见的克隆时终止培养。PBS洗涤细胞,4%多聚甲醛固定,0.1%结晶紫4 ℃染色,将培养板晾干后,在倒置显微镜下观察并计数细胞克隆形成数。

1.5 流式细胞术检测细胞周期

收集各组SKOV3细胞,用预冷PBS洗涤,加入75%预冷乙醇固定细胞,4 ℃静置过夜,预冷PBS洗涤后,将细胞移至EP管中,加入适量RNaseA和PI,37 ℃避光条件下孵育30 min,应用流式细胞仪检测各组细胞的细胞周期分布。

1.6 流式细胞术检测细胞凋亡

收集各组SKOV3细胞,按照Annexin V-FITC/PI凋亡试剂盒说明书操作。预冷PBS洗涤细胞,离心收集细胞后加入1×binding buffer 500 μL重悬细胞,依次加入5 μL Annexin V-FITC和5 μL PI溶液,振荡混匀,室温孵育10 min后,应用流式细胞仪检测各组细胞凋亡率。

1.7 Western blot检测细胞蛋白表达

收集各组SKOV3细胞,经PBS冲洗,加入RIPA蛋白裂解液,以12 000 r/min离心5 min获取细胞蛋白。BCA蛋白检测试剂盒测定蛋白浓度并定量,每组取30 μg蛋白进行SDS-PAGE电泳(150 V、80 min),湿转法转至硝酸纤维素膜上(200 mA、45 min),5%脱脂牛奶封闭2 h,加入一抗兔抗人Wnt3a(稀释比1∶1 000)、β-catenin(稀释比1∶2 000)、B细胞淋巴瘤-2(B-cell lymphoma-2,Bcl-2;稀释比1∶1 000)、Bcl-2相关X蛋白(Bcl-2-associated X protein,Bax;稀释比1∶1 000)、Caspase-3(稀释比1∶1 000)、cyclin D1(稀释比1∶2 000)、Ki67(稀释比1∶2 000)、GAPDH(稀释比1∶5 000)单克隆抗体,4 ℃孵育过夜,次日加入羊抗兔二抗IgG,ECL发光试剂盒发光显影,应用Image J软件分析各条带灰度值,计算蛋白相对表达水平。

1.8 统计学处理

采用SPSS 22.0统计软件进行数据分析,符合正态分布的计量数据以均数±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*LSD-t*检验,以$P<0.05$表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组SKOV3细胞增殖抑制率比较

与对照组比较,0.5 mmol/L ESK组、1.0 mmol/L ESK组、2.0 mmol/L ESK组细胞经ESK处理后24 h、48 h、72 h的增殖抑制率均明显升高($P<0.05$),并呈浓度依赖性($P<0.05$),见表1。

2.2 各组SKOV3细胞克隆形成数目比较

与对照组比较，0.5 mmol/L ESK组、1.0 mmol/L ESK组、2.0 mmol/L ESK组细胞克隆形成数目均明显减少（$P<0.05$），并呈浓度依赖性（$P<0.05$），见图1。

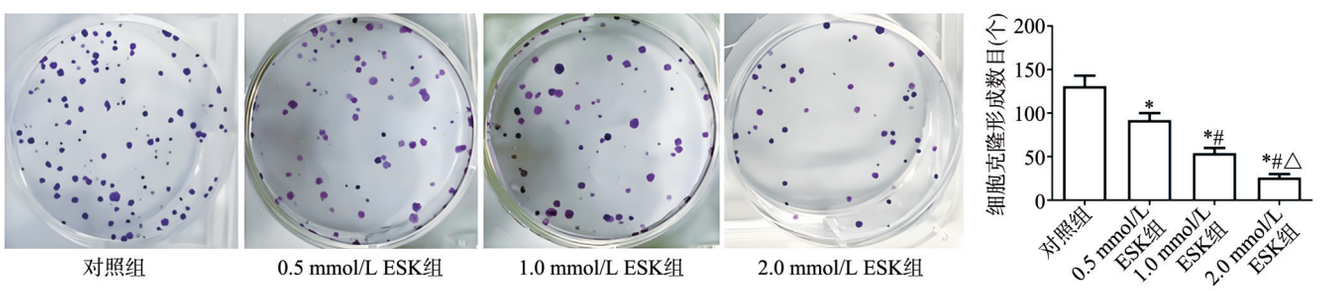
2.3 各组SKOV3细胞的细胞周期比较

与对照组比较，0.5 mmol/L ESK组、1.0 mmol/L ESK组、2.0 mmol/L ESK组细胞G0/G1期占比均明显升高（$P<0.05$），G2/M期占比均明显降低（$P<0.05$），并呈浓度依赖性（$P<0.05$），见表2、图2。

表1 各组SKOV3细胞经ESK处理后的增殖抑制率比较

组别	24 h	48 h	72 h
对照组	0	0	0
0.5 mmol/L ESK组	3.36±1.03*	6.11±1.28*	8.29±1.12*
1.0 mmol/L ESK组	15.22±2.15*#	18.60±2.35*#	25.80±1.97*#
2.0 mmol/L ESK组	47.56±3.77*#△	60.26±4.06*#△	73.46±5.39*#△

*：与对照组比较，$P<0.05$；#：与0.5 mmol/L ESK组比较，$P<0.05$；△：与1.0 mmol/L ESK组比较，$P<0.05$



*：与对照组比较，$P<0.05$；#：与0.5 mmol/L ESK组比较，$P<0.05$；△：与1.0 mmol/L ESK组比较，$P<0.05$

图1 各组SKOV3细胞克隆形成数目

表2 各组SKOV3细胞的细胞周期分布（$\bar{x}\pm s$，%）

组别	G0/G1期	S期	G2/M期
对照组	37.28±3.28	36.62±2.25	26.10±1.28
0.5 mmol/L ESK组	46.25±2.92*	35.34±2.10	18.41±1.11*
1.0 mmol/L ESK组	54.11±2.66*#	32.64±1.99	13.25±1.05*#
2.0 mmol/L ESK组	61.47±4.01*#△	32.44±2.43	6.09±0.96*#△

*：与对照组比较，$P<0.05$；#：与0.5 mmol/L ESK组比较，$P<0.05$；△：与1.0 mmol/L ESK组比较，$P<0.05$

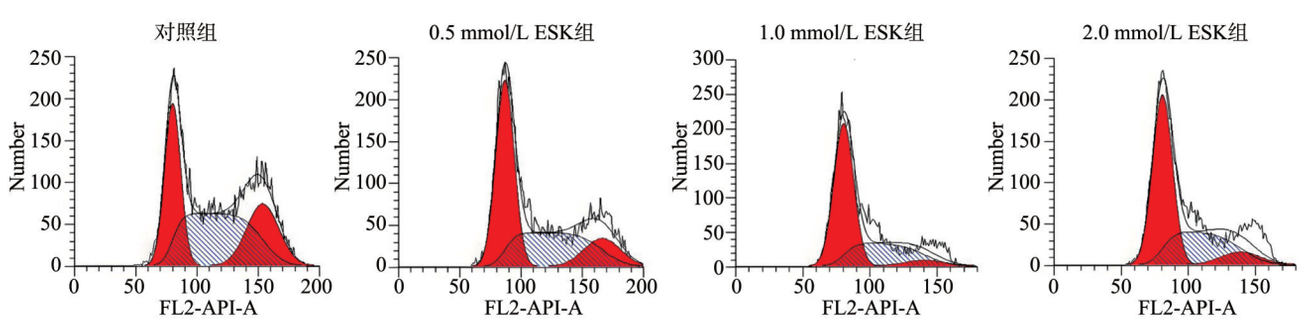


图2 各组SKOV3细胞的细胞周期分布

2.4 各组SKOV3细胞凋亡率比较

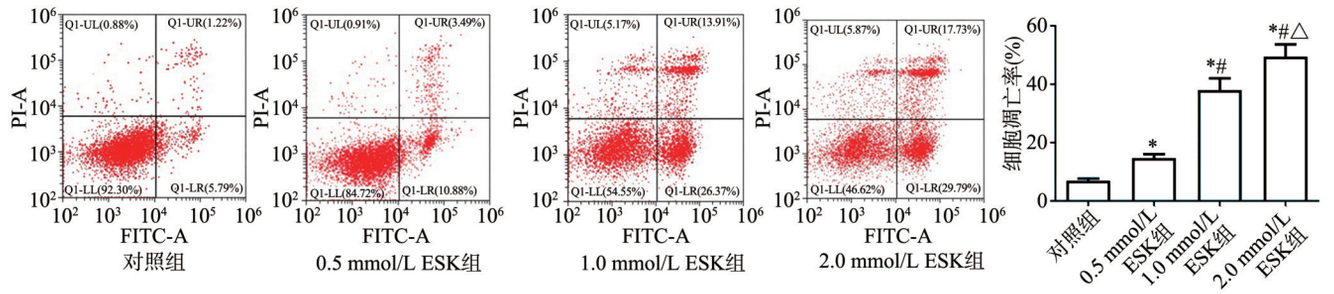
与对照组比较，0.5 mmol/L ESK组、1.0 mmol/L ESK组、2.0 mmol/L ESK组细胞凋亡率均明显升高（$P<0.05$），并呈浓度依赖性（$P<0.05$），见图3。

2.5 各组SKOV3细胞蛋白表达比较

与对照组比较，0.5 mmol/L ESK组、1.0 mmol/L ESK组、2.0 mmol/L ESK组细胞Wnt3a、β-catenin、Ki67、cyclin D1和Bcl-2蛋白表达均降低（$P<0.05$），Bax和Caspase-3蛋白表达均升高（$P<0.05$），并且呈浓度依赖性（$P<0.05$），见图4、5及表3、4。

3 讨论

卵巢癌是一种高度致命的妇科恶性肿瘤，是女性死亡的主要原因之一，大多数卵巢癌患者在确诊时已处于晚期，并伴有局部或远处转移，导致预后不佳。世界范围内卵巢癌患者的总体5年生存率仅30%~



*:与对照组比较,$P<0.05$;#:与0.5 mmol/L ESK组比较,$P<0.05$;△:与1.0 mmol/L ESK组比较,$P<0.05$

图3 各组SKOV3细胞凋亡率

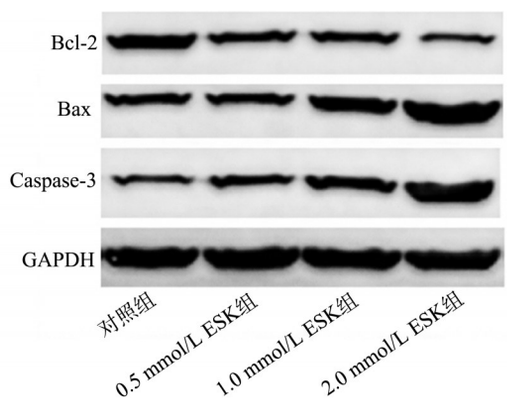


图4 各组SKOV3细胞凋亡相关蛋白表达

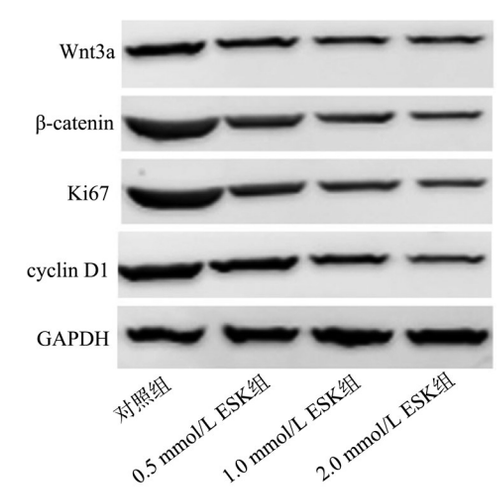


图5 各组SKOV3细胞Wnt/β-catenin通路相关蛋白和增殖相关蛋白表达

40%[8]。尽管治疗策略和手术技术已有显著提高,但卵巢癌患者尤其是晚期患者的预后仍不理想。缺乏早期诊断方法和化疗耐药性是卵巢癌患者预后不良的主要原因。因此,有必要寻找治疗卵巢癌的新药物和新策略。

近年来研究发现,部分麻醉药物可能影响癌症患者的病情进展及预后。一项针对食管癌手术患者的随访研究报道,与术中应用挥发性麻醉药物的患者相比,应用丙泊酚静脉麻醉的食管癌患者预后更好[9]。Eden等[10]发现,在乳腺癌切除手术中选择右美托咪定可能促进术后恢复,改善患者预后。体外实验研究结果也发现,丙泊酚、右美托咪定等麻醉药对癌细胞的生长、侵袭具有明显抑制作用[11-12],但异氟醚能够促进癌细胞的恶性潜能,加快细胞周期进程和细胞增殖[13]。ESK是以氯胺酮为基础合成的右旋异构体,2019年获准在美国上市。除抗抑郁作用外,ESK还具有比氯胺酮更强的镇痛效果,且副作用更小[14]。近年来,虽然尚未见到ESK对癌症患者预后的临床研究报道,但体外实验已发现ESK具有一定的抗肿瘤作用。研究显示,ESK对乳腺癌[5]、食管鳞癌[6]细胞的生长具有明显的抑制作用,并能增强鼻咽癌细胞对顺铂的敏感性[7]。然而,ESK在肿瘤方面的研究仍然较少,其对卵巢癌细胞生长及转移的影响尚不清楚。

细胞增殖失控、凋亡受阻是恶性肿瘤细胞的基本特性,为明确ESK对卵巢癌细胞增殖的影响,本研究通过体外培养卵巢癌SKOV3细胞,并用不同浓度的ESK进行处理,结果显示,与对照组比较,不同浓度ESK处理组的SKOV3细胞增殖抑制率、凋亡率和细胞周期G0/G1期占比均明显升高,克隆形成数目、细胞周期G2/M期占比均明显降低,增殖相关蛋白Ki67、cyclin D1表达及抗凋亡蛋白Bcl-2表达降低,促凋亡蛋

表3 各组SKOV3细胞调亡相关蛋白表达($\bar{x}\pm s$)

组别	Bax	Caspase-3	Bcl-2
对照组	0.45±0.07	0.20±0.10	0.96±0.08
0.5 mmol/L ESK组	0.72±0.09*	0.48±0.07*	0.75±0.06*
1.0 mmol/L ESK组	1.26±0.10*#	0.90±0.09*#	0.56±0.05*#
2.0 mmol/L ESK组	1.75±0.14*#△	1.30±0.11*#△	0.24±0.11*#△

*:与对照组比较,$P<0.05$;#:与0.5 mmol/L ESK组比较,$P<0.05$;△:与1.0 mmol/L ESK组比较,$P<0.05$

表4 各组SKOV3细胞Wnt/β-catenin通路相关蛋白和增殖相关蛋白表达($\bar{x}\pm s$)

组别	Wnt3a	β-catenin	Ki67	cyclin D1
对照组	1.48±0.13	2.36±0.26	2.57±0.29	1.77±0.20
0.5 mmol/L ESK组	0.79±0.08*	1.29±0.15*	1.17±0.20*	1.31±0.14*
1.0 mmol/L ESK组	0.47±0.07*#	0.78±0.13*#	0.72±0.14*#	0.75±0.10*#
2.0 mmol/L ESK组	0.29±0.05*#△	0.25±0.11*#△	0.19±0.09*#△	0.22±0.07*#△

*:与对照组比较,$P<0.05$;#:与0.5 mmol/L ESK组比较,$P<0.05$;△:与1.0 mmol/L ESK组比较,$P<0.05$

白Bax和Caspase-3蛋白表达升高,并且这种作用具有明显的浓度依赖性,即随着ESK浓度的升高,其作用进一步加强。提示ESK能够抑制卵巢癌细胞增殖活性及克隆形成能力,将细胞周期阻滞于G0/G1期,并诱导细胞凋亡。

Wnt/β-catenin信号通路是经典的Wnt信号通路,在调控癌细胞增殖及凋亡中发挥重要作用,抑制Wnt/β-catenin信号通路可抑制癌细胞生长并诱导其凋亡[15]。Wnt3a和β-catenin蛋白是Wnt/β-catenin信号通路的关键作用蛋白。本研究结果显示,与对照组比较,不同浓度ESK处理组的SKOV3细胞中Wnt3a和β-catenin蛋白表达均明显降低,且呈明显浓度依赖性,提示ESK对卵巢癌细胞增殖的作用可能是通过调控Wnt/β-catenin信号通路实现的。但本研究未进行Wnt/β-catenin信号通路的验证实验,后续实验中将通过增强Wnt/β-catenin信号通路来观察其能否逆转ESK对卵巢癌细胞增殖的抑制作用,进一步验证ESK对卵巢癌细胞增殖抑制作用的下游分子机制。

综上所述,ESK能够抑制卵巢癌细胞增殖活性及克隆形成能力,将细胞周期阻滞于G0/G1期,诱导细胞凋亡,并且这种作用呈浓度依赖性。ESK对卵巢癌细胞增殖的抑制作用可能是通过调控Wnt/β-catenin信号通路实现的,为卵巢癌新的治疗策略提供了研究思路。

[参考文献]

[1] Miller KD, Nogueira L, Devasian T, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2022[J]. CA Cancer J Clin, 2022, 72(5): 409-436. doi: 10.3322/caac.21731.

[2] Gao Y, Liu X, Li T, et al. Cross-validation of genes potentially associated with overall survival and drug resistance in ovarian cancer[J]. Oncol Rep, 2017, 37(5): 3084-3092. doi: 10.3892/or.2017.5534.

[3] 田春林,涂青梅,陈好亮,等. 艾司氯胺酮的临床应用进展[J]. 河北医药, 2024, 46(8): 1234-1238. doi: 10.3969/j.issn.1002-7386.2024.08.026.

[4] 林玉美,符明君,陈基胜. 艾司氯胺酮通过上调miR-138-5p表达抑制LPS诱导的星形胶质细胞凋亡和炎症反应的分子机制研究[J]. 国际检验医学杂志, 2023, 44(8): 908-913. doi: 10.3969/j.issn.1673-4130.2023.08.003.

[5] 尹秋稳,郭启才,苗秀美,等. 艾司氯胺酮诱导人乳腺癌细胞株MDA-MB-468凋亡及机制研究[J]. 中华内分泌外科杂志, 2023, 17(2): 179-184. doi: 10.3760/cma.j.cn.115807-20221201-00346.

[6] Li C, Shi J, Wei S, et al. Potential 'anti-cancer' effects of esketamine on proliferation, apoptosis, migration and invasion in esophageal squamous carcinoma cells[J]. Eur J Med Res, 2023, 28(1): 517. doi: 10.1186/s40001-023-01511-x.

[7] Cao Y, Li H, Gao Y, et al. Esketamine induces apoptosis of nasopharyngeal carcinoma cells through the PERK/CHOP pathway[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2024, 483(1): 116800. doi: 10.1016/j.taap.2023.116800.

[8] Hutchinson B, Euripides M, Reid F, et al. Socioeconomic burden of ovarian cancer in 11 countries[J]. JCO Glob Oncol, 2025, 11(1): e2400313. doi: 10.1200/GO-24-00313.

[9] Jun IJ, Jo JY, Kim JI, et al. Impact of anesthetic agents on overall and recurrence-free survival in patients undergoing esophageal cancer surgery: a retrospective observational study[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 14020. doi: 10.1038/s41598-017-14147-9.

[10] Eden C, Esses G, Katz D, et al. Effects of anesthetic interventions on breast cancer behavior, cancer-related patient outcomes, and postoperative recovery[J]. Surg Oncol, 2018, 27(2): 266-274. doi: 10.1016/j.suronc.2018.05.001.

[11] Zhou R, Konishi Y, Zhang A, et al. Propofol elicits apoptosis and attenuates cell growth in esophageal cancer cell lines[J]. Nagoya J Med Sci, 2023, 85(3): 579-591. doi: 10.18999/nagjms.85.3.579.

[12] Wang C, Datoo T, Zhao H, et al. Midazolam and dexmedetomidine affect neuroglioma and lung carcinoma cell biology in vitro and in vivo[J]. Anesthesiology, 2018, 129(5): 1000-1014. doi: 10.1097/ALN.0000000000002401.

[13] Zheng J, Chen G, Li T, et al. Isoflurane promotes cell proliferation, invasion, and migration by regulating bach1 and mir-375 in prostate cancer cells in vitro[J]. Int J Toxicol, 2022, 41(3): 212-224. doi: 10.1177/10915818221084906.

[14] 王丹君,沈家豪,王清秀. 艾司氯胺酮临床应用的研究进展[J]. 同济大学学报(医学版), 2024, 45(1): 158-164. doi: 10.12289/j.issn.1008-0392.23103.

[15] 武金玉,张苑珑,黄明莉,等. Wnt/β-catenin通路在卵巢癌中的调控机制研究进展[J]. 现代妇产科进展, 2018, 27(4): 311-313. doi: 10.13283/j.cnki.xdfckjz.2018.04.016.

(编辑:贺绍梅)