顺阿曲库铵上调 miR-505 表达对骨肉瘤 Saos-2 细胞增殖、凋亡的影响

张　苗，董彦海，崔子慧
（保定市第二医院麻醉科，河北保定 071051）

摘要：目的 探讨顺阿曲库铵对人骨肉瘤细胞 Saos-2 增殖、凋亡的影响及其可能作用机制。**方法** 体外培养 Saos-2 细胞，随机分为对照组、顺阿曲库铵低、中及高剂量组。实时定量荧光定量聚合酶链反应检测微小 RNA（micro RNA，miR）-505 表达量；采用 MTT、平板克隆形成实验和流式细胞术分别检测细胞增殖、克隆形成及凋亡。**结果** 与对照组比较，顺阿曲库铵低、中及高剂量组细胞增殖抑制率、凋亡率以及 miR-505 表达量均升高，克隆形成数减少，且呈剂量依赖性（$P < 0.05$）；转染 miR-505 模拟物后，细胞增殖抑制率、凋亡率升高，克隆形成数减少（$P < 0.05$）；转染 miR-505 抑制剂与顺阿曲库铵联合作用后，细胞增殖抑制率、凋亡率降低，克隆形成数增多（$P < 0.05$）。**结论** 顺阿曲库铵可通过上调 miR-505 表达抑制 Saos-2 细胞增殖、克隆形成，并促进细胞凋亡。

关键词：顺阿曲库铵；骨肉瘤；微小 RNA-505；细胞增殖；凋亡
中图分类号：R737.33　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1672-9188（2023）11-1159-08
DOI：10.13683/j.wph.2023.11.005

Effect of cisatracurium up-regulating miR-505 expression on proliferation and apoptosis of osteosarcoma Saos-2 cells

ZHNAG Miao, DONG Yanhai, CUI Zihui
(*Department of Anesthesiology, the NO.2 Hospital of Baoding, Baoding 071051, Hebei Province, China*)

Abstract: ***Objective*** To investigate the effects of cisatracurium on proliferation and apoptosis of human osteosarcoma cell Saos-2 and its possible mechanism. ***Methods*** Saos-2 cells were cultured in vitro and randomly divided into control group, cisatracurium low, medium and high dose groups. Real time quantitative polymerase chain reaction was used to detect the expression of micro RNA（miR）-505. MTT, plate clone formation experiment and flow cytometry were used to detect cell proliferation, clone formation and apoptosis, respectively. ***Results*** Compared with the control group, the cell proliferation inhibition rate, apoptosis rate and miR-505 expression were increased in cisatracurium low, medium and high dose groups, and the number of clone formation was decreased in a dose-dependent manner（$P<0.05$）. After transfection of miR-505 mimics, the cell proliferation inhibition rate and apoptosis rate increased, and the number of clone formation was decreased（$P<0.05$）. After transfection of miR-505 inhibitor combined with cisatracurium, the cell proliferation inhibition rate and apoptosis rate decreased, and the number of clone formation was increased（$P<0.05$）. ***Conclusion*** Cisatracurium can inhibit the proliferation and cloning of Saos-2 cells and promote apoptosis by up-regulating the expression of miR-505.

Key Words: cisatracurium; osteosarcoma; miR-505; cell proliferation; apoptosis

骨肉瘤是一种恶性骨肿瘤，其恶性程度高且易转移、复发，早期诊断、治疗可延长患者生存期，改善患者预后[1]。目前主要采用化疗药物治疗骨肉瘤，但化疗药物具有较强的毒性作用，同时骨肉瘤细胞对化疗药物逐渐产生耐药性，治疗效果不佳[2]。治疗骨肉瘤的关键在于抑制骨肉瘤细胞转移。微小 RNA（micro RNA，miR）广泛存在于真核生物中，可通过靶向结合下游基因参与骨肉瘤发生、发展过程[3]。已有研究表明，骨肉瘤患者围手术期应

收稿日期：2022-12-15；**修回日期：**2023-04-06
作者简介：张苗，主治医师，研究方向：骨肉瘤麻醉用药相关基础研究。
基金项目：保定市科技计划项目（2141ZF012）

用的麻醉药物可影响肿瘤细胞的增殖、凋亡和转移，例如，右美托咪定可通过调控 miR 表达而抑制骨肉瘤细胞生长[4]；利多卡因可通过 miR-195 抑制骨肉瘤 MG63 细胞增殖，并诱导细胞凋亡[5]。苯磺顺阿曲库铵是一种被临床广泛应用的麻醉药物，据报道，其可抑制乳腺癌细胞增殖、迁移，并可促进细胞凋亡[6]。但苯磺顺阿曲库铵在骨肉瘤中的作用尚不清楚。miR-505 是一种在恶性肿瘤进展中发挥抑癌作用的 miR，研究显示，miR-505 在骨肉瘤组织中呈低表达，过表达 miR-505 可抑制骨肉瘤细胞增殖、迁移和侵袭，可作为骨肉瘤治疗的潜在靶点[7]。然而，苯磺顺阿曲库铵能否通过调控 miR-505 发挥抗骨肉瘤作用尚未明确。因此，本研究主要探讨苯磺顺阿曲库铵是否可通过调控 miR-505 表达而影响骨肉瘤细胞增殖、凋亡。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

注射用苯磺顺阿曲库铵购自江苏恒瑞医药股份有限公司（10 mg，20220314）；人骨肉瘤细胞 Saos-2 购自西安东澳生物科技有限公司；MTT 试剂、凋亡检测试剂盒、改良 Eagle 培养基（Dulbecco's modification of Eagle's medium，DMEM）、胎牛血清（fetal bovine serum，FBS）、胰蛋白酶（0.25%，T1350）、膜联蛋白 V（Annexin V）/ 碘化丙啶（propidium iodine，PI）细胞凋亡检测试剂盒（CA1020）购自北京索莱宝生物科技有限公司；Lipofectamine2000 购自美国 Invitrogen；模拟物阴性对照（miR negative control，miR-NC）、miR-505 模拟物、NC 抑制剂（anti-miR-NC）、miR-505 抑制剂购自广州锐博生物科技有限公司；miR 提取试剂盒、反转录以及 SYBR Green 试剂盒购自北京天根生化科技有限公司；兔抗人剪切的半胱天冬氨酸蛋白酶（cleaved-caspase）3、cleaved-caspase9 抗体购自武汉艾美捷科技有限公司；内参甘油醛 -3- 磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase，GAPDH）、二抗购自美国 Santa Cruz 公司。iMark680 多功能酶标仪（美国 Bio-Rad 公司）；BX51 电动显微镜（日本奥林帕斯公司）；FACSCalibur 流式细胞仪（美国 Becton-Dickinson 公司）；ABI 7500 实时荧光定量聚合酶链反应（polymerase chain reaction，PCR）仪（美国 Applied Biosystems 公司）；TG16G 台式高速离心机（湖南凯达科学仪器有限公司）。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

Saos-2 细胞在 37 ℃，5% 二氧化碳的培养箱中，在补充 10% FBS 的 DMEM 培养基中培养。

1.2.2 分组

Saos-2 细胞培养于含有 10% FBS 的 DMEM 完全培养基，记为对照组。含有 10、20 及 40 μmol 顺阿曲库铵的 DMEM 培养基培养 Saos-2 细胞 24 h[8]，分别记为顺阿曲库铵低、中及高剂量组。采用脂质体转染法分别将 miR-NC、miR-505 模拟物分别转染至 Saos-2 细胞，记为 miR-NC 组、miR-505 组。另将 anti-miR-NC、miR-505 抑制剂分别转染至 Saos-2 细胞，转染成功后加入含有 40 μmol 顺阿曲库铵的 DMEM 培养基培养 Saos-2 细胞 24 h，记为顺阿曲库铵＋ anti-miR-NC 组、顺阿曲库铵＋ miR-505 抑制剂组。

1.2.3 MTT 检测细胞增殖

取各组 Saos-2 细胞分别加入 20 μl MTT 溶液，充分混匀，培养 4 h，弃培养液，孔中分别加入 DMSO 150 μl，采用酶标仪检测在 490 nm 处各孔吸光度值（absorbance，A）并计算增殖抑制率＝（对照组 A －顺阿曲库铵或 miR-505 处理组 A）/（对照组 A －空白孔 A）×100%。

1.2.4 平板克隆形成实验

取各组 Saos-2 细胞接种于 6 孔板（1×10^3 个 / 孔），于培养箱培养 14 d，每 2 d 更换培养液，结晶紫染色 5 min，每个集落细胞数＞ 50 个，集落之间融合时结束计数。

1.2.5 流式细胞术检测细胞凋亡率

Saos-2 细胞加入胰蛋白酶消化制备细胞悬液，

PBS（预冷）清洗，离心 1 000 *g*，5 min 后弃上清，留取细胞沉淀加入 500 μl Binding Buffer 悬浮细胞，按照凋亡检测试剂盒说明书依次加入 Annexin V-FITC 和 PI，在 37 ℃黑暗中孵育 5 min。用流式细胞仪检测细胞凋亡率。

1.2.6 实时荧光定量 PCR（real time fluorescence quantitative PCR，qRT-PCR）检测 miR-505 的表达水平

取各组 Saos-2 细胞提取总 RNA，参照 miR 提取试剂盒。然后用紫外分光光度计测定提取的 RNA 的浓度和纯度，A260/A280 ＝ 1.8 ～ 2.0。随后将 RNA 反转录合成 cDNA，并储存在 −80 ℃的冰箱中。在含 2.5 μl 10×Buffer、1 μl 互补 DNA、0.5 μl 正向引物（20 μmol/L）、0.5 μl 反向引物（20 μmol/L）、10 μl SYBR Green（2×）和 5.5 μl 双重去离子水的体系中进行 qRT-PCR 检测。PCR 反应条件为 94 ℃预变性 30 min，95 ℃变性 5 s，60 ℃退火延伸 30 s，共 40 个循环。以 U6 作为 miR-505 的内参对照。通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法分析 miR-505 的相对表达量。

1.2.7 免疫印迹法检测蛋白表达量

提取各组 Saos-2 细胞总蛋白。取 40 μg 变性蛋白进行 SDS-PAGE，转膜，5% 脱脂牛奶封闭 2 h，分别加入 cleaved-caspase3（1 ∶ 1 000）、cleaved-caspase9（1 ∶ 1 000）、GAPDH 抗体（1 ∶ 2 000）稀释液，4 ℃孵育 24 h，加入二抗稀释液（1 ∶ 5 000），37 ℃孵育 2 h，应用 Quantity One v4.6.6 软件定量各蛋白条带灰度值。

1.3 统计学方法

采用 SPSS21.0 统计软件分析数据，计量资料以 $(\bar{x}\pm s)$ 表示，两组间比较采用独立样本 *t* 检验，多组间比较采用单因素方差分析，进一步的组间两两比较采用 SNK-*q* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 顺阿曲库铵对骨肉瘤 Saos-2 细胞增殖的影响

顺阿曲库铵低、中及高剂量组细胞增殖抑制率高于对照组（$P < 0.05$），细胞克隆形成数少于对照组（$P < 0.05$），且呈剂量依赖性，见图 1、表 1。

表 1 顺阿曲库铵对骨肉瘤 Saos-2 细胞增殖的影响 $(\bar{x}\pm s)$

Table 1 Effect of cisatracurium on the proliferation of osteosarcoma Saos-2 cells $(\bar{x}\pm s)$

组别	抑制率/%	细胞克隆形成数/个
对照组	0.00±0.00	117.77±10.81
顺阿曲库铵低剂量组	19.15±1.46*	91.15±7.89*
顺阿曲库铵中剂量组	32.57±3.39*#	74.02±6.96*#
顺阿曲库铵高剂量组	57.08±5.17*#&	54.64±4.32*#&
*F*值	171.121	34.970
*P*值	＜0.001	＜0.001

注：与对照组比较，*$P < 0.05$；与顺阿曲库铵低剂量组比较，#$P < 0.05$；与顺阿曲库铵中剂量组比较，&$P < 0.05$。

Note: *vs* the control group, *$P < 0.05$; *vs* the low-dose cisatracurium group, #$P < 0.05$; *vs* the medium-dose cisatracurium group, &$P < 0.05$.

2.2 顺阿曲库铵对骨肉瘤 Saos-2 细胞凋亡的影响

与对照组比较，顺阿曲库铵低、中及高剂量组细胞凋亡率、cleaved-caspase3 及 cleaved-caspase9 蛋白水平升高（$P < 0.05$），且呈剂量依赖性，见图 2、表 2。

2.3 顺阿曲库铵对骨肉瘤 Saos-2 细胞 miR-505 表达的影响

与对照组相比，顺阿曲库铵低、中及高剂量组 miR-505 表达量升高（$P < 0.05$），且呈剂量依赖性，见表 3。

2.4 miR-505 过表达对骨肉瘤 Saos-2 细胞增殖和凋亡的影响

与 miR-NC 组比较，miR-505 组细胞增殖抑制率、凋亡率、cleaved-caspase3 及 cleaved-caspase9 蛋白水平升高（$P < 0.05$），克隆形成数减少（$P < 0.05$），见图 3、4 及表 4。

2.5 下调 miR-505 表达对顺阿曲库铵（40 μmol/L）介导的骨肉瘤 Saos-2 细胞增殖和凋亡的影响

与顺阿曲库铵＋anti-miR-NC 组相比，顺阿曲库铵＋miR-505 抑制剂组细胞增殖抑制率、凋亡率、cleaved-caspase3 及 cleaved-caspase9 蛋白水平降低（$P < 0.05$），克隆形成数增多（$P < 0.05$），见图 5、6 及表 5。

3 讨论

麻醉药物在恶性肿瘤手术治疗中被广泛使用，

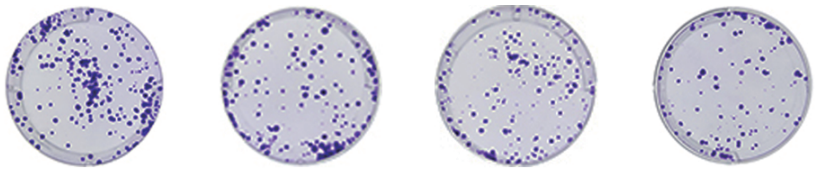
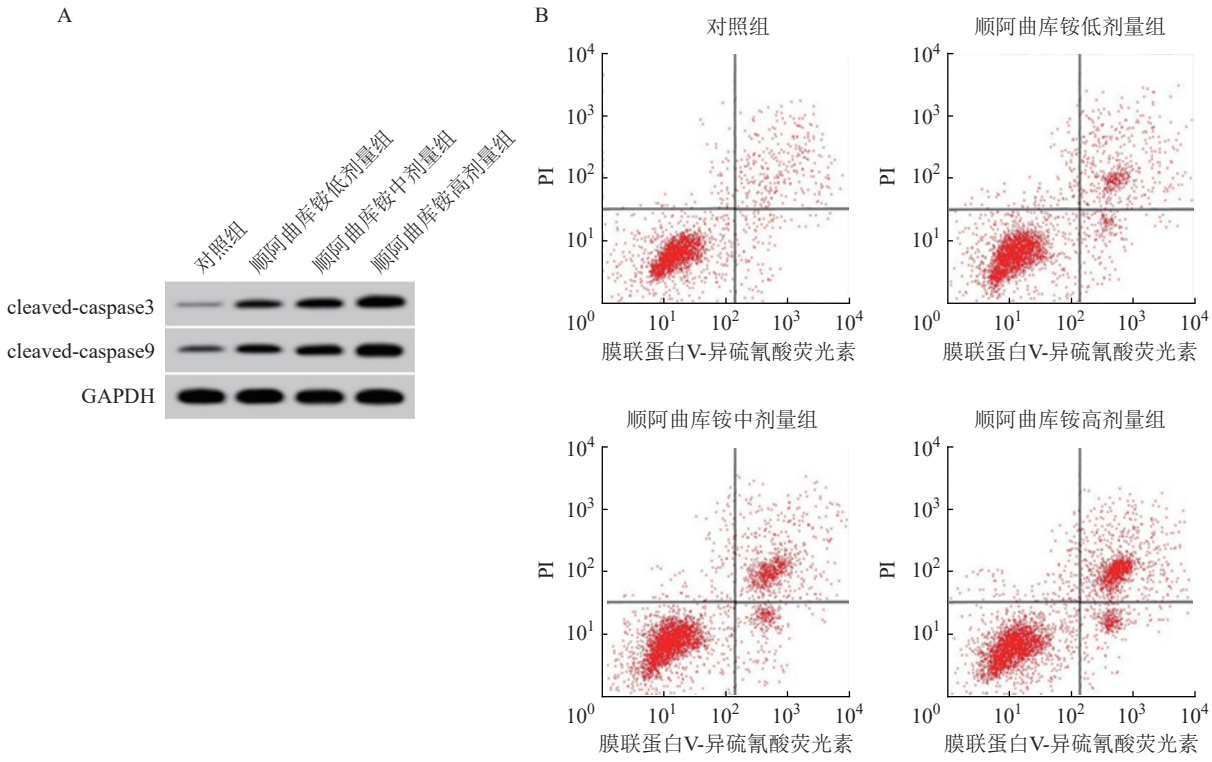


图 1　顺阿曲库铵对骨肉瘤 Saos-2 细胞克隆的影响

Figure 1　Effect of cisatracurium on the cloning of osteosarcoma Saos-2 cells



注：A：顺阿曲库铵对骨肉瘤 Saos-2 细胞凋亡的影响；B：顺阿曲库铵对骨肉瘤 Saos-2 细胞凋亡相关蛋白表达的影响

Note: A: The effect of cisatracurium on apoptosis of osteosarcoma Saos-2 cells;

B: The effect of cisatracurium on the expression of apoptosis related proteins in osteosarcoma Saos-2 cells

图 2　顺阿曲库铵对骨肉瘤 Saos-2 细胞凋亡的影响

Figure 2　Effect of cisatracurium on apoptosis of osteosarcoma Saos-2 cells

表 2　顺阿曲库铵对骨肉瘤 Saos-2 细胞凋亡的影响 $(\bar{x}\pm s)$

Table 2　Effect of cisatracurium on apoptosis of osteosarcoma Saos-2 cells $(\bar{x}\pm s)$

组别	凋亡率/%	cleaved-caspase3蛋白	cleaved-caspase9蛋白
对照组	5.79±0.56	0.17±0.02	0.24±0.02
顺阿曲库铵低剂量组	10.71±0.81*	0.31±0.03*	0.38±0.03*
顺阿曲库铵中剂量组	17.33±1.37*#	0.44±0.04*#	0.52±0.04*#
顺阿曲库铵高剂量组	24.24±2.23*#&	0.57±0.05*#&	0.71±0.05*#&
*F*值	98.780	65.537	89.537
*P*值	＜0.001	＜0.001	＜0.001

注：与对照组比较，*$P < 0.05$；与顺阿曲库铵低剂量组比较，#$P < 0.05$；与顺阿曲库铵中剂量组比较，&$P < 0.05$。

Note: *vs* the control group, *$P < 0.05$; *vs* the low-dose cisatracurium group, #$P < 0.05$; *vs* the medium-dose cisatracurium group, &$P < 0.05$.

表 3 顺阿曲库铵对骨肉瘤 Saos-2 细胞 miR-505 表达的影响 ($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Effect of cisatracurium on miR-505 expression in osteosarcoma Saos-2 cells ($\bar{x}\pm s$)

组别	miR-505	F值	P值
对照组	1.00±0.00	75.564	<0.001
顺阿曲库铵低剂量组	1.71±0.13*		
顺阿曲库铵中剂量组	2.31±0.21*#		
顺阿曲库铵高剂量组	3.03±0.24*#&		

注：与对照组比较，*P < 0.05；与顺阿曲库铵低剂量组比较，#P < 0.05；与顺阿曲库铵中剂量组比较，&P < 0.05。

Note: *vs* the control group, *P < 0.05; *vs* the low-dose cisatracurium group, #P < 0.05; *vs* the medium-dose cisatracurium group, &P < 0.05.

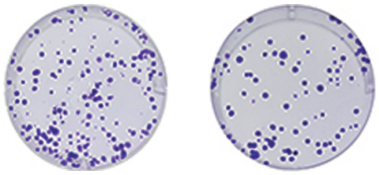


图 3 miR-505 过表达对骨肉瘤 Saos-2 细胞克隆的影响

Figure 3 Effect of miR-505 overexpression on the cloning of osteosarcoma Saos-2 cells

在外科肿瘤学中常用全麻或局麻药物通过调节 miR 改变基因表达并引起表观遗传变化。有报道显示，麻醉药物对骨肉瘤细胞增殖、迁移等生物学行为具

表 4 miR-505 过表达对骨肉瘤 Saos-2 细胞增殖和凋亡的影响 ($\bar{x}\pm s$)

Table 4 Effects of miR-505 overexpression on proliferation and apoptosis of osteosarcoma Saos-2 cells ($\bar{x}\pm s$)

项目	miR-NC组	miR-505组	t值	P值
miR-505	1.00±0.00	3.41±0.28*	14.908	<0.001
抑制率/%	6.01±0.56	49.73±5.06*	14.875	<0.001
细胞克隆形成数/个	115.69±10.58	60.26±5.04*	8.192	0.001
凋亡率/%	5.45±0.05	19.18±1.08*	21.996	<0.001
cleaved-caspase3蛋白	0.16±0.02	0.52±0.04*	13.943	<0.001
cleaved-caspase9蛋白	0.23±0.03	0.65±0.05*	12.476	<0.001

注：与 miR-NC 组比较，*P < 0.05。

Note: *vs* the miR-NC group, *P < 0.05.

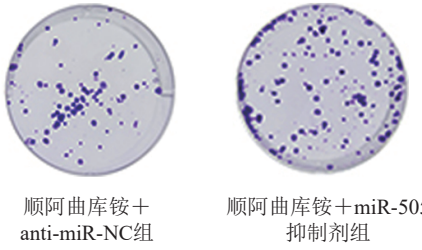
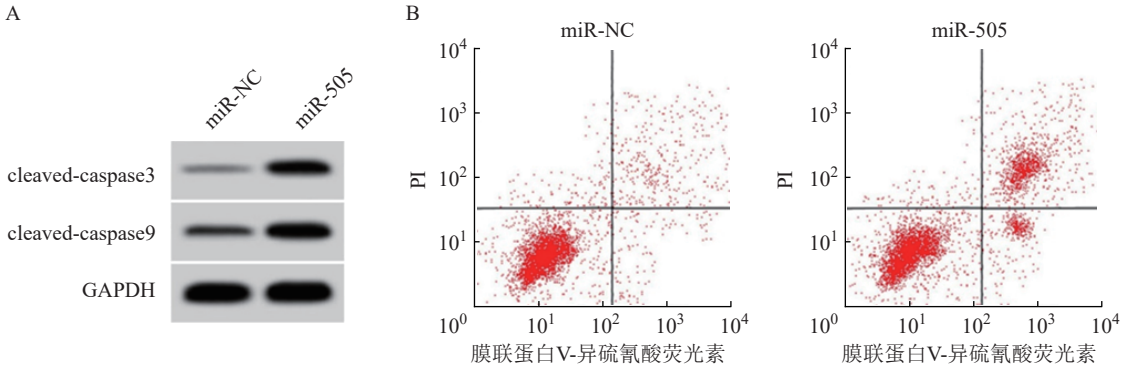


图 5 下调 miR-505 表达对顺阿曲库铵介导的骨肉瘤 Saos-2 细胞克隆的影响

Figure 5 Effect of downregulating miR-505 expression on cisatracurium mediated osteosarcoma Saos-2 cell clone



注：A：miR-505 过表达对骨肉瘤 Saos-2 细胞凋亡的影响；B：miR-505 过表达对骨肉瘤 Saos-2 细胞凋亡相关蛋白表达的影响

Note: the effect of overexpression of miR-505 on apoptosis of osteosarcoma Saos-2 cells;

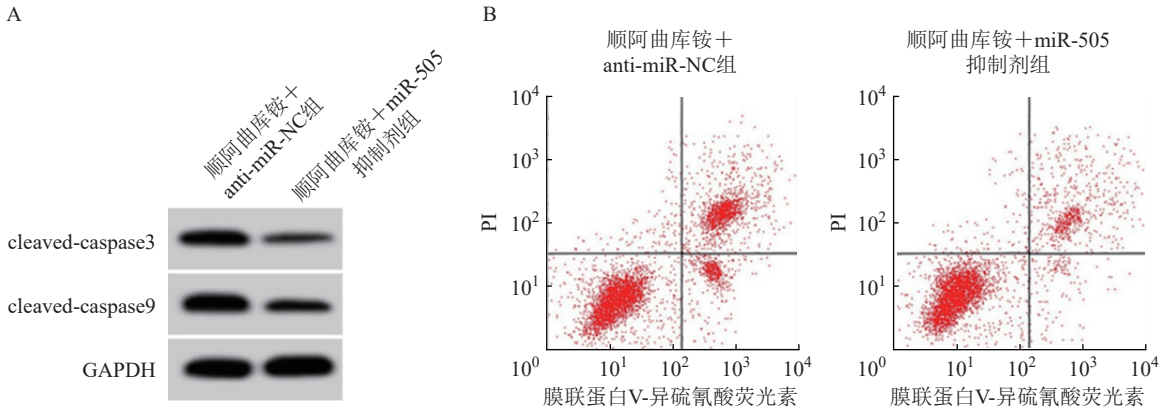
B: the effect of overexpression of miR-505 on the expression of apoptosis related proteins in osteosarcoma Saos-2 cells

图 4 miR-505 过表达对骨肉瘤 Saos-2 细胞凋亡的影响

Figure 4 The effect of miR-505 overexpression on apoptosis of osteosarcoma Saos-2 cells

有重要作用，其作用机制可能是通过调控 miR 表达而实现的[9]。Ye 等[10]研究表明，丙泊酚可通过上调 miR-143 来下调基质金属蛋白酶 13 表达，进而抑制骨肉瘤 MG63 细胞增殖和侵袭，并促进细胞凋亡；普鲁卡因可通过上调 miR-133b 抑制骨肉瘤细胞的增殖和迁移，促进细胞凋亡[11]。以上研究表明，在骨肉瘤中用麻醉药物靶向 miR 是调节恶性肿瘤进展的重要干预策略。

顺阿曲库铵是一种非去极化神经肌肉阻滞剂，可作为重症监护室中全身麻醉的辅助手段。近年来，顺阿曲库铵抗肿瘤活性在多种恶性肿瘤中被证实，其可促进 p53 蛋白表达从而调节结直肠癌细胞增殖、转移，并抑制结直肠癌发展[12]。顺阿曲库铵可通过抑制转化生长因子 -β(transforming growth factor-β，TGF-β)/Smad2/3 信号通路而抑制结直肠癌细胞活力、转移，并可抑制移植瘤生长、转移[13]。顺阿曲库铵可抑制胃癌细胞增殖并促进细胞凋亡，其作用机制与促进 p53、p53 正向凋亡调节因子基因表达有



注：A：下调 miR-505 表达逆转顺阿曲库铵对骨肉瘤 Saos-2 细胞凋亡的作用；

B：下调 miR-505 表达逆转顺阿曲库铵对骨肉瘤 Saos-2 细胞凋亡相关蛋白表达的作用

Note: A: downregulation of miR-505 expression reversed the effect of cisatracurium on apoptosis of osteosarcoma Saos-2 cells;

B: downregulation of miR-505 expression reversed the effect of cisatracurium on apoptosis related protein expression in osteosarcoma Saos-2 cells

图 6 下调 miR-505 表达对顺阿曲库铵介导的骨肉瘤 Saos-2 细胞凋亡的影响

Figure 6 Effect of downregulating miR-505 expression on cisatracurium mediated apoptosis of osteosarcoma Saos-2 cells

表 5 下调 miR-505 表达对顺阿曲库铵介导的骨肉瘤 Saos-2 细胞增殖和凋亡的影响 ($\bar{x}\pm s$)

Table 5 Effect of downregulating miR-505 expression on cisatracurium mediated proliferation and apoptosis of osteosarcoma Saos-2 cells ($\bar{x}\pm s$)

项目	顺阿曲库铵+anti-miR-NC组	顺阿曲库铵+miR-505抑制剂组	*t*值	*P*值
miR-505	1.00±0.00	0.45±0.03*	31.754	<0.001
抑制率/%	59.52±5.28	23.22±2.46*	10.794	<0.001
细胞克隆形成数/个	52.13±4.21	101.35±8.04*	9.394	0.001
凋亡率/%	25.44±2.32	9.18±0.83*	11.430	<0.001
cleaved-caspase3蛋白	0.58±0.04	0.28±0.02*	11.619	<0.001
cleaved-caspase9蛋白	0.72±0.06	0.35±0.03*	9.553	0.001

注：与顺阿曲库铵+ anti-miR-NC 组比较，*P < 0.05。

Note: *vs* the cisatracurium + inhibitor negative control group, *P < 0.05.

关[14]。本研究结果显示，顺阿曲库铵处理后细胞增殖抑制率升高，克隆形成能力减弱，且随着顺阿曲库铵浓度的增加而明显变化，提示顺阿曲库铵可抑制骨肉瘤细胞增殖及克隆形成。分析其原因可能与顺阿曲库铵调控 p53 蛋白、TGF-β/Smad2/3 信号通路减弱骨肉瘤细胞增殖能力有关，在未来的研究中会进行深入分析。此外，caspase 家族蛋白分为起始者和执行者，细胞接受凋亡信号时，起始者活化，催动执行者活化，caspase9 是启动子，caspase3 是凋亡执行者，二者被激活后可促进细胞凋亡[15—16]。本研究结果显示，随着顺阿曲库铵浓度增加，细胞凋亡率升高，同时 cleaved-caspase3、cleaved-caspase9 蛋白水平升高，提示顺阿曲库铵可促进骨肉瘤细胞凋亡，其作用机制与激活 caspase 途径有关。提示顺阿曲库铵在骨肉瘤中具有抗肿瘤潜力。

MiRNA 与肿瘤的发生、发展以及肿瘤细胞增殖、凋亡、侵袭等生物学行为密切相关。miR-505 是一种非编码 RNA，在多种肿瘤中异常表达，并参与肿瘤进展。据报道，miR-505 在前列腺癌细胞中表达下调，其可靶向调控神经细胞黏附分子（neuronal cell adhesion molecule，NRCAM），上调 miR-505 表达可通过抑制 NRCAM 表达而促进细胞凋亡并抑制细胞增殖、侵袭[17]。miR-505 在肝癌、非小细胞肺癌组织和细胞系中表达下调，上调其表达可抑制细胞增殖、集落形成并促进细胞凋亡[18—19]。有研究显示，miR-505 在骨肉瘤中表达下调，其过表达可抑制骨肉瘤细胞的增殖和侵袭[7]。本研究结果显示，miR-505 过表达可抑制骨肉瘤细胞增殖、克隆形成并促进细胞凋亡，这与既往的研究结果一致[7]，证实 miR-505 在骨肉瘤中发挥抗肿瘤作用。顺阿曲库铵可通过调控 miR 表达发挥抗肿瘤活性。黎真真等[20]研究证实，顺阿曲库铵可通过上调 miR-526b-3p 抑制胃癌 AGS 细胞增殖、迁移和侵袭；周霞等[21]研究显示，顺阿曲库铵可能通过上调 miR-3666 表达抑制膀胱癌细胞增殖、迁移和侵袭。本研究中，顺阿曲库铵处理后 Saos-2 细胞中 miR-505 表达量升高，且随着顺阿曲库铵浓度增加，miR-505 表达量升高；由此推测，顺阿曲库铵在骨肉瘤中的抗肿瘤作用可能是通过上调 miR-505 表达实现的。为了验证此推测，本研究选择 40 μmol/L 顺阿曲库铵进行机制研究，结果显示，下调 miR-505 表达可拮抗 40 μmol/L 顺阿曲库铵对骨肉瘤细胞增殖能力的抑制作用及其对凋亡能力的促进作用。提示顺阿曲库铵可能通过作用于 miR-505 而影响骨肉瘤细胞增殖、凋亡。

4 结论

综上所述，顺阿曲库铵可通过促进 miR-505 表达而抑制骨肉瘤细胞增殖、克隆形成，并促进细胞凋亡，可为进一步阐释顺阿曲库铵抗骨肉瘤细胞增殖、促细胞凋亡的作用机制奠定实验基础。但本研究尚未进行体内实验，下一步将进行裸鼠移植瘤实验，探讨顺阿曲库铵是否可在体内抑制骨肉瘤细胞生长。

参考文献：

[1] Huang X, Liu J, Xie H. Propofol suppresses osteosarcoma cell function by regulating FOXO1/TUSC7[J]. J Pharm Pharmacol, 2021, 73(6): 720-725.

[2] Chen M, Zhou L, Liao Z, *et al*. Sevoflurane inhibited osteosarcoma cell proliferation and invasion via targeting miR-203/WNT2B/Wnt/β-catenin axis[J]. Cancer Manag Res, 2019, 11(1): 9505-9515.

[3] Cai WT, Guan P, Lin MX, *et al*. MiRNA-206 suppresses the metastasis of osteosarcoma via targeting Notch3[J]. J Biol Regul Homeost Agents, 2020, 34(3): 775-783.

[4] Yan R, Jin S, Liu H, *et al*. Dexmedetomidine inhibits cell malignancy in osteosarcoma cells via miR-520a-3p-YOD1 interactome[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2021, 543(1): 56-64.

[5] 孙贺, 李展. 利多卡因调控微小RNA-195对骨肉瘤MG63细胞增殖、凋亡及化疗敏感性的影响[J]. 安徽医药, 2022, 26(5): 869-873.

[6] 张君, 欧册华, 刘莉, 等. 顺式阿曲库铵对人乳腺癌MCF-7细胞株生物学特性影响的实验研究[J]. 中国免疫学杂志, 2021, 37(3): 262-267.

[7] Li G, Liu F, Miao J, *et al*. MiR-505 inhibits proliferation of osteosarcoma via HMGB1[J]. FEBS Open Bio, 2020, 10(7):

1251-1260.

[8] Zhu D, Shi C, Jiang Y, *et al*. Cisatracurium inhibits the growth and induces apoptosis of ovarian cancer cells by promoting lincRNA-p21[J]. Bioengineered, 2021, 12(1): 1505-1516.

[9] Liu Y, Gu X, Liu Y. The effect of dexmedetomidine on biological behavior of osteosarcoma cells through miR-1307 expression[J]. Am J Transl Res, 2021, 13(5): 4876-4883.

[10] Ye Z, Jingzhong L, Yangbo L, *et al*. Propofol inhibits proliferation and invasion of osteosarcoma cells by regulation of microRNA-143 expression[J]. Oncol Res, 2013, 21(4): 201-207.

[11] Ying B, Huang H, Li H, *et al*. Procaine inhibits proliferation and migration and promotes cell apoptosis in osteosarcoma cells by upregulation of microRNA-133b[J]. Oncol Res, 2017, 25(9): 1463-1470.

[12] Yabasin IB, Sanches JGP, Ibrahim MM, *et al*. Cisatracurium retards cell migration and invasion upon upregulation of p53 and inhibits the aggressiveness of colorectal cancer[J]. Front Physiol, 2018, 9: 941.

[13] Xia YZ, Shan GF, Yang H, *et al*. Cisatracurium regulates the CXCR4/let-7a-5p axis to inhibit colorectal cancer progression by suppressing TGF-β/Smad2/3 signalling[J]. Chem Biol Interact, 2021, 339: 109424.

[14] Zhou Q, Yuan J, Liu Y, *et al*. Cisatracurium besilate enhances the TRAIL-induced apoptosis of gastric cancer cells via p53 signaling[J]. Bioengineered, 2021, 12(2): 11213-11224.

[15] Lee HK, Park SH, Nam MJ. Proteasome inhibitor MG132 induces apoptosis in human osteosarcoma U2OS cells[J]. Hum Exp Toxicol, 2021, 40(11): 1985-1997.

[16] Tian W, Wang ZW, Yuan BM, *et al*. Calycosin induces apoptosis via p38-MAPK pathway-mediated activation of the mitochondrial apoptotic pathway in human osteosarcoma 143B cells[J]. Mol Med Rep, 2020, 22(5): 3962-3968.

[17] Ling XH, Fu H, Chen ZY, *et al*. MiR-505 suppresses prostate cancer progression by targeting NRCAM[J]. Oncol Rep, 2019, 42(3): 991-1004.

[18] Ren L, Yao Y, Wang Y, *et al*. MiR-505 suppressed the growth of hepatocellular carcinoma cells via targeting IGF-1R[J]. Biosci Rep, 2019, 39(7): BSR20182442.

[19] Tang H, Lv W, Sun W, *et al*. MiR-505 inhibits cell growth and EMT by targeting MAP3K3 through the AKT-NFkappaB pathway in NSCLC cells[J]. Int J Mol Med, 2019, 43(3): 1203-1216.

[20] 黎真真, 陈飞任, 吴红发, 等. 顺阿曲库铵通过miR-526b-3p/FMNL3通路抑制胃癌AGS细胞增殖、迁移和侵袭[J]. 现代肿瘤医学, 2023, 31(9): 1639-1646.

[21] 周霞, 刘德智, 孟瑞霞, 等. 顺阿曲库铵通过调控miR-3666表达抑制膀胱癌细胞的增殖、迁移和侵袭[J]. 中国老年学杂志, 2022, 42(23): 5766-5770.

（编辑：沈佳婕）