·论著·

右美托咪定通过核因子κB缓解阿霉素诱导的心肌损伤

曹雪峰[1],赵亮[2],刘旭东[3],刘汉成[4],董天鑫[1],罗艾静[1],李艳[1]
(1. 承德医学院附属医院麻醉科,河北省泛血管疾病重点实验室,河北 承德 067000; 2. 承德医学院药理教研室,河北省神经损伤与修复重点实验室,河北 承德 067000; 3. 承德市中心医院麻醉疼痛科,河北 承德 067000; 4. 承德医学院附属医院乳腺外科,河北 承德 067000)

摘要 目的 探讨右美托咪定(Dex)通过调节核因子κB(NF-κB)缓解阿霉素(Adr)诱导的心肌损伤的机制。**方法** 将SD大鼠分为control组、Adr组、Adr+Dex组,取心肌织织进行HE染色、免疫组织化学染色,实时定量PCR、Western blotting检测。培养大鼠原代心肌细胞及乳腺癌细胞系MDA-MB-23、肺癌细胞系H226、胃癌细胞系AGS和膀胱癌细胞系5637,并分为control组、Adr组、Adr+Dex组、Dex组、Adr+Dex+NF-kBi组,进行CCK-8实验、免疫荧光染色、活性氧(ROS)含量检测。**结果** Adr组大鼠心肌排列紊乱,心肌细胞活性下降,线粒体膜电位降低,ROS生成增加,*NF-κB* mRNA和蛋白表达显著减少。Adr+Dex组心肌细胞形态改善,细胞活性增加,线粒体膜电位升高,ROS生成减少,Adr+Dex组*NF-κB*表达显著增加。Adr+Dex+NF-kBi组线粒体膜电位降低,且ROS生成增加。Adr组肿瘤细胞活性降低,与Adr+Dex组比较无统计学差异。**结论** Dex不影响Adr的化疗效果,可能通过调节NF-κB改善心肌线粒体膜电位及减少ROS生成,减轻Adr诱导的心肌损伤。

关键词 右美托咪定; 阿霉素; 核因子κB; 心肌损伤
中图分类号 R972 **文献标志码** A **文章编号** 0258-4646(2025)04-0289-06
网络出版地址 https://link.cnki.net/urlid/21.1227.R.20250409.1640.002
DOI: 10.12007/j.issn.0258-4646.2025.04.001

Dexmedetomidine attenuates doxorubicin-induced myocardial injury through nuclear factor κB

CAO Xuefeng[1], ZHAO Liang[2], LIU Xudong[3], LIU Hancheng[4], DONG Tianxin[1], LUO Aijing[1], LI Yan[1]
(1. Department of Anesthesiology, Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Hebei Key Laboratory of Panvascular Disease, Chengde 067000, China; 2. Department of Pharmacology, Chengde Medical College, Hebei Key Laboratory of Nerve Injury and Repair, Chengde 067000, China; 3. Department of Anesthesiology and Pain, Chengde Central Hospital, Chengde 067000, China; 4. Department of Breast Surgery, Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Chengde 067000, China)

Abstract Objective To explore the mechanism through which dexmedetomidine (Dex) alleviates doxorubicin (Adr) -induced myocardial injury via regulating nuclear factor κB (NF-κB) expression. **Methods** Sprague-Dawley rats were divided into control, Adr, and Adr+Dex groups. Theirs hearts were harvested for hematoxylin and eosin (HE) staining, immunohistochemical staining, real-time polymerase chain reaction (PCR), and Western blotting anlyses. The rat primary cardiomyocytes, breast cancer cell line MDA-MB-23, lung cancer cell line H226, gastric cancer cell line AGS, and bladder cancer cell line 5637 were cultured and divided into control, Adr, Adr+Dex, Dex, and Adr+Dex+NF-kBi groups. CCK-8 and immunofluorescence staining were performed to detect the reactive oxygen species (ROS) contents. **Results** The myocardial arrangement of the rats in the Adr group was disordered, myocardial cell activity was lower, the mitochondrial membrane potential was lower, ROS production was higher, and *NF-κB* mRNA and protein contents were substantially lower than those in the control group. The cardiomyocyte morphology was improved, cell activity was higher, mitochondrial membrane potential was increased, ROS production decreased, and NF-κB expression significantly increased in the Adr+Dex group compared with those in the control group. The mitochondrial membrane potential in the Adr+Dex+NF-kBi group was lower, and ROS generation was increased compared with the control group. The activity of the tumor cells in the Adr group was lower, and no statistically significant differences were found compared with that in the Adr+Dex group. **Conclusion** Treatment with Dex may not affect the chemotherapeutic effects of Adr. Dex administration may increase the myocardial mitochondrial membrane potential and reduce ROS generation by regulating NF-κB levels, thereby reducing Adr-induced myocardial damage.

Keywords dexmedetomidine; adriamycin; nuclear factor κB; myocardial injury

基金项目: 国家自然科学基金(81700310);河北省重点研发计划(22377746D);河北省中医药管理局科研计划(2024119);河北省泛血管疾病重点实验室开放课题(FXGJBKKFT2403)
作者简介: 曹雪峰(1983-),女,副主任医师,硕士.
通信作者: 赵亮,E-mail:shijianzhengzaifei@163.com
收稿日期: 2024-04-30
网络出版时间: 2025-04-10 10:49:44

以阿霉素（adriamycin，Adr）为代表的蒽环类抗肿瘤药广泛用于乳腺癌等实体肿瘤和血液系统恶性肿瘤的治疗，疗效确定，抗肿瘤谱广。但以心脏损伤为主的不良反应限制了Adr的临床应用[1-2]，因此，寻找一种既不影响化疗效果又能缓解心肌损伤的药物是临床亟待解决的问题。

右美托咪定（dexmedetomidine，Dex）是一种高选择性肾上腺素α2受体激动剂，既能通过抗交感神经作用降低外周血管阻力，稳定血流速度，维持血流动力学稳定，进而降低麻醉和手术操作所引起的应激反应，减少麻醉药物的用量；又能作用于脊髓后角产生镇痛作用，作用于中枢蓝斑核，发挥镇静、催眠效应，具有镇痛却无呼吸抑制的独特药理学作用[3-4]。最新研究[5-6]表明，Dex可通过减轻炎症反应、抑制氧化应激和细胞凋亡等机制发挥生物学作用。本研究拟探讨Dex能否缓解Adr诱导的心肌损伤及其作用机制。

1　材料与方法

1.1　材料

Dex（批号HY-12719，美国MedChemExpress公司）；盐酸多柔比星（RP-BC0940，河北瑞帕特生物科技有限公司）；核因子κB（nuclear factor κB，NF-κB）抑制剂Bortezomib（5 mg，S1013，美国Selleck生物科技有限公司）；NF-κB抗体（美国Cell Signaling Technology公司）；LDH（A020-2，南京建成生物工程研究所有限公司）；DMSO（KMO0697DMSO，广州索莱宝生物科技有限公司）。

1.2　方法

1.2.1　实验动物及分组：将18只雌性8周龄SD大鼠（体重200 g，北京华阜康生物科技股份有限公司）随机分为3组，每组6只。（1）control组：于第1、3、5、7、9、11、14、16、18天腹腔注射DMSO（2.5 mg·kg^{-1}·d^{-1}）。（2）Adr组：于第1、3、5、7、9、11天腹腔注射Adr（2.5 mg·kg^{-1}·d^{-1}），于第14、16、18天腹腔注射DMSO（2.5 mg·kg^{-1}·d^{-1}）。（3）Adr+Dex组：于第1~18天腹腔注射Dex（50 μg·kg^{-1}·d^{-1}），于第1、3、5、7、9、11天，注射Dex1 h后，腹腔注射Adr（2.5 mg·kg^{-1}·d^{-1}），于第14、16、18天腹腔注射DMSO（2.5 mg·kg^{-1}·d^{-1}）。本研究获得承德医学院附属医院动物伦理和使用委员会批准（CYFYLL2022047）。

1.2.2　原代大鼠心肌细胞培养及分组：无菌条件下，将出生后1~3 d乳鼠心室肌剪成1 mm×1 mm×1 mm大小，用DMEM清洗并加入0.25%胰蛋白酶消化，将细胞悬液移至含20 mL DMEM的无菌试管中，以1 000 r/min离心5 min，弃上清液，用培养液重悬细胞沉淀。经筛网过滤后，用差速贴壁分选法分离2 h，以1×10^5/cm^{2}浓度接种于培养皿。培养3 d后，将细胞分为control组（用无血清培养液培养24 h）、Adr组（用含1 μmol/L Adr的培养液培养24 h）、Adr+Dex组（用含1 μmol/L Adr和10 μmol/L Dex的培养液培养24 h）、Dex组（用含10 μmol/L Dex的培养液培养24 h）、Adr+Dex+NF-κBi组（用含1 μmol/L Adr、10 μmol/L Dex和1 μmol/L Bortezomib的培养液培养24 h）。

1.2.3　肿瘤细胞培养及分组：培养乳腺癌细胞系MDA-MB-23、肺癌细胞系H226、胃癌细胞系AGS、膀胱癌细胞系5637（均购自武汉普诺赛生命科技有限公司）。分组及处理同1.2.2。

1.2.4　HE染色：用多聚甲醛固定大鼠心脏，脱水透明，石蜡包埋，制作厚4 μm切片，梯度乙醇、二甲苯脱蜡脱水，滴加中性树胶，盖玻片封片。光学显微镜下观察并采集图像，用Image-Pro Plus 6.0 软件分析图像。

1.2.5　免疫组织化学染色：组织切片脱蜡水化同HE染色。微波抗原修复，加内源性过氧化物酶阻断剂，室温孵育10 min，PBST洗2次，PBS洗1次。加一抗4 ℃过夜。室温孵育45 min，PBST洗2次，PBS洗1次。加二抗，37 ℃孵育20 min，PBS 洗3次，DAB显色。共聚焦显微镜下采集图像，用Image-Pro Plus 6.0 软件进行图像分析。

1.2.6　实时定量PCR：提取大鼠心肌细胞或心肌组织mRNA，逆转录成cDNA，行实时定量PCR。PCR反应条件：95 ℃ 30 s，95 ℃ 5 s，60 ℃ 34 s，72 ℃ 60 s，40个循环。用*GAPDH*作内参照。引物序列如下：*GAPDH*，正向5'-GCTCTCTGCTCCTCCCTGTTCTA-3'，反向5'-TGGTAACCAGGCGTCCGATA-3'；*NF-κB*，正向5'-GCAACTCTGTCCTGCACCTA-3'，反向5'-CTGCTCCTGAGCGTTGACTT-3'。采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算mRNA表达水平。

1.2.7　Western blotting：用0.5 mL细胞裂解缓冲液裂解大鼠心肌细胞（2×10^6~3×10^6）或心肌组织，离心（20 000 r/min，4 ℃，10 min），取上清液检测蛋白浓

度。蛋白上样，行8%~10%SDS-PAGE，转膜，用5%脱脂牛奶室温封闭1 h。加入NF-κB、GAPDH抗体，4 ℃孵育过夜。加入二抗室温孵育1 h，DAB显影，用凝胶成像分析系统扫描分析。

1.2.8　CCK-8实验：当大鼠心肌细胞生长至70%~80%融合，用胰蛋白酶消化，加至96孔板，于37 ℃、5% CO_2培养箱培养24 h。更换1%FBS+DMEM培养液，随机分为control组、Adr组、Adr+Dex组、Adr+Dex+NF-κBi组，并设置空白对照孔。分别在常氧和低氧培养箱中培养24 h，加入CCK-8溶液（10 μL/孔），培养1~4 h，用酶标仪测定吸光度。

1.2.9　活性氧（reactive oxygen species，ROS）含量检测：按照ROS检测试剂盒（南京建成生物工程研究所有限公司）说明书进行操作，检测各组心肌细胞内ROS含量。

1.2.10　免疫荧光染色：用PBS清洗心肌细胞3次，取500 μL JC-1工作液加至细胞，于37 ℃、5%CO_2培养箱中孵育15~20 min，用1 × Incubation Buffer洗2次，将盖玻片倒置于载玻片上，于荧光显微镜下观察JC-1定位。

1.3　统计学分析

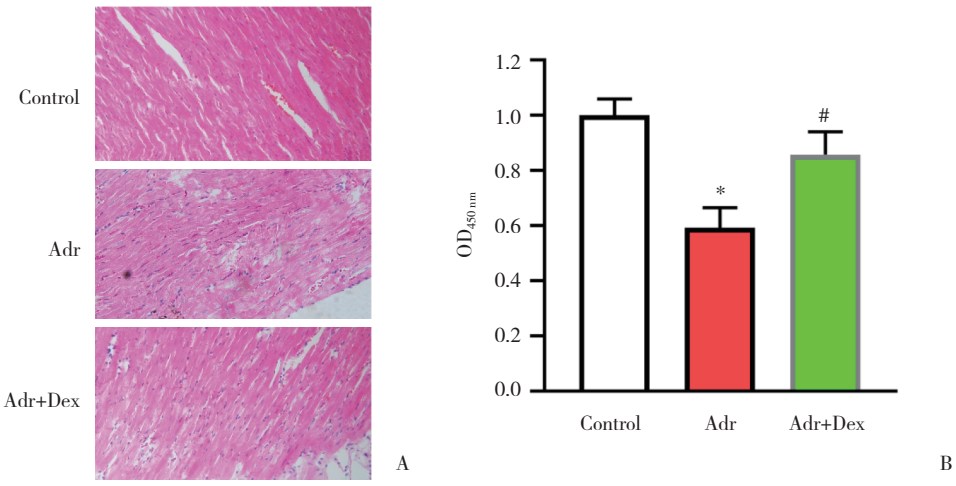
采用SPSS 20.0软件进行统计分析。用Shapiro-Wilk检验分析数据符合正态分布。计量资料采用$\bar{x} \pm s$表示。2组间比较采用非配对双边t检验，多组间比较采用单因素方差分析。$P < 0.05$为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　Dex缓解Adr诱导的心肌损伤及心肌细胞活性降低

HE染色结果显示，control组大鼠心肌结构正常，心肌纤维排列整齐；Adr组大鼠心肌结构破坏，心肌纤维排列紊乱，炎症细胞浸润；Adr+Dex组大鼠心肌纤维排列整齐，未见炎症细胞浸润。见图1A。

CCK-8实验结果显示，与control组比较，Adr组大鼠心肌细胞活性显著降低，而Adr+Dex组大鼠心肌细胞活性则较Adr组显著升高，差异有统计学意义（$P < 0.05$）。见图1B。



A，HE staining results（×400）；B，CCK-8 results.*$P < 0.05$ vs. control group；#$P < 0.05$ vs. Adr group.

图1　Dex缓解Adr诱导的大鼠心肌组织损伤及心肌细胞活性降低

Fig.1　Dexmedetomidine alleviated doxorubicin-induced myocardial injury and increased cardiomyocyte activity

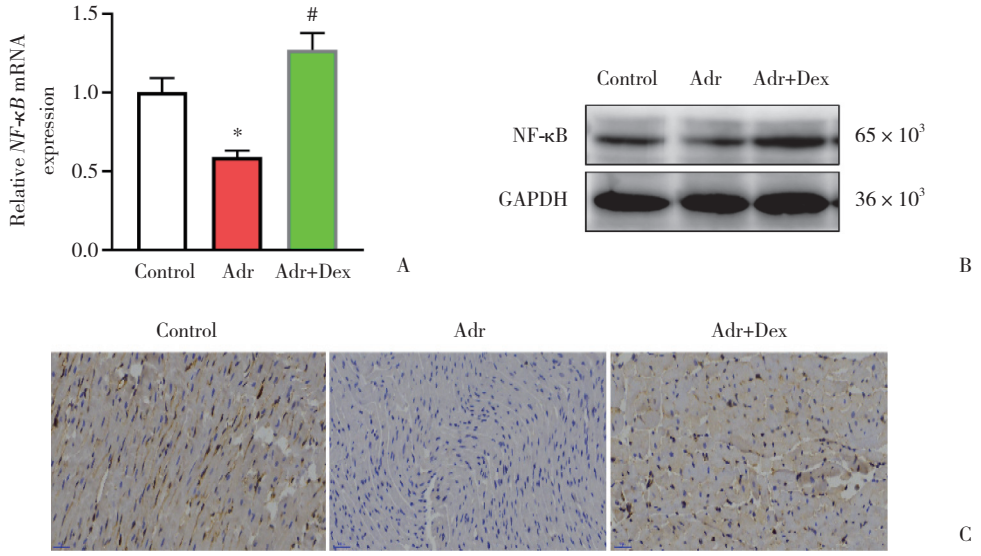
2.2　NF-κB参与Dex缓解Adr诱导的心肌损伤

实时定量PCR、Western blotting及免疫组织化学染色结果显示，与control组比较，Adr组*NF-κB* mRNA及蛋白表达水平显著降低；Adr+Dex组*NF-κB* mRNA及蛋白表达水平则较Adr组显著上升，差异均有统计学意义（均$P < 0.05$）。见图2。

2.3　NF-κB抑制剂抑制Dex改善心肌细胞活性及线粒体膜电位并减少ROS产生

CCK-8实验结果显示，与Adr+Dex组比较，Adr+Dex+NF-kBi组心肌细胞活性显著降低，差异有统计学意义（$P < 0.05$）。免疫荧光染色结果显示，与control组比较，Adr 组线粒体膜电位降低，线粒体功能下降；与Adr 组比较，Adr+Dex组线粒体膜电位升高，线粒体功能增强；与Adr+Dex组比较，Adr+Dex+NF-kBi

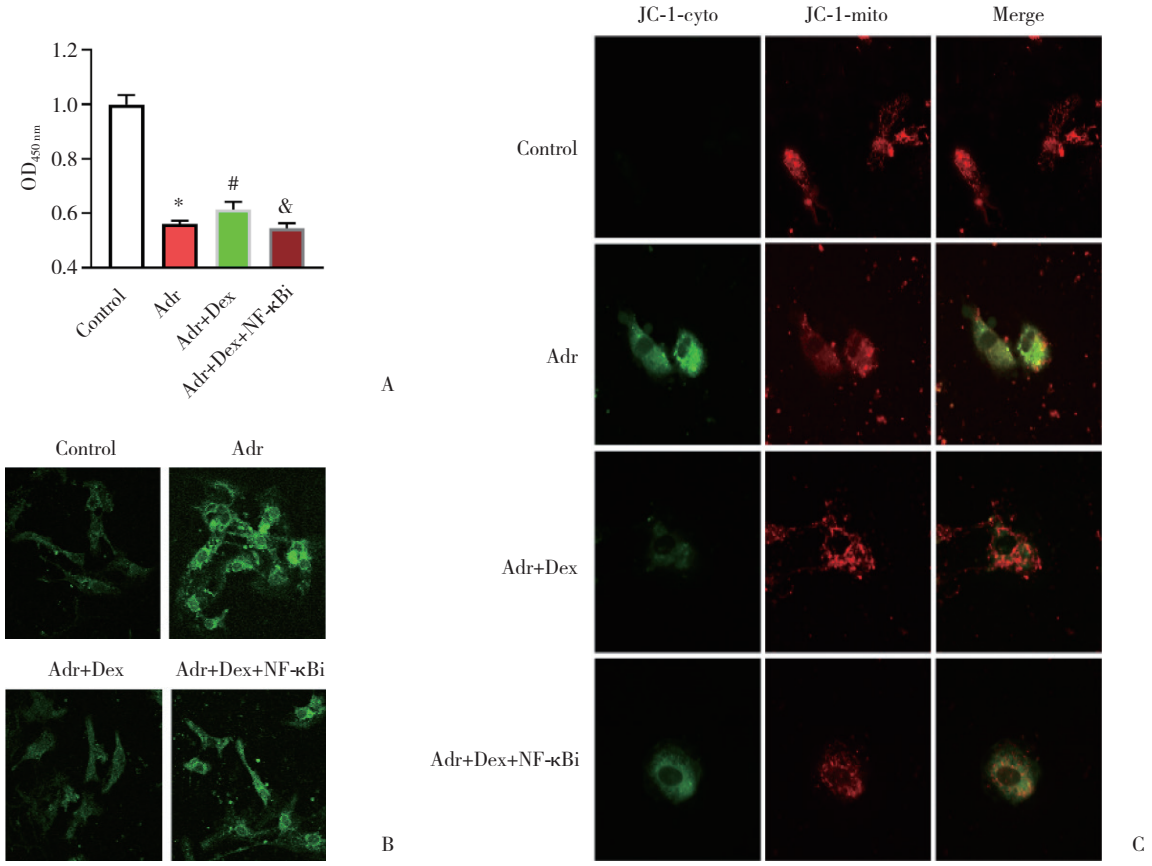
组线粒体膜电位降低，线粒体功能下降。ROS检测结果显示，与control组比较，Adr组ROS生成增加；与Adr 组比较，Adr+Dex组ROS生成减少；与Adr+Dex组比较，Adr+Dex+NF-kBi组ROS生成增加。见图3。



A，real-time PCR results；B，Western blotting results；C，immunohistochemical staining（× 200）. *P < 0.05 vs. control group；#P < 0.05 vs. Adr group.

图2　NF-κB参与Dex缓解Adr诱导的心肌损伤

Fig.2　NF-κB participates in the amelioration of doxorubicin-induced myocardial injury



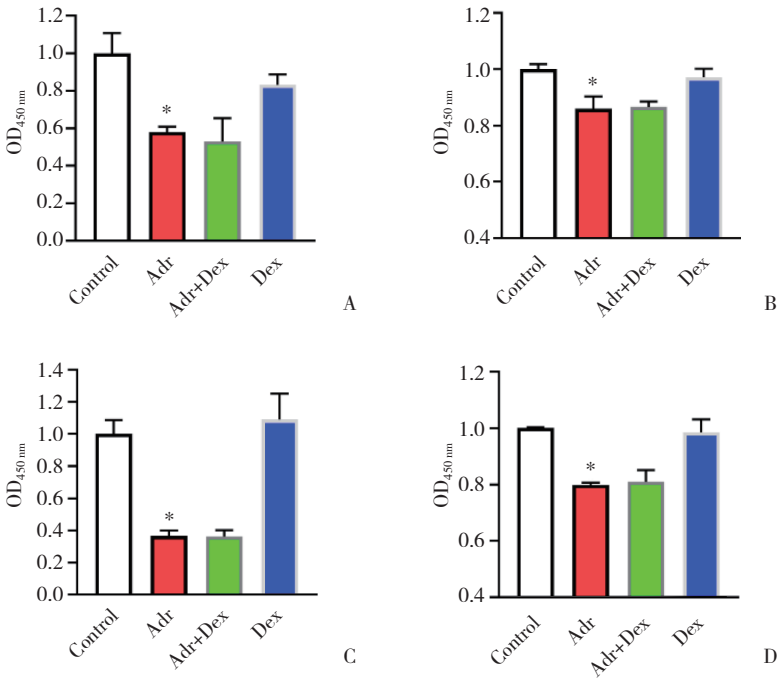
A，CCK-8 results；B，ROS detection results（× 400）；C，immunofluorescence results（× 400）. *P < 0.05 vs. control group；#P < 0.05 vs. Adr group；&P < 0.05 vs. Adr+Dex group.

图3　NF-κB抑制剂恶化Dex改善心肌细胞活性及线粒体膜电位并减少ROS产生

Fig.3　NF-κB inhibitor worsened the effect of dexmedetomidine on cardiomyocyte viability and mitochondrial membrane potential and reduced the production of ROS

2.4　Dex不影响Adr化疗效果

CCK-8实验结果显示，Adr+Dex组肿瘤细胞活性与Adr组比较差异无统计学意义，说明Dex不影响Adr的化疗效果；与control组比较，Dex组肺癌H226细胞活性显著降低（$P < 0.05$），提示Dex能降低肺癌肿瘤细胞活性；与control组比较，Dex组乳腺癌MDA-MB-23细胞、胃癌AGS细胞、膀胱癌5637细胞活性无统计学差异（$P > 0.05$），提示Dex对乳腺癌、胃癌及膀胱癌肿瘤细胞活性无影响。见图4。



A，human lung cancer cell line H226；B，breast cancer cell line MDA-MB-23；C，gastric cancer cell line AGS；D，bladder cancer cell line 5637. *$P < 0.05$ vs. control group.

图4　Dex不影响Adr的化疗效果

Fig.4　Dexmetomidine did not affect the chemotherapeutic effect of adriamycin

3　讨论

Adr属于蒽环类抗肿瘤药物，是治疗乳腺癌、肺癌等实性肿瘤和恶性淋巴瘤的主要化疗药物。虽然Adr疗效确切，但其对心肌的损伤作用较重，可导致患者被迫停药，影响了治疗效果。右丙亚胺是可用于减轻Adr心肌损伤的辅助药物，但该药的不良反应，尤其是骨髓抑制作用较强[7-9]，限制了其临床使用。因此，寻找一种既不影响Adr化疗效果又可保护心肌的药物是临床亟待解决的问题。Dex作为一种重要的麻醉辅助药物，已被广泛用于各种手术麻醉及重症监护病房患者的镇静。由于Dex具有不抑制呼吸的特性，逐渐应用于日间和门诊手术[10-12]。研究[13]报道，Dex通过上调大鼠心肌Bcl-2的表达及下调Bax的表达，减少心肌缺血/再灌注损伤中促炎性细胞因子和氧化产物产生，从而减轻心肌损伤。因此推测在Adr诱导的心肌损伤中，Dex也可能发挥心肌保护作用。

本研究发现，Adr可显著降低肺癌H226细胞、乳腺癌MDA-MB-23细胞、胃癌AGS细胞及膀胱癌5637细胞的活性，而Dex联合Adr处理的肿瘤细胞与单纯Adr处理的肿瘤细胞活性无差异，说明Dex不影响Adr的化疗效果。但Dex可降低肺癌H226细胞的细胞活性，可作为辅助化疗药物应用。本研究还发现，Adr组大鼠心肌组织结构散乱，心肌纤维断裂，炎症细胞浸润，而Adr+Dex组大鼠心肌组织结构规整，心肌纤维排列整齐，染色均匀，未见肿胀和炎症细胞浸润，初步证明Dex能缓解Adr诱导的心肌损伤。除了动物实验，本研究还采用CCK-8实验检测了各组原代培养大鼠心肌细胞活性，结果发现，Adr可致心

肌细胞活性下降，而Dex则能显著增加心肌细胞活性，进一步证明Dex能缓解Adr诱导的心肌细胞损伤。

NF-κB发生蛋白质二聚化后发挥功能，当其与抑制因子IκB结合后，则以无活性的状态存在。多种信号通路通过降解IκB而活化NF-κB，活化的NF-κB进入细胞核与DNA结合，诱导与免疫、炎症反应及应激反应相关的基因的表达，发挥生物学作用。有文献[14]报道，Dex能减轻肾脏缺血/再灌注引起的心肌损伤，其机制与抑制HMGB1-TLR4-MyD88-NF-κB轴信号通路有关。在大鼠心肌缺血损伤模型中，Dex可通过抑制NF-κB途径发挥心脏保护作用[15]。为了探讨NF-κB是否参与了Dex缓解Adr诱导的心肌损伤，本研究分别采用实时定量PCR、Western blotting及免疫组织化学法检测了各组大鼠心肌细胞及组织中NF-κB的表达情况，结果显示，Adr抑制了NF-κB的表达，而Dex则增加了NF-κB的表达。另外，Adr使大鼠心肌细胞中ROS增加，线粒体膜电位降低，线粒体功能下降；Dex则显著减少了大鼠心肌细胞中ROS的产生，增加了线粒体膜电位，改善了线粒体功能；而NF-κB抑制剂则能逆转Dex对大鼠心肌细胞ROS和线粒体的作用，说明Dex通过NF-κB改善线粒体膜电位及减少ROS生成，从而减轻Adr诱导的心肌损伤。

综上所述，本研究发现，Dex既不影响Adr的化疗效果，又可缓解Adr诱导的心肌损伤，其机制可能是通过调节NF-κB改善线粒体膜电位及减少ROS的生成。本研究的局限在于未检测大鼠的心脏功能，未来的研究中将检测大鼠心脏功能的变化情况，进一步探究Dex的心肌保护作用以及可能的作用机制。Dex已广泛用于临床手术患者的麻醉，但在Adr化疗诱导的心肌毒性方面的应用，目前尚未见报道，本研究有望从新的角度为临床工作提供参考。

参考文献：

[1] ZHAO X，HUANG P，LI G，et al. Activation of the leptin pathway by high expression of the long form of the leptin receptor (Ob-Rb) accelerates chondrocyte senescence in osteoarthritis [J]. Bone Joint Res，2019，8 (9)：425-436. DOI：10.1302/2046-3758.89.BJR-2018-0325.R2.

[2] CHEN Y，SHI SX，DAI Y. Research progress of therapeutic drugs for doxorubicin-induced cardiomyopathy [J]. Biomed Pharmacother，2022，156：113903. DOI：10.1016/j.biopha.2022.113903.

[3] LIM JY，KER CJ，LAI NM，et al. Dexmedetomidine for analgesia and sedation in newborn infants receiving mechanical ventilation [J]. Cochrane Database Syst Rev，2024，2024 (5)：CD012361. DOI：10.1002/14651858.cd012361.

[4] PORTELLI K，KANDRAJU H，RYU M，et al. Efficacy and safety of dexmedetomidine for analgesia and sedation in neonates：a systematic review [J]. J Perinatol，2024，44 (2)：164-172. DOI：10.1038/s41372-023-01802-5.

[5] PULS R，VON HAEFEN C，BÜHRER C，et al. Dexmedetomidine protects cerebellar neurons against hyperoxia-induced oxidative stress and apoptosis in the juvenile rat [J]. Int J Mol Sci，2023，24 (9)：7804. DOI：10.3390/ijms24097804.

[6] HU YJ，ZHOU H，ZHANG HX，et al. The neuroprotective effect of dexmedetomidine and its mechanism [J]. Front Pharmacol，2022，13：965661. DOI：10.3389/fphar.2022.965661.

[7] LI N，WANG W，ZHOU H，et al. Ferritinophagy-mediated ferroptosis is involved in sepsis-induced cardiac injury [J]. Free Radic Biol Med，2020，160：303-318. DOI：10.1016/j.freeradbiomed.2020.08.009.

[8] TIMM KN，TYLER DJ. The role of AMPK activation for cardioprotection in doxorubicin-induced cardiotoxicity [J]. Cardiovasc Drugs Ther，2020，34 (2)：255-269. DOI：10.1007/s10557-020-06941-x.

[9] MONAHAN DS，FLAHERTY E，HAMEED A，et al. Resveratrol significantly improves cell survival in comparison to dexrazoxane and carvedilol in a h9c2 model of doxorubicin induced cardiotoxicity [J]. Biomed Pharmacother，2021，140：111702. DOI：10.1016/j.biopha.2021.111702.

[10] DONG R，LI F，LI B，et al. Effects of an early intensive blood pressure-lowering strategy using remifentanil and dexmedetomidine in patients with spontaneous intracerebral hemorrhage：a multicenter，prospective，superiority，randomized controlled trial [J]. Anesthesiology，2024，141 (1)：100-115. DOI：10.1097/ALN.0000000000004986.

[11] SILVA GN，BRANDÃO VG，PEREZ MV，et al. Effects of dexmedetomidine on immunomodulation and pain control in videolaparoscopic cholecystectomies：a randomized，two-arm，double-blinded，placebo-controlled trial [J]. J Pers Med，2023，13 (4)：622. DOI：10.3390/jpm13040622.

[12] 曹雪峰，赵亮，方波，等. 右美托咪定对病理性心肌细胞肥大的保护作用 [J]. 中国医科大学学报，2023，52 (12)：1057-1061. DOI：10.12007/j.issn.0258-4646.2023.12.001.

[13] XU ZH，WANG D，ZHOU ZM，et al. Dexmedetomidine attenuates renal and myocardial ischemia/reperfusion injury in a dose-dependent manner by inhibiting inflammatory response [J]. Ann Clin Lab Sci，2019，49 (1)：31-35.

[14] ZHANG B，ZHANG JJ，AINIWAER Y，et al. Dexmedetomidine attenuates myocardial injury induced by renal ischemia/reperfusion by inhibiting the HMGB1-TLR4-MyD88-NF-κB signaling pathway [J]. Ann Clin Lab Sci，2021，51 (3)：376-384.

[15] HE L，WANG ZR，ZHOU R，et al. Dexmedetomidine exerts cardioprotective effect through miR-146a-3p targeting IRAK1 and TRAF6 via inhibition of the NF-κB pathway [J]. Biomed Pharmacother，2021，133：110993. DOI：10.1016/j.biopha.2020.110993.

（编辑　王又冬）