

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.01.002

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2021.01.002>

利多卡因通过调控 STAT3 对小儿急性髓系白血病细胞增殖、 凋亡的分子机制

安蕊, 付丹丹, 郭娜娜, 于凤琴

(郑州市妇幼保健院儿科, 郑州 450000)

[摘要] 目的: 探讨利多卡因对小儿急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)细胞增殖、凋亡的影响及其作用机制。方法: 用终浓度分别为0.2 mmol/L, 0.5 mmol/L, 0.75 mmol/L的利多卡因处理AML细胞HL-60和K562, 以未经任何处理的正常细胞作为对照组(Con组); 将si-NC, si-STAT3转染至HL-60细胞, 记为si-NC组、si-STAT3组; 将pcDNA3.1, pcDNA3.1-STAT3转染至HL-60细胞后用0.5 mmol/L的利多卡因处理, 分别记为LID 0.5 mmol/L+pcDNA3.1组、LID 0.5 mmol/L+pcDNA3.1-STAT3组, 转染均采用脂质体法。蛋白质印迹法检测蛋白质表达; MTT法检测细胞增殖; 流式细胞术检测细胞凋亡。结果: 利多卡因抑制CyclinD1和Bcl-2的表达, 促进p21和Bax的表达; 抑制细胞HL-60和K562的增殖, 促进细胞凋亡。利多卡因还抑制STAT3的表达, 抑制STAT3表达可抑制细胞HL-60增殖, 促进细胞凋亡。STAT3过表达逆转了利多卡因对细胞HL-60的增殖抑制和凋亡促进作用。结论: 利多卡因可抑制细胞HL-60的增殖, 促进细胞凋亡, 其机制可能与调控STAT3有关, 或可为AML的治疗提供新思路和新靶点。

[关键词] 利多卡因; 信号转导和转录激活因子3; 急性髓系白血病; 增殖; 凋亡

Molecular mechanism of lidocaine on proliferation and apoptosis of pediatric acute myeloid leukemia cells by regulating STAT3

AN Rui, FU Dandan, GUO Nana, YU Fengqin

(Department of Pediatrics, Zhengzhou Maternal and Child Health Hospital, Zhengzhou 450000, China)

Abstract **Objective:** To investigate the effect of lidocaine on proliferation and apoptosis of pediatric acute myeloid leukemia cells and its mechanism. **Methods:** Acute myeloid leukemia cell line HL-60 and K562 was treated with lidocaine at a final concentration of 0.2 mmol/L, 0.5 mmol/L, 0.75 mmol/L, respectively, and normal cells without any treatment were used as control (Con) group; si-NC, si-STAT3 was transfected into HL-60 cells, recorded as si-NC group, si-STAT3 group; pcDNA3.1, pcDNA3.1-STAT3 was transfected into HL-60

收稿日期 (Date of reception): 2019-07-29

通信作者 (Corresponding author): 于凤琴, Email: 2980691810@qq.com

cells and treated with 0.5 mmol/L lidocaine recorded as LID 0.5 mmol/L + pcDNA3.1 group, LID 0.5 mmol/L + pcDNA3.1-STAT3 group; all transfections were performed by liposome method. Protein expression was detected by Western blot; cell proliferation was detected by MTT assay; apoptosis was detected by flow cytometry. **Results:** Lidocaine inhibits the expression of CyclinD1 and Bcl-2, promotes the expression of p21 and Bax, inhibits the proliferation of HL-60 and K562 and promotes apoptosis. Lidocaine also inhibits the expression of STAT3, and inhibition of STAT3 expression can inhibit the proliferation of HL-60 and promote cell apoptosis. Overexpression of STAT3 reversed the proliferation inhibition and apoptosis-promoting effects of lidocaine on HL-60 cells. **Conclusion:** Lidocaine can inhibit the proliferation of HL-60 and K562 cells and promote cell apoptosis. The mechanism may be related to the regulation of STAT3. It will provide new ideas and new targets for the treatment of acute myeloid leukemia.

Keywords lidocaine; signal transducers and activators of transcription 3; acute myeloid leukemia; proliferation; apoptosis

急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)是一种高度异质的血液系统恶性肿瘤, 小儿AML约占小儿白血病的20%, 目前AML的治疗仍以联合化疗和造血干细胞移植为主^[1-2]。研究其发生发展的分子作用机制, 寻找一种高效、低毒的中西医结合治疗方法, 进一步提高急性白血病的临床疗效, 改善患者生活质量, 延长生存期是亟需的^[3]。利多卡因(lidocaine)是一种应用广泛的酰胺类麻醉药, 除用于临床麻醉外, 利多卡因可选择的增强热对白血病细胞的杀灭作用, 与单纯加热相比, 热联合利多卡因可使白血病细胞的存活显著降低^[4], 还能预防白血病化疗引起的胃肠道反应^[5]。信号转导和转录激活因子3(signal transducers and activators of transcription, STAT3)信号通路的异常激活与多种肿瘤相关, β -arrestin1蛋白高表达激活STAT3信号通路能促进白血病细胞K562的迁移侵袭能力^[6]。STAT3基因单核苷酸多态性与儿童急性白血病相关, 且该基因的表达水平与患儿的危险度相关^[7]。本实验旨在研究利多卡因对小儿AML细胞增殖、凋亡的影响及其是否通过调控STAT3影响小儿AML细胞的增殖、凋亡。

1 材料与方法

1.1 材料

AML细胞HL-60和K562购自中国科学院上海细胞库; 胎牛血清、RPMI-1640培养基购自

美国Gibico公司; LipofectamineTM 2000购自美国Sigma公司; 四甲基偶氮唑盐比色法(MTT)试剂盒、膜联蛋白V-异硫氰酸荧光素(Annexin V-FITC)和碘化丙啶(PI)试剂盒、二辛可宁酸(bicinchoninic acid, BCA)试剂盒、RIPA蛋白裂解液、十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司; 抗体购自上海焱翎生物科技有限公司; si-NC, si-STAT3, pcDNA3.1, pcDNA3.1-STAT3载体质粒均购自上海斯信生物科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

AML细胞HL-60和K562用含10%胎牛血清的RPMI-1640培养基于37℃, 5%CO₂饱和湿度条件下培养, 2 d换液1次, 选取对数生长期的细胞进行实验。

1.2.2 药物处理与分组

取对数生长期HL-60和K562细胞, 将细胞接种至96孔板中, 实验设利多卡因0.2 mmol/L组、利多卡因0.5 mmol/L组、利多卡因0.75 mmol/L组和正常对照组(Con组)。将0.8 μ g si-NC, si-STAT3分别于50 μ L无血清无抗生素的培养液中轻轻混匀, 加入2 μ L的LipofectamineTM 2000轻轻混匀, 室温孵育20 min, 然后吸去培养基, 用无血清培养基清洗HL-60细胞2次, 将复合物加入培

养孔, 前后摇动培养板使其分布均匀, 放入培养箱孵育4~6 h后, 更换含血清培养液去, 24~48 h后观察转入基因表达情况。24 h后将细胞以1:10传代, 1 d后更换筛选培养基筛选, 记为si-NC组、si-STAT3组; 将pcDNA3.1, pcDNA3.1-STAT3转染至HL-60细胞后用0.5 mmol/L的利多卡因处理24 h, 分别记为LID 0.5 mmol/L+pcDNA3.1组、LID 0.5 mmol/L+pcDNA3.1-STAT3组, 转染均采用LipofectamineTM 2000转染试剂盒。

1.2.3 蛋白质印迹法检测蛋白质表达

各组细胞培养48 h后, 加入RIPA裂解液裂解, 4 ℃, 12 000 r/min离心15 min, 收集蛋白质上清液, BCA试剂盒测定蛋白质浓度。将蛋白质样品进行SDS-PAGE电泳后转至PVDF膜上, 5%脱脂奶粉封闭液室温封闭1 h。分别加入一抗(1:1 000), 4 ℃孵育过夜, TBST洗膜; 加入二抗(1:2 000)室温孵育2 h, TBST洗涤3次, 每次10 min, 随后在暗室中曝光显影, 再浸入定影, 最后洗去残液晾干, 将胶片用Quantity One凝胶分析软件处理, 测定各组蛋白质条带的灰度值, 以目的条带和GAPDH条带的比值作为蛋白质表达水平。每个蛋白质样品重复3次。

1.2.4 MTT 检测细胞增殖

在各组细胞培养至24, 48, 72 h时加入20 μ L(5 g/L)的MTT溶液, 继续孵育4 h; 弃去多余培养基并加入150 μ L DMSO振荡反应10 min, 酶标仪检测490 nm处吸光度(OD)值。细胞活性(%)=实验组OD值/空白对照组OD值 $\times$ 100%。每组重复3次。

1.2.5 流式细胞术检测细胞凋亡

各组细胞培养48 h后离心收集细胞, PBS漂洗2次, 加结合缓冲液重悬细胞。依据试剂盒说明书, 先后加入Annexin V-FITC和PI避光孵育。流式细胞仪检测激发波长488 nm和发射波长530 nm处的荧光强度。实验重复3次。

1.3 统计学处理

采用SPSS 20.00统计软件进行数据分析。计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示, 两组比较行 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 利多卡因对细胞 HL-60 和 K562 增殖的影响

蛋白质印迹法检测结果显示: 与对照组相比, 利多卡因0.2 mmol/L, 0.5 mmol/L, 0.75 mmol/L组HL-60和K562细胞中CyclinD1表达水平逐渐显著降低, p21表达水平逐渐显著升高($P<0.05$)。MTT法检测结果显示: 与对照组相比, 利多卡因0.2 mmol/L, 0.5 mmol/L, 0.75 mmol/L组HL-60和K562细胞活性逐渐显著降低, 呈浓度依赖性($P<0.05$), 提示利多卡因抑制细胞HL-60和K562增殖(图1, 表1, 表2)。选用抑制率约为50%的利多卡因浓度(0.5 mmol/L)用作后续实验。

2.2 利多卡因对细胞 HL-60 和 K562 凋亡的影响

蛋白质印迹法检测结果显示: 与对照组相比, 利多卡因0.5 mmol/L组HL-60和K562细胞中Bcl-2表达水平显著降低, Bax表达水平显著升高($P<0.05$)。流式细胞仪检测结果显示: 与对照组相比, 利多卡因0.5 mmol/L组HL-60和K562细胞的凋亡率显著升高($P<0.05$; 图2, 表3)。

2.3 利多卡因对细胞 HL-60 和 K562 中 STAT3 表达的影响

蛋白质印迹法检测结果显示: 与对照组相比, 利多卡因0.5 mmol/L组HL-60和K562细胞中STAT3蛋白质表达水平显著降低($P<0.05$; 图3, 表4)。

2.4 抑制 STAT3 对细胞 HL-60 增殖、凋亡的影响

蛋白质印迹法检测结果显示: 与si-NC组相比, si-STAT3组HL-60细胞中STAT3, Cyclin D1, Bcl-2表达水平显著降低; p21, Bax表达水平显著升高($P<0.05$)。MTT法检测结果显示: 与si-NC组相比, si-STAT3组HL-60细胞活性显著降低($P<0.05$)。流式细胞仪检测结果显示: 与si-NC组相比, si-STAT3组HL-60细胞的凋亡率显著升高($P<0.05$; 图4, 表5, 表6)。

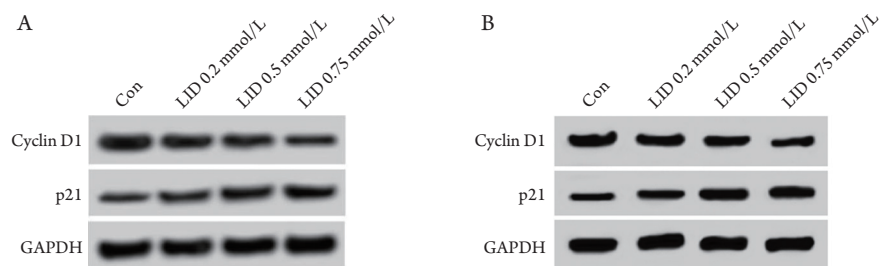


图1 利多卡因对细胞HL-60和K562增殖蛋白质表达的影响

Figure 1 Effect of lidocaine on the expression of HL-60 and K562 proliferating protein

(A)利多卡因对细胞HL-60增殖蛋白质表达的影响；(B)利多卡因对细胞K562增殖蛋白质表达的影响。

(A) Effect of lidocaine on the expression of HL-60 proliferation protein; (B) Effect of lidocaine on the expression of K562 proliferation protein.

表1 利多卡因对细胞HL-60和K562活性的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 1 Effect of lidocaine on the viability of cell HL-60 and K562 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	HL-60细胞活性(OD _{490 nm})			K562细胞活性(OD _{490 nm})		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Con组	0.43 ± 0.04	0.72 ± 0.07	1.20 ± 0.12	0.44 ± 0.04	0.78 ± 0.08	1.26 ± 0.13
LID 0.2 mmol/L组	0.33 ± 0.03 ^a	0.54 ± 0.05 ^a	0.89 ± 0.09 ^a	0.30 ± 0.03 ^a	0.51 ± 0.05 ^a	0.84 ± 0.08 ^a
LID 0.5 mmol/L组	0.24 ± 0.02 ^{ab}	0.37 ± 0.04 ^{ab}	0.62 ± 0.06 ^{ab}	0.20 ± 0.02 ^{ab}	0.32 ± 0.03 ^{ab}	0.56 ± 0.05 ^{ab}
LID 0.75 mmol/L组	0.16 ± 0.01 ^{abc}	0.25 ± 0.02 ^{abc}	0.41 ± 0.04 ^{abc}	0.12 ± 0.01 ^{abc}	0.20 ± 0.02 ^{abc}	0.34 ± 0.03 ^{abc}
F	108.267	107.064	101.372	228.400	225.735	212.315
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

与Con组比较, ^a $P<0.05$; 与LID 0.2 mmol/L组比较, ^b $P<0.05$; 与LID 0.5 mmol/L组比较, ^c $P<0.05$ 。

Compared with Con group, ^a $P<0.05$; compared with LID 0.2 mmol/L group, ^b $P<0.05$; compared with LID 0.5 mmol/L group, ^c $P<0.05$.

表2 利多卡因对HL-60细胞、K562细胞周期相关蛋白质表达的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 2 Effect of lidocaine on HL-60 and K562 cell cycle related protein expression ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	HL-60		K562	
	Cyclin D1	p21	Cyclin D1	p21
Con组	1.04 ± 0.10	0.23 ± 0.02	1.01 ± 0.10	0.21 ± 0.02
LID 0.2 mmol/L组	0.82 ± 0.08 ^a	0.38 ± 0.03 ^a	0.75 ± 0.08 ^a	0.35 ± 0.03 ^a
LID 0.5 mmol/L组	0.57 ± 0.06 ^{ab}	0.50 ± 0.05 ^{ab}	0.46 ± 0.05 ^{ab}	0.63 ± 0.06 ^{ab}
LID 0.75 mmol/L组	0.40 ± 0.04 ^{abc}	0.76 ± 0.07 ^{abc}	0.32 ± 0.03 ^{abc}	0.86 ± 0.08 ^{abc}
F	87.657	138.552	171.939	268.115
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

与Con组比较, ^a $P<0.05$; 与LID 0.2 mmol/L组比较, ^b $P<0.05$; 与LID 0.5 mmol/L组比较, ^c $P<0.05$ 。

Compared with Con group, ^a $P<0.05$; compared with LID 0.2 mmol/L group, ^b $P<0.05$; compared with LID 0.5 mmol/L group, ^c $P<0.05$.

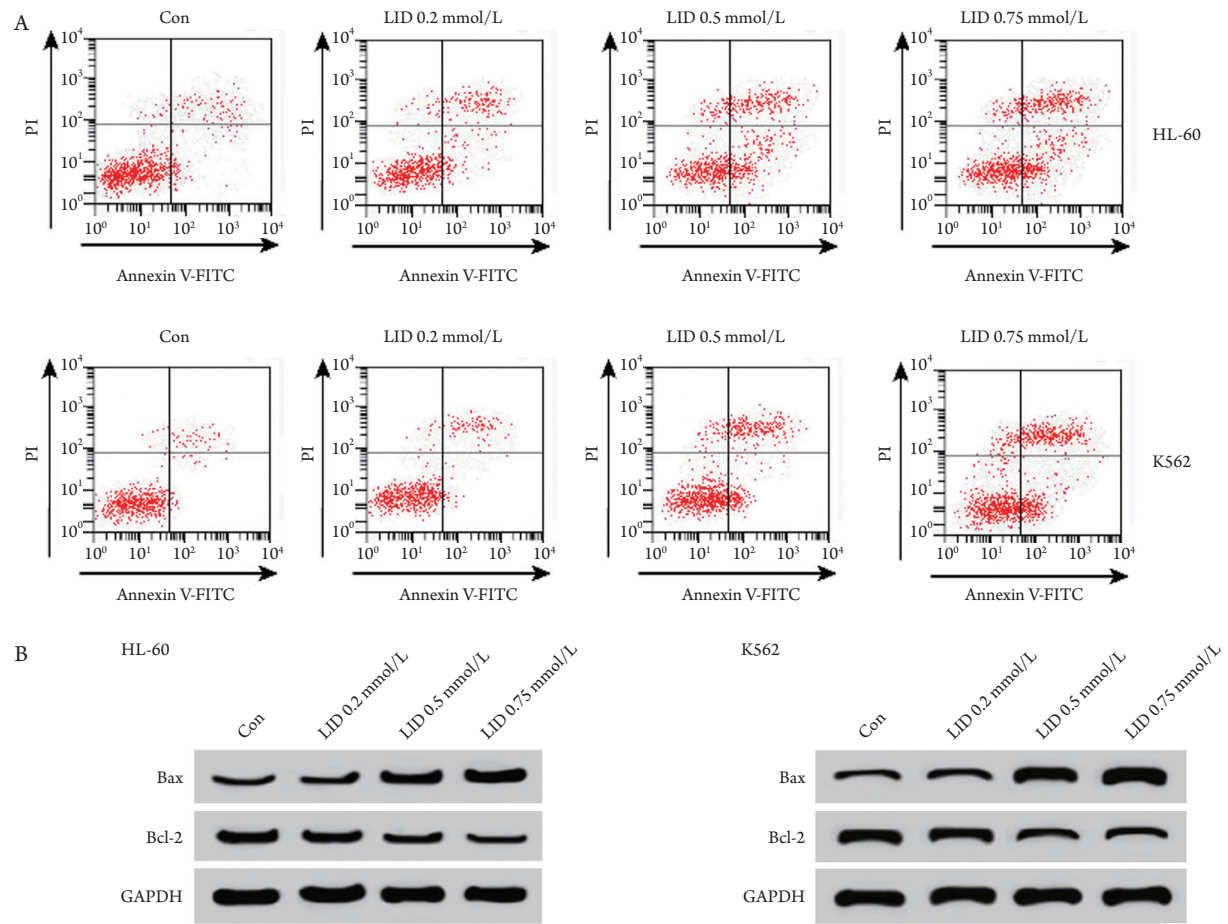


图2 利多卡因对细胞HL-60和K562凋亡的影响

Figure 2 Effect of lidocaine on apoptosis of cell HL-60 and K562

(A)利多卡因对细胞HL-60和K562凋亡的影响；(B)利多卡因对细胞HL-60和K562凋亡蛋白质表达的影响。

(A) Effect of lidocaine on apoptosis of cell HL-60 and K562; (B) Effect of lidocaine on the expression of HL-60 and K562 apoptotic protein.

表3 利多卡因对细胞HL-60和K562凋亡的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 3 Effect of lidocaine on apoptosis of cell HL-60 and K562 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	HL-60			K562		
	Bax	Bcl-2	凋亡率/%	Bax	Bcl-2	凋亡率/%
Con组	0.19 ± 0.02	0.78 ± 0.07	7.73 ± 0.72	0.20 ± 0.02	0.81 ± 0.08	8.15 ± 0.82
LID 0.2 mmol/L组	0.36 ± 0.03	0.57 ± 0.06	12.26 ± 1.31	0.32 ± 0.03	0.55 ± 0.05	11.06 ± 1.21
LID 0.5 mmol/L组	0.84 ± 0.08 ^a	0.31 ± 0.03 ^a	26.76 ± 2.73 ^a	0.71 ± 0.07	0.34 ± 0.03	23.72 ± 2.36 ^a
LID 0.75 mmol/L组	1.02 ± 0.1	0.12 ± 0.01	31.17 ± 3.26	0.98 ± 0.10	0.17 ± 0.02	27.07 ± 2.86
F	311.644	317.937	224.373	285.833	269.265	201.640
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

与Con组比较, ^a $P<0.05$ 。

Compared with Con group, ^a $P<0.05$.

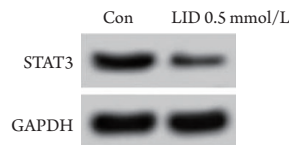


图3 利多卡因对细胞HL-60中STAT3蛋白质表达的影响
Figure 3 Effect of lidocaine on STAT3 protein expression in cell HL-60

表4 利多卡因对细胞HL-60和K562中STAT3表达的影响
($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 4 Effect of lidocaine on STAT3 expression in cell HL-60 and K562 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	STAT3	
	HL-60	K562
Con组	0.71 ± 0.07	0.74 ± 0.07
LID 0.5 mmol/L组	0.14 ± 0.01 ^a	0.21 ± 0.02
<i>t</i>	19.745	21.840
<i>P</i>	<0.001	<0.001

与Con组比较, ^a*P*<0.05。
Compared with Con group, ^a*P*<0.05.

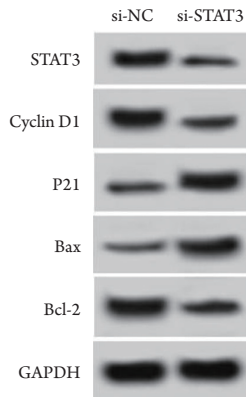


图4 抑制STAT3对细胞HL-60增殖、凋亡蛋白质表达的影响
Figure 4 Effect of inhibition of STAT3 on proliferation and expression of apoptosis protein in HL-60 cells

2.5 过表达 STAT3 能逆转利多卡因对细胞 HL-60 增殖、凋亡的作用

蛋白质印迹法检测结果显示: 与LID 0.5 mmol/L+pcDNA3.1组相比, LID 0.5 mmol/L+pcDNA3.1-STAT3组HL-60细胞中STAT3, Cyclin D1, Bcl-2表达水平显著升高; p21和Bax表达水平显著降低(*P*<0.05)。MTT法检测结果显示: 与LID 0.5 mmol/L+

表5 抑制STAT3对细胞HL-60增殖的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6$)
Table 5 Effect of inhibition of STAT3 on proliferation of HL-60 cells ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	STAT3 蛋白	Cyclin D1 蛋白	p21 蛋白
si-NC	0.74 ± 0.07	1.04 ± 0.10	0.23 ± 0.02
si-STAT3	0.22 ± 0.02 ^a	0.42 ± 0.04 ^a	0.68 ± 0.07 ^a
<i>t</i>	17.496	14.101	15.141
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001

组别	细胞活性 (OD _{490 nm})		
	24 h	48 h	72 h
si-NC	0.43 ± 0.04	0.72 ± 0.07	1.20 ± 0.12
si-STAT3	0.26 ± 0.02 ^a	0.39 ± 0.03 ^a	0.65 ± 0.06 ^a
<i>t</i>	9.311	12.999	10.042
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001

与si-NC组比较, ^a*P*<0.05。
Compared with si-NC group, ^a*P*<0.05.

表6 抑制STAT3对细胞HL-60凋亡的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6$)
Table 6 Effect of inhibition of STAT3 on apoptosis of HL-60 cells ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	Bax蛋白	Bcl-2蛋白	凋亡率/%
si-NC	0.17 ± 0.02	0.76 ± 0.07	8.03 ± 0.82
si-STAT3	0.66 ± 0.06 ^a	0.25 ± 0.02 ^a	22.18 ± 1.73 ^a
<i>t</i>	16.978	17.160	18.889
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001

与si-NC组比较, ^a*P*<0.05。
Compared with si-NC group, ^a*P*<0.05.

pcDNA3.1组相比, LID 0.5 mmol/L+pcDNA3.1-STAT3组HL-60细胞活性显著升高(*P*<0.05)。流式细胞仪检测结果显示: 与LID 0.5 mmol/L+pcDNA3.1组相比, LID 0.5 mmol/L+pcDNA3.1-STAT3组HL-60细胞的凋亡率显著降低(*P*<0.05; 图5, 表7, 表8)。

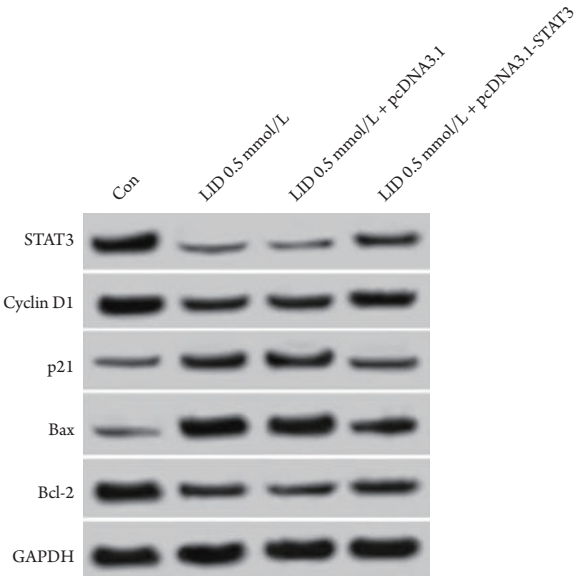


图5 过表达STAT3能逆转利多卡因对细胞HL-60增殖、凋亡蛋白表达的影响

Figure 5 Overexpression of STAT3 reverses the effect of lidocaine on the proliferation and expression of apoptotic proteins in HL-60 cells

表7 过表达STAT3能逆转利多卡因对细胞HL-60增殖的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 7 Overexpression of STAT3 can reverse the effect of lidocaine on the proliferation of HL-60 cells ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	Cyclin D1蛋白	p21蛋白	细胞活性(OD _{490 nm})		
			24 h	48 h	72 h
Con组	1.04 ± 0.10	0.23 ± 0.02	0.43 ± 0.04	0.72 ± 0.07	1.20 ± 0.12
LID 0.5 mmol/L组	0.57 ± 0.06 ^a	0.50 ± 0.05 ^a	0.24 ± 0.02 ^a	0.37 ± 0.04 ^a	0.62 ± 0.06 ^a
LID 0.5 mmol/L+pcDNA3.1组	0.55 ± 0.05	0.52 ± 0.05	0.22 ± 0.02	0.35 ± 0.03	0.61 ± 0.06
LID 0.5 mmol/L+pcDNA3.1-STAT3组	0.78 ± 0.08 ^b	0.37 ± 0.04 ^b	0.34 ± 0.03 ^b	0.51 ± 0.05 ^b	0.86 ± 0.08 ^b
F	55.644	61.829	68.546	70.525	65.736
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

与Con组比较, ^a $P<0.05$; 与LID 0.5 mmol/L+pcDNA3.1组比较, ^b $P<0.05$ 。

Compared with Con group, ^a $P<0.05$; compared with LID 0.5 mmol/L+pcDNA3.1 group, ^b $P<0.05$.

表8 过表达STAT3能逆转利多卡因对细胞HL-60凋亡的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 8 Overexpression of STAT3 can reverse the effect of lidocaine on apoptosis of cell HL-60 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	STAT3蛋白	Bax蛋白	Bcl-2蛋白	凋亡率/%
Con组	0.72 ± 0.07	0.19 ± 0.02	0.78 ± 0.07	8.27 ± 0.84
LID 0.5 mmol/L组	0.16 ± 0.01 ^a	0.84 ± 0.08 ^a	0.31 ± 0.03 ^a	26.76 ± 1.96 ^a
LID 0.5 mmol/L+pcDNA3.1	0.15 ± 0.01	0.86 ± 0.08	0.30 ± 0.03	26.77 ± 1.97
LID 0.5 mmol/L+pcDNA3.1-STAT3组	0.44 ± 0.04 ^b	0.56 ± 0.05 ^b	0.51 ± 0.05 ^b	15.12 ± 1.53 ^b
F	262.537	149.949	132.261	198.546
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

与Con组比较, ^a $P<0.05$; 与LID 0.5 mmol/L+pcDNA3.1组比较, ^b $P<0.05$ 。

Compared with Con group, ^a $P<0.05$; compared with LID 0.5 mmol/L+pcDNA3.1 group, ^b $P<0.05$.

3 讨论

急性白血病是我国最常见的儿童恶性肿瘤, 其发病机制复杂, 总体预后较差, 治疗仍以化疗为主, 为进一步提高AML的临床疗效, 亟需研发新的治疗药物或创新联合药物治疗方案^[8]。已有研究^[9-10]报道: 利多卡因能增强高温对AKR鼠白血病和AKR骨髓细胞的杀伤; 且利多卡因湿敷能防治白血病化疗所致静脉炎及渗漏性损伤。利多卡因预先给药可减轻大鼠肾脏缺血再灌注损伤^[11], 对脂多糖所致的大鼠肺泡II型上皮细胞凋亡和坏死有直接的抑制作用^[12]。本实验研究结果显示: 利多卡因抑制AML细胞HL-60的增殖, 促进细胞凋亡。细胞周期蛋白D1(Cyclin D1)是细胞周期G1期的关键调节因子, 通过影响细胞周期的进展进而影响细胞的增殖, 研究发现其在白血病中过度表达促进白血病的发生发展^[13]。p21作为周期素依赖性蛋白酶抑制子家族中的一员, 对细胞周期进行负性调控, 并参与p53诱导的细胞增殖抑制, p21可抑制肿瘤细胞生长^[14]。Bcl-2和Bax是细胞凋亡的关键因子, Bcl-2抑制凋亡, Bax促进凋亡, 二者的比值是决定凋亡与否的重要因素^[15]。本实验中利多卡因抑制了CyclinD1和Bcl-2的表达, 促进了p21和Bax的表达, 说明利多卡因具有抑制细胞增殖, 促进细胞凋亡的作用, 进一步的增殖凋亡实验也证实了利多卡因能抑制HL-60和K562细胞增殖, 促进细胞凋亡。

STAT3是JAK/STAT信号通路的关键因子, 是公认的致癌转录因子。JAK/STAT信号通路在生物个体发生发育、造血调节和免疫反应中发挥重要作用, JAK/STAT信号通路的持续激活与人类多种肿瘤尤其是造血系统恶性肿瘤的发生有关^[16]。STAT3基因在AML患者中高表达, 且与患者免疫分型、危险度相关^[17]。阻断JAK-STAT的磷酸化能抑制AML细胞的增殖^[18]。白藜芦醇通过调控白血病JAK1/STAT3信号转导通路发挥抗AML作用^[19]。青蒿琥酯也通过下调STAT3基因的表达和激活caspase-3发挥抗白血病作用^[20]。以上研究表明STAT3影响白血病的进展, 下调其表达能抵抗白血病。本实验结果与上述结论相符: 抑制STAT3表达可抑制细胞HL-60增殖, 促进细胞凋亡。且利多卡因抑制了STAT3的表达, STAT3过表达还逆转了利多卡因对细胞HL-60的增殖抑制和凋亡促进作用。说明利多卡因可能通过调控STAT3的表达影响HL-60细胞的增殖和凋亡。

综上, 利多卡因可抑制细胞HL-60的增殖, 促

进细胞凋亡, 其机制可能与调控STAT3有关, 可为AML的治疗提供新思路和新靶点。

参考文献

1. 于皎乐, 郑胡镛. 儿童急性髓细胞白血病治疗新进展[J]. 中国实用儿科杂志, 2016, 31(4): 246-252.
YU Jiaole, ZHENG Huyong. Advances in management of childhood acute myeloid leukemia[J]. Chinese Journal of Practical Pediatrics, 2016, 31(4): 246-252.
2. 陈鹏, 陈小平. 急性髓系白血病治疗药物的药物基因组学研究进展[J]. 药学进展, 2018, 42(4): 259-268.
CHEN Peng, CHEN Xiaoping. Research progress in the pharmacogenomics of agents for treatment of acute myeloid leukemia[J]. Progress in Pharmaceutical Sciences, 2018, 42(4): 259-268.
3. 苏凤哲. 中医药治疗急性白血病临床探讨[J]. 世界中西医结合杂志, 2007, 2(8): 435-437.
SU Fengzhe. Clinical study on treatment of acute leukemia with traditional Chinese medicine[J]. World Journal of Integrated Traditional and Western Medicine, 2007, 2(8): 435-437.
4. 袁荣亲, 余郁良. 利多卡因联合加温处理对急性髓性白血病细胞杀灭作用的研究[J]. 中国病理生理杂志, 1993, 9(2): 178-182.
YUAN Rongqin, YU Yuliang. Study on the killing effect of lidocaine combined with warming on acute myeloid leukemia cells[J]. Chinese Journal of Pathophysiology, 1993, 9(2): 178-182.
5. 夏建胜, 颜安佩, 赵锐利. 利多卡因预防白血病化疗引起的胃肠道反应[J]. 肿瘤, 1999, 19(6): 360.
XIA Jiansheng, YAN Anpei, ZHAO Ruili. Lidocaine prevents gastrointestinal reactions caused by leukemia chemotherapy[J]. Tumor, 1999, 19(6): 360.
6. 张红霞, 吴广胜. β -arrestin1激活STAT3信号通路影响白血病细胞K562体外迁移侵袭能力[J]. 中国免疫学杂志, 2016, 32(12): 1773-1776.
ZHANG Hongxia, WU Guangsheng. β -arrestin1 promotes leukemia cell K562 migration and invasion by activating STAT3 signaling pathway[J]. Chinese Journal of Immunology, 2016, 32(12): 1773-1776.
7. 赵培伟, 乐鑫, 熊昊, 等. STAT3基因与儿童急性淋巴细胞白血病的相关性[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2016, 31(15): 1152-1155.
ZHAO Peiwei, YUE Xin, XIONG Hao, et al. Association between STAT3 gene and children with acute lymphoblastic leukemia[J]. Chinese Journal of Applied Clinical Pediatrics, 2016, 31(15): 1152-1155.
8. 田新, 王亚丽, 陈晶佩, 等. 儿童急性淋巴细胞及急性髓系白血病基因突变研究进展[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2017, 32(3): 172-176.
TIAN Xin, Wang Yali, CHEN Jingpei, et al. Study of acute

- lymphoblastic leukemia and acute myeloid leukemia gene mutation in children[J]. Chinese Journal of Applied Clinical Pediatrics, 2017, 32(3): 172-176.
9. Robins HI, Dennis WH, Martin PA, et al. Potentiation of differential hyperthermic sensitivity of AKR leukemia and normal bone marrow cells by lidocaine or thiopental[J]. Cancer, 1984, 54(12): 2831-2835.
10. 李玉芳, 管滨, 刘景玲, 等. 利多卡因湿敷防治化疗所致静脉炎及渗漏性损伤的临床观察[J]. 山东医药, 2000, 40(13): 36.
- LI Yufang, GUAN Bin, LIU Jingling, et al. Clinical observation of lidocaine wet compress in preventing and treating phlebitis and leakage injury caused by chemotherapy[J]. Shandong Medical Journal, 2000, 40(13): 36.
11. 石翊飒, 朱小兵. 利多卡因预先给药对肾脏缺血再灌注损伤大鼠肾脏组织CD44和TNF- α 表达的影响[J]. 中华麻醉学杂志, 2010, 30(2): 231-233.
- SHI Yisa, ZHU Xiaobing. Effect of lidocaine pretreatment on CD44 and TNF- α expression in kidney after renal ischemia-reperfusion injury in rats[J]. Chinese Journal of Anesthesiology, 2010, 30(2): 231-233.
12. 徐道妙, 明广峰, 吴晓英, 等. 利多卡因对LPS致大鼠肺泡II型上皮细胞损伤的保护作用[J]. 中南大学学报(医学版), 2006, 31(2): 241-244.
- XU Daomiao, MING Guangfeng, WU Xiaoying, et al. Protective effect of lidocaine on injury alveolar type II cells induced by LPS in adult rats[J]. Journal of Central South University. Medical Science, 2006, 31(2): 241-244.
13. 刘壮, 韦红英, 韩蕴丽, 等. 细胞外信号调节激酶-1、细胞周期蛋白D1表达与儿童急性白血病关系研究[J]. 临床儿科杂志, 2005, 23(5): 286-288.
- LIU Zhuang, WEI Hongying, HAN Yunli, et al. Relationship between expressions of ERK1 and cyclin D1 in childhood acute leukemia[J]. The Journal of Clinical Pediatrics, 2005, 23(5): 286-288.
14. 何艳. Lycorine通过上调p21阻滞白血病细胞周期的分子机制初步研究[D]. 长沙: 中南大学, 2010.
- HE Yan. Preliminary study on the molecular mechanism of Lycorine blocking the cell cycle of leukemia by up-regulating p21[D]. Changsha: Central South University, 2010.
15. 马晓军, 任洪波, 叶蕾, 等. Bcl-2、Bax在急性白血病表达中的研究进展[J]. 中国临床医学, 2005, 12(5): 955-957.
- MA Xiaojun, REN Hongbo, YE Lei, et al. Research progress the expression of Bcl-2 and Bax in acute leukemia[J]. Chinese Journal of Clinical Medicine, 2005, 12(5): 955-957.
16. 李英华. JAK/STAT信号通路与白血病[J]. 中国现代医药杂志, 2006, 8(4): 108-110.
- LI Yinghua. JAK/STAT signaling pathway and leukemia[J]. Modern Medicine Journal of China, 2006, 8(4): 108-110.
17. 黄成双, 谭梅, 张相梅, 等. STAT3基因在急性髓系白血病中的表达及临床意义[J]. 中国实验血液学杂志, 2019, 27(1): 45-51.
- HUANG Chengshuang, TAN Mei, ZHANG Xiangmei, et al. Expression and clinical significance of STAT3 genes in patients with acute myeloid leukemia[J]. Journal of Experimental Hematology, 2019, 27(1): 45-51.
18. Faderl S, Ferrajoli AD, Van Q, et al. Atiprimod blocks phosphorylation of JAK-STAT and inhibits proliferation of acute myeloid leukemia (AML) cells[J]. Leuk Res, 2007, 31(1): 91-95.
19. 王伟, 李覃, 陈虹, 等. 白藜芦醇调节STAT3抗急性髓系白血病作用的研究[J]. 中国药理学通报, 2010, 26(3): 346-352.
- WANG Wei, LI Qin, CHEN Hong, et al. The study of resveratrol by modulating SATA3 on acute myeloblastic leukemia[J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2010, 26(3): 346-352.
20. 谭梅. LNK基因调控STAT3影响急性髓系白血病细胞的增殖及青蒿琥酯抗急性髓系白血病作用的研究[D]. 遵义: 遵义医学院, 2017.
- TAN Mei. Effect of LNK gene regulating STAT3 on proliferation of acute myeloid leukemia cells and effect of artesunate on acute myeloid leukemia[D]. Zunyi: Zunyi Medical University, 2017.

本文引用: 安蕊, 付丹丹, 郭娜娜, 于凤琴. 利多卡因通过调控STAT3对小儿急性髓系白血病细胞增殖、凋亡的分子机制[J]. 临床与病理杂志, 2021, 41(1): 11-19. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.01.002

Cite this article as: AN Rui, FU Dandan, GUO Nana, YU Fengqin. Molecular mechanism of lidocaine on proliferation and apoptosis of pediatric acute myeloid leukemia cells by regulating STAT3[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2021, 41(1): 11-19. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.01.002