利多卡因上调 MDC1-AS 对膀胱癌细胞 T24 凋亡、迁移侵袭的影响[Δ]

丁志刚*(首都医科大学附属北京世纪坛医院麻醉科,北京 100038)

中图分类号 R979.1;R96 文献标志码 A 文章编号 1672-2124(2021)04-0395-06
DOI 10.14009/j.issn.1672-2124.2021.04.003

摘 要 目的:探讨利多卡因对膀胱癌细胞 T24 凋亡、迁移侵袭的影响及其机制。方法:分别通过流式细胞术、Transwell 实验分析利多卡因(1.25、2.5 及 5 mg/ml)对 T24 细胞凋亡、迁移和侵袭的影响,以正常培养的 T24 细胞作为对照。实时定量聚合酶链反应分析 DNA 损伤检测点介质 1 反义 RNA(MDC1-AS)表达量。分析过表达 MDC1-AS 对 T24 细胞凋亡、迁移和侵袭的影响,转染 MDC1-AS 过表达质粒(pcDNA-MDC1-AS)及其对照(pcDNA)、MDC1-AS 小干扰 RNA(si-MDC1-AS)及其对照(si-NC)至 T24 细胞,用含 5 mg/ml 利多卡因的培养液孵育转染 si-NC、si-MDC1-AS 的 T24 细胞 2 h,分别记为利多卡因 5 mg/ml+si-NC 组、利多卡因 5 mg/ml+si-MDC1-AS 组。结果:与对照组比较,2.5、5 mg/ml 的利多卡因干预后 T24 细胞凋亡率、Bax 蛋白表达显著升高,Bcl-2 蛋白表达量显著降低,迁移和侵袭细胞数显著减少,MDC1-AS 表达量显著升高,上述差异均有统计学意义($P<0.05$)。与 pcDNA 组比较,pcDNA-MDC1-AS 组 T24 细胞中 MDC1-AS 表达量显著升高,细胞凋亡率、Bax 蛋白表达量显著升高,迁移和侵袭细胞数、Bcl-2 蛋白表达量显著降低,差异均有统计学意义($P<0.05$)。与利多卡因 5 mg/ml+si-NC 组比较,利多卡因 5 mg/ml+si-MDC1-AS 组 T24 细胞中 MDC1-AS 表达量显著降低,细胞凋亡率、Bax 蛋白表达量显著降低,迁移和侵袭细胞数、Bcl-2 蛋白表达量显著升高,差异均有统计学意义($P<0.05$)。结论:利多卡因通过上调 MDC1-AS 表达从而抑制膀胱癌细胞 T24 迁移和侵袭,促进细胞凋亡。

关键词 利多卡因; MDC1-AS; 膀胱癌; 细胞凋亡; 迁移; 侵袭

Effect of Lidocaine on Apoptosis, Migration and Invasion of Bladder Cancer Cell T24 by Up-Regulating MDC1-AS[Δ]

DING Zhigang(Dept. of Anesthesiology, Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100038, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To probe into the effect of lidocaine on apoptosis, migration and invasion of bladder cancer cell T24 by up-regulating MDC1-AS and its mechanism. METHODS: Flow cytometry and Transwell experiment were used to analyze the effect of lidocaine (1.25, 2.5 and 5 mg/ml) on apoptosis, migration and invasion of T24 cells. Normal cultured T24 cells were took as the control group. Real-Time quantitative polymerase chain reaction was used to analyze the expression level of mediator of DNA damage checkpoint protein 1 antisense RNA (MDC1-AS). The effects of over-expression of MDC1-AS on apoptosis, migration and invasion of T24 cells were analyzed. MDC1-AS over-expression plasmid (pcDNA-MDC1-AS) and its control (pcDNA), MDC1-AS small interfering RNA (si-MDC1-AS) and its control (si-NC) were transfected into T24 cells; T24 cells transfected with si-NC and si-MDC1-AS were incubated with the culture medium containing 5 mg/ml lidocaine for 2 h, which were recorded as lidocaine 5 mg/ml+si-NC group and lidocaine 5 mg/ml+si-MDC1-AS group. RESULTS: Compared with the control group, the apoptosis rate of T24 cells and the expression of Bax protein increased significantly, the expression of Bcl-2 protein decreased significantly, the number of migration and invasion cells decreased significantly, and the expression of MDC1-AS increased significantly after treatment with 2.5 and 5 mg/ml lidocaine, with statistically significant difference ($P<0.05$). Compared with the pcDNA group, the expression of MDC1-AS in T24 cells of the pcDNA-MDC1-AS group increased significantly, the apoptosis rate and the expression of Bax protein increased significantly, the number of migration and invasion cells and the expression of Bcl-2 protein decreased significantly, the differences were statistically significant ($P<0.05$). Compared with the lidocaine 5 mg/ml+si-NC group, the expression of MDC1-As in T24 cells decreased significantly in the lidocaine 5 mg/ml+si-MDC1-AS group, the apoptosis rate and the expression of Bax protein decreased significantly, while the number of migration and invasion cells and the expression of Bcl-2

Δ 基金项目:北京市卫生科技发展专项基金(No. 2017-1-177)
* 主治医师。研究方向:血液保护。E-mail:elginy10@21cn.com

protein increased significantly, the differences were statistically significant ($P<0.05$). CONCLUSIONS: Lidocaine inhibits the migration and invasion of bladder cancer cell T24 and promotes cell apoptosis by up-regulating the expression of MDC1-AS.

KEYWORDS Lidocaine; MDC1-AS; Bladder cancer; Apoptosis; Migration; Invasion

膀胱癌是泌尿外科常见的恶性肿瘤之一。经尿道切除和膀胱内化疗联合治疗是非肌肉浸润性膀胱癌的重要治疗策略,但大多数患者仍会复发,最终约 20%的复发肿瘤侵袭局部肌肉或转移[1]。膀胱癌的难治性与其浸润特性有关。回顾性研究结果显示,局部麻醉在预防肿瘤转移和复发中发挥了重要作用[2]。利多卡因是临床常用的麻醉药,常用于治疗心律失常和缓解急性或慢性疼痛。近年来,多项研究结果指出,利多卡因通过抑制癌细胞生长和转移、诱导细胞凋亡,在乳腺癌、胃癌等人类恶性肿瘤中显示出抗肿瘤潜力[3-4]。利多卡因通过增加宫颈癌细胞中长链非编码 RNA(lncRNA)MEG3 表达水平,调节宫颈癌细胞活力和凋亡,进而抑制宫颈癌细胞生长[5]。有文献报道,利多卡因以浓度依赖的方式抑制膀胱癌细胞增殖,利多卡因和丝裂霉素 C 的联合应用可以延长荷瘤小鼠的生存期[6]。然而,利多卡因对膀胱癌细胞凋亡、迁移前侵袭的影响和机制仍未阐明。lncRNA DNA 损伤检测点介质 1 反义 RNA(MDC1-AS)是近年来发现的膀胱癌抑癌 lncRNA,研究结果指出,恢复膀胱癌中 MDC1-AS 表达水平,可显著降低膀胱癌细胞的迁移和侵袭能力[7]。本研究通过分析利多卡因对膀胱癌细胞 T24 凋亡、迁移和侵袭以及对 MDC1-AS 表达的影响,探讨其抗肿瘤作用是否与调控 MDC1-AS 表达有关,以期为利多卡因在膀胱癌治疗中的应用提供理论依据。

1 材料

1.1 仪器

7500 型荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司);CytoFLEX 型流式细胞仪(美国 BECKMAN 公司)。

1.2 药品与试剂

盐酸利多卡因注射液(山西晋新双鹤药业,批准文号为国药准字 H11022295,规格为 10 ml∶0.2 g,批号为 20151102);MDC1-AS 过表达质粒(pcDNA-MDC1-AS)及其对照(pcDNA)、MDC1-AS 小干扰 RNA(si-MDC1-AS)及其对照(si-NC)购自广州锐博生物;膜联蛋白 V-异硫氰酸荧光素(Annexin V-FITC)/碘化丙啶(PI)试剂盒购于北京全式金生物;Transwell 小室和基质胶购自美国康宁公司;兔源 B 细胞淋巴瘤(Bcl-2)和 Bcl 相关 x 蛋白(Bax)、磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)单克隆抗体以及羊抗兔 IgG 二抗购自上海赛信通公司;逆转录试剂盒、SYBR Green PCR Master Mix 购于北京天根生化公司。

1.3 实验细胞

膀胱癌细胞 T24 购于美国 ATCC 公司。

2 方法

2.1 细胞培养、转染和分组

T24 细胞在 37 ℃、CO_2 体积分数为 5%的湿润培养箱中用含 10%胎牛血清、100 U/ml 青霉素和 100 μg/ml 链霉素的杜尔伯格伊戈尔培养基(DMEM)培养。采用含 1.25、2.5 及 5 mg/ml 利多卡因[6]的培养液孵育 T24 细胞 2 h,分别命名为利多卡因 1.25 mg/ml 组、利多卡因 2.5 mg/ml 组以及利多卡因 5 mg/ml 组,以正常培养的 T24 细胞作为对照。参照下述实验方法检测细胞凋亡、迁移、侵袭以及 MDC1-AS 表达:为探讨利多卡因是否通过调控 MDC1-AS 表达进而影响 T24 细胞凋亡、迁移和侵袭,采用脂质体转染试剂 Lipofectamine 2 000 分别转染 pcDNA、pcDNA-MDC1-AS、si-NC 及 si-MDC1-AS 至对数期 T24 细胞;转染 pcDNA、pcDNA-MDC1-AS 细胞分别记为 pcDNA 组、pcDNA-MDC1-AS 组;用含 5 mg/ml 利多卡因的培养液孵育转染 si-NC、si-MDC1-AS 的 T24 细胞 2 h,分别记为利多卡因 5 mg/ml+si-NC 组、利多卡因 5 mg/ml+si-MDC1-AS 组。

2.2 流式细胞术分析细胞凋亡

将各组细胞重悬于结合缓冲液 100 μl 中,分别添加 Annexin V-FITC 10 μl、PI 5 μl,在室温(25 ℃)下于黑暗环境中孵育 30 min 后,补加结合缓冲液 400 μl。采用流式细胞仪分析细胞凋亡(Annexin-V 染色阳性)情况。

2.3 Transwell 实验分析细胞迁移和侵袭

向 24 孔板下室中加入含 10%胎牛血清的 DMEM 培养基 500 μl,向未涂抹(迁移)或涂抹(侵袭)Transwell 上腔室中加入无血清培养基稀释的单细胞悬液 200 μl(细胞数约为 1×10^5 个)。培养 24 h 后,以棉签去除 Transwell 上腔室膜表面细胞,用 4%多聚甲醛固定下室膜表面细胞。结晶紫染色后显微镜下观察细胞过膜情况,以 5 个随机视野的细胞数均值表示细胞迁移或侵袭能力。

2.4 免疫印迹法(Western blot)分析 Bcl-2 和 Bax 蛋白表达

RIPA 裂解缓冲液裂解细胞。离心去除细胞碎片,并用 BCA 法分析蛋白浓度。聚丙烯酰胺凝胶电泳将等量蛋白分离,并用转膜装置将蛋白转移到聚偏二氟乙烯膜上。室温下,按照 5%脱脂牛奶孵育 1 h,第一抗体(1∶1 000 稀释)孵育 2 h,第二抗体(1∶2 000 稀释)孵育 1 h 进行免疫印记。电化学发光法显色后,通过 Quantity One 软件分析各条带灰度值,目的蛋白表达水平以对应蛋白和内参 GAPDH 灰度值表示。

2.5 实时定量反转录聚合酶链反应(reverse transcription quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR)检测 MDC1-AS 表达量

TRIzol 试剂分析细胞中总 RNA。逆转录试剂盒将 2 μg 的 RNA 反转录为 cDNA,再用 SYBR Green PCR Master Mix 进行 RT-qPCR。MDC1-AS 表达量采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算。MDC1-AS 上游引物 5′-TCCCAGATGTGCCAAAGTCAG-3′,下游引物 5′-AGCAACCCCAGTTGTCATT C-3′;GAPDH 上游引物 5′-AAGGTGAAGGTCGGAGTCAAC-3′,下游引物 5′-GGGGTCATTGATGGCAACAATA-3′。

2.6 统计学方法

采用 GraphPad Prism 7.0 软件进行统计分析，计量资料以均值±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，采用独立样本 t 检验分析两组间差异，采用单向分析方差、Bonferroni 检验分析多组间差异，$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 利多卡因对 T24 凋亡的影响

与对照组比较，2.5、5 mg/ml 的利多卡因干预后 T24 细胞凋亡率、Bax 蛋白表达显著升高，Bcl-2 蛋白表达量显著降低，差异均有统计学意义（$P<0.05$）；不同剂量利多卡因组 T24 细胞凋亡率、Bcl-2 和 Bax 蛋白表达量比较，差异均有统计学意义（$P<0.05$），见表 1、图 1。

表 1 利多卡因诱导 T24 凋亡及对蛋白表达的影响

Tab 1 Apoptosis of T24 induced by lidocaine and its effect on protein expression

组别	凋亡率/%	Bax	Bcl-2
对照组	8.73±0.32	0.14±0.01	0.64±0.05
利多卡因 1.25 mg/ml 组	8.75±0.42	0.15±0.01	0.65±0.05
利多卡因 2.5 mg/ml 组	17.18±0.68*#	0.35±0.02*#	0.42±0.03*#
利多卡因 5 mg/ml 组	25.36±0.74*#&	0.63±0.04*#&	0.25±0.02*#&
F	591.115	287.773	70.222
P	0.000	0.000	0.000

注：与对照组相比，*$P<0.05$；与利多卡因 1.25 mg/ml 组相比，#$P<0.05$；与利多卡因 2.5 mg/ml 组相比，&$P<0.05$

Note: vs. the control group, *$P<0.05$; vs. the lidocaine 1.25 mg/ml group, #$P<0.05$; vs. the lidocaine 2.5 mg/ml group, &$P<0.05$

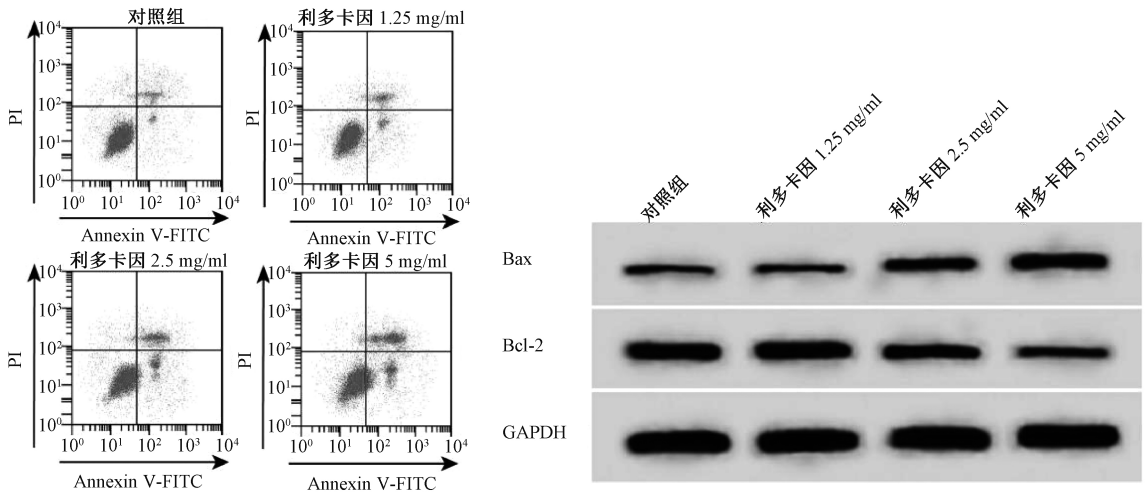


图 1 利多卡因诱导 T24 凋亡及对蛋白表达的影响

Fig 1 Apoptosis of T24 induced by lidocaine and its effect on protein expression

3.2 利多卡因对 T24 迁移侵袭的影响

与对照组比较，2.5、5 mg/ml 的利多卡因干预后 T24 细胞迁移和侵袭细胞数显著减少，差异均有统计学意义（$P<0.05$）；不同剂量利多卡因组 T24 细胞迁移和侵袭细胞数比较，差异均有统计学意义（$P<0.05$），见表 2、图 2。

表 2 T24 细胞迁移和侵袭细胞数（$\bar{x}\pm s$，个，$n=3$）

Tab 2 Number of T24 cell migration and invasion ($\bar{x}\pm s$, cells, $n=3$)

组别	迁移细胞数	侵袭细胞数
对照组	189.00±3.74	129.67±2.49
利多卡因 1.25 mg/ml 组	188.33±3.40	128.33±2.05
利多卡因 2.5 mg/ml 组	155.33±2.49*#	100.00±2.16*#
利多卡因 5 mg/ml 组	91.33±2.05*#&	73.67±1.70*#&
F	702.849	472.550
P	0.000	0.000

注：与对照组相比，*$P<0.05$；与利多卡因 1.25 mg/ml 组相比，#$P<0.05$；与利多卡因 2.5 mg/ml 组相比，&$P<0.05$

Note: vs. the control group, *$P<0.05$; vs. the lidocaine 1.25 mg/ml group, #$P<0.05$; vs. the lidocaine 2.5 mg/ml group, &$P<0.05$

3.3 利多卡因对 T24 中 MDC1-AS 表达的影响

与对照组比较，2.5、5 mg/ml 的利多卡因干预后 T24 细胞中 MDC1-AS 表达量显著升高，差异有统计学意义（$P<0.05$）；不同剂量利多卡因组 T24 细胞 MDC1-AS 表达量比较，差异均有统计学意义（$P<0.05$），见表 3。

表 3 利多卡因促进 MDC1-AS 的表达（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

Tab 3 Promotion of expression of MDC1-AS by lidocaine ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	MDC1-AS
对照组	0.97±0.04
利多卡因 1.25 mg/ml 组	0.96±0.03
利多卡因 2.5 mg/ml 组	1.53±0.05*#
利多卡因 5 mg/ml 组	2.47±0.08*#&
F	530.904
P	0.000

注：与对照组相比，*$P<0.05$；与利多卡因 1.25 mg/ml 组相比，#$P<0.05$；与利多卡因 2.5 mg/ml 组相比，&$P<0.05$

Note: vs. the control group, *$P<0.05$; vs. the lidocaine 1.25 mg/ml group, #$P<0.05$; vs. the lidocaine 2.5 mg/ml group, &$P<0.05$

3.4 过表达 MDC1-AS 对 T24 凋亡、迁移和侵袭的影响

与 pcDNA 组比较，pcDNA-MDC1-AS 组 T24 细胞中 MDC1-AS 表达量显著升高，细胞凋亡率、Bax 蛋白表达量显著升高，迁移和侵袭细胞数、Bcl-2 蛋白表达量显著降低，差异均有统计学意义（$P<0.05$），见表 4、图 3。

3.5 干扰 MDC1-AS 对利多卡因处理的 T24 凋亡、迁移和侵袭的影响

与利多卡因 5 mg/ml+si-NC 组比较，利多卡因 5 mg/ml+

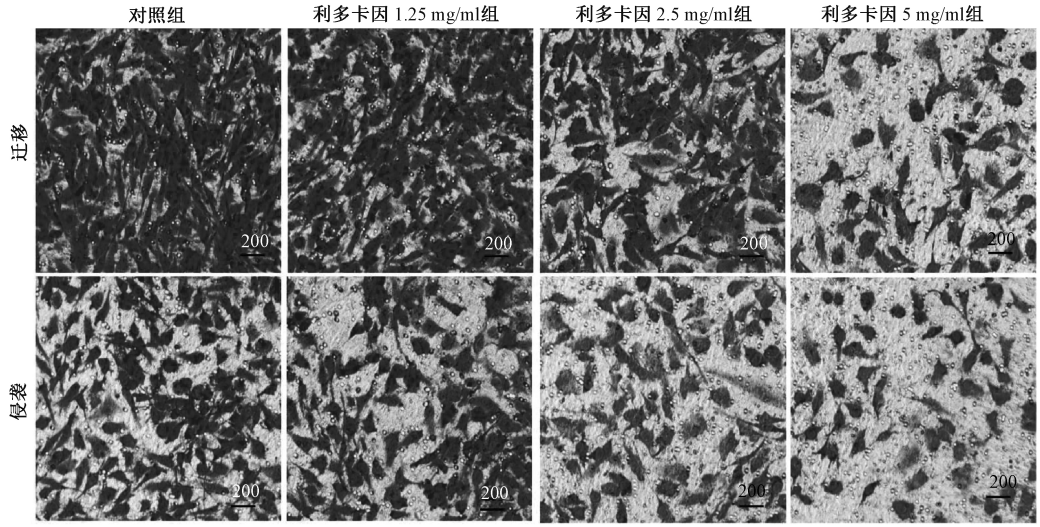


图 2　利多卡因抑制 T24 迁移、侵袭图

Fig 2　Inhibitors of T24 migration and invasion by lidocaine

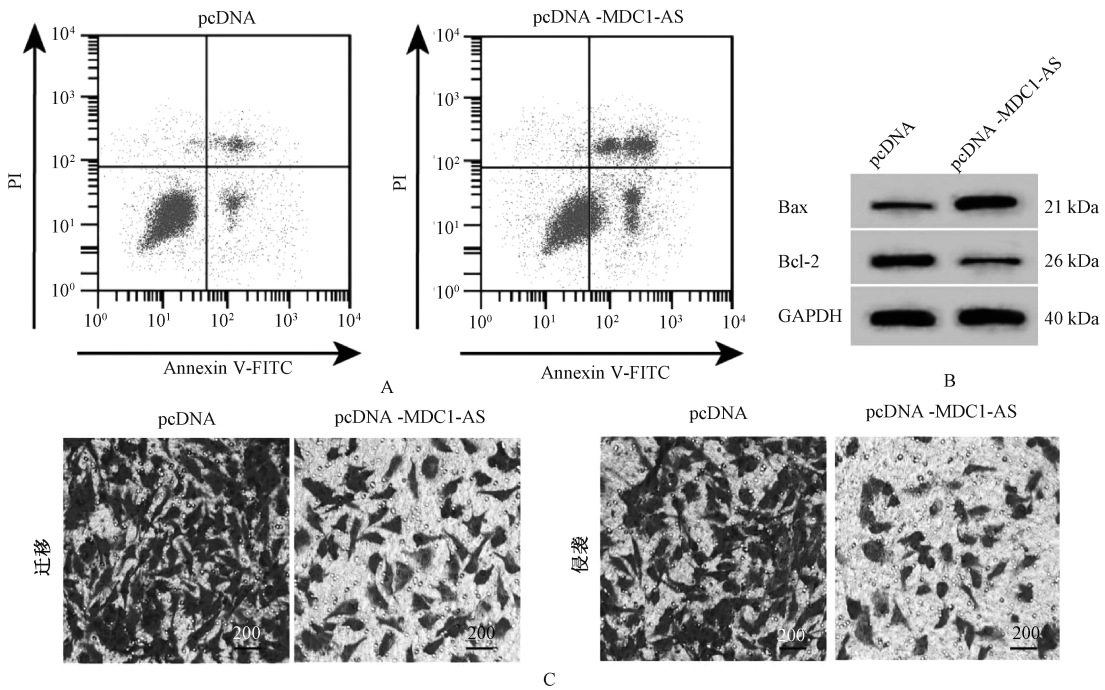
表 4　过表达 MDC1-AS 诱导 T24 凋亡、迁移和侵袭($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Tab 4　Apoptosis, migration and invasion of T24 induced by over-expression of MDC1-AS($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	MDC1-AS	迁移细胞数/个	侵袭细胞数/个	凋亡率/%	Bax	Bcl-2
pcDNA 组	0.98±0.04	190.00±2.56	130.00±2.83	8.72±0.47	0.14±0.01	0.64±0.06
pcDNA-MDC1-AS 组	3.17±0.08 *	76.33±2.05 *	59.00±1.63 *	28.41±0.97 *	0.79±0.05 *	0.17±0.01 *
t	42.409	60.031	37.655	32.385	22.079	13.383
P	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:与 pcDNA 组相比, * $P<0.05$

Note: vs. the pcDNA group, * $P<0.05$



A. 过表达 MDC1-AS 对 T24 凋亡的影响;B. 过表达 MDC1-AS 对 T24 迁移的影响;C. 过表达 MDC1-AS 对 T24 侵袭的影响

A. effect of MDC1-AS overexpression on the apoptosis of T24; B. effect of MDC1-AS overexpression on the migration of T24; C. effect of MDC1-AS overexpression on the invasion of T24

图 3　过表达 MDC1-AS 诱导 T24 凋亡、迁移和侵袭及对凋亡蛋白表达的影响

Fig 3　Apoptosis, migration and invasion of T24 induced by over-expression of MDC1-AS and its effect on expression of apoptotic protein

si-MDC1-AS 组 T24 细胞中 MDC1-AS 表达量显著降低，细胞凋亡率、Bax 蛋白表达量显著降低，迁移和侵袭细胞数、Bcl-2 蛋白表达量显著升高，差异均有统计学意义（$P<0.05$），见表 5、图 4。

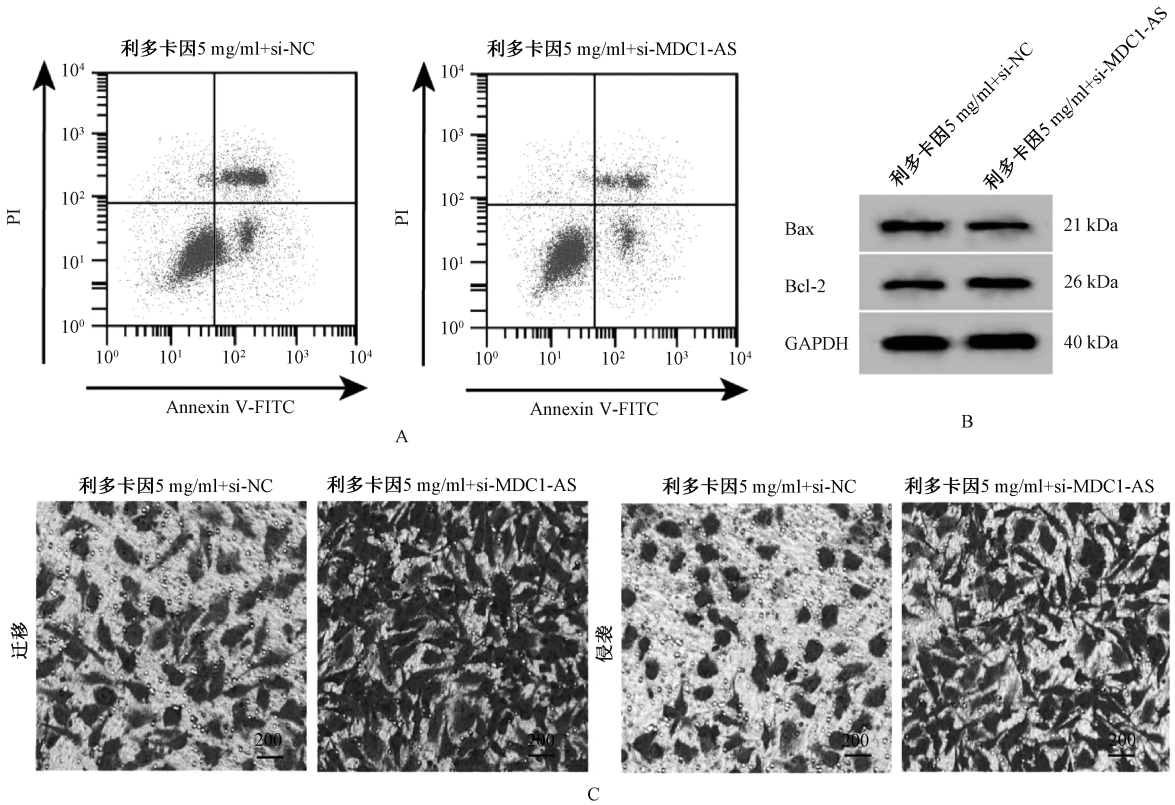
表 5　干扰 MDC1-AS 减弱利多卡因处理的 T24 凋亡、迁移和侵袭的作用（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

Tab 5　Attenuation of role of interference with MDC1-AS on migration, invasion and expression of apoptotic proteins of T24 cells induced by lidocaine ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	MDC1-AS	迁移细胞数/个	侵袭细胞数/个	凋亡率/%	Bax	Bcl-2
Lidocaine 5 mg/ml+si-NC 组	2.47±0.08	91.00±2.16	73.33±1.70	25.42±0.80	0.63±0.05	0.25±0.02
Lidocaine 5 mg/ml+si-MDC1-AS 组	1.21±0.04 *	168.00±3.27 *	115.33±2.49 *	13.03±0.46 *	0.25±0.02 *	0.53±0.04 *
t	24.400	34.031	24.128	22.917	12.222	10.844
P	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注：与 Lidocaine 5 mg/ml+si-NC 组相比，* $P<0.05$

Note：vs. the lidocaine 5 mg/ml+si-NC group，* $P<0.05$



A. 干扰 MDC1-AS 减弱利多卡因处理对 T24 凋亡的影响；B. 干扰 MDC1-AS 减弱利多卡因处理对 T24 迁移的影响；C. 干扰 MDC1-AS 减弱利多卡因处理对 T24 侵袭的影响

A. interfering with MDC1-AS attenuates the effect of lidocaine treatment on T24 apoptosis; B. interfering with MDC1-AS attenuates the effect of lidocaine treatment on T24 migration; C. interfering with MDC1-AS attenuates the effect of lidocaine treatment on T24 invasion

图 4　干扰 MDC1-AS 减弱利多卡因处理的 T24 凋亡、迁移和侵袭及凋亡蛋白表达的影响

Fig 4　Attenuation of effect of interference with MDC1-AS on migration, invasion and expression of apoptotic proteins of T24 cells induced by lidocaine

4　讨论

近年来，多项研究结果指出，利多卡因可抑制多种恶性肿瘤细胞的恶性生物学行为，进而降低肿瘤切除术后肿瘤转移复发的可能性[8-9]。利多卡因可通过诱导细胞周期阻滞降低肺癌细胞增殖能力[10]；通过下调瞬时受体电位阳离子通道亚家族 V 成员 6（TRPV6）表达抑制乳腺癌细胞迁移和侵袭[11]。在胃癌中，利多卡因对恶性肿瘤细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用与上调 miR-145 表达有关[12]。与上述抗肿瘤作用一致，本研究结果显示，利多卡因（2.5、5 mg/ml）可显著抑制膀胱癌细胞 T24 的迁移和侵袭能力，增加细胞凋亡率，并呈剂量依赖效应。Bax 和 Bcl-2 是线粒体调控途径中的重要基因，Bax 是细胞凋亡的启动子，当 Bax 表达过量时 Bax 同型二聚体大量形成促进细胞凋亡。研究结果指出，lncRNA 通过下调 Bax 表达、上调 Bcl-2 表达可抑制膀胱癌细胞凋亡[13]。利多卡因通过增加 Bax 蛋白、下调 Bcl-2 表达诱导肝癌细胞凋亡[14]。与上述发现一致，本研究中，利多卡因可显著下调 T24 细胞中 Bcl-2 表达、上调 Bax 表达，表明利多卡因可能通过调控线粒体途径对 T24 细胞发挥促凋亡作用。上述研究结果表明，利多卡因通过抑制 T24 细胞迁移和侵袭，增加细胞凋亡，在膀胱癌中具有抗肿瘤作用。

lncRNA 是一类蛋白编码能力有限或缺失的 RNA 转录本，其通过转录后调节或染色质修饰等多种途径调控基因表达在肿瘤发生中发挥作用。MDC1 是 DNA 损伤机制的关键组成部分，参与细胞对 DNA 损伤的早期反应以保护基因组完整性。MDC1-AS 是 MDC1 的反义 lncRNA，研究结果指出，胶质瘤组织中 MDC1-AS 表达水平较正常脑组织显著下调，且胶质瘤细胞中 MDC1-AS 也呈低表达，上调 MDC1-AS 表达可显著抑制胶质瘤细胞增殖和周期进展[15]。此外，MDC1-AS 过表达通过 MDC1 依赖机制抑制人胃癌细胞的增殖和转移[16]。本研究探讨了 MDC1-AS 在膀胱癌中的作用，发现过表达 MDC1-AS 可显著上调 Bax 表达，下调 Bcl-2，抑制 T24 细胞迁移和侵袭，并促进细胞凋亡。既往研究结果显示，在宫颈癌[5]、肝癌[17]、肺癌[18]、胃癌[19]以及视网膜内皮细胞瘤[20]中，利多卡因的抗肿瘤作用多与调控 lncRNA、miRNA 表达有关，但利多卡因是否通过调控 MDC1-AS 表达而影响 T24 细胞迁移、侵袭和凋亡并未可知。本研究中，经利多卡因（2.5、5 mg/ml）处理后，T24 细胞中 MDC1-AS 表达量以剂量依赖方式增加；而转染 si-MDC1-AS 干扰 MDC1-AS 表达显著减弱利多卡因（5 mg/ml）处理对 T24 细胞的抗迁移、抗侵袭和促凋亡作用，恢复 T24 细胞迁移、侵袭能力和凋亡水平，这说明上调 MDC1-AS 表达是利多卡因在膀胱癌中发挥抗肿瘤作用的重要机制。然而，本研究仍存在不足之处，是否存在其他 lncRNA 参与利多卡因对膀胱癌细胞生物学行为的调控值得探讨；此外，MDC1-AS 的下游靶 miRNA 需进一步确认。

综上所述，本研究证实了利多卡因可抑制膀胱癌细胞迁移、迁移，诱导细胞凋亡，其机制与上调 MDC1-AS 表达有关，初步揭示了利多卡因在膀胱癌中的抗肿瘤机制，为利多卡因在膀胱癌治疗中的应用奠定了理论基础。

参考文献

[1] Van Rhijn BW, Burger M, Lotan Y, et al. Recurrence and progression of disease in non-muscle-invasive bladder cancer: from epidemiology to treatment strategy[J]. Eur Urol, 2009, 56(3): 430-442.

[2] Kim R. Effects of surgery and anesthetic choice on immunosuppression and cancer recurrence[J]. J Transl Med, 2018, 16(1): 8.

[3] D'Agostino G, Saporito A, Cecchinato V, et al. Lidocaine inhibits cytoskeletal remodelling and human breast cancer cell migration [J]. Br J Anaesth, 2018, 121(4): 962-968.

[4] Ye L, Zhang Y, Chen YJ, et al. Anti-tumor effects of lidocaine on human gastric cancer cells in vitro[J]. Bratisl Lek Listy, 2019, 120(3): 212-217.

[5] Zhu J, Han S. Lidocaine inhibits cervical cancer cell proliferation and induces cell apoptosis by modulating the lncRNA-MEG3/miR-421/BTG1 pathway[J]. Am J Transl Res, 2019, 11(9): 5404-5416.

[6] Yang X, Zhao L, Li M, et al. Lidocaine enhances the effects of chemotherapeutic drugs against bladder cancer[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 598.

[7] Xue Y, Ma G, Zhang Z, et al. A novel antisense long noncoding RNA regulates the expression of MDC1 in bladder cancer[J]. Oncotarget, 2015, 6(1): 484-493.

[8] Freeman J, Crowley PD, Foley AG, et al. Effect of Perioperative Lidocaine, Propofol and Steroids on Pulmonary Metastasis in a Murine Model of Breast Cancer Surgery[J]. Cancers (Basel), 2019, 11(5): 613.

[9] Wall TP, Crowley PD, Sherwin A, et al. Effects of Lidocaine and Src Inhibition on Metastasis in a Murine Model of Breast Cancer Surgery [J]. Cancers (Basel), 2019, 11(10): 1414.

[10] Zhang L, Hu R, Cheng Y, et al. Lidocaine inhibits the proliferation of lung cancer by regulating the expression of GOLT1A [J]. Cell Prolif, 2017, 50(5): e12364.

[11] Jiang Y, Gou H, Zhu J, et al. Lidocaine inhibits the invasion and migration of TRPV6-expressing cancer cells by TRPV6 downregulation[J]. Oncol Lett, 2016, 12(2): 1164-1170.

[12] Sui H, Lou A, Li Z, et al. Lidocaine inhibits growth, migration and invasion of gastric carcinoma cells by up-regulation of miR-145[J]. BMC Cancer, 2019, 19(1): 233.

[13] Liu G, Zhao X, Zhou J, et al. Long non-coding RNA MEG3 suppresses the development of bladder urothelial carcinoma by regulating miR-96 and TPM1[J]. Cancer Biol Ther, 2018, 19(11): 1039-1056.

[14] Xing W, Chen DT, Pan JH, et al. Lidocaine Induces Apoptosis and Suppresses Tumor Growth in Human Hepatocellular Carcinoma Cells In Vitro and in a Xenograft Model In Vivo [J]. Anesthesiology, 2017, 126(5): 868-881.

[15] Yue H, Zhu J, Xie S, et al. MDC1-AS, an antisense long noncoding RNA, regulates cell proliferation of glioma [J]. Biomed Pharmacother, 2016, 81: 203-209.

[16] Qin Y, Zhuang S, Wen J, et al. Long non-coding RNA MDC1-AS inhibits human gastric cancer cell proliferation and metastasis through an MDC1-dependent mechanism[J]. Exp Ther Med, 2018, 15(1): 191-197.

[17] 赵铤，赵全丰，丁汉琳. 利多卡因调控 miR-15a-5p 对肝癌细胞生物学功能的影响及其机制[J]. 西部医学, 2020, 32(7): 980-985, 989.

[18] Sun H, Sun Y. Lidocaine inhibits proliferation and metastasis of lung cancer cell via regulation of miR-539/EGFR axis[J]. Artif Cells Nanomed Biotechnol, 2019, 47(1): 2866-2874.

[19] Zhang X, Gu G, Li X, et al. Lidocaine alleviates cisplatin resistance and inhibits migration of MGC-803/DDP cells through decreasing miR-10b[J]. Cell Cycle, 2020, 19(19): 2530-2537.

[20] Xia W, Wang L, Yu D, et al. Lidocaine inhibits the progression of retinoblastoma in vitro and in vivo by modulating the miR-520a-3p/EGFR axis[J]. Mol Med Rep, 2019, 20(2): 1333-1342.

（收稿日期：2020-10-12）

（上接第 394 页）

[17] Long X. Intra-articular injections of hyaluronic acid for anterior disc displacement of temporomandibular joint[J]. Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi, 2017, 52(3): 161-165.

[18] Sequeira J, Rao BHS, Kedia PR. Efficacy of Sodium Hyaluronate for Temporomandibular Joint Disorder by Single-Puncture Arthrocentesis[J]. J Maxillofac Oral Surg, 2019, 18(1): 88-92.

[19] 张嘉佳. 透明质酸钠不同注射方法治疗颞下颌关节紊乱病的疗效对比研究[J]. 临床合理用药杂. 2013, 6(8): 25-26.

（收稿日期：2020-12-02）