

布比卡因对结直肠癌细胞侵袭、迁移能力影响的机制研究

杨振宇, 李娟

四川省绵阳市麻醉与神经调控重点实验室·绵阳市中心医院麻醉科, 四川 绵阳 621000

【摘要】 目的 探讨布比卡因(bupivacaine, BUP)调控微小 RNA-212-3p(miR-212-3p)/Krüppel 样因子 7(krüppel-like factor 7, KLF7)通路对结直肠癌(colorectal cancer, CRC)细胞侵袭、迁移能力的影响。方法 体外培养人正常结肠上皮细胞系 NCM460 和 CRC 细胞系 HCT-116、SW480、HCT-8、LS513, qRT-PCR 检测各细胞系中 miR-212-3p 和 KLF7 mRNA 表达量, Western blot 检测各细胞系中 KLF7 蛋白表达量; 四甲基偶氮唑蓝(MTT)法检测不同浓度 BUP 对 HCT-116 细胞活性的影响; 将 HCT-116 细胞分为: NC 组、BUP-L 组、BUP-H 组、BUP-H+inhibitor-NC 组、BUP-H+miR-212-3p inhibitor 组。Transwell 实验检测各组 HCT-116 细胞侵袭能力, 划痕愈合实验检测各组 HCT-116 细胞迁移能力; qRT-PCR 实验检测各组 HCT-116 细胞中 miR-212-3p、KLF7 mRNA 表达量; Western blot 检测 KLF7、基质金属蛋白酶(MMP-2)、组织金属蛋白酶抑制因子(TIMP-1)、上皮型钙黏蛋白(E-cadherin)、神经型钙黏蛋白(N-cadherin)表达量; 双荧光素酶报告基因实验验证 miR-212-3p 和 KLF7 互作关系。结果 与 NCM460 细胞系相比, CRC 细胞系中 miR-212-3p 表达量均明显下调, KLF7 mRNA 和蛋白表达量均明显上调($P<0.05$)。与 NC 组相比, BUP-L 组和 BUP-H 组 HCT-116 细胞侵袭数量、划痕愈合率及 MMP-2、N-cadherin 蛋白表达量明显降低, TIMP-1 和 E-cadherin 蛋白表达量明显升高, miR-212-3p 表达量显著升高, KLF7 mRNA 和蛋白表达量明显降低($P<0.05$); 与 BUP-H+inhibitor-NC 组相比, BUP-H+miR-212-3p inhibitor 组 HCT-116 细胞侵袭数量、划痕愈合率及 MMP-2、N-cadherin 蛋白表达量明显升高, TIMP-1 和 E-cadherin 蛋白表达量明显降低, miR-212-3p 表达量显著降低, KLF7 mRNA 和蛋白表达量明显升高($P<0.05$); 双荧光素酶实验结果证实 miR-212-3p 和 KLF7 存在靶向关系($P<0.05$)。结论 BUP 通过调控 miR-212-3p/KLF7 通路抑制 CRC 细胞侵袭、迁移。

【关键词】 布比卡因; 微小 RNA-212-3p; Krüppel 样因子 7; 结直肠癌; 侵袭; 迁移

【中图分类号】 R735.3

【文献标志码】 A

【文章编号】 1672-6170(2025)05-0072-06

The effect of bupivacaine on the invasion and migration of colorectal cancer cells by regulating miR-212-3p/KLF7 pathway YANG Zhen-yu, LI Juan *Department of Anesthesiology, Mianyang Key Laboratory of Anesthesia and Neuroregulation, Mianyang Central Hospital, Mianyang 621000, China*

【Corresponding author】 LI Juan

【Abstract】 **Objective** To explore the effect of bupivacaine (BUP) on the invasion and migration abilities of colorectal cancer (CRC) cells by regulating microRNA-212-3p/Krüppel like factor 7 (KLF7) pathway. **Methods** Normal colon epithelial cell line NCM460 and CRC cell lines HCT-116, SW480, HCT-8, and LS513 were cultured in vitro. qRT-PCR was performed to detect the miR-212-3p and KLF7 mRNA in various cell lines. Western blot was performed to detect KLF7 protein in various cell lines. MTT assay was used to detect the effect of different concentrations of BUP on the activity of HCT-116 cells. HCT-116 cells were assigned into a NC group, a BUP-L group, a BUP-H group, a BUP-H+inhibitor NC group, and a BUP-H+miR-212-3p inhibitor group. Transwell experiment was used to measure the invasion ability of HCT-116 cells. Scratch healing experiment was performed to measure the migration ability of HCT-116 cells. The qRT-PCR experiment was used to measure the miR-212-3p and KLF7 mRNA in HCT-116 cells. Western blot was used to measure expression levels of the KLF7, matrix metalloproteinase (MMP-2), tissue metalloproteinase inhibitor (TIMP-1), E-cadherin, and N-cadherin. The dual luciferase reporter gene experiment was used to verify the interaction between miR-212-3p and KLF7. **Results** Compared with the NCM460 cell line, the miR-212-3p was significantly downregulated in the CRC cell line, while the KLF7 mRNA and protein were significantly upregulated ($P<0.05$). Compared with the NC group, the invasion number of HCT-116 cells, the scratch healing rate, and the expression levels of MMP-2 and N-cadherin proteins were significantly decreased, the expression levels of TIMP-1 and E-cadherin proteins were significantly increased, the expression level of miR-212-3p was significantly increased, and the expression levels of KLF7 mRNA and protein were significantly decreased in the BUP-L and BUP-H groups ($P<0.05$). Compared with the BUP-H + inhibitor-NC group, the invasion number of HCT-116 cells, the scratch healing rate, and the expression levels of MMP-2 and N-cadherin proteins in the BUP-H+miR-212-3p inhibitor group were significantly increased, the expression levels of TIMP-1 and E-cadherin proteins were significantly decreased, the expression level of miR-212-3p was significantly decreased, and the expression levels of KLF7 mRNA and protein were significantly increased ($P<0.05$). Dual luciferase assay confirmed the targeting relationship between miR-212-3p and KLF7 ($P<0.05$). **Conclusions** BUP inhibits CRC cell invasion and migration by regulating miR-212-3p/KLF7 pathway.

【Key words】 Bupivacaine; MicroRNA-212-3p; Krüppel like factor 7; Colorectal cancer; Invasion; Migration

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是全球癌症相关死亡的第三大原因,发生机制涉及一系列病理

生理过程,如异常细胞增殖、细胞分化、对细胞凋亡的抵抗、侵袭结肠肿瘤细胞附近的结构以及远处

转移等等^[1,2]。而这些生理过程大多由环境因素相互作用造成,例如:抽烟、久坐、饮酒、肥胖等^[3]。有研究表明 CRC 发病率和死亡率的地理差异与该癌症的危险因素分布密切相关,其中亚洲发病率最高,而拉丁美洲和加勒比地区死亡率最高^[4]。目前手术和放疗仍是 CRC 的基础治疗手段,但有一部分患者仍无法从传统疗法中获益^[5]。因此,探究 CRC 潜在机制对于治疗方案的创新是必要的。布比卡因(bupivacaine, BUP)是一种长效局部麻醉药,与其他局部麻醉剂一样,其可通过抑制神经冲动的启动和传导来发挥作用,提供非阿片类镇痛作用^[6]。现有研究发现, BUP 在多种癌症研究中发挥作用,其能明显抑制肝癌 HepG2 细胞增殖和侵袭,促进细胞凋亡^[7],但 BUP 在 CRC 中的研究鲜有报道。微小 RNA(miRNA)是一种只含有 20~25 个核苷酸的微小非编码 RNA,近年来已有大量研究证实 miRNA 调控多种癌症发展^[8]。circMAN1A2 可通过调节 miR-212-3p/DNA 损伤可诱导转录物 4(DDIT4)轴抑制胃癌细胞增殖、侵袭和迁移^[9]。Krüppel 样因子(Krüppel-like factor 7, KLF7)是一组高度保守的锌指转录因子,广泛参与多种癌症相关生物学过程,并且在特定细胞环境中异常表达的 KLF 作为肿瘤抑制因子或肿瘤促进因子发挥作用^[10]。KLF7 在许多实体瘤中呈现异常表达模式,有研究报道 KLF7 可通过调控 miR-139-5p/TPD52 轴增强 CRC 细胞的侵袭和迁移^[11]。但关于 BUP 是否能通过调控 miR-212-3p/KLF7 来影响 CRC 发展尚未有研究说明,因此,本研究旨在探讨 BUP 对 CRC 的影响及其具体机制。

1 材料与方法

1.1 实验细胞 本研究于 2024 年 10 月在四川省绵阳市麻醉与神经调控重点实验室进行。人正常结肠上皮细胞系 NCM460、人 CRC 细胞系 HCT-116、SW480(货号:PT-H1504)、HCT-8 和 LS513 均购自上海匹拓生物科技公司。

1.2 主要试剂 miR-212-3p inhibitor 及 inhibitor-NC 质粒、KLF7-MUT 及 KLF7-WT 质粒、miR-212-3p mimics 及 miR-NC 质粒均由上海达为科生物科技有限公司构建; BUP(国药准字 H20054726)购自西安力邦制药有限公司; MTT 检测试剂盒购自上海联祖生物科技有限公司; 基质胶包被的 Transwell 小室(货号:354480)购自北京云肽生物公司; RNA 提取试剂盒购自上海百生跃生物科技公司; 反转录试剂盒购自 MedChem Express 公司; 荧光定量 PCR 酶购

自上海彩佑实业有限公司; 双荧光素酶活性检测试剂盒(货号:DR075)购自北京兰博利德公司; 一抗 KLF7、基质金属蛋白酶(MMP-2)、组织金属蛋白酶抑制因子(TIMP-1)、上皮型钙黏蛋白(E-cadherin)、神经型钙黏蛋白(N-cadherin)购自 Abcam; GAPDH、辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗购自华美生物。

1.3 细胞培养 取 2×10^5 个 HCT-116 细胞接种至含有新鲜完全培养基的培养皿中, 培养至融合率为 80%~90% 时进行传代, 待 HCT-116 细胞传至第三代且状态稳定时可用于实验。

1.4 药物浓度筛选及分组 将 HCT-116 细胞(2×10^3 个/孔)接种至 96 孔板中, 培养箱中培养 24 h 后, 分别用 0、1.25、2.5、5、10 mg/ml 的 BUP 处理 HCT-116 细胞 24 h, 之后按照 MTT 检测试剂盒说明书步骤操作, 检测 570 nm 处各孔的吸光度, 并计算细胞存活率。

1.5 细胞分组 将 HCT-116 细胞分为: NC 组(不做任何处理)、BUP-L 组(含 2.5 mg/ml BUP 培养基培养)、BUP-H 组(含 5 mg/ml BUP 培养基培养)、BUP-H+inhibitor-NC 组(转染 inhibitor-NC 质粒后用含 5 mg/ml BUP 培养基培养)、BUP-H+miR-212-3p inhibitor 组(转染 miR-212-3p inhibitor 质粒后用含 5 mg/ml BUP 培养基培养)。

1.6 Transwell 实验检测 HCT-116 细胞侵袭能力 将 HCT-116 细胞调整密度至 5×10^4 个/ml, 取 200 μ l HCT-116 细胞接种至基质胶包被的 Transwell 小室上室中, 下室加入 500 μ l 完全培养基, 培养 24 h 后, 甲醛固定 HCT-116 细胞, 结晶染色, 显微镜下观察各组 HCT-116 细胞侵袭情况并计数。

1.7 划痕愈合实验检测 HCT-116 细胞迁移能力 取消化后的 HCT-116 细胞(1×10^5 个)接种至 6 cm 皿中, 培养箱中培养 24 h, 随后使用移液枪枪头划痕, 继续培养 24 h, 最后在显微镜下观察各组 HCT-116 细胞划痕愈合情况, 并计算各组 HCT-116 细胞划痕愈合率。

1.8 qRT-PCR 实验检测 HCT-116 细胞中 miR-212-3p 和 KLF7 mRNA 表达量 将 HCT-116 细胞培养至对数生长期后收集, 提取总 RNA, 使用试剂盒反转录合成 cDNA, 以得到的 cDNA 为模板进行 qRT-PCR, 以 U6 和 GAPDH 作为参照, 使用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法将各基因 mRNA 表达量进行标准化, qRT-PCR 引物序列见表 1。

1.9 Western blot 实验检测 HCT-116 细胞中 KLF7、MMP-2、TIMP-1、E-cadherin、N-cadherin 蛋白表达量 收集处于对数生长期的各组 HCT-116 细胞, 使用蛋白裂解液和蛋白酶抑制剂混合物提取总蛋白, 使用二辛可宁酸测定试剂盒测定蛋白浓

【基金项目】四川省自然科学基金(编号:2023NSFSC1664); 四川省医学科技创新研究会课题(编号:YCH-KY-yczd2024-243)

【通讯作者】李娟

度,并通过 10% SDS-PAGE 分离 30 μg 总蛋白质并转移到 PVDF 膜上。将膜与 5% 脱脂牛奶一起孵育 1 h 以阻断非特异性结合,然后在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下与 KLF7、MMP-2、TIMP-1、E-cadherin、N-cadherin 和 GAPDH

的一抗孵育过夜。洗涤后,将膜与 HRP 偶联的 IgG 孵育 30 min,并使用自动化学发光图像分析系统进行分析,最后用软件 IMAGE J 对蛋白条带进行标准化。

表 1 qRT-PCR 引物序列

基因	正向引物(5'-3')	反向引物(5'-3')
miR-212-3p	GTCGTATCCAGTGCAGGCTCCGAG	TGGTTCGTGGGTAACAGTCTCCAGTC
KLF7	TTGTGTGGCACTTCCTCCTC	GTCAGTCTGTCTGGCTCACC
U6	CTCGCTTCGGCAGCACAT	TTTCCGTGTCATCCTTGGC
GAPDH	AAGTTCATCCATGACAAC	AGGCAGGGATGATGTTCT

1.10 双荧光素酶报告基因实验验证 miR-212-3p 和 KLF7 互作关系 通过网站 TargetScan 预测获得 miR-212-3p 和 KLF7 靶向互作序列,将 KLF7 野生型和突变型序列构建至 pmirGLO 载体上,以获取 KLF7-WT 和 KLF7-MUT 质粒。通过转染试剂将质粒按照如下分组转入 HCT-116 细胞中:KLF7-WT+miR-NC、KLF7-WT+miR-212-3p mimic、KLF7-MUT+miR-NC、KLF7-MUT+miR-212-3p mimic,转染 24 h 后,使用试剂盒测定 HCT-116 细胞中荧光素酶活性。

1.11 统计学方法 采用 GraphPad Prism 9 进行数据分析。结果均表示为均数 \pm 标准差,两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用 SNK-*q* 法。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-212-3p 和 KLF7 在正常结肠上皮细胞和 CRC 细胞中的表达量 与 NCM460 细胞相比,HCT-116、SW480、HCT-8、LS513 细胞中 miR-212-3p 表达量明显下降($P<0.05$),KLF7 mRNA 和蛋白表达量明显上升($P<0.05$),其中 HCT-116 细胞变化趋势最明显。见图 1、表 2。

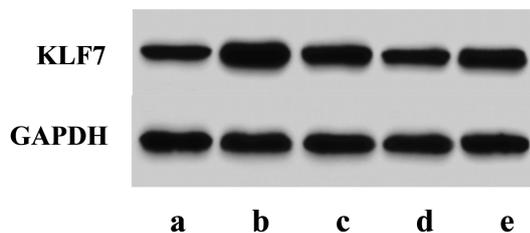


图 1 KLF7 在正常结肠上皮细胞和 CRC 细胞中的表达量 a:NCM460 细胞;b:HCT-116 细胞;c:SW480 细胞;d:HCT-8 细胞;e:LS513 细胞

表 2 miR-212-3p 和 KLF7 在正常结肠上皮细胞和 CRC 细胞中的表达量 ($n=6$)

细胞系	miR-212-3P	KLF7 mRNA	KLF7 蛋白
NCM460	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00	0.68 \pm 0.07
HCT-116	0.31 \pm 0.03 ^a	2.01 \pm 0.21 ^a	1.53 \pm 0.16 ^a
SW480	0.53 \pm 0.06 ^a	1.35 \pm 0.14 ^a	0.99 \pm 0.10 ^a
HCT-8	0.57 \pm 0.06 ^a	1.54 \pm 0.16 ^a	0.84 \pm 0.05 ^a
LS513	0.62 \pm 0.07 ^a	1.89 \pm 0.19 ^a	1.08 \pm 0.11 ^a

a 与 NCM460 比较, $P<0.05$

2.2 BUP 处理对 HCT-116 细胞活性的影响 不同浓度 BUP(1.25、2.5、5、10 mg/ml)处理后,HCT-116 细胞存活率均显著高于未处理(0 mg/ml)的细胞($P<0.05$),BUP 对 HCT-116 细胞作用的 IC₅₀ 为 5.81 mg/ml,所以选定 BUP 处理的高浓度为 5 mg/ml,低浓度为 2.5 mg/ml。见表 3。

表 3 不同浓度 BUP 处理对 HCT-116 细胞活性的影响 ($n=6$)

BUP 浓度(mg/ml)	细胞存活率(%)
0	99.24 \pm 0.31
1.25	72.34 \pm 7.35 ^a
2.5	63.19 \pm 6.54 ^a
5	51.37 \pm 5.66 ^a
10	42.16 \pm 4.74 ^a

a 与 0 mg/ml 比较, $P<0.05$

2.3 各组 HCT-116 细胞侵袭能力比较 与 NC 组相比,BUP-L 组和 BUP-H 组 HCT-116 细胞侵袭细胞数明显减少($P<0.05$),且 BUP-H 组较 BUP-L 组 HCT-116 细胞侵袭数减少($P<0.05$);与 BUP-H+inhibitor-NC 组相比,BUP-H+miR-212-3p inhibitor 组 HCT-116 细胞侵袭数明显增加($P<0.05$)。见图 2、表 4。

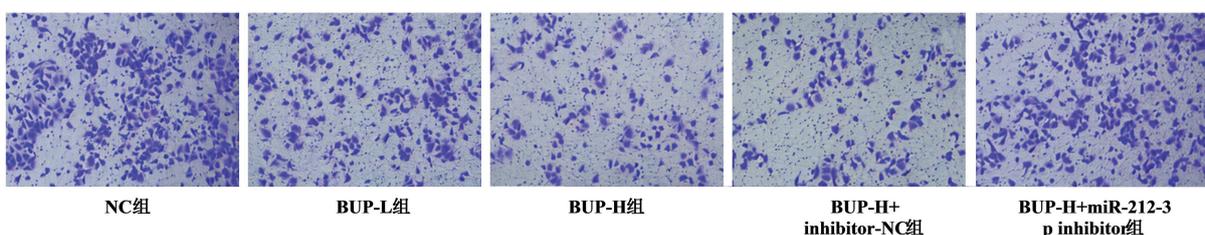


图 2 各组 HCT-116 细胞侵袭能力比较

表 4 各组 HCT-116 细胞侵袭细胞数比较 ($n=6$)

组别	侵袭细胞数(个)
NC 组	137.17±14.01
BUP-L 组	81.83±8.95 ^a
BUP-H 组	62.17±6.93 ^{ab}
BUP-H+inhibitor-NC 组	65.83±7.02
BUP-H+miR-212-3p inhibitor 组	119.83±12.24 ^c

a 与 NC 组比较, $P<0.05$; b 与 BUP-L 组比较, $P<0.05$; c 与 BUP-H+inhibitor-NC 组比较, $P<0.05$

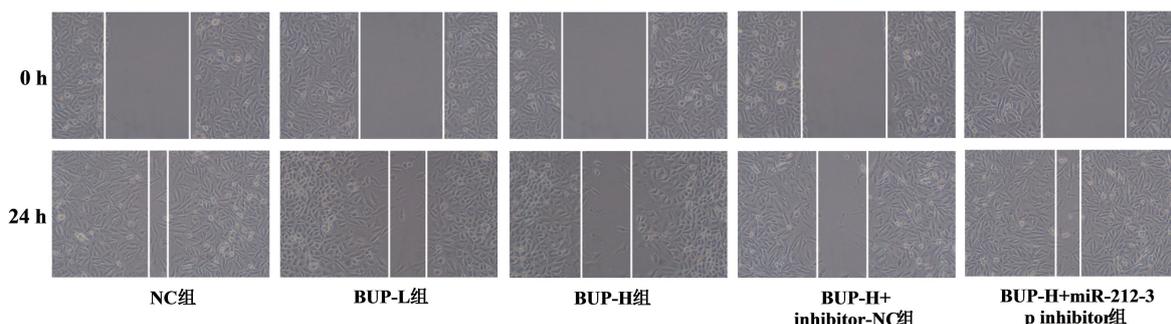


图 3 各组 HCT-116 细胞划痕愈合情况比较

表 5 各组 HCT-116 细胞划痕愈合率比较 ($n=6$)

组别	划痕愈合率(%)
NC 组	79.82±8.31
BUP-L 组	52.44±5.95 ^a
BUP-H 组	39.12±4.50 ^{ab}
BUP-H+inhibitor-NC 组	41.39±4.26
BUP-H+miR-212-3p inhibitor 组	68.16±7.47 ^c

a 与 NC 组比较, $P<0.05$; b 与 BUP-L 组比较, $P<0.05$; c 与 BUP-H+inhibitor-NC 组比较, $P<0.05$

2.5 各组 HCT-116 细胞中 miR-212-3p 和 KLF7 mRNA 表达量比较 与 NC 组相比, BUP-L 组和 BUP-H 组 HCT-116 细胞中 miR-212-3p 表达量明显上调, KLF7 mRNA 表达量明显下调 ($P<0.05$), 且 BUP-H 组表达量变化趋势更明显 ($P<0.05$); 与 BUP-H+inhibitor-NC 组相比, BUP-H+miR-212-3p inhibitor 组 HCT-116 细胞中 miR-212-3p 表达量明显下调, KLF7 mRNA 表达量明显上调 ($P<0.05$)。见表 6。

表 6 各组 HCT-116 细胞中 miR-212-3p 和 KLF7 mRNA 表达量 ($n=6$)

组别	miR-212-3P	KLF7
NC 组	1.00±0.00	1.00±0.00
BUP-L 组	1.35±0.14 ^a	0.61±0.06 ^a
BUP-H 组	1.64±0.17 ^{ab}	0.24±0.03 ^{ab}
BUP-H+inhibitor-NC 组	1.68±0.17	0.38±0.04
BUP-H+miR-212-3p inhibitor 组	1.12±0.11 ^c	0.79±0.08 ^c

a 与 NC 组比较, $P<0.05$; b 与 BUP-L 组比较, $P<0.05$; c 与 BUP-H+

2.4 各组 HCT-116 细胞迁移能力比较 与 NC 组相比, BUP-L 组和 BUP-H 组 HCT-116 细胞划痕愈合率明显下降 ($P<0.05$), 并且与 BUP-L 组相比, BUP-H 组 HCT-116 细胞划痕愈合率下降趋势更明显 ($P<0.05$); 与 BUP-H+inhibitor-NC 组相比, BUP-H+miR-212-3p inhibitor 组 HCT-116 细胞划痕愈合率明显升高 ($P<0.05$)。见图 3、表 5。

inhibitor-NC 组比较, $P<0.05$

2.6 各组 HCT-116 细胞中 KLF7、MMP-2、TIMP-1、E-cadherin、N-cadherin 蛋白表达量比较 与 NC 组相比, BUP-L 组和 BUP-H 组 HCT-116 细胞中 KLF7、MMP-2 和 N-cadherin 蛋白表达量明显降低, TIMP-1 和 E-cadherin 蛋白表达量明显升高 ($P<0.05$), 且 BUP-H 组各指标变化趋势更加明显 ($P<0.05$); 与 BUP-H+inhibitor-NC 组相比, BUP-H+miR-212-3p inhibitor 组 HCT-116 细胞中 KLF7、MMP-2 和 N-cadherin 蛋白表达量明显升高, TIMP-1 和 E-cadherin 蛋白表达量明显降低 ($P<0.05$)。见图 4、表 7。

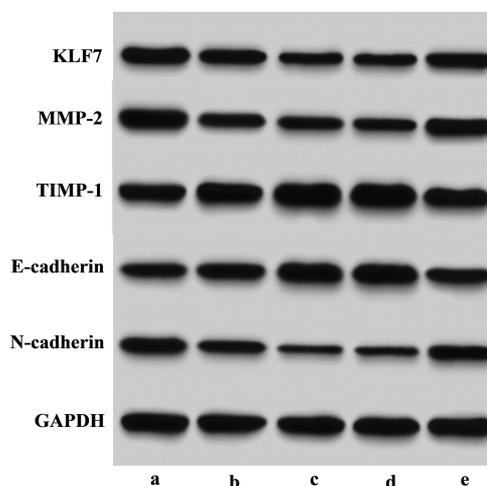


图 4 各组 HCT-116 细胞中 KLF7、MMP-2、TIMP-1、E-cadherin 蛋白表达量 a: NC 组; b: BUP-L 组; c: BUP-H 组; d: BUP-H+inhibitor-NC 组; e: BUP-H+miR-212-3p inhibitor 组。

表 7 各组 HCT-116 细胞中 KLF7、MMP-2、TIMP-1、E-cadherin、N-cadherin 蛋白表达量 ($n=6$)

组别	KLF7	MMP-2	TIMP-1	E-cadherin	N-cadherin
NC 组	0.92±0.09	1.03±0.10	0.87±0.09	0.65±0.07	0.81±0.08
BUP-L 组	0.68±0.07 ^a	0.64±0.06 ^a	1.13±0.12 ^a	0.82±0.08 ^a	0.58±0.06 ^a
BUP-H 组	0.52±0.05 ^{ab}	0.48±0.05 ^{ab}	1.36±0.14 ^{ab}	1.13±0.12 ^{ab}	0.24±0.02 ^{ab}
BUP-H+inhibitor-NC 组	0.56±0.06	0.51±0.05	1.31±0.13	1.09±0.11	0.28±0.03
BUP-H+miR-212-3p inhibitor 组	0.85±0.09 ^c	0.97±0.10 ^c	1.02±0.10 ^c	0.77±0.08 ^c	0.74±0.08 ^c

a 与 NC 组比较, $P<0.05$; b 与 BUP-L 组比较, $P<0.05$; c 与 BUP-H+inhibitor-NC 组比较, $P<0.05$

2.7 miR-212-3p 和 KLF7 靶向关系验证 生物信息学结果预测显示 miR-212-3p 和 KLF7 存在结合位点, 进一步通过双荧光素酶报告基因系统验证, 结果显示, 与 KLF7-WT+miR-NC 组相比, KLF7-WT+miR-212-3p mimics 组 HCT-116 细胞荧光素酶活性明显较低 ($P<0.05$), 而与 KLF7-MUT+miR-NC 组相比, KLF7-MUT+miR-212-3p mimics 组 HCT-116 细胞荧光素酶活性无明显差异 ($P>0.05$)。见图 5、表 8。



图 5 miR-212-3p 和 KLF7 结合序列

表 8 双荧光素酶活性检测 ($n=6$)

组别	KLF7-WT	KLF7-MUT
miR-NC	1.02±0.05	1.03±0.01
miR-212-3p mimics	0.33±0.04 ^a	1.01±0.02
t	26.396	2.191
P	0.001	0.053

3 讨论

CRC 是常见的恶性肿瘤之一, 是一个全球性的健康问题^[12]。近年来, 由于医学技术的发展, CRC 的发病率虽然在上升, 但死亡率已明显降低。大部分 CRC 患者被诊断时已为晚期, 而在诊断为早期疾病的患者中, 也有大部分患者于发病后期发生癌转移^[13]。手术和系统治疗后转移性癌症患者的 5 年生存率为 40%, 而转移性 CRC 患者五年生存率仅为 20% 左右^[14]。传统治疗手段已不能更好的为 CRC 患者带来获益, 靶向和免疫疗法的出现为 CRC 患者带来了希望, 但仍迫切需要进一步揭示 CRC 发病和转移的机制并利用最先进的技术, 以更好地靶向免疫检查点。因此, 关于 CRC 的基础研究是必要的。

越来越多研究指出手术中使用的麻醉剂类型可能会影响疾病的长期结局, 临床研究还报道, 局部麻醉抑制了接受手术切除的癌症患者的复发^[15]。BUP 是一种局部麻醉剂, 目前已有大量研究表明其可以抑制多种癌细胞的增殖。BUP 抑制了胃癌细

胞的活力、转移和糖酵解过程, 同时促进了胃癌细胞的凋亡^[16]; BUP 可通过抑制膀胱癌细胞中的 PI3K/Akt 信号通路诱导细胞凋亡和铁死亡^[17]; 另外, BUP 可通过调节核因子 κ B (NF- κ B) 信号通路抑制 CRC 细胞增殖, 促进细胞凋亡和自噬^[18]。在本研究中, 与 NC 组相比, BUP 处理组中 HCT-116 细胞的迁移和侵袭明显被抑制, MMP-2 表达量明显下降, TIMP-1、E-cadherin 表达量明显上升, 表明 BUP 可通过抑制 CRC 细胞侵袭和迁移, 抑制 CRC 发展。

miRNA 在细胞分化、发育、细胞周期调控和细胞凋亡中具有重要功能, 且具有调节肿瘤抑制因子或癌基因的功能^[19]。miR-212-3p 通过靶向不同的分子来抑制多种癌症的肿瘤进展。例如, miR-212-3p 可通过直接靶向 MAP3K3 抑制卵巢癌细胞增殖、集落形成、侵袭和迁移阻滞高级别浆液性卵巢癌进展^[20]。miR-212-3p 还可以通过靶向胎盘生长因子促进胎儿滋养层细胞的增殖和迁移^[21]。此外, miR-212-3p 在 CRC、前列腺癌、乳腺癌等多种癌症中发挥重要作用^[22]。KLF 蛋白家族对于各种生物过程的正常运作至关重要。KLF 蛋白在 CRC 中经常表现出表达失调, 并具有突出的预后价值^[10]。在已发表的微阵列数据集中观察到 KLF7 mRNA 与 CRC 复发之间存在显著关联^[11]。异常的 KLF7 过表达促进了 CRC 细胞的克隆形成活性, 并预测了 CRC 患者的不良预后^[23]。目前, 对 KLF7 在 CRC 进展中的作用机制报道有限。本研究通过生物信息学网站预测发现, miR-212-3p 与 KLF7 存在结合位点, 因此, 探讨了 miR-212-3p 与 KLF7 在 CRC 中的作用。结果显示, 在 CRC 细胞系中 miR-212-3p 表达量明显下调, KLF7 mRNA 和蛋白表达量明显上调; 而经 BUP 处理后, miR-212-3p 表达量明显上调, KLF7 mRNA 和蛋白表达量明显下调, 表明 BUP 可明显促进 miR-212-3p 的表达, 抑制 KLF7 表达。转录因子和 miRNA 之间的相互作用影响基因调控网络, 从而调控各种癌症的发病和进展^[24]。因此, 推测 BUP 对 CRC 细胞的作用可能与 miR-212-3p/KLF7 轴有关。为证实该推测, 本研究在高浓度 BUP 处理的基

基础上抑制 miR-212-3p, 结果发现, CRC 细胞侵袭和迁移能力较 BUP-H 组明显增强, 且 KLF7 表达明显升高。同时, 双荧光素酶实验也验证了 miR-212-3p 和 KLF7 存在靶向调控关系。由此证明, BUP 可通过调控 miR-212-3p/KLF7 通路抑制 CRC 侵袭和迁移。

综上所述, BUP 调控 miR-212-3p/KLF7 通路抑制 CRC 细胞的侵袭和迁移。本研究为 CRC 基础研究提供了理论依据, 为 CRC 治疗方案的制定提供了思路, 但关于 BUP 对 CRC 的作用还需要进一步测试和研究。

【参考文献】

- [1] Poursheikhani A, Abbaszadegan MR, Nokhandani N, et al. Integration analysis of long non-coding RNA (lncRNA) role in tumorigenesis of colon adenocarcinoma[J]. BMC Med Genomics, 2020, 13(1):108.
- [2] Barresi V. Colorectal cancer: from pathophysiology to novel therapeutic approaches[J]. Biomedicines, 2021, 9(12):1858.
- [3] Rawla P, Sunkara T, Barsouk A. Epidemiology of colorectal cancer: incidence, mortality, survival, and risk factors[J]. Prz Gastroenterol, 2019, 14(2):89-103.
- [4] Ionescu VA, Gheorghe G, Bacalbasa N, et al. Colorectal cancer: from risk factors to oncogenesis[J]. Medicina (Kaunas), 2023, 59(9):1646.
- [5] Qiao X, Wu X, Chen S, et al. Discovery of novel and potent dual-targeting AXL/HDAC2 inhibitors for colorectal cancer treatment via structure-based pharmacophore modelling, virtual screening, and molecular docking, molecular dynamics simulation studies, and biological evaluation[J]. J Enzyme Inhib Med Chem, 2024, 39(1):2295241.
- [6] Chitty L, Ridley B, Johnson B, et al. Liposomal compared to 0.25% bupivacaine in patients undergoing hemorrhoidectomy: A pre and post-implementation quality improvement evaluation[J]. J Clin Anesth, 2022, 80:110868.
- [7] 张振翼, 袁增江, 张欣, 等. 布比卡因对肝癌 HepG2 细胞增殖、侵袭和凋亡及 miR-191/KLF6 信号轴的影响[J]. 中西医结合肝病杂志, 2023, 33(2):126-129.
- [8] Vishnoi A, Rani S. miRNA biogenesis and regulation of diseases: an updated overview[J]. Methods Mol Biol, 2023, 2595:1-12.
- [9] 曹博威, 贾腾飞, 宋钉钉, 等. circMAN1A2 调节 miR-212-3p/DDIT4 轴对胃癌细胞增殖、侵袭和迁移的影响[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2024, 33(7):868-874.
- [10] Huang Z, He H, Qiu F, et al. Expression and prognosis value of the klf family members in colorectal cancer[J]. J Oncol, 2022, 2022:6571272.
- [11] Zhang J, Li Z, Han J, et al. KLF7 enhances the invasion and migration of colorectal cancer cells via the miR-139-5p/TPD52 axis[J]. Cancer Biol Ther, 2024, 25(1):2385172.
- [12] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3):209-249.
- [13] Zhou H, Liu Z, Wang Y, et al. Colorectal liver metastasis: molecular mechanism and interventional therapy[J]. Signal Transduct Target Ther, 2022, 7(1):70.
- [14] Fan A, Wang B, Wang X, et al. Immunotherapy in colorectal cancer: current achievements and future perspective[J]. Int J Biol Sci, 2021, 17(14):3837-3849.
- [15] Santander Ballestín S, Lanuza Bardaji A, Marco Continente C, et al. Antitumor anesthetic strategy in the perioperative period of the oncological patient: a review[J]. Front Med (Lausanne), 2022, 9:799355.
- [16] Ju C, Zhou J, Miao H, et al. Bupivacaine suppresses the progression of gastric cancer through regulating circ_0000376/miR-145-5p axis[J]. BMC Anesthesiol, 2020, 20(1):275.
- [17] Hao J, Zhang W, Huang Z. Bupivacaine modulates the apoptosis and ferroptosis in bladder cancer via phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/AKT pathway[J]. Bioengineered, 2022, 13(3):6794-6806.
- [18] Liu B, Yan X, Hou Z, et al. Impact of Bupivacaine on malignant proliferation, apoptosis and autophagy of human colorectal cancer SW480 cells through regulating NF-κB signaling path[J]. Bioengineered, 2021, 12(1):2723-2733.
- [19] Wang H. MicroRNAs and apoptosis in colorectal cancer[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(15):5353.
- [20] Zhang L, Zhang Y, Wang S, et al. MiR-212-3p suppresses high-grade serous ovarian cancer progression by directly targeting MAP3K3[J]. Am J Transl Res, 2020, 12(3):875-888.
- [21] Yu L, Sun Y, Chu Z. MiR-212-3p promotes proliferation and migration of trophoblast in fetal growth restriction by targeting placental growth factor[J]. Bioengineered, 2021, 12(1):5655-5663.
- [22] Perumal N, Kanchan RK, Doss D, et al. MiR-212-3p functions as a tumor suppressor gene in group 3 medulloblastoma via targeting nuclear factor I/B (NFIB)[J]. Acta Neuropathol Commun, 2021, 9(1):195.
- [23] Sui Y, Jiang H, Kellogg CM, et al. Promotion of colorectal cancer by transcription factor BHLHE40 involves upregulation of ADAM19 and KLF7[J]. Front Oncol, 2023, 13:1122238.
- [24] Chen F, Li J, Zheng T, et al. KLF7 Alleviates atherosclerotic lesions and inhibits glucose metabolic reprogramming in macrophages by regulating HDAC4/miR-148b-3p/NCOR1[J]. Gerontology, 2022, 68(11):1291-1310.

(收稿日期:2025-02-04;修回日期:2025-06-10)

(本文编辑:侯晓林)