

· 临床研究 ·

利多卡因对宫颈癌根治术患者应激激素及 NK 细胞杀伤力的影响

张素玲 刘婷婷 靳茜茜 温菲 类维富 王焕亮

【摘要】 目的 观察围术期静脉输注利多卡因对宫颈癌根治术患者应激激素和自然杀伤(NK)细胞杀伤力的影响,探讨利多卡因围术期免疫保护作用。**方法** 择期拟行宫颈癌根治术患者 35 例,年龄 35~65 岁,ASA I 或 II 级,采用随机数字表法分为利多卡因组(L 组)和对照组(C 组)。麻醉诱导前 15 min, L 组患者静注利多卡因 1.5 mg/kg,随后利多卡因 1.5 mg·kg⁻¹·h⁻¹持续泵注至患者出室;C 组患者给予等量生理盐水。分别于术前 24 h、术毕即刻、术后 48 h 采集患者外周静脉血,ELISA 法测定血浆 PGE₂、EPI、NE 浓度。免疫磁珠法分离 NK 细胞,乳酸脱氢酶释放法检测 NK 细胞杀伤力,Western blot 法检测 NK 细胞磷酸化蛋白激酶 A(p-PKA)和蛋白激酶 A(PKA)表达。**结果** 术前 24 h 两组患者血浆 PGE₂、EP₁ 和 NE 浓度差异无统计学意义。术后 48 h, L 组血浆 PGE₂ 浓度[(562.5±98.2) pg/ml vs (663.2±119.0) pg/ml]、EPI 浓度[(24.9±4.8) pg/ml vs (29.7±3.5) pg/ml]、NE 浓度[(408.3±47.2) pg/ml vs (499.6±45.6) pg/ml]明显低于 C 组($P<0.05$)。术后 48 h, L 组 NK 细胞杀伤力明显高于 C 组[(44.1±5.0)% vs (37.1±5.5)%], $P<0.05$ 。术毕即刻, L 组 p-PKA/PKA 明显低于 C 组(0.060±0.008 vs 0.099±0.011)($P<0.05$)。**结论** 围术期静脉输注利多卡因能降低宫颈癌根治术患者血浆 PGE₂ 及儿茶酚胺水平;保护 NK 细胞对肿瘤细胞的杀伤能力,其机制可能是通过抑制 cAMP-PKA 信号通路。

【关键词】 利多卡因;宫颈癌根治术;应激激素;NK 细胞

Effect of lidocaine infusion on the stress hormone level and the NK cell cytotoxicity in patients undergoing radical hysterectomy ZHANG Suling, LIU Tingting, JIN Xixi, WEN Fei, LEI Weifu, WANG Huanliang. Department of Anesthesiology, Affiliated Hospital of Shandong Medical University of TCM, Jinan 250014, China

Corresponding author: WANG Huanliang, Email: timw4788@163.com

【Abstract】 Objective To discuss the effects of lidocaine infusion on perioperative immune function by evaluating the levels of stress hormone and natural killer (NK) cell cytotoxicity. **Methods** Thirty-five patients of American Society of Anesthesiologists physical status I or II, aged 35-65 yr, undergoing elective radical hysterectomy, were randomized into lidocaine group (group L) and control group (group C). Fifteen minutes before anesthesia induction, a bolus of 1.5 mg/kg of lidocaine was administered iv. to each patient in group L and followed by a continuous infusion at 1.5 mg·kg⁻¹·h⁻¹ lasting to the end of surgery. Meanwhile, the patients in group C received the same volume of saline. Venous blood samples were collected individually 24 h before the operation, the end of the operation and 48 h after the operation. Levels of prostaglandin, epinephrine and norepinephrine were assayed by ELISA kits. NK Cells were obtained by CD56 antibody magnetic isolation. The cytotoxicity of NK cell was detected by LDH releasing assay, and phosphor-protein kinase A (p-PKA) and protein kinase A (PKA) were detected by Western blotting. **Results** There were no significantly different in the plasm levels of PGE₂, EP₁ and NE. The plasm levels of prostaglandin (562.5±98.2 vs. 663.2±119.0) pg/ml, epinephrine (24.9±4.8 vs. 29.7±3.5) pg/ml and norepinephrine (408.3±47.2 vs. 499.6±45.6) pg/ml in patients of group L were lower than those in group C ($P<0.05$) 48 h after the surgery. The cytotoxicity of NK cell was higher in group L than that in group C (44.1±5.0 vs. 37.1±5.5)% ($P<0.05$) 48 h after the surgery. The ratio of p-PKA/PKA was lower in group L than that in group C (0.060±0.008 vs. 0.099±0.011) ($P<0.05$) at the end of the surger-

基金项目:国家自然科学基金(81570044);山东省自然科学基金(ZR2015HM038);深圳市未来产业专项资金(JCYJ20150402105524051)

作者单位:250014 济南市, 山东中医药大学附属医院麻醉科(张素玲);山东大学齐鲁医院麻醉科(刘婷婷、靳茜茜、温菲、类维富);山东大学深圳研究院(王焕亮)

通信作者:王焕亮,Email:timw4788@163.com

y. **Conclusion** Perioperative intravenous lidocaine infusion can reduce the level of plasma catecholamine and PGE_2 , and protect the cytotoxicity of NK cell, possibly via inhibiting of cAMP-PKA signaling pathway.

【Key words】 Lidocaine; Radical hysterectomy; stress hormone; NK cell

恶性肿瘤严重威胁人类健康,而转移是其重要的生物学特性,也是导致患者症状加重甚至死亡的常见原因。研究表明,机体细胞免疫功能尤其是自然杀伤(natural killer, NK)细胞的杀伤力在清除转移的肿瘤细胞时发挥着重要作用^[1]。利多卡因是临床常用的局部麻醉药和抗心律失常药。近年来的研究发现利多卡因还具有稳定细胞膜、调节细胞因子、抑制过度炎症反应的作用。我们前期的研究发现利多卡因有一定的免疫保护作用^[2,3],但其对NK细胞杀伤力的影响尚不明确。本研究观察围术期静脉输注利多卡因对宫颈癌根治术患者血浆应激激素及NK细胞杀伤力的影响,探讨利多卡因围术期免疫保护作用及其机制。

资料与方法

一般资料 本研究方案获医院医学伦理委员会批准(批号 2015026),并与患者签署知情同意书。选择 2015 年 5~12 月临床确诊为宫颈癌(FIGO 分期为 I B~II A)拟行择期宫颈癌根治术(经腹广泛子宫切除+盆腔淋巴结清扫)的患者,年龄 35~65 岁,BMI 20~29 kg/m²,ASA I 或 II 级。排除标准:术前接受放化疗,内分泌、免疫系统疾病史,严重器官功能障碍,利多卡因过敏史,严重窦性心动过缓,心脏传导系统功能异常,精神系统疾病,围术期使用激素、免疫抑制药物、血管活性药物、血液制品的患者。随机数字表法将患者分为两组:对照组(C组)和利多卡因组(L组)。

麻醉方法 患者入室后常规监测 ECG、HR、SBP、DBP、SpO₂,开放上肢静脉通路。L组患者于麻醉诱导前 15 min 缓慢静注利多卡因 1.5 mg/kg,时间 5 min;随后用微量注射泵持续泵入利多卡因 1.5 mg·kg⁻¹·h⁻¹至患者入室。C组给予等量生理盐水。全麻诱导:咪达唑仑 0.05~

0.1 mg/kg、依托咪酯 0.2~0.3 mg/kg、芬太尼 3~4 μg/kg、罗库溴铵 0.6 mg/kg,置入喉罩,机械通气。术中持续吸入七氟醚,间断推注芬太尼和罗库溴铵,维持 BIS 在 40~60,通过调节麻醉深度、体位和液体管理控制 HR 和 MAP 变化幅度在基础水平的 20%以内,若必需使用血管活性药物则排除出研究。术毕患者清醒,肌力恢复后拔除喉罩。术后使用芬太尼 0.3~0.5 μg·kg⁻¹·h⁻¹进行 48 h 持续静脉镇痛。

观察指标 分别于术前 24 h、术毕即刻、术后 48 h 采集患者外周静脉血 10 ml。离心后留取血浆。ELISA 法测定血浆 PGE₂、EPI、NE 浓度,免疫磁珠法分离 NK 细胞,乳酸脱氢酶释放法检测 NK 细胞对 K562 靶细胞杀伤力。提取 NK 细胞总蛋白,Western blot 法检测 p-PKA 和 PKA 表达,并计算 p-PKA/PKA 比值。

统计分析 采用 SPSS 19.0 统计软件进行分析,正态分布的计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用成组 *t* 检验,不同时点比较采用重复测量设计的方差分析;计数资料比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结果

C组有 2 例患者因术中输注血液制品退出本研究,L组有 2 例患者因术中输注血液制品,1 例因术中使用血管活性药物退出本研究。最终 30 例患者完成本研究,每组 15 例。两组患者年龄、BMI、ASA 分级、手术时间、术中呼气末七氟醚浓度、术中及术后镇痛用芬太尼总量差异无统计学意义(表 1)。

术前 24 h 两组患者血浆 PGE₂、EPI 和 NE 浓度差异无统计学意义。术后 48 h L 组患者血浆 PGE₂、EPI 和 NE 浓度均低于 C 组($P < 0.05$)(表 2)。

表 1 两组患者一般情况的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	年龄 (岁)	BMI (kg/m ²)	ASA I / II 级 (例)	手术时间 (min)	呼气末七氟醚浓度 (%)	芬太尼总量 (μg)
C 组	15	52.3±8.6	24.9±2.7	10/5	151.3±47.3	1.82±0.25	1 391±82
L 组	15	53.3±7.5	24.2±1.5	9/6	145.7±42.5	1.76±0.10	1 371±60

表 2 两组患者不同时点血浆 PGE₂、EPI、NE 浓度的比较 (pg/ml, $\bar{x} \pm s$)

指标	组别	例数	术前 24 h	术毕即刻	术后 48 h
PGE ₂	C 组	15	976.5 ± 126.2	465.4 ± 89.5	663.2 ± 119.0
	L 组	15	891.2 ± 127.3	427.6 ± 70.3	562.5 ± 98.2 ^a
EPI	C 组	15	21.9 ± 2.6	33.4 ± 5.7	29.7 ± 3.5
	L 组	15	22.1 ± 3.0	34.2 ± 6.4	24.9 ± 4.8 ^a
NE	C 组	15	372.9 ± 30.6	358.6 ± 65.1	499.6 ± 45.6
	L 组	15	363.3 ± 26.3	331.1 ± 54.2	408.3 ± 47.2 ^a

注:与 C 组比较, ^a $P < 0.05$

与术前 24 h 比较,术毕即刻两组患者 NK 细胞杀伤力均明显降低 ($P < 0.05$)。术前 24 h 两组患者 NK 细胞杀伤力差异无统计学意义。术后 48 h L 组患者 NK 细胞杀伤力明显高于 C 组 ($P < 0.05$) (图 1)。

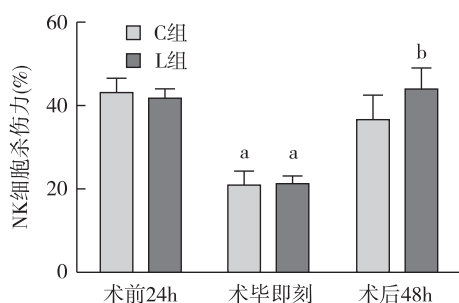
注:与术前 24 h 比较, ^a $P < 0.05$;与 C 组比较, ^b $P < 0.05$

图 1 两组患者不同时点 NK 细胞杀伤力的比较

与术前 24 h 比较,术毕即刻、术后 48 h 两组患者 NK 细胞 p-PKA/PKA 均明显升高 ($P < 0.05$);术毕即刻 L 组患者 NK 细胞 p-PKA/PKA 明显低于 C 组 ($P < 0.05$) (图 2)。

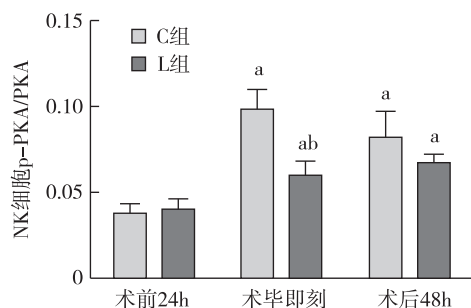
注:与术前 24 h 比较, ^a $P < 0.05$;与 C 组比较, ^b $P < 0.05$

图 2 两组患者不同时点 NK 细胞 p-PKA/PKA 的比较

讨 论

肿瘤转移是一个连续动态过程,它不仅与肿瘤本身的特征有关,还与宿主的免疫状态有关^[4]。研究表明,围术期低下的细胞免疫水平是肿瘤细胞逃避免疫监视和转移的主要诱因。NK 细胞作为杀伤肿瘤的主要免疫细胞,在防止肿瘤转移方面的作用非常明显^[5]。

手术应激是围术期影响 NK 细胞杀伤力的主要因素^[6]。PGE₂ 和儿茶酚胺都是体内重要的应激激素。PGE₂ 可促进癌细胞生长、粘附、侵袭、转移和血管生成,与肿瘤的发生、发展和转移密切相关^[7]。现已发现很多肿瘤能通过肿瘤组织自身分泌的 PGE₂,抑制宿主的细胞免疫功能来逃脱免疫系统的杀灭。此外,围术期免疫功能抑制还与交感神经系统激活和儿茶酚胺过度释放有关^[8]。本研究中患者术后的血浆 PGE₂ 浓度均低于术前 24 h,这可能是切除原发肿瘤后,体内癌源性 PGE₂ 释放减少所致^[9]。两组患者术后 48 h 血浆 PGE₂、NE 和 EPI 浓度的比较,说明利多卡因可以减少儿茶酚胺和 PGE₂ 的释放。

PGE₂ 通过细胞膜表面 4 种 EP 受体 (EP₁, EP₂, EP₃ 和 EP₄) 发挥生物学效应,其中 EP₄ 受体与人类许多癌症类型的癌细胞增殖和侵袭转移密切相关^[10, 11]。EP₄ 受体与 Gs 蛋白结合后能激活腺苷酸环化酶并提高细胞内 cAMP 水平^[12]。儿茶酚胺主要通过 β 肾上腺素能受体来调节机体免疫功能, β_1 和 β_2 受体的兴奋同样引起第二信使 cAMP 的升高,进而调节一系列细胞过程。PKA 是 cAMP 依赖的蛋白激酶,非活性 PKA 全酶是一种

蛋白四聚体,由两个调节亚基(R)和两个催化亚基(C)组成。cAMP-PKA 信号通路是细胞内经典信号转导途径,由 G 蛋白偶联受体介导^[13],除了一些离子通道是由 cAMP 直接调控外,cAMP 的其他已知效应都是通过激活 PKA 介导的。细胞内 cAMP 水平升高,可与 PKA 结合,通过变构激活作用激活 PKA,PKA 再通过磷酸化修饰作用激活反式作用因子,进而激活特定基因的表达,发挥生物学效应^[13,14]。研究表明,PKA 活性是由 C 亚基 197 位点 (Thr197) 磷酸化来调节的,可用 p-PKA/PKA 比值代表 PKA 活性^[15]。本研究结果显示,手术对 NK 细胞杀伤力有抑制作用,而且这一抑制作用可能是过度释放的儿茶酚胺和 PGE₂ 通过作用于 NK 细胞膜表面相应受体并进一步激活 cAMP-PKA 通路实现的,而围术期利多卡因输注能保护 NK 细胞对肿瘤细胞的杀伤力。由于本研究从患者外周静脉血分离的 NK 细胞数量有限,未能进一步测定 NK 细胞中 cAMP 含量和 cAMP-PKA 通路下游靶蛋白 CREB(cAMP-response element binding protein)表达,利多卡因保护 NK 细胞杀伤力的具体机制还需要进一步研究。此外,研究结果还显示,利多卡因对儿茶酚胺和 PGE₂ 释放的抑制作用在术后 48 h 比术毕即刻更明显,这种延迟效应可能与腹部手术相关的浆膜表面的广泛损伤导致的炎症反应有关。这一结果还显示,利多卡因在停止输注后仍可继续发挥其抗炎和调节免疫的作用。

综上所述,围术期静脉输注利多卡因能降低宫颈癌根治术患者血浆儿茶酚胺及 PGE₂ 水平,保护 NK 细胞对肿瘤细胞的杀伤能力,其机制可能是通过抑制 cAMP-PKA 信号通路。

参 考 文 献

- [1] Yang Q, Goding SR, Hokland ME, et al. Antitumor activity of NK cells. *Immunol Res*, 2006, 36(1-3): 13-25.
- [2] Wang HL, Yan HD, Liu YY, et al. Intraoperative intravenous lidocaine exerts a protective effect on cell-mediated immunity in patients undergoing radical hysterectomy. *Mol Med Rep*, 2015, 12(5): 7039-7044.
- [3] Wang HL, Liu YY, Yan HD, et al. Intraoperative systemic lidocaine inhibits the expression of HMGB1 in patients undergoing radical hysterectomy. *Int J Clin Exp Med*, 2014, 7(10): 3398-3403.
- [4] Steeg PS. Tumor metastasis: mechanistic insights and clinical challenges. *Nat Med*, 2006, 12(8): 895-904.
- [5] Chan CJ, Andrews DM, Smyth MJ. Can NK cells be a therapeutic target in human cancer? *Eur J Immunol*, 2008, 38(11): 2964-2968.
- [6] Kavanagh T, Buggy DJ. Can anaesthetic technique effect postoperative outcome? *Curr Opin Anaesthesiol*, 2012, 25(2): 185-198.
- [7] Rizzo MT. Cyclooxygenase-2 in oncogenesis. *Clin Chim Acta*, 2011, 412(9-10): 671-687.
- [8] Salo M. Effects of anaesthesia and surgery on the immune response. *Acta Anaesthesiol Scand*, 1992, 36(3): 201-220.
- [9] 邹余粮, 张鹏花, 苟文丽, 等. CIN 和宫颈癌患者手术前后血清及病变组织中 PGE₂ 水平变化及意义. *第四军医大学学报*, 2009, 30(19): 2008-2010.
- [10] Wu J, Zhang Y, Frilot N, et al. Prostaglandin E2 regulates renal cell carcinoma invasion through the EP4 receptor-Rap GTPase signal transduction pathway. *J Biol Chem*, 2011, 286(39): 33954-33962.
- [11] Chandramouli A, Mercado-Pimentel ME, Hutchinson A, et al. The induction of S100p expression by the Prostaglandin E₂ (PGE₂)/EP4 receptor signaling pathway in colon cancer cells. *Cancer Biol Ther*, 2010, 10(10): 1056-1066.
- [12] Sugimoto Y, Narumiya S. Prostaglandin E receptors. *J Biol Chem*, 2007, 282(16): 11613-11617.
- [13] 戴长宗, 王德明, 肖继. cAMP-PKA 信号转导通路在利多卡因上调大鼠肺泡 II 型上皮细胞表面活性物质相关蛋白-A 表达中的作用. *中华麻醉学杂志*, 2014, 34(5): 620-623.
- [14] 马冬梅, 宫丽荣, 余剑波, 等. 环腺苷酸-蛋白激酶 A 在大鼠内毒素急性肺损伤时血红素加氧酶-1 表达上调中的作用. *中华麻醉学杂志*, 2012, 32(10): 1267-1270.
- [15] Nagashima R, Kawakami F, Takahashi S, et al. Allo-antigen stimulated CD8⁺ T-cells suppress NF- κ B and Ets-1 DNA binding activity, and inhibit phosphorylated NF- κ B p65 nuclear localization in CD4⁺ T-cells. *Viral Immunol*, 2014, 27(6): 305-315.

(收稿日期:2017-03-11)