

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2024.06.002

❖ 基础研究 ❖

# 基于溶酶体钙离子通道 TRPML1 探讨罗哌卡因在诱导心肌细胞自噬性凋亡中的作用机制

黄光强, 熊槐, 欧阳运琼

(绵阳市安州区人民医院麻醉科, 四川 绵阳 622651)

**【摘要】目的:** 基于溶酶体钙离子通道瞬时受体电位粘脂素亚家族 1 (TRPML1) 探讨罗哌卡因在诱导心肌细胞自噬性凋亡中的作用机制。**方法:** 将 H9c2 心肌细胞分为对照组、ROP 诱导组、罗哌卡因 + TRPML1 抑制剂 (1.25  $\mu\text{mol/L}$  ML-SII)、罗哌卡因 + 活性氧 (ROS) 清除剂 (100  $\mu\text{mol/L}$  NAC) 组。CCK-8 检测各组细胞增殖活性; Annexin V-APC/PI 流式细胞术检测细胞凋亡; 流式细胞术检测 ROS 含量和钙离子水平; 免疫荧光双染 LC3 与 LAMP-1, 观察自噬小体与溶酶体膜蛋白的共定位情况; Western blot 检测凋亡相关 (Caspase-3, cleaved Caspase-3)、自噬相关 (LC3-II/I, P62) 蛋白表达情况。**结果:** 与对照组相比, 罗哌卡因诱导组细胞增殖活性降低, 细胞内 ROS 和钙离子含量升高 ( $P < 0.05$ ); 当 TRPML1 表达被抑制时, 能够降低细胞内 ROS 和  $\text{Ca}^{2+}$  水平, 同时减少自噬小体的蓄积, 改善细胞凋亡。**结论:** 局麻药罗哌卡因通过激活 ROS/TRPML1 途径致自噬流受阻, 从而引起 ROS、 $\text{Ca}^{2+}$  和自噬小体的过度累积, 导致心肌细胞出现凋亡。

**【关键词】** 罗哌卡因; TRPML1; 自噬; 凋亡

**【中图分类号】** R915 **【文献标志码】** A

## Investigate the mechanism of local anesthetic ropivacaine in inducing autophagic apoptosis of cardiomyocytes based on lysosomal calcium channel TRPML1

HUANG Guang-qiang, XIONG Huai, OUYANG Yun-qiong

(Department of Anesthesiology, Anzhou District People's Hospital of Mianyang City, Mianyang 622651, Sichuan, China)

**【Abstract】Objective:** To investigate the mechanism of local anesthetic ropivacaine (ROP) in inducing autophagic apoptosis of cardiomyocytes based on lysosomal calcium channel TRPML1. **Methods:** H9c2 cells were divided into a control group, a ropivacaine-induced group, a ropivacaine-treated group with TRPML1 inhibitor (1.25  $\mu\text{mol/L}$  ML-SII), and a ropivacaine-treated group with reactive oxygen species (ROS) scavenger (100  $\mu\text{mol/L}$  NAC). CCK8 was used to detect the cell proliferation activity. Annexin V-APC/PI flow cytometry was used to detect cell apoptosis. Flow cytometry was used to detect ROS content and calcium ion level. Immunofluorescence double staining of LC3 and LAMP-1 was used to observe the co-localization of autophagosomes and lysosomal membrane proteins. The protein expressions of apoptosis-related (Caspase-3, cleaved Caspase-3) and autophagy markers (LC3-II/I, P62) were detected by Western blot. **Results:** Compared with the control group, the ropivacaine-induced group reduced the proliferation activity of the cells, increased the content of intracellular ROS and calcium ions ( $P < 0.05$ ). When TRPML1 expression was inhibited, it could reduce the intracellular ROS and  $\text{Ca}^{2+}$  levels, and reduce the accumulation of autophagosomes, thereby improving cell apoptosis. **Conclusion:** Ropivacaine causes the blockage of autophagic flow by activating the ROS/TRPML1 pathway, which leads to the excessive accumulation of ROS,  $\text{Ca}^{2+}$  and autophagosomes, and then leads to the apoptosis of cardiomyocytes.

**【Key words】** Ropivacaine; TRPML1; Autophagy; Apoptosis

罗哌卡因是临床应用较为广泛的酰胺类局麻药, 其心脏毒性与细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  超载驱动超氧化物增加和细胞坏死有关<sup>[1]</sup>, 但细胞内钙离子通路十分复杂, 其与钙离子信号介导的细胞损伤机制目前尚未完全阐明。瞬时受体电位粘脂素亚家族 1

(TRPML1) 是一个主要定位于溶酶体膜上的非选择性阳离子通道, 在细胞稳态、溶酶体功能和自噬等关键生理过程中发挥重要作用。目前已有多项研究<sup>[2-3]</sup>证实, TRPML1 是一种定位于溶酶体膜上的活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 传感器, 协调

自噬并调节细胞损伤程度。此外,TRPML1 与自噬的调节也密切相关,但在自噬过程中的作用目前存在不同的看法<sup>[4-5]</sup>,一些研究认为 TRPML1 的激活通过调节  $Ca^{2+}$  的释放促进自噬;也有研究认为 TRPML1 的活化能够破坏自噬体与溶酶体融合从而抑制自噬的降解。因此,关于 TRPML1 在 ROP 诱导的心肌细胞损伤中所扮演的角色及其自噬关系需进行深入研究。本研究旨在探讨 TRPML1 在罗哌卡因诱导的心肌细胞损伤中的作用及 TRPML1 在介导心肌细胞自噬通量与凋亡之间可能的相互作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

大鼠心肌细胞(H9c2)购自 Procell 公司(CL-0089)。H9c2 细胞专用培养基(CM-0089;Procell)、胎牛血清(FBS)、胰酶(+EDTA)、青霉素链霉素(上海源培)、胰酶(-EDTA)(Bomei);CCK-8(Bio-sharp)、盐酸罗哌卡因注射液(瑞阳制药)、活性氧检测试剂盒(碧云天)、Annexin V-APC 双染细胞凋亡检测试剂盒(凯基)、二甲基亚砜(DMSO)、Fluo-4 AM 钙离子荧光探针(Beyotime)、Acetylcysteine N-乙酰-L-半胱氨酸 ROS 清除剂(Solarbio)、ML-SA5 TRPML1 抑制剂(MCE)、DAPI 染色试剂、牛血清(BSA)、一抗(Ic3)(兔)(proteintech)、一抗(LAMP1)(小鼠)(博奥森)、二抗(FITC 标记山羊抗兔)、二抗(CY3 标记山羊抗小鼠)(Servicebio)、“Torchlight”Hypersensitive ECL Western HRP Substrate(zen-bio)、山羊抗兔 IgG(H+L)HRP(affbio-tech)、 $\beta$ -actin、Caspase-3、cleaved-Caspase-3、LC3B、MCOLN1、P62(abclonal)。

### 1.2 方法

1.2.1 细胞培养与分组 H9c2 心肌细胞培养于 10% FBS 的细胞专用培养基中,置于 37 °C、5%  $CO_2$  及饱和湿度的培养箱中培养。当 H9c2 心肌细胞长到 85%~90% 密度时,用胰蛋白酶消化进行传代培养。待细胞贴壁后,设置组别:对照组、罗哌卡因诱导组、罗哌卡因 + TRPML1 抑制剂(ML-S11)组、罗哌卡因 + ROS 清除剂(100  $\mu$ mol/L NAC)组,每组均设置 3 个重复。对照组:不做任何处理,ROP 诱导组用 100  $\mu$ mol/L ROP 诱导细胞 24 h,ROP + TRPML1 抑制剂组:1.25  $\mu$ mol/L ML-S11 预处理 6 h 后,加入 100  $\mu$ mol/L ROP 诱导 24 h。ROP + ROS 清除剂:100  $\mu$ mol/L NAC。加入相应浓度的药物后将细胞放入培养箱中恒温培养。

1.2.2 CCK-8 检测细胞活力 取对数生长期的 H9c2 细胞,PBS 洗涤,胰蛋白酶消化后收集,调节细

胞密度  $4 \times 10^4$ /mL,100  $\mu$ L/孔接种于 96 孔板中(边缘孔用无菌 PBS 填充),37 °C、5%  $CO_2$  恒温培养。按照实验方案分组给药,待药物作用 24 h 后,吸弃上清。无血清培养基 1:10 稀释 CCK-8 试剂,加入已稀释 CCK-8 工作液 110  $\mu$ L/孔;并轻轻晃动培养板数次,37 °C、5%  $CO_2$  恒温继续培养 2 h。使用酶标仪在 450 nm 波长处测定各孔的吸光度值,计算心肌细胞的抑制率。抑制率(%) =  $(OD_{\text{对照组}} - OD_{\text{实验组}}) / (OD_{\text{对照组}} - OD_{\text{空白组}}) \times 100\%$ 。

1.2.3 流式细胞术测定细胞凋亡率 调节 H9c2 细胞密度为  $3 \times 10^5$  个/孔,2 mL/孔接种于 6 孔板中,待细胞长至合适密度后,分组行实验干预处理。待药物作用 24 h 后,离心收集细胞沉淀。用 500  $\mu$ L 的 Binding Buffer 重悬细胞后,加入 5  $\mu$ L Annexin V 轻轻吹匀,再加入 5  $\mu$ L 的 PI;室温避光反应 15 min,待反应结束,将细胞上流式细胞仪进行凋亡检测。

1.2.4 细胞 ROS 测定 调节 H9c2 细胞密度为  $3 \times 10^5$  个/孔,2 mL/孔接种于 6 孔板中,取对数增殖期的细胞进行干预,处理方式同上,培养 24 h 后,使用荧光探针 2',7'-二氯二氢荧光素二乙酸酯(2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate,DCFH-DA) 标记细胞中的活性氧,保证探针和细胞充分接触。同时阳性对照组在装载好探针后,于阳性对照中加入 Rosup 稀释液,待反应结束,将细胞上流式细胞仪进行检测。

1.2.5 细胞内钙离子含量测定 调节 H9c2 细胞密度为  $3 \times 10^5$  个/孔,2 mL/孔接种于 6 孔板中,取对数增殖期的细胞进行干预,处理方式同上,培养 24 h 后,离心收集细胞沉淀。加入 Fluo 4-AM solution 稀释液重悬细胞,待反应结束,将细胞上流式细胞仪进行细胞内钙离子含量测定。

1.2.6 免疫荧光染色 将细胞爬片放入染色缸,滴加破膜液覆盖细胞,室温孵育后利用牛血清封闭液进行封闭,随后滴加两种一抗(LC3、LAMP1)的混合试剂(两种不同来源的一抗混合配制),孵育过夜后滴加对应的两个二抗。加入 DAPI 后,使用抗荧光衰减封片剂封片。于荧光显微镜下进行观察,共采集两个视野。其中 DAPI 定位细胞核为蓝色,LC3 显示的阳性表达为绿色,LAMP1 显示的阳性表达为红色。使用 Image-J 中的共定位工具对绿色和红色荧光共定位进行定量分析。

1.2.7 Western blot 试验 经不同的处理后,收集 H9c2 细胞,加入含蛋白酶抑制剂的蛋白裂解液,冰上裂解细胞,提取细胞总蛋白,BCA 法定量检测样品蛋白含量。然后在蛋白样品中加入 SDS-PAGE 凝胶电泳,转膜完毕后,用含 5% 脱脂牛奶的 TBST 溶

液室温封闭 2 h, 加入一抗 Caspase-3、cleaved-Caspase-3、LC3B、MCOLN1、P62 (浓度 1:1 000);  $\beta$ -actin (浓度 1:50 000), 4 °C 孵育过夜, TBST 洗涤 3 次, 加入 (HRP) 标记二抗 (稀释浓度 1:5 000) 室温孵育 2 h, TBST 洗膜 3 次。加入 ECL 进行显色, 用 Tanon 荧光图像分析系统软件 V2.0 对条带进行曝光, 结果以 Gel-Pro analyzer4 软件扫描曝光结果, 并以目的蛋白积分光密度 (IOD) 表示。

### 1.3 观察指标

(1) 各组 H9c2 细胞增殖活性; (2) 各组 H9c2 细胞凋亡水平; (3) 各组 H9c2 细胞内 ROS 水平; (4) 各组 H9c2 细胞内钙离子含量; (5) 各处理组免疫荧光染色情况; (6) 各处理组中蛋白表达情况。

### 1.4 统计学分析

采用 GraphPad Prism 与 SPSS22.0 软件对数据进行处理与分析。计量资料符合正态分布且方差齐性, 以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 组间比较行独立样本 *t* 检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组 H9c2 细胞存活率比较

CCK-8 实验结果显示, 与对照组相比, 罗哌卡因诱导组细胞增殖活性降低 ( $P < 0.05$ ); 与罗哌卡因诱导组相比, 罗哌卡因 + TRPML1 抑制剂组和罗哌

卡因 + ROS 清除剂组细胞增殖活性提高。见表 1。

表 1 各组 H9c2 细胞存活率比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	OD 值	抑制率 (%)
对照组 ( $n = 4$ )	0.79 ± 0.01	
罗哌卡因诱导组 ( $n = 4$ )	0.54 ± 0.03 *	31.41
罗哌卡因 + TRPML1 抑制剂组 ( $n = 4$ )	0.70 ± 0.01 #	10.70
罗哌卡因 + ROS 清除剂组 ( $n = 4$ )	0.64 ± 0.02 #	18.25

\*  $P < 0.05$ , 与对照组相比; #  $P < 0.05$ , 与罗哌卡因诱导组相比。

### 2.2 各组 H9c2 细胞凋亡情况比较

流式细胞仪检测结果显示, 对照组、罗哌卡因诱导组、罗哌卡因 + TRPML1 抑制剂组、罗哌卡因 + ROS 清除剂组的细胞凋亡率 (%) 分别为: (1.66 ± 0.18) (16.72 ± 1.27) (6.73 ± 0.37) (10.69 ± 0.14)。其中与对照组相比, 罗哌卡因能促进细胞凋亡 ( $P < 0.05$ ); 而与罗哌卡因诱导组相比, 当加入 TRPML1 抑制剂组和 ROS 清除剂后的细胞凋亡水平有所下降 ( $P < 0.05$ )。见图 1。

### 2.3 各组 H9c2 细胞内 ROS 变化情况比较

与对照组相比, 罗哌卡因能明显增加细胞内 ROS 的产生 ( $P < 0.05$ ); 而与罗哌卡因诱导组相比, 当加入 TRPML1 抑制剂组和 ROS 清除剂后能逆转细胞内 ROS 水平 ( $P < 0.05$ )。见图 2。

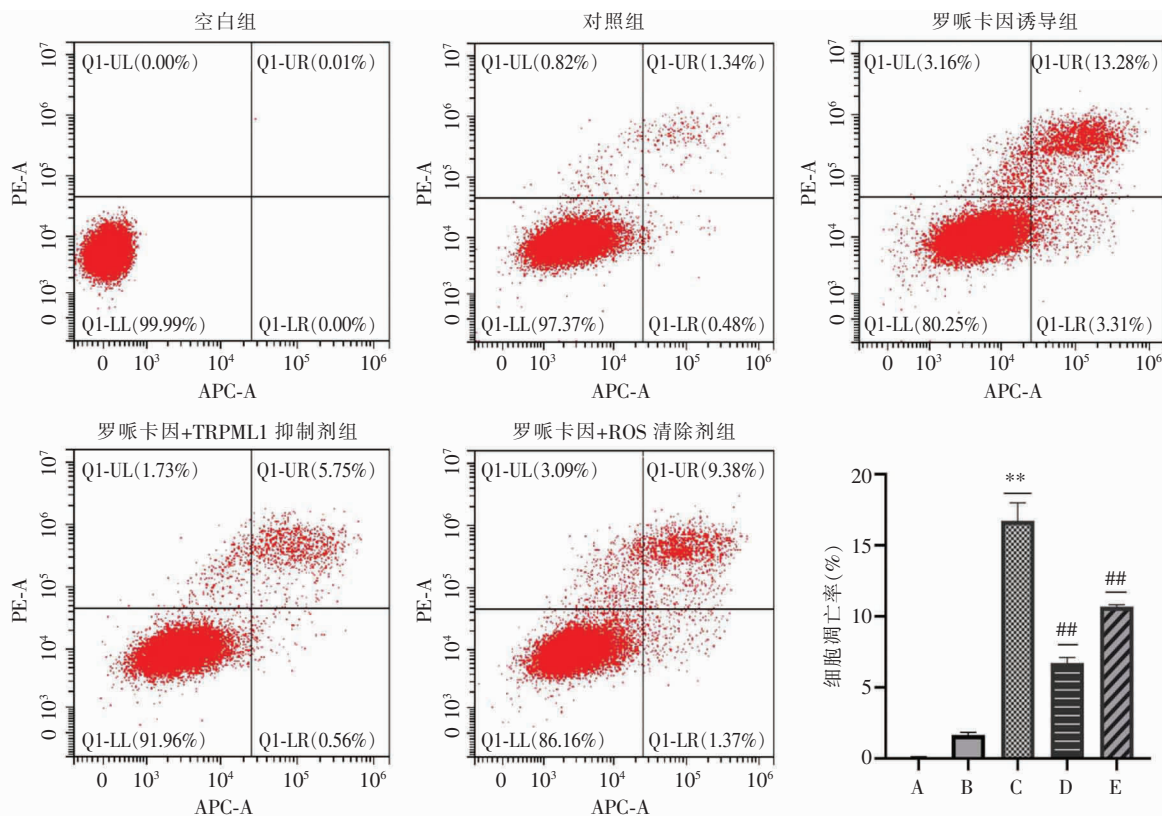


图 1 各组 H9c2 细胞凋亡情况比较

A. 空白组; B. 对照组; C. 罗哌卡因诱导组; D. 罗哌卡因 + TRPML1 抑制剂组; E. 罗哌卡因 + ROS 清除剂组;

\*\*  $P < 0.01$ , 与对照组相比; ##  $P < 0.01$ , 与罗哌卡因诱导组相比。

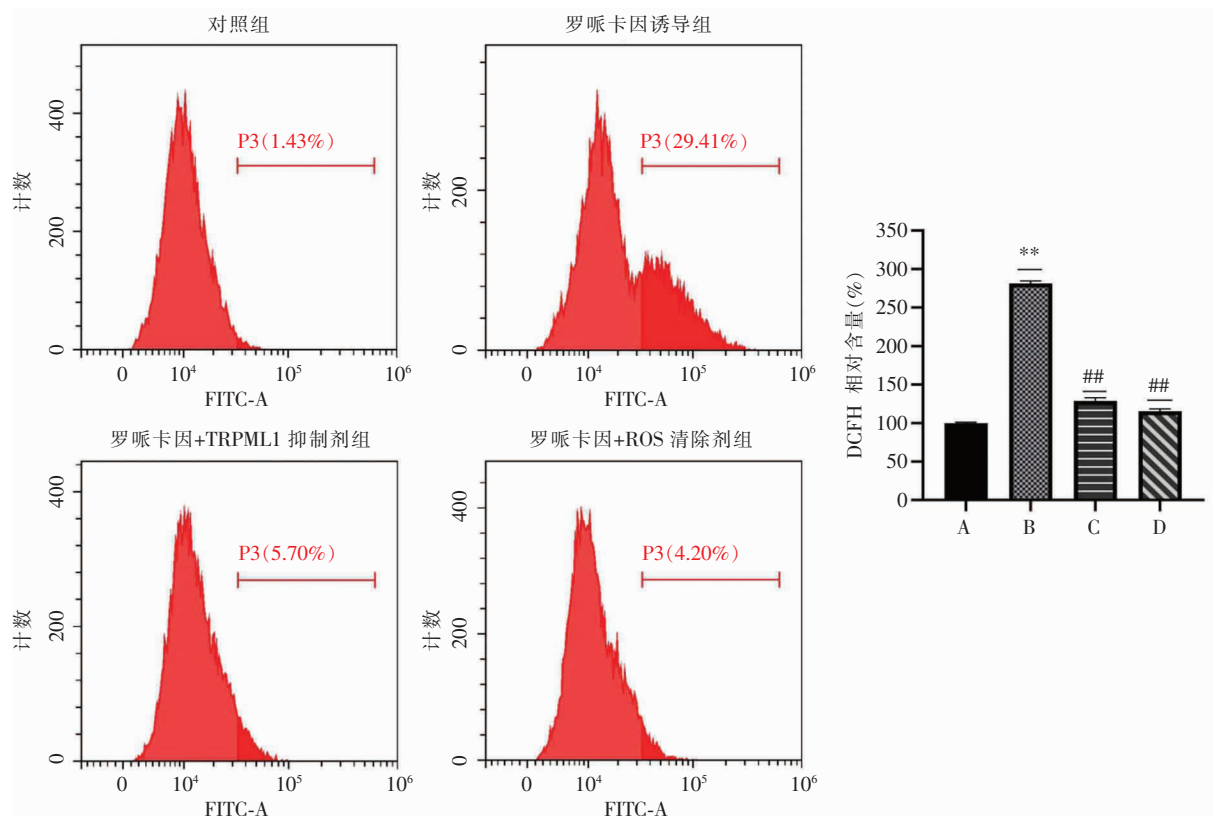


图2 各组细胞内 ROS 变化情况比较

A. 对照组;B. 罗哌卡因诱导组;C. 罗哌卡因+TRPML1 抑制剂组;D. 罗哌卡因+ROS 清除剂组。**\*\*** $P < 0.01$ ,与对照组相比;**##** $P < 0.01$ ,与罗哌卡因诱导组相比。

## 2.4 各组 H9c2 细胞内钙离子含量比较

罗哌卡因诱导后,心肌细胞中出现钙沉积现象,钙离子含量明显增加,与对照组比较,差异有统计学

意义( $P < 0.01$ );而与罗哌卡因诱导组相比,罗哌卡因 + TRPML1 抑制剂组和罗哌卡因 + ROS 清除剂组钙离子含量均降低( $P < 0.01$ )。见图 3。

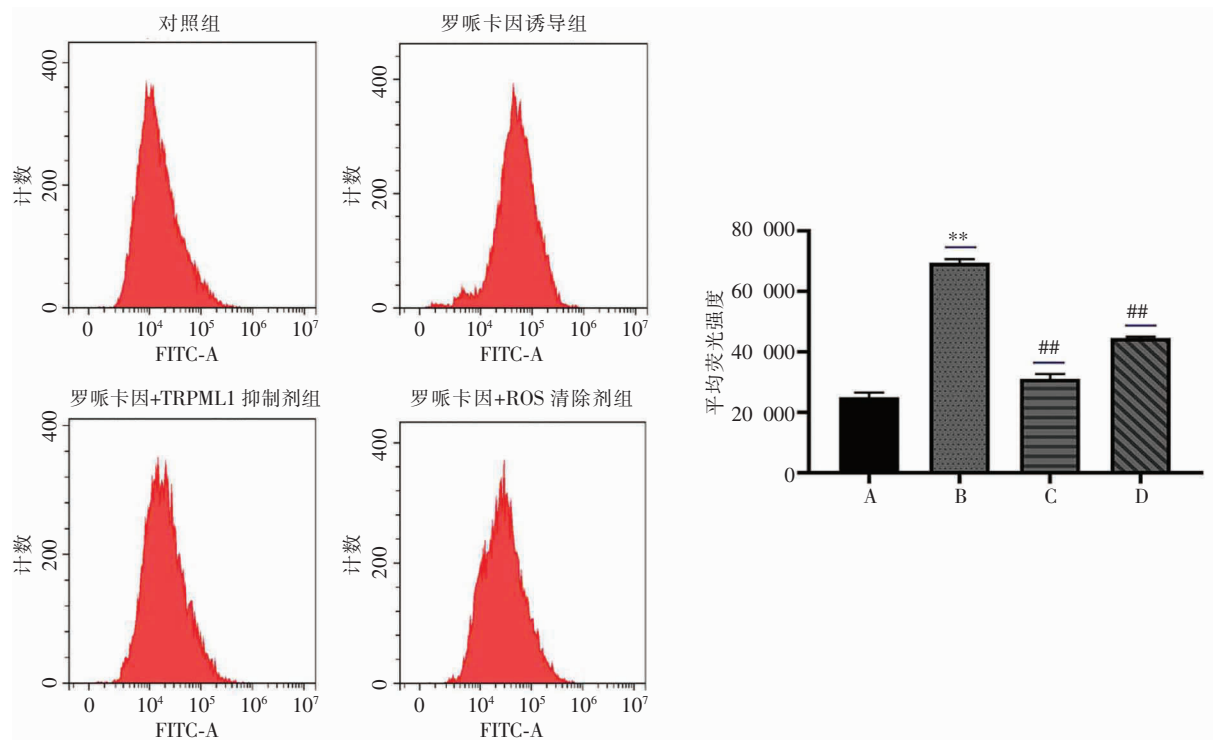


图3 各组细胞内钙离子含量情况比较

A. 对照组;B. 罗哌卡因诱导组;C. 罗哌卡因+TRPML1 抑制剂组;D. 罗哌卡因+ROS 清除剂组。**\*\*** $P < 0.01$ ,与对照组相比;**##** $P < 0.01$ ,与罗哌卡因诱导组相比。

## 2.5 各处理组免疫荧光染色情况比较

免疫荧光染色结果显示,与对照组相比,罗哌卡因诱导组 H9c2 细胞 LC3 + LAMP1 合光荧光强度升高 ( $P < 0.01$ )。与罗哌卡因诱导组相比,罗哌卡因 + TRPML1 抑制剂组 H9c2 细胞 LC3 + LAMP1 合光荧光强度降低 ( $P < 0.05$ );罗哌卡因 + ROS 清除剂组 H9c2 细胞 LC3 + LAMP1 合光荧光强度差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见图 4。

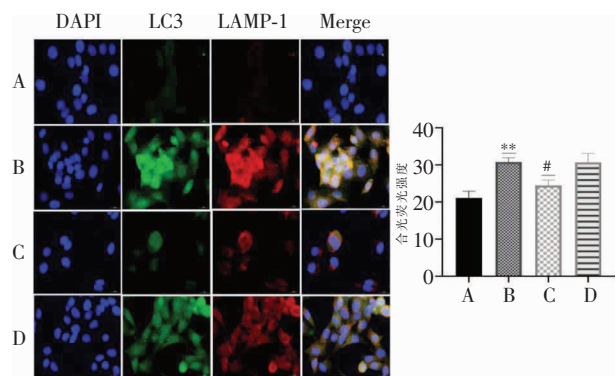


图 4 各处理组免疫荧光染色情况比较

A. 对照组;B. 罗哌卡因诱导组;C. 罗哌卡因+TRPML1 抑制剂组;D. 罗哌卡因+ROS 清除剂组。\*\* $P < 0.01$ ,与对照组相比;# $P < 0.05$ ,与罗哌卡因诱导组相比。

## 2.6 各处理组中蛋白表达情况比较

Western blot 结果显示,相对对照组,罗哌卡因诱导组 cleaved-Caspase-3、LC3 II / I、MCOLN1 和 p62 蛋白表达水平均升高 ( $P < 0.01$ );相比于罗哌卡因诱导组,当加入 TRPML1 抑制剂组和 ROS 清除剂后能逆转细胞内凋亡和自噬相关蛋白高水平表达的情况,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见图 5。

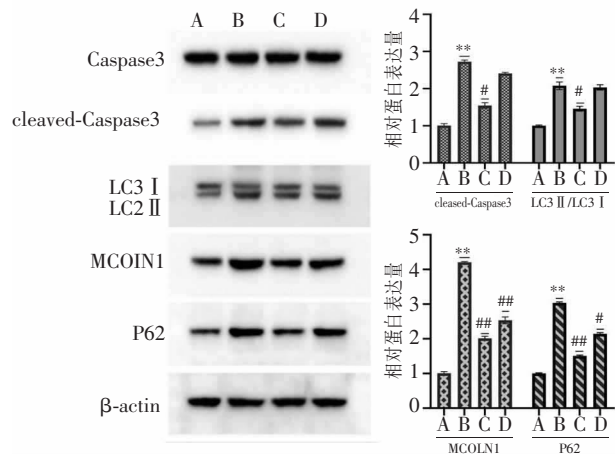


图 5 各处理组中蛋白表达情况比较

A. 对照组;B. 罗哌卡因诱导组;C. 罗哌卡因+TRPML1 抑制剂组;D. 罗哌卡因+ROS 清除剂组。\*\* $P < 0.01$ ,与对照组相比;# $P < 0.05$ ,## $P < 0.01$ ,与罗哌卡因诱导组相比。

## 3 讨论

当细胞出现自噬时,自噬通量和自噬小体的数量往往决定着自噬的演变情况。自噬通量受阻往往与溶酶体密切相关,TRPML1 是定位于溶酶体膜上的非选择性阳离子通道蛋白,参与自噬等多种细胞生理活动<sup>[6-7]</sup>。溶酶体在对细胞程序性死亡产生的碎片处理过程中起着至关重要的作用的同时,也被证实为  $Ca^{2+}$  储存区,而 TRPML1 是一种溶酶体膜蛋白,因此,TRPML1 也被推测和  $Ca^{2+}$  的调控密切相关<sup>[8]</sup>。 $Ca^{2+}$  作为一种通用的细胞信使,在信号传导、细胞器稳态和核内酸化中发挥着重要作用,TRPML1 是溶酶体内  $Ca^{2+}$  的释放通道<sup>[9]</sup>。另外,目前已有多项研究<sup>[10-11]</sup>证实,TRPML1 与自噬和 ROS 联系紧密,证明 TRPML1 是一种定位于溶酶体膜上的 ROS 传感器。同时,线粒体损伤引起 ROS 水平升高,可直接激活 TRPML1 诱导溶酶体  $Ca^{2+}$  释放,从而调节自噬。自噬小体标志蛋白的表达量是反映自噬小体数量的常见方式,但当自噬小体与溶酶体之间发生融合故障时,就需要对 SQSTM1/P62 蛋白进行检测。SQSTM1/P62 蛋白功能繁多,在自噬过程中扮演着“接头者”的角色,可与自噬小体标志物相互结合参与溶酶体降解<sup>[12-13]</sup>。本研究中经罗哌卡因处理后的细胞,自噬相关蛋白 LC3 荧光聚点明显增多 ( $P < 0.05$ ),蛋白表达量明显升高 ( $P < 0.05$ ),表明自噬活性增加。值得注意的是,本研究中 SQSTM1/P62 蛋白表达同样升高,与之前的大多数研究有所不同。因此,本研究为了验证自噬通量是否受到影响,对自噬小体标志蛋白 LC3 与溶酶体膜蛋白 LAMP-1 进行了共定位分析,验证了罗哌卡因能够抑制自噬体与溶酶体的融合,从而引起自噬通量受阻。

有研究<sup>[14-15]</sup>报道,在心肌损伤的过程中细胞凋亡和自噬之间存在着密不可分的联系,在凋亡启动过程中,被激活的 Caspase 可以剪切 Beclin-1 蛋白,剪切后形成的 C 端 Beclin-1 可以结合线粒体,随即促进线粒体细胞色素 C 释放,进而导致细胞凋亡的发生。Caspase-3 是促进肿瘤细胞凋亡的重要分子,是细胞凋亡的关键执行者。cleaved-Caspase-3 是 caspase-3 的活化状态,是促进细胞凋亡的主要裂解酶,称之为“死亡执行蛋白酶”,是凋亡途径的效应分子<sup>[16]</sup>。研究<sup>[17]</sup>证实,半胱氨酸蛋白酶 (Caspase) 和 B 细胞淋巴瘤-2 (Bcl-2) 蛋白家族的激活是 ROS 诱导的细胞死亡过程中的常见信号传导过程,二者也被认为在细胞凋亡进程中不可或缺。

作为局麻药,罗哌卡因与布比卡因相比,作用强

度和作用效果类似,但对映体结构却有所不同,罗哌卡因对心脏的毒性比布比卡因弱。因此,罗哌卡因便凭借着对心脏毒性小、药效时间长、麻醉效果准确等优点成为临床上常用的局麻药之一<sup>[18-19]</sup>。有研究<sup>[20]</sup>指出,罗哌卡因的使用能够诱导肿瘤细胞和癌细胞出现凋亡的情况,但其如何致使细胞走向凋亡路径,目前尚不明确。本研究利用 CCK-8 和流式细胞术对细胞增殖能力、细胞凋亡情况及细胞内 ROS 水平进行检测发现,罗哌卡因诱导后能够降低心肌细胞的活力( $P < 0.05$ ),同时升高了细胞内 ROS 水平( $P < 0.05$ ),增加了细胞 cleaved-Caspase-3 的表达。本研究发现,罗哌卡因促进了 H9c2 心肌细胞自噬的发生,包括增加 LC3-II/LC3-I 的比值,促进自噬小体的积累和细胞凋亡相关蛋白的表达。证明 H9c2 心肌细胞自噬水平的提升同样伴随着细胞凋亡水平的升高。

本研究中,罗哌卡因增加了心肌细胞内 ROS 和  $Ca^{2+}$  水平( $P < 0.05$ ),当 TRPML1 通道被抑制时,病理性的增长情况得到了逆转和改善。进一步的研究表明,当 TRPML1 表达被抑制时,能够显著降低细胞内 ROS 和  $Ca^{2+}$  水平,同时减少了自噬小体的积累,同时能够显著提高自噬小体与溶酶体膜蛋白的融合,进而促进自噬通量,减少由罗哌卡因诱导的心肌 H9C2 细胞凋亡。

综上,局麻药罗哌卡因通过激活 ROS/TRPML1 途径致自噬流受阻,进而引起 ROS、 $Ca^{2+}$  和自噬小体的过度累积,从而导致心肌细胞出现凋亡。

## 参考文献

- [1] Wang Y, Gao W, Shi X, *et al.* Chemotherapy drugs induce pyroptosis through caspase-3 cleavage of a gasdermin [J]. *Nature*, 2017, 547(7661): 99 - 103.
- [2] Boussabeh M, Ben Salem I, Prola A, *et al.* Patulin induces apoptosis through ROS-mediated endoplasmic reticulum stress pathway [J]. *Toxicological Sciences: an Official Journal of the Society of Toxicology*, 2015, 144(2): 328 - 337.
- [3] 张军能, 张轶, 张焕棕, 等. 基于 PI3K-Akt 信号通路研究罗哌卡因对肺癌细胞 A549 细胞生物学功能的影响 [J]. *毒理学杂志*, 2021, 35(1): 51 - 55.
- [4] Dong XP, Cheng X, Mills E, *et al.* The type IV mucopolipidosis-associated protein TRPML1 is an endolysosomal iron release channel [J]. *Nature*, 2008, 455(7215): 992 - 996.
- [5] Wang W, Zhang X, Gao Q, *et al.* TRPML1: an ion channel in the lysosome [J]. *Handbook of Experimental Pharmacology*, 2014, 222: 631 - 645.

- [6] Johnson ME, Saenz JA, DaSilva AD, *et al.* Effect of local anesthetic on neuronal cytoplasmic calcium and plasma membrane lysis (necrosis) in a cell culture model [J]. *Anesthesiology*, 2002, 97(6): 1466 - 1476.
- [7] 李星月, 尹丹旸, 范梦恬, 等. IRE1 $\alpha$  缺陷通过上调内质网钙稳态蛋白降低软骨细胞的自噬功能 [J]. *南方医科大学学报*, 2022, 42(6): 785 - 793.
- [8] 程鑫怡. TRPML1 介导自噬作为黄曲霉毒素 B1 致猪肠上皮细胞损伤修复靶点研究 [D]. 南昌: 江西农业大学, 2022.
- [9] Chaudhari M, Jayaraj R, Bhaskar ASB, *et al.* Oxidative stress induction by T-2 toxin causes DNA damage and triggers apoptosis via caspase pathway in human cervical cancer cells [J]. *Toxicology*, 2009, 262(2): 153 - 161.
- [10] Radwan IAM, Saito S, Goto F. Neurotrophic factors can partially reverse morphological changes induced by mepivacaine and bupivacaine in developing sensory neurons [J]. *Anesthesia and Analgesia*, 2003, 97(2): 506 - 511.
- [11] 梁一超, 陈诗成, 李晓文, 等. 归脾汤通过 Bmal1 调控高糖状态下 H9c2 心肌细胞自噬活性的研究 [J]. *中药药理与临床*, 2022, 38(6): 42 - 47.
- [12] Xue X, Fan J, Ma X, *et al.* Effects of local dexmedetomidine administration on the neurotoxicity of ropivacaine for sciatic nerve block in rats [J]. *Molecular Medicine Reports*, 2020, 22(5): 4360 - 4366.
- [13] 石亮, 李一荣, 胡丽华. 自身免疫调节因子促进 THP-1 细胞的自噬性凋亡 [J]. *华中科技大学学报(医学版)*, 2010, 39(4): 461 - 465.
- [14] 符山花, 包利利, 赵达, 等. ABT-737 对 M2 型 TAM 来源外泌体处理的卵巢癌细胞 SKOV3 自噬性凋亡与干性特征的影响 [J]. *西部医学*, 2023, 35(5): 654 - 661, 669.
- [15] 王侃, 程志, 吕刚飞, 等. 基于肝癌细胞线粒体功能受损和 caspase-3 信号通路探讨罗哌卡因促进肝癌细胞凋亡的作用机制研究 [J]. *现代生物医学进展*, 2023, 23(2): 244 - 250.
- [16] 谢鹏, 任真奎, 吕菊, 等.  $\alpha$ -硫辛酸通过 mTOR 通路抑制缺血再灌注诱导的 PC12 细胞自噬性凋亡 [J]. *中国老年学杂志*, 2021, 41(3): 577 - 581.
- [17] 周树勤, 文先杰, 李乐, 等. 米贝地尔对罗哌卡因诱导 SH-SY5Y 细胞凋亡的抑制作用研究 [J]. *实用医学杂志*, 2012, 28(7): 1037 - 1040.
- [18] 李福祥, 王圆. 罗哌卡因抑制 THRIL 对子宫内膜癌细胞增殖、细胞周期和迁移的影响 [J]. *中国药师*, 2021, 24(3): 441 - 444.
- [19] 谭滇湘, 张朝晖. 丙泊酚对罗哌卡因致大鼠心脏毒性及心肌线粒体氧化损伤的保护作用 [J]. *实用预防医学*, 2012, 19(12): 1785 - 1787.
- [20] 金晶玉, 朱成杰, 权英实, 等. 罗哌卡因通过线粒体通路诱导人结肠癌 SW620 细胞株凋亡的实验研究 [J]. *中国比较医学杂志*, 2021, 31(8): 88 - 92.

(收稿日期: 2023 - 10 - 19)

修回日期: 2024 - 03 - 13)