右美托咪定经α_2肾上腺素受体抑制NF-κB和ROCK-RhoA通路改善脓毒症急性肠道屏障损伤的机制研究

李 蕾[1], 张邦国[2], 陈 万[1], 蒲 宇[3], 刘雨林[3], 张继芬[3], 俸 珊[3], 易 涛[4*]

(1. 成都市新都区人民医院, 四川 成都 610500; 2. 成都市青白江区人民医院, 重症医学科, 四川 成都 610300; 3. 西南大学药学院&中医药学院, 重庆 400715; 4. 澳门理工大学健康科学及体育学院, 澳门 999078)

摘要: 肠道屏障的结构与功能稳态在脓毒症的发生发展中起着关键作用。右美托咪定作为高选择性的α_2肾上腺素受体激动剂, 广泛用于脓毒症和围手术期中需要手术干预的镇静治疗。最新研究显示其还具抗炎作用, 但是否能因此改善脓毒症急性期肠道屏障损伤及其机制尚未知。本研究通过腹腔注射脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 构建急性脓毒症小鼠模型, 经Evans染色、透射电镜、HE染色、ELISA和RT-PCR等方法观察了右美托咪定 (1～6 μg·kg^{-1}) 对脓毒症小鼠肠道炎症和屏障改善情况。进一步在小鼠肠道组织和巨噬细胞RAW264.7中评价了α_2肾上腺素受体在炎症过程中的表达变化, 以及右美托咪定对LPS刺激下NF-κB和RhoA/ROCK信号通路的影响。研究结果显示, 右美托咪定 (1～6 μg·kg^{-1}) 在LPS刺激6 h后, 可显著抑制脓毒症小鼠血浆和肠道组织中的炎症因子水平, 改善肠道屏障功能, 上调小肠和结肠组织的紧密连接蛋白表达。LPS刺激可降低体内外巨噬细胞上α_2肾上腺素受体表达, 而右美托咪定 (5～20 nmol·L^{-1}) 可逆转炎症环境下α_2肾上腺素受体表达下调, 抑制RAW264.7中NF-κB通路激活和细胞炎症因子分泌增加, 拮抗Caco-2细胞中RhoA/ROCK信号通路激活及细胞跨膜电阻降低。综上, 本研究证实LPS刺激下巨噬细胞中α_2肾上腺素受体表达下调, 而右美托咪定可回调α_2肾上腺素受体, 并可能经该受体抑制NF-κB和RhoA/ROCK通路, 最终抑制炎症, 改善脓毒症急性期的屏障功能损伤。动物实验经西南大学试验动物伦理委员会批准 (伦理审查号: IACUC-20260305-12)。

关键词: 右美托咪定; 脓毒症急性期; 肠道屏障功能; NF-κB; RhoA/ROCK

中图分类号: R967 **文献标识码**: A **文章编号**: 0513-4870(2026)07-2533-11

Dexmedetomidine improve acute intestinal barrier injury in sepsis by inhibiting NF-κB and ROCK-RhoA pathways *via* α_2-adrenergic receptors

LI Lei[1], ZHANG Bang-guo[2], CHEN Wan[1], PU Yu[3], LIU Yu-lin[3], ZHANG Ji-fen[3], FENG Shan[3], YI Tao[4*]

(*1. Chengdu Xindu District People's Hospital, Chengdu 610500, China; 2. Intensive Care Unit, Chengdu Qingbaijiang District People's Hospital, Chengdu 610300, China; 3. College of Pharmaceutical Sciences and Traditional Chinese Medicine, Southwest University, Chongqing 400715, China; 4. Faculty of Health Sciences and Sports, Macao Polytechnic University, Macao 999078, China*)

Abstract: The structural and functional homeostasis of the intestinal barrier plays a key role in the occurrence and progression of sepsis. As a highly selective α_2-adrenergic receptor agonist, dexmedetomidine is widely used for sedation in sepsis and perioperative periods requiring surgical intervention. Recent studies have shown that it also exerts anti-inflammatory effects; however, whether it can improve acute intestinal barrier injury in sepsis and the

收稿日期: 2026-03-12; 修回日期: 2026-04-29.

基金项目: 澳门科学技术发展基金资助项目 (0061/2023/RIA1); 澳门理工大学资助研究项目 (RP/FCSD-01/2024); 重庆市自然科学基金 (CSTB2024NSCQ-MSX0857).

*通讯作者 E-mail: yitao@mpi.edu.mo

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2026-0274

underlying mechanism remain unclear. In this study, an acute sepsis mouse model was established by intraperitoneal injection of lipopolysaccharide (LPS). Evans blue staining, transmission electron microscopy, HE staining, ELISA, and RT-PCR were used to observe the effects of dexmedetomidine (1−6 μg·kg^{-1}) on intestinal inflammation and barrier function in septic mice. The expression changes of α_2-adrenergic receptors during inflammation, as well as the effects of dexmedetomidine on NF-κB and RhoA/ROCK signaling pathways under LPS stimulation, were further evaluated in mouse intestinal tissues and RAW 264.7 macrophages. The results showed that dexmedetomidine (1−6 μg·kg^{-1}) administered 6 h after LPS stimulation significantly reduced the levels of inflammatory factors in plasma and intestinal tissues of septic mice, improved intestinal barrier function, and upregulated the expression of tight junction proteins in the small intestine and colon. LPS stimulation downregulated the expression of α_2-adrenergic receptors on macrophages *in vivo* and *in vitro*, whereas dexmedetomidine (5−20 nmol·L^{-1}) reversed this downregulation under inflammatory conditions, inhibited NF-κB pathway activation and inflammatory cytokine secretion in RAW 264.7 cells, and antagonized RhoA/ROCK pathway activation and decreased transepithelial electrical resistance in Caco-2 cells. In conclusion, this study demonstrates that LPS stimulation downregulates α_2-adrenergic receptor expression in macrophages, and dexmedetomidine can upregulate α_2-adrenergic receptors, thereby it may inhibit the NF-κB and RhoA/ROCK pathways, ultimately suppressing inflammation, improving intestinal barrier function, and alleviating acute intestinal barrier injury in sepsis. The animal experiments were approved by the Animal Ethics Committee of Southwest University (Ethics Review No.: IACUC-20260305-12).

Key words: dexmedetomidine; acute phase of sepsis; intestinal barrier function; NF-κB; RhoA/ROCK

脓毒症是因感染引起的宿主反应失调导致的危及生命的器官功能障碍, 脓毒性休克则为脓毒症合并严重的循环、细胞和代谢紊乱, 其死亡风险更高, 全球每年脓毒症患者数超1 900万, 病死率逾1/4, 存活者还常伴随认知功能障碍等远期并发症, 是全球急危重症医学领域面临的重大临床难题[1-5]。肠道作为机体最大的黏膜免疫器官和营养吸收场所, 其屏障结构与功能稳态在脓毒症的发生发展中扮演核心角色[6,7]。脓毒症状态下过度的全身炎症反应会直接破坏肠道上皮细胞间紧密连接, 导致肠道屏障通透性增加, 肠道内细菌、内毒素易位入血, 形成“肠道−炎症”恶性循环, 进一步加剧多器官功能损伤, 成为脓毒症病情进展、病死率升高的重要诱因[8-10]。因此, 调控脓毒症急性期肠道炎症、保护肠道屏障功能, 是阻断病情恶化、改善患者预后的关键突破口。

右美托咪定作为高选择性的α_2肾上腺素受体(α_2-adrenergic receptor, α_2-AR) 激动剂, 因镇静镇痛效果确切且呼吸抑制风险低, 被《中国脓毒症/脓毒性休克急诊治疗指南 (2018)》和《脓毒症患者围术期管理的专家共识 (2020版)》推荐用于脓毒症患者的镇静治疗, 是临床脓毒症镇静管理的常用药物[11-14]。近年研究证实, 右美托咪定除镇静作用外, 还具备显著的抗炎活性, 可通过靶向免疫细胞上的α_2-AR抑制炎症信号通路, 减少促炎因子释放[15,16], 改善脓毒症相关的颅脑、心脏、肺脏、肝脏、肾脏等器官损伤[17-21]。肠道屏障损伤在脓毒症急性阶段即已启动, 目前关于右美托咪定在脓毒症急性期是否能通过调控相关信号通路改善肠道屏障损伤, 以及α_2-AR在这一过程中的具体作用机制尚未明确。

基于此, 本研究通过腹腔注射脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 构建脓毒症急性期小鼠模型, 在脓毒症急性阶段进行右美托咪定干预, 结合体内外实验, 系统探究右美托咪定对脓毒症急性期肠道炎症及屏障功能的保护作用, 明确炎症状态下α_2-AR在肠道组织和巨噬细胞RAW264.7中的表达变化, 深入剖析其改善脓毒症急性肠道屏障损伤的分子机制, 为右美托咪定在脓毒症急性期的临床应用提供新的理论依据与实践支撑。

材料与方法

实验试剂 盐酸右美托咪定注射液 (国药准字H20183219) 购自扬子江药业集团有限公司; 氢化可的松注射液 (国药准字H61021692) 购自陕西顿斯制药有限公司; LPS (GC205009-10 mg)、anti-ZO1 tight junction protein rabbit pAb (GB115686-100)、无酶水 (G4700)、多聚甲醛固定液 (G1101-500 mL) 购自赛维尔生物科技有限公司; 小鼠IL-6 ELISA试剂盒 (ADS-0751M1)、小鼠IL-1β ELISA试剂盒 (ADS-0621M1) 购自江苏艾迪生生物科技有限公司; NF-κB p50抗体 (WL0200) 购自万类生物; F4/80抗体 (MF48000) 购自赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司; CD86 (AFRMO0167) 购自湖南艾方生物科技有限公司; AG RNAex Pro RNA提取试

剂 (AG21102)、Evo M-MLV 反转率预混型试剂盒 (AG11616)、SYBR Green Pro Taq HS 预混型 qPCR 试剂盒 (AG11701) 购自湖南艾科瑞生物工程有限公司; 无水乙醇 (E809056-500 mL) 购自上海麦克林生化科技股份有限公司; 异丙醇 (20220601)、三氯甲烷 (20220101) 购自重庆川东化工 (集团) 有限公司; 戊二醛固定液 (R20515) 购自上海源叶生物科技有限公司。

实验动物　42 只 7 周龄 SPF 级雄性 C57/BL6J 小鼠 (20 ± 2 g, 北京斯贝福生物技术有限公司, 动物生产许可证号 SCXK (京) 2024-0001, 实验动物质量合格证号No.110324261100591535)。本实验经西南大学试验动物伦理委员会审批 (伦理审查号: IACUC-20260305-12), 动物饲养于西南大学实验动物中心 [动物实验设施许可证号 SYXK (渝) 2020-0006]。饲养环境控制为温度 22 ± 2 ℃、相对湿度 55% ± 15%, 自由摄食与饮水, 采用 12 h 光照/12 h 黑暗昼夜循环。实验动物的饲养与使用严格遵循中国《实验动物管理条例》相关规定。

动物实验　将 42 只 C57/BL6J 小鼠随机分为 6 组, 分别为空白组、LPS 组、氢化可的松 (5 mg·kg^{-1}, 阳性对照组)、右美托咪定低、中、高剂量组 (1、3、6 μg·kg^{-1})。对于 LPS 组、阳性组和右美托咪定组小鼠, 腹腔注射 LPS (10 mg·kg^{-1}) 30 min 后, 继续分别腹腔注射生理盐水、氢化可的松和右美托咪定。空白组注射生理盐水。于 LPS 注射后 6 h, 各组取 3 只小鼠进行伊文思蓝灌注染色, 其余小鼠处死取血、空肠、结肠组织用于后续分析。

RAW264.7 细胞炎症因子测定　6 孔板培养 RAW264.7 细胞, 当细胞愈合度达 80% 时, 开始实验。

LPS 诱导炎症因子表达实验: 细胞经 1 μg·mL^{-1} LPS 处理后, 分别于 3、6、12 h 收集, 提取总 RNA 并采用 RT-PCR 法检测 IL-1β、TNF-α 和 IL-6 mRNA 水平表达。

右美托咪定干预 LPS 诱导炎症实验: 先以 1 μg·mL^{-1} LPS 刺激细胞 30 min, 再分别加入 5、10、20 nmol·L^{-1} 右美托咪定或 10 μmol·L^{-1} 氢化可的松, 共同孵育 6 h 后收集细胞, 提取 RNA 并通过 RT-PCR 检测 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 表达变化。

Caco-2 细胞跨膜电阻测定　将细胞 (每毫升 1×10^6 个) 接种于 6 孔 Transwell 板中, 连续培养 14 d。待细胞跨膜电阻值大于 400 Ω·cm^2 时, 先用 1 μg·mL^{-1} LPS 刺激 30 min, 再分别加入 5、10、20 nmol·L^{-1} 右美托咪定, 继续共孵育 24 h。采用 Millicell® ERS-2 细胞电阻仪测定各组细胞跨膜电阻值。

Caco-2 细胞爬片及免疫荧光染色　取 200 μL 细胞悬液接种于细胞爬片上 (细胞密度为每毫升 1×10^5 个), 待细胞愈合度达 80% 时, 给予 LPS (1 μg·mL^{-1}), 30 min 后加入右美托咪定 (5、10、20 nmol·L^{-1}), 再共同孵育 24 h 后, 4% 多聚甲醛固定爬片, 免疫荧光染色 F-actin 和闭锁小带蛋白 1 (zonula occludens-1, ZO-1)。

伊文思蓝染色　各组小鼠经尾静脉注射 0.2% 伊文思蓝溶液, 2 h 后脱颈处死, 然后灌注生理盐水。迅速取出空肠和结肠组织 (各组取同等重量的组织), 分别加入 0.1 g·mL^{-1} 甲酰胺匀浆, 在 45 ℃孵育 45 h 后 5 000 r·min^{-1} 离心 10 min。取上清于 620 nm 处测量吸光度。伊文思蓝含量按标准曲线计算。

透射电镜　取 1 mm^3 新鲜肠组织经电镜固定液 4 ℃固定, 经锇酸固定后、梯度酒精与丙酮脱水, 再经丙酮和 812 包埋剂梯度渗透、包埋后 60 ℃聚合 48 h; 后续经半薄切片定位、超薄切片机制备 60～80 nm 切片并铜网捞片, 经醋酸铀和枸橼酸铅双重染色干燥后, 采用日立 HT7800/HT7700 透射电镜观察组织形态并采集图像。

ELISA 分析　根据艾迪生 ELISA 试剂盒说明书, 对血浆样本中 IL-1β、IL-6 含量进行检测。

RT-PCR 分析　取 20 mg 样本组织或 6 孔板种板细胞, Trizol 法提取 RNA 后, 按照试剂盒方法反转录 cDNA, 并完成 RT-PCR 分析。引物序列信息参考课题组前期研究[22]。

Western blot 分析　该方法及抗体稀释比例参考课题组前期研究[22]。

统计学分析　实验数据均以平均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 使用 SPSS 27.0 软件完成统计学分析。组间差异采用独立样本 t 检验进行比较, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义, $P < 0.01$ 为差异具有高度统计学意义。

结果

1　右美托咪定对 LPS 致小鼠急性炎症的改善作用

炎症因子风暴是脓毒症急性期的主要特征, 也是促进脓毒症发生发展的主要诱因, 为了评估右美托咪定对 LPS 诱导的急性炎症影响, 本研究首先筛选了 LPS 导致急性炎症的时间点。结果由图 1A 可知, 在给予巨噬细胞 RAW 264.7 LPS (1 μg·mL^{-1}) 刺激后, IL-1β 和 TNF-α 的 mRNA 水平在 3～6 h 达峰, IL-6 的 mRNA 水平在 12 h 内还处于上升期。基于上述炎症因子随时间的变化曲线, 后续实验选择 6 h 作为 LPS 导致动物急性炎症中的实验终点。

右美托咪定对 LPS 诱导的动物急性炎症的影响研究结果可知 (图 1B), 小鼠腹腔注射 10 mg·kg^{-1} LPS 后, 小鼠血浆中 IL-6、IL-1β 水平在 6 h 显著升高 ($P <$

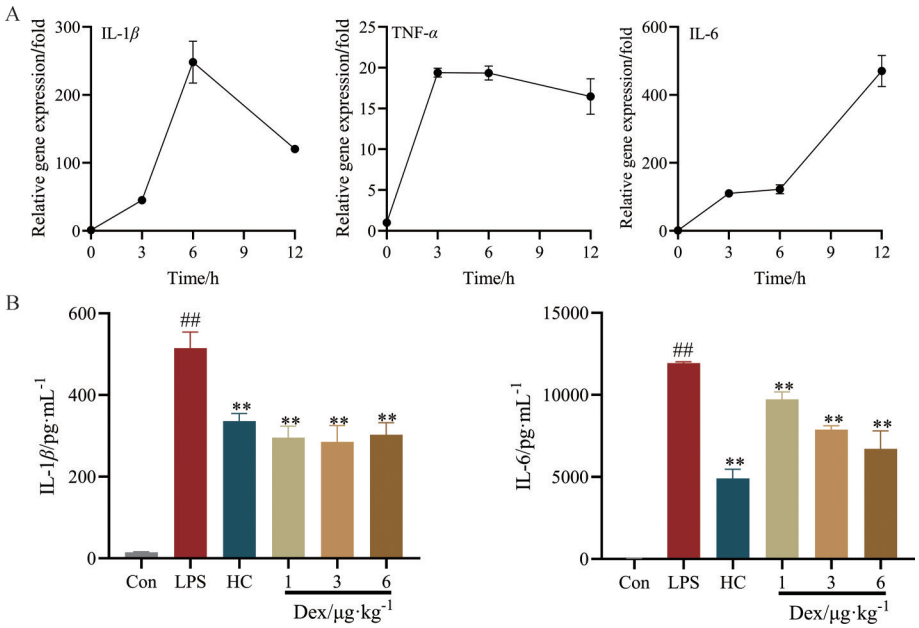


Figure 1 The change of inflammatory cytokine. A: The mRNA level of inflammatory cytokine in RAW264.7 cells after LPS stimulation; B: The level of inflammatory cytokine in plasma after administrated mice to LPS (ip). $n = 3$, $\bar{x} \pm s$. $^{\#\#}P < 0.01$ *vs* control; $^{**}P < 0.01$ *vs* LPS. HC: Hydrocortisone; Dex: Dexmedetomidine; LPS: Lipopolysaccharide

0.01), 而右美托咪定 (1～6 μg·kg^{-1}) 可显著抑制其升高 ($P < 0.01$), 且对 IL-6 水平的抑制作用具有一定的浓度依赖性。进一步对空肠和结肠组织进行 HE 染色, 空肠组织 HE 染色显示正常组的肠壁结构清晰, 黏膜面布满指状小肠绒毛, 绒毛表面为含纹状缘的单层柱状上皮并散在杯状细胞 (图 2A)。LPS 刺激后, 空肠黏膜下层出现大量炎症细胞浸润和黏膜充血 (图 2A)。右美托咪定可显著改善空肠炎症细胞浸润 (仅在低剂量观察到少量炎症细胞) 和黏膜充血。结肠组织 HE 染色显示正常组的肠壁结构清晰, 黏膜层中隐窝中杯状细胞多, 且形态正常。LPS 刺激后, 结肠黏膜下层出现大量炎症细胞浸润, 而右美托咪定可显著改善其炎症细胞浸润 (图 2B)。对空肠和结肠组织中 TNF-α、IL-1β、IL-6 和 NF-κB-p50 的 mRNA 转录水平进行 PCR 分析后也发现, 右美托咪定可显著抑制 LPS 导致的肠道组织炎症因子在转录水平上的升高 (图 2C、D, $P < 0.05$)。

2 右美托咪定对 LPS 致小鼠肠道屏障破坏的保护作用

炎症环境下, 肠道屏障是首要受损部位, 而肠道屏障的受损, 会进一步加重炎症的发生发展。在明确右美托咪定可抑制 LPS 诱导的脓毒症急性期炎症水平后, 本研究继续观察其对 LPS 导致肠道屏障损伤的影响。研究结果显示, LPS 组可加重 Evans 肠道蓝染, 而右美托咪定 (1～6 μg·kg^{-1}) 组的蓝染减轻, 提示肠道屏障功能改善 (图 3)。透射电镜分析进一步验证了右美托咪定对肠道屏障的改善作用: LPS 组空肠 (图 4) 和结肠 (图 5) 上皮细胞间紧密连接断裂、缺失, 绒毛 (微绒毛) 萎缩消失, 线粒体嵴断裂消失、空泡化, 而右美托咪定 (1～6 μg·kg^{-1}) 可显著改善上述损伤。此外, 对小鼠肠道组织上的紧密连接蛋白进行荧光染色和 PCR 分析显示, 右美托咪定可显著增强小鼠肠上皮细胞间 ZO-1 的荧光 (图 6A 和 7A), 同时上调多种紧密连接蛋白的 mRNA 水平 (图 6B 和 7B)。

3 右美托咪定逆转 LPS 刺激下 α_2-AR 表达下调

大量研究证实 α_2-AR 表达于巨噬细胞, 但其在炎症条件下的变化未知。本研究进一步评价了 LPS 刺激后动物和细胞层面 α_2-AR 的表达变化, 结果如图 8A 所示, LPS 刺激后肠道组织中的 α_2-AR 的荧光减弱, 同时 RAW264.7 细胞中的 α_2-AR 也在 mRNA 水平表达下调 (图 8B)。而右美托咪定可逆转 LPS 刺激下 α_2-AR 的表达变化 ($P < 0.01$)。结果提示, 右美托咪定可逆转 LPS 刺激下巨噬细胞上的 α_2-AR 表达下调, 这也为右美托咪定调控巨噬细胞的免疫功能提供了实验支持。

4 右美托咪定抑制 LPS 致 RAW264.7 细胞中 NF-κB 中信号通路激活

本研究利用 RAW264.7 细胞, 继续观察了右美托咪定对 LPS 激活 RAW264.7 细胞中 NF-κB 信号通路的影响, 结果显示右美托咪定 (5～20 nmol·L^{-1}) 可抑制 LPS 导致的 M1 型极化, 即抑制 LPS 导致的 CD86 表达上调 (图 9A) 以及 IL-1β、TNF-α 和 IL-6 的转录水平的

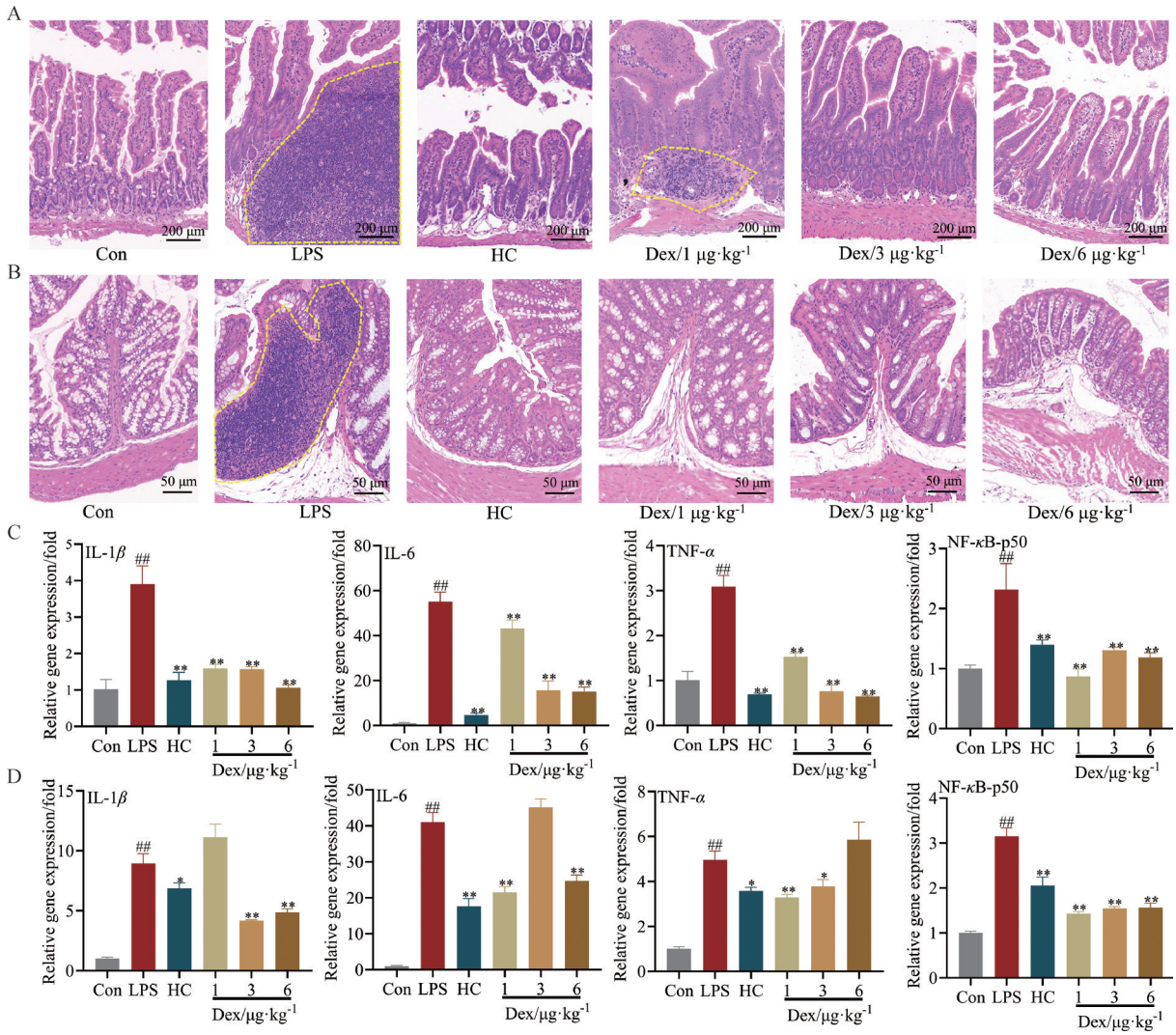


Figure 2　Effects of Dex treatment on LPS-induced intestinal inflammation. A: HE staining of jejunum; B: HE staining of colon; C: The mRNA level of inflammatory cytokine in jejunum; D: The mRNA level of inflammatory cytokine in colon. n = 3, $\bar{x} \pm s$. $^{\#\#}P < 0.01$ *vs* control; $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ *vs* LPS. Yellow dashed box indicates inflammatory cell infiltration

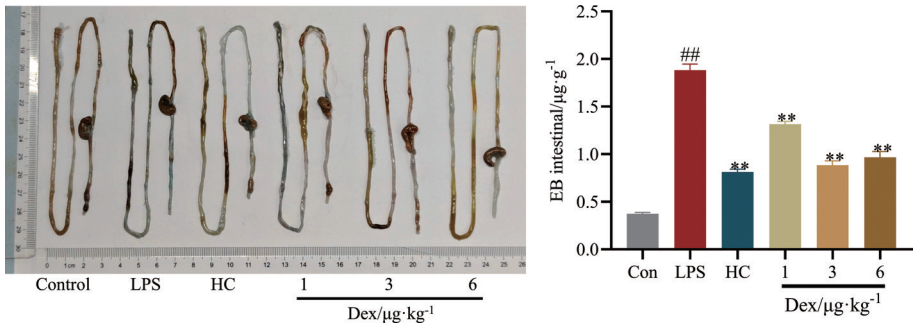


Figure 3　Evans staining of jejunum and colon. n = 3, $\bar{x} \pm s$. $^{\#\#}P < 0.01$ *vs* control; $^{**}P < 0.01$ *vs* LPS

升高 (图9B), 而这可能与抑制NF-κB入核有关 (图9C)。

5　右美托咪定抑制LPS致Caco-2细胞中RhoA-ROCK中信号通路激活

Caco-2细胞是一种人结直肠腺癌细胞系, 广泛应用于体外肠道屏障功能的研究。本研究观察了右美托咪定对LPS致Caco-2细胞屏障损伤的影响, 结果显示, 右美托咪定 (5～20 nmol·L^{-1}) 可抑制LPS导致的Caco-2细胞紧密连接蛋白ZO-1表达下调 (图10A)、跨膜电阻降低 (图10B), 以及骨架蛋白重塑F-actin (图10C)。RhoA-ROCK为调节肠道屏障功能的常见信号

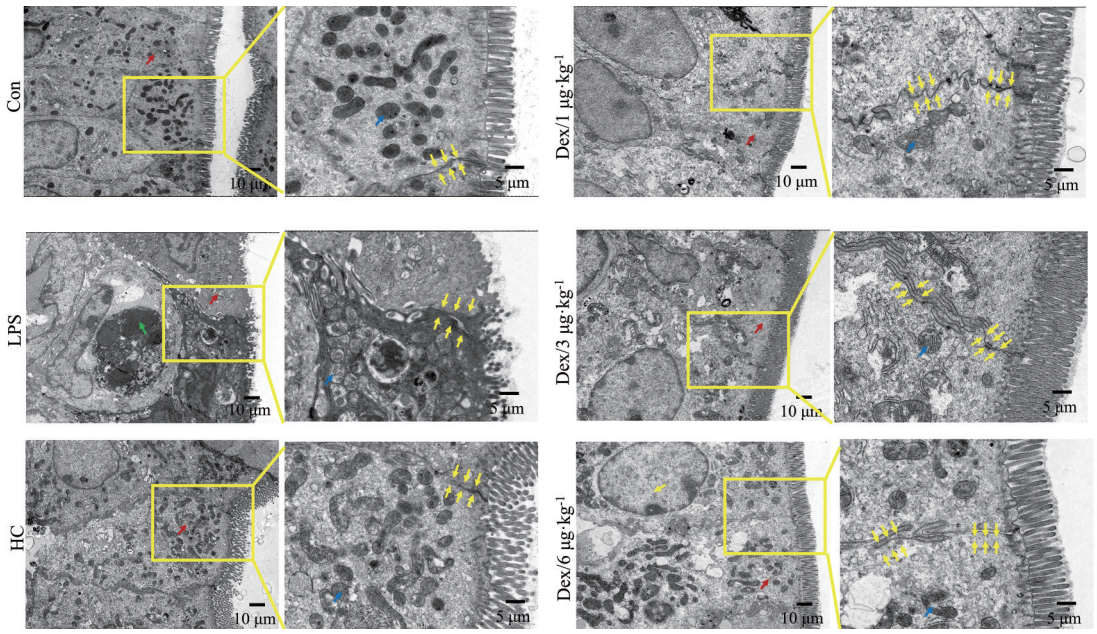


Figure 4 Transmission electron microscopy analysis of jejunum. Red arrows point to the epithelial cells; yellow arrows to the tight junctions; blue arrows to the mitochondria; green arrows to the lysosomes

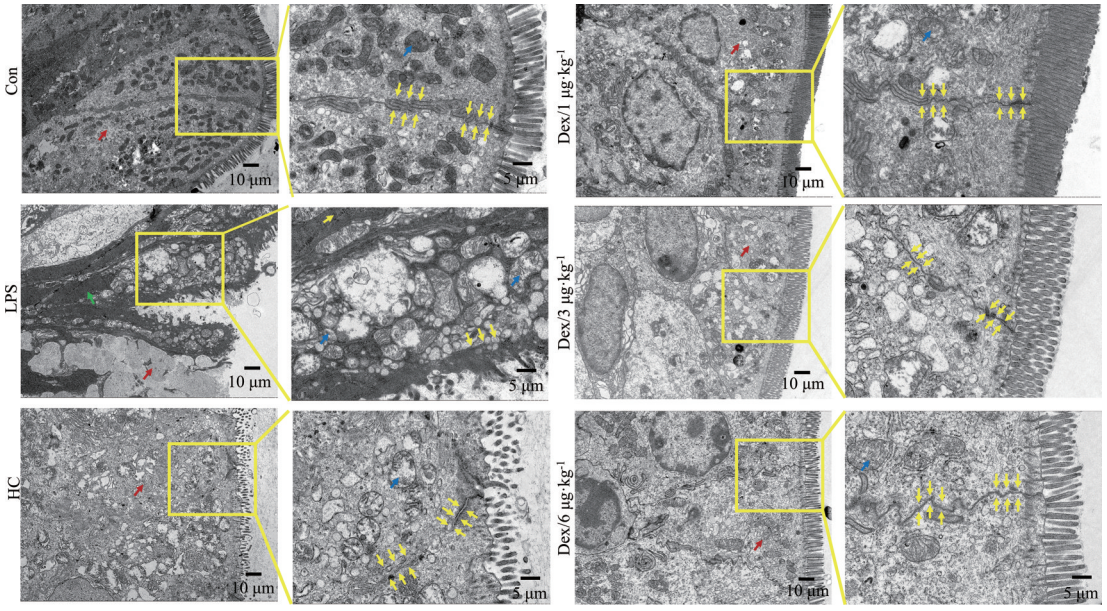


Figure 5 Transmission electron microscopy analysis of colon. Red arrows point to the epithelial cells; yellow arrows to the tight junctions; blue arrows to the mitochondria; green arrows to the lysosomes

通路, Western blot 分析该信号通路变化, 结果显示(图 10D), 右美托咪定和 ROCK1 抑制剂 Y-27632 均可抑制 LPS 导致的 ROCK1 以及 MLC-2 磷酸化增强, 拮抗 RhoA-ROCK 通路活化。上述结果提示, 右美托咪定对 LPS 导致的肠道屏障损伤与抑制 RhoA-ROCK 信号通路有关。

讨论

脓毒症引发的宿主反应失调及后续的全身炎症反应综合征是急危重症临床救治的棘手难题, 其高病死率与炎症介导的多器官功能损伤密切相关, 而肠道屏障功能紊乱是脓毒症病理进程中的核心环节[3,4,6]。因此, 在脓毒症急性期靶向保护肠道屏障功能、抑制肠道局部及全身炎症反应, 是契合脓毒症早期干预原则、阻断病情恶化的关键策略。

右美托咪定作为高选择性 α_2-AR 激动剂, 在临床脓毒症的综合管理中应用广泛, 且近年研究证实其除镇静作用外, 还具备显著的抗炎活性, 为其在脓毒症急

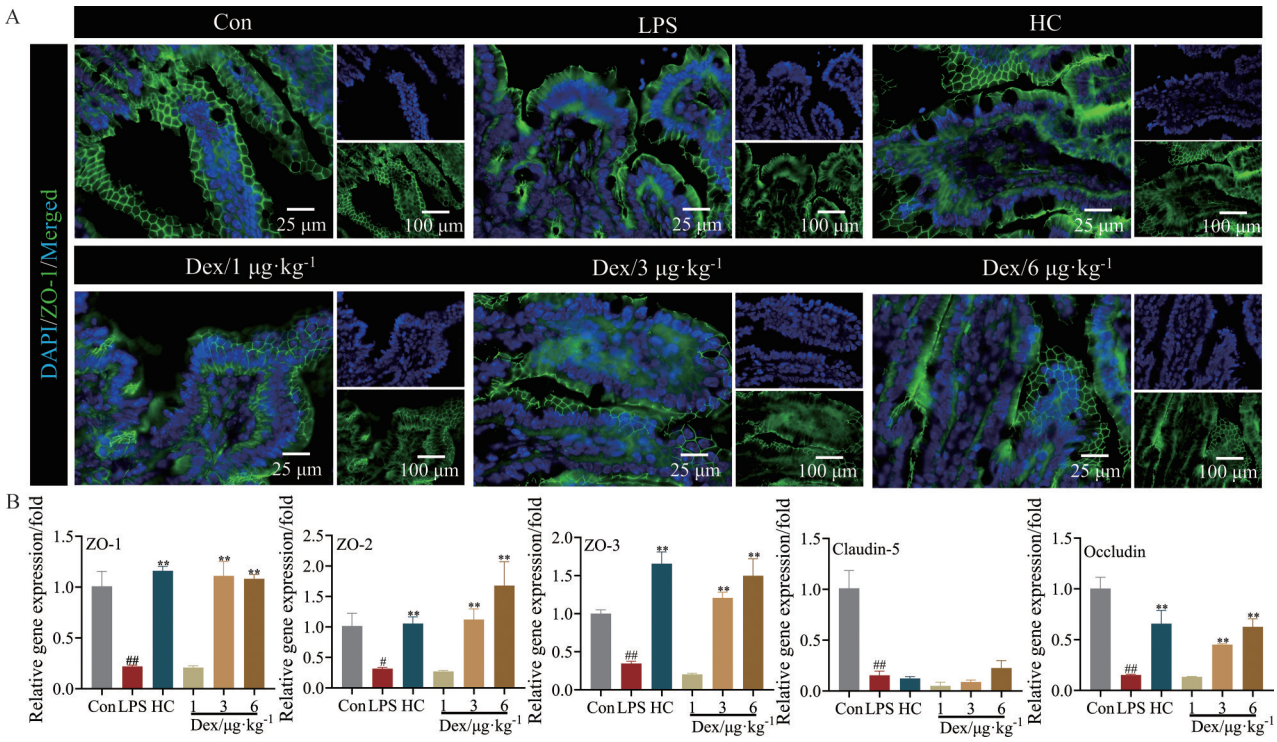


Figure 6　Effects of Dex treatment on LPS-induced intestinal barrier destruction. A: Jejunum was stained with antibodies against ZO-1 (green) and DAPI (blue); B: Tight junction protein mRNA expression in jejunum. $n = 3$, $\bar{x} \pm s$. $^{\#}P < 0.05$, $^{\#\#}P < 0.01$ *vs* control; $^{**}P < 0.01$ *vs* LPS

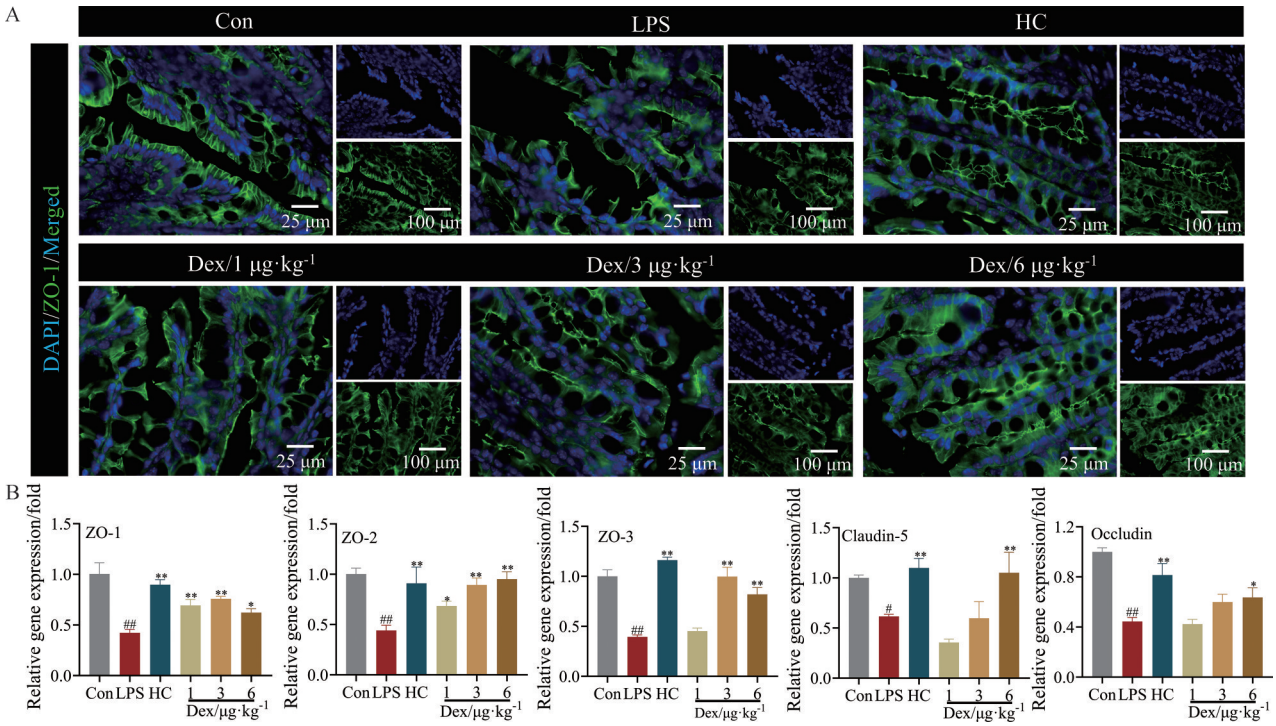


Figure 7　Effects of Dex treatment on LPS-induced intestinal barrier destruction. A: Colon was stained with antibodies against ZO-1 (green) and DAPI (blue); B: Tight junction protein mRNA expression in colon. $n = 3$, $\bar{x} \pm s$. $^{\#}P < 0.05$, $^{\#\#}P < 0.01$ *vs* control; $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ *vs* LPS

性期发挥除镇静外的治疗作用提供了基础[11-13,15-18]。本研究结果显示, 右美托咪定 (1～6 μg·kg^{-1}) 可显著降低脓毒症急性期小鼠血浆及肠道组织中IL-6、IL-1β、TNF-α等促炎因子水平, 上调小肠与结肠组织中ZO-1、

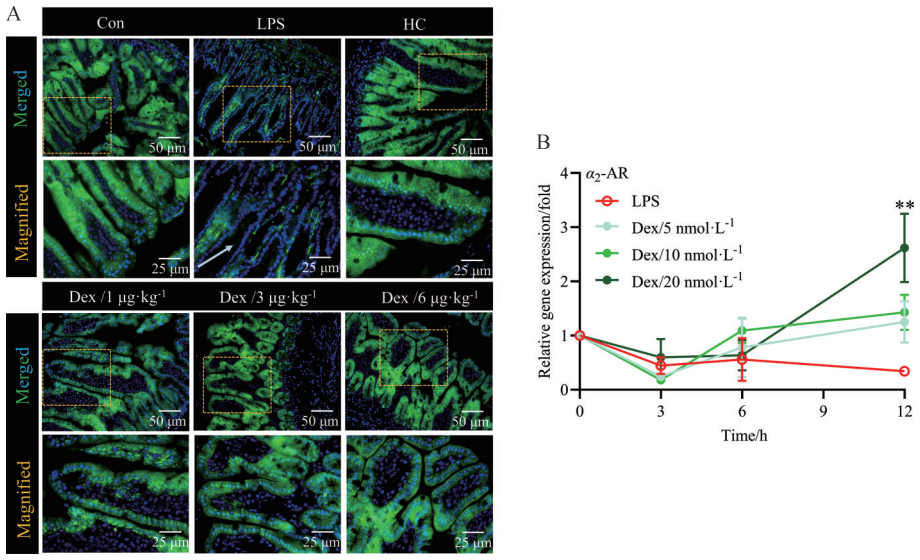


Figure 8 Effects of Dex treatment on LPS-induced α_2-AR expression downregulation. A: Jejunum was stained with antibodies against α_2-AR (green) and DAPI (blue); B: α_2-AR mRNA expression in RAW264.7 cells after LPS stimulation. $n = 3$, $\bar{x} \pm s$. $^{**}P < 0.01$ *vs* LPS

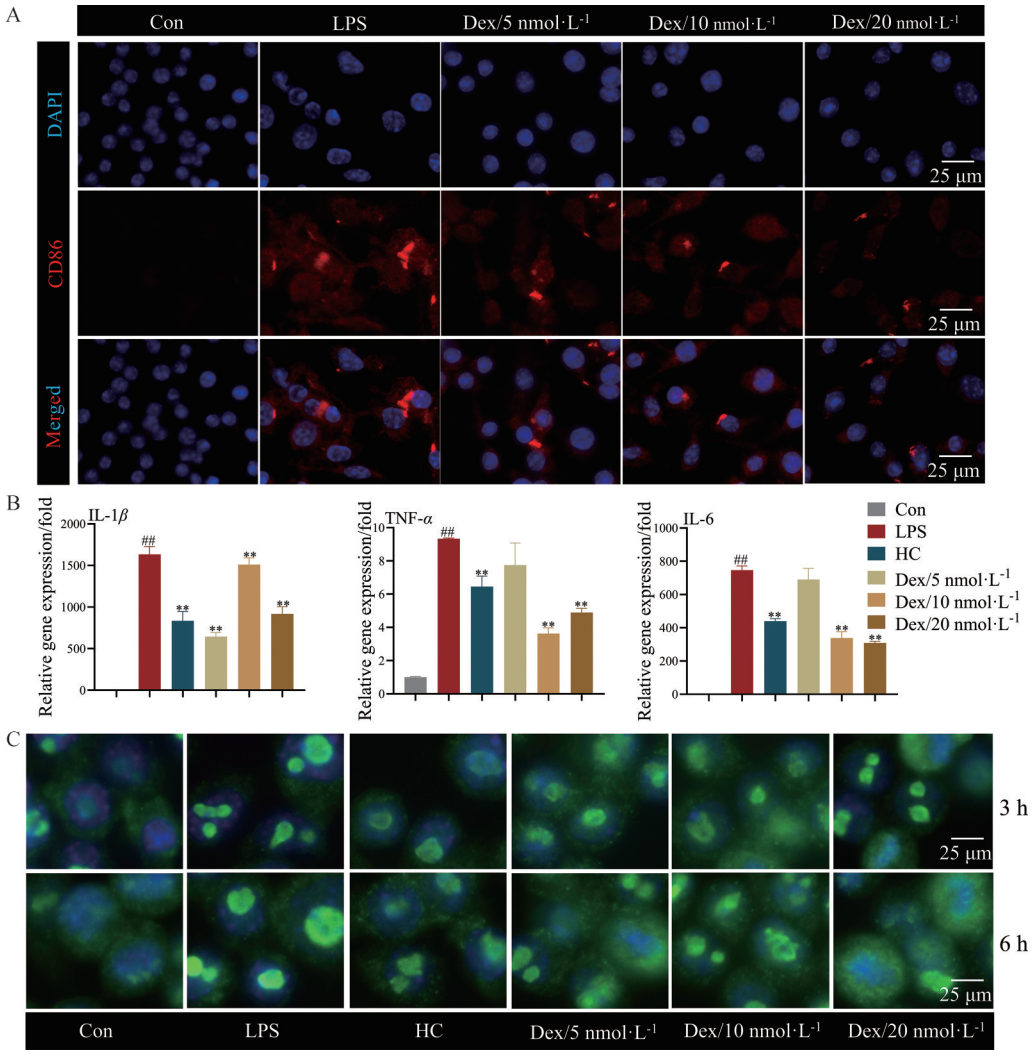


Figure 9 Effects of Dex treatment on LPS-induced NF-κB pathway activation. A: RAW264.7 cell was stained with antibodies against CD86 (red) and DAPI (blue); B: IL-1β, TNF-α and IL-6 mRNA expression in RAW264.7 cells after LPS stimulation; C: RAW264.7 cell was stained with antibodies against NF-κB-p65 (green). $n = 3$, $\bar{x} \pm s$. $^{\#\#}P < 0.01$ *vs* control; $^{**}P < 0.01$ *vs* LPS

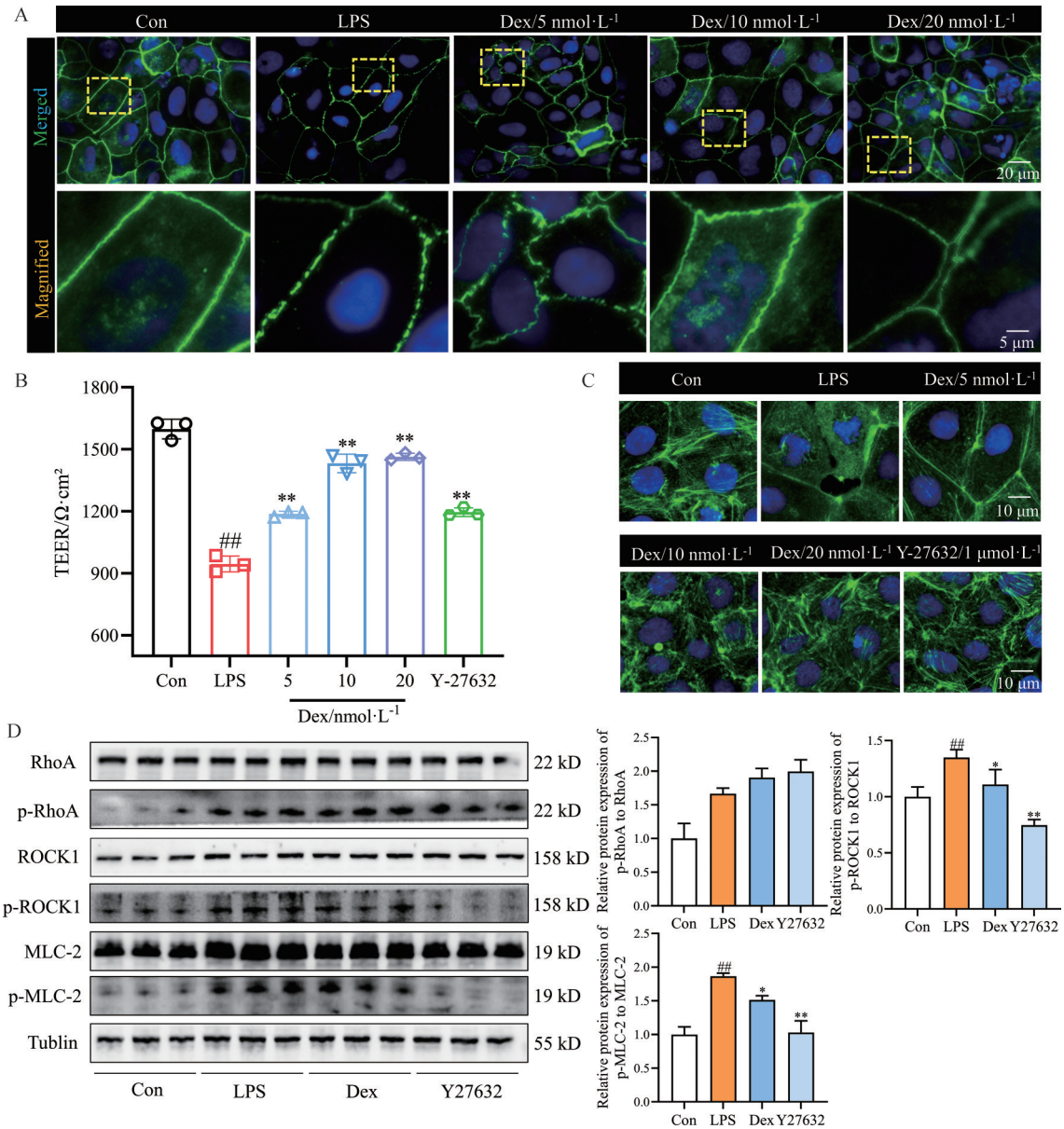


Figure 10　Effects of Dex treatment on LPS-induced RhoA-ROCK pathway activation in Caco-2 cell. A: Caco-2 cell was stained with antibodies against ZO-1 (green) and DAPI (blue); B: Caco-2 cell transmembrane resistance changes; C: Caco-2 cell was stained with antibodies against F-actin (green) and DAPI (blue); D: Western blot bands for RhoA, p-RhoA, ROCK1, p-ROCK1, MLC-2, p-MLC-2. n = 3, $\bar{x} \pm s$. $^{\#\#}P < 0.01$ *vs* control; $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ *vs* LPS

occludin、claudin-5等紧密连接蛋白的表达, 减轻肠道屏障通透性增加, 改善上皮细胞间紧密连接断裂等病理改变。该发现直接证实, 右美托咪定在脓毒症急性期可同步发挥全身及肠道局部的抗炎效应, 同时实现肠道屏障保护的作用, 通过稳定肠道上皮紧密连接结构, 阻断“炎症激活–屏障破坏–炎症放大”的恶性循环, 其作用效果与脓毒症急性期“早期干预、阻断病理进程”的救治原则契合, 凸显了右美托咪定在脓毒症急性期 (包括需外科干预的麻醉过程中) 的潜在治疗价值。

为进一步阐明右美托咪定在脓毒症急性期发挥作用的分子机制, 本研究结合体外细胞实验, 聚焦α_2-AR及NF-κB、RhoA/ROCK两大关键信号通路展开分析。其中, NF-κB通路是介导脓毒症炎症反应的核心通路, 其异常激活会驱动巨噬细胞等免疫细胞大量释放促炎因子, 加剧肠道炎症与屏障损伤[23,24]; 而RhoA/ROCK通路则直接调控肠道上皮细胞的骨架重构与紧密连接稳定性, 其过度激活是脓毒症急性期肠道屏障通透性快速增加的重要原因[25,26]。本研究发现, 脓毒症急性期小鼠肠道组织及巨噬细胞RAW264.7中α_2-AR表达显著下调, 而右美托咪定可快速逆转这一表达变化, 靶

向该受体分别抑制NF-κB通路的炎症激活与RhoA/ROCK通路的异常活化。Zhang等[27]研究也证实脓毒症脑病会导致小鼠海马体中α_2A-AR表达下降, 但右美托咪定未直接逆转该表达下降, 而是通过激活剩余的α_2A-AR介导保护效应。但脓毒症相关其他脏器损伤是否会导致α_2A-AR表达变化, 而右美托咪定能否调控其变化还需要进一步研究。

本研究证实, LPS诱导脓毒症急性炎症时, 巨噬细胞与肠道组织中α_2-AR表达显著下调, 而右美托咪定作为高选择性α_2-AR激动剂, 可逆转该下调并恢复受体水平。这种“激动剂→修复受体表达→增强自身效应”的代偿性上调, 可能存在如下原因: 一方面, 激动剂通过稳定受体蛋白、减少降解并促进ADRA2A等基因转录, 提升膜受体密度; 另一方面, 炎症可抑制α_2-AR转录与翻译, 右美托咪定通过抗炎与受体激活双重作用, 解除炎症对受体表达的压制, 形成受体修复–信号抑制–炎症缓解的正向循环。同类α_2-AR激动剂胍法辛、可乐定在神经与免疫细胞中也观察到类似的受体表达回调效应, 提示该现象并非组织或细胞特异, 而可能是α_2-AR系统在应激损伤中的共性代偿机制[28]。

本研究也存在一定局限性: 首先, 体内实验仅采用LPS诱导的脓毒症模型, 该模型虽能模拟脓毒症的急性炎症反应及肠道屏障损伤, 但其病理过程与临床脓毒症的复杂状态 (如多病原体感染、基础疾病影响、免疫功能紊乱等) 仍存在差异, 后续需结合盲肠结扎穿孔等更贴近临床的脓毒症模型, 进一步验证右美托咪定在脓毒症急性期应用的有效性; 其次, 未深入探究α_2-AR不同亚型 (α_2A、α_2B、α_2C) 在肠道组织及相关细胞中的特异性表达与作用, 右美托咪定对各亚型的选择性调控机制仍需进一步明确, 这将为优化右美托咪定在脓毒症急性期的给药方案提供更精准的靶点依据; 此外, 本研究未开展右美托咪定与脓毒症急性期其他常规治疗手段的协同作用研究, 后续可进一步探索其与抗菌、液体复苏等措施的联合应用效果, 为临床综合治疗提供更全面的实验数据。

综上, 本研究证实, 右美托咪定在脓毒症急性期可通过回调α_2-AR表达, 分别抑制NF-κB炎症通路与RhoA/ROCK屏障调控通路, 协同发挥抗炎作用并改善脓毒症小鼠的肠道屏障损伤, 明确了其在脓毒症急性期超越镇静的潜在治疗价值, 同时为外科围手术期麻醉管理与麻醉策略制定, 提供了新的理论依据。

作者贡献: 李蕾、张邦国负责实验设计与实施、结果统计与分析、撰写论文; 蒲宇、刘雨林负责部分实验设计与实施、结果统计与分析; 陈万、张继芬负责修订论文; 俸珊、易涛负责研究思路的提出、实验设计指导、修订论文。

利益冲突: 本文所有作者之间均不存在利益冲突。

References

[1] Aissaoui N, Boissier F, Chew M, et al. Sepsis-induced cardiomyopathy [J]. Eur Heart J, 2025, 46: 3339-3353.

[2] van der Poll T, van de Veerdonk FL, Scicluna BP, et al. The immunopathology of sepsis and potential therapeutic targets [J]. Nat Rev Immunol, 2017, 17: 407-420.

[3] Gotts JE, Matthay MA. Sepsis: Pathophysiology and clinical management [J]. BMJ, 2016, 353: i1585.

[4] Long B, Gottlieb M. Emergency medicine updates: Evaluation and diagnosis of sepsis and septic shock [J]. Am J Emerg Med, 2025, 90: 169-178.

[5] Xie CY, Wang XK, You XF. Research progress in drugs for treating sepsis [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2020, 55: 413-420.

[6] Rowlands BJ, Soong CV, Gardiner KR. The gastrointestinal tract as a barrier in sepsis [J]. Br Med Bull, 1999, 55: 196-211.

[7] Assimakopoulos SF, Triantos C, Thomopoulos K, et al. Gut-origin sepsis in the critically ill patient: Pathophysiology and treatment [J]. Infection, 2018, 46: 751-760.

[8] Klingensmith NJ, Coopersmith CM. The gut as the motor of multiple organ dysfunction in critical illness [J]. Crit Care Clin, 2016, 32: 203-212.

[9] Wiersinga WJ, van der Poll T. Immunopathophysiology of human sepsis [J]. EBioMedicine, 2022, 86: 104363.

[10] Jin W, Wu Y, Cheng X, et al. Epithelial gab1 restricts sepsis-induced intestinal injury by orchestrating TNF/NF-κB axis [J]. Mediators Inflamm, 2026, 2026: 5486971.

[11] Cao Y, Chai YF, Deng Y, et al. Emergency treatment guidelines for sepsis/septic shock in China (2018) [J]. Infect Inflammation Repair (感染、炎症、修复), 2019, 20: 3-22.

[12] Chinese Association of Anesthesiologists. Expert consensus on perioperative management of septic patients [J]. Chin J Anesthesiol (中华麻醉学杂志), 2015, 35: 1165-1177.

[13] Gao X, Li Z, Li Z, et al. Is dexmedetomidine superior to non-dexmedetomidine sedatives (particularly propofol) for sedation in critically ill patients with septic shock? A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials [J]. Front Med (Lausanne), 2025, 12: 1646256.

[14] Kawasaki T, Kawasaki C, Ueki M, et al. Dexmedetomidine suppresses proinflammatory mediator production in human whole blood *in vitro* [J]. J Trauma Acute Care Surg, 2013, 74: 1370-1375.

[15] He R, Wu B, Han L, et al. Activation of spinal astrocyte α_2A adrenoceptors protects against sepsis-induced heart injury through inhibition of GABAergic neuronal necroptosis [J]. Adv Sci (Weinh), 2025, 12: e04406.

[16] Mei B, Li J, Zuo Z. Dexmedetomidine attenuates sepsis-associated inflammation and encephalopathy *via* central α_2A

adrenoceptor [J]. Brain Behav Immun, 2021, 91: 296-314.

[17] Wei L, Hou SH, Zhao JK, et al. Effect of dexmedetomidine on the activation of NLRP3 inflammasome in patients with craniocerebral injury undergoing general anesthesia [J]. J Clin Exp Med (临床和实验医学杂志), 2025, 24: 2574-2577.

[18] Liang YC. Effect of Dexmedetomidine on Immune Function and Prognosis in Elderly Patients with Severe Pneumonia (右美托咪定对老年重症肺炎患者免疫功能及预后的影响)[D]. Tangshan: North China University of Science and Technology, 2023.

[19] Liu LS, Jiang CY, Hu AM. The mechanism and application value of dexmedetomidine in protecting organ function in sepsis [J]. J China Prescr Drug (中国处方药), 2024, 22: 174-177.

[20] Wang HM. Study on the effect of dexmedetomidine on inflammatory factors and S100β protein in patients with sepsis-associated encephalopathy [J]. J North Pharm (北方药学), 2024, 21: 170-172.

[21] Zhang DD, Wang N, Zhou MK, et al. Clinical analysis of different doses of dexmedetomidine on improving prognosis of patients with sepsis-related acute kidney injury [J]. J Southwest Med Univ (西南医科大学学报), 2025, 48: 650-656.

[22] Feng N, Zhang BG, Liu YL, et al. Protective effects of methylene blue on gut barrier injury in septic mice and its mechanisms [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2025, 60: 1730-1738.

[23] Li Y, Ai S, Li Y, et al. The role of natural products targeting macrophage polarization in sepsis-induced lung injury [J]. Chin Med, 2025, 20: 19.

[24] Han RD, Tian N, Sun ZG, et al. Vitamin C protects against myocardial damage induced by sepsis by regulating the JAK2/STAT3 and NF-κB signaling pathways [J]. J Surg Res, 2025, 314: 209-219.

[25] Liu L, Yue Q, Chen J, et al. Intestinal injury signaling pathway in sepsis [J]. Front Immunol, 2025, 16: 1620965.

[26] Bajgai B, Suri M, Singh H, et al. Naringin: A flavanone with a multifaceted target against sepsis-associated organ injuries [J]. Phytomedicine, 2024, 130: 155707.

[27] Zhang X, Feng Y, Zhong Y, et al. Dexmedetomidine attenuates neuroinflammation-mediated hippocampal neurogenesis impairment in sepsis-associated encephalopathy mice through central α_2A-adrenoceptor [J]. ACS Chem Neurosci, 2024, 15: 4185-4201.

[28] Munawar N, Nader J, Khadadah NH, et al. Guanfacine normalizes the overexpression of presynaptic α-2A adrenoceptor signaling and ameliorates neuropathic pain in a chronic animal model of type 1 diabetes [J]. Pharmaceutics, 2022, 14: 2146.