

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research罗哌卡因抑制小鼠脑中的 cGAS/STING 通路
减轻脓毒症相关脑病的研究

Research on the inhibition of the cGAS/STING pathway in the brain by ropivacaine alleviates sepsis – related encephalopathy in mice

林熙宇¹, 高 婕², 巩凯悦²,
陆 俐², 彭义畅³, 晁亚丽⁴,
宋成洁⁵

(1. 徐州医科大学 第二临床医学院, 江苏 徐州 221004; 2. 徐州医科大学 第一临床医学院, 江苏 徐州 221004; 3. 徐州医科大学 麻醉学院, 江苏 徐州 221004; 4. 徐州医科大学附属医院 重症监护室, 江苏 徐州 221003; 5. 徐州医科大学 基础医学院生理学教研室, 徐州市生理功能与损伤重点实验室, 江苏 徐州 221004)

LIN Xi – yu¹, GAO Jie²,
GONG Kai – yue², LU Li²,
PENG Yi – chang³, ZHAO Ya – li⁴,
SONG Cheng – jie⁵

(1. The Second Clinical School of Xuzhou Medical University, Xuzhou 221004, Jiangsu Province, China; 2. The First Clinical School of Xuzhou Medical University, Xuzhou 221004, Jiangsu Province, China; 3. School of Anesthesiology, Xuzhou Medical University, Xuzhou 221004, Jiangsu Province, China; 4. Department of Intensive Care Unit, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou Medical University, Xuzhou 221003, Jiangsu Province, China; 5. Department of physiology, School of Basic Medical Sciences, Xuzhou Key Laboratory of Physiological Function and Injury, Xuzhou Medical University, Xuzhou 221004, Jiangsu Province, China)

基金项目: 江苏省自然科学基金资助项目 (BK20231182); 博士后科学基金资助项目 (RC5052003); 徐州市卫生委员会医学研究基金资助项目 (XWKYHT20230074)

作者简介: 林熙宇 (2003 –), 男, 本科生, 主要从事儿科学方向的相关研究

通信作者: 宋成洁, 副教授

MP: 13913478280

E – mail: songcj09@xzhmu.edu.cn

摘要:目的 探究罗哌卡因对脓毒性脑病 (SAE) 模型小鼠脑胶质细胞环磷酸鸟苷 – 磷酸腺苷合酶 – 干扰素基因刺激因子 (cGAS/STING) 通路的影响, 及其相关作用机制。方法 将小鼠随机分为空白组、模型组、实验组和对照组, 每组 15 只。除空白组和对照组外, 其余 2 组用脂多糖腹腔注射法建立脓毒症小鼠模型。实验组和对照组均腹腔注射 $0.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 罗哌卡因; 空白组和模型组均腹腔注射等体积 $0.9\% \text{ NaCl}$ 。4 组小鼠每天给药 1 次, 连续给药 7 d。用 Morris 水迷宫检测小鼠脑认知功能, 用实时荧光定量聚合酶链反应法检测小鼠脑炎症因子 mRNA 水平, 用蛋白质印迹法检测小鼠脑 cGAS 和 STING 蛋白相对表达水平, 用免疫荧光染色法检测 cGAS/STING 通路相关蛋白的荧光强度相对值。**结果** 空白组、模型组、实验组和对照组的探索时间占比分别为 $(0.48 \pm 0.10)\%$ 、 $(0.23 \pm 0.05)\%$ 、 $(0.37 \pm 0.04)\%$ 和 $(0.46 \pm 0.07)\%$, 平台穿越次数分别为 (4.67 ± 0.48) 、 (1.03 ± 0.11) 、 (2.50 ± 0.65) 和 (4.99 ± 0.52) 次, 逃避潜伏时间分别为 (11.92 ± 0.98) 、 (12.49 ± 1.22) 、 (11.17 ± 1.43) 和 $(12.21 \pm 1.52) \text{ min}$, 白细胞介素 (*IL*) – 1β mRNA 相对表达水平分别为 1.00 ± 0.10 、 3.80 ± 0.28 、 1.87 ± 0.13 和 1.06 ± 0.29 , *IL* – 18 mRNA 相对表达水平分别为 1.00 ± 0.12 、 1.61 ± 0.27 、 1.06 ± 0.08 和 0.97 ± 0.05 , 肿瘤坏死因子 (*TNF*) – α mRNA 相对表达水平分别为 1.00 ± 0.13 、 2.02 ± 0.18 、 1.05 ± 0.09 和 1.13 ± 0.11 , *IL* – 6 mRNA 相对表达水平分别为 1.00 ± 0.08 、 1.56 ± 0.11 、 1.05 ± 0.09 和 0.93 ± 0.06 , cGAS 蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.08 、 1.92 ± 0.19 、 1.42 ± 0.11 和 1.03 ± 0.10 , STING 蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.12 、 2.01 ± 0.22 、 1.18 ± 0.09 和 1.08 ± 0.16 , cGAS 蛋白荧光强度相对值分别为 1.00 ± 0.18 、 1.88 ± 0.15 、 1.57 ± 0.09 和 1.03 ± 0.11 , STING 荧光强度相对值分别为 1.00 ± 0.16 、 1.79 ± 0.26 、 1.14 ± 0.06 和 1.20 ± 0.29 , 胱天蛋白酶 3 (caspase – 3) 蛋白荧光强度相对值分别为 1.00 ± 0.12 、 1.51 ± 0.08 、 1.23 ± 0.10 和 1.11 ± 0.15 。实验组和对照组的上述指标与模型组比较, 在统计学上差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。**结论** 罗哌卡因通过抑制 cGAS/STING 通路可以减轻 SAE 小鼠脑海马区胶质细胞凋亡, 对 SAE 小鼠的脑部具有保护作用。

关键词: 罗哌卡因; 脓毒性脑病; 脑胶质细胞; 环磷酸鸟苷 – 磷酸腺苷合酶 – 干扰素基因刺激因子信号通路

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.17.011

中图分类号: R971.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-6821(2025)17-2459-06

Abstract: Objective To explore the effects of ropivacaine on the cyclic guanosine monophosphate synthase interferon gene stimulating factor (cGAS/STING) pathway in glial cells of septic encephalopathy (SAE) model mice, and its related mechanisms of action. **Methods** Mice were

randomly divided into blank group, model group, experimental group and control group, with 15 mice in each group. Except for the blank group and control group, the other two groups were used to establish sepsis mouse models by intraperitoneal injection of lipopolysaccharide. The experimental group and control group were intraperitoneally injected with $0.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ropivacaine, while the blank group and model group were intraperitoneally injected with an equal volume of 0.9% NaCl. The four groups of mice were administered once a day for 7 consecutive days. The Morris water maze was used to detect the cognitive function of the mouse brain, real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction was used to detect the mRNA levels of brain inflammatory factors, Western blot was used to detect the expression levels of brain cGAS and STING proteins, and immunofluorescence staining was used to detect the expression of apoptosis-related proteins. **Results** The exploration time proportions of the blank group, model group, experimental group and control group were $(0.48 \pm 0.10)\%$, $(0.23 \pm 0.05)\%$, $(0.37 \pm 0.04)\%$ and $(0.46 \pm 0.07)\%$, respectively; the platform crossing times were (4.67 ± 0.48) , (1.03 ± 0.11) , (2.50 ± 0.65) and (4.99 ± 0.52) times, respectively; the escape latency time was (11.92 ± 0.98) , (12.49 ± 1.22) , (11.17 ± 1.43) and (12.21 ± 1.52) min, respectively; the relative expression levels of interleukin- 1β (*IL-1 β*) mRNA were 1.00 ± 0.10 , 3.80 ± 0.28 , 1.87 ± 0.13 and 1.06 ± 0.29 , respectively; the relative expression levels of *IL-18* mRNA were 1.00 ± 0.12 , 1.61 ± 0.27 , 1.06 ± 0.08 and 0.97 ± 0.05 , respectively; the relative expression levels of tumor necrosis factor (*TNF*)- α mRNA were 1.00 ± 0.13 , 2.02 ± 0.18 , 1.05 ± 0.09 and 1.13 ± 0.11 , respectively; the relative expression levels of *IL-6* mRNA were 1.00 ± 0.08 , 1.56 ± 0.11 , 1.05 ± 0.09 and 0.93 ± 0.06 , respectively; the relative expression levels of cGAS protein were 1.00 ± 0.08 , 1.92 ± 0.19 , 1.42 ± 0.11 and 1.03 ± 0.10 , respectively; the relative expression levels of STING protein were 1.00 ± 0.12 , 2.01 ± 0.22 , 1.18 ± 0.09 and 1.08 ± 0.16 , respectively; the relative fluorescence intensities of cGAS protein were 1.00 ± 0.18 , 1.88 ± 0.15 , 1.57 ± 0.09 and 1.03 ± 0.11 , respectively; the relative fluorescence intensities of STING were 1.00 ± 0.16 , 1.79 ± 0.26 , 1.14 ± 0.06 and 1.20 ± 0.29 , respectively; the relative fluorescence intensities of caspase-3 protein were 1.00 ± 0.12 , 1.51 ± 0.08 , 1.23 ± 0.10 , and 1.11 ± 0.15 , respectively. The above indexes of the experimental group and the control group were statistically different from the model group (all $P < 0.05$). **Conclusion** Ropivacaine can alleviate apoptosis of glial cells in the hippocampus of SAE mice by inhibiting the cGAS/STING pathway, and has a protective effect on the brain of SAE mice.

Key words: ropivacaine; septic encephalopathy; brain glial cell; cyclic guanosine monophosphate synthase interferon gene stimulating factor signaling pathway

脓毒性脑病 (sepsis-associated encephalopathy, SAE) 与线粒体中 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 (nucleotide-binding domain, leucine-rich repeat-containing protein 3, NLRP3) 及干扰素基因刺激因子 (stimulator of interferon genes, STING) 通路介导的炎症反应密切相关^[1]。在 SAE 环境下, 线粒体 DNA 释入胞浆, 活化环状磷酸鸟苷-磷酸腺苷合酶 (cyclic guanosine monophosphate-adenosine monophosphate synthase, cGAS), 产生环鸟苷酸-腺苷酸单磷酸, 后者诱导其产生 I 型干扰素, 出胞参与机体炎症反应^[2]。在 SAE 中, 激活的星形胶质细胞线粒体发生氧化应激障碍, 抑制线粒体复合物而引起腺苷三磷酸的下降, 活性氧大量释放, 线粒体膜完整性受到破坏, 线粒体 DNA 易被释入胞浆^[3]。研究发现, 罗哌卡因能显著改善模型小鼠的记忆功能^[4], 并通过抑制 cGAS-干扰

素基因刺激因子 (stimulator of interferon genes, STING) 通路^[5], 对脑缺血再灌注小鼠产生一定的脑保护作用^[6]。本研究旨在探究罗哌卡因对 SAE 的保护作用, 及其对 cGAS/STING 通路的影响。

材料与方法

1 材料

动物 雄性 SPF 级 C57BL/6 小鼠, 鼠龄 8 周, 体重 16~20 g, 徐州医科大学动物中心提供。本实验经徐州医科大学动物伦理委员会批准 (伦理批号: 202306T030)。实验动物生产许可证号: SCXK (苏) 2020-0011, 实验动物使用许可证号: SYXK (苏) 2020-0048。

药品与试剂 罗哌卡因, 规格: 每支 10 mg, 纯度:

99%,批号:T0386L,上海陶素生化科技有限公司生产;小鼠肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α , TNF- α)、白细胞介素(interleukin, IL)试剂盒,均购自上海酶联生物科技有限公司;兔抗 cGAS、STING、NLRP3、胱天蛋白酶 3 (caspase-3) 一抗和山羊抗兔免疫球蛋白 G 二抗,均购自英国 Abcam 公司;细胞分级试剂盒,购自上海齐源生物科技有限公司;线粒体 DNA 分离试剂盒,购自上海齐源生物科技有限公司。

仪器 LightCycler 96 实时荧光定量聚合酶链反应(real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR)仪,德国罗氏生物系统公司产品;XELx800 凝胶成像仪,杭州 Miulab 公司产品;Mini-proteantetra 垂直电泳系统,美国 Bio-Rad 公司产品。

2 实验方法

2.1 模型构建

造模组注射 $8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)溶液^[7],空白组则注射等量 0.9% 氯化钠作为对照。通过腹腔注射方式造模,并优化 LPS 纯度与配制,严格控制注射条件以确保模型稳定可靠。造模后,通过观察小鼠行为、脑组织病理变化及炎症因子水平来评估模型。神经功能通过逃避、角膜、尾部、耳郭和翻正 5 种反射来评定,每种方法反应灵敏计 2 分,减弱计 1 分,丧失计 0 分,总分 10 分^[8]。

2.2 动物分组与给药方法

将 C57BL/6 小鼠用随机数表法分为空白组、模型组、实验组和对照组,每组 15 只。除空白组和对照组外,其余 2 组均按“2.1”的方法构建 SAE 模型小鼠。给药剂量按人体表法计算,实验组和对照组均腹腔注射 $0.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 罗哌卡因^[9];空白组和模型组均给予等体积 0.9% NaCl。4 组小鼠每天给药 1 次,连续给药 7 d。

2.3 水迷宫法检测小鼠脑认知功能

准备圆形水池,分为 4 个象限,其中一个象限放置隐藏平台。向水池中加入适量水,水温维持在 22°C 左右。将小鼠头朝池壁放入水中,每天进行 4 次实验,每次间隔 20 min。记录小鼠找到平台的时间、游泳路径等。实验分为 3 个阶段:平台可见期(2 d)、平台隐藏期(5 d)和无平台探索期(1 d)。平台隐藏期,平台低于水面约 1 cm,小鼠需通过空间线索找到平台。在无平台探索期,撤去平台,记录小鼠在原平台区域的搜索时间和路径。通过分析小鼠找到平台的时间、游泳路径等指标,评估其空间学习和记忆能

力^[10]。实验过程中,需确保水温、环境安静等条件一致,以减小误差。

2.4 RT-PCR 检测小鼠脑组织炎症因子 mRNA 的相对表达水平^[11]

取小鼠脑组织后迅速液氮速冻,防止 RNA 降解。用 TRIzol 试剂裂解组织,匀浆后离心分离 RNA。通过氯仿分层、异丙醇沉淀及乙醇洗涤纯化总 RNA。测定 RNA 浓度及纯度。针对目标基因(IL-1 β 、IL-18、TNF- α 、IL-6)及内参基因 β -actin 设计特异性引物。反应体系:SYBR Green 预混液、cDNA 模板、上下游引物,设置无模板对照排除污染。扩增程序:预变性(95°C , 5 min)→40 循环扩增(95°C 变性→ 60°C 退火/延伸)→熔解曲线分析(验证产物特异性)。用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算目标基因相对表达量。

2.5 蛋白质印迹法检测 cGAS/STING 通路相关蛋白的表达水平^[12]

用三溴乙醇对小鼠进行麻醉,每 100 g 小鼠注射 2 mL。随后进行左心室穿刺与右心房切开,用 0.9% NaCl 20 mL 灌注大脑以清除血液并固定脑组织。脑组织经液氮冷冻后保存。取部分脑组织样本加入 RIPA 裂解液提取总蛋白,离心后取上清液测蛋白含量,确保实验准确性。再进行电泳实验分离蛋白,将样本加载至电泳槽,在 100 V 恒压下电泳 90 min。电泳后,将蛋白转移至膜上,并用 5% 脱脂奶粉封闭 2 h。最后用 TBST 缓冲液洗涤膜,加入稀释的 cGAS、STING 和 GAPDH 一抗, 4°C 下孵育过夜。孵育后,复温并洗涤膜,加入辣根过氧化物酶标记的二抗,室温孵育 2 h。再次洗涤后,进行显色定影处理,拍照并分析结果。

2.6 免疫荧光染色法检测 cGAS/STING 通路相关蛋白的表达水平^[1]

小鼠经三溴乙醇深度麻醉后,进行左心室穿刺并剪开右心耳,依次灌注 0.9% NaCl 与多聚甲醛溶液固定脑组织,取小鼠脑组织后,立即用 4% 多聚甲醛灌注固定,或浸泡固定(4°C 过夜),防止蛋白降解。脱水后石蜡包埋或直接制作冰冻切片(厚度 $10 \sim 20 \mu\text{m}$),贴附于防脱载玻片上。抗原修复(石蜡切片需此步):使用柠檬酸钠缓冲液(pH 6.0)或 EDTA 缓冲液(pH 9.0)进行热修复(微波或水浴加热至 95°C 维持 $15 \sim 20 \text{ min}$),冷却后 PBS 洗涤。封闭:滴加 5% BSA 或 10% 正常血清(与二抗同源)封闭 30 min(室温),阻断非特异性结合。滴加针对目标蛋白 cGAS、STING 和 Caspase-3 的抗体,稀释于封闭液中, 4°C 孵育过夜。滴加荧光标记的二抗,避光室温孵育 $1 \sim 2 \text{ h}$ 。用

Image J 软件定量荧光强度相对值。

3 统计学处理

用 SPSS 24.0 软件进行统计分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组间比较用 Student's *t* 检验,多组间比较用 One-way ANOVA 检验。

结 果

1 水迷宫法检测罗哌卡因对小鼠记忆学习能力影响

实验组和对照组均腹腔注射 $0.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 罗哌卡因;空白组和模型组均给予等体积 0.9% NaCl。

实验组小鼠的探索时间占比和平台穿越次数均显著高于模型组;逃避潜伏时间显著短于模型组,在统计学上差异均有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

表 1 各组小鼠水迷宫数据及逃避潜伏时间比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of water maze data and escape latency time among different groups of mice ($\bar{x} \pm s$)

Group	<i>n</i>	Water maze data			Water maze latency(min)				
		Time spend in target quadrant (%)	Annulus crossing	Path length (min)	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d
Blank	15	0.48 ± 0.10	4.67 ± 0.48	11.92 ± 0.98	90.00 ± 0.00	80.77 ± 0.19	69.01 ± 2.91	51.16 ± 5.27	31.44 ± 6.30
Model	15	$0.23 \pm 0.05^*$	$1.03 \pm 0.11^*$	12.49 ± 1.22	90.00 ± 0.00	88.47 ± 0.29	83.08 ± 2.83	73.22 ± 8.82	71.27 ± 9.78
Experimental	15	$0.37 \pm 0.04^{\#}$	$2.50 \pm 0.65^{\#}$	11.17 ± 1.43	90.00 ± 0.00	85.01 ± 0.24	76.63 ± 3.56	$61.50 \pm 5.74^{\#}$	$53.66 \pm 8.24^{\#}$
Control	15	0.46 ± 0.07	4.99 ± 0.52	12.21 ± 1.52	90.00 ± 0.00	80.23 ± 0.17	68.90 ± 2.18	54.40 ± 6.69	34.71 ± 5.96

Blank group; 0.9% NaCl;Model group; 0.9% NaCl;Experimental group; $0.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ropivacaine;Control group; $0.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ropivacaine; Compared with blank group, $^*P < 0.05$; Compared with model group, $^{\#}P < 0.05$.

表 2 各组小鼠脑组织炎症因子 mRNA 水平的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of mRNA levels of brain inflammatory factors in each group of mice($\bar{x} \pm s$)

Group	Relative expression of mRNA			
	<i>IL-1β</i>	<i>IL-18</i>	<i>TNF-α</i>	<i>IL-6</i>
Blank	1.00 ± 0.10	1.00 ± 0.12	1.00 ± 0.13	1.00 ± 0.08
Model	$3.80 \pm 0.28^{\Delta}$	$1.61 \pm 0.27^{\Delta}$	$2.02 \pm 0.18^{\Delta}$	$1.56 \pm 0.11^{\Delta}$
Experimental	$1.87 \pm 0.13^{\#}$	$1.06 \pm 0.08^{\#}$	$1.05 \pm 0.09^{\#}$	$1.05 \pm 0.09^{\#}$
Control	$1.06 \pm 0.09^{\#}$	$0.97 \pm 0.05^{\#}$	$1.13 \pm 0.11^{\#}$	$0.93 \pm 0.06^{\#}$

Dose and *n* refer to table 1;IL;Interleukin;TNF;Tumor necrosis factor;Compared with blank group, $^{\Delta}P < 0.05$; Compared with model group, $^{\#}P < 0.05$.

表 3 各组小鼠脑组织中环状环磷酸鸟苷-磷酸腺苷合酶(cGAS)/干扰素基因刺激因子(STING)蛋白相对表达水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of cyclic guanosine monophosphate-adenosine monophosphate synthase (cGAS) / stimulator of interferon genes (STING) protein relative expression levels in brain tissues($\bar{x} \pm s$)

Group	cGAS	STING	NLRP3	Caspase-3
Blank	1.00 ± 0.08	1.00 ± 0.12	1.02 ± 0.11	1.01 ± 0.10
Model	$1.92 \pm 0.19^*$	$2.01 \pm 0.22^*$	$2.18 \pm 0.26^*$	$1.51 \pm 0.08^*$
Experimental	$1.42 \pm 0.11^{\#}$	$1.18 \pm 0.09^{\#}$	$1.22 \pm 0.17^{\#}$	$1.33 \pm 0.19^{\#}$
Control	$1.03 \pm 0.10^{\#}$	$1.08 \pm 0.16^{\#}$	$1.02 \pm 0.07^{\#}$	$1.05 \pm 0.09^{\#}$

Dose and *n* refer to table 1; NLRP3; Nucleotide-binding domain, leucine-rich repeat-containing protein 3; Compared with blank group, $^*P < 0.05$; Compared with model group, $^{\#}P < 0.05$.

2 各组小鼠脑组织 *IL-1 β* 、*IL-18*、*TNF- α* 和 *IL-6* mRNA 水平的比较

模型组与空白组相比,小鼠的 *IL-1 β* 、*IL-18*、*TNF- α* 和 *IL-6* mRNA 相对表达水平均显著升高(均 $P < 0.05$),实验组和对照组的上述指标与模型组比较,均显著降低(均 $P < 0.05$)。结果见表 2。

3 各组小鼠脑组织中 cGAS/STING 蛋白相对表达水平的比较

模型组的 cGAS、STING、NLRP3 和 Caspase-3 蛋白相对表达水平均显著高于空白组和对照组(均 $P < 0.05$);实验组 cGAS、STING、NLRP3 和 Caspase-3 表达水平较模型组均显著降低(均 $P < 0.05$),对照组各蛋白相对表达水平与空白组比较,在统计学上差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$),见表 3 和图 1。

4 各组小鼠脑组织中 cGAS/STING 通路相关蛋白相对表达水平的比较

模型组的 cGAS、STING 和 Caspase - 3 荧光强度相对值均显著高于空白组(均 $P < 0.05$);经罗哌卡因处理后,实验组的 cGAS、STING 和 Caspase - 3 荧光强度相对值均较模型组显著降低(均 $P < 0.05$)。结果见表 4。

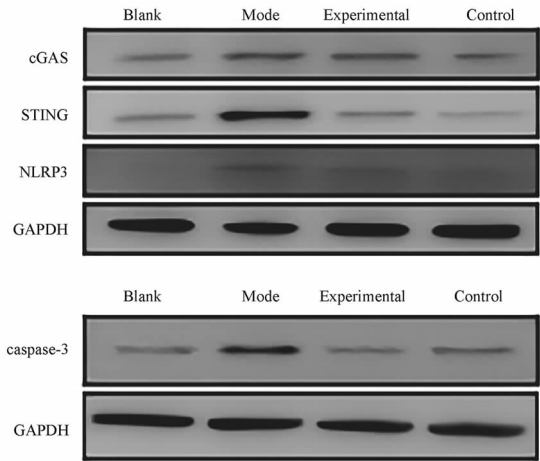


图 1 用蛋白质印迹法检测各组小鼠脑组织中 cGAS/STING 蛋白的相对表达水平

Figure 1 The relative expression levels of cGAS/STING proteins in brain tissues of mice detected by Western blotting

表 4 各组小鼠脑组织中 cGAS/STING 通路相关蛋白荧光强度相对值比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of fluorescence intensities of cGAS/STING pathway - related proteins in brain tissues of each group of mice ($\bar{x} \pm s$)

Group	cGAS	STING	Caspase - 3
Blank	1.00 ± 0.18	1.00 ± 0.16	1.00 ± 0.12
Model	1.88 ± 0.15 *	1.79 ± 0.26 *	1.51 ± 0.08 *
Experimental	1.57 ± 0.09 *#	1.14 ± 0.06 #	1.23 ± 0.10 #
Control	1.03 ± 0.11	1.20 ± 0.29	1.11 ± 0.15

Dose and n refer to table 1; Compared with blank group, * $P < 0.05$; Compared with model group, # $P < 0.05$.

讨 论

LPS 腹腔注射是构建脓毒症模型的经典方法,同时可诱导 SAE 发病^[9]。在该模型基础上,首先探讨了罗哌卡因在整体水平上对 SAE 小鼠脑功能和认知水平的保护作用,罗哌卡因属于长效酰胺类麻醉剂,在术后镇痛、神经阻滞麻醉、蛛网膜下腔阻滞、分娩镇痛等均有应用,具有作用时间长、清除率高等特点,同时具有一定的抗炎作用^[13]。WU 等^[14]研究发现,罗哌

卡因可显著抑制一氧化氮(NO)、前列腺素 E2、肿瘤坏死因子 TNF - α 、白细胞介素 IL - 6 和 IL - 1 β 的生成,以及其合成酶、诱导型 NO 合酶和环氧合酶 - 2 的表达。罗哌卡因能降低红藻氨酸引起的神经元损伤及凋亡,并显著改善模型小鼠的记忆功能^[15]。本研究的水迷宫实验进一步证实了这一点。在水迷宫试验中,SAE 组小鼠目标象限停留时间较空白组缩短,穿越平台次数减少,逃避潜伏时间延长,而实验组小鼠上述指标较模型组小鼠均降低,与本实验结果保持一致。

与空白组小鼠相比,模型组小鼠的 IL - 1 β 、IL - 18、TNF - α 和 IL - 6 mRNA 相对水平显著升高,可见罗哌卡因处理显著降低了 IL - 1 β 、IL - 18、TNF - α 和 IL - 6 mRNA 的相对表达水平。罗哌卡因可通过控制氧化应激抑制高糖诱导的脑微血管内皮损伤^[16]。有研究显示,罗哌卡因可以通过抑制 cGAS/STING 通路,对脑缺血再灌注小鼠产生一定的脑保护作用^[17]。而罗哌卡因在 SAE 小鼠脑组织中是否可以发挥同样作用,则仍需进一步研究。脓毒性脑病的发生与 NLRP3 及 STING 通路介导的炎症反应密切相关,其中,由 NLRP3 和 STING 通路在激活 SAE 炎症中扮演着核心的角色^[18]。实验显示,LPS 可显著上调小鼠脑中 cGAS 和 STING 表达,而罗哌卡因可以显著减轻这一过程,而实验组 NLRP3 炎症小体相关蛋白的表达对比模型组则无明显降低。研究表明,罗哌卡因可通过 cGAS/STING 信号通路抑制下游炎症因子的表达,提示 SAE 损伤后,罗哌卡因抑制了 cGAS/STING 信号通路的激活,缓解 SAE 损伤。

本实验探索了罗哌卡因对 SAE 损伤的神经保护作用及其对 SAE 损伤后 cGAS/STING 信号通路、小胶质细胞的影响进行初步探索,并成功证实罗哌卡因对该通路的抑制作用。然而,实验也存在一些局限性,如样本量少、未用 cGAS/STING 相关基因敲除、自噬基因敲除的小鼠对实验的深入机制明确阐明,这也将是本研究后续的研究重点。

本研究提示:罗哌卡因通过抑制 cGAS/STING 信号通路显著减轻小鼠模型中 SAE。通过减少海马体中促炎细胞因子的表达和减少细胞凋亡,罗哌卡因不仅可以改善认知功能,还可以提高 SAE 小鼠的存活率。

参考文献:

[1] YANAN X, JILIN Y, HAIYANG T, *et al.* HMGB1 augments cognitive impairment in sepsis - associated encephalopathy by binding to MD - 2 and promoting NLRP3 - induced neuroinflammation [J]. *Psychogeriatrics*, 2021, 22(2): 167—179.

[2] JIAN S, HUAN X, JOSE M C, *et al.* Blocking HMGB1/RAGE

- signaling by berberine alleviates A1 astrocyte and attenuates sepsis – associated encephalopathy [J/OL]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 760186. 2021 – 11 – 15 [2024 – 10 – 26]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34867376/>.
- [3] VAN DER POLL T, SHANKAR – HARI M, WIERSINGA W J. The immunology of sepsis [J]. *Immunity*, 2021, 54(11):2450–2464.
- [4] EVANS L, RHODES A, ALHAZZANI W, et al. Surviving sepsis campaign: International guidelines for management of sepsis and septic shock 2021 [J/OL]. *Crit Care Med*, 2021, 49 (11): e1063–e1143. 2021 – 11 – 01 [2024 – 10 – 26]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34605781/>.
- [5] ROJAS – COLÓN L A, DASH P K, MORALES – VÍAS F A, et al. 4R – cembranoid confers neuroprotection against LPS – induced hippocampal inflammation in mice [J]. *J Neuroinflammation*, 2021, 18(1):95.
- [6] CHUNG H Y, WICKEL J, BRUNKHORST M F, et al. Sepsis – associated encephalopathy: From delirium to dementia? [J]. *J Clin Med*, 2020, 9(3):703.
- [7] 童爱群. Morris 水迷宫训练对慢性氟中毒脑损害大鼠模型学习记忆能力及海马组织的影响分析[J]. *中国地方病防治*, 2022, 37(4):289–290.
- [8] 周巧. 长链胸腺基质淋巴细胞生成素减轻脂多糖诱导的脓毒症脑病及其机制研究[D]. 湖北 武汉:华中科技大学, 2022.
- [9] GU M, MEI X L, ZHAO Y N. Sepsis and cerebral dysfunction: BBB damage, neuroinflammation, oxidative stress, apoptosis and autophagy as key mediators and the potential therapeutic approaches [J]. *Neurotox Res*, 2020, 39(2):489–503.
- [10] ANDERSEN C R, WOLF J, JENNINGS K, et al. Accelerated failure time survival model to analyze morris water maze latency data [J]. *J Neurotrauma*, 2021, 38(4):435–445.
- [11] 易剑波. 脑出血后血肿周围组织炎症反应中 HO – 1, TNF – α 及 IL – 1 β 因子的表达变化[D]. 广西 南宁:广西中医药大学, 2018.
- [12] 李莉, 华再东, 任红艳, 等. 三溴乙醇对小鼠麻醉效果的研究 [J]. *湖北农业科学*, 2015, 54(24):6328–6329.
- [13] MAQUSOOD S, MADAVI S, BELE A, et al. Pharmacological insights of ropivacaine and clinical applications: A narrative review [J]. *Cureus*, 2024, 16(8): e67565. 2024 – 08 – 23 [2025 – 10 – 26]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39310634/>.
- [14] WU L, LI L, WANG F, et al. Anti – inflammatory effect of local anaesthetic ropivacaine in lipopolysaccharide – stimulated RAW264.7 macrophages [J]. *Pharmacology*, 2019, 103(5–6): 228–235.
- [15] MAZERAUD A, RIGHY C, BOUCHEREAU E, et al. Septic – associated encephalopathy: A comprehensive review [J]. *Neurotherapeutics*, 2020, 17(2):392–403.
- [16] HO G T, AIRD R E, LIU B, et al. MDR1 deficiency impairs mitochondrial homeostasis and promotes intestinal inflammation [J]. *Mucosal Immunol*, 2018, 11(1):120–130.
- [17] VENET F, RIMMELÉ T, MONNERET G. Management of sepsis – induced immunosuppression [J]. *Crit Care Clin*, 2018, 34(1):97–106.
- [18] SLITER D A, MARTINEZ J, HAO L, et al. Parkin and PINK1 mitigate STING – induced inflammation [J]. *Nature*, 2018, 561(7722):258–262. (收稿日期 2024 – 11 – 20)

· 科学文摘 ·

MM120 单药治疗广泛性焦虑症的随机临床研究

引自: REID R, et al. Single treatment with MM120 (Lysergide) in generalized anxiety disorder: A randomized clinical trial [J]. *JAMA*, 2025, 34(15):1358–1372.

本研究为一项 2b 期、多中心、随机、双盲、安慰剂对照研究, 2022 年 8 月至 2023 年 8 月纳入了在美国 22 个门诊精神病学研究点, 主要诊断为 GAD, 表现为中度至重度症状的 18 至 74 岁成年受试者。末次随访时间为 2023 年 11 月 27 日。受试者随机接受单次治疗剂量的 MM120 [25 μg ($n=39$)、50 μg ($n=40$)、100 μg ($n=40$) 或 200 μg ($n=40$)] 或安慰剂 ($n=39$)。主要观察指标为 4 周时 HAM – A 评分变化的剂量 – 效应关系, 用多重比较程序建模 (multi – criteria programming mode, MCP – Mod) 方法进行评估。198 名被随机分组的受试者中, 194 人进入全分析集, 年龄为 (41.3 $\pm$ 13.6) 岁; 女性为 56.7%; 亚裔为 3.6%, 黑人或非裔美国人为 7.7%, 白人为 83.0%。100 μg 的最小二乘平均差为 –5.0 分 [95% 置信区间 (confidence interval, CI) –9.6 ~ 0.4 分], 200 μg 为 –6.0 分 (95% CI, –9.8 ~ 2.0 分), 100 μg 和 200 μg 剂量组与安慰剂比较, 第 4 周 HAM – A 评分变化的剂量 – 效应关系在统计学上差异均有统计学意义; 25 μg 为 –1.2 分 (95% CI, –6.0 ~ 3.5 分), 25 μg 为 –1.8 分 (95% CI, –7.6 ~ 4.0 分), 25 μg 和 50 μg 剂量组与安慰剂相比, 在统计学上差异均无统计学意义。药物不良反应与 MM120 的预期疗效一致。最常见的药物不良事件是视知觉改变 (幻觉、假性幻觉和视幻觉), 其在 25 μg 组发生率为 46.2%, 在 50 μg 组为 75.0%, 在 100 μg 组为 92.5%, 在 200 μg 组为 100%, 在安慰剂组为 10.3%。在中重度 GAD 患者中, 单剂量 MM120 可产生剂量依赖性的焦虑降低。这些结果支持 MM120 的剂量依赖性疗效, 并为第 3 阶段关键试验的剂量选择提供信息。