

富马酸奥赛利定通过TLR4/NF- κ B通路改善老年大鼠术后认知功能障碍的作用及机制^Δ

谢 栋^{1*}, 耿晓颖², 朱屿珊³, 李正翔¹, 袁恒杰^{1#} (1. 天津医科大学总医院药剂科, 天津 300052; 2. 天津二七二医院药剂科, 天津 300020; 3. 天津医科大学药学院, 天津 300070)

中图分类号 R965;R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2026)11-1434-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2026.11.09



摘要 目的 基于Toll样受体4(TLR4)/核因子- κ B(NF- κ B)通路探究富马酸奥赛利定(TRV130)改善老年大鼠术后认知功能障碍(POCD)的作用及机制。方法 将大鼠随机分为对照组(生理盐水)、模型组(生理盐水)、TRV130组(2.8 mg/kg)、TLR4/NF- κ B通路抑制剂(TAK-242)组(3 mg/kg)、 β -抑制蛋白抑制剂(Barbadin)组(3 mg/kg)和传统阿片类药物(吗啡)组(2.8 mg/kg),每组15只。除对照组外,其余各组均构建POCD模型。从术后第1天起,尾静脉注射给药/生理盐水,每天1次,连续3 d。末次给药后,观察海马组织病理损伤情况;检测大鼠认知功能,血清中炎症因子水平,海马神经元凋亡率,海马组织中离子钙结合适配器分子1(Iba-1)、胶质纤维酸性蛋白(GFAP)和TLR4/NF- κ B通路相关mRNA及其蛋白表达。结果 模型组大鼠海马CA1区神经元排列紊乱、稀疏,数量减少,核固缩碎裂伴炎症细胞浸润。与对照组比较,模型组大鼠逃避潜伏期,肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素6(IL-6)、IL-1 β 水平,海马神经元凋亡率,海马组织中Iba-1、GFAP平均荧光强度和TLR4、NF- κ B p65 mRNA表达水平及其蛋白表达/磷酸化水平均显著延长/升高($P<0.05$);目标象限停留时间、穿越平台次数均显著缩短/减少($P<0.05$)。与模型组比较,TRV130组、TAK-242组、Barbadin组大鼠认知功能、病理学、炎症及凋亡相关指标均显著改善($P<0.05$);TRV130组、TAK-242组大鼠TLR4、NF- κ B p65 mRNA表达水平及其蛋白表达/磷酸化水平均显著降低($P<0.05$)。结论 TRV130可能通过抑制TLR4/NF- κ B通路,减轻术后中枢神经炎症反应,进而改善老年大鼠POCD。

关键词 富马酸奥赛利定;老年大鼠;术后认知功能障碍;TLR4/NF- κ B通路;神经炎症

Effects and mechanisms of oliceridine fumarate on postoperative cognitive dysfunction in elderly rats through TLR4/NF- κ B pathway

XIE Dong¹, GENG Xiaoying², ZHU Yushan³, LI Zhengxiang¹, YUAN Hengjie¹ (1. Dept. of Pharmacy, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China; 2. Dept. of Pharmacy, Tianjin 272 Hospital, Tianjin 300020, China; 3. School of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To investigate the effects and mechanisms of oliceridine fumarate (TRV130) in improving postoperative cognitive dysfunction (POCD) in elderly rats based on the Toll-like receptor 4 (TLR4)/nuclear factor- κ B (NF- κ B) pathway. **METHODS** Rats were randomly divided into the control group (normal saline), the model group (normal saline), the TRV130 group (2.8 mg/kg), the TLR4/NF- κ B pathway inhibitor (TAK-242) group (3 mg/kg), the β -arrestin inhibitor (Barbadin) group (3 mg/kg), and the traditional opioid drug (morphine) group (2.8 mg/kg), with 15 rats in each group. Except for the control group, POCD models were established in all other groups. From the first day after surgery, drugs/normal saline were administered via caudal vein injection once daily for 3 consecutive days. After the last administration, the pathological damage of hippocampal tissue was observed; the cognitive function, serum inflammatory factor levels, hippocampal neurons apoptosis rate, and the expression of ionized calcium-binding adapter molecule 1 (Iba-1), glial fibrillary acidic protein (GFAP), and TLR4/NF- κ B pathway-related mRNA and protein in hippocampal tissue were detected. **RESULTS** In the model group, the neurons in the CA1 region of the hippocampus were disordered and sparse, with decreased number, pyknotic and fragmented nuclei accompanied by inflammatory cell infiltration. Compared with the control group, the escape latency, serum levels of tumor necrosis factor α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), and IL-1 β , hippocampal neurons apoptosis rate, average fluorescence intensities of Iba-1 and GFAP, mRNA expression levels of TLR4 and NF- κ B p65, and their protein expression/phosphorylation levels in hippocampal tissue were significantly increased/elevated in the model group ($P<0.05$); the time spent in the target quadrant and the number of platform crossings were significantly shortened/decreased ($P<0.05$). Compared with the model group, the cognitive function, pathological, inflammatory, and apoptosis-related indicators were significantly improved in the TRV130 group, TAK-242 group, and Barbadin group ($P<0.05$); the mRNA expression levels of TLR4 and NF- κ B p65 and their protein expression/phosphorylation levels were significantly decreased in the TRV130 group and TAK-242 group ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** TRV130 may improve

^Δ 基金项目 白求恩公益基金会天津药学院中青年科研项目 (No. TJYX2024-01)

* 第一作者 副主任药师。研究方向:临床药学、临床药理学。
E-mail: xiedongsuper@163.com

通信作者 主任药师。研究方向:临床药学、神经药理学。
E-mail: hengjieyuan@163.com

POCD in elderly rats by inhibiting the TLR4/NF- κ B pathway and alleviating postoperative central nervous system inflammatory responses.

KEYWORDS oliceridine fumarate; elderly rats; postoperative cognitive dysfunction; TLR4/NF- κ B pathway; neuroinflammation

术后认知功能障碍(postoperative cognitive dysfunction, POCD)是老年患者术后常见的并发症,以焦虑、记忆损伤等为主要表现,可影响手术疗效并延长康复进程^[1]。POCD的发生与高龄、手术创伤及麻醉时长等密切相关,被认为是术中物理损伤、创伤应激与术后阿片类药物不良反应共同作用的结果^[2],但具体机制尚未明确。临床中,阿片类药物(如芬太尼、吗啡)因具有强效镇痛作用被广泛用于术后镇痛和麻醉^[3]。传统阿片类药物的镇痛效应主要由 μ 阿片受体(μ -opioid receptor, MOR)激活介导,但MOR激活后会介导 β -抑制蛋白(β -arrestin)通路,该通路正是阿片类药物产生恶心、呕吐等不良反应,乃至诱发中枢神经炎症、促进POCD进展的核心环节^[4]。为控制上述风险,临床常限制阿片类药物的用量,但这又会导致部分患者术后镇痛效果不理想,而延长用药时间更是会威胁患者健康^[5]。当前,兼具强效镇痛与低认知损伤特性的新型阿片类药物在临床应用领域仍属空白。因此,研发对认知功能影响较小的新型阿片类药物具有重要临床意义。

富马酸奥赛利定(oliceridine fumarate, TRV130)是一类具有G蛋白偏向性特征的MOR激动剂。相较于吗啡,TRV130在 β -arrestin招募、受体内化程度上更弱,对G蛋白通路具有更高选择性^[6]。TRV130可在实现有效镇痛的同时,降低传统阿片类药物(如吗啡)的特定不良反应发生率^[7]。例如,Beard等^[8]的Ⅲ期临床试验汇总结果显示,与吗啡组相比,TRV130组术后呕吐发生率及补救止吐药使用率降低。然而,其对阿片类药物相关中枢不良反应(如认知功能影响)的改善作用,目前尚未有明确研究报道。并且,目前TRV130的临床定位主要为术后镇痛,其是否对术后认知功能具有改善作用,尚缺乏系统研究。TRV130能否通过减少阿片类药物相关的认知功能损害而间接降低POCD发生风险,值得深入探索。

Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)/核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)是调控神经炎症的关键信号通路。已有研究表明,TLR4/NF- κ B通路的激活与七氟烷诱导的大鼠POCD进展密切相关^[9],抑制该通路可改善POCD大鼠术后认知功能。值得注意的是, β -arrestin通路不仅可以直接介导阿片类药物消化道不良反应,还可以作为支架蛋白参与TLR4/NF- κ B通路的激活,从而协同加剧中枢神经炎症反应^[10]。但TRV130能否调控TLR4/NF- κ B通路改善老年大鼠POCD,目前尚不清楚。基于此,本研究拟通过构建老年大鼠POCD模型,基于TLR4/NF- κ B通路探讨TRV130改善POCD的作用及机制,以为POCD的防治提供新的药物靶点和理论依据,并为临床合理用药提供实验支持。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用的主要仪器有:SpectraMax i3x型多功能酶标仪(美国Molecular Devices公司)、MX63型显微镜(日本Olympus公司)、LSM 900型激光共聚焦显微镜(德国Zeiss公司)、Tanon mini2000型凝胶成像仪(上海天能科技有限公司)。

1.2 主要药品与试剂

TRV130注射液(批号202503,规格1 mL:1 mg)购自江苏恩华药业股份有限公司;TLR4/NF- κ B通路抑制剂TAK-242(批号LZ-01X10990,纯度 $\geq 99.95\%$)购自上海联祖生物科技有限公司; β -arrestin抑制剂Barbadin(批号HY-119706,纯度 $\geq 98.93\%$)购自美国MCE公司;吗啡(批号202406,纯度98.0%)购自西南药业股份有限公司;反转录试剂盒(批号F0202)购自北京兰博利德商贸有限公司;肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素6(interleukin-6, IL-6)、IL-1 β 酶联免疫吸附分析(ELISA)试剂盒(批号分别为GN-R31092、GN-R30201、GN-R30172)均购自上海盖宁生物科技有限公司;兔抗鼠离子钙结合适配器分子1(ionized calcium-binding adapter molecule 1, Iba-1)、胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)、TLR4、磷酸化NF- κ B p65(p-NF- κ B p65)、NF- κ B p65、 β -肌动蛋白(β -actin)—抗及荧光素Alexa Fluor 488标记的羊抗兔免疫球蛋白G(IgG)二抗、辣根过氧化物酶标记的羊抗兔IgG二抗(批号分别为ab5076、ab7260、ab217274、ab86299、ab246347、ab8227、ab150077、ab205718)均购自英国Abcam公司。

1.3 动物

20月龄的SPF级雄性SD大鼠由浙江维通利华实验动物技术有限公司提供,体重为550~600 g,生产许可证号为SCXK(浙)2024-0001。所有大鼠分笼饲养于温度(22 $\pm$ 2) $^{\circ}$ C、相对湿度(50 $\pm$ 5)%、12 h明/12 h暗交替的SPF级实验动物房中,饲养期间大鼠自由进食和饮水。大鼠适应性饲养1周后进行后续实验。本研究获得天津医科大学总医院实验动物福利伦理委员会批准(编号:IRB2025-DW-23)。

2 方法

2.1 POCD大鼠模型的构建与分组

将大鼠随机分为对照(Control)组、模型(POCD)组、TRV130组、TAK-242组、Barbadin组和传统阿片类药物(吗啡)组,每组15只。除Control组外,其余各组大鼠在七氟烷吸入麻醉后,经腹部正中3 cm切口行左肾切除术,并吸入4%七氟烷/氧气(2 L/min, 3 h)建立POCD模型^[11];Control组大鼠仅暴露左肾但不切除,其余操作同

其他组。造模成功标准为:水迷宫行为学检测大鼠逃避潜伏期显著延长,目标象限停留时间、穿越平台次数均显著缩短/减少^[12]。术后各组大鼠均腹腔注射16 U/kg青霉素预防感染。从术后第1天开始,TRV130组^[13]、TAK-242组^[14]、Barbadin组^[15]、吗啡组^[13]大鼠分别尾静脉注射对应药物(剂量依次为2.8、3、3、2.8 mg/kg),Control组、POCD组大鼠同法给予等体积生理盐水,每天1次,连续3 d。

2.2 认知功能检测

大鼠在末次给药后,接受连续5 d的Morris水迷宫训练。训练时将圆形水池分为4个等大象限,内部设逃生平台。首日开展引导性游泳:大鼠按A、B、C、D顺序从各象限入水,90 s内游至平台的时长为逃避潜伏期;之后每日随机更换入水象限,未在规定时间内找到平台则逃避潜伏期按90 s记。第5天进行隐藏平台测试:将大鼠从远离平台处入水,记录90 s内到达原平台的时间,用于评估空间学习记忆能力;同时移除平台,记录大鼠在原平台所在象限的停留时间(即目标象限停留时间)及穿越平台次数,以进一步评估大鼠的空间记忆能力。

2.3 血清中炎症因子水平检测

水迷宫实验完成后,腹腔注射戊巴比妥钠麻醉大鼠,取腹主动脉血,离心获取上清液。按照ELISA试剂盒说明书方法操作,检测血清中TNF-α、IL-6、IL-1β水平。

2.4 组织样本制备及海马组织病理损伤观察

采血结束后,断头处死大鼠,冰上分离大鼠海马组织并去除结缔组织。将海马组织均分为3份(每份包含5只大鼠组织):将其中2份海马组织立即置于-80℃冰箱中冷冻保存,用于后续免疫荧光、qRT-PCR、Western blot实验;将剩余的1份海马组织置于4%多聚甲醛中固定,经梯度脱水、石蜡包埋后制备成连续切片(厚5 μm)。取部分切片,常规行苏木精-伊红(HE)染色后,采用显微镜观察海马组织病理损伤。

2.5 海马神经元凋亡检测

采用TUNEL染色法检测。取“2.4”项下剩余海马组织切片,经脱蜡至水、蛋白酶K修复后,滴加TUNEL反应液孵育,经DAB显色、苏木精复染、透明后,封片,采用光学显微镜观察并计算海马神经元凋亡率。凋亡细胞特征为细胞核呈棕黄色或棕褐色颗粒状着色,细胞核固缩、深染,染色质凝聚或碎裂成块状,部分细胞可见凋亡小体形成;正常细胞核呈蓝色。随机选取不重叠视野,使用Image J软件计数每个视野内TUNEL阳性细胞数和总细胞数,并计算海马神经元凋亡率。海马神经元凋亡率(%)=TUNEL阳性细胞数/总细胞数×100%。

2.6 海马组织中Iba-1、GFAP表达检测

取“2.4”项下冻存的海马组织,梯度脱水后,制成冰冻切片(厚20 μm),切片在室温下复温30 min;以4℃丙酮固定15 min、0.3% Triton X-100通透20 min,再以5%山羊血清封闭1 h后,滴加Iba-1(稀释比例为1:200)、GFAP(稀释比例为1:200)一抗,在4℃下孵育过夜;次

日复温后加荧光二抗(稀释比例为1:500),在37℃下孵育1 h;DAPI染核5 min,封片后,采用激光共聚焦显微镜对切片进行观察。Iba-1阳性表达呈红色荧光,定位于小胶质细胞的细胞质;GFAP阳性表达呈红色荧光,定位于星形胶质细胞的细胞质及突起;细胞核经DAPI染色呈蓝色。采用Image J软件测定相应的荧光强度。

2.7 海马组织中TLR4、NF-κB p65 mRNA表达检测

取“2.4”项下冻存的海马组织,采用Trizol法提取组织中总RNA,检测其浓度和纯度后,根据反转录试剂盒说明书操作,将RNA反转录为cDNA,并以cDNA为模板进行PCR扩增。PCR反应体系为(20 μL):SYBR Green qPCR Master Mix 10 μL,正、反向引物(10 μmol/L)各0.8 μL,cDNA模板2 μL,无RNase水6.4 μL。扩增条件为:95℃预变性30 s;95℃变性5 s,60℃退火30 s,72℃延伸30 s,共40个循环。以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)为内参,采用2^{-ΔΔCt}法计算TLR4、NF-κB p65 mRNA表达水平。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司设计并合成,引物序列及扩增产物大小见表1。

表1 qRT-PCR引物序列及扩增产物大小

基因	正向引物序列(5'→3')	反向引物序列(5'→3')	扩增产物大小/bp
TLR4	CTCCCTGGTGTGGAAITTTACG	CTCGTTTTCTCCACCGAGTCTCA	226
NF-κB p65	CAGATACACCAAGAGCGCAGCCC	CTCCAGGTCTCGCTTTTCACA	227
GAPDH	CTGGAGAAACCTGCCAAGTATG	GGTGGAAATGGGGTTTCTGGTCT	138

2.8 海马组织中TLR4/NF-κB通路相关蛋白表达检测

取“2.7”项下剩余海马组织,以放射免疫沉淀裂解缓冲液裂解处理来提取蛋白,完成蛋白浓度测定后,取等量蛋白(30 μg)与5×上样缓冲液混匀,100℃煮沸10 min变性;蛋白经10%SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离(浓缩胶电压为80 V、分离胶电压为120 V,电泳时间约90 min)后,将蛋白转印(恒流250 mA,冰浴中转膜时间为120 min)至0.22 μm聚偏二氟乙烯膜上,将膜与5%脱脂牛奶反应1 h;加入TLR4(稀释比例为1:1 000)、p-NF-κB p65(稀释比例为1:1 000)、NF-κB p65(稀释比例为1:1 000)、β-actin(稀释比例为1:5 000)一抗,在4℃下孵育过夜;加入二抗(稀释比例为1:5 000),室温孵育2 h;添加显色液完成显影后,采用Image J软件对条带灰度值进行分析,以目的蛋白与内参(β-actin)蛋白条带灰度值的比值表示目的蛋白表达水平,以磷酸化蛋白与未磷酸化蛋白条带灰度值的比值表示该蛋白的磷酸化水平。

2.9 统计学方法

采用SPSS 25.0软件进行统计分析。本研究数据经Shapiro-Wilk检验验证符合正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示;多组间比较采用单因素方差分析,进一步的组间两两比较采用SNK-*q*检验。检验水准α=0.05。

3 结果

3.1 大鼠认知功能检测结果

与Control组比较,POCD组大鼠逃避潜伏期显著延长($P<0.05$),目标象限停留时间、穿越平台次数均显著

缩短/减少 ($P<0.05$) ; 与 POCD 组比较, TRV130 组、TAK-242 组、Barbadin 组大鼠逃避潜伏期均显著缩短 ($P<0.05$), 目标象限停留时间、穿越平台次数均显著延长/增加 ($P<0.05$), 吗啡组大鼠上述指标差异均无统计学意义 ($P>0.05$); TAK-242 组与 TRV130 组比较, 上述指标差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。结果见表 2。

表 2 各组大鼠逃避潜伏期、目标象限停留时间、穿越平台次数比较($\bar{x} \pm s, n=15$)

组别	逃避潜伏期/s	目标象限停留时间/s	穿越平台次数/次
Control 组	23.14±6.12	32.56±3.31	4.13±0.42
POCD 组	69.73±7.01 ^a	15.32±2.17 ^a	1.25±0.23 ^a
TRV130 组	32.15±3.31 ^b	28.47±3.14 ^b	3.89±0.39 ^b
TAK-242 组	35.79±6.39 ^b	26.83±3.05 ^b	3.97±0.41 ^b
Barbadin 组	48.36±6.73 ^b	21.05±2.81 ^b	2.64±0.34 ^b
吗啡组	69.63±6.85	15.18±2.13	1.81±0.28

a: 与 Control 组比较, $P<0.05$; b: 与 POCD 组比较, $P<0.05$ 。

3.2 大鼠血清中炎症因子水平检测结果

与 Control 组比较, POCD 组大鼠血清中 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平均显著升高 ($P<0.05$) ; 与 POCD 组比较, TRV130 组、TAK-242 组、Barbadin 组大鼠血清中 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平均显著降低 ($P<0.05$), 吗啡组大鼠血清中上述指标差异均无统计学意义 ($P>0.05$) ; TAK-242 组与 TRV130 组比较, 上述指标差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。结果见表 3。

表 3 各组大鼠血清中炎症因子水平比较($\bar{x} \pm s, n=15$, pg/mL)

组别	TNF- α	IL-6	IL-1 β
Control 组	21.36±4.33	13.26±3.96	8.59±3.55
POCD 组	51.06±5.23 ^a	45.92±4.63 ^a	46.15±4.72 ^a
TRV130 组	27.85±4.75 ^b	20.35±4.12 ^b	16.33±4.03 ^b
TAK-242 组	28.63±4.86 ^b	21.17±4.15 ^b	17.25±4.22 ^b
Barbadin 组	35.91±5.01 ^b	29.88±4.30 ^b	28.42±4.39 ^b
吗啡组	50.97±5.14	45.77±4.59	46.10±4.63

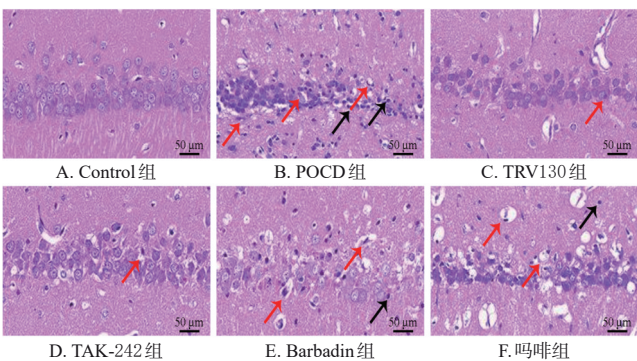
a: 与 Control 组比较, $P<0.05$; b: 与 POCD 组比较, $P<0.05$ 。

3.3 大鼠海马组织病理损伤观察结果

Control 组大鼠海马 CA1 区神经元结构清晰、排列整齐紧密, 细胞形态正常, 未见明显水肿、变性炎症细胞浸润; POCD 组大鼠海马 CA1 区神经元排列紊乱、稀疏, 数量明显减少, 细胞核固缩深染或碎裂, 核仁消失, 可见明显炎症细胞浸润; TRV130 组、TAK-242 组大鼠海马组织病理损伤较 POCD 组均显著改善; Barbadin 组大鼠海马组织的病理损伤程度介于 POCD 组与 TRV130 组、TAK-242 组之间; 吗啡组大鼠海马组织的病理损伤程度与 POCD 组相近; TAK-242 组与 TRV130 组比较, 病理损伤程度无差异。结果见图 1。

3.4 大鼠海马神经元凋亡检测结果

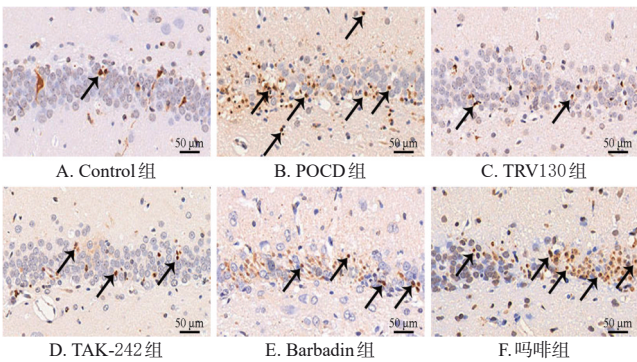
与 Control 组 [(7.23±2.17)%, $n=5$ (下同)] 比较, POCD 组大鼠海马神经元凋亡率 [(28.61±2.90)%] 显著升高 ($P<0.05$) ; 与 POCD 组比较, TRV130 组、TAK-242 组、Barbadin 组大鼠海马神经元凋亡率 [分别为 (12.62±2.51)%、(13.14±2.65)%、(19.73±2.73)%] 均显著降低



注: 红色箭头所指为损伤的神经元; 黑色箭头所指为炎症细胞。

图 1 各组大鼠海马组织病理损伤情况观察的显微图 (HE 染色)

($P<0.05$), 吗啡组大鼠海马神经元凋亡率 [(28.56±2.87)%] 差异无统计学意义 ($P>0.05$) ; TAK-242 组与 TRV130 组比较, 上述指标差异无统计学意义 ($P>0.05$)。结果见图 2。



注: 黑色箭头所指为凋亡的神经元。

图 2 各组大鼠海马神经元凋亡情况比较 (TUNEL 染色)

3.5 大鼠海马组织中 Iba-1、GFAP 表达检测结果

与 Control 组比较, POCD 组大鼠海马组织中 Iba-1、GFAP 平均荧光强度均显著升高 ($P<0.05$) ; 与 POCD 组比较, TRV130 组、TAK-242 组、Barbadin 组大鼠海马组织中 Iba-1、GFAP 平均荧光强度均显著降低 ($P<0.05$), 吗啡组大鼠海马组织中上述指标差异均无统计学意义 ($P>0.05$) ; TAK-242 组与 TRV130 组比较, 上述指标差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。结果见图 3、表 4。

3.6 大鼠海马组织中 TLR4/NF- κ B 通路相关 mRNA 及其蛋白表达检测结果

与 Control 组比较, POCD 组大鼠海马组织中 TLR4、NF- κ B p65 mRNA 表达水平及其蛋白表达/磷酸化水平均显著升高 ($P<0.05$) ; 与 POCD 组比较, TRV130 组、TAK-242 组大鼠海马组织中 TLR4、NF- κ B p65 mRNA 表达水平及其蛋白表达/磷酸化水平均显著降低 ($P<0.05$), Barbadin 组、吗啡组大鼠海马组织中上述指标差异均无统计学意义 ($P>0.05$) ; TAK-242 组与 TRV130 组比较, 上述指标差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。结果见图 4、表 5。

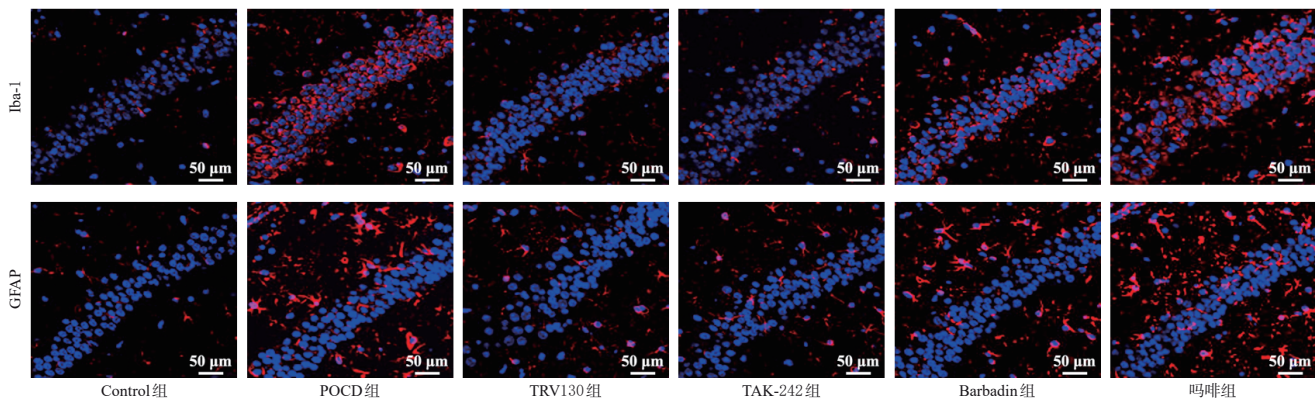
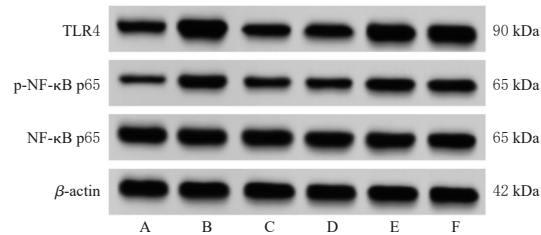


图3 各组大鼠海马组织中Iba-1、GFAP表达的荧光图(免疫荧光染色)

表4 各组大鼠海马组织中Iba-1、GFAP表达水平比较($\bar{x} \pm s, n=5, \%$)

组别	Iba-1 平均荧光强度	GFAP 平均荧光强度
Control组	32.15 ± 4.90	27.61 ± 5.63
POCD组	57.63 ± 5.83 ^a	64.35 ± 6.51 ^a
TRV130组	38.62 ± 5.08 ^b	35.01 ± 5.85 ^b
TAK-242组	39.11 ± 5.16 ^b	36.37 ± 6.02 ^b
Barbadin组	47.91 ± 5.45 ^b	44.82 ± 6.19 ^b
吗啡组	57.58 ± 5.77	63.26 ± 6.48

a: 与Control组比较, $P < 0.05$; b: 与POCD组比较, $P < 0.05$ 。



A: Control组; B: POCD组; C: TRV130组; D: TAK-242组; E: Barbadin组; F: 吗啡组。

图4 各组大鼠海马组织中TLR4/NF-κB通路相关蛋白表达的电泳图

表5 各组大鼠海马组织中TLR4/NF-κB通路相关mRNA及其蛋白表达/磷酸化水平比较($\bar{x} \pm s, n=5$)

组别	TLR4		NF-κB p65	
	mRNA 表达水平	蛋白表达水平	mRNA 表达水平	蛋白磷酸化水平
Control组	1.02 ± 0.13	0.42 ± 0.06	1.00 ± 0.14	0.20 ± 0.04
POCD组	1.87 ± 0.19 ^a	1.36 ± 0.14 ^a	2.13 ± 0.22 ^a	0.80 ± 0.09 ^a
TRV130组	1.23 ± 0.15 ^b	0.59 ± 0.08 ^b	1.36 ± 0.16 ^b	0.31 ± 0.05 ^b
TAK-242组	1.29 ± 0.16 ^b	0.65 ± 0.09 ^b	1.42 ± 0.17 ^b	0.36 ± 0.06 ^b
Barbadin组	1.85 ± 0.19	1.33 ± 0.12	2.11 ± 0.21	0.77 ± 0.08
吗啡组	1.81 ± 0.18	1.35 ± 0.13	2.09 ± 0.20	0.78 ± 0.08

a: 与Control组比较, $P < 0.05$; b: 与POCD组比较, $P < 0.05$ 。

4 讨论

现有研究表明,氧化应激、神经炎症、细胞凋亡等均参与了POCD的发生发展^[16]。其中,TNF-α、IL-6、IL-1β均为关键促炎因子,在手术与麻醉刺激下被诱导释放,进而通过外周炎症向中枢扩散等方式加剧中枢神经炎症,激活小胶质细胞并损伤海马等认知关键脑区,最终诱发POCD^[17]。Iba-1、GFAP分别是小胶质细胞和星形胶质细胞的特异性标志物,当麻醉、手术等因素诱发神经炎症时,会激活这2种胶质细胞:前者活化后Iba-1升

高,释放炎症因子加剧中枢炎症;后者活化后则会导致GFAP升高,破坏血脑屏障并干扰神经元功能,二者协同损伤海马等认知脑区,最终推动POCD进展^[18]。本研究选用左肾切除术联合七氟烷麻醉构建术后模型,是因为该方式创伤程度适中、操作成熟,是目前模拟临床外科术后状态、开展POCD相关研究的经典造模手段。本研究结果显示,手术联合七氟烷麻醉成功构建了老年大鼠POCD模型——模型大鼠海马CA1区神经元存在显著病理损伤(排列紊乱、数量减少、核形态异常及炎症细胞浸润);同时,相较于Control组,POCD组大鼠逃避潜伏期延长,促炎因子(TNF-α、IL-6、IL-1β)水平、细胞凋亡率及胶质细胞标志物(Iba-1、GFAP)平均荧光强度均升高,目标象限停留时间、穿越平台次数均缩短/减少,表明手术联合七氟烷麻醉可成功诱导老年大鼠出现POCD,其病理机制与海马区神经元结构损伤、炎症因子过度激活、胶质细胞活化及神经元凋亡密切相关。经TRV130干预后,上述异常指标均呈相反趋势,表明TRV130可减轻POCD相关病理损伤并改善认知功能。

TLR作为先天免疫关键识别受体,可被细胞发生损伤后产生的相关产物激活。TLR4广泛表达于脑组织,对脑损伤后的炎症调节具有重要作用;而NF-κB作为核心转录因子,被TLR4激活后可发生炎症反应,进而参与疾病进展^[19]。已有研究显示,在阿尔茨海默病大鼠中,槲皮素可通过抑制TLR4/NF-κB通路改善海马神经元损伤及认知功能障碍^[20]。郑丽丽等^[21]在热射病诱发的认知功能障碍研究中发现,醒脑静能靶向抑制TLR4/NF-κB通路,进而抑制脑部炎症,最终改善其认知障碍。本研究结果显示,POCD大鼠海马组织中TLR4、NF-κB p65 mRNA表达水平以及TLR4蛋白表达水平和NF-κB p65蛋白磷酸化水平均显著升高;TRV130干预后上述指标被有效逆转,提示TRV130可能抑制TLR4/NF-κB通路。TAK-242作为TLR4的特异性抑制剂,其干预后大鼠认知功能、病理损伤及炎症指标均显著改善,且效果与TRV130相近。这证实了TLR4/NF-κB通路激活是POCD进展的核心机制,同时为TRV130靶向TLR4/NF-κB通路发挥保护作用提供了阳性对照依据。Barbadin组各项指标较POCD组均有所改善,但改善程度低于TRV130组和TAK-242组,这提示TRV130的认知保护作

用并非通过阻断 β -arrestin通路实现,而与其对TLR4/NF- κ B信号通路的选择性调控有关。这一发现进一步明确了TRV130区别于传统阿片类药物的独特机制优势,为其用于POCD的临床防治提供了实验依据。本研究以传统阿片类药物吗啡作为对照展开研究,结果显示,吗啡组各项指标与POCD组差异均无统计学意义,这一结果与传统阿片类药物激活 β -arrestin通路、易引发炎症应激及神经损伤的特性一致^[22],提示两者在POCD干预效果上可能存在差异。

综上所述,TRV130可能通过抑制TLR4/NF- κ B通路,缓解炎症反应,从而发挥对老年大鼠POCD的改善作用。本研究为临床开发POCD靶向治疗药物提供了实验依据,证实了G蛋白偏向性阿片受体激动剂在术后认知保护中的应用潜力。但本研究尚存在一定局限性:炎症因子水平的检测样本为血清,其虽与Iba-1、GFAP等中枢胶质细胞活化指标变化趋势一致,可间接反映中枢炎症状态,但尚不能完全等同于中枢神经炎症的直接证据;此外,本研究为动物实验,其结论需通过临床研究进一步验证。

参考文献

- [1] AREFAYNE N R, BERHE Y W, VAN ZUNDERT A A. Incidence and factors related to prolonged postoperative cognitive decline (POCD) in elderly patients following surgery and anaesthesia: a systematic review[J]. *J Multidiscip Healthc*, 2023, 16: 3405-3413.
- [2] RUHNAU J, MÜLLER J, NOWAK S, et al. Exploring neuroinflammation and its role in postoperative cognitive dysfunction following spine surgery[J]. *Gerontology*, 2026, 72(1): 29-40.
- [3] XIONG M M, LIU Y, LIANG Y S, et al. Opioid-free versus opioid-sparing anesthesia for postoperative pain and early recovery after laparoscopic cholecystectomy: a randomized controlled trial[J]. *J Pain Res*, 2025, 18: 2137-2146.
- [4] SWINGLER M, DONADONI M, UNTERWALD E M, et al. Molecular and cellular basis of mu-opioid receptor signaling: mechanisms underlying tolerance and dependence development[J]. *Front Neurosci*, 2025, 19: 1597922.
- [5] WEBSTER L, GUDIN J. Review of opioid abuse-deterrent formulations: impact and barriers to access[J]. *J Pain Res*, 2024, 17: 1989-2000.
- [6] BERGESE S D, BRZEZINSKI M, HAMMER G B, et al. ATHENA: a phase 3, open-label study of the safety and effectiveness of oliceridine (TRV130), a G-protein selective agonist at the μ -opioid receptor, in patients with moderate to severe acute pain requiring parenteral opioid therapy[J]. *J Pain Res*, 2019, 12: 3113-3126.
- [7] SHAH A, SHAH R, FAHIM G, et al. A dive into oliceridine and its novel mechanism of action[J]. *Cureus*, 2021, 13(10): e19076.
- [8] BEARD T L, MICHALSKY C, CANDIOTTI K A, et al. Oliceridine is associated with reduced risk of vomiting and need for rescue antiemetics compared to morphine: exploratory analysis from two phase 3 randomized placebo and ac-

- tive controlled trials[J]. *Pain Ther*, 2021, 10(1): 401-413.
- [9] FENG A C, THOMAS B J, PURBEY P K, et al. The transcription factor NF- κ B orchestrates nucleosome remodeling during the primary response to Toll-like receptor 4 signaling[J]. *Immunity*, 2024, 57(3): 462-477.e9.
- [10] ZHANG T, LIANG W, OU W, et al. Daphnetin alleviates neuropathic pain in chronic constrictive injury rats via regulating the NF- κ B dependent CXCL1/CXCR2 signaling pathway[J]. *Pharm Biol*, 2023, 61(1): 746-754.
- [11] 蒋瑞, 张乃心, 赵楠, 等. 衰老大鼠术后认知功能障碍模型构建以及金钗石斛对该模型大鼠治疗效果评价[J]. *西部医学*, 2025, 37(10): 1438-1444, 1450.
- [12] 唐林, 刘慧敏, 罗柳, 等. 微小RNA-34a调控CaMK II/CREB途径改善异氟烷麻醉引起的老年大鼠认知功能障碍[J]. *实用临床医药杂志*, 2024, 28(19): 41-47.
- [13] SINGLETON S, BAPTISTA-HON D T, EDELSTEN E, et al. TRV130 partial agonism and capacity to induce antinociceptive tolerance revealed through reducing available μ -opioid receptor number[J]. *Br J Pharmacol*, 2021, 178(8): 1855-1868.
- [14] 刘紫阳, 杨凯, 邓婷, 等. TAK242阻断TLR4通路起到对脓毒性心肌损伤和心功能障碍的保护作用[J]. *中华危重病急救医学*, 2021, 33(10): 1226-1231.
- [15] HE Y, LIU H, YIN N, et al. Barbadin potentiates long-term effects of lorcaserin on POMC neurons and weight loss[J]. *J Neurosci*, 2021, 41(26): 5734-5746.
- [16] WANG T, SUN G W, TAO B D. Updated insights into the NLRP3 inflammasome in postoperative cognitive dysfunction: emerging mechanisms and treatments[J]. *Front Aging Neurosci*, 2024, 16: 1480502.
- [17] SAFAVYNIA S A, GOLDSTEIN P A. The role of neuroinflammation in postoperative cognitive dysfunction: moving from hypothesis to treatment[J]. *Front Psychiatry*, 2019, 9: 752.
- [18] NURCAHYO W I, HADISAPUTRO S, MUTTAQIN Z, et al. Difference in GFAP levels in POCD and non-POCD patients after on pump CABG[J]. *Vasc Health Risk Manag*, 2022, 18: 915-925.
- [19] SUN Z Z, NYANZU M, YANG S, et al. VX765 attenuates pyroptosis and HMGB1/TLR4/NF- κ B pathways to improve functional outcomes in TBI mice[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 7879629.
- [20] 王玲, 杜潇, 祝华莲, 等. 槲皮素调控TLR4/NF- κ B通路对阿尔茨海默病大鼠认知功能障碍及海马神经元损伤的影响[J]. *中医药导报*, 2023, 29(12): 19-23, 52.
- [21] 郑丽丽, 刘美岑. 醒脑静基于TLR4/NF- κ B信号通路改善热射病大鼠神经炎症与认知功能障碍[J]. *神经药理学报*, 2024, 14(2): 1-6.
- [22] BULL F A, BAPTISTA-HON D T, LAMBERT J J, et al. Morphine activation of mu opioid receptors causes disinhibition of neurons in the ventral tegmental area mediated by β -arrestin2 and c-Src[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 9969.

(收稿日期: 2026-01-29 修回日期: 2026-05-24)

(本文责编: 林 静)