

分类号: R563.9
学号: 20232114147

密级:
单位代码: 10759

石河子大学

硕士学位论文



BPIFB4 调控巨噬细胞极化在慢阻肺发病中的机制研究

学位申请人	薛乐鑫
指导教师	李黎教授
申请学位类别	专业硕士
专业名称	临床医学
研究领域	内科学
所在学院	临床医学院

中国·新疆·石河子
2026年05月

分类号: R563.9
学号: 20232114147

密级:
单位代码: 10759

石河子大学

硕士学位论文



BPIFB4 调控巨噬细胞极化在慢阻肺发病中的机制研究

学位申请人	薛乐鑫
指导教师	李黎教授
申请学位类别	专业硕士
专业名称	临床医学
研究领域	内科学
所在学院	临床医学院

中国·新疆·石河子

2026年5月

**BPIFB4-Mediated Macrophage Polarization Regulation in the
Pathogenesis of Chronic Obstructive Pulmonary Disease**

A Dissertation Submitted to

Shihezi University

In Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of

Medicine

By

Xue Lexin

(Internal medicine)

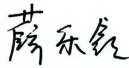
Dissertation Supervisor: Prof. Li Li

May, 2026

石河子大学学位论文独创性声明及使用授权声明

学位论文独创性声明

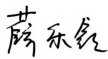
人所提交的学位论文是在我导师的指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含其他个人已经发表或撰写过的研究成果。对本本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中作了明确的说明并表示谢意。

研究生签名：

时间：2026年5月18日

使用授权声明

本人完全了解石河子大学有关保留、使用学位论文的规定，学校有权保留学位论文并向国家主管部门或指定机构送交论文的电子版和纸质版。有权将学位论文在学校图书馆保存并允许被查阅。有权自行或许可他人将学位论文编入有关数据库提供检索服务。有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

研究生签名：

时间：2026年5月18日

导师签名：

时间：2026年5月18日

摘要

目的：本研究旨在分析 COPD 患者血清炎症因子表达特征，并结合巨噬细胞 M1/M2 表型变化，探讨 BPIFB4 在巨噬细胞 M1/M2 表型调控及炎症反应中的作用及其机制，为 COPD 早期干预提供理论依据。

方法：1. 纳入喀什地区第一人民医院 COPD 稳定期患者 30 例及健康体检者 30 例，采集血清样本，采用酶联免疫吸附试验（ELISA）检测血清促炎及抗炎相关因子（IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、IL-10、Arg-1 及 TGF- β ）水平。2. 构建香烟烟雾（cigarette smoke, CS）联合脂多糖（lipopolysaccharide, LPS）诱导的 COPD 小鼠模型，并分别进行 BPIFB4 过表达或沉默干预，采用 RT-qPCR 和 Western blot 检测小鼠肺组织 BPIFB4 的表达水平，通过肺功能检测、Micro-CT 扫描及 HE 染色评估肺功能与肺组织损伤程度，采用流式细胞术检测小鼠肺泡灌洗液中 M1/M2 型巨噬细胞比例变化，结合 ELISA 检测血清相关炎症因子水平，并通过 Western blot 分析 PI3K/AKT1 信号通路蛋白的表达。3. 将 THP-1 细胞进行 3% CSE（3% 香烟烟雾提取物）处理，采用 BPIFB4 过表达或沉默联合 PI3K 抑制剂干预，通过 Western blot 检测 PI3K/AKT1 信号通路关键蛋白表达水平的变化，同时通过流式细胞术检测 M1/M2 型巨噬细胞比例变化，并结合 ELISA 检测相关炎症因子水平。

结果：

1. 与健康对照组相比，COPD 组患者血清中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、IL-10 及 TGF- β 表达水平均显著升高（ $P < 0.0001$ ），Arg-1 表达水平未见显著差异（ $P > 0.05$ ）。

2. 与 WT 组小鼠相比，AAV9-BPIFB4 组小鼠 BPIFB4 mRNA 及蛋白表达水平明显上调，AAV9-shBPIFB4 组表达水平显著下调（ $P < 0.0001$ ）。与 CS 组比较，CS+AAV9-BPIFB4 组 BPIFB4 mRNA 及蛋白表达水平上调，而 CS+AAV9-shBPIFB4 组小鼠表达水平下调（ $P < 0.0001$ ）。

3. 与 WT 组相比，CS 暴露后小鼠呼吸频率（F）显著升高（ $P < 0.0001$ ），呼气峰流速（PEF）、50%潮气量时呼气流速（EF50）显著下降（ $P < 0.0001$ ），BPIFB4 过表达时显著改善上述肺功能指标，而 BPIFB4 沉默进一步加重肺功能损害。与 WT 组相比，CS 暴露组与 BPIFB4 沉默组小鼠均出现明显的肺泡扩大、炎症细胞浸润及纤维化。

4. 与 WT 组相比，CS 暴露组小鼠 BPIFB4 表达水平显著下调（ $P < 0.0001$ ），M1 和 M2 型巨噬细胞比例均增加，以 M1 型巨噬细胞增加更为显著（ $P < 0.0001$ ）。与 CS 组相比，CS 暴露后 BPIFB4 沉默组小鼠 M1 型巨噬细胞比例显著增加，并显著升高其相关促炎因子 IL-1 β 、TNF- α 和 IL-6 表达水平（ $P < 0.0001$ ），CS 暴露后 BPIFB4 过表达 M1 型巨噬细胞比例减少，并显著降低其促炎因子表达水平（ $P < 0.0001$ ）。与 WT 组相比，CS 暴露组小鼠中 p-PI3K 和 p-AKT1 的蛋白表达水平显著升高；与 CS 组相比，CS 暴露后 BPIFB4 沉默进一步增强 p-PI3K 和 p-AKT1 的蛋白表达水平（ $P < 0.05$ ），而 BPIFB4 过表达则显著降低其磷酸化水平（ $P < 0.05$ ）。

5. 在 PMA 诱导分化的 THP-1 来源 M0 型巨噬细胞中，与 NC 组相比，CSE 处理组细胞 BPIFB4 表达水平显著下调（ $P < 0.0001$ ），p-PI3K 的蛋白表达水平显著升高（ $P < 0.001$ ），M1、M2 型巨噬

细胞比例均显著升高 ($P<0.0001$)；与 CSE 组相比，CSE+BPIFB4 沉默组 p-PI3K 和 p-AKT1 蛋白表达水平显著升高 ($P<0.01$)，CSE+BPIFB4 过表达组 p-PI3K 水平降低 ($P<0.05$)。与 CSE 处理后 BPIFB4 沉默组相比，加入 PI3K 抑制剂后，M2 型巨噬细胞比例显著减少 ($P<0.0001$)；在 CSE 处理后 BPIFB4 过表达条件下，PI3K 抑制剂处理后 M2 型巨噬细胞比例较 BPIFB4 过表达组下降 ($P<0.05$)。

结论：

1. COPD 炎症反应的加剧与香烟烟雾暴露所致 BPIFB4 表达下调及巨噬细胞 M1/M2 表型失衡密切相关，其中 M1 型巨噬细胞比例增加更为显著。

2. BPIFB4 上调可能通过调控 PI3K/AKT1 信号通路影响巨噬细胞 M1/M2 表型分布，抑制以 M1 型为主的促炎反应，促进 M2 型相关抗炎反应，从而减轻 COPD 炎症反应。

关键词：慢性阻塞性肺疾病；M1/M2型巨噬细胞；BPIFB4；PI3K/AKT1

Abstract

Objective: This study aimed to characterize the expression profiles of serum inflammatory cytokines in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and, in conjunction with alterations in macrophage M1/M2 polarization, to investigate the role and underlying mechanisms of BPIFB4 in regulating macrophage phenotypic polarization and inflammatory responses. The ultimate objective was to provide a theoretical basis for early intervention in COPD.

Methods: 1. A total of 30 patients with stable chronic obstructive pulmonary disease (COPD) admitted to the First People's Hospital of Kashgar and 30 age- and sex-matched healthy individuals undergoing routine physical examination were enrolled. Serum samples were collected, and the levels of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines, including IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-10, Arg-1 and TGF- β , were determined using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). 2. A COPD mouse model was established using cigarette smoke (CS) exposure combined with lipopolysaccharide (LPS). BPIFB4 overexpression or knockdown was achieved via AAV9-mediated intervention. The expression of BPIFB4 in lung tissues was assessed by RT-qPCR and Western blotting. Lung function was evaluated using pulmonary function testing, Micro-CT imaging, and hematoxylin-eosin (HE) staining. Flow cytometry was used to determine the proportions of M1 and M2 macrophages in bronchoalveolar lavage fluid (BALF), while ELISA was applied to measure serum inflammatory cytokines. Additionally, Western blotting was conducted to analyze proteins involved in the PI3K/AKT1 signaling pathway. 3. THP-1 cells were treated with 3% cigarette smoke extract (3% CSE) and subjected to BPIFB4 overexpression or knockdown in combination with a PI3K inhibitor. Western blot analysis was performed to detect changes in the expression levels of key proteins in the PI3K/AKT1 signaling pathway. Meanwhile, flow cytometry was used to assess changes in the proportions of M1 and M2 macrophages, and ELISA was conducted to determine the levels of related inflammatory cytokines.

Results:

1. Compared with the healthy control group, the serum levels of IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-10, and TGF- β were significantly elevated in patients with COPD ($P < 0.0001$), whereas no significant difference was observed in Arg-1 expression levels ($P > 0.05$).

2. Compared with WT mice, BPIFB4 mRNA and protein expression levels were significantly upregulated in the AAV9-BPIFB4 group and significantly downregulated in the AAV9-shBPIFB4 group ($P < 0.0001$). Compared with the CS group, BPIFB4 mRNA and protein expression levels were increased in the CS + AAV9-BPIFB4 group, whereas they were decreased in the CS + AAV9-shBPIFB4 group ($P < 0.0001$).

3. CS exposure significantly increased respiratory frequency (F) and decreased peak expiratory flow

(PEF) and expiratory flow at 50% tidal volume (EF50) in mice ($P<0.0001$). BPIFB4 overexpression markedly improved these pulmonary function parameters, whereas BPIFB4 knockdown exacerbated lung function impairment. Histological analysis revealed pronounced alveolar enlargement, inflammatory cell infiltration, and fibrosis in both CS-exposed and BPIFB4 knockdown groups.

4. BPIFB4 expression was significantly reduced in CS-exposed mice compared with WT controls ($P<0.0001$). Both M1 and M2 macrophage populations increased, with a more pronounced rise in M1 macrophages ($P<0.0001$). Compared with the CS group, BPIFB4 knockdown further increased the proportion of M1 macrophages and elevated levels of IL-1 β , TNF- α , and IL-6 ($P<0.0001$), whereas BPIFB4 overexpression reduced M1 macrophage proportion and suppressed pro-inflammatory cytokine expression ($P<0.0001$). Additionally, p-PI3K and p-AKT1 protein levels were significantly elevated following CS exposure; BPIFB4 knockdown further enhanced their phosphorylation ($P<0.05$), while BPIFB4 overexpression reduced it ($P<0.05$).

5. In PMA-induced THP-1-derived M0 macrophages, compared with the negative control (NC) group, BPIFB4 expression was significantly downregulated in the CSE-treated group ($P<0.0001$), while p-PI3K protein expression was significantly increased ($P<0.001$). Meanwhile, the proportions of both M1 and M2 macrophages were significantly elevated ($P<0.0001$). Compared with the CSE group, BPIFB4 knockdown further increased the protein expression levels of p-PI3K and p-AKT1 ($P<0.01$), whereas BPIFB4 overexpression reduced the level of p-PI3K ($P<0.05$). Compared with the CSE-treated BPIFB4 knockdown group, the addition of a PI3K inhibitor significantly decreased the proportion of M2 macrophages ($P<0.0001$). Under BPIFB4 overexpression conditions following CSE treatment, PI3K inhibitor treatment resulted in a decreased proportion of M2 macrophages compared with the BPIFB4 overexpression group ($P<0.05$).

Conclusion:

1. The exacerbation of inflammatory responses in COPD is closely associated with cigarette smoke-induced downregulation of BPIFB4 and an imbalance in macrophage M1/M2 polarization, with a more pronounced increase in M1 macrophages.

2. Upregulation of BPIFB4 may influence macrophage M1/M2 polarization via modulation of the PI3K/AKT1 signaling pathway, suppressing M1-dominant pro-inflammatory responses while promoting M2-associated anti-inflammatory effects, thereby alleviating COPD-related inflammation.

Key words: COPD; M1/M2 macrophages; BPIFB4; PI3K/AKT1

目录

摘要.....	I
目录.....	V
中英文缩略词表.....	VII
1 前言.....	1
1.1 COPD 流行病学现状.....	1
1.2 COPD 炎症发展与 M1/M2 型巨噬细胞的关系.....	2
1.3 BPIFB4 可能通过 PI3K/AKT1 通路调控 M1/M2 型巨噬细胞表型变化.....	3
2 材料与方法.....	5
2.1 实验材料.....	5
2.1.1 研究对象.....	5
2.1.2 纳入和排除标准.....	5
2.1.3 实验动物.....	5
2.1.4 主要仪器.....	6
2.1.5 主要试剂及其配制.....	7
2.2 实验方法.....	8
2.2.1 COPD 患者血清收集.....	8
2.2.2 ELISA 检测 COPD 患者血清炎症因子表达水平.....	8
2.2.3 COPD 小鼠模型的建立.....	9
2.2.4 CSE 的制作.....	10
2.2.5 小鼠肺功能的测定及肺 CT 扫描.....	11
2.2.6 小鼠肺组织标本采集及处理.....	11
2.2.7 小鼠血清和支气管肺泡灌洗液的收集.....	11
2.2.8 实时荧光定量 PCR 检测小鼠肺组织中 BPIFB4 的 mRNA 表达水平.....	12
2.2.9 Western blot 检测小鼠肺组织中 BPIFB4 蛋白表达水平.....	14
2.2.10 肺组织 HE 染色.....	14
2.2.11 ELISA 检测小鼠血清中 M1/M2 型巨噬细胞相关炎症因子表达水平.....	15
2.2.12 细胞培养与 PMA 诱导分化.....	15
2.2.13 实时荧光定量 PCR 检测 THP-1 细胞中 BPIFB4 的 mRNA 表达水平.....	16
2.2.14 Western blot 检测 THP-1 细胞中 BPIFB4 或 PI3K/AKT1 通路蛋白表达水平.....	18

2.2.15 ELISA 检测 THP-1 细胞中 M1/M2 型巨噬细胞相关炎症因子表达水平 ..	18
2.2.16 流式细胞术检测 BPIFB4 过表达/沉默处理后 M1/M2 型巨噬细胞比例 ...	18
2.3 统计学方法	19
2.4 技术路线图	20
3 结果	22
3.1 一般资料比较	22
3.2 ELISA 检测 COPD 患者血清炎症因子表达水平	23
3.3 RT-qPCR 与 Western blot 检测小鼠肺组织 BPIFB4 基因及蛋白表达水平	24
3.4 BPIFB4 过表达减轻 COPD 模型小鼠肺功能受损	24
3.5 BPIFB4 过表达减轻 COPD 模型小鼠肺组织损伤	27
3.6 BPIFB4 干预对 COPD 小鼠巨噬细胞 M1/M2 表型分布及相关炎症因子表达的影响	28
3.7 BPIFB4 干预对 COPD 小鼠 PI3K/AKT1 信号通路蛋白表达的影响	30
3.8 BPIFB4 干预对 CSE 处理的 THP-1 细胞 PI3K/AKT1 通路蛋白表达的影响	31
3.9 BPIFB4 干预对 CSE 处理的 THP-1 细胞 M1/M2 表型分布及相关炎症因子表达的影响	32
3.10 小结	34
4 讨论	36
4.1 香烟烟雾诱导巨噬细胞表型失衡加剧 COPD 炎症	36
4.2 BPIFB4 过表达调控巨噬细胞 M1/M2 表型分布减轻 COPD 炎症	37
4.3 BPIFB4 通过 PI3K/AKT1 通路影响巨噬细胞 M1/M2 表型分布	37
5 结论	40
参考文献	41
文献综述	45
参考文献	53

中英文缩略词表 (Abbreviation)

英文缩写	英文全名	中文名称
COPD	Chronic Obstructive Pulmonary Disease	慢性阻塞性肺疾病
BPIFB4	Bactericidal/Permeability-Increasing Fold-Containing Family B Member 4	含杀菌/通透性增加折叠结 构的 B 族成员 4
CSE	cigarette smoke extract	烟草烟雾提取物
THP-1	human myeloid leukemia mononuclear cells	人髓系白血病单核细胞
FEV1	Forced Expiratory Volume in one second	一秒用力呼气容积
FVC	forced vital capacity	用力肺活量
IL	Interleukin	白介素
Arg-1	Arginase-1	精氨酸酶-1
TNF- α	Tumor necrosis factor α	肿瘤坏死因子 α
PCR	Polymerase chain reaction	聚合酶链式反应
RT-qPCR	Real-time quantitative polymerase chain reaction	实时荧光定量 PCR
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay	酶联免疫吸附试验
WB	Western blot	蛋白免疫印迹实验
FCM	Flow Cytometry	流式细胞术

1 前言

(Introduction)

1.1 COPD 流行病学现状

慢性阻塞性肺疾病（Chronic Obstructive Pulmonary Disease, COPD）是一种以持续性气流受限为特征的慢性肺部疾病，可显著降低患者的生活质量，并导致较高的病死率^[1-2]。目前普遍认为，吸烟仍是 COPD 最重要的危险因素。长期暴露于烟草烟雾中的有害颗粒和气体，可持续诱发气道炎症反应，造成肺组织结构破坏。除吸烟外，室内外环境中的有毒颗粒及气体污染同样是 COPD 的重要致病因素，例如燃料燃烧产生的烟尘以及工业污染物等，均可增加患病风险^[1-2]。在环境治理相对薄弱的地区，此类有害暴露往往更加突出，也使 COPD 流行形势更为严峻。全球范围内，COPD 已成为第三大致死原因，对公共健康构成严重威胁^[3-4]。我国人口基数大，COPD 疾病负担尤为沉重。2018 年全国流行病学调查结果显示，我国 20 岁及以上人群 COPD 患病率为 8.6%，患者总数估计接近 1 亿；在 40 岁及以上人群中，患病率进一步升高至 13.7%^[5]，提示在人口老龄化与环境因素叠加的背景下，COPD 的流行程度显著高于预期。

值得注意的是，不同地区在 COPD 患病率及疾病管理水平方面存在较为明显的差异，这与地理环境、经济发展水平及医疗资源配置不均等因素密切相关。新疆作为我国西部地区之一，受医疗资源相对不足等因素影响，COPD 患病率较高，且公众对疾病的知晓率整体偏低^[6]。尤其在新疆南部的喀什地区，由于干旱气候及频繁沙尘暴导致空气污染严重，40 岁及以上人群的 COPD 患病率高达 17.01%，显著高于全国平均水平^[7]。这一差异提示，环境暴露在疾病发生过程中可能具有重要作用，同时也反映出医疗资源相对不足地区在疾病预防与管理方面面临较大压力。近年来，随着肺功能检测技术的逐步完善以及多种吸入制剂药物的应用，COPD 的诊断与治疗水平较以往有所提升，部分患者症状得到一定缓解，生活质量亦随之改善。然而，从疾病本质来看，COPD 仍属于慢性进行性疾病，目前尚缺乏能够有效阻断其进展的治疗手段^[7]。现阶段的临床干预主要依据病情严重程度进行分层管理，通过药物治疗控制症状、减少急性加重并改善患者整体状态，但在延缓疾病进展方面仍存在一定局限。关键在于机制尚不清晰。COPD 的分子发病基础尚未完全阐明，这在一定程度上限制了靶向治疗及精准治疗策略的发展。因此，围绕其分子病理机制的系统研究已逐渐成为该领域的重要方向。进一步明确相关关键环

节, 不仅有助于筛选潜在生物标志物及治疗靶点, 也为未来精准干预策略的建立提供理论支持。

1.2 COPD 炎症发展与 M1/M2 型巨噬细胞的关系

巨噬细胞 (macrophages) 的募集与激活是 COPD 肺部慢性炎症反应的重要特征之一。大量研究表明, 在 COPD 患者的痰液、支气管肺泡灌洗液 (bronchoalveolar lavage fluid, BALF) 以及肺组织中, 巨噬细胞数量均显著增加^[8-10]。在肺部免疫微环境中, 巨噬细胞可根据其解剖分布和功能特征分为肺泡巨噬细胞 (alveolar macrophages, AMs) 和间质巨噬细胞 (interstitial macrophages, IMs)^[11]。AMs 主要分布于肺泡腔内, 在清除外源颗粒及调控局部炎症反应中发挥重要作用; 而 IMs 则主要位于肺间质, 在免疫微环境调节及组织稳态维持过程中具有重要意义^[11]。两类巨噬细胞在 COPD 的发生发展过程中功能各异、相互协同, 共同参与肺部免疫稳态的维持。

由于其高度的功能可塑性, AMs 可在不同微环境刺激下发生极化并形成不同表型, 主要分为 M1 型 (经典激活型) 和 M2 型 (交替激活型) 巨噬细胞。M1 型巨噬细胞在宿主免疫防御及炎症反应中发挥重要作用, 其特征性表现为诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 和白介素-6 (IL-6) 等促炎因子的高表达与分泌^[10-12]。既往研究表明, 在 COPD 患者肺组织及呼吸道分泌物中, 多种促炎因子的表达水平普遍升高, 这一现象在多项研究中均有所体现, 并在一定程度上反映出 M1 型巨噬细胞在慢性炎症维持中的参与程度。进一步观察发现, 当 M1 型巨噬细胞的活化状态得到抑制时, 肺内炎症介质水平可相应下降, 炎症反应的进展亦呈现出一定程度的缓解趋势^[10]。与此不同, M2 型巨噬细胞在功能上更偏向调节与修复, 其通过分泌精氨酸酶-1 (arginase-1, Arg-1)、白介素-10 (IL-10) 及转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β) 等因子, 参与炎症消退及组织重建过程^[13-14]。不过, 这种作用并非始终具有保护意义。已有研究提示, 当 M2 型巨噬细胞处于持续活跃状态, 尤其在 TGF- β 长期高表达的背景下, 可能促进胶原及细胞外基质异常沉积, 从而加重肺组织纤维化, 并伴随肺功能进一步下降。在 COPD 患者中, 巨噬细胞极化状态往往呈现出明显倾向。M1 型巨噬细胞通常占据相对优势地位。即便在部分情况下 M2 型巨噬细胞数量有所增加, 其在整体功能上的调节作用仍不足以抵消持续存在的促炎反应。这一现象从侧面提示, 巨噬细胞极化失衡在 COPD 进展过程中具有重要意义^[14]。

从整体角度来看, 巨噬细胞极化异常, 尤其是 M1/M2 表型比例失调, 被认为是 COPD 慢性炎症持续存在及肺组织损伤加重的重要机制之一。持续偏向 M1 型极化, 可使促炎反应长期维持于活跃状态, 进一步加剧气道炎症及结构破坏; 而 M2 型巨噬细胞异常活

化, 则可能推动纤维化进程并加速肺功能下降^[10,15]。因此, 围绕巨噬细胞 M1/M2 表型调控机制的深入研究, 对于理解 COPD 复杂的病理过程具有重要意义, 同时也为靶向免疫细胞的干预策略提供了潜在理论依据。

1.3 BPIFB4 可能通过 PI3K/AKT1 通路调控 M1/M2 型巨噬细胞表型变化

巨噬细胞 M1/M2 表型失衡被认为是 COPD 发生发展过程中的关键免疫学机制之一, 其调控过程涉及多种信号通路和分子网络, 但仍存在大量尚未明确的调控因素。基于此, 本团队前期围绕新疆喀什地区开展相关研究, 对 3 个 COPD 家系进行了全外显子测序及生物信息学分析。结果显示, BPIFB4 rs4339026 A>G 位点突变与吸烟人群 COPD 发病风险升高之间存在显著相关性^[16]。然而, 其在疾病发生过程中的具体作用机制仍不清楚。BPIFB4 (Bactericidal/Permeability-Increasing Fold-Containing Family B member 4) 是呼吸道分泌物中含量较高的蛋白之一, 主要分布于上呼吸道及气管近端区域, 并被认为参与细胞衰老调控过程^[17]。既往研究发现, BPIFB4 在保护心脏功能、减少心血管疾病并发症及延长寿命中发挥着关键作用^[18]。研究表明, LAV-BPIFB4 通过激活 SDF-1/CXCR4 信号通路参与免疫调节, 并在相关模型中促进巨噬细胞向抗炎性的 M2 型表型极化, 从而减轻炎症反应^[19,44]。尽管已有研究提示 BPIFB4 与巨噬细胞 M1/M2 表型分布密切相关, 但其在 COPD 背景下对巨噬细胞表型分布的调控作用及其相关信号通路仍缺乏系统性研究。

本研究在对 BPIFB4 与 COPD 的共有靶点进行筛选时, 通过 KEGG 富集分析发现, AKT1 参与的 PI3K/AKT 信号通路在其中发挥关键作用。进一步从 GEO 数据库收集 COPD 患者与正常对照人群的支气管肺泡灌洗液 (BALF) 基因芯片数据进行差异分析, 结果显示, 与正常对照组相比, 吸烟 COPD 组 AKT1 的表达水平显著上调 ($P < 0.05$)。BPIFB4 可通过激活 PI3K 及其下游 AKT1 信号通路, 促进血管内皮细胞的存活、增殖与迁移, 从而增强血管新生与修复能力。此外, 有研究表明, BPIFB4 与 PI3K/AKT 信号通路的相互作用不仅可减缓动脉粥样硬化, 还具有一定的抗衰老作用, 提示二者之间可能存在特异性靶向关系^[20]。巨噬细胞活化是一个受到严格调控的过程, 由受体刺激或细胞内调节蛋白介导的信号级联反应引发。在多种信号级联中, PI3K/AKT 通路及其下游靶点是巨噬细胞活化的核心调节因子^[21-22], 在巨噬细胞生物学及炎症性疾病调控中具有独特作用, 不仅影响巨噬细胞的存活、迁移与增殖^[23], 还能协调其对不同代谢及炎症信号的应答^[24]。既往急性肺损伤 (ALI) 研究发现, 葡萄籽原花青素 (GSP) 可通过 TREM2/PI3K/AKT 通路促进巨噬细胞由 M1 向 M2 型极化, 从而改善 LPS 诱导的 ALI^[25]。此外, 下调 PI3K/AKT 通路抑制 M2 极化可延缓疾病的纤维化进程, 这些证据均表明 PI3K/AKT1 信号通路与巨噬细胞极化密切相关^[26-30]。

综上所述，基于上述实验结果和研究基础，我们推测 BPIFB4 及 PI3K/AKT1 信号通路可能通过调控巨噬细胞 M1/M2 表型分布，进而影响 COPD 的炎症进展。然而，三者之间的具体关系仍需进一步探讨。因此，有必要深入研究这一机制，以期为 COPD 患者的诊疗提供更加扎实的理论依据和实验支持。

2 材料与方法

(Materials & Methods)

2.1 实验材料

2.1.1 研究对象

纳入 2024 年 12 月至 2025 年 2 月喀什地区第一人民医院收治的稳定期 COPD 患者 30 例，并按年龄与性别进行匹配，招募同期体检的健康人群 30 例作为对照。健康对照均来自体检中心，排除 COPD 及其他慢性肺部疾病、肿瘤和免疫功能受损相关疾病。入组时记录所有受试者的年龄、性别、BMI、吸烟史及吸烟包年情况，以用于入组可比性核对和样本质量控制。所有入组者均签署知情同意书。本研究通过喀什地区第一人民医院伦理委员会审批（伦理号：[2025]快审研第（50）号）。

2.1.2 纳入和排除标准

COPD 患者的纳入标准：①具有典型病史和临床表现，且影像学（胸片或胸部 CT）无其他可解释症状和气流受限的疾病；②肺功能指标：吸入支气管扩张剂（如沙丁胺醇 400 μ g）后复测肺功能；FEV1/FVC < 0.7，确诊为持续性气流受限；③所有患者均处于稳定期，近 4 周内无急性加重；④患者在肺功能测定前 24 小时停止服用控释茶碱片，检测前 12 h 停用长效 β 2 受体激动剂，检测前 4 h 停用短效 β 2 受体激动剂及抗胆碱能药物。

排除标准：①合并支气管哮喘、支气管扩张、活动性肺结核、肺间质纤维化、气胸、胸腔积液、肺栓塞，或存在影响呼吸功能的神经肌肉疾病者；②胸廓畸形导致限制性通气功能障碍者；③合并糖尿病、甲亢等代谢性疾病者；④已确诊任何部位恶性肿瘤者；⑤已发现患有自身免疫性疾病者；⑥患有恶性血液系统疾病（如白血病、淋巴瘤等）者；⑦近 2 周内因任何原因全身性使用激素者（不包括吸入用药）。

2.1.3 实验动物

36 只清洁级雄性 BALB/c 小鼠（购自斯贝福（苏州）生物技术有限公司）饲养于 SPF 级动物饲养中心，满 6 周龄后纳入研究（合格证号：A202408300124）。所有动物