

BPIFB4对香烟烟雾提取物诱导BEAS-2B细胞中NLRP3介导的细胞焦亡影响的实验研究

郑爱芳, 马涛, 李菲菲, 阿衣古杂力·阿布都喀迪尔, 曹冬冬, 刘仲山, 李黎
(喀什地区第一人民医院呼吸与危重症医学科, 新疆喀什 844000)

摘要: **目的** 探究BPI折叠家族B成员4(BPIFB4)对香烟烟雾提取物(CSE)诱导的BEAS-2B细胞中NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NLRP3)介导的细胞焦亡的影响。**方法** BEAS-2B细胞使用1%、2%、3%浓度的CSE溶液处理24、48、72h,用于筛选CSE最佳诱导模型。BEAS-2B细胞进行慢病毒感染及NLRP3激动剂尼日利亚菌素钠盐处理,细胞分为对照组、CSE组、CSE+过表达BPIFB4组(CSE+BPIFB4)、CSE+过表达对照组(CSE+NC)、CSE+BPIFB4+尼日利亚菌素钠盐组和CSE+NC+尼日利亚菌素钠盐组。细胞计数试剂盒8(CCK-8)法检测细胞活力,透射电镜观察细胞超微结构,酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测细胞培养上清液中炎症因子水平,实时荧光定量PCR(qRT-PCR)、蛋白印迹法(Western blotting)检测细胞BPIFB4及NLRP3相关蛋白mRNA和蛋白表达。**结果** 选择3% CSE处理48h作为CSE最佳诱导模型。CSE处理后,与对照组比较,CSE组细胞活力、BPIFB4表达水平降低,细胞膜孔洞增多,细胞培养上清液白介素(IL)-1 β 、IL-18水平升高($t=5.232\sim 17.234$),NLRP3、凋亡相关斑点样蛋白(ASC)、半胱氨酸天冬氨酸酶1(Caspase-1)、IL-1 β 、IL-18 mRNA和蛋白表达、Gasdermin D(GSDMD)mRNA和GSDMD-N蛋白表达水平升高($t_{\text{mRNA}}=14.498\sim 20.427$, $t_{\text{蛋白}}=6.245\sim 16.593$),差异具有统计学意义(均 $P<0.05$)。与CSE+NC组比较,过表达BPIFB4后CSE+BPIFB4组细胞活力、BPIFB4表达水平升高,细胞膜孔洞减少,细胞培养上清液IL-1 β 、IL-18水平降低($t=3.827\sim 10.919$),NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 mRNA和蛋白表达及GSDMD mRNA和GSDMD-N蛋白表达水平降低($t_{\text{mRNA}}=8.102\sim 10.362$, $t_{\text{蛋白}}=8.647\sim 10.947$),差异具有统计学意义(均 $P<0.05$)。与CSE+BPIFB4组比较,尼日利亚菌素钠盐处理后CSE+BPIFB4+尼日利亚菌素钠盐组细胞活力、BPIFB4表达水平降低,细胞膜孔洞增多,细胞培养上清液IL-1 β 、IL-18水平升高($t=3.308\sim 8.930$),NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 mRNA和蛋白表达、GSDMD mRNA和GSDMD-N蛋白表达水平升高($t_{\text{mRNA}}=5.759\sim 9.413$, $t_{\text{蛋白}}=3.843\sim 15.702$),差异具有统计学意义(均 $P<0.05$)。**结论** BPIFB4可通过抑制NLRP3表达改善CSE诱导的BEAS-2B细胞焦亡。

关键词: 慢性阻塞性肺疾病; BPI折叠家族B成员4; 香烟烟雾提取物; NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3; 细胞焦亡

中图分类号: R563; R446.8 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2026)02-063-07

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2026.02.011

Experimental Study on the Effect of BPIFB4 on NLRP3 Mediated Pyroptosis in BEAS-2B Cells Induced by Cigarette Smoke Extract

ZHENG Aifang, MA Tao, LI Feifei, AYIGUZALI·Abudukadier, CAO Dongdong, LIU Zhongshan, LI Li

(Department of Respiratory and Critical Care Medicine, the First People's Hospital of Kashi, Xinjiang Kashi 844000, China)

Abstract: Objective To explore the effect of BPI fold containing family B member 4 (BPIFB4) on cigarette smoke extract (CSE)-induced BPIFB4 pyroptosis mediated by NOD like receptor thermal protein domain associated protein 3 (NLRP3) in BEAS-2B cells. **Methods** BEAS-2B cells were treated with 1%, 2%, 3% (v/v) CSE solutions for 24, 48 and 72h to identify the optimal CSE induction model. BEAS-2B cells were infected with lentivirus and treated with NLRP3 agonist Nigericin sodium salt. Cells were divided into control group, CSE group, CSE+BPIFB4 overexpression group (CSE+BPIFB4), CSE+control overexpression group (CSE+NC), CSE+BPIFB4+Nigericin sodium salt group and CSE+NC+Nigericin sodium salt group. Cell counting kit 8 (CCK-8) method was used to detect cell viability. Transmission electron microscopy was used to observe cellular ultrastructure. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect inflammatory cytokine levels in cell culture supernatant. Real-time quantitative PCR (qRT-PCR) and Western blotting were used to detect the mRNA and protein levels of BPIFB4 and NLRP3 related molecules in cells. **Results** 3% CSE treatment for 48h was selected as the optimal CSE induction model. Compared with the control group, CSE group exhibited reduced cell viability and expression of BPIFB4, while increased

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目(2022D01F11); 国家自然科学基金资助项目(82260013)。

作者简介: 郑爱芳(1982-), 女, 本科, 主治医师, 研究方向: 呼吸内科疾病, E-mail: bzy669@163.com。

通讯作者: 李黎(1982-), 女, 硕士, 主任医师, 研究方向: 呼吸内科疾病, E-mail: 10517753@qq.com。

cell membrane pores, interleukin (IL)-1 β and IL-18 levels in cell culture supernatant($t=5.232 \sim 17.234$), and the mRNA and protein expression levels of NLRP3, apoptosis associated speck like protein containing CARD (ASC), Cystein containing aspartat specific protease 1 (Caspase-1), IL-1 β , IL-18 mRNA and protein and Gasdermin D (GSDMD) mRNA and GSDMD-N protein ($t_{\text{mRNA}}=14.498 \sim 20.427$, $t_{\text{protein}}=6.245 \sim 16.593$), the difference were statistically significant (all $P<0.05$). Compared with CSE+NC group, CSE+BPIFB4 group exhibited increased cell viability and BPIFB4 expression, but decreased cell membrane pores, IL-1 β and IL-18 levels in cell culture supernatant($t=3.827 \sim 10.919$), and the mRNA and protein expression levels of NLRP3, ASC, as-pase-1, IL-1 β , IL-18 and GSDMD mRNA and GSDMD-N protein ($t_{\text{mRNA}}=8.102 \sim 10.362$, $t_{\text{protein}}=8.647 \sim 10.947$), the difference were statistically significant (all $P<0.05$). Compared with CSE+BPIFB4 group, CSE+BPIFB4+Nigericin sodium salt group exhibited decreased cell viability and BPIFB4 expression, but increased cell membrane pores, IL-1 β and IL-18 levels in cell culture supernatant($t=3.308 \sim 8.930$), and the mRNA and protein levels of NLRP3, ASC, Caspase-1, IL-1 β , IL-18 mRNA and protein and GSDMD mRNA and GSDMD-N protein were elevated($t_{\text{mRNA}}=5.759 \sim 9.413$, $t_{\text{protein}}=3.843 \sim 15.702$), the difference were statistically significant ($t=3.308 \sim 15.702$, all $P<0.05$). **Conclusions** BPIFB4 can improve CSE-induced pyroptosis in BEAS-2B cells by inhibiting NLRP3 expression. Conclusion BPIFB4 can improve CSE-induced pyroptosis in BEAS-2B cells by inhibiting NLRP3 expression.

Keywords: chronic obstructive pulmonary disease; BPI fold containing family B member 4; cigarette smoke extract; NOD like receptor thermal protein domain associated protein 3; pyroptosis

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是一种以持续气流受限为特征的肺部疾病^[1-2]。长期吸烟是COPD的常见病因,香烟烟雾中的有害物质能够诱导气道重构和肺部炎症^[3]。NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NOD like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3)与细胞焦亡及炎症反应密切相关^[4-5]。诸多研究已证实NLRP3介导的细胞焦亡能够促进肺部炎症,加剧COPD进展^[6-7]。BPI折叠家族B成员4(BPI fold containing family B member 4, BPIFB4)通常参与机体防御机制^[8]。研究发现BPIFB4能够明显减轻炎症性肠病患者炎症程度^[9],并抑制急性呼吸系统综合征冠状病毒2型感染细胞对外周血单个核细胞(PBMC)的炎症反应^[10]。这些研究充分表明BPIFB4在调控炎症方面具有重要价值。此外,本课题组前期研究发现香烟烟雾提取物(cigarette smoke extract, CSE)能够诱导BEAS-2B细胞中BPIFB4 mRNA表达下调,由此推测BPIFB4可能与COPD发病密切相关。鉴于BPIFB4与炎症反应的密切关系,本研究拟探究BPIFB4对CSE诱导的BEAS-2B细胞中NLRP3介导的细胞焦亡的影响,以期COPD的治疗提供新的思路。

1 材料与方 法

1.1 研究对象 人正常肺上皮细胞BEAS-2B(货号:JK-CS0404,上海晶抗生物工程有限公司),接种于含10g/dl胎牛血清+1g/dl青/链霉素的Dulbecco's改良培养液(Dulbecco's modification of Eagle's medium, DMEM)中,并置于37 $^{\circ}\text{C}$,含5%(v/v)CO₂的培养箱中培养。

1.2 仪器与试剂 雪莲烟(红云红河烟草集团有限责任公司),DMEM培养液(武汉普诺赛生命科技有限公司),NLRP3激动剂尼日利亚菌素钠盐(美国

TargetMol公司),CCK-8试剂盒(上海翌圣生物科技股份有限公司),过表达BPIFB4的慢病毒及对对照慢病毒(上海吉凯生物有限公司),IL-1 β 、IL-18酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(上海科艾博生物技术有限公司);BPIFB4、NLRP3、凋亡相关斑点样蛋白质(ASC)、半胱氨酸天冬氨酸酶1(Caspase-1)、IL-1 β 、IL-18、Gasdermin D(GSDMD)引物(上海生工生物工程有限公司),二喹啉甲酸试剂盒(上海源叶生物科技有限公司),BPIFB4抗体(美国Novus公司),NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 、L-18、GSDMD-N抗体(英国Abcam公司),HBS-1101酶标仪(南京德铁实验设备有限公司),NanoDrop微量分光光度计(美国Thermo公司),MA-6000实时荧光定量PCR仪(江苏晶创生物科技有限公司),蛋白电泳仪(美国Bio-Rad公司),FEI Scios 2 DualBeam透射电镜(北京欧波同光学技术有限公司)。

1.3 方 法

1.3.1 CSE溶液的制备:取2只香烟(每只含焦油量11mg、烟气烟碱量1mg,CO量12mg),剪除香烟过滤嘴,香烟与50ml注射器相连接。点燃香烟,借助负压缓慢抽取烟雾,将烟雾注入到含10ml DMEM培养液的玻璃瓶中,继续抽吸烟雾至300ml,摇动玻璃瓶使烟雾充分溶解。调节CSE溶液的pH值为7.4,使用0.22 μm 微孔滤膜过滤CSE溶液,制备成CSE原液。最后使用DMEM培养液将CSE原液稀释成1%、2%、3%(v/v)的CSE溶液备用。

1.3.2 细胞分组和模型制备:收集BEAS-2B细胞,分别使用1%、2%、3%(v/v)的CSE溶液处理24、48、72h,细胞分为对照组、1%CSE 24h组、2%CSE 24h组、3%CSE 24h组、3%CSE 48h组、3%CSE 72h组。培养结束后收集BEAS-2B细胞备用。

BEAS-2B细胞分为对照组、CSE组、CSE+过表达BPIFB4组(CSE+BPIFB4)、CSE+过表达对照组(CSE+NC)、CSE+过表达BPIFB4+尼日利亚菌素钠盐组和CSE+过表达对照+尼日利亚菌素钠盐组。将BEAS-2B细胞接种于6孔板中常规培养(1×10^6 个/孔)。当细胞汇合至80%时收集细胞,将慢病毒溶液(滴度为 1×10^9 TU/ml,感染复数值为20)分别加入到BEAS-2B细胞中,记作NC组、BPIFB4组。感染48h后,使用实时荧光定量PCR(qRT-PCR)、蛋白印迹(Western Blot)检测细胞中BPIFB4 mRNA和蛋白表达,以获得过表达NC及BPIFB4的阳性细胞株。随后,对照组细胞常规培养,其余各组细胞在相应添加/(不添加)尼日利亚菌素钠盐($10 \mu\text{mol/L}$)^[11]的3% CSE溶液中培养48h。培养结束后收集BEAS-2B细胞备用。

1.3.3 CCK-8法检测细胞活力:收集对数生长期的BEAS-2B细胞,将其随机接种于96孔板中常规培养(1×10^3 个/孔),设置3个复孔。当细胞汇合至80%时给与相应药物处理。处理相应时间后收集细胞,加入含10g/dl CCK-8溶液的DMEM培养液孵育4h。使用

酶标仪检测样品吸光度(A)值,并计算细胞活力。细胞活力= $(A_{\text{实验组}} - A_{\text{空白组}}) / (A_{\text{对照组}} - A_{\text{空白组}}) \times 100\%$ 。

1.3.4 透射电镜观察细胞超微结构:收集各组BEAS-2B细胞,使用2.5g/dl戊二醛进行固定,随后依次进行梯度乙醇及丙酮脱水,环氧树脂包埋、切片、干燥,3 g/dl醋酸铀-枸橼酸铅染液染色。在透射电镜(20 000 \times)下观察细胞超微结构。

1.3.5 ELISA法检测细胞培养上清液中炎症因子水平:收集各组BEAS-2B细胞培养上清液,按照ELISA检测试剂盒说明检测细胞培养上清液中IL-1 β 、IL-18水平。

1.3.6 qRT-PCR检测细胞BPIFB4及NLRP3相关蛋白mRNA的表达:收集各组BEAS-2B细胞,使用TRIzol试剂裂解后提取细胞总RNA。配制反转录体系并进行RNA反转录扩增。配制PCR反应体系并进行qRT-PCR扩增。根据荧光信号变化曲线,确定样本Ct值,以 β -肌动蛋白(β -actin)为内参,计算细胞中BPIFB4、NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18、GSDMD mRNA相对表达水平。PCR引物序列见表1。

表1 qRT-PCR引物序列

基因	上游引物	下游引物
BPIFB4	5'-GACGTGAGGACCATGAC-3'	5'-ATGGAGTGACCAGTGA-3'
NLRP3	5'-GGTGCAGTGAACCGT-3'	5'-CCAGTGGATGACCCAGT-3'
ASC	5'-ACGGTGCAACCACGTT-3'	5'-ACCCGTGAGCAGTGAC-3'
Caspase-1	5'-GTGACAGTGAGTGACCA-3'	5'-GTTGACCCGTGATACA-3'
IL-1 β	5'-AGTTGTGACCACTGAC-3'	5'-GGTCCGTGCATGATCA-3'
IL-18	5'-CCTGACCAAGTGACATG-3'	5'-CACATGAACAGTGACA-3'
GSDMD	5'-ATGAGTGACAAATGGAC-3'	5'-TGATGACCAGTGATGAC-3'

1.3.7 Western Blot检测细胞BPIFB4及NLRP3相关蛋白表达:收集各组BEAS-2B细胞,使用RIPA试剂裂解后提取细胞总蛋白。配制十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE),随后进行蛋白电泳,并转聚偏二氟乙烯(PVDF)膜。将膜放入封闭液中室温孵育2h,随后与特异性一抗(BPIFB4、NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18、GSDMD-N)稀释1 000倍,4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。洗膜后与辣根过氧化物酶(HRP)标记二抗,稀释5 000倍,常温孵育2h。使用增强型化学发光试剂显色,应用Image J 1.8.0软件进行半定量分析,以 β -actin为内参,计算上述蛋白相对表达水平。

1.4 统计学分析 采用SPSS 27.0软件进行统计分析; Graphpad prism 5.0软件制图。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用LSD-t检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度/时间CSE处理对细胞活力的影响 与对照组($100.00\% \pm 9.17\%$)比较,1% CSE 24h组($84.14\% \pm 5.08\%$)、2% CSE 24h组($68.10\% \pm 12.29\%$)、3% CSE 24h组($52.53\% \pm 10.87\%$)、3% CSE 48h组($32.77\% \pm 11.29\%$)、3% CSE 72h组($31.07\% \pm 12.91\%$)细胞活力明显降低,差异具有统计学意义($t=2.620$ 、 3.603 、 5.781 、 8.006 、 7.539 ,均 $P < 0.05$)。

而3% CSE 48h组与72h组BEAS-2B细胞活力比较差异无统计学意义($t=0.172$, $P > 0.05$)。因此,后续选择3% CSE处理48h作为CSE最佳诱导模型。

2.2 过表达BPIFB4对细胞BPIFB4表达及细胞活力的影响 见表2。与对照组比较,CSE组细胞BPIFB4 mRNA和蛋白表达水平及细胞活力明显降低,差异具有统计学意义($t=5.232$ 、 8.833 、 8.364 ,均 $P < 0.05$);与CSE+NC组比较,CSE+BPIFB4组细胞BPIFB4 mRNA和蛋白表达水平及细胞活力明显升高($t=3.827$ 、 9.018 、 9.171),CSE+NC+尼日利亚菌素钠盐组细胞BPIFB4

mRNA和蛋白表达水平及细胞活力明显降低($t=2.770$ 、 5.939 、 3.449), 差异具有统计学意义(均 $P<0.05$); 与CSE+BPIFB4组比较, CSE+BPIFB4+尼日利亚菌素钠

盐组细胞BPIFB4 mRNA和蛋白表达水平及细胞活力明显降低, 差异具有统计学意义($t=3.308$ 、 8.066 、 7.101 , 均 $P<0.05$)。

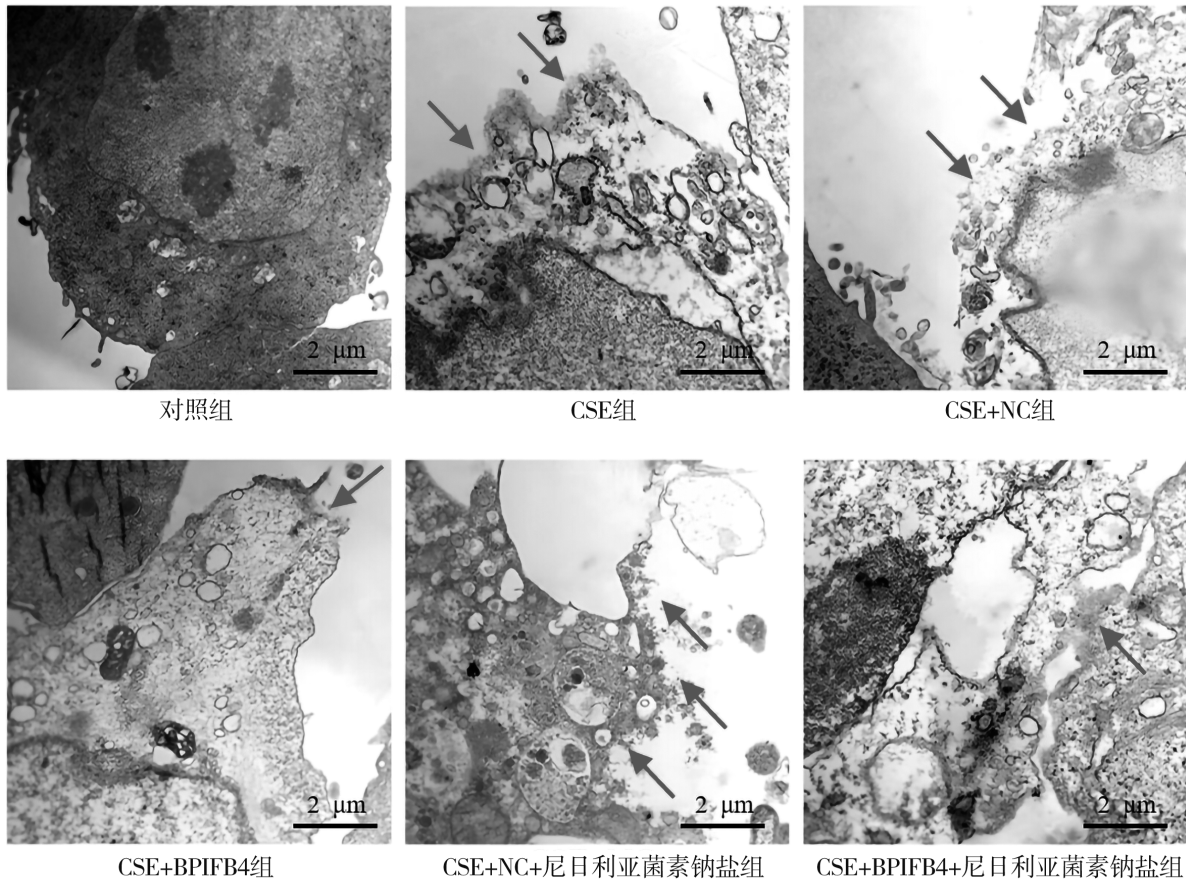
表2 过表达BPIFB4对细胞BPIFB4 mRNA和蛋白表达及细胞活力的影响($\bar{x}\pm s$)

项目	对照组	CSE组	CSE+NC组	CSE+BPIFB4组	CSE+NC+尼日利亚菌素钠盐组	CSE+BPIFB4+尼日利亚菌素钠盐组	F值	P值
BPIFB4 mRNA	1.00±0.15	0.50±0.07	0.52±0.08	0.77±0.08	0.35±0.07	0.54±0.09	17.138	< 0.001
蛋白	0.84±0.06	0.33±0.08	0.31±0.06	0.79±0.07	0.08±0.03	0.29±0.07	74.385	< 0.001
细胞活力(%)	100.00±12.00	36.94±5.14	40.42±4.08	72.82±4.56	27.46±5.07	46.64±4.47	52.597	< 0.001

注: 对照组细胞活力已进行标准化处理。

2.3 过表达BPIFB4对细胞超微结构的影响 见图1。对照组细胞膜结构完整; CSE组、CSE+NC组、CSE+NC+尼日利亚菌素钠盐组、CSE+BPIFB4+尼日利

亚菌素钠盐组细胞膜存在大量孔洞, 其中CSE+NC+尼日利亚菌素钠盐组细胞膜受损最为严重。而CSE+BPIFB4组细胞膜受损程度较轻, 仅存在少量孔洞。



注: 箭头指示焦亡孔。

图1 过表达BPIFB4对细胞超微结构的影响(20 000×)

2.4 过表达BPIFB4对细胞培养上清液IL-1 β 、IL-18水平的影响 见表3。与对照组比较, CSE组细胞培养上清液IL-1 β 、IL-18水平明显升高, 差异具有统计学意义($t=17.234$ 、 12.923 , 均 $P<0.05$); 与CSE+NC组比较, CSE+BPIFB4组细胞培养上清液IL-1 β 、IL-18水平明显降低($t=10.919$ 、 9.472), CSE+NC+尼日利亚菌素钠盐组细胞培养上清液IL-1 β 、IL-18水平明显升高($t=6.083$ 、 3.914), 差异具有

统计学意义(均 $P<0.05$); 与CSE+BPIFB4组比较, CSE+BPIFB4+尼日利亚菌素钠盐组细胞培养上清液IL-1 β 、IL-18水平明显升高, 差异具有统计学意义($t=8.930$ 、 5.772 , 均 $P<0.05$)。

2.5 过表达BPIFB4对NLRP3介导的细胞焦亡的影响 见表4。与对照组比较, CSE组细胞NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 mRNA和蛋白表达水平及GSDMD mRNA和GSDMD-N蛋白表达水平明显升高, 差异

具有统计学意义($t_{\text{mRNA}}=20.427、14.793、14.498、14.712、16.415、16.179, t_{\text{蛋白}}=11.555、16.593、15.625、10.063、13.863、6.245, 均P<0.05$); 与CSE+NC组比较, CSE+BPIFB4组细胞NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 mRNA和蛋白表达水平、GSDMD mRNA和GSDMD-N蛋白表达水平明显降低($t_{\text{mRNA}}=9.848、10.187、8.102、10.362、8.794、10.216, t_{\text{蛋白}}=10.024、15.123、10.938、8.787、10.947、8.647$), CSE+NC+尼日利亚菌素钠盐组细胞NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 mRNA和蛋白表达水平及GSDMD mRNA

和GSDMD-N蛋白表达水平明显升高($t_{\text{mRNA}}=5.013、9.137、6.242、4.694、7.638、7.125, t_{\text{蛋白}}=6.180、4.203、2.680、2.640、2.754、10.082$), 差异具有统计学意义(均 $P<0.05$); 与CSE+BPIFB4组比较, CSE+BPIFB4+尼日利亚菌素钠盐组细胞NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 mRNA和蛋白表达水平及GSDMD mRNA和GSDMD-N蛋白表达水平明显升高, 差异具有统计学意义($t_{\text{mRNA}}=7.151、5.759、8.051、8.827、6.168、9.413, t_{\text{蛋白}}=8.714、15.702、8.415、6.245、8.614、3.843, 均P<0.05$)。

表3 过表达BPIFB4对细胞培养上清液IL-1 β 、IL-18水平的影响($\bar{x}\pm s$)

项目	对照组	CSE组	CSE+NC组	CSE+BPIFB4组	CSE+NC+尼日利亚菌素钠盐组	CSE+BPIFB4+尼日利亚菌素钠盐组	F值	P值
IL-1 β (ng/L)	32.36 \pm 4.36	163.24 \pm 12.41	158.63 \pm 13.54	65.32 \pm 5.98	231.25 \pm 15.63	143.62 \pm 13.96	152.574	< 0.001
IL-18(ng/L)	46.66 \pm 5.67	156.18 \pm 12.21	166.32 \pm 15.74	72.14 \pm 6.99	221.63 \pm 18.74	126.84 \pm 14.85	93.455	< 0.001

表4 过表达BPIFB4对NLRP3介导的细胞凋亡的影响($\bar{x}\pm s$)

项目	对照组	CSE组	CSE+NC组	CSE+BPIFB4组	CSE+NC+尼日利亚菌素钠盐组	CSE+BPIFB4+尼日利亚菌素钠盐组	F值	P值
NLRP3 mRNA	1.00 \pm 0.10	3.85 \pm 0.22	3.96 \pm 0.24	2.32 \pm 0.16	5.36 \pm 0.42	3.41 \pm 0.21	132.454	< 0.001
蛋白	0.25 \pm 0.03	0.82 \pm 0.08	0.89 \pm 0.09	0.32 \pm 0.04	1.37 \pm 0.10	0.77 \pm 0.08	116.917	< 0.001
ASC mRNA	1.00 \pm 0.12	4.16 \pm 0.35	4.10 \pm 0.34	1.89 \pm 0.16	6.79 \pm 0.38	3.05 \pm 0.31	181.270	< 0.001
蛋白	0.07 \pm 0.02	0.86 \pm 0.08	0.80 \pm 0.08	0.08 \pm 0.02	1.15 \pm 0.12	0.74 \pm 0.07	128.716	< 0.001
Caspase-1 mRNA	1.00 \pm 0.10	3.41 \pm 0.27	3.63 \pm 0.27	2.03 \pm 0.21	5.31 \pm 0.38	3.62 \pm 0.27	117.773	< 0.001
蛋白	0.13 \pm 0.02	1.05 \pm 0.10	1.02 \pm 0.11	0.30 \pm 0.03	1.25 \pm 0.10	0.67 \pm 0.07	112.253	< 0.001
IL-1 β mRNA	1.00 \pm 0.11	3.32 \pm 0.25	3.12 \pm 0.22	1.56 \pm 0.14	4.31 \pm 0.38	3.11 \pm 0.27	95.844	< 0.001
蛋白	0.38 \pm 0.04	1.06 \pm 0.11	1.03 \pm 0.13	0.34 \pm 0.04	1.28 \pm 0.10	0.60 \pm 0.06	65.517	< 0.001
IL-18 mRNA	1.00 \pm 0.10	3.64 \pm 0.26	3.54 \pm 0.28	1.85 \pm 0.18	5.84 \pm 0.44	3.22 \pm 0.34	136.825	< 0.001
蛋白	0.12 \pm 0.02	0.78 \pm 0.08	0.81 \pm 0.08	0.27 \pm 0.03	0.96 \pm 0.05	0.56 \pm 0.05	123.045	< 0.001
GSDMD mRNA	1.00 \pm 0.12	3.76 \pm 0.27	3.62 \pm 0.25	1.93 \pm 0.14	5.81 \pm 0.47	3.68 \pm 0.29	132.130	< 0.001
GSDMD-N 蛋白	0.11 \pm 0.02	0.24 \pm 0.03	0.30 \pm 0.03	0.12 \pm 0.02	1.02 \pm 0.12	0.20 \pm 0.03	126.547	< 0.001

3 讨论

吸烟是COPD的首要致病因素, 约占所有COPD患者的80%以上。长期吸烟不仅能够破坏肺组织, 还能加快COPD患者肺功能受损进程^[12]。因此, 深入探究影响COPD发病的可能因素和潜在干预靶点具有重要意义。BPIFB4是一种天然免疫防御蛋白, 能够抑制革兰氏阴性菌生长, 并阻止脂多糖介导的免疫反应^[13]。此外, BPIFB4能够参与调节免疫细胞功能和细胞因子表达, 从而抑制机体炎症反应^[14]。这表明BPIFB4在维持机体免疫平衡和炎症稳态方面发挥关键作用。然而, 目前尚无研究揭示BPIFB4与COPD发病的关系。

BEAS-2B细胞来源于气道上皮, 被广泛用于呼吸系统疾病研究, 特别是可吸入物质的毒理学和药理学效应研究。CSE刺激BEAS-2B细胞能够模拟COPD患者气道上皮细胞所处的病理环境, 可用于深入了解COPD的相关发病机制。已有大量研究证实CSE能够抑制BEAS-2B细胞生长和增殖, 并诱

导细胞炎症和氧化应激损伤^[15-16]。这表明CSE模拟的吸烟环境对气道上皮细胞具有显著不良影响, 而气道上皮细胞作为呼吸道抵御外界刺激的第一道防线, 其损伤与功能异常极有可能是COPD发病的重要起始环节。与上述研究一致, 本研究同样发现CSE诱导后, BEAS-2B细胞活力降低, IL-1 β 、IL-18炎症因子分泌增多, 说明CSE能够诱导BEAS-2B细胞损伤和炎症反应。此外, 本研究首次发现CSE刺激后, 细胞中BPIFB4表达水平降低, 这一结果暗示BPIFB4可能与COPD发病相关。而过表达BPIFB4后, 细胞活力升高, 炎症因子分泌减少, 说明BPIFB4能够减轻CSE诱导的BEAS-2B细胞损伤, 这与BPIFB4能够抑制炎症反应这一特性相契合, 也为COPD发病机制的研究提供了新的方向。

近年来, 细胞焦亡在COPD中的作用逐渐显露^[17]。NLRP3作为细胞焦亡的重要调控因子, 在CSE诱导的BEAS-2B细胞损伤中起到关键作用^[18]。当BEAS-2B细胞受损时, NLRP3通路被激活, 细胞炎症和焦亡发

生,细胞表现为肿胀、细胞膜破裂及大量炎症因子释放^[19]。而抑制NLRP3-GSDMD途径的激活能够显著减轻CSE诱导的细胞焦亡^[20-21]。上述结果暗示NLRP3介导的细胞焦亡在COPD发病中具有推动作用。与上述研究一致,本研究同样发现CSE诱导后, BEAS-2B细胞出现典型的焦亡特征,如细胞膜出现大量孔洞,细胞中NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 mRNA和蛋白表达水平、GSDMD mRNA和GSDMD-N蛋白表达水平升高等,证实了CSE能够诱导BEAS-2B细胞焦亡。此外,本研究首次发现过表达BPIFB4后,细胞膜受损程度减轻, NLRP3途径相关蛋白表达水平降低,说明BPIFB4能够抑制NLRP3介导的BEAS-2B细胞焦亡。而NLRP3激动剂尼日利亚菌素钠盐能够抑制过表达BPIFB4对CSE诱导的细胞焦亡的改善作用,证实了BPIFB4与NLRP3介导的细胞焦亡的调控关系,这一结果不仅揭示了BPIFB4在COPD发病机制中的新作用,也为COPD的治疗提供了新的靶点。见图2。

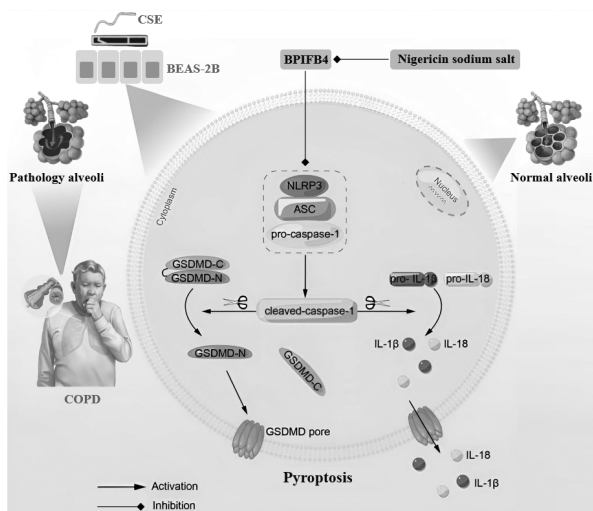


图2 BPIFB4对CSE诱导的BEAS-2B细胞中NLRP3介导的细胞焦亡的影响

综上所述, BPIFB4可通过抑制NLRP3表达改善CSE诱导的BEAS-2B细胞焦亡,这一发现为理解吸烟诱导的呼吸道细胞损伤提供了新的视角,也为COPD的治疗提供了新的策略。但本研究对于BPIFB4抑制NLRP3表达的相关机制未做深入探讨,为本文的不足之处,故今后将继续探究BPIFB4调控NLRP3表达的具体机制,以期BPIFB4的临床应用提供更有力的支持。

参考文献:

- [1] 吴家明,刘韞,周德伟.慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者血清FIZZ2和IL-33水平变化与临床预后的相关性研究[J].现代检验医学杂志,2024,39(5):140-145.
WU J M, LIU Y, ZHOU D W. Changes of serum FIZZ2 and IL-33 levels in patients with acute exacerbation of

chronic obstructive pulmonary disease and their correlation with clinical prognosis[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2024, 39(5): 140-145.

- [2] 刘源源,林云霞,王生伟.老年慢性阻塞性肺疾病患者外周血circRNA-HIPK3表达水平及其临床意义[J].现代检验医学杂志,2023,38(2):86-91,170.
LIU Y Y, LIN Y X, WANG S W. Expression level of circRNA-HIPK3 in peripheral blood of elderly patients with chronic obstructive pulmonary disease and its clinical significance[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2023, 38(2): 86-91, 170.
- [3] 纪ZX,张CH,冯P, et al. Rutaecarpine protects against cigarette smoke-induced chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in rats[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2024, 196(10): 7089-7103.
- [4] TOLDO S, ABBATE A. The role of the NLRP3 inflammasome and pyroptosis in cardiovascular diseases[J]. Nature Reviews Cardiology, 2024, 21(4): 219-237.
- [5] GAO Y J, LIU K Y, XIAO W F, et al. Aryl hydrocarbon receptor confers protection against macrophage pyroptosis and intestinal inflammation through regulating polyamine biosynthesis[J]. Theranostics, 2024, 14(11): 4218-4239.
- [6] ZHANG Y N, WANG J X, WANG Y L, et al. Nrf2/HO-1 signaling activation alleviates cigarette smoke-induced inflammation in chronic obstructive pulmonary disease by suppressing NLRP3-mediated pyroptosis[J]. Journal of Cardiothoracic Surgery, 2024, 19(1): 58.
- [7] ZENG J M, LIAO S D, LIANG Z, et al. Schisandrin a regulates the Nrf2 signaling pathway and inhibits NLRP3 inflammasome activation to interfere with pyroptosis in a mouse model of COPD[J]. European Journal of Medical Research, 2023, 28(1): 217.
- [8] CIAGLIA E, LOPARDO V, MONTELLA F, et al. Transfer of the longevity-associated variant of BPIFB4 gene rejuvenates immune system and vasculature by a reduction of CD38⁺ macrophages and NAD⁺ decline[J]. Cell Death & Disease, 2022, 13(1): 86.
- [9] CATTANEO M, BARAGETTI A, MALOVINI A, et al. Longevity-associated BPIFB4 gene counteracts the inflammatory signaling[J]. Immunity & Ageing, 2024, 21(1): 19.
- [10] CIAGLIA E, LOPARDO V, MONTELLA F, et al. BPIFB4 circulating levels and its prognostic relevance in COVID-19[J]. The Journals of Gerontology: Series A, 2021, 76(10): 1775-1783.
- [11] 王希,闫战秋,贾旺,等.咪达唑仑通过NLRP3/caspase-1途径改善脂多糖诱导H9c2心肌细胞损伤[J].医学分子生物学杂志,2022,19(4):269-275.
WANG X, YAN Z Q, JIA W, et al. Midazolam ameliorate lipopolysaccharide-induced H9c2 cardiomyocyte damage by NLRP3/caspase-1 pathway[J]. Journal of Medical Molecular Biology, 2022, 19(4): 269-275.
- [12] LI X M, JIANG X H, ZENG R H, et al. Formononetin attenuates cigarette smoke-induced COPD in mice by suppressing inflammation, endoplasmic reticulum stress, and apoptosis in bronchial epithelial cells via

- AhR/CYP1A1 and AKT/mTOR signaling pathways[J]. *Phytotherapy Research*, 2024, 38(3): 1278-1293.
- [13] CIAGLIA E, MONTELLA F, CARRIZZO A, et al. The longevity-associated BPIFB4 gene guarantees vascular homeostasis and immune protection through platelets[J]. *GeroScience*, 2024, 46(6): 6347-6359.
- [14] CIAGLIA E, MONTELLA F, MACIAG A, et al. Longevity-associated variant of BPIFB4 mitigates monocyte-mediated acquired immune response[J]. *The Journals of Gerontology: Series A*, 2019, 74(Suppl_1): S38-S44.
- [15] 胡春萌, 孙德俊. 香烟烟雾提取物对 BEAS-2B 细胞生长及炎症因子分泌的影响[J]. *临床肺科杂志*, 2022, 27(9): 1336-1341.
- HU C M, SUN D J. Effect of cigarette smoke extract on BEAS-2B cell growth and secretion of inflammatory factors[J]. *Journal of Clinical Pulmonary Medicine*, 2022, 27(9): 1336-1341.
- [16] LIU C L, ZHU X M, AGA E B, et al. Ebeiedinone and peimisine inhibit cigarette smoke extract-induced oxidative stress injury and apoptosis in BEAS-2B cells[J]. *Cell Stress and Chaperones*, 2024, 29(6): 697-708.
- [17] XIE T, YANG Z H, XIAN S J, et al. Hsa_circ_0008833 promotes COPD progression via inducing pyroptosis in bronchial epithelial cells[J]. *Experimental Lung Research*, 2024, 50(1): 1-14.
- [18] CHUNG C, PARK S Y, HUH J Y, et al. Fine particulate matter aggravates smoking induced lung injury via NLRP3/caspase-1 pathway in COPD[J]. *Journal of Inflammation*, 2024, 21(1): 13.
- [19] FAN X Y, GAO Y, HUA C, et al. Daphnetin ameliorates PM2.5-induced airway inflammation by inhibiting NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis in CS-exposed mice[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2023, 165: 115047.
- [20] WU K Y, LUAN G X, HU J Y, et al. Astragaloside IV reduces lung epithelial cell pyroptosis via TXNIP-NLRP3-GSDMD pathway[J]. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 2024, 82(4): 3695-3702.
- [21] WANG M Y, ZHANG Y B, XU M M, et al. Roles of TRPA1 and TRPV1 in cigarette smoke-induced airway epithelial cell injury model [J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2019, 134: 229-238.

收稿日期: 2025-02-18

修回日期: 2025-03-24

(上接第49页)

- [2] KUMAR S K, DISPENZIERI A, LACY M Q, et al. Continued improvement in survival in Multiple Myeloma: changes in early mortality and outcomes in older patients[J]. *Leukemia*, 2014, 28(5): 1122-1128.
- [3] 刘志伟, 李晓婷, 逢婷, 等. 常规检验项目在多发性骨髓瘤诊断中的临床价值[J]. *临床血液学杂志*, 2021, 34(1): 48-52.
- LIU Z W, LI X T, FENG T, et al. The clinical value of routine tests in the diagnosis of Multiple Myeloma[J]. *Journal of Clinical Hematology*, 2021, 34(1): 48-52.
- [4] 中国医师协会血液科医师分会, 中华医学会血液学分会. 中国多发性骨髓瘤诊治指南(2024年修订)[J]. *中华内科杂志*, 2024, 63(12): 1186-1195.
- Chinese Hematology Association, Chinese Society of Hematology. Guidelines for the diagnosis and management of Multiple Myeloma in China (2024 revision)[J]. *Chinese Journal of Internal Medicine*, 2024, 63(12): 1186-1195.
- [5] CAI J Y, LIU Z H, WANG Y Y, et al. Construction of the prediction model for Multiple Myeloma based on machine learning[J]. *International Journal of Laboratory Hematology*, 2024, 46(5): 918-926.
- [6] WALLINGTON-BEDDOE C T, MYNOTT R L. Prognostic and predictive biomarker developments in Multiple Myeloma [J]. *Journal of Hematology & Oncology*, 2021, 14(1): 151.
- [7] 霍豆, 秦爽, 吴永昌, 等. 血清总轻链与游离轻链定量检测在多发性骨髓瘤诊断中的临床价值探讨[J]. *现代检验医学杂志*, 2020, 35(4): 87-88, 157.
- HUO D, QIN S, WU Y C, et al. Clinical value of quantitative detection of sTLC and sFLC in diagnosis of Multiple Myeloma[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2020, 35(4): 87-88, 157.
- [8] 郭进京, 胡林辉, 陶千山, 等. 红细胞分布宽度在多发性骨髓瘤患者预后分期中的价值[J]. *现代检验医学杂志*, 2017, 32(3): 34-36, 39.
- GUO J J, HU L H, TAO Q S, et al. Value of red cell distribution width in the prognosis of patients with Multiple Myeloma[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2017, 32(3): 34-36, 39.
- [9] 李东英, 岳园芳, 陈琳, 等. 红细胞分布宽度标准差对143例初治多发性骨髓瘤患者预后预测价值[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2020, 27(6): 475-479, 498.
- LI D Y, YUE Y F, CHEN L, et al. Standard deviation of red blood cell distribution width in predicting the prognosis of 143 patients with newly treated Multiple Myeloma[J]. *Chinese Journal of Cancer Prevention and Treatment*, 2020, 27(6): 475-479, 498.
- [10] BAN C M, YANG F Y, WEI M, et al. Integrative analysis of gene expression through one-class logistic regression machine learning identifies stemness features in Multiple Myeloma [J]. *Frontiers in Genetics*, 2021, 12: 666561.
- [11] 杨文丽, 李晓明. 多发性骨髓瘤患者血脂的检测及临床意义[J]. *现代肿瘤医学*, 2021, 29(19): 3458-3461.
- YANG W L, LI X M. Detection of blood lipids in patients with Multiple Myeloma and its clinical significance[J]. *Journal of Modern Oncology*, 2021, 29(19): 3458-3461.
- [12] CARCÒ D, MARKOVIC U, CASTORINA P, et al. C-reactive protein monitoring and clinical presentation of fever as predictive factors of prolonged febrile neutropenia and blood culture positivity after autologous hematopoietic stem cell transplantation-single-center real-life experience [J]. *Journal of Clinical Medicine*, 2022, 11(2): 312.

收稿日期: 2025-05-15

修回日期: 2025-07-21