

外周血单核细胞 AKT/mTOR 信号通路表达在慢性阻塞性肺疾病患者中的评估价值

张军军, 梁 珍, 彭延芳

(鄂尔多斯市中心医院呼吸与危重症医学科, 内蒙古 鄂尔多斯 017010)

[摘要] **目的** 探讨 AKT/mTOR 信号通路表达在慢性阻塞性肺疾病患者中的研究价值。**方法** 收集 2023 年 1 月至 2024 年 6 月于鄂尔多斯市中心医院健康对照者 20 例、稳定期 COPD(R-COPD)患者 20 例及急性加重期 COPD(AE-COPD)患者 20 例。所有研究对象均采集外周静脉血样本, 分离其血清及外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMCs), 采用定量逆转录聚合酶链反应(quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction, qRT-PCR)检测 PBMCs 中 AKT/mTOR 信号通路的表达水平。体外实验中, 将人肺微血管内皮细胞(human lung microvascular endothelial cells-5a, HULEC-5a)和人肺支气管上皮细胞(human bronchial epithelial cells, HBE)分为对照组、香烟烟雾提取物(CSE)组和 AKT 抑制剂 MK-2206 组, 通过 qRT-PCR、蛋白印迹及免疫荧光法检测各组细胞中 AKT/mTOR 信号通路的表达; 采用条件培养基共培养实验, 将含 MK-2206 的 HULEC-5a 细胞上清液加入肺成纤维细胞或人白血病 THP-1 细胞系衍生巨噬细胞的培养孔中, 通过 Transwell 法分析细胞迁移能力。**结果** 三组受试者性别、年龄、体重、身高及 BMI 差异无统计学意义($P > 0.05$)。肺功能方面, AE-COPD 组 FVC(72.08 ± 10.78 , % pred.)、FEV1(47.21 ± 11.32 , % pred.)及 FEV1/FVC(% $, 58.67 \pm 11.68$)低于 R-COPD 组和健康对照组($P < 0.05$)。qRT-PCR 显示, AE-COPD 组 PBMCs 中 AKT mRNA 和 mTOR mRNA 表达量高于 R-COPD 组和健康对照组($F = 10.31, 13.23, P = 0.001$)。体外实验中, HULEC-5a 和 HBE 细胞 CSE 组 AKT/mTOR 的 mRNA 及蛋白表达高于对照组, 而 MK-2206 组较 CSE 组降低($P < 0.05$)。免疫荧光定量显示, CSE 组 AKT/mTOR 荧光强度升高, MK-2206 组则明显降低($F = 18.632, 17.853, P = 0.000$)。Transwell 实验显示, CSE 组人肺成纤维细胞[(391.31 ± 23.21)个/视野]和 THP-1 巨噬细胞[(411.25 ± 32.65)个/视野]数量高于对照组, MK-2206 组较 CSE 组减少($F = 24.389, 36.645, P = 0.001$)。**结论** AKT/mTOR 信号通路在 COPD 加重期间上调, AKT 抑制剂 MK-2206 降低了 AKT/mTOR 信号通路表达, AKT/mTOR 信号通路可影响肺成纤维细胞和单核细胞源性巨噬细胞的迁移, 可能在 COPD 加重过程中发挥重要作用。

[关键词] 外周血单核细胞; Akt/mTOR; 慢性阻塞性肺疾病

[中图分类号] R563 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2095 - 610X(2026)06 - 0056 - 08

Evaluation Value of AKT/mTOR Signaling Pathway Expression in Peripheral Blood Mononuclear Cells in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease

ZHANG Junjun, LIANG Zhen, PENG Yanfang

(Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Ordos Central Hospital,
Ordos Inner Mongolia 017010, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the research value of AKT/mTOR signaling pathway expression in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). **Methods** From January 2023 to June 2024, 20 healthy controls, 20 stable COPD (R-COPD) patients, and 20 acute exacerbation COPD (AE-COPD) patients

[收稿日期] 2025 - 07 - 07

[基金项目] 内蒙古自治区卫生健康委科研项目(2021N032125)

[作者简介] 张军军(1984~), 男, 内蒙古鄂尔多斯人, 医学学士, 主治医师, 主要从事肺曲霉菌感染、慢性阻塞性肺疾病、呼吸衰竭、机械通气工作。

were recruited from the Central Hospital of Ordos City. Peripheral venous blood samples were collected from all participants, with serum and peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) isolated. Quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (qRT-PCR) was employed to assess the expression levels of the AKT/mTOR signaling pathway in PBMCs. In vitro experiments involved human lung microvascular endothelial cells (HULEC-5a) and human bronchial epithelial cells (HBE), which were categorized into control, cigarette smoke extract (CSE), and AKT inhibitor MK-2206 groups. qRT-PCR, Western blot, and immunofluorescence techniques were utilized to evaluate the expression of the AKT/mTOR signaling pathway in each group. Through conditional medium co-culture experiments, HULEC-5a cell supernatant containing MK-2206 was introduced to the culture wells of lung fibroblasts or THP-1 cell line-derived macrophages, and cell migration ability was assessed using the Transwell method. **Results** No statistically significant differences were observed in gender, age, weight, height, and BMI among the three groups ($P > 0.05$). In terms of lung function, the AE-COPD group exhibited lower FVC (72.08 ± 10.78 , % pred.), FEV1 (47.21 ± 11.32 , % pred.), and FEV1/FVC (58.67 ± 11.68 , %) compared to the R-COPD and healthy control groups ($P < 0.05$). qRT-PCR analysis indicated higher AKT mRNA and mTOR mRNA expression in PBMCs of the AE-COPD group relative to the R-COPD and healthy control groups ($F = 10.31$, 13.23 , $P = 0.001$). In vitro experiments revealed that the CSE group had elevated AKT/mTOR mRNA and protein expression in HULEC-5a and HBE cells compared to the control group, while the MK-2206 group exhibited lower levels ($P < 0.05$). Immunofluorescence quantification demonstrated increased AKT/mTOR fluorescence intensity in the CSE group and significantly reduced intensity in the MK-2206 group ($F = 18.632$, 17.853 , $P = 0.000$). Transwell experiments showed higher numbers of lung fibroblasts [(391.31 ± 23.21) cells/field] and THP-1 macrophages [(411.25 ± 32.65) cells/field] in the CSE group, with the MK-2206 group displaying reduced numbers compared to the CSE group ($F = 24.389$, 36.645 , $P = 0.001$). **Conclusion** AKT/mTOR signaling pathway is upregulated during COPD exacerbation. AKT inhibitor MK-2206 reduces AKT/mTOR pathway expression and may affect lung fibroblast and monocyte-derived macrophage migration, potentially playing a crucial role in COPD exacerbation process.

[**Key words**] Peripheral blood mononuclear cells; Akt/mTOR; Chronic obstructive pulmonary disease

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)以慢性支气管炎和气流阻塞为特征,吸烟在其疾病进展中有着重要作用,可诱发机体异常炎症反应、细胞凋亡和氧化应激^[1]。在临床上,慢性阻塞性肺病急性加重期(acute exacerbation of COPD, AE-COPD)具有较高死亡率,其特征是呼吸系统症状加重^[2]。研究表明,AE-COPD 不仅会增加患者住院经济负担,当前临床采用的支气管舒张剂、糖皮质激素及抗生素等治疗手段,还因存在较多副作用而受限^[3]。因此,迫切需要深入探索 AE-COPD 的发病机制,以开发新的有效治疗方法。丝氨酸/苏氨酸激酶(serine/threonine kinase, AKT),也称为蛋白激酶,调节细胞增殖、分化、凋亡、葡萄糖代谢和肿瘤发生,AKT/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)信号通路在细胞凋亡过程中起关键调控作用^[4-5]。目前关于该信号通路在 COPD 中的表达情况的相关研究较少。

因此,本研究检测了稳定型 COPD 患者和急性加重型 COPD 患者的外周血样本单核细胞

AKT/mTOR 信号通路表达,还利用体外循环成纤维细胞和单核细胞模型验证了 AKT/mTOR 信号通路是否参与两种细胞的迁移,可明确 AKT/mTOR 信号通路在 COPD 不同疾病阶段的表达差异,揭示其与 AE-COPD 发病及病情进展的关联,还能后续阐明 COPD 的细胞分子机制、开发靶向该通路的 AE-COPD 新型治疗方案提供实验依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象

1.1.1 纳入与排除标准 收集 2023 年 1 月至 2024 年 6 月期间在鄂尔多斯市中心医院就诊的慢性阻塞性肺疾病(global initiative for chronic obstructive lung disease, COPD)患者($n = 40$)以及体检的健康人群($n = 20$)。COPD 患者纳入标准:(1)年龄 40~75 岁;(2)符合全球慢性阻塞性肺疾病倡议(global initiative for chronic obstructive lung disease, GOLD) 2017 指南诊断标准^[6],其中缓解期(R-COPD)定义为急性加重症状缓解 ≥ 4 周,无明显

下呼吸道症状；(3)急性加重期(AE-COPD)定义为至少出现两种下呼吸道症状(呼吸短促、痰脓、咳嗽、喘息、胸闷)或新发两种及以上此类症状，且至少一种症状持续 ≥ 3 d；(4)吸烟史 ≥ 20 包/年(每日吸烟包数 $\times$ 吸烟年数)。

排除标准：(1)合并肺癌、肺结核、支气管哮喘、间质性肺病等其他肺部疾病；(2)合并严重肝肾功能不全、心力衰竭、恶性肿瘤等全身性疾病；(3)近 3 个月内有严重感染、手术史或使用免疫抑制剂治疗；(4)精神疾病患者或无法配合完成研究流程者。

对照受试者：年龄、性别、吸烟史(≥ 20 包/年)与 COPD 患者匹配；肺功能检查正常($FEV_1/FVC \geq 70\%$, $FEV_1 \geq 80\%$ 预计值)；无慢性肺部疾病史、心血管疾病史及自身免疫性疾病史。本研究经鄂尔多斯市中心医院伦理委员会批准通过(2026-039)，所有患者及家属知情同意。

1.1.2 样本量计算依据 基于主要结局指标(外周血单个核细胞 PBMCs 中 AKT mRNA 相对表达量)的预实验结果，通过 G*Power 3.1 软件计算样本量：预实验显示急性加重期 COPD(AE-COPD)组与对照组间 AKT mRNA 表达差异的效应量为 1.2(Cohen's d)，设定显著性水平 $\alpha = 0.05$ (双侧)，检验效能 $1 - \beta = 0.8$ ，得出每组所需最低样本量为 16 例。结合实际筛选情况，本研究最终纳入 COPD 缓解期患者(R-COPD)20 例、急性加重期患者(AE-COPD)20 例以及对照受试者 20 例。

1.2 外周血单核细胞分离

用 Ficoll-Paque PLUS 梯度离心法从 2 mL 外周血中分离外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMCs)。分离后通过台盼蓝染色法检测细胞存活率：取 10 μ L 细胞悬液与 10 μ L 0.4% 台盼蓝溶液混合，静置 3 min 后显微镜下计数，活细胞比例 $\geq 95\%$ 视为合格；采用流式细胞术检测纯度：以 CD45 荧光抗体(BD Biosciences)标记细胞，流式细胞仪(Accuri C6)分析 CD45⁺细胞比例，确保 PBMCs 纯度 $\geq 90\%$ 。合格细胞立即保存于液氮中，随后转移至 -80°C 冰箱长期保存。

1.3 细胞培养和处理

人肺微血管内皮细胞(human lung microvascular endothelial cells-5a, HULEC-5a)和人肺支气管上皮细胞(human bronchial epithelial cells, HBE)购自 American Type Culture Collection(ATCC, Manassas, VA, USA)，将 HULEC-5a 细胞置于含有 10% 热灭活胎牛血清(FBS)、EGF (10 μ g/mL)和氢化可的松(1 μ g/mL)的 MCDB131 培养基中，

37°C ，5% CO_2 中培养。HBE 细胞在添加 EGF (10 μ g/mL)、氢化可的松(1 μ g/mL)和 10% 胎牛血清的 M199 培养基中生长， 37°C ，5% CO_2 中培养。

参照文献制备香烟烟雾提取物(cigarette smoke extract, CSE)^[7]，使用 3R4F 标准参考香烟(购自 kentucky tobacco research center)，每支香烟在 5 min 内完全燃烧，烟雾通过 10 mL 无血清培养基 bubbling 收集，经 0.22 μ m 滤膜过滤后定义为 100% CSE，紫外分光光度计 260 nm 处测定 OD 值为 0.8 ± 0.05 ，分装后 -80°C 保存。使用时稀释至 10% 终浓度(体积比)刺激 HULEC-5a 和 HBE 细胞 24 h。从 ATCC 购买人肺成纤维细胞，在添加 10% FBS 和成纤维细胞生长因子的 DMEM 培养基中培养。从 ATCC 购买人白血病 THP-1 细胞，在含有 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基中培养，将其转移到含有肉豆蔻酸佛波酯(PMA, 100 ng/mL)和 0.3% BSA 的无血清培养基中，培养 72 h，诱导巨噬细胞形成。将 MK-2206 的储备溶液配制在二甲基亚砜中，储存在 -20°C ，并在用于体外实验之前立即在新鲜培养基中稀释，用 5 μ M MK-2206 处理细胞 24 h^[8]。实验分为对照组(未处理)、CSE 组(10% CSE 处理)、MK-2206 组(10% CSE+5 μ M MK-2206 处理)。

1.4 定量逆转录聚合酶链反应(qRT-PCR)

使用 TRIzol Reagent (Invitrogen)提取总 RNA，根据说明书使用 TaqMan microRNA 逆转录试剂盒或 M-MLV 逆转录试剂盒(Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)合成互补 DNA(cDNA)，PCR 实验采用 SYBR Green Ready Mix(购自 Applied Biosystems 公司)，并按照以下热循环条件进行： 95°C 5 min， 95°C 15 s 和 60°C 1 min 的 40 个循环。使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法定量 AKT/mTOR 信号通路表达，GAPDH 作为内源性对照。每个样品一式 3 份，每个实验重复 3 次。

1.5 免疫荧光

细胞用 PBS 洗涤 2 次，10% 甲醛固定 30 min，细胞与 5% 牛血清白蛋白在 TBST 中 37°C 孵育 1 h，与 AKT (1 : 100, Santa Cruz Biotechnology)和 mTOR (1 : 100, Santa Cruz Biotechnology)在 4°C 孵育过夜， 37°C 下用抗兔抗体孵育 1 h，4',6-二氨基-2-苯基吲哚(DAPI)染色 15 min，用荧光显微镜检测免疫荧光(Axiovert 200M；卡尔蔡司，耶拿，德国)。

1.6 蛋白印迹(Western blot)分析

每组细胞用 PBS 洗涤 2 次，并在加入 1 mmol/L 苯甲磺酰氟和蛋白酶抑制剂混合物的冰冷 RIPA 缓冲液中重悬(1 : 100；北通生物技术研究

所, 中国南通)。样品 12000 r/min 离心 20 min, 回收上清液, 使用 BCA 蛋白测定试剂盒定量总蛋白, 每孔取 30 μg 总蛋白在 10% SDS-聚丙烯酰胺凝胶上装载和分离, 并转移到 PVDF 膜上, 在室温下, 用 5% 的牛奶在 TBS 中添加 0.05% 的 Tween-20(TBST) 封闭 1 h, 用相应的一抗(抗 AKT, 1:1000; 抗 mTOR, 1:2000 和抗 GAPDH(1:5000), 用 TBST 洗涤 3 次, 用辣根过氧化物酶偶联的山羊抗兔 IgG(1:20000; 37℃ 40 min), 用 TBST 洗涤 3 次, 用 ECL 试剂观察, GAPDH 作为对照。

1.7 Transwell 迁移实验

Transwell 实验评估人肺成纤维细胞和 THP-1 巨噬细胞暴露于条件培养基后的迁移能力, 将无血清培养基中制备的细胞置于 24 孔 Transwell 板中, 再加入 600 μL 含 10% FBS 的培养基, 培养 24 h 后, 细胞用 4% 多聚甲醛固定, 并用 0.1% 结晶紫染色, 在光学显微镜(×200)下镜检, 随机选择 6 个视野, 计数染色细胞的数量。

1.8 统计学分析

采用 SPSS 21.0 软件分析, 经 Shapiro-Wilk 检验验证数据正态性, Levene 检验验证方差齐性。符合正态分布数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组间用独立样本 *t* 检验; 多组间先做单因素方差分析, 若 *P* < 0.05 再用 LSD-*t* 检验进行两两比较。计数资料用 Pearson χ^2 检验比较, 理论频数不符时用校正 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法。以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 COPD 患者外周血单核细胞中 AKT/mTOR 信号通路表达水平

qRT-PCR 和蛋白印迹检测对照组、R-COPD

组和 AE-COPD 组分离的 PBMC 中 AKT/mTOR 信号通路表达水平。COPD 患者与健康受试者的基线特征, 包括性别、年龄、体重、身高、体质指数(BMI)、用力肺活量(FVC)、第一秒用力呼气量(FEV1)。健康组与 COPD 患者 FVC、FEV1、FEV1/FVC 差异有统计学意义(*P* < 0.05), 见表 1。AKT/mTOR 信号通路在 R-COPD 和 AE-COPD 组中的 mRNA 表达水平均明显高于对照组(*P* < 0.001), 且 AE-COPD 的表达水平明显高于 R-COPD(*P* < 0.05), 见图 1。

2.2 CSE 对体外 AKT/mTOR 信号通路表达水平的影响

由于吸烟是 COPD 的主要原因, 接下来用 CSE 刺激 HULEC-5a 或 HBE 细胞, 然后测定细胞中 AKT/mTOR 信号通路表达的水平。qRT-PCR 和蛋白印迹显示, 与对照组比较, CSE 组表达 AKT/mTOR 信号通路升高(mRNA 及蛋白)表达水平显著升高(*P* < 0.001); 而 MK-2206 组该信号通路相关分子的表达水平较 CSE 组显著降低(*P* < 0.001); 免疫荧光染色显示, 在 HULEC-5a 和 HBE 细胞中, CSE 组后 AKT/mTOR 水平升高, 但 MK-2206 组 AKT/mTOR 水平降低, 差异有统计学意义(*P* < 0.05), 见图 2。

2.3 AKT/mTOR 信号通路对人肺成纤维细胞和巨噬细胞迁移的影响

评估 AKT/mTOR 信号通路对循环成纤维细胞和单核细胞迁移的影响, Transwell 法检测肺成纤维细胞和 THP-1 巨噬细胞的迁移能力。将人肺成纤维细胞作为循环成纤维细胞和单核细胞, 并在体外将 THP-1 添加到贴壁巨噬细胞中。在进行共培养实验后, 与对照组相比, MK-2206 组迁移的循环成纤维细胞数量减少, THP-1 巨噬细胞也降低, 差异有统计学意义(*P* < 0.05), 见图 3。

表 1 三组患者一般资料比较($\bar{x} \pm s$, *n* = 20)

Tab. 1 Comparison of baseline characteristics among the three patient groups($\bar{x} \pm s$, *n* = 20)

项目	对照组	R-COPD组	AE-COPD组	<i>F</i> / χ^2	<i>P</i>
性别(男/女, <i>n</i>)	17/3	18/2	19/1	0.332	0.131
年龄(岁)	58.1 ± 5.8	56.5 ± 7.2	59.6 ± 6.0	0.234	0.232
体重(kg)	65.3 ± 12.3	63.5 ± 14.2	61.8 ± 11.8	0.134	0.287
身高(cm)	169.3 ± 8.3	167.8 ± 9.3	168.2 ± 10.2	0.255	0.167
BMI(kg/m ²)	22.8 ± 3.6	22.3 ± 4.7	21.6 ± 3.3	0.111	0.356
用力肺活量(FVC, % pred.)	92.65 ± 7.05	75.27 ± 9.55 [#]	72.08 ± 10.78 ^{▲#}	-7.242	0.021 [*]
第一秒用力呼气量(FEV ₁ , % pred.)	82.34 ± 6.57	52.31 ± 8.63 [#]	47.21 ± 11.32 ^{▲#}	-9.313	<0.001 [*]
第一秒用力呼气量/用力肺活量(FEV ₁ /FVC, %)	88.86 ± 7.82	69.49 ± 12.6 [#]	58.67 ± 11.68 ^{▲#}	-8.891	0.012 [*]

^{*}*P* < 0.05; 与R-COPD组比较, [▲]*P* < 0.05; 与对照组比较, [#]*P* < 0.05。

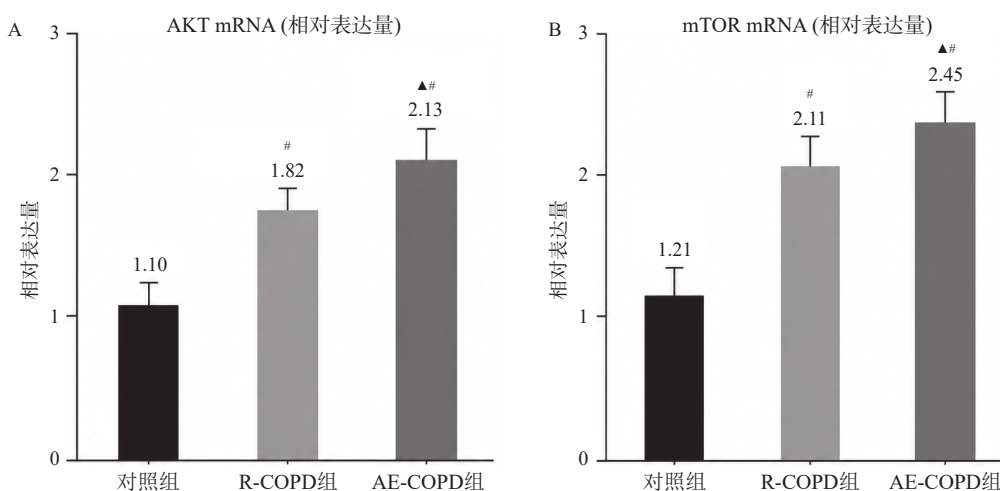


图 1 COPD 患者外周血单核细胞中 AKT/mTOR 信号通路 mRNA 表达水平

Fig. 1 mRNA expression levels of the AKT/mTOR signaling pathway in peripheral blood mononuclear cells of COPD patients

A: ATK mRNA; B: mTOR mRNA; 与 R-COPD 组比较, $\blacktriangle P < 0.05$; 与对照组比较, $\#P < 0.05$ 。

3 讨论

COPD 是一种慢性炎症性疾病,其核心病理机制涉及气道重塑、肺气肿及全身性炎症反应的恶性循环^[9-10]。而 AKT 的多功能活性与 COPD 破坏性发病机制密切相关^[11]。本研究聚焦 AKT/mTOR 信号通路在 COPD 中的作用,发现该通路在疾病进展及急性加重过程中呈现动态激活,且与吸烟诱导的肺损伤及炎症细胞迁移密切相关,为理解 COPD 发病机制及潜在治疗靶点提供了实验依据。

AKT 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,其功能是与生存、炎症和生长相关的多种信号传导程序相关的信号传导中介,AKT 与关键的膜结合受体密切相关,是 COPD 发病过程中的融合点^[12]。AKT/mTOR 信号通路作为细胞内关键调控网络,在 COPD 炎症级联反应中扮演核心角色^[13]。研究显示,AKT 参与 COPD 的系统性表现,如骨骼肌萎缩和代谢紊乱;此外,靶向 AKT 可能提供一种有效的方法来限制 COPD 疾病恶化的严重程度和持续时间^[14]。本研究中发现外周血单核细胞中 AKT/mTOR 信号通路在 COPD 外周血中的表达与对照组相比上调,AE-COPD 组上升更为明显。这些结果表明外周血单核细胞中 AKT/mTOR 信号通路表达上调可能参与了 COPD,尤其是 AE-COPD。因此,AKT 是 COPD 的一个治疗靶点,AKT 的抑制剂和激活剂可能对治疗 COPD 患者有用。

AKT 活化的一个重要下游途径是蛋白激酶 mTOR 的活化,这是通过 TSC2 的磷酸化发生的,

激活脑 Ras 同源蛋白(Ras homolog enriched in brain, RHEB),后刺激多蛋白复合物 mTOR, mTOR 导致真核翻译延长因子 4H (eukaryotic translation extension factor 4H, eIF4)复合物进一步下游活化,促进肿瘤发生,调节细胞周期和抑制细胞凋亡^[15-16]。由于吸烟可引发和加重 COPD 的炎症过程^[2]。相关研究显示, mTORC1 复合物的特异性激活可能通过上调 MMP-9 表达加速肺泡壁细胞外基质的降解,这与 COPD 患者肺气肿形成存在潜在关联^[17]。在巨噬细胞极化方向, mTOR 激活可能驱动 M1 型极化,促进促炎因子风暴形成,而 MK-2206 干预可逆转该过程,这为 COPD 急性加重的免疫调节治疗提供了新思路^[18]。本研究用 CSE 刺激 HULEC-5a 和 HBE 细胞,发现 CSE 刺激上调了 HLEEC-5a 和 HBE 细胞中 AKT/mTOR 信号通路的表达水平,而 AKT 抑制剂 MK-2206 降低了 AKT/mTOR 信号通路表达。

据报道,慢性阻塞性疾病和特发性肺纤维化患者外周血中循环纤维细胞数量增加,此外,循环单核细胞向气道和肺部募集是促进 COPD 肺损伤的另一个重要过程^[19-20]。本研究发现, AKT/mTOR 信号通路的抑制有效降低了人肺成纤维细胞和巨噬细胞的迁移。在 COPD 加重期间, AKT/mTOR 信号通路在慢性阻塞性肺病急性加重期间可能参与将纤维细胞募集到肺部。基于这些数据,推测 COPD 患者中外周血单核细胞中 AKT/mTOR 信号通路表达升高,并最终招募人肺成纤维细胞和循环单核细胞进入周围组织,最终促进 COPD 发展。

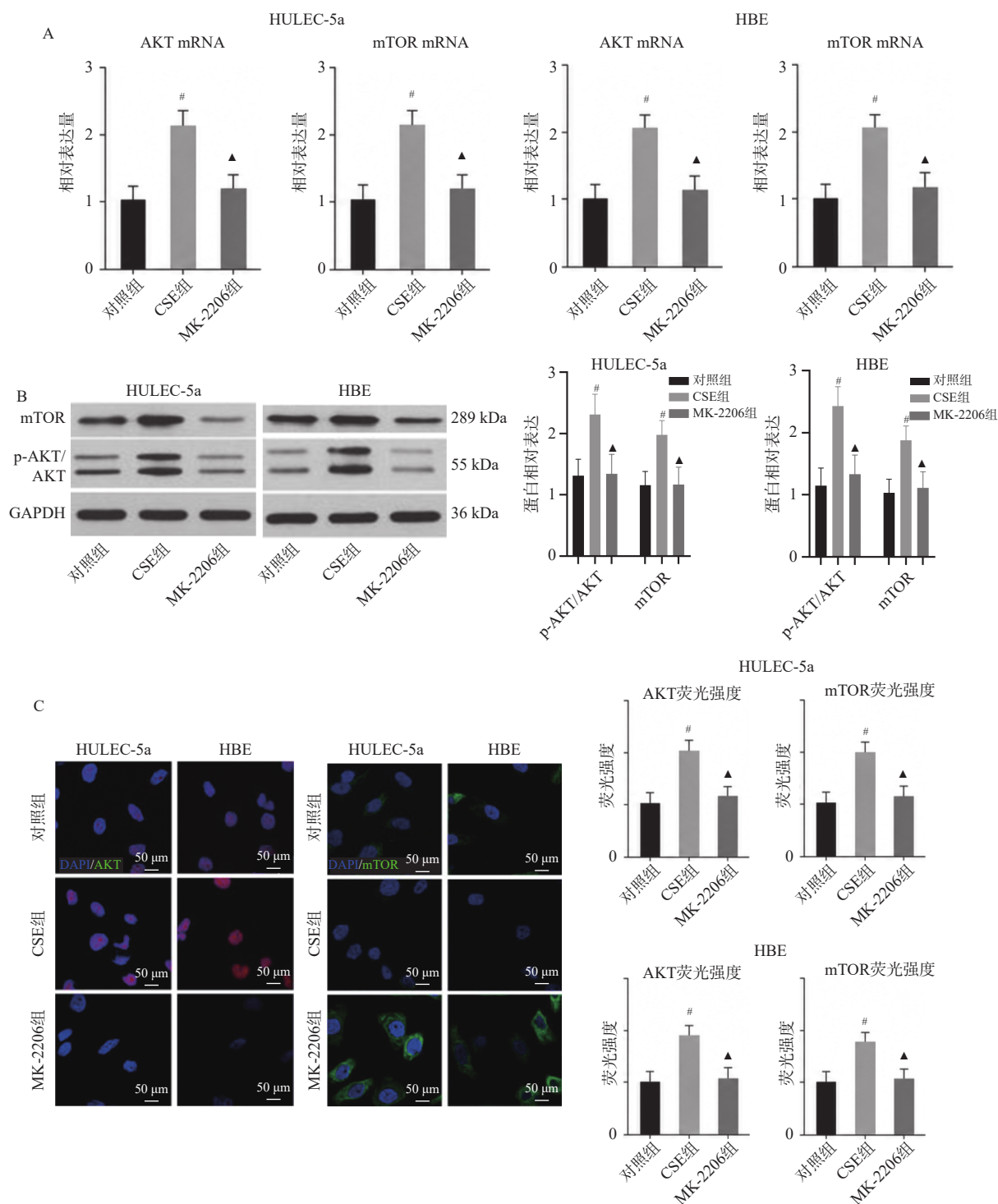


图2 CSE 对体外 AKT/mTOR 信号通路表达水平作用 ($n=3$)

Fig. 2 Effect of CSE on the expression levels of AKT/mTOR signaling pathway in vitro ($n=3$)

A: 转染的 HULEC-5a 和 HBE 细胞中 AKT/mTOR 信号通路 mRNA 表达; B: 蛋白质印迹法检查转染的 HULEC-5a 和 HBE 细胞中 AKT/mTOR 信号通路表达及定量分析; C: 免疫荧光显微镜检测 AKT/mTOR 信号通路表达及定量分析; 与对照组比较, [#] $P<0.05$; 与 CSE 组比较, [▲] $P<0.05$ 。

本研究存在一定局限性: (1) 样本量相对较小 (每组 20 例), 虽基于预实验效应量计算满足最低统计效能要求, 未来需扩大多中心样本量验证; (2) 未进行长期随访, 无法明确 AKT/mTOR 表达水平与 COPD 急性加重频率及预后的关联; (3) 体

外实验仅采用单一浓度 CSE 和 MK-2206, 未完全排除浓度依赖性效应, 且细胞模型无法完全模拟体内复杂的炎症微环境; (4) 未深入探索 AKT/mTOR 与其他信号通路 (如 MAPK、NF- κ B) 的交互作用, 其在 COPD 中的协同调控机制仍需进一步研究。

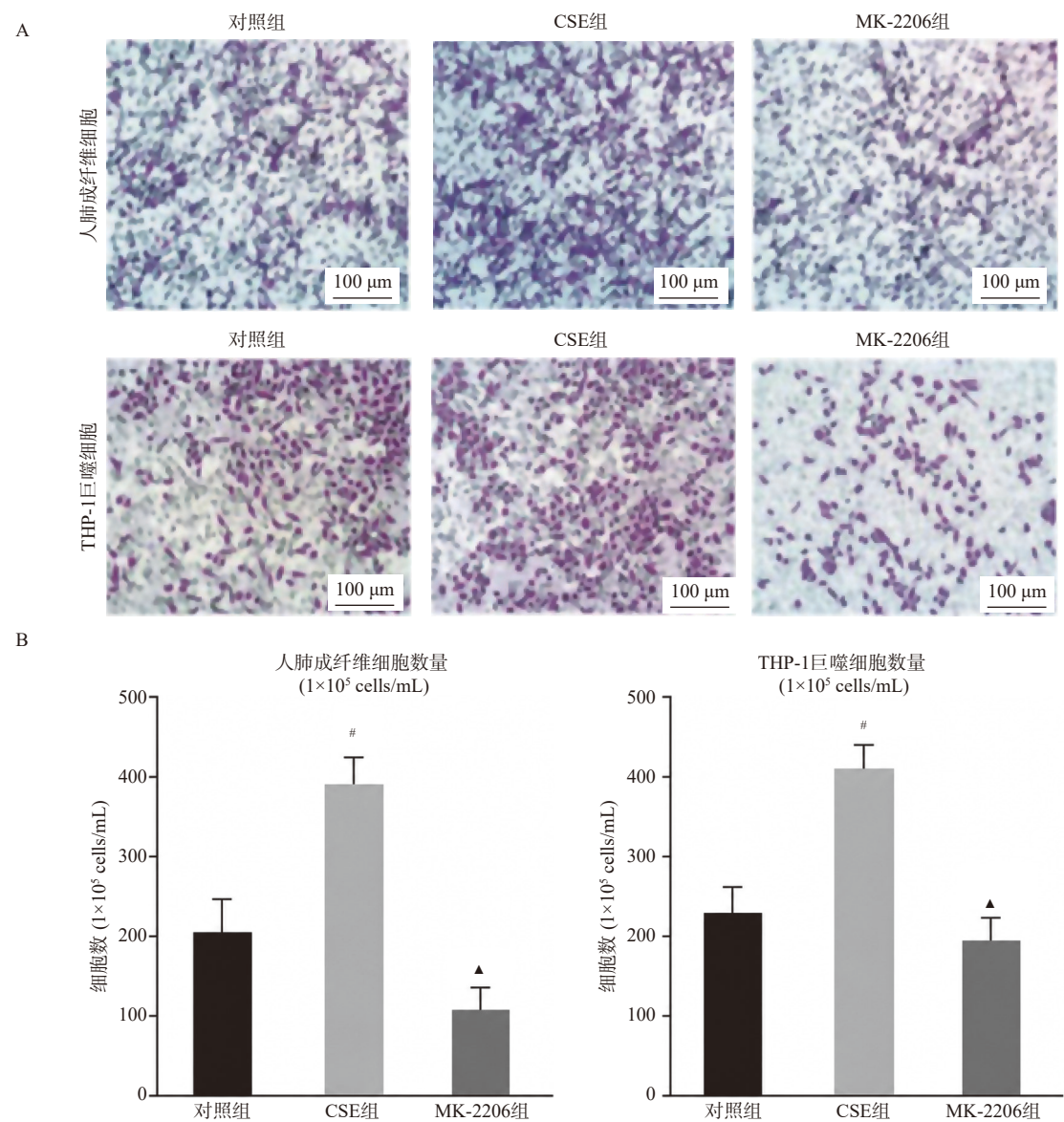


图 3 AKT/mTOR 信号通路对人肺成纤维细胞和巨噬细胞迁移的影响($n = 3$)

Fig. 3 Effect of the AKT/mTOR signaling pathway on the migration of human lung fibroblasts and macrophages ($n = 3$)

A: 各组细胞迁移的形态学观察 ($\times 200$); B: 迁移细胞数量的定量统计分析; 与对照组比较, $\#P < 0.05$; 与 CSE 组比较; $\blacktriangle P < 0.05$ 。

综上所述, 本研究显示 AKT/mTOR 信号通路在 COPD 加重期间上调。体外实验也同样表明, AKT/mTOR 信号通路在 CSE 模型中上调, AKT 抑制剂 MK-2206 降低了 AKT/mTOR 信号通路表达, 此外, AKT/mTOR 信号通路可能通过减少循环成纤维细胞和巨噬细胞的募集来帮助保护患者免受 COPD 进展, 对 COPD 的治疗研究具有重要意义。

[参考文献]

[1] 付道芳, 徐治波, 陈红, 等. 康北高原慢性阻塞性肺疾病急性加重患者发生静脉血栓栓塞症风险预测模型的构建及预测效能 [J]. 临床肺科杂志, 2024, 29(2): 178–183.

[2] Vogelmeier C F, Rom á n-Rodr í guez M, Singh D, et al. Goals of COPD treatment: Focus on symptoms and exacerbations [J]. Respir Med, 2020, 166: 105938.

[3] Guo P, Li R, Piao T H, et al. Pathological mechanism and targeted drugs of COPD [J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, 2022, 17: 1565–1575.

[4] Peng Y, Wang Y, Zhou C, et al. PI3K/Akt/mTOR pathway and its role in cancer therapeutics: Are we making headway? [J]. Front Oncol, 2022, 12: 819128.

[5] Wang L, Jiang W, Wang J, et al. Puerarin inhibits FUN–

- DC1-mediated mitochondrial autophagy and CSE-induced apoptosis of human bronchial epithelial cells by activating the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway[J]. *Aging*, 2022, 14(3): 1253–1264.
- [6] Crisafulli E, Torres A. COPD 2017: A year in review[J]. *COPD J Chronic Obstr Pulm Dis*, 2018, 15(2): 118–122.
- [7] Easter M, Bollenbecker S, Barnes J W, et al. Targeting aging pathways in chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(18): 6924.
- [8] Zhao Y Y, Tian Y, Zhang J, et al. Effects of an oral allosteric AKT inhibitor (MK-2206) on human nasopharyngeal cancer *in vitro* and *in vivo*[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2014, 8: 1827–1837.
- [9] 郑琪, 秦斌斌, 沈斌, 等. Vanin-1 在慢性阻塞性肺疾病患者血清中的表达及临床意义 [J]. *临床肺科杂志*, 2024, 29(2): 207–211.
- [10] Besnek Ç, Akkok B, Sahin H, et al. Determination of the frequency of sarcopenia in patients admitted with COPD diagnosis with the SARC-F survey[J]. *BMC Pulm Med*, 2025, 25(1): 334.
- [11] Wang C, Zhou J, Wang J, et al. Progress in the mechanism and targeted drug therapy for COPD[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5(1): 248.
- [12] Chen L, Zhu D, Huang J, et al. Identification of hub genes associated with COPD through integrated bioinformatics analysis[J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2022, 17: 439–456.
- [13] Ding T, Zhao S, Gu Y, et al. IL-17A regulates airway re-modelling in COPD through the PI3K/AKT/mTOR pathway[J]. *Sci Rep*, 2025, 15(1): 16546.
- [14] Zeng Y, Zhao Y, Chen Y, et al. PECAM EMPs regulate apoptosis in pulmonary microvascular endothelial cells in COPD by activating the Akt signaling pathway[J]. *Tob Induc Dis*, 2022, 20: 40.
- [15] Tan A C. Targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway in non-small cell lung cancer (NSCLC) [J]. *Thorac Cancer*, 2020, 11(3): 511–518.
- [16] Li Q, Li Z, Luo T, et al. Targeting the PI3K/AKT/mTOR and RAF/MEK/ERK pathways for cancer therapy[J]. *Mol Biomed*, 2022, 3(1): 47.
- [17] Rios-Fuller T J, Mahe M, Walters B, et al. Translation regulation by eIF2 α phosphorylation and mTORC1 signaling pathways in non-communicable diseases (NCDs) [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(15): 5301.
- [18] Fang L, Wang X, Zhang M, et al. microRNA-101-3p suppresses mTOR and causes mitochondrial fragmentation and cell degeneration in COPD[J]. *Can Respir J*, 2022, 2022: 5933324.
- [19] Friedmann-Morvinski D, Hambarzumyan D. Monocyte-neutrophil entanglement in glioblastoma[J]. *J Clin Invest*, 2023, 133(1): e163451.
- [20] Stewart I D, Nanji H, Figueredo G, et al. Circulating fibrocytes are not disease-specific prognosticators in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Eur Respir J*, 2021, 58(1): 2100172.