中国比较医学杂志
Chinese Journal of Comparative Medicine
ISSN 1671-7856,CN 11-4822/R

《中国比较医学杂志》网络首发论文

题目：异丙酚靶向 BPIFB1/TLR4 轴调控小胶质细胞极化以改善脑缺血/再灌注损伤
作者：刘鹏森，杜思龙，毛轲，杨建生，王灿，赵彦芬，李珮琳，郭云亮
收稿日期：2026-02-05
网络首发日期：2026-11-05
引用格式：刘鹏森，杜思龙，毛轲，杨建生，王灿，赵彦芬，李珮琳，郭云亮．异丙酚靶向 BPIFB1/TLR4 轴调控小胶质细胞极化以改善脑缺血/再灌注损伤[J/OL]．中国比较医学杂志.
https://link.cnki.net/urlid/11.4822.R.20261105.1400.002

网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

异丙酚靶向 BPIFB1/TLR4 轴调控小胶质细胞极化以改善脑缺血/再灌注损伤

刘鹏森，杜思龙，毛 轲，杨建生，王 灿，赵彦芬，李珮琳，郭云亮✉

（河南省中医院（河南中医药大学第二附属医院），郑州 450002）
✉通信作者 郭云亮（1976—），男，副主任医师，研究方向：神经注药等各种术后镇痛技术。E-mail：79240908@qq.com

摘要 目的 本研究旨在探讨异丙酚是否通过调控 BPI 折叠内含蛋白 B1（BPIFB1）/Toll 样受体 4（TLR4）通路调控小胶质细胞极化，减轻脑缺血/再灌注（I/R）损伤。方法 建立小鼠大脑中动脉阻塞（MCAO）模型，分为假手术组、MCAO 组和 MCAO+propofol 组，每组 9 只。采用 TTC 染色、神经功能评分、免疫荧光染色评估脑损伤及小胶质细胞极化，qPCR 和 Western blot 检测 BPIFB1/TLR4 表达。使用小鼠小胶质细胞系 BV2 构建氧糖剥夺（OGD）模型，分为对照组、OGD 组和 OGD+propofol 组，采用免疫荧光染色、qPCR 和 Western blot 检测极化状态与 BPIFB1/TLR4 表达；并通过分子对接与 siRNA 敲低技术分析异丙酚与 BPIFB1 的相互作用及 BPIFB1 的功能。结果 体内实验表明，异丙酚能显著改善 MCAO 小鼠神经功能，减轻脑梗死体积及水肿（P<0.05），抑制脑组织小胶质细胞 M1 极化并促进 M2 极化，同时上调 BPIFB1、抑制 TLR4 表达（P<0.05）。体外实验进一步表明，异丙酚预处理可抑制 OGD 诱导的 BV2 细胞 M1 极化、促进 M2 极化，并上调 BPIFB1、下调 TLR4 蛋白水平（P<0.05）。分子对接分析表明，异丙酚与 BPIFB1 蛋白具有潜在的结合能力；敲低 *BPIFB*1 可逆转异丙酚对 M2 极化的促进、对 TLR4 的抑制及其细胞保护作用（P<0.05）。结论 异丙酚通过 BPIFB1/TLR4 信号通路调控促进小胶质细胞向 M2 抗炎型极化，在脑 I/R 损伤中发挥神经保护作用。

关键词 缺血性脑卒中；神经保护；异丙酚；BPI 折叠内含蛋白 B1；Toll 样受体 4；小胶质细胞
中图分类号 R743.3；R963；R363 文献标志码 A

Propofol targets the BPIFB1/TLR4 axis to regulate microglial polarization and ameliorate cerebral ischemia/reperfusion injury

LIU Pengsen, DU Silong, MAO Ke, YANG Jiansheng, WANG Can, ZHAO Yanfen, LI Peilin, GUO Yunliang✉

（Henan Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine (the Second Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine), Zhengzhou 450002, China）

Abstract Objective This study aimed to determine whether propofol alleviates cerebral ischemia/reperfusion (I/R) injury by promoting microglial M2 polarization through the BPI fold-containing family B member 1 (BPIFB1)/Toll-like receptor 4 (TLR4) pathway. Methods A mouse model of middle cerebral artery occlusion (MCAO) was established. Animals were divided into Sham, MCAO and MCAO +propofol groups, with nine mice per group. Cerebral injury and microglial polarization were assessed using TTC staining, neurological deficit scoring, immunofluorescence staining, and BPIFB1/TLR4 expression were assessedby quantitative real-time PCR (qPCR), and Western blot. *In vitro* experiments were performed using BV2 microglial cells subjected to oxygen-glucose deprivation (OGD); cells were divided into control, OGD, and OGD + propofol groups. Microglial polarization status and BPIFB1/TLR4 expression were evaluated by immunofluorescence, qPCR, and Western blot. Molecular docking was employed to analyze the interaction between propofol and BPIFB1, and siRNA-mediated knockdown was used to investigate the functional role of BPIFB1. Results Propofol significantly improved neurological function, reduced cerebral infarct volume and brain edema (P<0.05), suppressed microglial M1 polarization, and promoted microglial M2 polarization in the brain tissue of MCAO mice, upregulating BPIFB1 and downregulating TLR4 expression (P<0.05). *In vitro*, propofol pretreatment suppressed OGD-induced M1 polarization and enhanced M2 polarization in BV2 cells, with

收稿日期：2026-02-05
基金项目：河南省中医药科学研究专项课题（(2025LHZX2140)）。
作者简介：刘鹏森（1981—），男，副主任医师，研究方向：创伤休克、急危重病人的麻醉处理。E-mail：283786269@qq.com
网络首发时间：2026-11-05 14:32:23 网络首发地址：https://link.cnki.net/urlid/11.4822.R.20261105.1400.002

corresponding increases in BPIFB1 protein levels and decreases in TLR4 protein levels (P<0.05). Molecular docking revealed a potential binding interaction between propofol and BPIFB1. *BPIFB*1 knockdown reversed the propofol-induced promotion of M2 polarization, inhibition of TLR4 expression, and cytoprotective effects (P<0.05). Conclusions These findings demonstrate that propofol protects against cerebral I/R injury through BPIFB1/TLR4 signaling, shifting microglial polarization toward the anti-inflammatory M2 phenotype.
Key words ischemic stroke; neuroprotection; propofol; BPI fold-containing family B member 1; Toll-like receptor 4; microglia

刘鹏森，杜思龙，毛轲，等. 异丙酚靶向 BPIFB1/TLR4 轴调控小胶质细胞极化以改善脑缺血/再灌注损伤[J]. 中国比较医学杂志, 2026, 36(23): 00 – 00.
Liu PS, Du SL, Mao K, et al. Propofol targets the BPIFB1/TLR4 axis to regulate microglial polarization and ameliorate cerebral ischemia/reperfusion injury [J]. Chin J Comp Med, 2026, 36(23): 00 – 00.

缺血性脑卒中（ischemic stroke, IS）是因脑部血流供应中断引发的脑血管疾病，造成神经组织不可逆损伤[1]。尽快恢复缺血区域脑组织的血流再灌注，是目前临床治疗 IS 的核心策略。但此类再灌注治疗手段存在严格的时间窗限制，即便及时恢复局部血流灌注，仍可能诱发缺血/再灌注（ischemia/reperfusion, I/R）损伤[2]。因此，亟需开发针对 IS 病理进程的新型干预方案。

小胶质细胞是中枢神经系统（central nervous system, CNS）中固有核心免疫细胞[3]，可在脑缺血等病理条件刺激下迅速活化。活化的小胶质细胞具有双向极化潜能，可极化为促炎的 M1 型或抗炎的 M2 型[4]。M1 型小胶质细胞可释放大量促炎因子，加剧缺血后的神经损伤，M2 型小胶质细胞主要通过分泌抗炎介质与神经营养因子，发挥神经保护与损伤修复作用[5,6]。诱导小胶质细胞向 M2 型极化，是缓解脑缺血后继发性损伤的重要可行干预策略。

Toll 样受体 4（Toll-like receptor 4, TLR4）是 Toll 样受体家族的核心成员，通过感知内源性损伤信号和外源病原体触发免疫应答，是调控缺血性中风后小胶质细胞活化的关键分子[7]。抑制 TLR4 信号通路可促进小胶质细胞向 M2 型极化，BPI 折叠内含蛋白 B1（BPI fold-containing family B member 1, BPIFB1）被证实可抑制该通路[8,9]。但在脑缺血环境下 BPIFB1 与 TLR4 的具体调控关系尚不清楚。

异丙酚是临床广泛应用的静脉全身麻醉剂[10]，除镇静、镇痛的作用外，还具有良好的抗炎特性，可调控小胶质细胞活化在缺血性卒中中发挥神经保护作用[11,12]。TLR4/核因子 κB（nuclear factor-κB, NF-κB）是介导神经炎症的关键信号通路，异丙酚对该通路的调控已在多种中枢疾病模型中得到证实：在蛛网膜下腔出血模型中，异丙酚通过 miR-140-5p/髓样细胞触发受体 1/NF-κB 信号轴减轻小胶质细胞 M1 极化[13]；在抑郁症模型中，丙泊酚可抑制 TLR4/髓样分化因子 88（myeloid differentiation factor 88, MyD88）/NF-κB 通路活性，降低促炎因子释放[14]；在 I/R 模型中，异丙酚通过阻断 TLR4 通路减少促炎因子产生并缩小脑梗死体积[15]，其对氧糖剥夺（oxygen-glucose deprivation, OGD）处理的 BV2 小胶质细胞的保护作用亦与抑制 TLR4、MyD88 及 NF-κB 的表达密切相关[16]。尽管异丙酚调控 TLR4 信号通路的报道日益增多，但其是否通过 BPIFB1 这一 TLR4 上游调控分子影响小胶质细胞极化，目前尚不清楚。基于此，本研究旨在探讨异丙酚对 BPIFB1/TLR4 信号通路的调控作用及其对小胶质细胞 M2 极化的影响，以期为治疗 IS 提供新思路。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物

SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠 27 只，8~10 周龄，体质量 22~25 g，购自成都达硕实验动物有限公司[SCXK（川）2024-0028]。所有小鼠饲养在河南省中医院标准实验动物房[SYXK（豫）2021-0018]，自由饮食、饮水。本动物实验方案由河南省中医院（河南中医药大学第二附属医院）伦理委员会（HNSZYYWZ-20240025）审批。实验遵循 3R 原则，在确保实验科学性的前提下，合理减少动物使用

数量，优化实验方案以减轻动物痛苦。

1.1.2　细胞

小鼠小胶质细胞系 BV2（货号：SCSP-5208），购自中国科学院细胞库。

1.2　主要试剂与仪器

靶向 *BPIFB*1 基因及阴性对照小干扰 RNA（small interfering RNA, siRNA）购自北京擎科生物科技股份有限公司；改良 Eagle 培养基（货号：C11995500BT）、胎牛血清（货号：10099-141 购自美国 Gibco 公司；Lipofectamine™ 3000 转染试剂（货号：L3000015，Lot：3310198）、TRIzol 试剂（货号：15596018CN）购自美国 Invitrogen 公司；异丙酚（货号：C4X-1473，Lot，MKCT3059，纯度：97%）、离子钙结合衔接分子 1（ionized calcium-binding adapter molecule 1, Iba-1）单克隆抗体（货号：ZRB1177-25UL，Lot：Q3269611）、TLR4 单克隆抗体（货号：SAB1412548-100UG）、BPIFB1 抗体（货号：SAB4300878-100UL）购自德国 Merck KGaA 公司；氨基黑染色试剂盒（货号：G2001）购自陕西健吉跃生物科技有限公司；放射免疫沉淀分析（radioimmunoprecipitation assay, RIPA）裂解液（货号：89901）、分化簇（cluster of differentiation, CD）单克隆抗体（货号：14-0161-82）、CD206 单克隆抗体（货号：12-2061-82）购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司；山羊抗兔 IgG 抗体（货号：A-11008）、山羊抗鼠免疫球蛋白 G（immunoglobulin G, IgG）抗体（货号：A-11001）购自英国 Abcam 公司。奥林巴斯荧光显微镜（IX73）购自日本 Olympus 公司；MyGo Pro®荧光定量聚合酶链反应仪（MyGo Pro）购自英国 IT-IS Life Science 公司；NanoDrop One 核酸分析仪（型号：NanoDrop One）、细胞培养箱（型号：Thermo Scientific Heracell VIOS 160i）购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司；冷冻切片机（型号：Leica CM1950 S）购自徕卡显微系统（上海）有限公司；恒温干燥箱（型号：DHG-9031A）购自上海一恒科学仪器有限公司；电子天平（型号：普利赛斯 360EP）购自上海天美仪拓实验室设备有限公司；化学发光成像系统（型号：ChemiDoc）购自上海伯乐生命医学产品有限公司。

1.3　实验方法

1.3.1　动物实验分组及药物处理

将小鼠随机分为假手术（Sham）组、大脑中动脉阻塞（middle cerebral artery occlusion, MCAO）组及大脑中动脉阻塞+异丙酚（MCAO+propofol）组，每组 9 只，其中 3 只用于 2,3,5-三苯基氯化四氮唑（2,3,5-triphenyltetrazolium chloride, TTC）染色及脑含水量检测，3 只用于免疫荧光染色，3 只用于实时荧光定量 PCR（quantitative real-time PCR, qPCR）检测。所有动物均先进行神经功能缺损评分。MCAO 组小鼠采用线栓法制备模型：于小鼠颈部正中纵向切口，钝性分离皮下组织与肌肉，暴露血管。取预浸在 0.9%氯化钠溶液中的 6-0 单丝尼龙线栓自颈外动脉切口插入，经颈内动脉送至大脑中动脉以阻断血流。缺血 60 min，缓慢抽出线栓恢复血流再灌注。缝合后，将小鼠置于恒温笼中观察术后状态。MCAO+ propofol 组小鼠在造模前 30 min，通过腹腔注射 80 mg/kg 异丙酚[13]，其余操作同 MCAO 组。Sham 组小鼠仅接受相同的外科切口与血管分离，但不插入线栓阻塞血流。所有手术操作均严格遵循无菌技术规范。

1.3.2　细胞实验分组及药物处理

为观察异丙酚对 OGD 诱导 BV2 细胞极化的影响，将 BV2 细胞分为对照（Control）组、氧糖剥夺（OGD）组及氧糖剥夺+异丙酚（OGD+propofol）组。Control 组不做任何处理，其余组细胞采用 OGD 法处理模拟体外 I/R 损伤：弃去原培养基，更换为无糖培养基。置于 37 ℃低氧培养箱（94% N_2、5% CO_2、1% O_2）中培养 2 h 后，更换为完全培养基，模拟再灌注。OGD+propofol 组于 OGD 处理开始前 3 h，在培养基中加入终浓度为 50 μmol/L 异丙酚进行干预[14]，其余处理同 OGD 组。

为明确 BPIFB1 在异丙酚调控小胶质细胞极化中的作用，将 BV2 细胞分为阴性对照（si-NC）组、*BPIFB*1 敲低组 1（si-*BPIFB*1#1）组、*BPIFB*1 敲低组 2（si-*BPIFB*1#2）、氧糖剥夺+异丙酚+阴性对照小干扰 RNA（OGD+propofol+si-NC）组和氧糖剥夺+异丙酚+*BPIFB*1 小干扰 RNA（OGD+propofol+si-*BPIFB*1）组。si-NC 组和 si-*BPIFB*1 组分别转染阴性对照 siRNA 或靶向 *BPIFB*1 的 siRNA，用于筛选

高效干扰序列；OGD+propofol+si-NC 组和 OGD+propofol+si-*BPIFB*1 组先分别转染 si-NC 或 si-*BPIFB*1，转染 48 h 后，于 OGD 处理开始前 3 h 加入终浓度为 50 μmol/L 异丙酚，其余处理同 OGD 组。该分组用于 2.4、2.5 中 BPIFB1 敲低效率验证、小胶质细胞极化及 TLR4 表达检测。

1.3.3 siRNA **转染**

将 BV2 细胞以 2×10^5/孔接种于 6 孔板，待细胞融合率达 70%~80%，用 Opti-MEM 培养基稀释 siRNA 与 Lipofectamine™ 3000 转染试剂，混匀后孵育 15 min 形成转染复合物，加至样品孔中。转染 6 h 后更换为完全培养基培养，继续培养 48 h，收集细胞用于后续检测。靶向 *BPIFB*1 的 siRNA 序列为：si-*BPIFB*1#1：5’-GCACAGAGAUUUCAGUCUAGC-3’（正义），5’-UAGACUGAAAUCUCUGUGCGG-3’（反义）；si-*BPIFB*1#2：5’-GCAUCCAACUGCUGCAUAAG-3’（正义），5’- CUUAUGCAGCAGUUGGAUGCG-3’（反义）；阴性对照 si-NC 序列为：5’-UUCUCCGAACGUGCACCGUTT-3’（正义），5’-ACGUGCACGUUCGGAGAATT-3’（反义）。siRNA 终浓度为 50 nmol/L，Lipofectamine™ 3000 与 siRNA 比例按说明书操作。采用 qPCR 及 Western blot 检测 si-*BPIFB*1#1、si-*BPIFB*1#2 的干扰效率，选择干扰效率最高的 si-*BPIFB*1#2 用于后续实验。

1.3.4 TTC **染色**

小鼠再灌注 24 h 后脱颈处死，快速完整取脑，于-20 ℃短暂冷冻后，切成 5 片厚度为 2 mm 的脑片，置于 2% TTC 染液中，避光孵育 30 min。染色后对脑片进行拍照，使用 Image J 1.54f 计算梗死面积。

1.3.5 **脑组织含水量检测**

采用干湿重法测定脑水肿程度：取经 TTC 染色的脑片，分离缺血侧大脑半球与对侧正常半球。电子天平精确测量湿重（wet weight, Ww），随后将脑片置于 105 ℃恒温干燥箱中烘干，冷却后称量干重（dry weight, Wd）。计算公式：脑含水量=（Ww-Wd）/Ww×100%。

1.3.6 qPCR

采用 TRIzol 试剂提取脑组织及细胞总 RNA，使用 NanoDrop 核酸分析仪测定 RNA 浓度与纯度，合格样本逆转录合成 cDNA。采用 SYBR Green 荧光法进行 qPCR 扩增，反应体系由 SYBR Premix、上、下游引物及 cDNA 模板组成。扩增流程为 95 ℃预变性后，执行 40 个循环的两步法扩增（95 ℃ 10 s，60 ℃ 30 s）。以 *β-actin* 为内参，采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算基因的相对表达水平。引物由生工生物工程（上海）股份有限公司合成，各基因引物序列如下：*BPIFB*1 上游引物 5’-CAGCCACCCCGAGGTCCTA-3’，下游引物 5’-GAGGGTGATAATCCACGGGC-3’；*TLR*4 上游引物 5’-ATGGCATGGCTTACACCACC-3’，下游引物 5’-GAGGCCAATTTTGTCTCCACA-3’；*CD*32 上游引物 5’-AATCCTGCCGTTCCTACTGATC-3’，下游引物 5’-GTGTCACCGTGTCTTCCTTGAG-3’；*CD*86 上游引物 5’-GACCGTTGTGTGTGTTCTGG-3’，下游引物 5’-GATGAGCAGCATCACAAGGA-3’；*CD*163 上游引物 5’-CCAGAAGGAACTTGTAGCCACAG-3’，下游引物 5’-CAGGCACCAAGCGTTTTGAGCT-3’；*CD*206 上游引物 5’-GTTTCCATCGAGACTGCTGC-3’，下游引物 5’-GCCACTTTCCTTCAACATTTCG-3’；*β-actin* 上游引物 5’-GGCTGTATTCCCCTCCATCG-3’，下游引物 5’-CCAGTTGGTAACAATGCCATGT-3’。

1.3.7 **蛋白免疫印迹（**Western blot**）**

收集组织及细胞样本后，加入 RIPA 裂解液提取总蛋白，二喹啉甲酸法测定蛋白浓度。取样品与上样缓冲液混匀，95 ℃变性 5 min，经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白，转印至硝酸纤维素膜。5%脱脂牛奶室温封闭 2 h，加入一抗稀释液（BPIFB1 1:500、TLR4 1:500），4 ℃孵育过夜。含吐温的三羟甲基氨基甲烷缓冲盐溶液洗涤后加入二抗稀释液（1：2 000），室温孵育 1 h。采用化学发光成像系统显影成像，使用 Image J 1.54f 软件分析条带灰度值。

1.3.8 **免疫荧光染色**

脑组织经冷冻切片机切成 10 μm 厚度的切片，置于原位杂交保护液中-20 ℃保存。细胞样本用

4%多聚甲醛固定 20 min，组织切片及细胞爬片经 Triton X-100 透化 10 min，10%牛血清白蛋白室温封闭 1 h。加入一抗稀释液（Iba-1 1:500、CD32 1:200、CD206 1:200、BPIFB1 1:200、TLR4 1:200），室温孵育 1 h 后置于 4 ℃过夜。次日加入二抗稀释液（1:800）避光孵育 2 h，4’,6-二脒基-2-苯基吲哚（1:1 000）染核 5 min，抗荧光淬灭剂封片，于荧光显微镜下观察并采集图像。

1.3.9　分子对接分析

从 AlphaFold 蛋白质结构数据库（https://www.alphafold.ebi.ac.uk/）下载 BPIFB1 三维结构，完成加氢、缺失残基修复及能量最小化预处理；从 PubChem 数据库（https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/）下载异丙酚 3D 结构（CID：2353），进行能量优化与质子化处理。采用 AutoDock Vina 1.2.0 软件完成分子对接，使用 PyMOL 2.5.0 软件进行结果可视化分析。

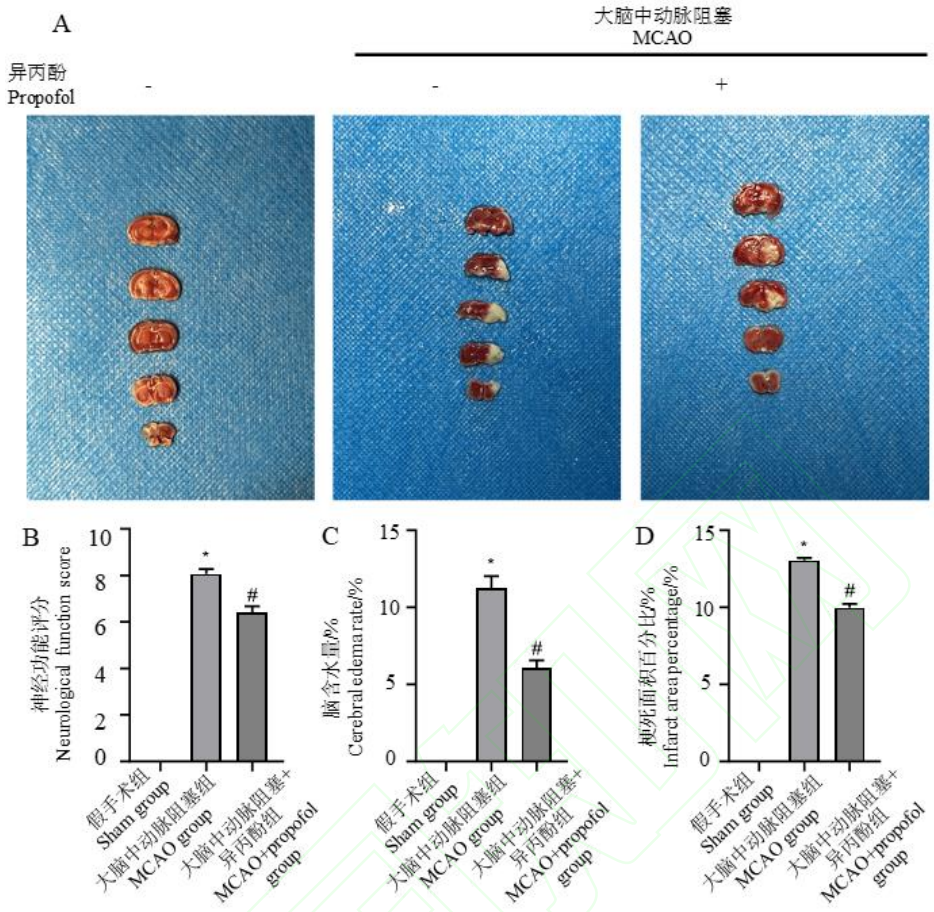
1.4　统计学方法

计量资料以平均数±标准差（$\bar{x} \pm s$）表示。采用 SPSS Statistics 27.0 软件进行统计学分析。多组间比较采用单因素方差分析（*F* 检验）；若不符合正态分布，则采用非参数检验。*P*<0.05 为差异具有统计学意义。

2　结果

2.1　异丙酚减轻小鼠脑 I/R 损伤并改善神经功能

为明确异丙酚对小鼠脑 I/R 损伤的保护作用，本研究通过线栓法构建小鼠 MCAO 模型。结果表明，与 Sham 组相比，MCAO 组小鼠神经功能缺损评分、脑梗死体积与脑含水量显著升高（*P*<0.05）。与 MCAO 组相比，MCAO+propofol 组可显著改善小鼠神经功能评分，减少脑梗死体积，减轻脑水肿程度（*P*<0.05)，见图 1。



注：A：各组小鼠脑切片 TTC 染色代表性图像；B：神经功能缺损评分；C：脑梗死体积定量分析；D：脑含水量定量分析。与假手术组相比，$^{*}P$<0.05；与大脑中动脉阻塞组相比，$^{\#}P$<0.05。

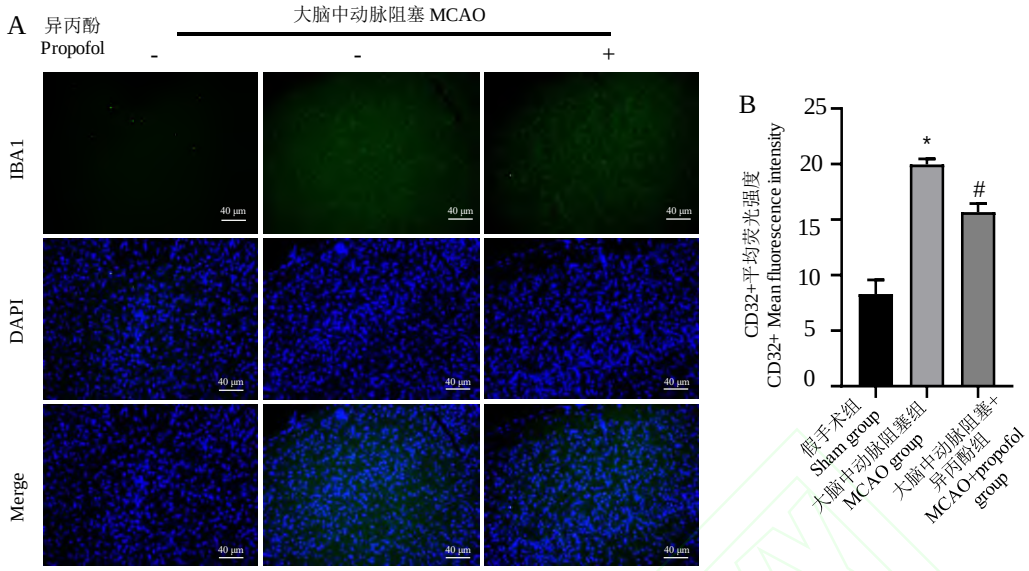
图 1 异丙酚对小鼠脑 I/R 损伤后神经功能及脑组织病变的影响（n=3）

Note. A, Representative images of TTC-stained brain sections of mice in each group. B, Neurological deficit scores. C, Quantitative analysis of infarct volume. D, Quantitative analysis of brain water content. Compared with Sham group, $^{*}P$<0.05. Compared with MCAO group, $^{\#}P$<0.05.

Figure 1 Effect of propofol on neurological function and cerebral pathological changes after cerebral I/R injury in mice（n=3）

2.2 异丙酚调控 MCAO 小鼠小胶质细胞极化及 BPIFB1/TLR4 表达

为进一步了解异丙酚在 IS 病理进程中的作用机制，本研究进一步检测了小鼠脑组织中小胶质细胞的活化与极化状态。免疫荧光染色显示，与 Sham 组相比，MCAO 后 IBA1（小胶质活化标志物）表达显著增加（P<0.05）。与 MCAO 组相比，MCAO+propofol 组 IBA1 表达显著降低（P<0.05），表明异丙酚可抑制小胶质细胞过度激活，见图 2A、2B。qPCR 结果显示，与 Sham 组相比，MCAO 组 M1 型细胞标志物（*CD*32、*CD*86）mRNA 表达水平显著升高（P<0.05），而 M2 型细胞标志物（*CD*163、*CD*206）mRNA 表达水平显著下降（P<0.05）；与 MCAO 组相比，MCAO+propofol 组 *CD*32、*CD*86 mRNA 表达水平显著下降，*CD*163、*CD*206 mRNA 表达水平显著升高（P<0.05），见图 3A。此外，免疫荧光结果显示，与 Sham 组相比，MCAO 组 BPIFB1 表达显著下降，TLR4 表达显著上升（P<0.05）；与 MCAO 组相比，MCAO+propofol 组 BPIFB1 表达显著升高，TLR4 显著下降（P<0.05），见图 3B~3D。

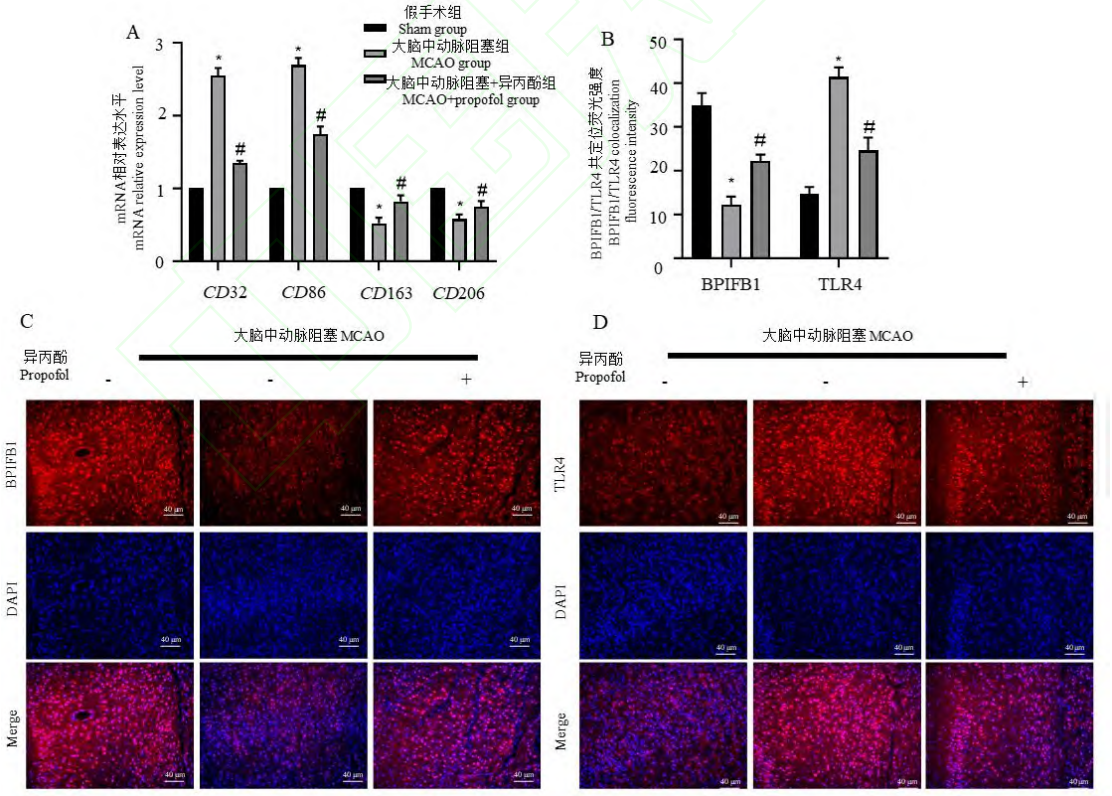


注：A：脑组织 IBA1 免疫荧光染色代表性图像（200×）；B：IBA1 阳性细胞计数统计分析。与假手术组相比，*P<0.05；与大脑中动脉阻塞组相比，#P<0.05。

图 2　异丙酚对 MCAO 小鼠小胶质细胞及 BPIFB1/TLR4 表达的调控（n=3）

Note. A, Representative images of IBA1 immunofluorescence staining in brain tissue (200×). B, Quantitative analysis of IBA1-positive cells. Compared with Sham group, *P<0.05. Compared with MCAO group, #P<0.05.

Figure 2 Propofol regulates microglial activation in MCAO mice（n=3）



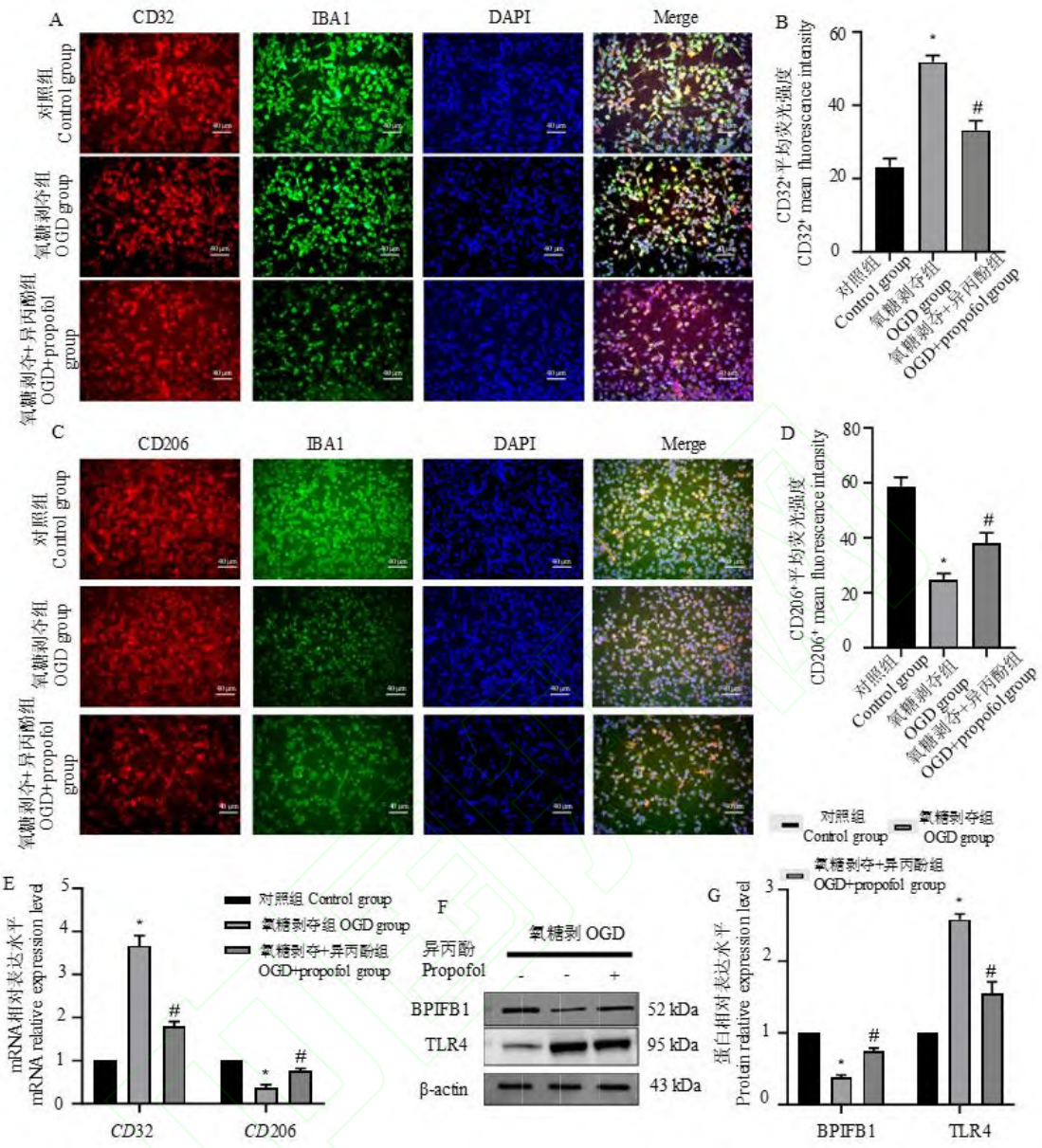
注：A：脑损伤区 M1 型（*CD*32、*CD*86）与 M2 型（*CD*163、*CD*206）标志物 mRNA 水平的 qPCR 分析；B：BPIFB1 平均荧光强度定量分析；C：BPIFB1 免疫荧光染色代表性图像（200×）；D：TLR4 免疫荧光染色代表性图像（200×）。与假手术组相比，*P<0.05；与大脑中动脉阻塞组相比，#P<0.05。

图 3 异丙酚对 MCAO 小鼠小胶质细胞及 BPIFB1/TLR4 表达的调控（*n*=3）
Note. A, qPCR analysis of M1 (*CD*32, *CD*86) and M2 (*CD*163, *CD*206) marker mRNA levels in the injured brain region. B, Quantitative analysis of BPIFB1 mean fluorescence intensity. C, Representative images of BPIFB1 and TLR4 immunofluorescence staining (200×). D, Representative images of TLR4 immunofluorescence staining (200×). Compared with Sham group, $^{*}P<0.05$. Compared with MCAO group, $^{\#}P<0.05$.

Figure 3 Propofol regulates microglial polarization and BPIFB1/TLR4 expression in MCAO mice（*n*=3）

2.3 异丙酚促进 BV2 细胞向 M2 型极化

为在细胞层面验证上述作用，本研究采用 OGD 处理 BV2 细胞模拟 I/R。免疫荧光与 qPCR 结果显示，与 Control 组相比，OGD 组 M1 型标志物的蛋白与 mRNA 表达水平显著升高，M2 型标志物的蛋白与 mRNA 表达水平显著下降（$P<0.05$）；与 OGD 组相比，OGD+propofol 组 M1 型标志物的蛋白与 mRNA 表达水平显著降低，M2 型标志物的蛋白与 mRNA 表达水平显著升高（$P<0.05$），见图 4A~4E。Western blot 分析进一步显示，与 Control 组相比，OGD 组细胞 BPIFB1 表达显著下降，TLR4 表达显著升高（$P<0.05$）；与 OGD 组相比，OGD+propofol 组 BPIFB1 表达显著升高，TLR4 表达显著下降（$P<0.05$），见图 4F、4G。



注：A：细胞 CD32（M1）免疫荧光染色代表性图像（200×）；B：CD32 平均荧光强度定量分析；C：细胞 CD206（M2）免疫荧光染色代表性图像（200×）；D：CD206 平均荧光强度定量分析；E：*CD*32 与 *CD*206 mRNA 表达的 qPCR 分析；F：BPIFB1 与 TLR4 蛋白表达的 Western blot 代表性条带；G：BPIFB1 与 TLR4 蛋白表达水平的定量分析。与对照组组相比，$^{*}P<0.05$；与氧糖剥夺组相比，$^{\#}P<0.05$。

图 4　异丙酚对 OGD 诱导的 BV2 小胶质细胞极化及 BPIFB1/TLR4 的影响

Note. A, Representative images of CD32 (M1) immunofluorescence staining in cells (200×). B, Quantitative analysis of CD32 mean fluorescence intensity. C, Representative images of CD206 (M2) immunofluorescence staining in cells (200×). D, Quantitative analysis of CD206 mean fluorescence intensity. E, qPCR analysis of CD*32* and CD*206* mRNA expression. F, Representative Western blot bands of BPIFB1 and TLR4 protein expression. G, Quantitative analysis of BPIFB1 and TLR4 protein levels. Compared with Control group, $^{*}P<0.05$. Compared with OGD group, $^{\#}P<0.05$.

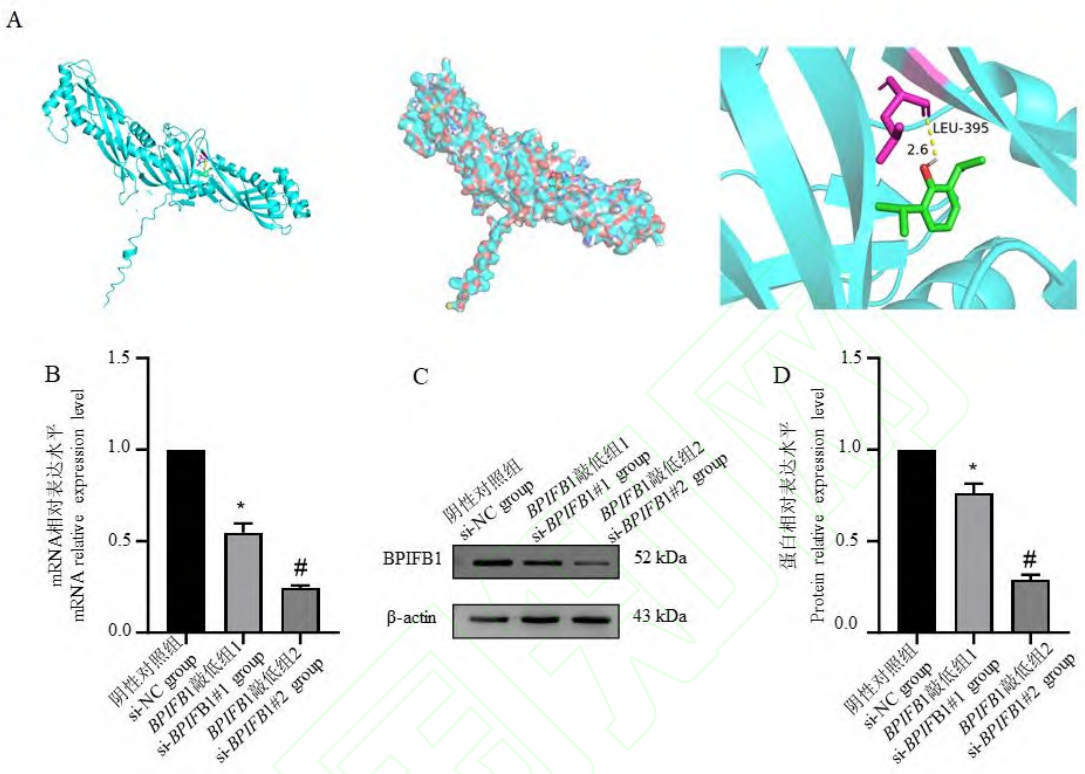
Figure 4 Effect of propofol on OGD-induced BV2 microglial polarization and BPIFB1/TLR4 expression（n=3）

2.4　异丙酚诱导 M2 极化依赖于 BPIFB1

为明确 BPIFB1 与异丙酚的相互关系，本研究通过分子对接评估异丙酚与 BPIFB1 的相互作用，结果显示二者结合能为-7 kcal/mol，表明异丙酚与 BPIFB1 具有结合潜力，见图 5A。采用 siRNA 技术对 BV2 细胞 *BPIFB*1 基因进行敲低，筛选高效干扰序列。qPCR 及 Western blot 结果显示，与 si-NC 组

相比，si-*BPIFB*1#2 干扰效率最高（*P*<0.05），故选用此序列用作后续实验，见图 5B~5D。

免疫荧光与 qPCR 结果显示，与 OGD+propofol 组相比，OGD+propofol+si-*BPIFB*1 组 M1 型标志物的蛋白与 mRNA 表达水平显著升高，M2 型标志物蛋白与 mRNA 表达水平显著下降（*P*<0.05），见图 6。

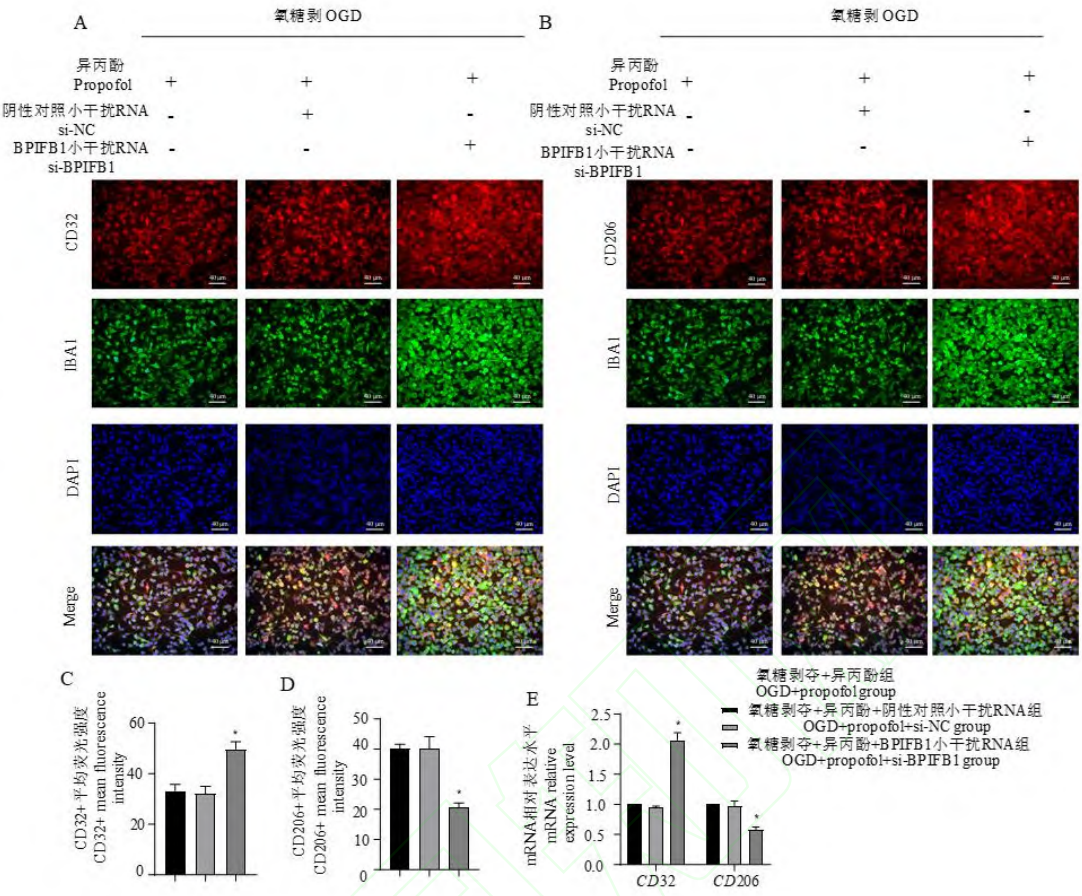


注：A：分子对接模拟显示的异丙酚与 BPIFB1 蛋白的结合构象。异丙酚（绿色）通过氢键（LEU-395，2.6 Å，黄色虚线）与 BPIFB1（青色）稳定结合；B：转染不同 siRNA 后 *BPIFB*1 mRNA 水平的 qPCR 分析；C：BPIFB1 蛋白表达的 Western blot 代表性条带；D：BPIFB1 蛋白相对表达量的统计分析。与阴性对照组相比，**P*<0.05。

图 5 BPIFB1 敲低效率验证及与异丙酚的分子对接

Note. A, Molecular docking simulation showing the binding conformation of propofol and BPIFB1 protein. Propofol (green) forms stable hydrogen bonds with BPIFB1 (cyan, LEU-395, 2.6 Å, shown as yellow dashed line). B, qPCR analysis of *BPIFB*1 mRNA levels after transfection with different siRNAs. C, Representative Western blot bands of BPIFB1 protein expression. D, Statistical analysis of relative BPIFB1 protein expression. Compared with si-NC group, **P*<0.05.

Figure 5 Validation of *BPIFB*1 knockdown efficiency and molecular docking with propofol（*n*=3）



注：A：敲低 *BPIFB*1 后细胞 CD32（M1 型标志物）免疫荧光染色代表性图像（200×）；B：细胞 CD206（M2 型标志物）免疫荧光染色代表性图像（200×）；C：CD32 平均荧光强度定量分析；D：CD206 平均荧光强度定量分析；E：M1 型（*CD*32）与 M2 型（*CD*206）标志物 mRNA 水平的 qPCR 分析。与氧糖剥夺+异丙酚组相比，$^{*}P$<0.05。

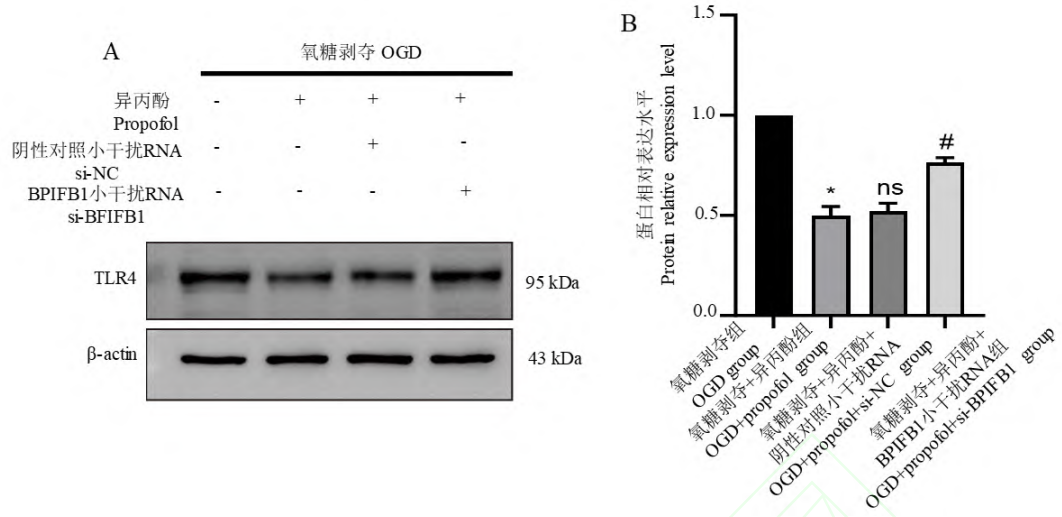
图 6　敲低 *BPIFB*1 对异丙酚调控小胶质细胞极化的影响

Note. A, Representative images of CD32 (M1 marker) immunofluorescence staining after *BPIFB*1 knockdown (200×). B, Representative images of CD206 (M2 marker) immunofluorescence staining (200×). C, Quantitative analysis of CD32 mean fluorescence intensity. D, Quantitative analysis of CD206 mean fluorescence intensity. E, qPCR analysis of M1 (CD32) and M2 (CD206) marker mRNA levels. Compared with OGD+propofol group, $^{*}P$<0.05.

Figure 6 Impact of *BPIFB*1 knockdown on propofol-mediated microglial polarization（n=3）

2.5　异丙酚通过 BPIFB1/TLR4 轴调控小胶质细胞极化

为进一步确定异丙酚对小胶质细胞的调控机制，本研究在敲低 *BPIFB*1 后检测了 TLR4 的表达变化。结果显示，与 OGD 组相比，OGD+propofol 组 TLR4 的表达水平显著降低（P<0.05）；与 OGD+propofol 组相比，OGD+propofol+si-*BPIFB*1 组 TLR4 的表达水平显著升高（P<0.05），见图 7。



注：A：在 OGD 模型中，对照、异丙酚处理及异丙酚处理同时敲低 *BPIFB*1 后，TLR4 蛋白表达的 Western blot 代表性条带；B：TLR4 蛋白表达水平的定量统计分析。与氧糖剥夺组相比，$^{*}P$<0.05；与氧糖剥夺+异丙酚组相比，$^{\#}P$<0.05。

图 7 敲低 *BPIFB*1 对异丙酚调控 TLR4 表达的影响

Note. A, Representative Western blot bands of TLR4 protein expression in OGD model under control, propofol treatment, and propofol treatment combined with *BPIFB*1 knockdown conditions. B, Quantitative statistical analysis of TLR4 protein expression levels. Compared with OGD group, $^{*}P$<0.05. Compared with OGD+propofol group, $^{\#}P$<0.05.

Figure 7 Impact of *BPIFB*1 knockdown on propofol-modulated TLR4 expression（n=3）

3 讨论

本研究首次明确了 BPIFB1 是介导异丙酚发挥作用的关键上游分子：异丙酚可上调 BPIFB1 表达，进而抑制 TLR4 信号通路，驱动小胶质细胞向 M2 型极化。这为异丙酚的神经保护机制提供了新的分子解析。

异丙酚是 IS 颅脑手术常用的麻醉药物，能通过多种机制发挥神经保护作用[15]，如经 NF-κB 通路减轻脑 I/R 损伤[11]、抑制神经毒性星形胶质细胞活化[16]等，从而促进 IS 后的神经功能恢复。与既往报道一致[11]，本研究体内实验结果表明，异丙酚显著降低 MCAO 小鼠神经功能缺损评分，缩小脑梗死体积，并减轻脑水肿，证实了其体内神经保护效应。

调控小胶质细胞由 M1 型向 M2 型转变，是改善 IS 预后的重要策略[17]。虽有研究报道异丙酚可调控小胶质细胞的极化方向[18]，但其在脑 I/R 中的具体分子机制尚未完全阐明。本研究发现，异丙酚可通过 BPIFB1/TLR4 信号通路诱导小胶质细胞 M2 极化，在 IS 中发挥神经保护作用。

目前 BPIFB1 在神经炎症中的报道较为有限，现有研究多聚焦于其在外周免疫屏障（如气道、消化道）中的宿主防御功能[19]。已有研究证实，BPIFB1 可结合细菌脂多糖（lipopolysaccharide, LPS）调控炎症应答[20]，而 LPS/TLR4 信号通路是介导小胶质细胞活化的核心通路[21]。据此本研究推测 BPIFB1 在 CNS 中可能通过类似的分子机制调控 TLR4 信号。功能验证实验显示，敲低 *BPIFB*1 可显著逆转异丙酚对小胶质细胞极化的调控效应，证实异丙酚促 M2 极化的作用依赖于 BPIFB1 的表达。

本研究存在一定局限性，仅初步验证了 BPIFB1 与 TLR4 之间的功能联系，然而 BPIFB1 究竟是直接结合 TLR4，还是通过改变膜受体分布或内吞过程间接调控 TLR4 信号，仍需进一步研究加以证实。同时，通过分子对接技术评估了异丙酚与 BPIFB1 的相互作用，但异丙酚上调 BPIFB1 表达的分子机制尚不清晰，其究竟是通过直接转录调控还是表观遗传修饰发挥作用，仍有待后续实验深入解析。已有综述表明，异丙酚对小胶质细胞活化的调控涉及磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B、微 RNA-155/细胞因子信号转导抑制因子 1、Janus 激酶 1/信号转导及转录激活因子 3 及 NF-κB/缺氧诱导因子 1α等多个信号网络[12]，BPIFB1 是否与这些通路存在交互作用，同样是未来值得关注的研究方向。

综上，本研究阐明了异丙酚经 BPIFB1/TLR4 轴驱动小胶质细胞 M2 极化、减轻脑 I/R 损伤的全新

分子机制，既深化了对异丙酚神经保护药理作用的认知，也为IS的抗炎靶向治疗提供了新靶点。后续可进一步解析该信号轴的上下游调控机制与病理动态变化，并结合临床样本评估 BPIFB1 作为诊断标志物和治疗靶点的临床转化价值。

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

参考文献：

[1] Daneshpour A, Shaka Z, Rezaei N. Interplay of cell death pathways and immune responses in ischemic stroke: insights into novel biomarkers [J]. Rev Neurosci, 2025, 36(4): 371-403.

[2] 王森雨， 刘向哲， 马驰远， 等. HIF-1α/VEGF 信号通路在缺血性脑卒中的作用及中医药干预研究进展 [J]. 中国比较医学杂志， 2025， 35（12）： 141-151.
Wang S Y, Liu X Z, Ma C Y, et al. Role of HIF-1α/VEGF signaling and advances in understanding traditional Chinese medicine interventions in ischemic stroke [J]. Chin J Comp Med, 2025, 35(12): 141-151.

[3] Levard D, Seillier C, Bellemain-Sagnard M, et al. Central nervous system-associated macrophages modulate the immune response following stroke in aged mice [J]. Nat Neurosci, 2024, 27(9): 1721-1733.

[4] 刘凡诗， 陈浩. 吉马酮调节 HMGB1-RAGE 信号通路对缺血性脑卒中大鼠神经炎症的影响 [J]. 医学研究与战创伤救治， 2025， 38（2）： 127-134.
Liu F S, Chen H. Effect of germarone modulating HMGB1-RAGE signaling pathway on neuroinflammation in ischemic stroke rats [J]. J Med Res Combat Trauma Care, 2025, 38(2): 127-134.

[5] Ji C, Sheng L, Han K, et al. Microglial intervention in ischemic stroke: Roles and intervention strategies [J]. Neural Regen Res, 2026, 21(2): 443-454.

[6] Xia X, Chen W, Zhou T, et al. TEPP-46 inhibits glycolysis to promote M2 polarization of microglia after ischemic stroke [J]. Int Immunopharmacol, 2025, 149: 114148.

[7] Jiang Y, Wang N, Liu J, et al. Evobrutinib mitigates neuroinflammation after ischemic stroke by targeting M1 microglial polarization via the TLR4/Myd88/NF-κB pathway [J]. Mol Med, 2025, 31(1): 148.

[8] Hu A, Liu Y, Zhang H, et al. BPIFB1 promotes metastasis of hormone receptor-positive breast cancer via inducing macrophage M2-like polarization [J]. Cancer Sci, 2023, 114(11): 4157-4171.

[9] Lin F, Li G, Lu J, et al. Improving stroke prognosis by TLR4 KO to enhance N_2 neutrophil infiltration and reduce M1 macrophage polarization [J]. Cell Biochem Funct, 2024, 42(4): e4059.

[10] 杨继梅， 卢文江， 周娇洁. miR-214 对异丙酚麻醉大鼠术后神经元损伤的保护作用 [J]. 中国比较医学杂志， 2022， 32（9）： 39-46， 81.
Yang J M, Lu W J, Zhou J J. Protective effect of miR-214 on neuronal injury in propofol-anesthetized thoracotomy rats[J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(9): 39-46, 81.

[11] Sun X, Wang D, Chen Y, et al. The dual effects of propofol down-regulating PD-L1 expression and inhibiting autophagy to reduce cerebral ischemia reperfusion injury [J]. Int Immunopharmacol, 2025, 154: 114548.

[12] Abdolmohammadi P, Bietar B, Zhou J, et al. Mechanisms of action of propofol in modulating microglial activation in ischemic stroke [J]. Molecules, 2025, 30(13): 2795.

[13] Guan S, Sun L, Wang X, et al. Propofol inhibits neuroinflammation and metabolic reprogramming in microglia *in vitro* and *in vivo* [J]. Front Pharmacol, 2023, 14: 1161810.

[14] Yang Y, Hang W, Li J, et al. Effect of general anesthetic agents on microglia [J]. Aging Dis, 2024, 15(3): 1308-1328.

[15] Su H, Koomen J V, Eleveld D J, et al. Pharmacodynamic mechanism-based interaction model for the haemodynamic effects of remifentanil and propofol in healthy volunteers [J]. Br J Anaesth, 2023, 131(2): 222-233.

[16] Wang Y, Tian D, Zhao Y, et al. Propofol protects regulatory T cells, suppresses neurotoxic astrogliosis, and potentiates neurological recovery after ischemic stroke [J]. Neurosci Bull, 2021, 37(6): 725-728.

[17] Luo L, Liu M, Fan Y, et al. Intermittent theta-burst stimulation improves motor function by inhibiting neuronal pyroptosis and regulating microglial polarization via TLR4/NFκB/NLRP3 signaling pathway in cerebral ischemic mice [J]. J Neuroinflammation, 2022, 19(1): 141.

[18] Ye T, Fan Y, Zeng X, et al. Induction of M1 polarization in BV2 cells by propofol intervention promotes perioperative neurocognitive disorders through the NGF/CREB signaling pathway: an experimental research [J]. Int J Surg, 2025, 111(3): 2439-2452.

[19] Zhou W, Duan Z, Yang B, et al. The effective regulation of pro- and anti-inflammatory cytokines induced by combination of PA-MSHA and BPIFB1 in initiation of innate immune responses [J]. Open Med (Wars), 2017, 12: 299-307.

[20] Cunha C, Gomes C, Vaz A R, et al. Exploring new inflammatory biomarkers and pathways during LPS-induced M1 polarization [J]. Mediat Inflamm, 2016, 2016: 6986175.

[21] Li J, Xu P, Wang L, et al. Molecular biology of BPIFB1 and its advances in disease [J]. Ann Transl Med, 2020, 8(10): 651.