

基于网络药理学分析及实验验证探讨共轭亚油酸治疗特应性皮炎的作用机制

汤柳¹, 李小磊², 曹晓琴³, 周本宏¹, 宋伟^{1*}

1. 武汉大学人民医院 药学部, 湖北 武汉 430060

2. 武汉大学 药学院, 湖北 武汉 430071

3. 江汉大学 医学院, 湖北 武汉 430056

摘要: **目的** 运用网络药理学的方法考察共轭亚油酸改善特应性皮炎的作用机制, 并通过动物进行实验验证。**方法** 借助 Swiss Target Prediction、STITCH 数据库获取共轭亚油酸的作用靶点, DisGeNET、GeneCards、TTD 数据库检索与特应性皮炎相关的靶标, 利用 Venny 2.1.0 工具获取共轭亚油酸与特应性皮炎的交集靶点。采用 STRING 11.0 数据库联用 Cytoscape 3.9.0 软件构建交集靶点的蛋白相互作用 (PPI) 网络, 并筛选共轭亚油酸改善特应性皮炎的核心靶点, 并进行基因本体 (GO) 功能富集分析和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路分析。将 32 只雌性昆明小鼠随机分为对照组、模型组、共轭亚油酸 (100 mg/kg) 组和地塞米松 (0.1 mg/kg) 组, 每组 8 只。采用局部涂抹 2,4-二硝基氟苯 (DNFB) 建立特应性皮炎小鼠模型, 并比较各组小鼠皮损评分、皮肤组织病理学形态以及 Th1/Th2 型细胞因子水平。进一步通过免疫组化检测各组小鼠皮损中核心靶点 PPARG 的表达情况。**结果** 网络数据库共筛选出共轭亚油酸作用靶点 108 个, 特应性皮炎相关靶点基因 1708 个, 取交集后得到 48 个共轭亚油酸可能作用的特应性皮炎靶点。核心靶点与 KEGG 通路分析结果显示, 共轭亚油酸主要作用于过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPARG)、脂联素基因 (ADIPOQ) 等核心靶点及 PPAR 信号通路改善特应性皮炎皮损症状。动物实验结果发现, 与模型组比较, 共轭亚油酸组小鼠皮损评分显著降低, 炎症细胞或肥大细胞的浸润明显减轻, Th1/Th2 型细胞因子 [免疫球蛋白 E (IgE)、白细胞介素-4 (IL-4)、 γ 干扰素 (IFN- γ)] 水平显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)。免疫组化检测结果则发现, 共轭亚油酸能显著性上调特应性皮炎小鼠皮损中 PPARG 的表达。**结论** 通过网络药理学和动物实验初步验证了共轭亚油酸对特应性皮炎的改善作用及其可能的作用机制, 为共轭亚油酸后续深入基础实验研究和临床合理应用提供科学依据。

关键词: 共轭亚油酸; 特应性皮炎; 网络药理学; 作用机制; 2,4-二硝基氟苯; 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ

中图分类号: R976 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2022)10-2206-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2022.10.006

Mechanism of conjugated linoleic acid in treatment of atopic dermatitis based on network pharmacology and experimental validation

TANG Liu¹, LI Xiao-lei², CAO Xiao-qin³, ZHOU Ben-hong¹, SONG Wei¹

1. Department of Pharmacy, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China

2. School of Pharmaceutical Sciences, Wuhan University, Wuhan 430071, China

3. College of Medicine, Jiangnan University, Wuhan 430056, China

Abstract: Objective The mechanism of conjugated linoleic acid in improving atopic dermatitis was investigated by network pharmacology method and verified by animal experiments. **Methods** The targets of conjugated linoleic acid were obtained by Swiss Target Prediction and STITCH database. DisGeNET, GeneCards, and TTD databases were used to search for targets related to atopic dermatitis. The intersection targets of conjugated linoleic acid and atopic dermatitis were obtained using Venny 2.1.0 tool. The STRING 11.0 database and Cytoscape 3.9.0 software were used to construct the protein interaction (PPI) network of intersection targets. And screening the core target of conjugated linoleic acid to improve atopic dermatitis. Gene Ontology (GO) functional enrichment analysis

收稿日期: 2020-06-27

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金资助 (2042022kf1077); 湖北省卫生健康委员会科研项目 (WL2021M147)

作者简介: 汤柳 (1990—), 女, 博士, 主管药师。E-mail: tangliu900402@whu.edu.cn

*通信作者: 宋伟 (1987—), 男, 博士, 主管药师, 主要研究方向为医院药学与药物质量控制。E-mail: lianzi87@whu.edu.cn

and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway analysis were performed. Thirty-two female Kunming mice were randomly divided into control group, model group, conjugated linoleic acid (100 mg/kg) group and dexamethasone (0.1 mg/kg) group, with 8 mice in each group. The mouse model of atopic dermatitis was established by topical application of 2, 4-dinitrofluorobenzene (DNFB), and the skin lesion score, skin histopathological morphology and Th1/Th2 cytokine levels were compared between the groups. The expression of core target PPARG in skin lesions was further detected by immunohistochemistry. **Results** A total of 108 target sites of conjugated linoleic acid and 1 708 target genes related to atopic dermatitis were screened from the network database, and 48 possible target sites of atopic dermatitis were obtained after intersection. The results of core target and KEGG pathway analysis showed that conjugated linoleic acid mainly acted on PPARG, ADIPOQ and other core targets, and PPAR signaling pathway to improve the symptoms of atopic dermatitis. The results of animal experiments showed that compared with the model group, the skin lesion score of mice in the conjugated linoleic acid group was significantly reduced, and the infiltration of inflammatory cells or mast cells was significantly reduced. The levels of Th1/Th2 cytokines [immunoglobulin E (IgE), interleukin-4 (IL-4), interferon γ (IFN- γ)] were significantly decreased ($P < 0.05, 0.01$). The results of immunohistochemistry showed that conjugated linoleic acid could significantly up-regulate the expression of PPARG in skin lesions of mice with atopic dermatitis. **Conclusion** In this study, the ameliorative effect of conjugated linoleic acid on atopic dermatitis and its possible mechanism were initially verified through network pharmacology and animal experiments, which provided scientific basis for further basic experimental research and rational clinical application of conjugated linoleic acid.

Key words: conjugated linoleic acid; atopic dermatitis; network pharmacology; mechanism of action; 2,4-dinitrofluorobenzene; PPARG

特应性皮炎是一种慢性、复发性、炎症性皮肤病，以剧烈瘙痒和大面积湿疹样皮损为主要临床表现^[1-2]。特应性皮炎影响全球 15%~20% 的儿童和 10% 的成年人，严重影响患者的生活质量并导致睡眠障碍、抑郁等精神负担^[3]。目前，临床上治疗特应性皮炎的药物主要为糖皮质激素和免疫抑制剂，其疗效不佳或价格昂贵，或有长期使用可引发皮肤萎缩变薄、色素沉着、继发感染和药物依赖等不良反应^[1,4]。因此，寻找临床疗效确切，能有效降低复发率且毒副作用较小的治疗策略或者药物，是当下亟需解决的问题。

共轭亚油酸是一种天然的具有共轭双键的十八碳二烯酸异构体的新型功能性脂肪酸，是人和动物不可或缺的脂肪酸之一。人体不能自主合成共轭亚油酸，主要通过摄入反刍动物产品如牛奶、奶酪及肉获得。共轭亚油酸有抗肿瘤、抗氧化、防治心脑血管疾病等多种重要生理功能，在药品、保健食品、功能食品以及食品添加剂中得到广泛应用^[5-7]。近年来的文献证实，共轭亚油酸具有免疫调节和抗炎作用，对于治疗炎症性疾病，如炎症性肠病、呼吸道炎症和动脉粥样硬化等均有良好的效果^[8]。据此，本研究采用网络药理学结合动物实验考察共轭亚油酸对 2, 4-二硝基氟苯 (DNFB) 诱导特应性皮炎模型小鼠的改善作用及可能作用机制，进一步拓展共轭亚油酸的临床应用，有望为特应性皮炎皮肤疾病的临床治疗与预防提供新策略。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

共轭亚油酸 (中国青岛澳海生物有限公司, 批号 XXW 242056601, 质量分数 95%), DNFB (英国 Alfa Aesa 公司, 批号 R010240, 质量分数 99%), 地塞米松 (上海萨恩化学试剂有限公司, 批号 M 17752, 质量分数 98%); 丙酮 (上海国药集团化学试剂有限公司, 批号 10000418), 橄榄油 (上海阿拉丁生化科技股份有限公司, 批号 O 108685), 九水硫化钠 (上海国药集团化学试剂有限公司, 批号 10020660, 质量分数 98%)。

1.2 实验动物

健康 KM 小鼠, 清洁级, 雌性, 6~8 周龄, 体质量 18~22 g, 购自三峡大学实验动物中心 [合格证号: SCXK(鄂)2017-0012]。饲养期间, 动物房室内温度维持在 (25±2) °C, 相对湿度维持在 (45±10)%, 由国家标准固体混合饲料喂养, 自由摄食和饮水。小鼠相关实验操作均经过武汉大学动物实验中心伦理委员会批准通过后执行 (批准号 AUP No. S2017090611)。

1.3 实验方法

1.3.1 共轭亚油酸与特应性皮炎疾病靶点获取 通过检索 Swiss Target Prediction 和 STITCH 2 个数据库搜集共轭亚油酸对应的靶点基因, 靶点种类设定为 “Homo sapiens”。将 2 个数据库筛选的靶点上传到 Uniprot 数据库, 利用 Uniprot 数据库校正为官方

标准化名称,即为“Gene symbol”。合并 2 个数据库靶点,并删除重复项。

以“atopic dermatitis”为关键词,挖掘 DisGeNET (<http://www.disgenet.org/>)、GeneCards (<https://www.genecards.org/>)、Therapeutic Target Database (<https://db.idrblab.org/ttd/>) 数据库中与特应性皮炎有关的潜在靶点。将 3 个数据库中符合条件的检索结果进行合并,去除重复靶点。

1.3.2 共轭亚油酸与特应性皮炎交集靶点的确定 利用 Venny 2.1.0 工具绘制共轭亚油酸的预测靶点与特应性皮炎相关靶点的 Venn 图,获取两者交集靶点作为共轭亚油酸治疗特应性皮炎的潜在靶点。

1.3.3 交集靶点的蛋白相互作用(PPI)网络构建及关键基因挖掘 将获得的共轭亚油酸和特应性皮炎的交集靶点导入 STRING 数据库,限定物种为“Homo sapiens”,获取 PPI 网络关系,去掉游离节点,并将相互作用信息上传至 Cytoscape 3.9.0 软件 (<https://cytoscape.org/>) 进行基本网络拓扑结构分析,获取关键靶点基因。

1.3.4 交集靶点的基因本体(GO)与京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路分析 利用 g:profiler (<https://biit.cs.ut.ee/gprofiler/gost>) 在线数据库将共轭亚油酸与特应性皮炎交集靶点基因的 Gene symbol 转化为相应的 Ensembl ID,并导入 OmicShare 云平台进行 GO 与 KEGG 富集分析。

1.3.5 动物分组与处理 昆明小鼠适应性饲养 1 周,取健康雌性昆明成年小鼠 32 只,按体质量随机分为 4 组,每组 8 只。分别为对照组、模型组、共轭亚油酸(100 mg/kg)组^[9]、地塞米松(0.1 mg/kg)组。参考文献方法^[10]并略有改进,进行特应性皮炎造模,为保证脱毛工作顺利进行,于实验前 1 d,按 10 μL/g ip 4%水合氯醛镇静催眠各组小鼠,随后采用电动剃须刀和 6%硫化钠溶液剔除小鼠背部毛发,区域设定为 3 cm×2 cm,5 min 后温水洗净残留硫化钠。

实验第 1 天,在小鼠背部脱毛区域均匀涂抹 1.0% DNFB(丙酮:橄榄油=3:1) 100 μL 进行致敏,第 3 天加强致敏,第 2~4 周,先后在实验第 7、14、17、21、24、28 天在脱毛区域均匀涂抹 0.5% DNFB 100 μL 诱发皮炎。造模同时,给药组以 10 μL/g 分别 ig 给予 100 mg/kg 共轭亚油酸[溶解于乙醇-生理盐水(1:99)配比溶剂中]或 0.1 mg/kg 地塞米松[溶解于乙醇-生理盐水(1:99)配比溶剂

中]。对照组和模型组同法予以等体积的空白溶剂,连续给药 30 d,每天 1 次。末次给药 12 h 后,颈椎脱臼法处死小鼠,血样留存分析,取背部皮肤洗净,取少量置于 4%多聚甲醛固定,室温静置 24 h,切片用于皮肤组织病理学研究,其余部分液氮速冻后置于-80 °C 冰箱中留存备用。

1.3.6 皮损评分 于造模第 0、8、18、29 天,参照临床表现标准来评价各组小鼠背部皮损程度^[11]。背部皮损评分包含以下 4 种临床症状:(1)红斑;(2)水肿/丘疹;(3)表皮剥落/抓痕;(4)干燥/结痂,每个症状视皮损严重程度评为 0、1、2、3 分,4 项指标加和分数即为皮损严重程度得分,总和越高,皮损越严重,最高不超过 12 分。

1.3.7 病理学检测 将多聚甲醛中固定的皮肤组织进行石蜡包埋并切至 4.5 μm 的薄片,经苏木精-伊红染色(HE)和甲苯胺蓝(TB)常规染色,随机选择样品在光学显微镜下观察并采集图像,Image J 软件分别统计表皮厚度和肥大细胞数量。

1.3.8 血清 IgE、Th1/Th2 细胞因子水平测定 解剖当天,眼眶取血,静置 1 h 后于 4 °C 离心机离心 10 min,收集上清即为血清,-20 °C 保存备用。ELISA 试剂盒测定小鼠血清中 IgE、IFN-γ、IL-4 细胞因子的水平,具体操作见说明书。

1.3.9 免疫组化法检测皮损处 PPARG 蛋白的表达 各组小鼠皮肤石蜡切片进行常规二甲苯脱蜡、梯度乙醇脱水;用抗原修复缓冲液(pH 6.0)在微波炉中进行抗原修复;随后每张切片加 1 滴 3% H₂O₂,室温下孵育 10 min,以阻断内源性过氧化物酶的活性;最后分别采用兔源 PPARG 抗体和相对应的二抗进行孵育;DAB 显色、苏木精复染,采用中性树胶封片观察。

1.4 统计学分析

使用 SPSS 23.0 统计学软件进行分析,结果以 $\bar{x} \pm s$ 来表示。两组间均数的比较分析依据数据资料是否符合方差齐性分别采用 *t* 检验和 *t'* 检验评估统计学差异。多组间均数的比较分析则采用单因素方差分析(One-way ANOVA analysis)评估统计学差异。

2 结果

2.1 共轭亚油酸与特应性皮炎的交集靶点

分别利用 Swiss Target Prediction, STITCH 2 个数据库搜寻共轭亚油酸对应的靶点基因,物种为 Homo species,删除重复靶点,最终获取共轭亚油酸

目标靶点 108 个。以“atopic dermatitis”为检索词，从 DisGeNET 数据库中获得 751 个潜在靶点基因；GeneCard 数据库中获得 1 419 个潜在靶点基因；TTD 数据库共获得 52 个靶点基因，删除重复靶点，确定最终靶点 1 708 个。利用 Venn 在线工具获得共

轭亚油酸靶点与特异性皮炎靶点的交集靶点，共得到交集靶点 48 个，将获得的共轭亚油酸和特异性皮炎的交集靶点导入 STRING 数据库，限定物种为“Homo sapiens”，获取了 PPI 网络关系，如图 1 所示。

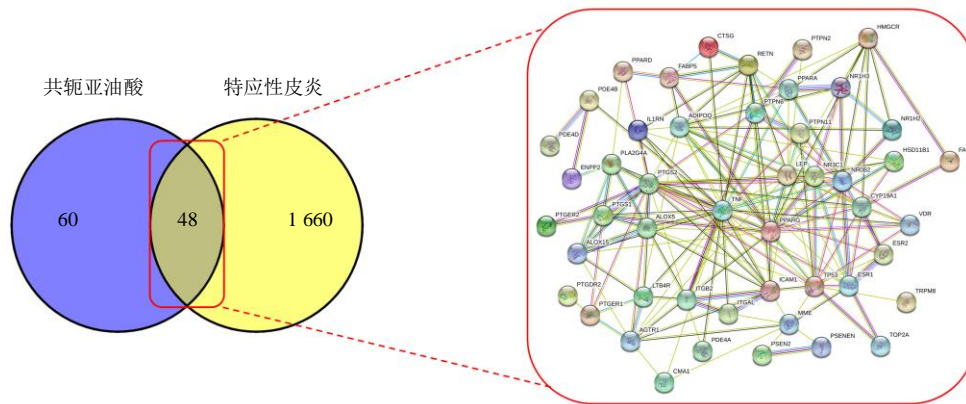


图 1 共轭亚油酸 - 特异性皮炎交集靶点

Fig. 1 Intersection targets of conjugated linoleic acid - atopic dermatitis

2.2 共轭亚油酸治疗特异性皮炎的关键靶点

利用 STRING 数据库及 Cytoscape 3.9.0 软件构建交集靶点的拓扑网络图，并对其进行网络拓扑参数分析，筛选出共轭亚油酸抗特异性皮炎的核心靶点。拓扑图共包括 48 个节点，182 条边，degree 值为 7.58。根据节点的 degree 绘制出前 10 个关键节点图(图 2)，排名前 10 的关键靶点基因分别为 TNF、PTGS2、LEP、PPARG、ADIPOQ、TP53、NR0B2、CYP19A1、ICAM1、NR3C1，见表 1。

2.3 交集靶点的 GO 与 KEGG 通路分析

GO 分析结果显示，生物过程 (BP) 主要涉及脂质代谢过程、对刺激物应激等；细胞组分 (CC) 主要与质膜、细胞膜、细胞质等有关；分子功能 (MF) 主要与脂质结合、信号传导过程、蛋白结合、转录因子结合等有关。

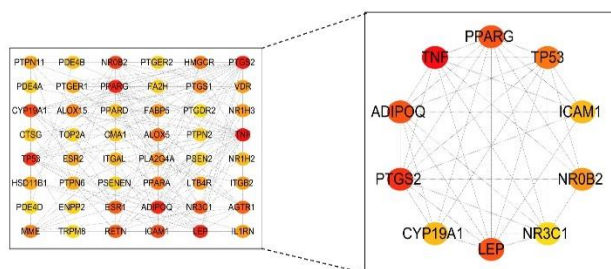


图 2 关键靶点基因

Fig. 2 key target genes

表 1 核心靶点基因信息

Table 1 Core target gene information

序号	基因	degree 值
1	TNF	27
2	PTGS2	22
3	LEP	18
4	PPARG	18
5	ADIPOQ	18
6	TP53	17
7	NR0B2	14
8	CYP19A1	13
9	ICAM1	13
10	NR3C1	12

KEGG 富集分析共获取 17 条显著性富集结果，与特异性皮炎密切相关的通路包含 PPAR 信号通路、花生四烯酸代谢、cAMP 信号通路、AMPK 信号通路等。在所有信号通路中 PPAR 信号通路涉及的靶标最多，且特异性皮炎 P 值最小，与特异性皮炎相关性最高。富集在 PPAR 信号通路的靶点分别为 NR1H3、PPARD、PPARG、FABP5、ADIPOQ、PPARA，其中 PPARG 和 ADIPOQ 为关键靶点基因，见图 3。

2.4 共轭亚油酸对特异性皮炎小鼠皮损的影响

由图 4A 表明，与对照组相比，局部使用 DNFB 进行激发致敏，模型组小鼠皮损加重，背部皮肤可见红斑、水肿、糜烂、脱屑结痂等改变，提示造模成功。与模型组相比，共轭亚油酸小鼠皮损处的点

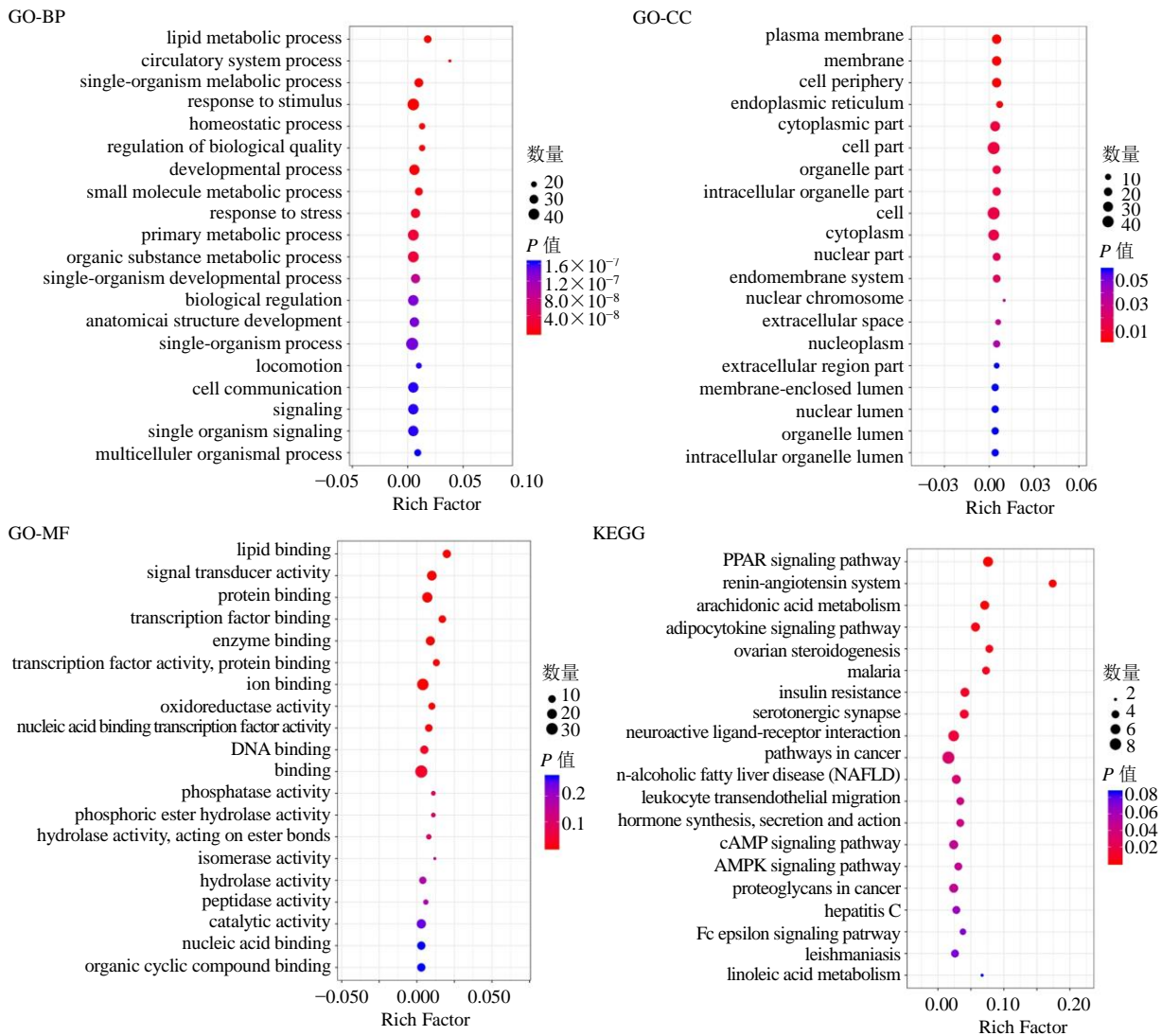


图 3 GO 与 KEGG 富集分析
Fig. 3 GO and KEGG enrichment analysis

状出血，红斑、干燥及结痂等症状明显减轻。图 4B 表明，模型组小鼠皮损评分呈时间相关性显著性升高 ($P < 0.01$)。相对于模型组，共轭亚油酸组小鼠皮损评分明显下降 ($P < 0.05$)。

2.5 共轭亚油酸对特异性皮炎小鼠皮损组织病理学的影响

HE 切片病理染色和 TB 染色发现，与对照组相比，模型组小鼠皮肤中棘层细胞层数显著增加，且真皮层炎性细胞浸润、毛细血管增生、扩张充血等现象明显，小鼠皮损中肥大细胞浸润明显。而共轭亚油酸组上述病理变化显著改善，见图 5。

与对照组相比，模型组小鼠皮肤表皮明显增厚，肥大细胞数量显著增加 ($P < 0.01$)。与模型组比较，共轭亚油酸组表皮厚度显著降低 ($P < 0.05$)，

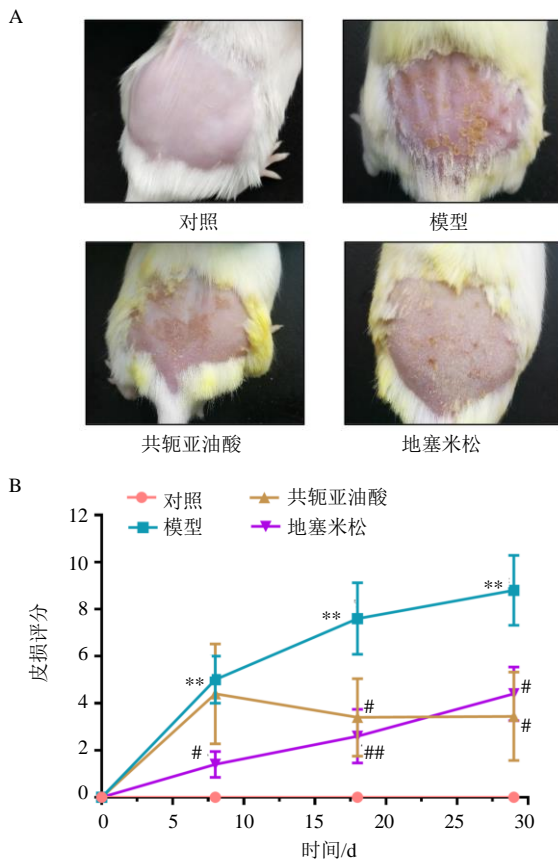
肥大细胞数量显著下降 ($P < 0.05$ 、 0.01)，见图 6。

2.6 共轭亚油酸对特异性皮炎小鼠 IgE、IL-4、IFN- γ 水平的影响

如图 7 所示，与对照组相比，模型组小鼠血清中 IgE、IL-4、IFN- γ 水平均显著提高 ($P < 0.05$ 、 0.01)；与模型组相比，共轭亚油酸组血清 IgE、IL-4、IFN- γ 水平明显降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)。

2.7 共轭亚油酸对特异性皮炎小鼠皮损处 PPARG 蛋白的影响

如图 8 所示，对照组小鼠皮肤中 PPARG 蛋白呈阳性表达，表皮层以及真皮层均可见较深色棕色颗粒。与对照组比较，模型组中 PPARG 蛋白的表达明显呈现出弱阳性特征，而共轭亚油酸组 PPARG 蛋白的表达有所恢复。



A-各组小鼠皮损情况 B-皮损评分
与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$
A - skin lesions of mice in each group B - skin lesions score
** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group

图 4 共轭亚油酸对特应性皮炎小鼠皮肤皮损的影响 ($n = 8$)
Fig. 4 Effects of conjugated linoleic acid on skin lesions in mice with atopic dermatitis ($n = 8$)

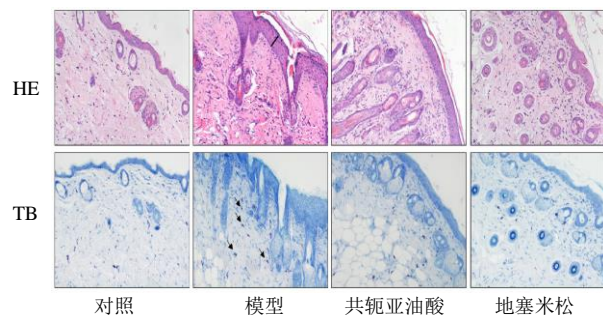
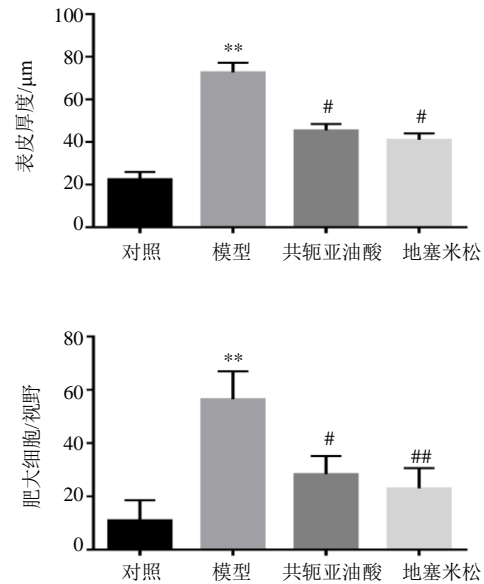


图 5 皮损组织 HE 染色和 TB 染色结果 ($\times 200$)
Fig. 5 Results of HE and TB staining of mice ($\times 200$)

3 讨论

特应性皮炎是皮肤科一种常见的炎症性皮肤病, 其临床特点是 Th1/Th2 失衡、IgE 超敏反应、瘙痒及湿疹性皮肤病变, 全球发病率不断上升^[12]。肥大细胞是介导过敏性炎症反应发生的主要起始



与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$
** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group

图 6 共轭亚油酸对特应性皮炎小鼠皮损组织表皮厚度和肥大细胞数量的影响 ($n = 8$)
Fig. 6 Effects of conjugated linoleic acid on skin thickness and mast cell number in mice with atopic dermatitis ($n = 8$)

细胞之一^[13-14]。血清中 IgE 水平显著升高且 Th1/Th2 细胞免疫反应失衡是特应性皮炎患者重要的免疫学特点^[15-16]。目前在临床上, 特应性皮炎尚缺乏安全有效的治疗药物。共轭亚油酸是亚油酸的一类同分异构体, 常以 c9t11 和 t10c12 - 共轭亚油酸异构体形式存在, 也是多种共轭亚油酸异构体中具有生理活性的成分^[7, 17]。Whigham 等^[18]证明共轭亚油酸能够减少抗原诱导的组胺和 PGE2 释放, 提示共轭亚油酸对特应性皮炎的潜在治疗作用。本研究运用网络药理学的方法探讨共轭亚油酸抗特应性皮炎的可能作用机制和关键靶点, 并通过体内实验进一步验证共轭亚油酸对 DNFB 诱导的特应性皮炎小鼠皮损的改善作用及核心基因表达的改变。通过网络药理学分析显示, 共轭亚油酸与特应性皮炎共有 48 个交集靶基因, 基于 STRING 交互作用网络数据库构建交集靶点的 PPI 网络, 并利用 Cytoscape 软件中 CytoHubba 插件对网络拓扑异构分析, 发现 TNF、PTGS2、LEP、PPARG、ADIPOQ、TP53、NR0B2、CYP19A1、ICAM1、NR3C1 是排名前 10 的关键基因, 可能在共轭亚油酸减轻特应性皮炎皮肤炎症中发挥重要作用。为了探讨共轭亚油酸抗特应性皮炎的潜在关键通路, 我们对交集靶点进行 KEGG 通路

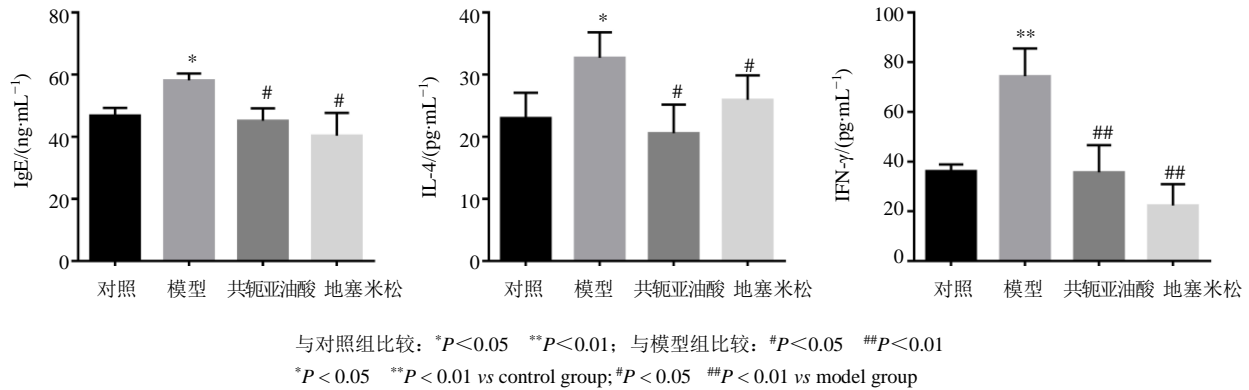


图 7 共轭亚油酸对小鼠血清中 IL-4、IgE、IFN-γ 水平的影响 (n = 8)

Fig. 7 Effects of conjugated linoleic acid on IgE, IL-4, IFN-γ levels in serum (n = 8)

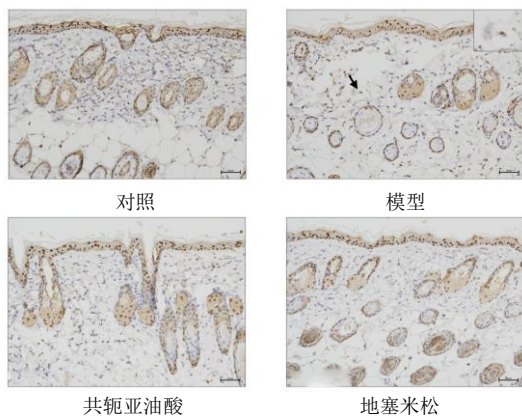


图 8 共轭亚油酸对特应性皮炎小鼠皮损处 PPARG 蛋白表达的影响 (×200)

Fig. 8 Effect of conjugated linoleic acid on the protein expression of PPARG in atopic dermatitis of mice (×200)

分析,共筛选出 17 条显著性富集通路,其中 PPAR 信号通路最为显著,且以富集在通路上的靶点 PPARG 与 ADIPOQ 为枢纽基因。

越来越多的证据表明,PPAR 信号通路是各种皮肤病的新兴的治疗靶点,包括炎症性皮肤病,如牛皮癣、特应性皮炎以及皮肤恶性肿瘤等^[19-20]。PPAR 是调节脂质、葡萄糖、氨基酸代谢的核受体超家族的成员,隶属于核激素受体,由 3 种不同的亚型组成,即 PPAR α 、PPAR γ (PPARG) 和 PPAR β/δ ^[21]。研究发现,PPAR 与特定配体结合后,参与调节了多种皮肤功能,包括角质形成细胞增殖、表皮屏障形成、伤口愈合、黑素细胞增殖和皮脂产生,提示其可作为治疗炎症性皮肤病的潜在靶标^[22]。在炎症性皮肤病中,包括过度增殖性银屑病表皮以及特应性皮炎患者皮损皮肤中,PPAR α 和

PPAR γ 的表达都降低^[23-25]。这一观察结果表明,PPAR α 和 PPAR γ 激活剂或正向调节 PPAR 基因表达的化合物可能代表一类新型非甾体类消炎药,用于局部或全身治疗常见的炎症性皮肤病,如特应性皮炎,牛皮癣和过敏性接触性皮炎等。据报道,PPAR 的活化可降低 Th2 免疫反应水平^[26],并且高表达的 PPARG 通过抑制 NF- κ B 的活性来抑制 IL-6、TNF- α 的形成,进而抑制过激的炎症反应^[27]。另外,KEGG 结果还筛选出富集在该通路上另一个枢纽靶点 ADIPOQ。ADIPOQ 是由脂肪细胞分泌的脂肪细胞因子,可通过与靶细胞膜上的脂联素受体结合发挥抗炎、胰岛素增敏、抗糖尿病、抗动脉粥样硬化等药理作用^[28-29]。最新研究发现,特应性皮炎患者(尤其是外源性特应性皮炎患者)的血清和皮肤组织中 ADIPOQ 的水平显著低于正常对照者,并且与总 IgE 水平呈负相关^[30-31]。另外,SEO 等^[32]也发现特应性皮炎患者表皮中脂联素受体的表达减少,并在体外通过特应性皮炎样 3D 皮肤等效模型证实了 ADIPOQ 可通过抑制角质形成细胞中炎症介质的表达,增强脂质合成以及表皮分化的能力,进而修复受损的皮肤屏障功能。

体内动物实验结果表明,共轭亚油酸明显改善 DNFB 诱导的特应性皮炎小鼠湿疹样皮损,具体表现为皮损严重程度减轻、炎症细胞与肥大细胞浸润减少以及 Th1/Th2 型细胞因子水平下降。另外,本研究也发现共轭亚油酸可显著性上调特应性皮炎小鼠皮损中 PPAR 信号通路上关键基因 PPARG 的表达,提示 PPARG 是共轭亚油酸治疗特应性皮炎的潜在靶点。

综上,本研究为深入探讨共轭亚油酸抗特应性皮炎的作用机制提供新思路和新方法,也为共轭亚

油酸治疗特应性皮炎潜在机制提供部分参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Sidbury R, Kodama S. Atopic dermatitis guidelines: Diagnosis, systemic therapy, and adjunctive care [J]. *Clin Dermatol*, 2018, 36(5): 648-652.
- [2] Kim J, Kim B E, Leung D Y M. Pathophysiology of atopic dermatitis: Clinical implications [J]. *Allergy Asthma Proc*, 2019, 40(2): 84-92.
- [3] Reed B, Blaiss M S. The burden of atopic dermatitis [J]. *Allergy Asthma Proc*, 2018, 39: 406-410.
- [4] Frazier W, Bhardwaj N. Atopic dermatitis: Diagnosis and treatment [J]. *Am Fam Physician*, 2020, 101(10): 590-598.
- [5] Bhattacharya A, Banu J, Rahman M, et al. Biological effects of conjugated linoleic acids in health and disease [J]. *J Nutr Biochem*, 2006, 17(12): 789-810.
- [6] 文瑾, 范超, 夏俪宁, 等. 共轭亚油酸甘油酯及其微囊乳液对高脂饮食诱导的大鼠非酒精性脂肪肝的缓解作用 [J]. *食品与发酵工业*, 2021, 47(21): 102-108.
- [7] Wallace R J, Mckain N, Shingfield K J, et al. Isomers of conjugated linoleic acids are synthesized via different mechanisms in ruminal digesta and bacteria [J]. *J Lipid Res*, 2007, 48(10): 2247-2254.
- [8] Shokryzadan P, Rajion M A, Meng G Y, et al. Conjugated linoleic acid: A potent fatty acid linked to animal and human health [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2017, 57(13): 2737-2748.
- [9] Ishiguro K, Oku H, Suitani A, et al. Effects of conjugated linoleic acid on anaphylaxis and allergic pruritus [J]. *Biol Pharm Bull*, 2002, 25(12): 1655-1657.
- [10] Fei W, Wu J, Gao M, et al. Multilineage-differentiating stress-enduring cells alleviate atopic dermatitis-associated behaviors in mice [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12(1): 606.
- [11] Choi J K, Kim S H. Inhibitory effect of galangin on atopic dermatitis-like skin lesions [J]. *Food Chem Toxicol*, 2014, 68: 135-141.
- [12] Li H G, Zhang Z, Zhang H, et al. Update on the pathogenesis and therapy of atopic dermatitis [J]. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2021, 61(3): 324-338.
- [13] Voss M, Kotrba J, Gaffal E, et al. Mast cells in the skin: Defenders of integrity or offenders in inflammation [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(9): 4589.
- [14] Galli S J, Tsai M. IgE and mast cells in allergic disease [J]. *Nat Med*, 2012, 18(5): 693-704.
- [15] Brunner P M. Early immunologic changes during the onset of atopic dermatitis [J]. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2019, 123(2): 152-157.
- [16] Takeda S, Miyasaka K, Shimoda H. Lycoperside H, a steroidal alkaloid saponin in tomato seeds, ameliorates atopic dermatitis-like symptoms in IL-33 transgenic mice [J]. *J Food Biochem*, 2021, 45(9): e13877.
- [17] Wang T, Lee H G. Advances in research on cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid: A major functional conjugated linoleic acid isomer [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2015, 55(5): 720-731.
- [18] Whigham L D, Cook E B, Stahl J L, et al. CLA reduces antigen-induced histamine and PGE(2) release from sensitized guinea pig tracheae [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2001, 280(3): R908-R912.
- [19] Sertznig P, Seifert M, Tilgen W, et al. Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) and the human skin: importance of PPARs in skin physiology and dermatologic diseases [J]. *Am J Clin Dermatol*, 2008, 9(1): 15-31.
- [20] Gupta M, Mahajan V K, Mehta K S, et al. Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) and PPAR agonists: The 'future' in dermatology therapeutics? [J]. *Arch Dermatol Res*, 2015, 307(9): 767-780.
- [21] Christofides A, Konstantinidou E, Jani C, et al. The role of peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR) in immune responses [J]. *Metabolism*, 2021, 114: 154338.
- [22] Sertznig P, Reichrath J. Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) in dermatology: Challenge and promise [J]. *Dermatoendocrinol*, 2011, 3(3): 130-135.
- [23] Furue K, Mitoma C, Tsuji G, et al. Protective role of peroxisome proliferator-activated receptor α agonists in skin barrier and inflammation [J]. *Immunobiology*, 2018, 223(3): 327-330.
- [24] Staumont-sallé D, Abboud G, Brénuçon C, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha regulates skin inflammation and humoral response in atopic dermatitis [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2008, 121(4): 962-968.
- [25] Sobolev V, Nesterova A, Soboleva A, et al. Analysis of PPAR γ signaling activity in psoriasis [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(16): 8603.
- [26] Zhao Y, Huang Y, He J, et al. Rosiglitazone, a peroxisome proliferator-activated receptor- γ agonist, attenuates airway inflammation by inhibiting the proliferation of effector T cells in a murine model of neutrophilic asthma [J]. *Immunol Lett*, 2014, 157(1-2): 9-15.
- [27] Liu D, Geng Z L, Zhu W K, et al. 15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J_2 ameliorates endotoxin-induced acute lung injury in rats [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2014, 127(5): 815-820.
- [28] Achari A E, Jain S K. Adiponectin, a therapeutic target for

- obesity, diabetes, and endothelial dysfunction [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(6): 1321.
- [29] Fang H, Judd R L. Adiponectin regulation and function [J]. *Compr Physiol*, 2018, 8(3): 1031-1063.
- [30] Han B, Wu W H, Bae J M, *et al.* Serum leptin and adiponectin levels in atopic dermatitis (AD) and their relation to disease severity [J]. *J Am Acad Dermatol*, 2016, 75(3): 629-631.
- [31] Plager DA, Leontovich A A, Henke S A, *et al.* Early cutaneous gene transcription changes in adult atopic dermatitis and potential clinical implications [J]. *Exp Dermatol*, 2007, 16(1): 28-36.
- [32] Seo H S, Seong K H, Kim C D, *et al.* Adiponectin attenuates the inflammation in atopic dermatitis-like reconstructed human epidermis [J]. *Ann Dermatol*, 2019, 31(2): 186-195.

[责任编辑 高源]