

引用:翟曼吟,邵梦秋,张婧琰,赵贵霜,刘娟,李孟瑶,姜丽娟.疏调健运消瘰饮调控PI3K/Akt信号通路对胰岛素样生长因子1诱导SZ95皮脂腺细胞脂质分泌的影响[J].中医导报,2025,31(5):13-19.

疏调健运消瘰饮调控PI3K/Akt信号通路 对胰岛素样生长因子1诱导SZ95皮脂腺 细胞脂质分泌的影响*

翟曼吟¹,邵梦秋¹,张婧琰¹,赵贵霜¹,刘娟¹,李孟瑶¹,姜丽娟²

(1.云南中医药大学第一临床医学院,云南 昆明 650500;

2.云南中医药大学第一附属医院,云南 昆明 650000)

[摘要] 目的:探讨疏调健运消瘰饮对胰岛素样生长因子-1(IGF-1)诱导的SZ95皮脂腺细胞痤疮模型皮脂生成与分泌的影响及潜在机制。方法:利用70 ng/mL IGF-1诱导48 h,建立SZ95皮脂腺细胞体外痤疮模型。将SZ95皮脂腺细胞分为对照组、模型组及疏调健运消瘰饮组(20、50、100、150 μ g/mL)。对照组SZ95皮脂腺细胞采用基础培养条件;模型组SZ95皮脂腺细胞采用IGF-1(70 ng/mL)进行诱导刺激48 h;疏调健运消瘰饮组SZ95皮脂腺细胞在IGF-1(70 ng/mL)处理48 h后,分别更换为20、50、100、150 μ g/mL的疏调健运消瘰饮的含药培养基干预48 h。采用噻唑蓝(MTT)检测细胞活力,油红O染色观察并定量检测SZ95皮脂腺细胞皮脂分泌水平,q-PCR法检测SZ95皮脂腺细胞IGF-1 mRNA、IGF-1受体(IGF-1R) mRNA、叉头框蛋白O1(FoxO1) mRNA表达水平,Western blotting检测SZ95皮脂腺细胞IGF-1、IGF-1R、蛋白激酶(Akt)、磷脂酰肌醇3激酶(PI3K)、胆固醇调节元件结合蛋白(SREBP1)、雄激素受体(AR)及FoxO1蛋白表达水平。结果:MTT实验表明,模型组细胞存活率低于对照组($P<0.05$);疏调健运消瘰饮组细胞存活率低于模型组($P<0.01$)。油红染色O实验显示,模型组脂滴相对面积高于对照组($P<0.01$);疏调健运消瘰饮组脂滴相对面积低于模型组($P<0.01$)。q-PCR结果显示,模型组SZ95皮脂腺细胞IGF-1 mRNA及IGF-1R mRNA相对表达量高于对照组($P<0.01$),FoxO1 mRNA相对表达量低于对照组($P<0.01$);疏调健运消瘰饮组SZ95皮脂腺细胞IGF-1 mRNA及IGF-1R mRNA相对表达量均低于模型组($P<0.01$),FoxO1 mRNA相对表达量高于模型组($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。Western blotting结果表明,模型组SZ95皮脂腺细胞IGF-1、IGF-1R、Akt、PI3K、SREBP1及AR蛋白相对表达量高于对照组($P<0.01$);疏调健运消瘰饮组(20、50、100、150 μ g/mL)SZ95皮脂腺细胞IGF-1R及Akt蛋白相对表达量均低于模型组($P<0.05$ 或 $P<0.01$);疏调健运消瘰饮组(50、100、150 μ g/mL)SZ95皮脂腺细胞IGF-1、PI3K及AR蛋白相对表达量均低于模型组($P<0.05$ 或 $P<0.01$);疏调健运消瘰饮组(100、150 μ g/mL)SZ95皮脂腺细胞SREBP1蛋白相对表达量低于模型组($P<0.01$)。模型组SZ95皮脂腺细胞FoxO1蛋白相对表达量低于对照组($P<0.05$);疏调健运消瘰饮组(50、100 150 μ g/mL)SZ95皮脂腺细胞FoxO1蛋白相对表达量均高于模型组($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结论:疏调健运消瘰饮可通过抑制IGF-1诱导的PI3K/Akt通路的激活,增强FoxO1转录,降低成脂相关因子IGF-1、SREBP1、AR的表达,从而减少皮脂腺细胞的脂质分泌,以防治痤疮。

[关键词] 痤疮;疏调健运消瘰饮;SZ95皮脂腺细胞;PI3K/Akt信号通路;脂质代谢;胰岛素样生长因子-1

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1672-951X(2025)05-0013-07

DOI:10.13862/j.cn43-1446/r.2025.05.003

Effect of Shutiao Jianyun Xiaocuo Decoction (疏调健运消瘰饮) on
IGF-1-Induced Lipid Secretion of Sebaceous Gland Cells by Regulating
PI3k/Akt Signaling Pathway

*基金项目:云南省教育厅科学研究基金项目(2023Y04662);云南省“万人计划-名医专项(姜丽娟)”(云财社[2019]70号);云南省名老中医药专家姜丽娟传承工作室

通信作者:姜丽娟,女,主任医师,教授,研究方向为皮肤病及妇科疾病的中医临床与基础研究

ZHAI Manyin¹, SHAO Mengqiu¹, ZHANG Jinyan¹, ZHAO Guishuang¹, LIU Juan¹, LI Mengyao¹, JIANG Lijuan²

(1.The First Clinical College of Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming Yunnan 650500, China;

2.The First Affiliated Hospital of Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming Yunnan 650000, China)

[Abstract] Objective: To explore the effect and potential mechanism of Shutiao Jianyun Xiaocuo decoction on sebaceous production and secretion in IGF-1 induced sebaceous gland cell acne model. Methods: SZ95 sebaceous gland cells were induced with 70 ng/mL insulin-like growth factor-1 (IGF-1) for 48 h to establish an in vitro acne model. SZ95 sebaceous gland cells were divided into control group, model group and Shutiao Jianyun Xiaocuo decoction group (20, 50, 100 and 150 μ g/mL). The SZ95 cells were cultured under standard conditions in control group. The SZ95 sebaceous gland cells in the model group were stimulated with IGF-1 at a concentration of 70 ng/mL for 48 hours. The SZ95 sebaceous gland cells in the Shutiao Jianyun Xiaocuo decoction group were treated with IGF-1 at a concentration of 70 ng/mL for 48 hours, followed by replacement with medium containing Shutiao Jianyun Xiaocuo decoction at concentrations of 20, 50, 100 and 150 μ g/mL for an additional 48 hours. Cell viability was assessed using the MTT assay, and Oil Red O staining was performed to observe and quantify sebum secretion levels. The expression levels of IGF-1 mRNA, insulin-like growth factor 1 receptor (IGF-1R) mRNA, and forkhead box protein O1 (FoxO1) mRNA were measured by q-PCR. Western blotting analysis was conducted to determine the protein expression levels of lipid-related factors such as IGF-1, IGF-1R, protein kinase B (Akt), phosphatidylinositol 3 kinase (PI3K), sterol regulatory element-binding protein 1 (SREBP1), androgen receptor (AR), and FoxO1. Results: MTT assay showed that the cell survival rate of the model group was lower than that of the control group ($P<0.05$), and that the Shutiao Jianyun Xiaocuo decoction group showed lower cell survival rate than model group ($P<0.01$). Oil red staining O test showed that the relative area of lipid droplets in the model group was higher than that in the control group ($P<0.01$), and that the Shutiao Jianyun Xiaocuo decoction group showed lower relative area of lipid droplets than model group ($P<0.01$). According to the results of q-PCR, the model group showed higher relative expression of IGF-1 mRNA and IGF-1R mRNA than control group ($P<0.01$), while lower relative expression of FoxO1 mRNA than control group ($P<0.01$). The Shutiao Jianyun Xiaocuo decoction group showed lower relative expression of IGF-1 mRNA and IGF-1R mRNA than model group ($P<0.01$), while higher relative expression of FoxO1 mRNA than model group ($P<0.05$ or $P<0.01$). Western blotting results showed that the relative expressions of IGF-1, IGF-1R, Akt, PI3K, SREBP1 and AR proteins in model group were higher than those in control group ($P<0.01$), and that the Shutiao Jianyun Xiaocuo decoction group (20, 50, 100 and 150 μ g/mL) showed lower relative expressions of IGF-1-R and Akt protein than model group ($P<0.05$ or $P<0.01$). The Shutiao Jianyun Xiaocuo decoction group (50, 100 and 150 μ g/mL) showed lower relative expressions of IGF-1, PI3K and AR protein than model group ($P<0.05$ or $P<0.01$). The Shutiao Jianyun Xiaocuo decoction group (100, 150 μ g/mL) showed lower relative expression of SREBP-1 protein than model group ($P<0.01$). The model group showed lower relative expression of FoxO1 protein than control group ($P<0.05$). The Shutiao Jianyun Xiaocuo decoction group (50 100 and 150 μ g/mL) showed higher relative expression of FoxO1 protein than model group ($P<0.05$ or $P<0.01$). Conclusions: Shutiao Jianyun Xiaocuo decoction can inhibit the IGF-1-induced activation of PI3K/Akt signaling pathway, enhance the transcription of FoxO1, and reduce the expression of adipogenic factors IGF-1, SREBP1 and AR, thereby reducing lipid secretion of sebocytes to prevent and treat acne.

[Keywords] acne; Shutiao Jianyun Xiaocuo decoction; SZ95 sebaceous gland cells; PI3k/Akt signaling pathway; lipid metabolism; insulin-like growth factor-1

痤疮是一种主要累及毛囊皮脂腺的炎症性皮肤病,毛囊皮脂腺分泌的皮脂增多是痤疮发病的基础因素^[1]。近年研究^[2]发现高血糖负荷饮食及乳制品摄入是痤疮发病的重要因素,

痤疮在糖脂代谢异常人群中有更高的发病率^[3]。胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factor1,IGF-1)在其中发挥了重要的调控作用。痤疮患者血清中IGF-1的水平与痤疮的严

重程度呈正相关趋势^[4]。IGF-1能够刺激卵巢、睾丸和肾上腺中雄激素合成^[5-6],提高雄激素受体活性,增加皮脂腺细胞脂质分泌,促进痤疮粉刺的形成^[7]。多囊卵巢综合征(polycystic ovary syndrome, PCOS)患者往往存在胰岛素抵抗、糖脂代谢紊乱、血清雄激素水平升高的情况。这与IGF-1表达水平的升高相关^[8],也是PCOS患者合并痤疮的潜在原因之一。疏调健运消痤疮是姜丽娟教授基于“和畅玄府法”结合临床经验自拟治疗痤疮肝脾不和、痰湿蕴结证的经验方。姜丽娟教授认为痤疮病机乃肝脾之玄府不通,导致气机不畅,水液失调,聚湿成痰,郁而化火上发头面则见粉刺、丘疹。本方和调肝脾之玄府,健运脾土,疏调肝气,能够有效改善痤疮皮损,但其治疗痤疮的机制还需进一步研究。研究证实磷脂酰肌醇激酶3(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)通路能够激活IGF-1,调节细胞的增殖并影响脂质代谢^[9-10]。因此,本研究以IGF-1诱导的SZ95皮脂腺细胞构建细胞痤疮模型,旨在探明疏调健运消痤疮通过调控PI3K/Akt信号轴对皮脂腺细胞皮脂分泌的影响,以期为本方的临床应用推广提供依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂 Sebomed培养基(批号:F8205)购自美国Biochrom公司;胰酶/EDTA(批号:c3530-0100)购自德国Vivacell公司;胎牛血清(批号:04-001-1ACS)购自德国Vivacell公司;青霉素-链霉素双抗溶液(批号:BL505A)购自白鲨生物科技有限公司;RNA总提取试剂盒(批号:DP419)、Quant cDNA第一链合成试剂盒(批号:KR103)购自天根生化科技有限公司;IGF-1(批号:P1016)购自美国Apexibio公司;IGF-1抗体(批号:BS6817)、IGF-1受体(IGF-1R)抗体(批号:BS5763)、Akt抗体(批号:AP0059)、PI3K抗体(批号:BS6441)、胆固醇调节元件结合蛋白(SREBP1)抗体(批号:AP0059)、叉头框蛋白O1(FoxO1)抗体(批号:BS61349)、雄激素受体(AR)抗体(批号:BS62258)、内参 β -肌动蛋白(β -actin)抗体(批号:AP0060)及山羊抗兔二抗(批号:BS13278)均购自南京巴傲得生物科技有限公司;噻唑蓝(MTT)试剂(批号:B7777)购自美国Apexibio公司;油红O染色试剂盒(细胞专用)(批号:G1262)购自北京索莱宝科技有限公司。

1.2 主要仪器 CO₂细胞培养箱(赛默飞世尔科技公司);正置显微镜(日本Olympus公司,型号:BX53);定量PCR仪(瑞士Roche公司,型号:LightCycle 96);多功能酶标仪(杭州奥盛仪器有限公司,型号:Feyond-A300);超净工作台(青岛海尔生物医疗股份有限公司,型号:HCB-I300V);掌上离心机(美国赛洛捷公司,型号:D1008E);超微量分光光度计(德国Implen公司,型号:T51017)。

1.3 实验细胞 SZ95皮脂腺细胞(批号:EDC00026)购自广州艾迪基因科技有限公司。将细胞培养在10%胎牛血清+100 U/mL青霉素+100 U/mL链霉素的Sebomed基础培养基中,在5%CO₂、37℃恒温培养箱基饱和湿度条件进行培养。细胞长满70%时,磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗后胰酶消化进行细胞传代,取对数生长期的细胞进行实验。

1.4 实验药物 疏调健运消痤疮组成:当归15 g,白芍15 g,

白术10 g,茯苓15 g,泽泻10 g,川芎10 g,郁金10 g,牡丹皮10 g,生地黄10 g,桑叶10 g,蒲公英10 g,紫花地丁15 g,皂角刺15 g,黄芪30 g,菟丝子15 g,肉苁蓉15 g。中药饮片购自云南省中医院中药房。经云南省中医院胡维稳副主任药师鉴定中药为正品。疏调健运消痤疮药液制备:将上述中药浓缩成1 mL含1.0 g原中药材的药液,0.22 μ m过滤器过滤除菌,4℃冰箱保存备用。使用培养基进行稀释,配制为20、50、100、150 μ g/mL的含药培养基。

2 方法

2.1 建模、药物干预及分组

2.1.1 IGF-1诱导SZ95皮脂腺细胞皮脂分泌模型 SZ95皮脂腺细胞培养到70%时,更换为培养基稀释后以质量浓度为70 ng/mL的IGF-1诱导皮脂腺细胞分泌皮脂,继续孵育48 h,以构建痤疮体外模型。

2.1.2 药物干预、分组方法 将SZ95皮脂腺细胞分为对照组、模型组及疏调健运消痤疮组(20、50、100、150 μ g/mL)。对照组:正常SZ95皮脂腺细胞,采用基础培养条件;模型组:SZ95皮脂腺细胞采用IGF-1(70 ng/mL)进行诱导刺激48 h;疏调健运消痤疮组:SZ95皮脂腺细胞在IGF-1(70 ng/mL)处理48 h后,分别更换为20、50、100、150 μ g/mL的疏调健运消痤疮的含药培养基干预48 h。

2.2 观察指标

2.2.1 细胞增殖存活情况 采用MTT法检测细胞增殖存活情况。收集生长状态良好的SZ95皮脂腺细胞,胰酶处理后离心,以 5×10^3 个接种96孔板,每个组设置6个复孔。每孔细胞贴壁后,按照“2.1.2”项下分组及干预方法进行孵育,48 h后,在避光条件下每孔加入20 μ L 0.5% MTT溶液,培养箱中继续培养4 h。吸弃培养基,每孔加入150 μ L二甲基亚砜(DMSO),置摇床上低速振荡10 min,使甲瓚结晶充分溶解,用酶标仪在470 nm处测量各孔的吸光度值计算细胞存活率。空白孔中为不含细胞和待测物的培养基,对照孔中为含有细胞、不含待测物的培养基,实验重复3次取平均值。细胞存活率=(干预组OD值)/(对照组OD值) $\times 100\%$ 。

2.2.2 SZ95皮脂腺细胞皮脂分泌水平 采用油红O染色检测皮脂分泌水平。将SZ95皮脂腺细胞以每孔 6×10^4 个接种于24孔板中,设置3个复孔。次日按照“2.1.2”中分组及干预方法进行孵育,48 h后,移除各组培养基,用PBS洗涤,加入固定液固定20 min,弃去固定液并用无菌蒸馏水洗两次,加入60%异丙醇浸洗细胞,弃去60%异丙醇后加入新配制好的油红O染液,37℃培养箱浸染20 min,弃去染液,每孔加入无菌蒸馏水,通过倒置显微镜观察细胞内脂滴数量,并使用ImageJ软件分析相对脂滴相对面积。

2.2.3 SZ95皮脂腺细胞IGF-1 mRNA、IGF-1R mRNA及FoxO1 mRNA表达水平 将SZ95皮脂腺细胞以每孔 6×10^4 个接种于24孔板中,设置3个复孔。次日按照“2.1.2”中分组及干预方法进行孵育,48 h后,吸弃培养基,使用PBS洗涤,收集各组细胞,根据天根RNA试剂盒步骤,加入TRIZOL(总RNA抽提试剂),用枪头吹打,破碎细胞,将细胞转移到新离心管中,加入

氯仿,颠倒混匀静置 3 min,4℃下 12 000 r/min(离心半径 9.5 cm)离心 10 min。将 400 μL 上清转移到一新的离心管中,加入异丙醇混匀,静置离心以提取各组细胞总 RNA。使用微量紫外分光光度计测定 RNA 纯度和浓度。并进行逆转录:总反应体系为 20 μL,包括 Oligo dT primer(10 μmol/L) 5 μL,总 RNA 1 μg,10×RT Buffer 2 μL,dNTP(2.5 mmol/L) 4 μL,RNA 酶抑制剂(RNase Inhibitor)(10 U/μL) 1 μL,逆转录酶 1 μL,用无 RNA 酶(RNase Free)水补齐 20 μL。实时 PCR 反应总反应体系 20 μL,包括 2×SYBR Real Master Mix 10 μL,上游引物 0.2 μL(终浓度 0.1 μmol/L)。cDNA 模板 1 μL,RNase Free 水补齐 20 μL。在 PCR 上进行检测,反应条件:预变性 95℃ 10 s,变性 95℃ 5 s,退火和延伸 60℃ 20 s,40 个循环。使用 2^{-ΔΔCT}法计算 IGF-1 mRNA、IGF-1R mRNA 及 FoxO1 mRNA 的相对表达量,实验重复 3 次取平均值。引物由武汉塞维尔公司合成。(见表 1)

表 1 引物序列

| 目的基因 | 引物序列(5'~3') | 扩增产物长度/bp |
|--------|------------------------------|-----------|
| IGF-1 | 上游引物:GGTGGATGCTCTTCAGTTCGT | 154 |
| | 下游引物:GCAATACATCTCCAGCCTCCTTA | |
| IGF-1R | 上游引物:TGCCTTGCTCTCCTTGTCTCT | 216 |
| | 下游引物:GTCACCTCCTCCATGCGGTAA | |
| FoxO1 | 上游引物:GAGTGGATGGTCAAGAGCGTG | 114 |
| | 下游引物:ACGAATGAACTTGCTGTAGGG | |
| GAPDH | 上游引物:GGAAGCTTGTCATCAATGGAATC | 168 |
| | 下游引物:TGATGACCCTTTTGCTGCC | |

2.2.4 SZ95 皮脂腺细胞 IGF-1、IGF-1R、AKT、PI3k、SREBP1、AR 及 FoxO1 蛋白表达水平 将 SZ95 皮脂腺细胞以每孔 2×10⁵ 个接种到 6 孔板中,每个组设置 3 个复孔,次日按照“2.1.2”中分组及干预方法进行孵育,48 h 后,吸弃培养基,使用 PBS 洗涤。每孔加入 RIPA 裂解液,冰浴裂解细胞。使用细胞刮刀刮下细胞,并将细胞悬液转移至离心管中,将收集到的细胞在冰面静置 20 min,4℃下 12 000 r/min(离心半径为 8.5 cm)离心 15 min,收集上清液至新离心管。使用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度。制备十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)凝胶,取蛋白质样品,使用凝胶电泳分离法分离蛋白,然后转移到聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上。用 5% 的脱脂牛奶在室温下封闭 1 h,将膜与相应一抗抗体在 4℃下反应过夜。次日用 TBST 清洗膜,并与山羊抗兔二抗在室温下再反应 1 h,Tris 缓冲盐溶液-Tween 20(TBST)清洗 3 次。ECL 试剂盒显色后,使用 ChemiDoc MP 化学发光成像系统成像。使用 ImageJ 软件分析蛋白条带灰度值,β-actin 为内参,以目的条带与内参条带灰度值的比值反映蛋白表达水平。实验重复 3 次取平均值。

2.2.5 统计学方法 采用 Image pro Plus 6、ImageJ、Graph Pad Prism 9.0 及 SPSS 26.0 统计软件对数据进行分析。符合正态分布的计量资料用“均数±标准差”(x±s)表示,方差齐的组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD 法,方差不齐的组间比较采用 Kruskal-Wallis H 检验。P<0.05 为差异有统计学意义。

3 结 果

3.1 各组细胞存活率比较 模型组细胞存活率低于对照组

(P<0.05);疏调健运消痤疮组细胞存活率低于模型组(P<0.01),表明疏调健运消痤疮具有抑制 SZ95 细胞增殖的作用。(见表 2)

表 2 各组细胞存活率比较 (x±s)

| 组别 | n | 给药剂量/(μg/mL) | 细胞存活率/% |
|---------------------|---|--------------|-------------------------|
| 对照组 | 3 | | 100.00±0.00 |
| 模型组 | 3 | | 97.51±1.37 ^a |
| 疏调健运消痤疮组(20 μg/mL) | 3 | 20 | 93.21±0.44 ^b |
| 疏调健运消痤疮组(50 μg/mL) | 3 | 50 | 89.60±0.75 ^b |
| 疏调健运消痤疮组(100 μg/mL) | 3 | 100 | 82.70±2.27 ^b |
| 疏调健运消痤疮组(150 μg/mL) | 3 | 150 | 75.44±1.06 ^b |
| F | | | 172.957 |
| P | | | 0.000 |

注:与对照组比较,^aP<0.05;与模型组比较,^bP<0.01。

3.2 各组脂滴相对面积比较 油红 O 染色显示,IGF-1 诱导 SZ95 皮脂腺细胞中有大量红色脂滴堆积。模型组脂滴相对面积高于对照组(P<0.01);疏调健运消痤疮组脂滴相对面积低于模型组(P<0.01),表明疏调健运消痤疮可减少脂滴累积。(见图 1、表 3)

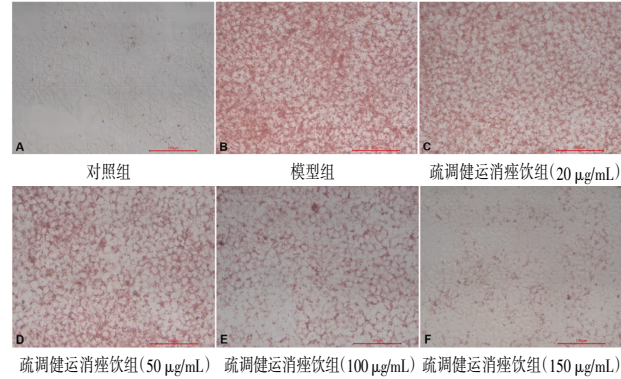


图 1 SZ95 细胞油红 O 染色(×400)

表 3 各组脂滴相对面积比较 (x±s)

| 组别 | n | 给药剂量/(μg/mL) | 脂滴相对面积/% |
|---------------------|---|--------------|-------------------------|
| 对照组 | 3 | | 0.89±0.30 |
| 模型组 | 3 | | 47.54±2.60 ^a |
| 疏调健运消痤疮组(20 μg/mL) | 3 | 20 | 30.82±3.05 ^b |
| 疏调健运消痤疮组(50 μg/mL) | 3 | 50 | 26.47±1.17 ^b |
| 疏调健运消痤疮组(100 μg/mL) | 3 | 100 | 17.45±1.80 ^b |
| 疏调健运消痤疮组(150 μg/mL) | 3 | 150 | 10.23±0.88 ^b |
| F | | | 225.472 |
| P | | | 0.000 |

注:与对照组比较,^aP<0.01;与模型组比较,^bP<0.01。

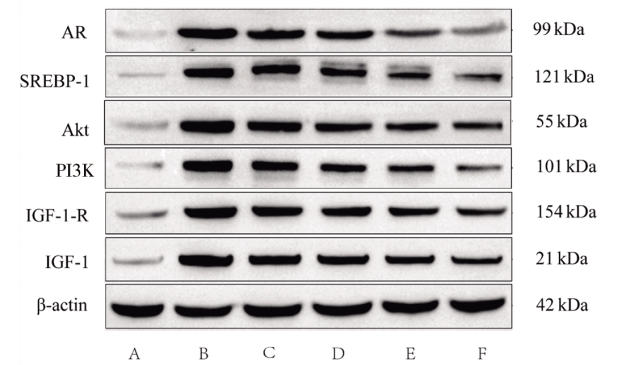
3.3 各组 SZ95 皮脂腺细胞 IGF-1 mRNA、IGF-1R mRNA 及 FoxO1 mRNA 相对表达量比较 模型组 SZ95 皮脂腺细胞 IGF-1 mRNA 及 IGF-1R mRNA 相对表达量高于对照组(P<0.01),FoxO1 mRNA 相对表达量低于对照组(P<0.01);疏调健运消痤疮组 SZ95 皮脂腺细胞 IGF-1 mRNA 及 IGF-1R mRNA 相对表达量均低于模型组(P<0.01),FoxO1 mRNA 相对表达量均高于模型组(P<0.05 或 P<0.01)。(见表 4)

表 4 各组 SZ95 皮脂腺细胞 IGF-1 mRNA、IGF-1R mRNA 及 FoxO1 mRNA 相对表达量比较 ($\bar{x}\pm s$)

| 组别 | n | 给药剂量/($\mu\text{g/mL}$) | IGF-1 mRNA | IGF-1R mRNA | FoxO1 mRNA |
|---------------------------------|---|---------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| 对照组 | 3 | | 0.92 \pm 0.07 | 1.00 \pm 0.09 | 1.00 \pm 0.10 |
| 模型组 | 3 | | 8.14 \pm 0.23 ^a | 5.30 \pm 0.45 ^a | 0.21 \pm 0.02 ^a |
| 疏调健运消痤疮组(20 $\mu\text{g/mL}$) | 3 | 20 | 6.68 \pm 0.72 ^d | 2.87 \pm 0.18 ^d | 0.30 \pm 0.01 ^c |
| 疏调健运消痤疮组(50 $\mu\text{g/mL}$) | 3 | 50 | 4.47 \pm 0.33 ^b | 1.94 \pm 0.72 ^b | 0.40 \pm 0.01 ^b |
| 疏调健运消痤疮组(100 $\mu\text{g/mL}$) | 3 | 100 | 3.14 \pm 0.26 ^b | 0.90 \pm 0.13 ^b | 0.43 \pm 0.02 ^b |
| 疏调健运消痤疮组(150 $\mu\text{g/mL}$) | 3 | 150 | 2.15 \pm 0.30 ^b | 0.80 \pm 0.13 ^b | 0.73 \pm 0.05 ^b |
| F | | | 32.871 | 64.740 | 133.356 |
| P | | | 0.000 | 0.000 | 0.000 |

注:与对照组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.01$,^c $P<0.05$ 。

3.4 各组SZ95皮脂腺细胞IGF-1、IGF-1R、Akt、PI3K、SREBP1及AR蛋白相对表达量比较 模型组SZ95皮脂腺细胞IGF-1、IGF-1R、Akt、PI3K、SREBP1及AR蛋白相对表达量均高于对照组($P<0.01$);疏调健运消痤疮组(20、50、100、150 $\mu\text{g/mL}$)SZ95皮脂腺细胞IGF-1R及Akt蛋白相对表达量均低于模型组($P<0.05$ 或 $P<0.01$);疏调健运消痤疮组(50、100、150 $\mu\text{g/mL}$)SZ95皮脂腺细胞IGF-1、PI3K及AR蛋白相对表达量均低于模型组($P<0.05$ 或 $P<0.01$);疏调健运消痤疮组(150 $\mu\text{g/mL}$)SZ95皮脂腺细胞SREBP-1蛋白相对表达量均低于模型组($P<0.01$)。(见图2、表5)



注:A.对照组;B.模型组;C.疏调健运消痤疮组(20 $\mu\text{g/mL}$);D.疏调健运消痤疮组(50 $\mu\text{g/mL}$);E.疏调健运消痤疮组(100 $\mu\text{g/mL}$);F.疏调健运消痤疮组(150 $\mu\text{g/mL}$)。

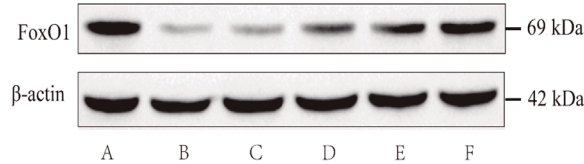
图 2 各组 SZ95 皮脂腺细胞 IGF-1、IGF-1R、Akt、PI3K、SREBP1 及 AR 蛋白 Western blotting 图

表 5 各组 SZ95 皮脂腺细胞 IGF-1、IGF-1R、Akt、PI3K、SREBP1、AR 蛋白相对表达量比较 ($\bar{x}\pm s$)

| 组别 | n | 给药剂量/($\mu\text{g/mL}$) | IGF-1/ β -actin | IGF-1R/ β -actin | PI3K/ β -actin | Akt/ β -actin | SREBP-1/ β -actin | AR/ β -actin |
|---------------------------------|---|---------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| 对照组 | 3 | | 0.19 \pm 0.02 | 0.25 \pm 0.06 | 0.19 \pm 0.04 | 0.20 \pm 0.04 | 0.25 \pm 0.06 | 0.19 \pm 0.02 |
| 模型组 | 3 | | 1.18 \pm 0.08 ^a | 1.04 \pm 0.10 ^a | 1.05 \pm 0.04 ^a | 1.19 \pm 0.06 ^a | 1.18 \pm 0.1 ^a | 1.17 \pm 0.09 ^a |
| 疏调健运消痤疮组(20 $\mu\text{g/mL}$) | 3 | 20 | 0.95 \pm 0.16 | 0.86 \pm 0.06 ^b | 0.89 \pm 0.09 | 1.00 \pm 0.06 ^b | 1.04 \pm 0.01 | 0.98 \pm 0.07 |
| 疏调健运消痤疮组(50 $\mu\text{g/mL}$) | 3 | 50 | 0.80 \pm 0.08 ^c | 0.73 \pm 0.03 ^c | 0.70 \pm 0.09 ^c | 0.85 \pm 0.07 ^c | 0.94 \pm 0.07 | 0.81 \pm 0.01 ^b |
| 疏调健运消痤疮组(100 $\mu\text{g/mL}$) | 3 | 100 | 0.70 \pm 0.10 ^c | 0.64 \pm 0.03 ^c | 0.59 \pm 0.04 ^c | 0.74 \pm 0.02 ^c | 0.77 \pm 0.06 ^c | 0.66 \pm 0.10 ^c |
| 疏调健运消痤疮组(150 $\mu\text{g/mL}$) | 3 | 150 | 0.62 \pm 0.11 ^c | 0.52 \pm 0.05 ^c | 0.44 \pm 0.10 ^c | 0.56 \pm 0.02 ^c | 0.62 \pm 0.07 ^c | 0.45 \pm 0.06 ^c |
| F | | | 32.871 | 64.740 | 61.543 | 95.565 | 37.939 | 82.317 |
| P | | | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |

注:与对照组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.05$,^c $P<0.01$ 。

3.5 各组SZ95皮脂腺细胞FoxO1蛋白相对表达量比较 模型组SZ95皮脂腺细胞FoxO1蛋白相对表达量低于对照组($P<0.05$);疏调健运消痤疮组(50、100、150 $\mu\text{g/mL}$)SZ95皮脂腺细胞FoxO1蛋白相对表达量均高于模型组($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。(见图3、表6)



注:A.对照组;B.模型组;C.疏调健运消痤疮组(20 $\mu\text{g/mL}$);D.疏调健运消痤疮组(50 $\mu\text{g/mL}$);E.疏调健运消痤疮组(100 $\mu\text{g/mL}$);F.疏调健运消痤疮组(150 $\mu\text{g/mL}$)。

图 4 各组 SZ95 皮脂腺细胞 FoxO1 蛋白 Western blotting 图

表 6 各组 SZ95 皮脂腺细胞 FoxO1 蛋白相对表达量比较 ($\bar{x}\pm s$)

| 组别 | n | 给药剂量/($\mu\text{g/mL}$) | FoxO1/ β -actin |
|---------------------------------|---|---------------------------|------------------------------|
| 对照组 | 3 | | 1.05 \pm 0.13 |
| 模型组 | 3 | | 0.26 \pm 0.11 ^a |
| 疏调健运消痤疮组(20 $\mu\text{g/mL}$) | 3 | 20 | 0.55 \pm 0.16 |
| 疏调健运消痤疮组(50 $\mu\text{g/mL}$) | 3 | 50 | 0.70 \pm 0.10 ^b |
| 疏调健运消痤疮组(100 $\mu\text{g/mL}$) | 3 | 100 | 0.80 \pm 0.04 ^c |
| 疏调健运消痤疮组(150 $\mu\text{g/mL}$) | 3 | 150 | 0.92 \pm 0.10 ^c |
| F | | | 18.142 |
| P | | | 0.000 |

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$,^c $P<0.01$ 。

4 讨 论

痤疮好发颜面、胸背部等皮脂腺发达部位,其中皮脂腺分泌皮脂增多是痤疮的重要致病因素。异常分泌的皮脂堵塞毛囊口,促进粉刺的形成,并为痤疮丙酸杆菌定植提供了营养^[1]。痤疮患者面部T区皮脂水平和平均面部皮脂排泄量高于无痤疮患者,并且与痤疮的严重程度呈正相关^[2]。痤疮患者皮脂腺细胞增殖活跃,抑制皮脂腺细胞的增殖活性及皮脂腺细胞过度分泌皮脂是目前痤疮治疗的重要途径之一^[3]。

近年来国内外研究显示,痤疮并非单纯的毛囊皮脂腺疾病,其发病与内分泌代谢疾病、生活习惯均有密切关系,IGF-1则是重要的调节因子^[4]。多囊卵巢综合征、胰岛素抵抗、高血糖指数(glycemic index,GI)饮食方式和进入青春期均会引起

体内IGF-1水平升高^[14-16],影响皮脂腺稳态,进而导致痤疮。IGF-1是一种生长激素依赖性多肽,主要在肝脏内合成。IGF-1与受体IGF-1R在皮脂腺细胞中均呈现强表达^[16]。外源性补充IGF-1的患者会出现痤疮,暂停治疗后痤疮逐渐消退,也说明IGF-1在痤疮的发病中起到重要作用^[17]。

在皮脂腺细胞中,IGF-1与受体结合后激活PI3K/Akt通路,促使脂质生成的负调控关键因子FoxO1磷酸化,从细胞核输出至细胞质后降解,提高脂质生成因子及促炎因子转录活性^[18-19]。FoxO1可抑制皮脂腺脂质生成的SREBP-1启动子肝X受体 α (LXR α)/类视黄醇X受体 α (RXR α)活性,降低SREBP-1表达,以减少脂质的积累^[20]。SREBP-1是调节脂质代谢的重要核转录因子,可通过与下游靶基因固醇调节原件DNA序列结合,参与胆固醇和脂肪酸的合成^[21]。痤疮的动物模型和体外模型中SREBP-1表达均升高^[22]。

IGF-1可通过抑制FoxO1表达,增强AR的活性^[4]。雄激素是促进皮脂腺细胞分泌脂质的关键因素,而AR的活性和数量是雄激素发挥作用的基础。AR能够与二氢睾酮结合,刺激皮脂腺增生,从而分泌更多皮脂^[1]。FoxO1作为重要的AR抑制因子,可通过与AR蛋白质转导结构域结合,抑制AR的N段和C段的相互作用,降低AR的转录水平,减弱AR靶基因表达^[23]。此外,FoxO1对AR的抑制作用通过IGF-1激活PI3K/Akt信号通路而减弱,活化的Akt激酶可转位到细胞核并磷酸化核FoxO1。FoxO1从细胞核转移到细胞质中,并进一步送至蛋白酶体降解,同时,AR可以增强IGF-1R的表达,诱导FoxO1的蛋白水解,导致IGF-1信号上调^[24]。因此IGF-1与FoxO1之间存在的正反馈回路在痤疮的病情进展中具有重要作用。IGF-1目前已经逐渐成为痤疮治疗中的重要靶点之一。本研究发现IGF-1与脂质相关因子的调控关系与文献报道一致。

疏调健运消痤疮为姜丽娟教授在当归芍药散的基础上,结合“和畅玄府”法加味所得。姜丽娟教授认为,痤疮患者常多因情志不畅、饮食不节,导致肝郁脾虚,肝脾玄府通利不及。气液壅遏,痰饮蓄积,痰湿郁滞久而化火,循阳明经络上熏头面。皮肤玄府怫郁,气血津液壅滞,流通不畅,发为粉刺、丘疹。患者可见皮肤油腻。痰湿内停血脉肌腠,则糖脂代谢紊乱,IGF-1水平升高,激素水平异常。因此,本病治宜和畅肝脾玄府,调气行津,清解郁火。当归、芍药、川芎为血分药,有和血养血舒肝的功用^[25];茯苓、白术、泽泻为气分药^[26],能利水、湿、饮之邪^[27],健脾渗湿。姜丽娟教授在当归芍药散疏调肝脾、调气行津基础上,加牡丹皮、郁金清解郁火,以及桑叶、黄芩、蒲公英、紫花地丁等开宣皮之郁热,除壅塞皮肤之热毒。当归芍药散能够通过干预过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR γ)-肝X受体(LXR α)-三磷酸腺苷(ATP)结合盒转运体A1(AB-CA1)通路减少肝脏脂质的沉积^[28]。桑叶提取物能够降低脂肪肝模型小鼠的血浆脂质浓度、空腹胰岛素含量,改善脂肪肝发展程度^[29-30]。黄芩^[31]和蒲公英^[32]能减轻炎症,抑制痤疮丙酸杆菌以改善痤疮。本研究结果显示,疏调健运消痤疮能抑制SZ95皮脂腺细胞IGF-1表达而降低SZ95皮脂腺细胞脂质生成。疏调健运消痤疮饮具有抑制SZ95皮脂腺细胞增殖的作用,可减少IGF-1诱导的SZ95皮脂腺细胞痤疮模型的脂滴积累。

主要作用机制是降低IGF-1 mRNA、IGF-1R mRNA及IGF-1、IGF-1R蛋白表达,抑制PI3K/Akt信号通路相关蛋白水平,增强抑脂调控因子FoxO1的表达水平,降低成脂因子SREBP1及AR水平,从而减少脂质的生成。

综上所述,疏调健运消痤疮饮可通过抑制IGF-1诱导的PI3K/Akt通路的激活,增强FoxO1转录,从而减少SZ95皮脂腺细胞的脂质分泌,以防止痤疮的发生。疏调健运消痤疮饮为中药复方,作用靶点较多且成分复杂。本研究尚未明确其发挥治疗作用的物质基础。此外,本研究未分析皮脂成分变化,对其他皮肤细胞是否有影响尚不明确。这些问题有待在后续研究中继续探索。

参考文献

- [1] CONG T X, HAO D, WEN X, et al. From pathogenesis of acne vulgaris to anti-acne agents[J]. Arch Dermatol Res, 2019, 311(5): 337-349.
- [2] CONFORTI C, AGOZZINO M, EMENDATO G, et al. Acne and diet: A review[J]. Int J Dermatol, 2022, 61(8): 930-934.
- [3] 韩美灵.痰湿型痤疮与糖、脂代谢及胰岛素样生长因子1的相关性研究[D].武汉:湖北中医药大学, 2018.
- [4] RAHAMAN S M A, DE D, HANDA S, et al. Association of insulin-like growth factor (IGF)-1 gene polymorphisms with plasma levels of IGF-1 and acne severity[J]. J Am Acad Dermatol, 2016, 75(4): 768-773.
- [5] 陈琰,任青玲,王华,等.益肾活血化痰汤对多囊卵巢综合征不孕伴胰岛素抵抗患者IGF-1、糖代谢及性激素的影响[J]. 中药材, 2019, 42(11): 2701-2705.
- [6] 王华曦.bFGF与IGF1对大鼠睾丸间质细胞再生及睾酮分泌影响的初步研究[D].广州:南方医科大学, 2014.
- [7] 陈红,孙文芳,马玉珍.内蒙古地区汉族多囊卵巢综合征患者不同雄激素状态糖脂代谢及卵泡液T与IGF-1水平的比较[J].西部医学, 2020, 32(8): 1202-1205.
- [8] 王荣珍,邹先彪.痤疮护理教育中饮食与生活习惯要点分析[J].中国中西医结合皮肤性病学期杂志, 2022, 21(4): 370-372.
- [9] 张欣然,吴与伦,林国晟,等.基于PI3K/Akt通路探讨健脾清化散瘀饮抑制IGF-1诱导GES-1细胞增殖[J].福建中医药, 2024, 55(5): 26-29.
- [10] 祝文轩,师全英,王向红,等.辣椒素与槲皮苷通过EGFR/PI3K/Akt信号通路调节HepG2细胞脂质代谢作用机制[J].食品科学, 2024, 45(10): 45-53.
- [11] CAMERA E, LUDOVICI M, TORTORELLA S, et al. Use of lipidomics to investigate sebum dysfunction in juvenile acne[J]. J Lipid Res, 2016, 57(6): 1051-1058.
- [12] KIM M K, CHOI S Y, BYUN H J, et al. Comparison of sebum secretion, skin type, pH in humans with and without acne[J]. Arch Dermatol Res, 2006, 298(3): 113-

- 119.
- [13] JIANG S, DONG B Q, PENG X Y, et al. 5-Amino-laevulinic acid-based photodynamic therapy suppresses lipid secretion by inducing mitochondrial stress and oxidative damage in sebocytes and ameliorates ear acne in mice[J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 140: 112795.
- [14] 王鸿, 邓永琼, 熊霞. 痤疮再认识[J]. *临床皮肤科杂志*, 2019, 48(12): 774-777.
- [15] 郑歆蕾. 益肾除痰汤治疗多囊卵巢综合征临床疗效及对血清TNF- α 、IGF-1、CRP水平的影响[J]. *四川中医*, 2021, 39(7): 159-162.
- [16] 朱梦迪, 杨杨. IGF-1和IGFBP-3在代谢性疾病中的研究[J]. *华中科技大学学报(医学版)*, 2022, 51(3): 437-442.
- [17] BEN-AMITAI D, LARON Z. Effect of insulin-like growth factor-1 deficiency or administration on the occurrence of acne[J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2011, 25(8): 950-954.
- [18] MELNIK B C. Acne transcriptomics: Fundamentals of acne pathogenesis and isotretinoin treatment[J]. *Cells*, 2023, 12(22): 2600.
- [19] MELNIK B C. The role of transcription factor FoxO1 in the pathogenesis of acne vulgaris and the mode of isotretinoin action[J]. *G Ital Dermatol Venereol*, 2010, 145(5): 559-571.
- [20] KAMEI Y, MIURA S, SUGANAMI T, et al. Regulation of SREBP1c gene expression in skeletal muscle: Role of retinoid X receptor/liver X receptor and forkhead-O1 transcription factor[J]. *Endocrinology*, 2008, 149(5): 2293-2305.
- [21] LEE G, KIM Y Y, JANG H, et al. SREBP1c-PARP1 axis tunes anti-senescence activity of adipocytes and ameliorates metabolic imbalance in obesity[J]. *Cell Metab*, 2022, 34(5): 702-718.e5.
- [22] SU Y T, ZOUBOULIS C C, CUI W, et al. Lactoferrin regulates sebogenesis and inflammation in SZ95 human sebocytes and mouse model of acne[J]. *J Cosmet Dermatol*, 2023, 22(4): 1361-1368.
- [23] MA Q P, FU W, LI P F, et al. FoxO1 mediates PTEN suppression of androgen receptor N- and C-terminal interactions and coactivator recruitment[J]. *Mol Endocrinol*, 2009, 23(2): 213-225.
- [24] FAN W Q, YANASE T, MORINAGA H, et al. Insulin-like growth factor 1/insulin signaling activates androgen signaling through direct interactions of Foxo1 with androgen receptor[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(10): 7329-7338.
- [25] 蒋珊珊, 庞俏燕, 王亚静, 等. 当归芍药散在妇科疾病中的运用[J]. *中医药导报*, 2020, 26(8): 79-81, 86.
- [26] 黄智超, 杨芳艳. 当归芍药散近10年研究综述[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2015, 17(8): 213-215.
- [27] 李鸿, 黎柳, 黄秋晴, 等. 当归芍药散古今源流及临床应用机制[J]. *世界中医药*, 2024, 19(16): 2448-2454.
- [28] PIAN X, TANG Y, SUN M S, et al. Danggui Shaoyao powder improves hepatic lipid metabolism in atherosclerosis mice via PPAR γ -LXR α -ABCA1 pathway regulation[J]. *Journal of Traditional Chinese Medical Sciences*, 2024, 11(2): 199-206.
- [29] XU J, WANG X J, CAO K, et al. Combination of β -glucan and *Morus alba* L. leaf extract promotes metabolic benefits in mice fed a high-fat diet[J]. *Nutrients*, 2017, 9(10): 1110.
- [30] 阴新负, 彭效明, 李翠清, 等. 桑叶生物碱和多糖的分离纯化研究进展[J]. *中医药导报*, 2016, 22(14): 108-110, 113.
- [31] 杨星哲. 黄芩苷治疗痤疮丙酸杆菌引起痤疮的分子机制研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2019.
- [32] 赵氏淳, 陶颖, 卢艺, 等. 金银花-蒲公英提取液不同相态主要成分含量测定及其对痤疮丙酸杆菌抑制作用的有效相态筛选[J]. *中草药*, 2024, 55(18): 6167-6173.

(收稿日期: 2024-10-06 编辑: 蒋凯彪)