

高油酸葵花籽油与油茶籽油的抗炎、抗刺激 及抗湿疹功效研究

程恒光, 方婷欢, 蒋 晴, 李晓霞, 蒋云杰, 唐礼荣

(杭州千岛湖天鑫有限公司, 杭州 311700)

摘要:旨在为油茶籽油与高油酸葵花籽油在化妆品中的应用提供数据支撑,通过体外3D表皮模型EpiKutis构建体外急性损伤及类湿疹表皮模型,以低温压榨高油酸葵花籽油和油茶籽油处理模型,检测其组织活力、炎症因子释放量、组织形态结构和胸腺基质淋巴细胞生成素(TSLP)含量,评价高油酸葵花籽油和油茶籽油的抗炎、抗刺激、抗湿疹功效。结果表明:高油酸葵花籽油与油茶籽油对模型组织活力均无显著影响;油茶籽油能显著降低模型炎症因子释放量,而高油酸葵花籽油不能显著降低模型炎症因子释放量;高油酸葵花籽油与油茶籽油对模型组织形态结构均有一定改善;高油酸葵花籽油与油茶籽油均能极显著降低模型TSLP含量。综上,油茶籽油与高油酸葵花籽油对皮肤刺激性炎症均具有一定的抑制和缓解作用,具有显著的抗湿疹功效;同时,油茶籽油对皮肤刺激性损伤具有一定的抑制和缓解作用。

关键词:高油酸葵花籽油;油茶籽油;湿疹;炎症;3D表皮模型

中图分类号:TS225.1;R285 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2024)10-0062-04

Anti-inflammatory, anti-irritation and anti-eczema effects of high oleic acid sunflower seed oil and oil-tea camellia seed oil

CHENG Hengguang, FANG Tinghuan, JIANG Qing, LI Xiaoxia,

JIANG Yunjie, TANG Lirong

(Hangzhou Qiandaohu Tianxin Co., Ltd., Hangzhou 311700, China)

Abstract: Aiming to provide data support for the application of oil-tea camellia seed oil and high oleic acid sunflower seed oil in cosmetics, 3D epidermal model EpiKutis was used to construct acute injury and eczema-like epidermal models *in vitro*, the models were treated by cold-pressed high oleic acid sunflower seed oil and oil-tea camellia seed oil, and the anti-inflammatory, anti-irritation and anti-eczema effects of high oleic acid sunflower seed oil and oil-tea camellia seed oil were evaluated by examining the tissue vitality, the release of inflammatory factors, the changes of tissue morphology and structure, and the content of thymus stromal lymphogenesis hormone (TSLP) of the models. The results showed that high oleic acid sunflower seed oil and oil-tea camellia seed oil had no significant effect on tissue vitality, oil-tea camellia seed oil could significantly reduce the release of inflammatory factors, but high oleic acid sunflower seed oil could not. High oleic acid sunflower seed oil and oil-tea camellia seed oil could improve tissue morphology and structure to some extent, and significantly reduce the content of TSLP. To sum up, both oil-tea camellia seed oil and high oleic acid sunflower seed oil have certain inhibition and relief effects on skin irritant inflammation, and have significant anti-eczema effects. At the same time, oil-tea camellia seed oil also has a certain inhibition and relief effect on skin

irritant damage.

Key words: high oleic acid sunflower seed oil; oil-tea camellia seed oil; eczema; inflammation; 3D epidermal model

收稿日期:2023-06-16;修回日期:2024-05-17

作者简介:程恒光(1990),男,工程师,硕士,研究方向为化妆品原料(E-mail)hengguangcheng@163.com。

通信作者:唐礼荣,主管药师(E-mail)404352575@qq.com。

油茶籽油,又名山茶油,主要脂肪酸为油酸,同时富含茶多酚、生育酚、角鲨烯等活性成分^[1]。高油酸葵花籽油脂肪酸组成与油茶籽油较为接近,目前在我国普及率并不高,主要作为食用油使用,其富含生育酚、角鲨烯、甾醇等活性成分^[1]。油酸为单不饱和脂肪酸,其氧化稳定性比亚油酸、亚麻酸高,茶多酚、生育酚、角鲨烯、甾醇均具有抗炎、抗氧化等功效^[2-6]。

外界环境状态是影响皮肤状态的一大因素,特别是对于婴幼儿,比如湿疹、尿布疹、特应性皮炎等^[7]均可由外界环境状态变化而引起。3D表皮模型 EpiKutis 采用中国人角质形成细胞,经组织工程专利技术培养而成,是目前国内首款实现产业化生产的皮肤测试模型,是皮肤生物学研究和化妆品体外功效性评价的有效工具^[8-10]。

本文采用体外 3D 表皮模型 EpiKutis 研究高油酸葵花籽油与油茶籽油的抗炎、抗刺激及抗湿疹功效,通过检测模型组织活力、炎症因子释放量、组织形态结构的变化来评价高油酸葵花籽油与油茶籽油的抗炎、抗刺激功效,通过检测特异性炎症因子胸腺基质淋巴细胞生成素(TSLP)来评价抗湿疹功效,以期高油酸葵花籽油与油茶籽油在化妆品中的应用提供数据支持。

1 材料与方法

1.1 实验材料

3D 表皮模型 EpiKutis(批号 ES200505)、皮肤模型专用(EpiGrowth)培养液,陕西博溪生物科技有限公司。低温压榨高油酸葵花籽油、低温压榨油茶籽油,市售;聚肌胞苷酸(Poly I:C)、脂多糖(LPS)、噻唑蓝(Thiazolyl blue, MTT),美国 Sigma-Aldrich 公司;磷酸盐缓冲液(PBS),北京索莱宝科技有限公司;十二烷基磺酸钠(SLS)、异丙醇,国药集团化学试剂有限公司;白介素 1 α (IL-1 α)酶联免疫吸附(ELISA)试剂盒、白介素 8(IL-8) ELISA 试剂盒,英国 Abcam 公司;胸腺基质淋巴细胞生成素(TSLP) ELISA 试剂盒,武汉博士德生物工程有限公司。

150i 型 CO₂ 培养箱,美国 Thermo Fisher Scientific 公司;SW-CJ-1F 型超净工作台,苏州净化设备有限公司;Epoch 型全波长酶标仪,美国 BioTek 公司;微量振荡器,海门市其林贝尔仪器制造有限公司;BX53 型正置显微镜,日本 Olympus 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 抗炎、抗刺激功效实验

参考文献[11],将正常的 3D 表皮模型转移至提前添加 0.9 mL EpiGrowth 培养液的 6 孔板中,分为空白对照组(BC)、阴性对照组(NC)、阳性对照组(PC)、样品测试组(油茶籽油组、高油酸葵花籽油组)。NC 组模型表面添加 25 μ L 质量分数 0.2% 的 SLS 溶液构建损伤模型,PC 组模型表面添加 12.5 μ L 质量分数 0.4% 的 SLS 溶液及 12.5 μ L 质量分数 0.01% 的地塞米松,样品测试组模型表面添加 12.5 μ L 质量分数 0.4% SLS 溶液和 12.5 μ L 各待测试样品,随后在 CO₂ 培养箱(37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂, 相对湿度 96%)中孵育 24 h,孵育结束后,无菌 PBS 清洗模型表面残留的受试物,无菌棉签拭去模型内外残留液体,随后采用 MTT 法进行组织活力检测,以 BC 组模型的组织活力值为 100% 计算其他各组模型的组织活力,采用 ELISA 试剂盒进行 IL-1 α 、IL-8 炎症因子的检测,采用 H&E 染色法进行组织形态检测。

1.2.2 抗湿疹功效实验

参考文献[11],将正常的 3D 表皮模型转移至提前添加 0.9 mL EpiGrowth 培养液的 6 孔板中,分为空白对照组(BC)、阴性对照组(NC)、阳性对照组(PC)、样品测试组(油茶籽油组、高油酸葵花籽油组)。NC 组模型表面添加 25 μ L 24 μ g/mL Poly I:C 和 20 μ g/mL LPS 溶液构建类湿疹模型,PC 组模型表面添加 12.5 μ L 48 μ g/mL Poly I:C 和 40 μ g/mL LPS 溶液及 12.5 μ L 质量分数 0.01% 的地塞米松,样品测试组模型表面添加 12.5 μ L 48 μ g/mL Poly I:C 和 40 μ g/mL LPS 溶液和各待测试样品,随后在 CO₂ 培养箱(37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂, 相对湿度 96%)中孵育 24 h,孵育结束后,无菌 PBS 清洗模型表面残留的受试物,无菌棉签拭去模型内外残留液体,采用 ELISA 试剂盒检测 TSLP 含量。

1.2.3 数据处理

每组测试重复 3 次,结果以“平均值 \pm 标准差”表示,组间统计学差异采用 SPSS 26 进行 *t* 检验或 ANOVA 分析,以 $p > 0.05$ 为无显著性差异, $p < 0.05$ 及 $p < 0.01$ 为有显著性和极显著性差异。

2 结果与分析

2.1 抗炎、抗刺激功效实验结果

表 1、表 2 分别为 5 个组别 3D 表皮模型的组织活力及炎症因子检测结果,图 1 为组织形态检测结果。

从表 1 可以看出,与 BC 组相比,NC 组模型的

组织活力极显著下降,说明本次实验刺激条件有效。与 NC 组相比,PC 组模型的组织活力显著上升,说明本次阳性对照检测有效。与 NC 组相比,高油酸葵花籽油与油茶籽油对模型的组织活力均无显著影响。

表 1 5 个组别 3D 表皮模型的组织活力检测结果
Table 1 Tissue vitality of 3D epidermal model of five groups

组别	组织活力平均值/%
BC 组	100.00 ± 7.53
NC 组	62.89 ± 5.50 ^{##}
PC 组	72.01 ± 0.44 [*]
油茶籽油组	74.78 ± 8.92
高油酸葵花籽油组	66.62 ± 11.61

注:与 BC 组相比,# 表示 $p < 0.05$,## 表示 $p < 0.01$;与 NC 组相比,* 表示 $p < 0.05$,** 表示 $p < 0.01$ 。下同

Note: Compared with BC group ($p < 0.05$), # $p < 0.01$; Compared with NC group, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$. The same below

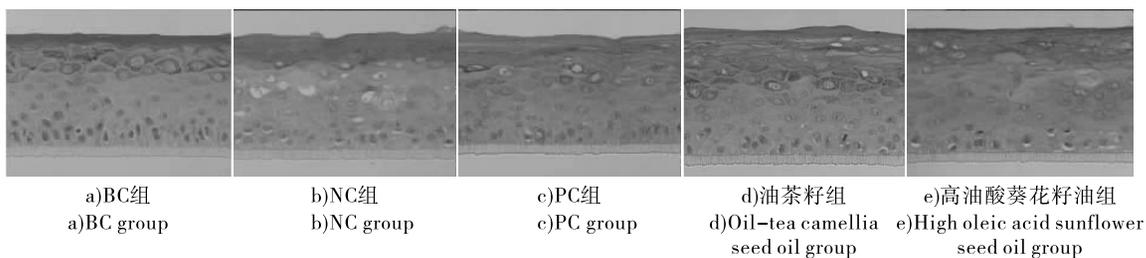


图 1 5 个组织 3D 表皮模型的组织形态

Fig. 1 Tissue morphology of 3D epidermal model of five groups

从图 1 可看出,与 BC 组相比,NC 组模型角质层疏松增厚,活细胞层受损、有空泡出现,说明 SLS 刺激条件有效。与 NC 组相比,PC 组模型四层结构边界清晰,活细胞层细胞排列紧凑,角质层疏松增厚现象明显改善,说明阳性对照检测有效。与 NC 组相比,油茶籽油与高油酸葵花籽油组模型空泡明显减少,活细胞层受损情况有一定改善。

综合各指标检测结果认为:油茶籽油可显著降低炎症因子释放量、明显改善组织形态,即对 SLS 引发的表皮模型刺激性损伤以及炎症均具有一定的抑制和缓解作用;高油酸葵花籽油仅能明显改善组织形态,即对 SLS 引发的皮肤刺激性炎症具有一定的抑制以及缓解作用。

2.2 抗湿疹功效实验结果

TSLP 可以通过直接刺激皮肤感觉神经纤维形成瘙痒感觉,TSLP 表达水平与瘙痒强度、皮损面积呈正相关,其可以作为判断湿疹患者病情活动性及

表 2 5 个组别 3D 表皮模型 IL-1 α 和 IL-8 含量
Table 2 Contents of IL-1 α and IL-8 in 3D epidermal model of five groups

组别	IL-1 α 含量	IL-8 含量
BC 组	1.94 ± 0.07	7.02 ± 1.52
NC 组	12.32 ± 0.20 ^{##}	44.25 ± 1.64 ^{##}
PC 组	8.33 ± 0.06 ^{**}	17.51 ± 6.54 ^{**}
油茶籽油组	10.83 ± 0.67 [*]	28.66 ± 1.94 ^{**}
高油酸葵花籽油组	12.95 ± 0.39	37.96 ± 8.57

IL-1 α 表示促炎因子释放量,表征抗炎功效,数值越小,代表抗炎效果越好;IL-8 主要表示参与脓疱形成的炎症因子释放量,表征抗炎功效,数值越小,代表抗炎效果越好^[12-13]。从表 2 可看出:与 BC 组相比,NC 组模型的 IL-1 α 、IL-8 含量极显著升高,说明本次实验刺激条件有效;与 NC 组相比,PC 组模型的 IL-1 α 、IL-8 含量极显著下降,表明本次阳性对照检测有效;与 NC 组相比,油茶籽油组模型的 IL-1 α 、IL-8 含量显著或极显著下降,高油酸葵花籽油组模型的 IL-1 α 、IL-8 含量并未显著下降。

病情严重程度的指标^[14-15]。

表 3 为 5 个组别 3D 表皮模型的 TSLP 含量。

表 3 5 个组别 3D 表皮模型的 TSLP 含量

组别	TSLP 含量/(pg/mL)
BC 组	20.36 ± 1.13
NC 组	270.24 ± 17.69 ^{##}
PC 组	208.96 ± 7.66 ^{**}
油茶籽油组	174.00 ± 12.57 ^{**}
高油酸葵花籽油组	173.20 ± 20.03 ^{**}

从表 3 可以看出,与 BC 组相比,NC 组模型的 TSLP 含量极显著升高,说明本次实验刺激条件有效。与 NC 组相比,PC 组模型的 TSLP 含量极显著下降,说明本次阳性对照检测有效。与 NC 组相比,油茶籽油与高油酸葵花籽油组模型的 TSLP 含量极显著下降。因此,油茶籽油与高油酸葵花籽油均具有显著的抗湿疹功效。

3 结论

本文选取地塞米松作为阳性对照,采用油茶籽油与高油酸葵花籽油对体外皮肤模型进行抗炎、抗刺激、抗湿疹功效研究,初步得出以下结论:高油酸葵花籽油与油茶籽油对炎症引起的瘙痒、特异性皮炎、湿疹等均有一定抑制和缓解作用,同时油茶籽油对炎症引起的损伤也有一定抑制和缓解作用。本研究为油茶籽油与高油酸葵花籽油在化妆品中的应用提供了数据支撑,进一步扩大了油茶籽油与高油酸葵花籽油的应用范围。

参考文献:

- [1] 程恒光,郭春景,董全喜. 高油酸葵花籽油与油茶籽油脂肪酸组成、营养成分及氧化稳定性比较[J]. 中国油脂, 2021, 46(12): 123-126.
- [2] 兰念念,刘睿杰,常明,等. 油茶籽油的抗炎活性研究[J]. 中国油脂, 2018, 43(8): 84-88.
- [3] 姚小华,朱亚新. 山茶籽油的功效及应用[J]. 香料香精化妆品, 2018(5): 74-78.
- [4] 马力,陈永忠. 茶油的功能特性分析[J]. 中国农学通报, 2009, 25(8): 82-84.
- [5] 孙梦瑶,曹清明,裴小芳,等. 油茶籽油药理及产品开发生的研究进展[J]. 农产品加工, 2021(16): 63-68.
- [6] 胡超,杨陈,黄凤洪. 葵花籽活性成分及生理功能研究进展[J]. 中国食物与营养, 2017, 23(10): 58-62.
- [7] 高莹,鲁楠,职蕾蕾,等. 婴幼儿皮肤结构和生理特征的研究进展[J]. 中国美容医学, 2015, 24(3): 77-80.
- [8] 李潇,张晓娥,卢永波,等. 化妆品功效评价(VIII): 3D皮肤模型在化妆品功效评价中的应用[J]. 日用化学工业, 2018, 48(9): 489-494, 510.
- [9] 陈来成,万洁,杨荣鑫,等. Epikutis 模型替代法研究大麻叶提取物的抗炎修复功效[J]. 日用化学品科学, 2020, 43(11): 12-15, 22.
- [10] MONTERO P, MILARA J, PÉREZ - LEAL M, et al. Paclitaxel - induced epidermal alterations; An *in vitro* preclinical assessment in primary keratinocytes and in a 3D epidermis model [J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(3): 1142 [2023-06-16]. <https://doi.org/10.3390/ijms23031142>.
- [11] 李文昭,蒋晴,唐礼荣. 含山茶油保湿乳抗湿疹、抗炎症的体外研究[J]. 香料香精化妆品, 2022(5): 113-117, 129.
- [12] 周春蕾,顾军. 白介素-1和银屑病[J]. 临床皮肤科杂志, 2003, 32(6): 365-367.
- [13] 贾淑青,方锐华. 姜黄素对小鼠寻常型银屑病模型 TNF- α 、IL-6 和 IL-8 表达的影响[J]. 皮肤病与性病, 2017, 39(4): 235-237.
- [14] 柯美玲,余维华,蔡涛,等. Periostin/TSLP 在慢性瘙痒患者皮肤组织中的表达研究[J]. 重庆医科大学学报, 2018(18): 1116-1120.
- [15] 李伟源. 湿疹患者血清中 TSLP、IL-10 的检测及其临床相关性研究[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2016.
- (上接第 65 页)
- [70] 帖余,李丽,刘军,等. 菌酶协同处理对发酵菜粕的影响[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(17): 117-122.
- [71] 叶国栋,潘婉莲,柯婉,等. 菌酶协同下的低温压榨菜籽粕抗氧化肽制备工艺研究[J]. 食品工业科技, 2018, 39(2): 134-140.
- [72] 赵娜,魏金涛,李绍章,等. 酶解发酵工艺对菜籽粕饲用品质的影响[J]. 饲料研究, 2014(21): 83-85.
- [73] 朱晓峰. 纤维降解酶与乳酸杆菌协同发酵改善菜籽粕营养价值研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2020.
- [74] RAKARIYATHAM N, SAKORN P. Biodegradation of glucosinolates in brown mustard seed meal (*Brassica juncea*) by *Aspergillus* sp. NR-4201 in liquid and solid-state cultures [J]. *Biodegradation*, 2002, 13(6): 395-399.
- [75] 王晓东,胡海滨,麦康森,等. 土壤中单宁和植酸降解菌的筛选、鉴定及液态发酵研究[J]. 水产学报, 2016, 40(10): 1634-1642.
- [76] 鞠兴荣,金晶,王立峰,等. 液态发酵法制备菜籽 ACE 抑制肽发酵条件优化[J]. 中国粮油学报, 2011, 26(1): 96-101.
- [77] COUTO S R, SANROMÁN M Á. Application of solid-state fermentation to food industry: A review [J]. *J Food Eng*, 2006, 76(3): 291-302.
- [78] LIZARDI - JIMÉNEZ M A, HERNÁNDEZ - MARTÍNEZ R. Solid state fermentation (SSF): Diversity of applications to valorize waste and biomass [J/OL]. *3 Biotech*, 2017, 7(1): 44 [2023-06-07]. <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0692-y>.
- [79] FERREIRA M, FERNANDES H, PERES H, et al. Bio-enrichment of oilseed cakes by *Mortierella alpina* under solid-state fermentation [J/OL]. *LWT - Food Sci Technol*, 2020, 134: 109981 [2023-06-07]. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109981>.