

方酸二丁酯诱导小鼠过敏性接触性皮炎及其炎症分型

倪曼婷¹ 范立民² 农秀雨¹ 陈曦¹ 王家欣¹ 吴瑜丹¹ 陶爱林¹ 刘雪婷^{1*}

(¹广州医科大学附属第二医院, 广东省过敏反应与免疫重点实验室, 呼吸疾病国家重点实验室变态反应研究室, 广州 510000; ²南方医科大学皮肤病医院, 广州 510000)

摘要 该研究旨在探讨方酸二丁酯(squaric acid dibutyl ester, SADBE)诱导的小鼠过敏性接触性皮炎(allergic contact dermatitis, ACD)模型的内在炎症特征, 探索其潜在的分子机制, 为ACD的精准诊断和治疗提供理论依据。采用SADBE诱导C57BL/6小鼠建立ACD模型。通过观察皮肤情况、抓痒行为并进行组织病理分析(H&E染色和甲苯胺蓝染色)以及免疫荧光染色和多因子细胞因子检测, 评估ACD模型的炎症情况。ACD模型小鼠在SADBE激发后表现出显著的皮肤损伤及强烈的搔抓行为; 病理分析显示, 模型组小鼠的皮肤表皮显著增厚, 炎症细胞浸润水平显著增加, 肥大细胞增多; 免疫荧光染色显示, CD3⁺ T细胞、F4/80⁺巨噬细胞、S100A9⁺和MPO⁺中性粒细胞显著增多; 多因子检测结果表明, ACD模型小鼠的皮肤组织中IL-1 β 、IL-4、IL-12P70、IFN- γ 和GM-CSF水平均显著升高, 提示促炎细胞因子在ACD的免疫反应中起重要作用。SADBE诱导的小鼠模型呈现典型的过敏性接触性皮炎表型, 为Th1型与Th2型混合型炎症反应。

关键词 过敏性接触性皮炎(ACD); 搔痒; 中性粒细胞; Th1-Th2平衡

Study on SADBE-Induced Allergic Contact Dermatitis and Its Inflammatory Typing

NI Manting¹, FAN Limin², NONG Xiuyu¹, CHEN Xi¹, WANG Jiabin¹, WU Yudan¹, TAO Ailin¹, LIU Xueting^{1*}

(¹The Second Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangdong Province Key Laboratory of Allergy & Clinical Immunology, Allergy Research Branch of the State Key Laboratory of Respiratory Disease, Guangzhou 510000, China;

²Dermatology Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510000, China)

Abstract This study aims to explore the intrinsic inflammatory characteristics of the mouse allergic contact dermatitis ACD (allergic contact dermatitis) model induced by SADBE (squaric acid dibutyl ester) and its potential molecular mechanisms, with a view to provide a theory for the precise diagnosis and treatment of ACD. The ACD model was established in C57BL/6 mice through SADBE induction. The inflammatory of ACD model was evaluated by observing skin, scratching behavior, histopathological analysis (H&E staining and toluidine blue staining), immunofluorescence staining, and multifactor cytokine detection. ACD model mice showed significant skin damage and intense scratching behavior after SADBE treatment. Pathological analysis showed increased epidermal thickness. More inflammatory cells, especially mast cells, were infiltrated in dermis. Immunofluorescence staining

收稿日期: 2025-01-24

接受日期: 2025-03-23

国家自然科学基金(批准号: 82371797、82171764)、广东省自然科学基金(批准号: 2023A1515012484)、广州市科信局市校(院)联合资助(高水平大学)基础研究项目(批准号: 2024A03J0942)和国家科技创新2030重大项目(批准号: 2023ZD0406303)资助的课题

*通信作者: Tel: 13512704294, E-mail: liuxueting@gzhmu.edu.cn

Received: January 24, 2025

Accepted: March 23, 2025

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.82371797, 82171764), the Natural Science Foundation of Guangdong Province (Grant No.2023A1515012484), the Guangzhou Municipal Science and Technology Bureau Municipal University (Hospital) Joint Funding Program for High-Level University Basic Research Project (Grant No.2024A03J0942), and the National Science and Technology Innovation 2030 Major Projects (Grant No.2023ZD0406303)

*Corresponding author. Tel: +86-13512704294, E-mail: liuxueting@gzhmu.edu.cn

showed CD3⁺ T cells, F4/80⁺ macrophages, S100A9⁺ neutrophils and MPO⁺ neutrophils increased significantly. Multiplex Luminex assay results showed that the levels of IL-1 β , IL-4, IL-12P70, IFN- γ and GM-CSF in the skin tissue of ACD model mice were significantly increased, suggesting proinflammatory cytokines play important roles in the immune response to ACD. The SADBE-induced ACD presents a mixed Th1 and Th2 inflammatory response.

Keywords ACD (allergic contact dermatitis); pruritus; neutrophil; Th1-Th2 balance

过敏性接触性皮炎 (allergic contact dermatitis, ACD)是由皮肤反复和直接暴露于接触性过敏原引起的一种常见的炎症性皮肤病^[1]。任何年龄段的人都可能受到ACD的影响,相比正常人,自童年起患有湿疹的人更容易患上ACD^[2]。生活中常见的接触性过敏原包括化纤衣物、染发剂、化妆品、药物、橡胶材料、塑料制品等,临床表现为过敏后接触过敏原导致瘙痒、红斑和斑片状皮疹,有时伴有水泡或渗出液体。

方酸二丁酯(squaric acid dibutyl ester, SADBE)是一种局部免疫治疗剂,用于治疗寻常疣和斑秃。SADBE局部免疫治疗可诱发病体超敏反应,从而引起局部免疫应答。治疗斑秃时,SADBE主要通过降低CD4⁺/CD8⁺淋巴细胞值以及抑制抗原竞争来发挥作用,并且产生抑制性T细胞以减轻对生长期毛囊的自身免疫反应^[3]。在治疗过程中,局部使用高致敏剂量的SADBE可导致严重的ACD,降低患者治疗依从性,进而严重影响患者的生活质量与治疗效果。近年来SADBE常被用作小鼠的ACD模型诱导剂^[4-5],在研究ACD方面具有重要意义,对SADBE诱导的ACD的深入研究有助于开发更精准的诊断方法和治疗策略。

研究疾病在细胞、分子生物学层面的炎症分型,有助于临床根据不同发病机制来制定精准个体化治疗策略。本研究通过SADBE诱导C57BL/6小鼠建立ACD动物模型,结合抓挠行为学,采用H&E染色、甲苯胺蓝染色以及免疫荧光分析免疫细胞浸润情况,并通过皮肤和脾脏多因子检测结果分析ACD动物模型中细胞因子分泌水平,从而探究SADBE诱导的ACD模型特征及其内在炎症机制。

1 材料与方法

1.1 动物与试剂

1.1.1 动物 8周龄雄性SPF级C57BL/6品系小鼠购于珠海百试通生物科技有限公司(动物批号:44822700047348)。在SPF级环境下饲养小鼠,温度

光照适宜,所用饲料和蒸馏水均为SPF级。所开展的动物实验均通过广州医科大学附属第二医院实验动物福利伦理委员会的审核批准(伦理审查号:A2022-044)。

1.1.2 试剂 实验试剂包括:SADBE(Sigma, Cat No.339792)以丙酮配成1%溶液;以及CD3抗体(Abcam, Cat No.ab5690)、F4/80抗体(Cell Signaling Technology, Cat No.70076)、髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)抗体(Abcam, Cat No.ab9535)、S100A9抗体(Cell Signaling Technology, Cat No.73425)、二抗(ThermoFisher Scientific, goat anti-rabbit IgG 555, Cat No.A32732)、DAPI(ThermoFisher Scientific, Cat No.D3571)、Multiplex Luminex assay试剂盒(Invitrogen, Cat No.PPX-20)。

1.2 小鼠ACD模型的建立

参考文献[4]方法建立小鼠的ACD模型。对小鼠进行适应性饲养7天,饲养环境保持一致,随后将其随机分为两组:对照组与SADBE处理组,每组均6只小鼠。在造模操作前2天,对小鼠颈背部及腹部区域进行剃毛处理,以确保皮肤充分暴露面积约为2 cm $\times$ 3 cm,便于后续实验操作。将20 μ L 1% SADBE丙酮溶液局部点涂在模型组剃光的腹部皮肤上,每天1次,连续3天,使小鼠致敏,休息5天后,在模型组颈背部皮肤及耳后点涂20 μ L 1% SADBE丙酮溶液进行激发,每天1次,连续3天。对照(Control)组则单独使用丙酮作为载体对照,时间频率及部位与模型组相同。

1.3 实验方法

1.3.1 皮肤损伤表现 观察小鼠颈背部皮肤的炎症情况,如红斑、皮屑、结痂等,比较对照组与SADBE组的差别并拍照记录。

1.3.2 痒行为学观察 在小鼠激发3天后,通过观察记录60 min内后爪抓挠次数来量化抓挠行为,根据量化结果判断小鼠的瘙痒表型及严重程度。将小鼠单独放入透明观察笼,在安静、明亮的环境下持

续拍摄记录小鼠 60 min 的行为活动,以后爪抬起抓挠造模部位后放下记为1次抓挠行为,由不明分组的人员回看录像进行行为学观察及抓挠次数的统计。

1.3.3 皮肤组织病理 无菌条件下从小鼠颈背部取皮肤组织样本,将其浸泡在4%多聚甲醛中于4℃过夜固定。完成固定步骤后,用浓度逐渐递增(30%、50%、70%、80%、90%、100%)的乙醇对皮肤组织进行梯度脱水处理,脱水后将组织置于二甲苯溶液中,以达到使组织透明的目的。将透明组织包埋于石蜡中制成蜡块并进行切片。切片经过H&E染色和甲苯胺蓝染色程序后封片处理,镜下观察并拍照记录。通过ImageJ分析软件来分析H&E染色结果并定量,比较皮肤厚度和炎症细胞浸润数量;分析甲苯胺蓝染色结果,统计紫色颗粒着色细胞数量,从而判断肥大细胞浸润情况。

1.3.4 免疫荧光 石蜡包埋的皮肤组织用切片机制片(4 μm),贴于载玻片上并烤片(60℃、30 min)使两者结合更为牢固;脱蜡,用TO生物制剂浸泡2次,每次10 min;乙醇梯度复水,用乙醇由高到低的浓度(100%×2、95%、80%、70%)每次浸泡5 min,用去离子水浸泡5 min;抗原修复用pH=6的0.1 mol/L柠檬酸钠修复液微波加热4 min,低火加热20 min;冷却后甩干擦掉水滴画出疏水圈,用PBST漂洗5 min,3次,3%山羊血清室温封闭30 min;室温孵育一抗(1:1 000)过夜;PBST漂洗5 min,3次,避光室温孵育二抗(1:2 000) 60~90 min;PBST避光漂洗5 min,3次;室温DAPI染色5~10 min;PBST漂洗5 min,3次;封片剂封片,LSM880激光共聚焦显微镜拍照,ImageJ软件计数阳性细胞数量。

1.3.5 皮肤及脾脏多因子检测 提前剪碎皮肤或脾脏组织并预冷冻研磨仪,配制含蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂的组织裂解液,混匀后每管研磨管分装1 mL。将剪碎的组织转移至研磨管,加入研磨珠,用冷冻研磨仪进行组织匀浆后置于冰上,用超声仪进一步破碎组织细胞。匀浆后样品在6 500 ×g、4℃条件下离心10 min,取上清液,BCA法测浓度,根据Multiplex Luminex assay试剂盒中提供的操作说明书进行后续的细胞因子表达水平的检测。

1.4 统计学处理

实验数据均采用GraphPad Prism 8.0版软件进行统计学分析,以均数±标准差表示结果,当需要对对照组与模型组两者之间进行比较分析时采用两样本 t 检验;当需要进行不同时间点的结果分析时采用单因素方差分析。当 $P<0.05$ 时认为具有统计学意义。另外,图片也使用GraphPad Prism 8.0版软件制作。

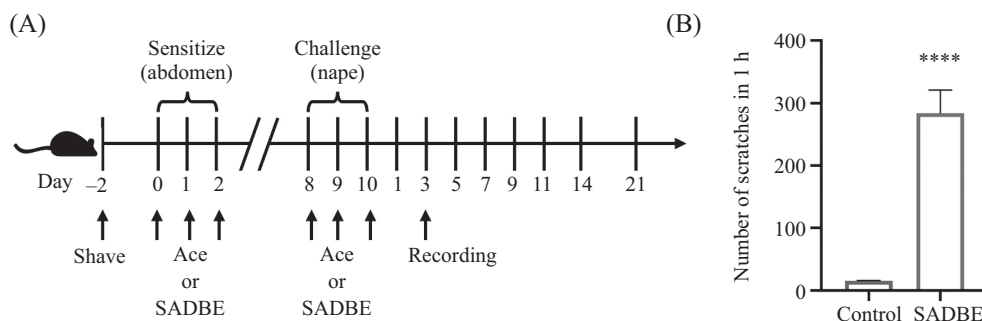
2 结果

2.1 SADBE诱发小鼠ACD模型的搔抓行为学

连续激发3天后,进行搔抓行为学观察录像(图1A)。将统计的小鼠后爪抓挠颈背部的次数作为瘙痒指标,以此判断小鼠ACD模型的瘙痒程度。瘙痒行为学结果显示,在激发后小鼠搔抓次数显著多于对照组(图1B),在第9天SADBE造模组小鼠抓挠次数平均1 h可达284次($t=7.244$, $P<0.000 1$)。

2.2 局部皮肤损伤表现

使用1% SADBE在颈背部激发后,SADBE造模组小鼠颈背部皮肤出现干燥、红斑、掉屑、结痂、脱痂等皮肤损伤改变。对照组小鼠皮肤则呈现正常



A: 小鼠ACD模型的造模流程图; B: SADBE造模组小鼠的抓痒行为表现。Ace: 丙酮。n=6, **** $P<0.000 1$, 与对照组比较。

A: schematic experimental protocol of ACD model; B: pruritic behavior in SADBE group mice. Ace: acetone. n=6, **** $P<0.000 1$ compared with Control group.

图1 SADBE诱导小鼠ACD模型
Fig.1 SADBE induced ACD model in mice

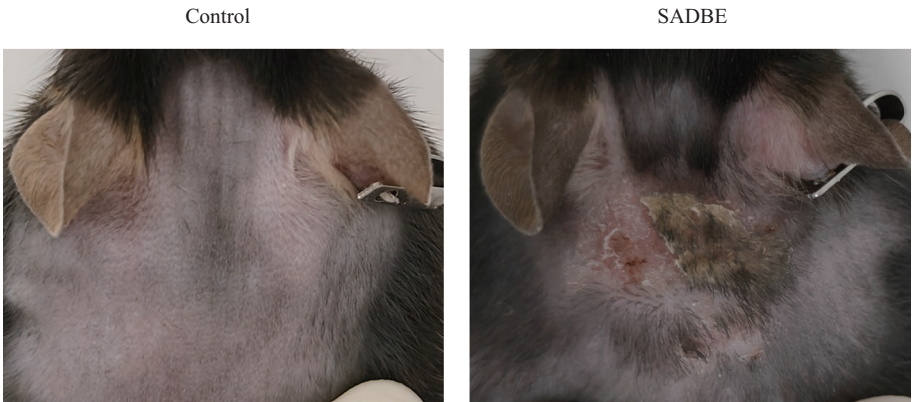


图2 SADBE造模组和对照组小鼠颈背部皮肤照片
Fig.2 Photos of nape skin in Control and SADBE groups mice

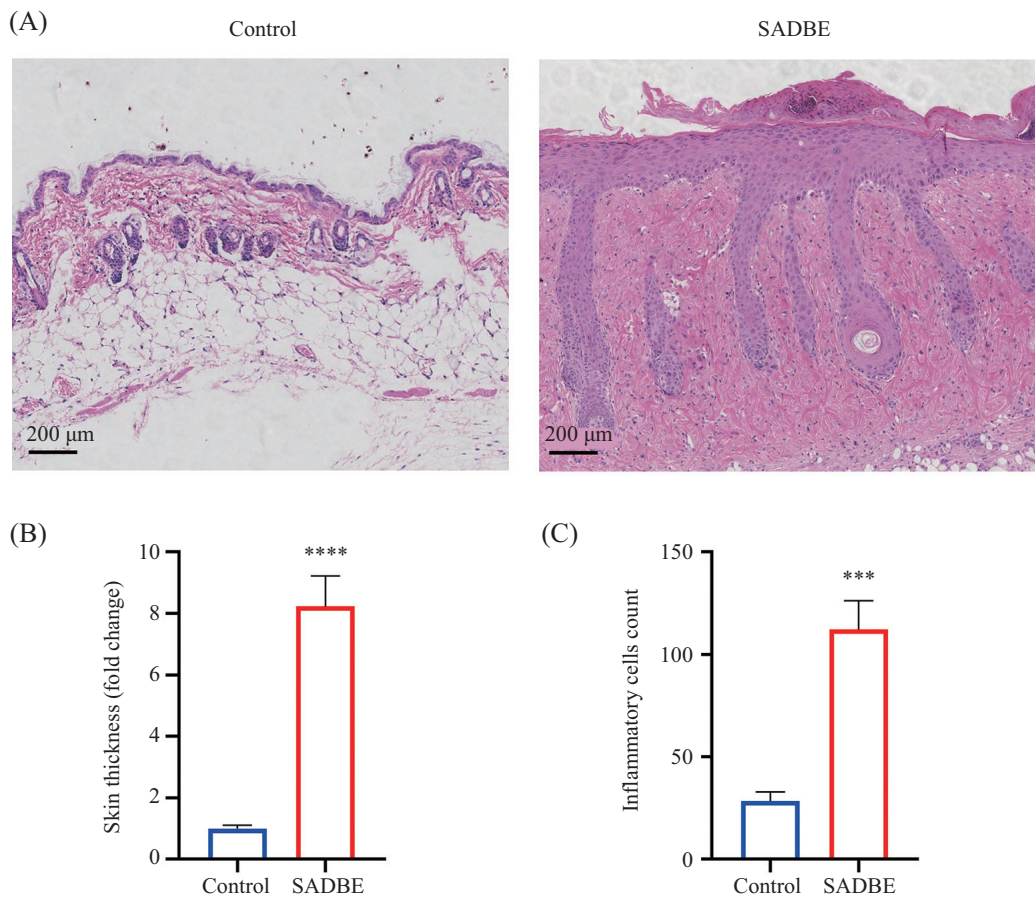


图3 对照组与SADBE造模组小鼠皮肤的H&E染色及定量分析结果
Fig.3 H&E staining and quantitative analysis results of skin in Control and SADBE groups mice

健康的状态,无红斑脱屑等表现(图2)。

2.3 皮肤组织病理改变

在 SADBE 诱导的模型组小鼠颈背部皮肤进行

H&E染色后结果(图 3A)显示:表皮显著增厚,伴有角化过度或角化不完全的现象,真皮层中浸润大量炎症细胞;相比之下,对照组小鼠颈背部皮肤组织

病理未观察到任何异常改变。用ImageJ软件对表皮相对厚度进行分析所得结果可见, SADBE造模组表皮厚度显著增加($t=7.248$, $P<0.0001$), 相比对照组, SADBE造模组表皮厚度增厚了8.23倍(图3B)。用ImageJ软件分析炎症细胞浸润数量, 结果显示SADBE造模组颈背部皮肤组织中炎症细胞数量显著高于对照组小鼠($t=5.673$, $P=0.0005$, 图3C)。以上结果说明SADBE造模组小鼠皮肤组织发生明显的炎症性改变, 有大量的浸润细胞。

2.4 肥大细胞计数

甲苯胺蓝结果显示, 相比对照组小鼠, SADBE造模组颈背部造模部位皮肤组织真皮层炎症细胞浸润明显, 且存在大量肥大细胞($t=5.798$, $P=0.0004$, 图4B)。肥大细胞呈圆形或椭圆形的蓝紫色颗粒, 均匀散布于皮肤组织中(图4A), 提示ACD模型的瘙痒和炎症反应与肥大细胞脱颗粒诱发的变态反应相关。

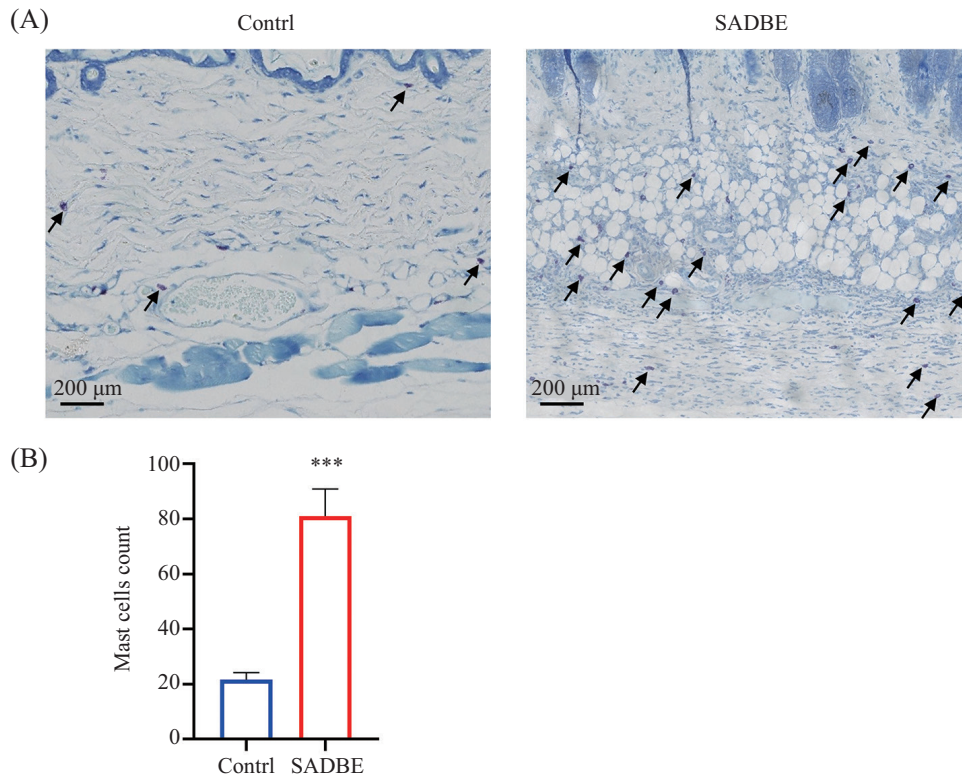
2.5 免疫荧光分析炎症细胞浸润情况

ImageJ软件分析免疫荧光染色结果, 计数染

色阳性细胞结果显示, 与对照组相比, 皮肤组织中CD3⁺ T细胞数目在SADBE激发后的第3天显著增多($t=5.727$, $P<0.0001$)并且增多持续至第21天($t=8.218$, $P<0.0001$, 图5A和图5B)。F4/80标记的巨噬细胞数目在SADBE激发后也显著增多(图5C)。MPO($t=4.885$, $P=0.0012$)和S100A9($t=11.42$, $P<0.0001$)分别标记的中性粒细胞数目也都在SADBE激发后第3天显著增多, 但MPO⁺的中性粒细胞数目减少, 且至第7天时与对照组相比没有差异(图5A、图5D和图5E)。以上结果表明MPO⁺中性粒细胞、S100A9⁺中性粒细胞、F4/80⁺巨噬细胞和CD3⁺ T细胞在SADBE引起的ACD疾病中发挥重要作用。

2.6 皮肤及脾脏的细胞因子水平

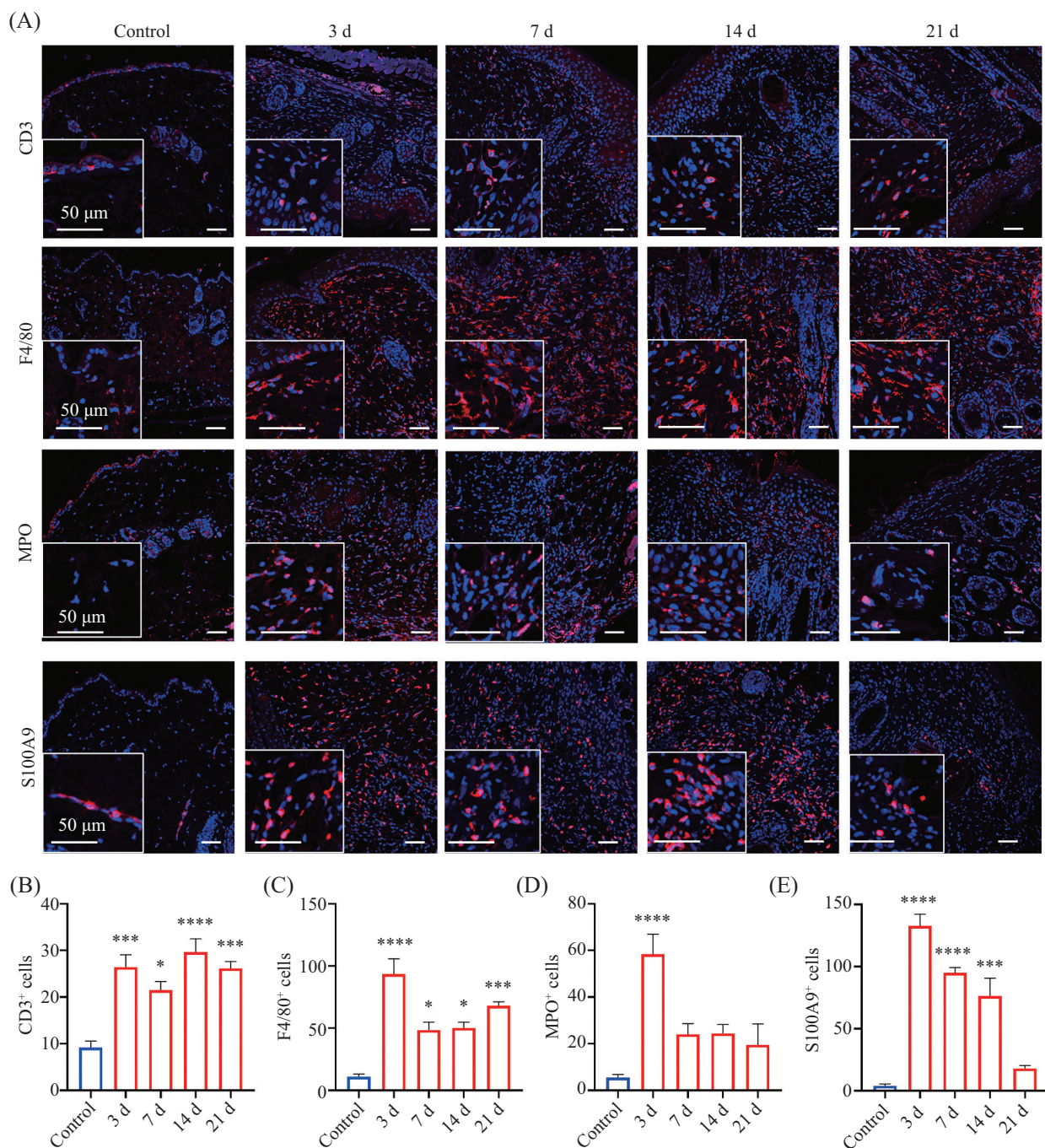
检测皮肤组织匀浆和脾脏组织匀浆中细胞因子的表达, 发现皮肤组织中IL-1 β ($t=4.839$, $P=0.0084$)、IL-4($t=5.195$, $P=0.0065$)、IL-12P70($t=2.884$, $P=0.0448$)、IFN- γ ($t=4.046$, $P=0.0155$)、GM-CSF($t=3.207$, $P=0.0327$)表达量都显著增加(图6)。



A: 小鼠皮肤样本的甲苯胺蓝染色结果对比; B: 对甲苯胺蓝染色进行肥大细胞计数分析; 箭头指示肥大细胞。 $n=6$, *** $P<0.001$, 与对照组比较。
A: comparison of toluidine blue staining results of mice skin samples; B: mast cells counting of toluidine blue staining; and arrows indicate the mast cell.
 $n=6$, *** $P<0.001$ compared with Control group.

图4 对照组与SADBE造模组小鼠皮肤的甲苯胺蓝染色及定量分析结果

Fig.4 Toluidine blue staining and quantitative analysis results of mice skin in Control and SADBE groups mice



A: 对照组与SADBE造模组小鼠皮肤的免疫荧光染色结果; B-E: 免疫荧光染色中的阳性细胞的定量分析。n=6, * $P<0.05$, *** $P<0.001$, **** $P<0.0001$, 与对照组比较。

A: immunofluorescence staining in the skin of Control and SADBE groups mice; B-E: quantitative analysis results of positive cells in immunofluorescence staining. n=6, * $P<0.05$, *** $P<0.001$, **** $P<0.0001$ compared with Control group.

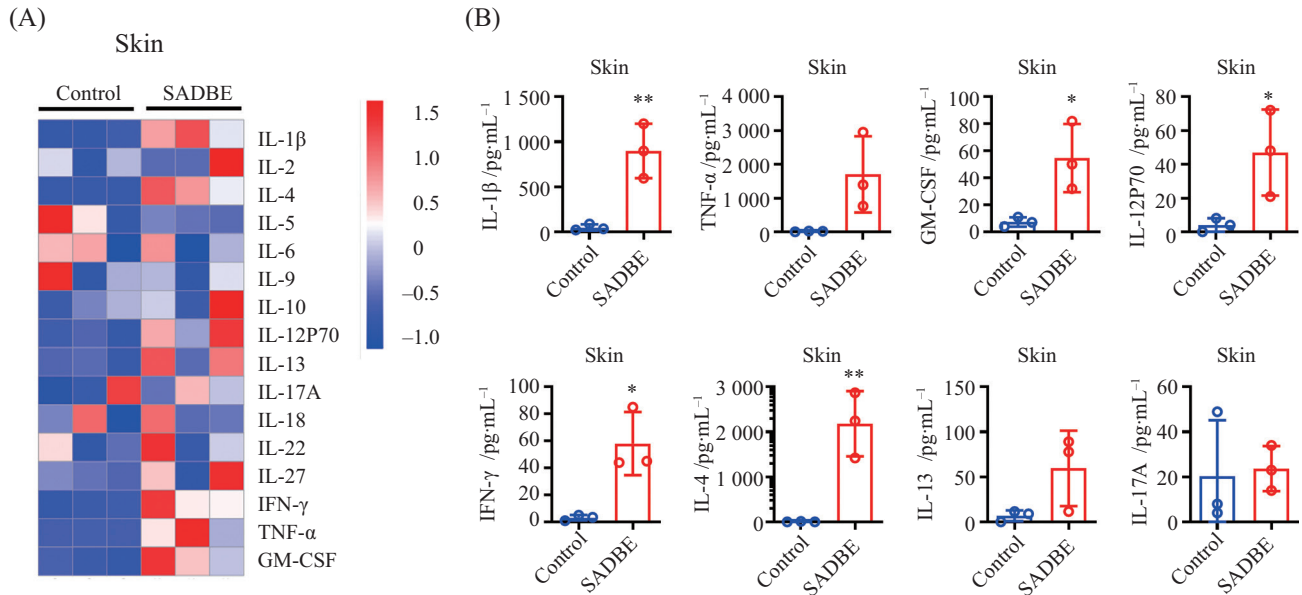
图5 对照组与SADBE造模组小鼠皮肤的炎症细胞浸润及定量分析

Fig.5 Inflammatory cell infiltration and quantitative analysis results in the skin of Control and SADBE groups mice

脾脏组织中IL-1 β ($t=2.716$, $P=0.0348$)、IL-6($t=5.277$, $P=0.0019$)、IFN- γ ($t=2.567$, $P=0.0425$)、TNF- α ($t=5.805$, $P=0.0011$)表达水平显著升高, IL-13和GM-CSF的表达水平也有升高的趋势(图7)。这些结果提示Th1型和Th2型细胞因子在ACD中发挥重要作用。

3 讨论

过敏性接触性皮炎(ACD)是一种IV型迟发性过敏反应,是由T细胞介导的皮肤炎症反应^[6]。当皮肤反复接触过敏原,如化纤衣物、化妆品、药物等时,它们就会引起皮肤炎症反应,ACD是全球最常见的

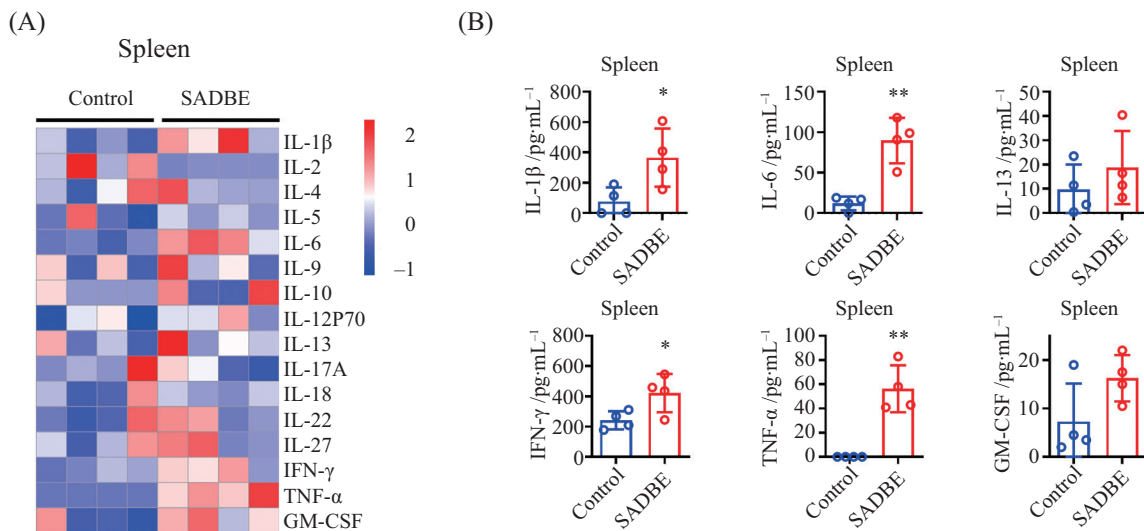


A: 皮肤组织匀浆多因子检测; B: IL-1β、TNF-α、GM-CSF、IL-12P70、IFN-γ、IL-4、IL-13、IL-17A在皮肤组织中的表达水平。n=3, *P<0.05, **P<0.01, 与对照组比较。

A: skin tissue homogenate multi-factor detection; B: IL-1β, TNF-α, GM-CSF, IL12P70, IFN-γ, IL-4, IL-13, IL-17A levels in skin tissue homogenates. n=3, *P<0.05, **P<0.01 compared with Control group.

图6 小鼠皮肤组织匀浆中细胞因子水平

Fig.6 Cytokine levels in mice skin tissue homogenate



A: 脾脏组织匀浆多因子检测; B: IL-1β、IL-6、IL-13、IFN-γ、TNF-α、GM-CSF在脾脏组织中的表达水平。n=3, *P<0.05, **P<0.01, 与对照组比较。

A: spleen tissue homogenate multi-factor detection; B: IL-1β, IL-6, IL-13, IFN-γ, TNF-α, GM-CSF levels in spleen tissue homogenates. n=3, *P<0.05, **P<0.01 compared with Control group.

图7 小鼠脾脏组织匀浆中细胞因子水平

Fig.7 Cytokine levels in mice spleen tissue homogenate

皮肤病之一,即使清除原始过敏原或化学物质机体也可能存在持续数周的瘙痒,严重影响患者的生活质量^[7-8]。SADBE作为一种小分子半抗原,接触表皮层后渗透至真皮层被朗格汉斯细胞吸收,经抗原提呈向淋巴结迁移形成抗原特异性T淋巴细胞,从而在

再次接触 SADBE 时引发局部炎症反应。SADBE 可诱导 ACD 模型,但其确切机制尚不明确。

ACD 的小鼠模型是接触性超敏反应(contact hypersensitivity, CHS),中性粒细胞被证明对 CHS 的发生发展至关重要。中性粒细胞中表达最丰富的蛋白

质是髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO), 它利用过氧化氢产生次氯酸, 进而氧化必需的生物分子, 从而导致细胞功能障碍和死亡。MPO及其产物已被证明以多种方式调节免疫反应包括限制树突状细胞(dendritic cells, DCs)激活和促进促炎细胞因子的产生^[9]。中性粒细胞通过释放MPO来诱导ACD, 有研究发现MPO在CHS发病机制中起双重作用, 在致敏阶段MPO促进皮肤中IL-1 β 的产生和迁移性DC的活化, 并迁移到局部淋巴结, 从而促进效应T细胞启动, 进而产生IFN- γ 等细胞因子; 在激发阶段MPO驱动血管通透性, 导致炎症^[10-12]。本研究中, SADBE造模组皮肤IFN- γ 水平升高, 中性粒细胞浸润水平显著增加, 是ACD模型的关键炎症细胞。

在局部炎症模型ACD中, S100A9是炎症过程中的一个非常敏感的标志物, 真皮浸润吞噬细胞与S100A9蛋白的高度表达密切相关^[13]。S100A9高度存在于中性粒细胞的细胞质部分, 是损伤相关分子模式(damage associated molecular patterns, DAMPs)成员, 可以促进中性粒细胞的激活, 在几乎所有与吞噬细胞活化相关的炎症性疾病中局部释放, 并通过激活TLR4促进炎症反应^[14]。巨噬细胞作为抗原提呈细胞(antigen presenting cell, APC)具有很强的吞噬能力, 在特异性免疫应答的诱导和调节中发挥重要作用。CD3是T淋巴细胞表面的重要标志物, CD3与T细胞受体(T cell receptor, TCR)结合形成复合体, 将TCR识别抗原后产生的活化信号传递到胞内, 诱导T细胞活化^[15]。朗格汉斯细胞作为一种独特的组织驻留巨噬细胞群, 摄取小分子半抗原物质如SADBE等, 并将其提呈给T细胞, 使其活化、分化为效应T细胞, 当机体再次接触过敏原时就会诱导T细胞免疫应答。因此, 巨噬细胞在ACD的炎症进展中也起关键作用。

肥大细胞作为皮肤中释放组胺的主要来源之一, 是ACD的重要免疫细胞, 通过脱颗粒释放组胺、细胞因子(如IL-4、IL-5、IL-13等)以及趋化因子等介质, 招募其他免疫细胞参与局部的免疫反应, 包括诱导DC从识别半抗原的皮肤迁移到淋巴结^[16]。也有研究证明, 在SADBE诱导的ACD中, 组胺和非组胺信号通路都会被激活, 分别由BNP/NPRA和GRP/GRPR处理, 最后激活GRPR⁺神经元引起的瘙痒^[4]。组胺和细胞因子引发的局部炎症反应可能会加剧皮肤的红肿和瘙痒等症状。本研究中的SADBE造模组浸润到真皮层的肥大细胞显著增多,

IFN- γ 和IL-4分别代表Th1型和Th2型炎症因子, 其在皮肤组织中表达水平都显著升高, IL-13作为瘙痒相关因子也有表达上调的趋势, IL-17A没有显著性差异, 说明肥大细胞在ACD模型中发挥重要作用, 并且是Th1型和Th2型都存在的炎症反应, Th1-Th2免疫失衡是ACD的内在原因。

IL-12P70是真正具有生物活性的IL-12, 由DC、巨噬细胞、B淋巴细胞以及其他抗原提呈细胞(APC)产生, 是Th1细胞免疫应答的决定因素, 可有效促进Th1类细胞因子的产生, 如IFN- γ ^[17]。粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage-colony-stimulating factor, GM-CSF)主要由Th细胞产生, 是一种促炎细胞因子, 能够增殖活化巨噬细胞和粒细胞, 通过激活促炎髓系细胞并将其招募到炎症部位来增强免疫反应, 可诱导表达其他促炎细胞因子如TNF、IL-1、IL-6等。IL-1 β 作为促炎细胞因子同样可以诱导多种细胞因子(如IL-8、TNF、GM-CSF)的产生, 并进一步激活巨噬细胞和T细胞, 进而促进局部的炎症反应。因此, IL-1 β 、IL-12P70和GM-CSF都是在ACD中起着推动和调节作用的重要促炎细胞因子。它们通过增强免疫细胞的活化、招募等作用以及促进细胞因子的释放, 导致局部炎症反应的加剧, 进而引起皮肤的损伤和瘙痒。

综上所述, 本研究中使用SADBE诱导建立了小鼠ACD模型, 初步探讨了ACD模型的内在炎症, 其炎症类型为Th1型和Th2型混合型, 其中关键免疫细胞包含肥大细胞、巨噬细胞和中性粒细胞。内在炎症免疫分析对于临床制定治疗方案具有重要意义, 本文为研究ACD的发病机制提供了理论基础。对其内在炎症机制的深入探索有望推动针对潜在关键因子的新型治疗策略的开发。

参考文献 (References)

- [1] JOHANSEN J D, BONEFELD C M, SCHWENSEN J F B, et al. Novel insights into contact dermatitis [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2022, 149(4): 1162-71.
- [2] ADLER B L, DELEO V A. Allergic contact dermatitis [J]. *JAMA Dermatol*, 2021, 157(3): 364.
- [3] HILL N D, BUNATA K, HEBERT A A. Treatment of alopecia areata with squaric acid dibutylester [J]. *Clin Dermatol*, 2015, 33(3): 300-4.
- [4] LIU X, WANG D, WEN Y, et al. Spinal GRPR and NPRA contribute to chronic itch in a murine model of allergic contact dermatitis [J]. *J Invest Dermatol*, 2020, 140(9): 1856-66.e7.
- [5] XU J, XIONG H, ZHAO Z, et al. Genistein suppresses allergic

- contact dermatitis through regulating the MAP2K2/ERK pathway [J]. *Food Funct*, 2021, 12(10): 4556-69.
- [6] BRITES G S, FERREIRA I, SEBASTIAO A I, et al. Allergic contact dermatitis: from pathophysiology to development of new preventive strategies [J]. *Pharmacol Res*, 2020, 162: 105282.
- [7] ALIKHAN A, MAIBACH H I. Allergic contact dermatitis [J]. *Chem Immunol Allergy*, 2014, 100: 97-100.
- [8] LAMOTTE R H. Allergic contact dermatitis: a model of inflammatory itch and pain in human and mouse [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2016, 904: 23-32.
- [9] STRZEPA A, PRITCHARD K A, DITTEL B N. Myeloperoxidase: a new player in autoimmunity [J]. *Cell Immunol*, 2017, 317: 1-8.
- [10] STRZEPA A, GURSKI C J, DITTEL L J, et al. Neutrophil-derived myeloperoxidase facilitates both the induction and elicitation phases of contact hypersensitivity [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 608871.
- [11] STEINBACH K, PIEDAVENT M, BAUER S, et al. Neutrophils amplify autoimmune central nervous system infiltrates by maturing local APCs [J]. *J Immunol*, 2013, 191(9): 4531-9.
- [12] CASTELL S D, HARMAN M F, MORON G, et al. Neutrophils which migrate to lymph nodes modulate CD4⁺ T cell response by a PD-L1 dependent mechanism [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 105.
- [13] SPRENKELER E G G, ZANDSTRA J, VAN KLEEF N D, et al. S100A8/A9 is a marker for the release of neutrophil extracellular traps and induces neutrophil activation [J]. *Cells*, 2022, 11(2): 236.
- [14] VOGL T, GHARIBYAN A L, MOROZOVA-ROCHE L A. Pro-inflammatory S100A8 and S100A9 proteins: self-assembly into multifunctional native and amyloid complexes [J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(3): 2893-917.
- [15] 骆群, 吕明, 于鸣, 等. 抗CD28抗体协同刺激增强抗CD3抗体体外激活T淋巴细胞并降低TGF- β 的表达[J]. *中国实验血液学杂志*(LUO Q, LÜ M, YU M, et al. Anti-CD28A antibody costimulation enhances anti-CD3 antibody activating T cells and lowering TGF- β expression *in vitro* [J]. *Journal of Experimental Hematology*), 2006(3): 547-51.
- [16] DUDECK A, DUDECK J, SCHOLTEN J, et al. Mast cells are key promoters of contact allergy that mediate the adjuvant effects of haptens [J]. *Immunity*, 2011, 34(6): 973-84.
- [17] TRINCHIERI G. Interleukin-12 and the regulation of innate resistance and adaptive immunity [J]. *Nat Rev Immunol*, 2003, 3(2): 133-46.