

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240416003

# 脂肪酸配体通过改变过氧化物酶体增植物激活受体 $\gamma$ 三维构象调节 RBL-2H3 细胞脱颗粒

张欣怡, 陈 成, 孙善峰, 车会莲\*

(中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

**摘 要:** **目的** 研究各种脂肪酸与效应细胞脱颗粒程度之间的关系。**方法** 采用分子对接技术, 将月桂酸、硬脂酸、油酸、亚油酸和  $\alpha$ -亚麻酸作为配体与过氧化物酶体增植物激活受体  $\gamma$  (peroxisome proliferators-activated receptor  $\gamma$ , PPAR $\gamma$ ) 对接, 预测其对效应细胞脱颗粒的影响。基于 RBL-2H3 模型, 以  $\beta$ -氨基己糖苷酶的释放量来评估这些脂肪酸能否作为 PPAR $\gamma$  的天然配体, 调节效应细胞脱颗粒。**结果** 5 种脂肪酸对 RBL-2H3 脱颗粒有不同影响。月桂酸显著促进脱颗粒, 而油酸和  $\alpha$ -亚麻酸抑制脱颗粒程度。硬脂酸和亚油酸则对脱颗粒程度无显著影响。**结论** 脂肪酸作为天然配体, 不同的结合深度, 使 PPAR $\gamma$  呈现出不同的三维构象, 从而产生对激活因子和抑制因子不同的亲和力, 以调节肥大细胞或嗜碱性粒细胞脱颗粒的程度。这为通过饮食干预来改善食物过敏提供了可能性。

**关键词:** 食物过敏; 过氧化物酶体增植物激活受体  $\gamma$ ; 脂肪酸; 分子对接; 脱颗粒

## Fatty acid ligand binding regulates RBL-2H3 degranulation by changing the three-dimensional conformation of peroxisome proliferators-activated receptor $\gamma$

ZHANG Xin-Yi, CHEN Cheng, SUN Shan-Feng, CHE Hui-Lian\*

(College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

**ABSTRACT: Objective** To investigate the relationship between various fatty acids and the degree of degranulation of effector cells. **Methods** Lauric acid, stearic acid, oleic acid, linoleic acid and  $\alpha$ -linolenic acid were docked with peroxisome proliferators-activated receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) as ligands by molecular docking technology, and their effects on effector cell degranulation were predicted. RBL-2H3 cells are used to verify whether these fatty acids act as natural ligands for PPAR $\gamma$  and to regulate effector cell degranulation. **Results** Five kinds of fatty acids had a significant effect on RBL-2H3 degranulation. Lauric acid significantly promoted degranulation, and oleic acid and  $\alpha$ -linolenic acid inhibited the degree of degranulation. Stearic acid and linoleic acid had no significant effect on the degree of particles. **Conclusion** Different binding depths of fatty acids as natural ligands in the pocket structure make PPAR $\gamma$  exhibit different three-dimensional conformations, resulting in different affinities for activators and inhibitors to regulate the degree of mast cell or basophil degranulation. This suggests that we may be able to improve our food allergies with dietary interventions.

\*通信作者: 车会莲, 博士, 教授, 主要研究方向为食品安全、食物过敏及营养。E-mail: chehuilian@cau.edu.cn

\*Corresponding author: CHE Hui-Lian, Ph.D, Professor, China Agricultural University, No.17, Qinghuadong Road, Haidian District, Beijing 100083, China. E-mail: chehuilian@cau.edu.cn

**KEY WORDS:** food allergies; peroxisome proliferators-activated receptor  $\gamma$ ; fatty acids; molecular docking; degranulation

## 0 引言

食物过敏被认为是继哮喘之后的第二波全球过敏流行病<sup>[1-2]</sup>, 可导致皮肤、胃肠道和呼吸道不适, 严重时甚至会导致全身性过敏反应<sup>[3]</sup>。大多数食物过敏是由特异性免疫球蛋白 E (immunoglobulin E, IgE) 抗体介导的, 可分为致敏期和效应期。在致敏阶段, 过敏原进入人体, 触发 IgE 的产生, IgE 与肥大细胞和嗜碱性粒细胞 Fc $\epsilon$  受体结合。当过敏原重新进入人体时, 就会发生效应阶段, 导致肥大细胞和嗜碱性粒细胞表面的 IgE 交联, 导致预合成的炎症物质 (如组胺、前列腺素、白三烯) 的释放, 并引起炎症反应<sup>[4]</sup>。

膳食成分在预防和缓解各种免疫疾病方面起着至关重要的作用<sup>[5]</sup>。脂肪酸作为脂质的基本成分和主要营养素, 与免疫力密切相关。多不饱和脂肪酸参与调节免疫系统和炎症反应。研究表明,  $\omega$ -3 多不饱和脂肪酸具有抗炎特性, 而  $\omega$ -6 多不饱和脂肪酸往往具有促炎作用<sup>[6]</sup>。 $\omega$ -3 至  $\omega$ -6 脂肪酸的不平衡会影响辅助性 T 细胞亚型的平衡<sup>[7]</sup>, 进而介导过敏性炎症反应。一项基于人群的队列研究表明, 大量摄入单不饱和脂肪酸与过敏性疾病的风险增加有关<sup>[8]</sup>。某些饱和脂肪酸, 如棕榈酸和硬脂酸, 可增强滋养外胚层中的 toll 样受体 4 先天免疫通路<sup>[9]</sup>。

此外, 脂肪酸作为过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  (peroxisome proliferators-activated receptor  $\gamma$ , PPAR $\gamma$ ) 的天然配体, 能够激活 PPAR $\gamma$  通路以调节炎症反应<sup>[10]</sup>。PPAR $\gamma$  已被证明具有在适应性免疫中发挥重要作用的潜力, 是调节免疫细胞中具有抗炎和调节功能的促炎因子表达的重要靶标<sup>[11-12]</sup>。内源性和外源性配体可激活 PPAR- $\gamma$ , 并主要通过抑制核因子- $\kappa$ B (nuclear factor kappa-B, NF- $\kappa$ B)、转录信号转导和激活因子以及激活因子蛋白 (AP)-1 等转录因子的通路来抑制炎症反应<sup>[13-14]</sup>。PPAR- $\gamma$  的功能取决于配体的可用性和与配体的结合, 配体可导致靶基因表达的激活或抑制。它与配体结合后会发生构象变化, 从而促进核心调节蛋白的招募<sup>[15]</sup>。PPAR $\gamma$  在 T 细胞、单核细胞/巨噬细胞、嗜碱性粒细胞和肥大细胞等炎症细胞中表达, 同时也能介导这些炎症细胞中的炎症反应<sup>[16]</sup>。不同脂肪酸或可以作为配体激活或抑制 PPAR- $\gamma$  通路, 从而调节下游通路。

为了对抗食物过敏, 除了严格避免过敏原外, 当今的主流研究方向都集中在免疫耐受疗法上。这种方法旨在通过逐渐增加特定过敏原的摄入量来脱敏和建立耐受性<sup>[17]</sup>。然而, 这种方法很耗时, 成功率低, 而且通常不会导致永久耐受性<sup>[18-20]</sup>。因此, 除了在致敏阶段建立免疫耐受外, 本研究探究不同的脂肪酸如何作为天然配体激活 PPAR- $\gamma$ ,

调节下游通路的表达, 从而影响炎症介质的释放, 以期为通过调整饮食模式来改善食物过敏的症状提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS)、双重抗生素 (青霉素/链霉素) (美国 Corning 公司); 最低必需培养基 (minimum essential medium, MEM)、磷酸盐缓冲液 (phosphate buffer saline, PBS) (北京索莱宝科技有限公司); 月桂酸 (化学纯)、台式缓冲液 (上海源叶生物科技有限公司); 硬脂酸、油酸、亚油酸、 $\alpha$ -亚麻酸、磷酸钠 (化学纯, 上海麦克林生化科技有限公司); 细胞计数试剂盒-8 (cell counting kit-8, CCK-8) (北京百瑞极生物科技有限公司); 48/80 复合物 (compound 48/80, C48/80)、4-硝基苯基萘酰基- $\beta$ -D-氨基葡萄糖苷 (4-nitrophenyl nacyetyl- $\beta$ -D-glucosaminide, PNAG)-柠檬酸溶液 (美国 Sigma 公司); GW9662 (美国 Med Chem Express 公司); 曲拉通 X-100 (TritonX-100) (碧云天生物技术有限公司)。

### 1.2 仪器与设备

WT-1N 洁净工作台 (北京王堂蓝冀科技有限公司); MCO-18AIC 二氧化碳培养箱 (日本 Sanyo 公司); DSHZ-300 恒温水浴箱 (江苏太仓医用仪器厂); LW600LT 倒置显微镜 (北京测维光电); DNM-9602 酶标仪 (北京普朗新技术有限公司)。

### 1.3 蛋白质三维结构

与罗格列酮复合的人 PPAR $\gamma$  配体结合域结构来自 RCSB 蛋白数据库 (PDB: 5YCP)。在 Pymol 中去除配体罗格列酮分子, 获得了 PPAR $\gamma$  的三维结构。

### 1.4 配体获取

罗格列酮和 GW9662 的 SDF 格式文件是从 PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 下载的。使用 Chem3D 制备了月桂酸、硬脂酸、油酸、亚油酸和  $\alpha$ -亚麻酸的结构, 并导出到空间数据文件 (.SDF) 格式。空间数据文件 (.SDF) 使用 Open Babel 转换为 PDB 格式。

### 1.5 分子对接

使用 AutoDock 进行分子对接。去除水分子、小分子配体和氢化对蛋白质进行预处理。在对接过程中, 蛋白质被认为是刚性的, 配体被认为是柔性的。对接完成后, 导出组合能量的最大绝对值, 并使用 Open Babel 将文件转换为 PDB 格式。随后, 将 PDB 文件导入 Pymol 进行可视化分析。

## 1.6 细胞活性实验

RBL-2H3 细胞在完全培养基[含有 15% (V/V) FBS 和 1% (V/V) 双抗的 MEM 培养基]中培养。将月桂酸、硬脂酸、油酸、亚油酸和  $\alpha$ -亚麻酸溶解在乙醇中配制成脂肪酸母液。用完全培养基稀释脂肪酸母液, 使最终乙醇浓度为 1%, 脂肪酸浓度为 400、200、100、50 和 25  $\mu\text{mol/mL}$ 。将 RBL-2H3 细胞接种在 96 孔板中, 密度为  $5 \times 10^4$  个细胞/孔, 并在 37°C 下孵育过夜。吸出 96 孔板中的完全培养基, 并用无菌 PBS 洗涤细胞两次。随后, 向每个孔中加入 100  $\mu\text{L}$  不同浓度的脂肪酸溶液。细胞培养 24 h 后, 向每个孔中加入 10  $\mu\text{L}$  CCK8 溶液。37°C 孵育 1 h, 并在 450 nm 处测量吸光度。细胞活力计算如式(1):

$$\text{细胞活力}/\% = \frac{A_{\text{脂肪酸处理组}} - A_0}{A_{\text{对照组}} - A_0} \times 100\% \quad (1)$$

式中,  $A_{\text{脂肪酸处理组}}$ : 脂肪酸干预组的吸光度;  $A_{\text{对照组}}$ : 未加脂肪酸组的吸光度;  $A_0$ : 空白组的吸光度。

## 1.7 RBL-2H3 细胞的颗粒合成能力和脱颗粒程度

将 RBL-2H3 细胞接种到 96 孔细胞培养板中, 密度为  $5 \times 10^4$  个细胞/孔。孵育 24 h 后, 吸出完全培养基并用台式缓冲液替换。脱颗粒程度测定用 250  $\mu\text{L}$  特定浓度的化合物 C48/80 刺激细胞 2 h, 合成能力测定则用 0.1% Triton-X100 处理细胞。将 96 孔细胞培养板置于冰板上以终止反应。接下来, 将 30  $\mu\text{L}$  细胞培养上清液转移到 96 孔酶联免疫吸附测定(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)板中。加入 50  $\mu\text{L}$  PNAG-柠檬酸溶液并在 37°C 下孵育 1 h。孵育后, 加入 200  $\mu\text{L}$  碳酸钠缓冲液进行显色。在 405 nm 处测量吸光度。对于阴性对照组, 用台式缓冲液替换化合物 C48/80。释放速率计算如式(2):

$$\beta\text{-氨基己糖苷酶释放速率}/\% = \frac{A_{\text{处理组}} - A_0}{A_{\text{C48/80}} - A_0} \times 100\% \quad (2)$$

式中,  $A_{\text{处理组}}$ : 处理组的吸光度;  $A_{\text{C48/80}}$ : C48/80 组的吸光度;  $A_0$ : 空白组的吸光度。

RBL-2H3 细胞的颗粒合成及脱颗粒程度均有相对值表示。相对值计算如式(3):

$$\text{相对值}/\% = \frac{\beta\text{-氨基己糖苷酶释放率}_{\text{处理组}}}{\beta\text{-氨基己糖苷酶释放率}_{\text{对照组}}} \times 100\% \quad (3)$$

## 1.8 PPAR- $\gamma$ 抑制剂干预下的 RBL-2H3 颗粒合成

将 RBL-2H3 细胞接种在 96 孔板中, 密度为  $5 \times 10^4$  个细胞/孔。孵育 24 h 后, 小心除去上清液, 并用无菌 PBS 缓冲液洗涤细胞。随后, 将基础培养基加入到每个孔中并孵育 12 h 以同步所有细胞的生长。

实验组包括阴性对照组、GW9662 组、低中高剂量月桂酸干预组、低中高剂量  $\alpha$ -亚麻酸干预组、GW9662 抑制低中高剂量月桂酸干预组和 GW9662 抑制低中高剂量  $\alpha$ -

亚麻酸干预组。用不完全培养基[含 3% (V/V) FBS 和 1% (V/V) 双抗的 MEM 培养基]配制 GW9662 溶液和脂肪酸溶液。阴性对照组加不完全培养基, GW9662 组加入含 10  $\mu\text{mol/L}$  GW9662, 低中高月桂酸干预组每空分别加入浓度为 25、50、100  $\mu\text{mol/mL}$  月桂酸, 低中高剂量  $\alpha$ -亚麻酸干预组每空分别加入浓度为 25、50、100  $\mu\text{mol/mL}$   $\alpha$ -亚麻酸, GW9662 抑制低中高剂量脂肪酸干预组每空在加入低中高剂量脂肪酸的基础上再加入 10  $\mu\text{mol/L}$  GW9662。孵育 3 h 后, 小心地除去上清液, 并使用 250  $\mu\text{L}$  TritonX-100 裂解细胞。将 96 孔板置于冰板上以终止反应。随后, 将 30  $\mu\text{L}$  细胞培养上清液转移到 96 孔 ELISA 板中, 并加入 50  $\mu\text{L}$  PNAG-柠檬酸溶液。在 37°C 下反应 1 h。然后, 加入 200  $\mu\text{L}$  碳酸钠缓冲液进行显色, 并测量 405 nm 处的吸光度。

## 1.9 数据处理

实验均重复 3 次。使用 SPSS 25 分析从实验中获得的数据, 使用单因素方差分析(analysis of variance, ANOVA)检验, 分析组间显著性, 并用 GraphPad Prism 绘图。结果以平均值 $\pm$ 标准偏差表示, 同一数据图中不同的小写字母表示显著差异( $P < 0.05$ )。

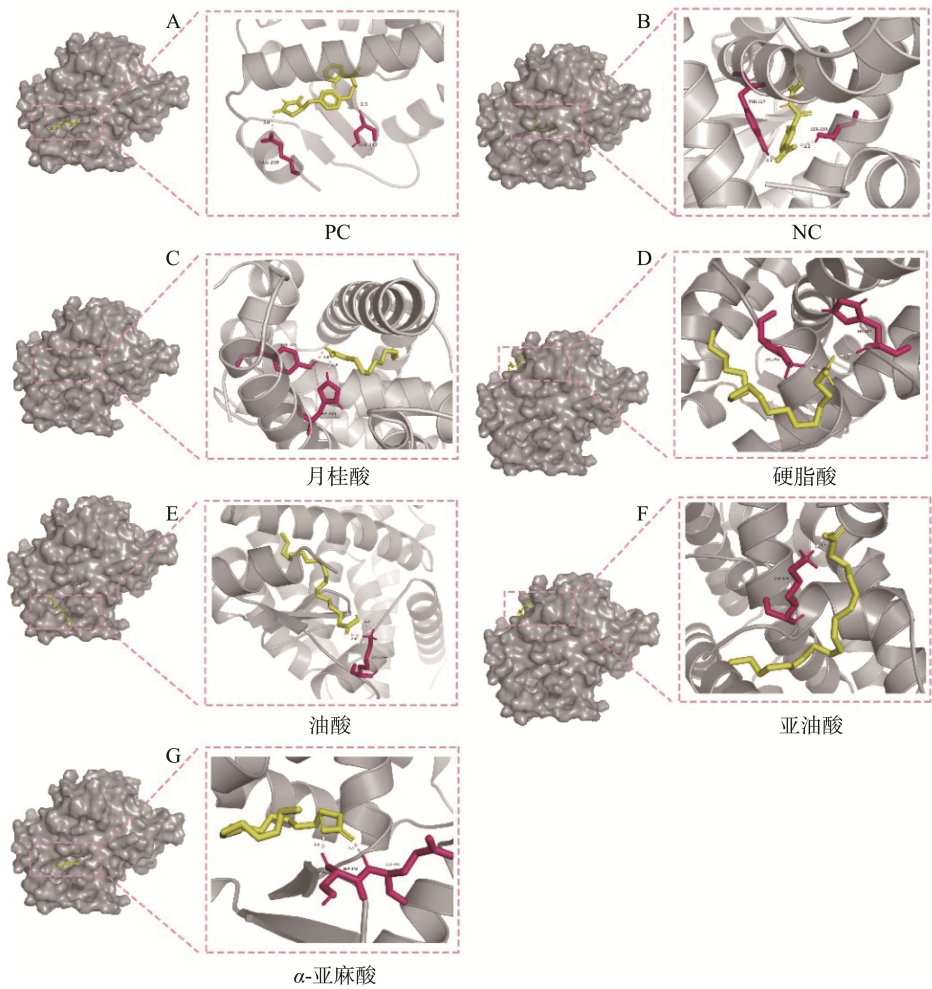
## 2 结果与分析

### 2.1 分子对接

PPAR $\gamma$  作为核受体, 表现出由不同功能域组成的模块化结构, 包括配体结构域、DNA 结合域、铰链结构域和配体结合域-LBD。LBD 包含配体依赖性激活函数 2 (AF-2) 片段, 该片段具有结合特定配体的口袋结构。这种结构排列决定了受体的功能<sup>[21]</sup>, LBD 内配体的不同结合位置可导致 PPAR $\gamma$  的不同构象变化。这就解释了为什么所有配体都具有相同的结合结构域, 但引发的激活和抑制信号却完全不同。如图 1 所示, 罗格列酮和  $\alpha$ -亚麻酸与口袋外部附近的 LBD 结合, 而 GW9662 和月桂酸完全封闭在疏水口袋内部。油酸位于配体结合口袋附近, 而硬脂酸和亚油酸的结合位点不在 LBD 中。本研究假设硬脂酸、月桂酸、油酸、亚油酸和  $\alpha$ -亚麻酸可能作为天然配体, 与 PPAR $\gamma$  结合并调节基因表达。由计算机模拟分子对接结果可合理推测,  $\alpha$ -亚麻酸和油酸或具有罗格列酮的活化作用,  $\alpha$ -亚麻酸的作用更强。相反, 月桂酸的结合位点与 GW9662 相似, 或表现出抑制作用。

### 2.2 确定最佳脂肪酸干预浓度

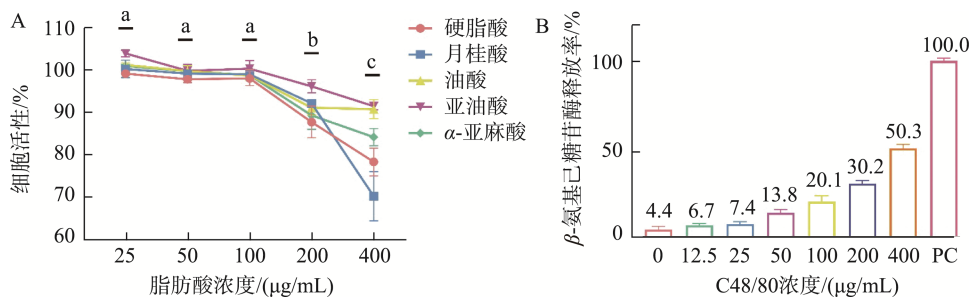
为了模拟人血清中的主要脂肪酸含量(50~300  $\mu\text{g/mL}$ )<sup>[22]</sup>, 首先将脂肪酸质量浓度梯度设定在 25  $\mu\text{g/mL}$  和 400  $\mu\text{g/mL}$  之间。如图 2A 所示, 当脂肪酸质量浓度达到 200  $\mu\text{g/mL}$  时, 用 5 种脂肪酸处理的 RBL-2H3 细胞的活性显著降低( $P < 0.05$ ), 因此, 选择 100  $\mu\text{g/mL}$  作为后续实验的干预浓度, 进行进一步研究。



注: PC为阳性对照罗格列酮; NC为阴性对照GW9662; 下同。

图1 PPAR- $\gamma$ 与不同配体分子对接示意图

Fig.1 Schematic diagram of the docking of PPAR- $\gamma$  with different ligand molecules



注: A. 脂肪酸浓度筛选, 不同小写字母表示具有显著性差异( $P<0.05$ ); B. C48/80浓度筛选。

图2 RBL-2H3细胞处理药物浓度筛选

Fig.2 RBL-2H3 cell treatment drug concentration screening

2.3 RBL-2H3 脱颗粒中 C48/80 浓度的确定

C48/80 作为化学刺激因子, 直接影响钙的内流, 促进细胞脱颗粒<sup>[23]</sup>。C48/80 引起的脱颗粒程度与其浓度直接相关。如图 2B 所示, 当 C48/80 质量浓度为 400  $\mu\text{g/mL}$  时, RBL-2H3 细胞颗粒释放量大于总颗粒数的 40%, 可以有效

模拟发生过敏反应时, 效应细胞脱颗粒程度。因此, 选择质量浓度为 400  $\mu\text{g/mL}$  的 C48/80 进行实验。

2.4 脂肪酸对 RBL-2H3 脱颗粒的影响

如图 3A 所示, 不同脂肪酸处理对 RBL-2H3 细胞  $\beta$ -氨基己糖苷酶释放量具有不同影响, 以 CK 组释放量为 100%计,

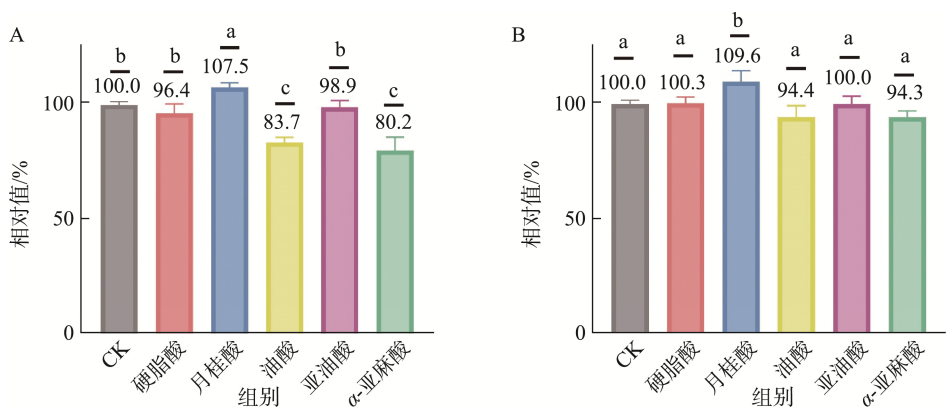
$\alpha$ -亚麻酸和油酸能够显著抑制 RBL-2H3 细胞脱颗粒( $P<0.05$ ), 而月桂酸则显著促进 RBL-2H3 脱颗粒( $P<0.05$ )。相比之下, 亚油酸和硬脂酸对 RBL-2H3 脱颗粒的抑制作用有限, 与空白对照相比差异不显著( $P>0.05$ )。与分子对接提出的假设一致。

2.5 脂肪酸对 RBL-2H3 细胞颗粒物合成的影响

为了进一步验证脂肪酸是否是通过影响颗粒物质预合成来调节颗粒物质释放量, 本研究使用不同浓度脂肪酸处理 RBL-2H3 细胞, 然后使用 TritonX-100 进行细胞裂解, 以  $\beta$ -氨基己糖苷酶为代表, 检测细胞内颗粒物质的预合成量。如图 3B 所示, 在月桂酸处理后, RBL-2H3 颗粒物合成量显著增加( $P<0.05$ )。油酸和  $\alpha$ -亚麻酸处理组, 颗粒物合成较对照组相比有下降趋势。亚油酸和硬脂酸对 RBL-2H3 细胞中颗粒物的合成没有显著作用( $P>0.05$ )。这些结果与脂肪酸调节 RBL-2H3 脱颗粒的结果一致。这表明脂肪酸可能是通过调节颗粒物质的预合成来影响效应细胞脱颗粒程度。

2.6 PPAR- $\gamma$  在 RBL-2H3 脱颗粒中的作用

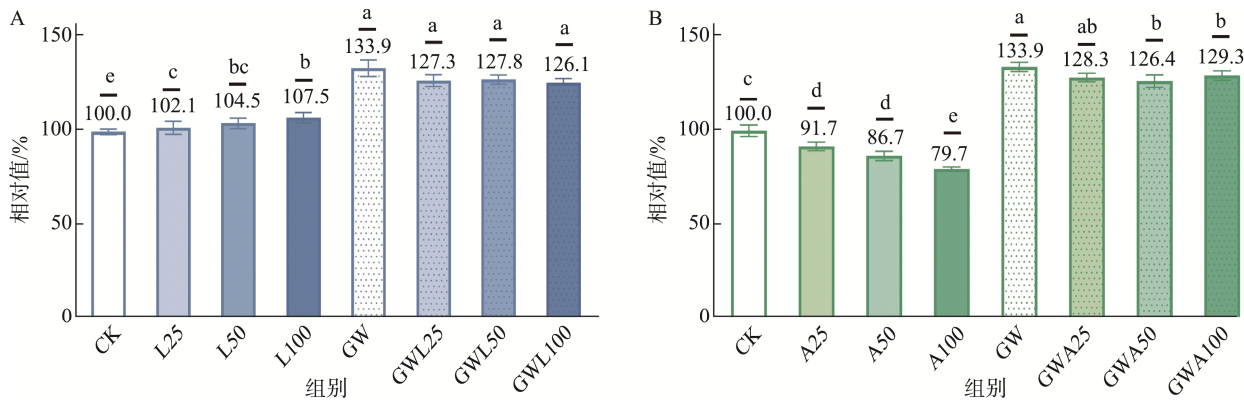
在先前的实验中, 月桂酸和  $\alpha$ -亚麻酸对 RBL-2H3 细胞的脱颗粒具有相反的作用。为了验证这些调节作用是否是通过 PPAR- $\gamma$  介导的, 本研究将 RBL-2H3 细胞分别用不同浓度脂肪酸和 GW9662 共同处理。如图 4 所示, 月桂酸以剂量依赖性方式促进 RBL-2H3 脱颗粒, 而  $\alpha$ -亚麻酸以剂量依赖性方式抑制 RBL-2H3 脱颗粒。然而在加入 PPAR- $\gamma$  拮抗剂后, RBL-2H3 细胞  $\beta$ -氨基己糖苷酶的释放量相对于脂肪酸处理组显著增加( $P<0.05$ ), 且不同浓度脂肪酸处理组之间颗粒物质释放量没有显著差异( $P>0.05$ ), 这说明脂肪酸对 RBL-2H3 脱颗粒的调控作用被完全抑制。这表明脂肪酸是通过作为配体与 PPAR- $\gamma$  结合, 从而调节 RBL-2H3 脱颗粒程度的。本研究还发现, 如图 4A 所示, 25~100  $\mu\text{g/mL}$  的月桂酸处理组  $\beta$ -氨基己糖苷酶释放量显著低于 GW9662 组( $P<0.05$ ), 这表明月桂酸是相较于 GW9662 而言的弱 PPAR- $\gamma$  拮抗剂。



注: CK为对照组; A. 颗粒物质释放; B. 颗粒物质合成。不同小写字母表示具有显著性差异( $P<0.05$ ), 图4同。

图3 脂肪酸对RBL-2H3细胞颗粒物质的合成与释放的影响

Fig.3 Effects of fatty acids on the synthesis and release of particulate matter from RBL-2H3 cells



注: CK为对照组; GW为GW9662处理组; L/A25、L/A50、L/A100分别表示月桂酸/ $\alpha$ -亚麻酸处理质量浓度为25、50、100  $\mu\text{g/mL}$ ; GWL/A25、GWL/A50、GWL/A100表示脂肪酸处理的基础上加入强拮抗剂GW9662。

图4 PPAR- $\gamma$ 在RBL-2H3脱颗粒中的作用

Fig.4 Role of PPAR- $\gamma$  in RBL-2H3 degranulation

### 3 讨论与结论

脂肪酸是 PPAR $\gamma$  的天然配体, PPAR $\gamma$  与类视黄醇 X 受体(retinoid X receptor, RXR)形成异二聚体。配体与 PPAR $\gamma$  结合诱导构象变化, 促进共激活因子/共抑制因子的募集以调节基因表达<sup>[24-25]</sup>。本研究选取月桂酸、硬脂酸、油酸、亚油酸、 $\alpha$ -亚麻酸 5 种代表性脂肪酸, 分别代表中链饱和脂肪酸、长链饱和脂肪酸、长链单不饱和脂肪酸、 $\omega$ -6 多不饱和脂肪酸和  $\omega$ -3 多不饱和酸。使用分子对接模拟, 本研究将这些脂肪酸的 PPAR $\gamma$  结合位点与 PPAR $\gamma$  激活剂罗格列酮和 PPAR $\gamma$  抑制剂 GW9662 的结合位点进行了比较。结果表明, 月桂酸和 GW9662 具有相似的结合位点, 均位于配体结合域的疏水口袋结构深处。相反, 油酸和  $\alpha$ -亚麻酸具有与罗格列酮相似的结合位点, 位于口袋结构的浅表部分。在模拟对接过程中, 本研究假设小分子配体与 PPAR $\gamma$  蛋白受体相比具有柔韧性。然而, 在现实中, 由于分子间相互作用(如氢键和范德华力), 小分子配体进入疏水结构域会导致疏水口袋结构发生变化。这种构象变化会影响共激活因子和共抑制因子的亲和力。因此, 本研究假设月桂酸和 GW9662 在 PPAR $\gamma$  的口袋结构域内产生更深的分子间作用力。结果, 这些相互作用会引起蛋白质三维结构的显著变化, 从而产生一个更大的疏水口袋, 可以容纳小分子配体。另一方面, 油酸、 $\alpha$ -亚麻酸和罗格列酮与口袋结构域的表层表面结合, 导致口袋结构域表面发生更局部的变化。PPAR $\gamma$  蛋白结合域内不同深度的小分子配体结合导致两种不同的蛋白质构象。这些结构差异可以解释为什么同一结合域内的不同配体会产生完全相反的激活和抑制效果。

脂肪酸干预 RBL-2H3 脱颗粒的实验结果表明, 月桂酸显著促进脱颗粒, 而油酸和  $\alpha$ -亚麻酸显著抑制脱颗粒。这种差异可能归因于 PPAR $\gamma$  结合结构域口袋内配体的不同深度, 导致蛋白质的不同三维结构, 最终通过 PPAR $\gamma$  调节的基因表达影响脱颗粒的程度<sup>[26-27]</sup>。为了进一步探索这一点, 本研究选择了表现出相反信号的脂肪酸进行额外的实验。本研究发现月桂酸和  $\alpha$ -亚麻酸对 RBL-2H3 细胞脱颗粒的调节作用具有剂量依赖性, 但在脂肪酸和 PPAR $\gamma$  抑制剂共处理的时候调节作用消失, 这可能是。由于引入 PPAR $\gamma$  抑制剂 GW9662 后, 其优先与 PPAR $\gamma$  结合, 占据所有配体结合域。因此, 月桂酸和  $\alpha$ -亚麻酸不再能够作为与 PPAR $\gamma$  结合的配体发挥作用, 它们对脱颗粒的影响也消失了。这表明不同的脂肪酸确实通过表达 PPAR $\gamma$  调控基因影响效应细胞的脱颗粒程度。有趣的是, 本研究还观察到不同脂肪酸对 RBL-2H3 中颗粒物合成的影响及其对细胞脱颗粒的干预之间存在一致的模式。这一发现表明, 不同的脂肪酸通过影响颗粒物的合成来影响 RBL-2H3 脱颗粒的程度。 $\alpha$ -亚麻酸似乎充当配体, 激活 PPAR $\gamma$  并发挥与  $\omega$ -3

脂肪酸相关的抗炎功能<sup>[28]</sup>。相反,  $\omega$ -6 亚油酸不促进 RBL-2H3 脱颗粒。这可能是由于亚油酸的促炎作用需要多个细胞和细胞因子的共同作用<sup>[29-31]</sup>, 而这不能反映在单个细胞中。

本研究的重点是分析不同的脂肪酸作为与 PPAR $\gamma$  结合的配体。脂肪酸和 PPAR $\gamma$  之间的相互作用改变了蛋白质的三维结构, 导致具有不同亲和力的共激活因子和共抑制因子的募集。这反过来又影响了下游基因的表达, 因为配体在结合口袋内的特定结合位置。不同的脂肪酸可能通过 PPAR $\gamma$  途径调节颗粒的预合成, 从而影响效应阶段的脱颗粒程度。这些发现表明, 涉及特定脂肪酸的饮食干预可能会缓解食物过敏的症状。

### 参考文献

- [1] PETERS RL, KRAWIEC M, KOPLIN JJ, *et al.* Update on food allergy [J]. *Pediat Allergy Imm-UK*, 2021, 32(4): 647-657.
- [2] LOKE P, KOPLIN J, BECK C, *et al.* Statewide prevalence of school children at risk of anaphylaxis and rate of adrenaline auto-injector activation in Victorian government schools, Australia [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2016, 138: 529-535.
- [3] MILLS ENC, BREITENEDER H. Food allergy and its relevance to industrial food proteins [J]. *Biotechnol Adv*, 2005, 23(6): 409-414.
- [4] LIU EG, YIN XY, SWAMINATHAN A, *et al.* Antigen-Presenting cells in food tolerance and allergy [J]. *Front Immunol*, 2021, 11: 616020.
- [5] YANG H, QU YZ, GAO YR, *et al.* Role of the dietary components in food allergy: A comprehensive review [J]. *Food Chem*, 2022, 386:132762.
- [6] SARTORIO MUA, PENDEZZA E, COPPOLA S, *et al.* Potential role of omega-3 polyunsaturated fatty acids in pediatric food allergy [J]. *Nutrients*, 2021, 14(1): 152.
- [7] MIZOTA T, FUJITA-KAMBARA C, MATSUYA N, *et al.* Effect of dietary fatty acid composition on Th1/Th2 polarization in lymphocytes [J]. *Jpen-parenter Enter*, 2009, 33(4): 390-396.
- [8] TRAK-FELLERMEIER MA, BRASCHE S, WINKLER G, *et al.* Food and fatty acid intake and atopic disease in adults [J]. *Eur Respir J*, 2004, 23(4): 575-582.
- [9] YANG XH, HAGHIAC M, GLAZEBROOK P, *et al.* Saturated fatty acids enhance TLR4 immune pathways in human trophoblasts [J]. *Hum Reprod*, 2015, 30(9): 2152-2159.
- [10] CHI TG, WANG MN, WANG X, *et al.* PPAR-gamma modulators as current and potential cancer treatments [J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 737-776.
- [11] LEHRKE M, LAZAR MA. The many faces of PPAR gamma [J]. *Cell*, 2005, 123(6): 993-999.
- [12] MIRZA AZ, ALTHAGAFI II, SHAMSHAD H. Role of PPAR receptor in different diseases and their ligands: Physiological importance and clinical implications [J]. *Eur J Med Chem*, 2019, 166: 502-513.
- [13] 赵雅波, 王元勇, 闫小龙. 过氧化物酶体增殖物激活受体- $\gamma$  通过调节炎症治疗肿瘤的研究进展[J]. *现代肿瘤医学*, 2024, 32(4): 777-782.  
ZHAO YB, WANG YY, YAN XL. Research progress on peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  in regulating inflammation in the treatment of tumors [J]. *J Mod Oncol*, 2024, 32(4): 777-782.

- [14] MONSALVE FA, PYRASANI RD, DELGADO-LOPEZ F, *et al.* Peroxisome proliferator- activated receptor targets for the treatment of metabolic diseases [J]. *Mediat Inflamm*, 2013, 2013: 549627.
- [15] FEIGE JN, CELMAN L, MICHALIK L, *et al.* From molecular action to physiological outputs: Peroxisome proliferator-activated receptors are nuclear receptors at the crossroads of key cellular functions [J]. *Prog Lipid Res*, 2006, 45(2): 120–159.
- [16] YAMASHITA M, KUSHIHARA M, HIRASAWA N, *et al.* Inhibition by troglitazone of the antigen-induced production of leukotrienes in immunoglobulin E-sensitized RBL-2H3 cells [J]. *Br J Pharmacol*, 2000, 129(2): 367–373.
- [17] WOOD RA. Food allergen immunotherapy: Current status and prospects for the future [J]. *J Allergy Clin Immun*, 2016, 137(4): 973–982.
- [18] YANG XT, LIANG R, XING QL, *et al.* Fighting food allergy by inducing oral tolerance: Facts and fiction [J]. *Int Arch Allergy Imm*, 2021, 182(9): 852–862.
- [19] NOWAK-WEGRZYN A, SAMPSON HA. Future therapies for food allergies [J]. *J Allergy Clin Immun*, 2011, 127(3): 558–575.
- [20] BERIN MC, MAYER L. Can we produce true tolerance in patients with food allergy [J]. *J Allergy Clin Immun*, 2013, 131(1): 14–22.
- [21] PSILOPATIS I, VRETTOU K, NOUSIOPOULOU E, *et al.* The role of peroxisome proliferator- activated receptors in polycystic ovary syndrome [J]. *J Clin Med*, 2023, 12(8): 2912.
- [22] 李广. 血清中长链脂肪酸及相关代谢酶与中老年人健康老龄化的关联性研究[D]. 武汉: 武汉科技大学, 2023.
- LI G. Study on the association between serum long-chain fatty acids and related metabolic enzymes and healthy aging in middle-aged and elderly people [D]. Wuhan: Wuhan University of Science and Technology, 2023.
- [23] 尹舒鹤. 黄柏碱抑制 C48/80 诱导的过敏反应及其机制研究[D]. 吉林: 北华大学, 2023.
- YIN SH. Study on the inhibition of C48/80-induced allergic reaction and its mechanism [D]. Jilin: Beihua University, 2023.
- [24] HIGGINS LS, DEPAOLI AM. Selective peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR gamma) modulation as a strategy for safer therapeutic PPAR gamma activation [J]. *Am J Clin Nutr*, 2010, 91(1): 267S–272S.
- [25] CAPITAO AMF, LOPES- MARQUES M, PASCOA I, *et al.* An ancestral nuclear receptor couple, PPAR-RXR, is exploited by organotins [J]. *Sci Total Environ*, 2021, 797(16): 149044.
- [26] CHAKRABORTY C, SHARMA AR, SHARMA G, *et al.* The interplay among miRNAs, major cytokines, and cancer-related inflammation [J]. *Mol Ther Nucl Acids*, 2020, 20(2): 606–620.
- [27] PASDARAN A, HASSANI B, TAVAKOLI A, *et al.* A review of the potential benefits of herbal medicines, small molecules of natural sources, and supplements for health promotion in lupus conditions [J]. *Life (Basel)*, 2023, 13(7): 1589.
- [28] PATTERSON E, WALL R, FITZGERALD GF, *et al.* Health implications of high dietary omega-6 polyunsaturated fatty acids [J]. *J Nutr Metab*, 2012, 2012: 539426.
- [29] LEE JY, PLAKIDAS A, LEE WH, *et al.* Differential modulation of Toll-like receptors by fatty acids: Preferential inhibition by n-3 polyunsaturated fatty acids [J]. *J Lipid Res*, 2003, 44(3): 479–486.
- [30] LEGRAND P, RIOUX V. The complex and important cellular and metabolic functions of saturated fatty acids [J]. *Lipids*, 2010, 45(10): 941–946.
- [31] JACK KS, BIN-ASARUDDIN MR, BHAWANI SA. Pharmacophore study, molecular docking and molecular dynamic simulation of virgin coconut oil derivatives as anti-inflammatory agent against COX-2 [J]. *Chem Biol Technol Ag*, 2022, 9(1):73.

(责任编辑: 于梦娇 蔡世佳)

## 作者简介



张欣怡, 硕士研究生, 主要研究方向为食物过敏。

E-mail: zxyi2022@163.com



车会莲, 博士, 教授, 主要研究方向为食品安全、食物过敏及营养。

E-mail: chehuilian@cau.edu.cn