



神经酰胺脂质体和乳酸菌发酵溶胞产物协同抗 皮肤敏感分子机制的预测及验证研究

刘昌杰, 龚雪*

(诗肤理皮肤生态学研究所, 诗理(上海)生物科技有限公司, 上海, 201100)

DOI:10.61369/CDCST.2025030015

摘要: 研究整合网络药理学与体外实验, 探究神经酰胺脂质体与乳酸菌发酵溶胞产物协同改善皮肤敏感的作用机制。通过 PubChem、PharmMapper 及 GeneCards 数据库获取靶点, 经 Jvenn 分析确定 340 个交集靶点(核心为 SRC、MAPK1、PIK3R1), 并开展 PPI 网络、GO/KEGG 富集分析。体外实验表明, 神经酰胺脂质体与乳酸菌发酵溶胞产物联用可调控 HaCaT 细胞中 SRC、MAPK1 和 AKT1 的 mRNA 表达, 显著增强紧密连接蛋白(Occludin、Claudin-1 和 Claudin-4) 表达, 同时抑制 p-PI3K/AKT 通路激活。该研究首次揭示二者协同抗皮肤敏感的分子机制, 为皮肤屏障修复策略开发提供依据。

关键词: 皮肤敏感; 神经酰胺; 乳酸菌发酵溶胞产物; 网络药理学; 实验验证

第一作者简介: 刘昌杰, 毕业于四川大学医学信息工程专业, 诗理(上海)生物科技有限公司执行董事, 长期从事生物技术及生物信息学应用的研究。E-mail:lcj3677@163.com。

通讯作者简介: 龚雪, 毕业于浙江大学、剑桥大学化学工程专业, 诗肤理皮肤生态学研究所首席科学家, 诗理(上海)生物科技有限公司总经理, 长期从事活性物机理研究、表皮病理性机理研究的研究。E-mail:gx615200@163.com。



刘昌杰



龚雪

敏感性皮肤作为一种全球性高发皮肤亚健康状态(流行病学研究显示发生率超过 60%)^[1], 其临床管理面临病理机制不明与诊疗标准缺失的困境。现有共识表明, 敏感性皮肤是由内源性遗传易感、神经应激等要素与外源性紫外辐射、理化刺激共同触发的临床综合征^[2], 主要表现为以面部为主的灼痛、紧绷感等主观症状并伴发微红肿客观体征^[3,4]。值得注意的是, 当前干预手段(如抗组胺药物)主要针对症状暂时缓解, 对皮肤屏障结构性缺陷的根源修复缺乏有效方案, 亟待开发基于病理机制的靶向干预策略。

乳酸菌发酵溶胞产物是乳酸乳球菌在特定条件下生长, 所获得的细胞被溶解后获得的, 包括菌体及发酵过程中合成的全部活性成分。这种可以产生乳酸的益生菌的溶胞产物对表皮的生长速率及其屏障功能都有积极效果, 可以有效促进皮肤更新进程, 通过影响表皮稳态关键因子(如屏障相关蛋白、细胞连接蛋白)的合成, 改善屏障功能及细胞结合力, 从而增进皮肤健康^[5,6]。乳酸菌发酵过程中会产生 L- 乳酸, 因此 L- 乳酸被作为乳酸菌发酵溶胞产物的标定活性成分。神经酰胺是以鞘氨醇为骨架的一类鞘脂类化合物。磷脂是细胞膜的主要成分, 角质层中 40% ~ 50% 的皮脂由神经酰胺构成, 是角质层重要组分之一, 能帮助皮肤锁水, 提高皮肤自我修复能力^[7,8]。由于神经酰胺作为高熔点的油溶性物质非常难溶解, 为了防止出现结晶、絮凝和团聚等影响功效, 利用特殊的包裹技术和

超高压设备, 可将 0.2 μm 以上的乳化体变成 200 nm 的纳米脂质体, 形成类磷脂的双分子层, 能有效地在细胞间隙形成脂质屏障, 防止水分流失并保持皮肤的湿润度。神经酰胺提供了肌肤同源成分的支持和保护, 而乳酸则促进了神经酰胺的渗透和吸收。这种协同作用可以加强皮肤屏障功能, 提高皮肤保湿能力, 同时促进细胞更新和胶原蛋白合成, 从而有效恢复皮肤症状。

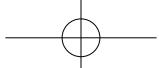
网络药理学是大数据和人工智能时代药物系统性研究的新兴前沿学科, 强调从系统层次和生物网络的整体角度出发来理解疾病, 解析药物分子以及治疗对象之间的分子关联规律, 揭示药物分子的系统性药理机制, 从而指导新药及化妆品领域的研发。本研究基于网络药理学方法分析神经酰胺和乳酸菌发酵溶胞产物改善皮肤敏感及脆弱过程中活性成分、作用靶点及多种途径。通过体外实验论证两者在特定比例复配物下的作用机制, 为两种活性成分的协同效应提供机制解析, 更为功效护肤品精准开发奠定方法论基础。

1 材料与方法

1.1 网络药理学分析

1.1.1 数据库及软件

Genecards 数据库 (<https://www.genecards.org>)、Metascape 数据库 (<https://metascape.org>)、STRING 12.0 数据库 (<https://string-db.org>)



string-db.org）、PharmMapper数据库（<http://lilab-ecust.cn/pharmmapper/index.html>）

1.1.2 神经酰胺脂质体和乳酸菌发酵溶胞产物指标的预测

通过 PubChem 数据库下载活性成分的 2D 结构的 SDF 格式文件，导入 PharmMapper 平台，获取神经酰胺和 L- 乳酸的可能对应的靶点。

1.1.3 皮肤敏感及脆弱靶点预测

在 Genecards 数据库中输入关键词“Fragile skin”或“Skin sensitivity”对皮肤敏感及脆弱相关靶点进行获取。将神经酰胺脂质体和乳酸菌发酵溶胞产物预测的靶点与皮肤敏感及脆弱相关靶点经 Jvenn 在线工具获得交集靶点，即神经酰胺脂质体和乳酸菌发酵溶胞产物协同改善皮肤敏感及脆弱的潜在靶点。

1.1.4 蛋白质相互作用网络构建

为分析靶蛋白之间的联系，将交集靶点导入 STRING 平台（<https://string-db.org/>）构建神经酰胺脂质体和乳酸菌发酵溶胞产物改善皮肤敏感及脆弱的蛋白相互作用（protein–protein interaction, PPI）网络图。置信度设置为大于 0.9，其结果保存为 TSV 格式。数据上传至 Cytoscape 3.7.2 软件可视化绘图，调用“Tools”中的“generate style from statistics”分析工具，依据 degree 值调整颜色、大小筛选核心靶点，构建 PPI 图。

1.1.5 GO 和 KEGG 通路富集分析

为进一步分析交集靶点可能影响的生物信号通路，将交集靶点导入 Metascape 数据库，物种选择为 H.sapiens，P Value Cutoff 设置为 0.01，其余保留默认设置，进行基因本体（GO）功能和 KEGG 通路富集分析。按照 P 值升序结果，对 GO 功能分析中的生物过程、细胞成分、分子功能均取前 10 个条目，KEGG 通路富集结果选择前 20 个条目，通过微生信网站（<http://www.bioinformatics.com.cn/>）制作柱状图做可视化处理。

1.2 HaCaT 细胞体外实验验证

1.2.1 细胞株、药物和试剂

人永生化角质细胞 HaCaT 细胞株购自中国科学院上海细胞库；DMEM 培养基（货号：MA0213）、青霉素—链霉素（货号：MA0110）、0.25% 胰酶消化液含 EDTA（货号：MA0233），大连美仑生物技术有限公司；组胺（C₅H₉N₃，货号：H99632），上海吉至生化科技有限公司；

神经酰胺脂质体（制备方法：将甘油、神经酰胺 NS（神经酰胺 2 前体）、神经酰胺 NG（神经酰胺 3 前体）、胆甾醇加热混合；随后将双丙甘醇与氯化卵磷脂预混后加入均质；再混合剩余成分均质，过滤后检验灌装，成品含神经酰胺 3 含量 0.3%，神经酰胺 2 含量 0.7%）、乳酸菌发酵溶胞产物（实验室自制，L- 乳酸 > 7 mg/mL）；AKT 抗体，美国 Cell Signaling Technology 公司，货号：4691；p-AKT 抗体，美国 Cell Signaling Technology 公司，货号：4060；PI3K 抗体，美国 Cell Signaling Technology 公司，货号：3011；p-PI3K 抗体，美国 Cell Signaling Technology 公司，货号：17366；HRP 标记的山羊抗兔 IgG，上海碧云天生物技术有限公司，货号：A0208；BCA 蛋白浓度测定试剂盒（货号：MA0082）、PAGE 凝胶超快速制备试剂盒（货号：MA0382），大连美仑生物技术有限公司；超敏 ECL 化学发光试剂盒（货号：P10300），新赛美生物科技有限公司。

1.2.2 仪器

Synergy H1 型酶标仪，美国 BioTek 公司；371 型 CO₂ 细胞培养箱，美国 Thermo Fisher 公司；CFX384 Touch 型荧光定量 PCR 仪，美国 Bio-Rad 公司。

1.2.3 细胞培养

HaCaT 细胞采用含 1% 青霉素—链霉素和 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基，置于 5% CO₂ 37 °C 培养箱中培养。待细胞密度达 80%~90% 时，用 0.25% 胰酶消化液含 EDTA 消化传代。

1.2.4 RT-qPCR 检测相关 mRNA 表达

取对数生长期的 HaCaT 细胞，胰酶消化后离心重悬，以每孔 2 × 10⁵ 个细胞数量接种于 6 孔板中。待细胞贴壁后分为对照组、模型组和各给药组，其中给药组的质量比为 3 : 1、5 : 1、8 : 1 的神经酰胺脂质体和乳酸菌发酵溶胞产物的混合液。然后给药孵育 1 h 后，模型组和给药组均加入 40 μm 的组胺干预 72 h。TRIzol 法提取细胞总 RNA，采用逆转录试剂盒合成 cDNA，并进行实时荧光定量 PCR 反应。借助 PubMed Primer Blast 设计引物，所有引物由上海捷瑞生物工程有限公司合成，序列见表 1。反应条件：95 °C 5 min；95 °C 10 s，60 °C 30 s，循环 40 次。根据 PCR 中 DNA 扩增超过荧光阈值时得到的循环数 Ct，以目的基因 / 内参基因的值做对比，得到目的基因的表达量。

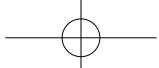


表1 PCR引物序列

基因名称	引物序列
GAPDH	上游: 5' -GTCTCCCTCTGACTTCAACAGCG-3' 下游: 5' -ACCACCCCTGTTGCTGTAGCCAA-3'
Src	上游: 5' -CTGCTTGGCGAGGTGTGGATG-3' 下游: 5' -CCACAGCATACAACTGCACCAG-3'
MAPK1	上游: 5' -ACACCAACCTCTCGTACATCGG-3' 下游: 5' -TGGCAGTAGGTCTGGTCTCAA-3'
AKT1	上游: 5' -TGGACTACCTGCACCGAGAA-3' 下游: 5' -GTGCCGCAAAGGTCTTGTGG-3'
Occludin	上游: 5' -ATGGCAAAGTGAATGACAAGCGG-3' 下游: 5' -CTGTAACGAGGCTGCCTGAAGT-3'
Claudin-1	上游: 5' -GTCTTGACTCCTGCTGAATCTG-3' 下游: 5' -CACCTCATCGTCTCCAAGCAC-3'
Claudin-4	上游: 5' -AGTCAAGGTGTACGACTCGT-3' 下游: 5' -CGCTTCATCCTCCAGGCAGTT-3'

1.2.5 Western Blot实验

将对数生长期的HaCaT细胞消化，细胞计数，按每孔 2×10^5 个细胞的数量接种于6孔板中。接种12 h后分为对照组、模型组和各给药组，其中给药组的质量比为3:1、5:1、8:1的神经酰胺脂质体和乳酸菌发酵溶胞产物的混合液。然后给药孵育1 h后，模型组和给药组均加入40 μ m的组胺干预72 h。提取细胞总蛋白，进行BCA蛋白定量。制备蛋白样品，使用10%SDS-PAGE凝胶进行蛋白质分离，转膜后使用快速封闭液封闭10~15 min，并与特异性一抗p-PI3K (1:1000)、PI3K (1:1000)、AKT (1:1000)及GAPDH (1:10000)抗体4 °C过夜孵育。TBST洗涤条带，加入二抗室温孵育40 min，洗膜4次后使用增强化学发光(ECL)检测显影。使用GAPDH为内参。

1.2.6 统计学处理方法

所有统计结果数据可视化及绘制图片均在GraphPad Prism 8.0中完成，计量资料结果以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。通过t检验和one-way ANOVA进行差异分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2. 结果与讨论

2.1 网络药理学分析

2.1.1 神经酰胺脂质体和乳酸菌发酵溶胞产物预测指标

通过PharmMapper数据库神经酰胺和L-乳酸分别获得了285个靶点和145个靶点。

2.1.2 皮肤敏感、脆弱靶点和二者交集靶点

从Genecards数据库获得皮肤敏感及脆弱共14703个靶

点，在Jvenn中神经酰胺脂质体和乳酸菌发酵溶胞产物靶点与皮肤敏感及脆弱靶点取交集，得到340个交集靶点，见图1。

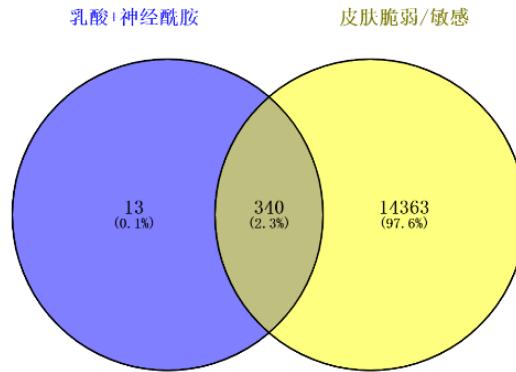


图1 乳酸菌发酵溶胞物(L-乳酸)及神经酰胺活性成分靶点与皮肤敏感/脆弱相关靶点的韦恩图

2.1.3 PPI网络分析

在STRING数据库中上传340个交集靶点，将置信度>0.9的数据结果导入到Cytoscape 3.7.2软件中进行PPI网络图的可视化，见图2。该网络图共有264个节点和854条边，依据Degree值设定节点大小和颜色的深浅，圆形直径越大表明该节点蛋白在网络中的关联度就越高，颜色也越深。节点度值前5的是SRC、PIK3R1、MAPK1、AKT1、HSP90AA1，详细信息见表2。以上核心靶点在整个网络中影响能力大，受其他靶点的影响小，在改善皮肤敏感及脆弱中发挥重要的作用。

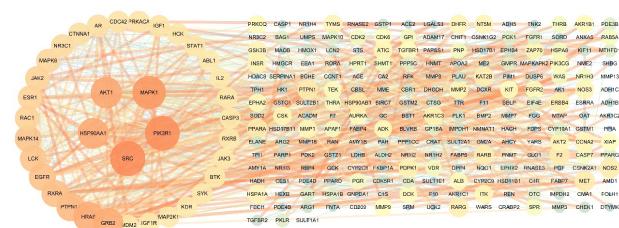
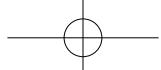


图2 乳酸菌发酵溶胞物(L-乳酸)及神经酰胺改善皮肤敏感/脆弱潜在靶点的PPI网络图

表2 神经酰胺脂质体和乳酸菌发酵溶胞产物改善皮肤敏感及脆弱核心靶点表

编号	Uniprot ID	核心靶点	靶点名称	度值
1	P12931	Src	Proto-oncogene tyrosine-protein kinase Src	46
2	P27986	PIK3R1	Phosphatidylinositol 3-kinase regulatory subunit alpha	45
3	P28482	MAPK1	Mitogen-activated protein kinase 1	42
4	P31749	AKT1	RAC-alpha serine/threonine-protein kinase	37
5	P07900	HSP90AA1	Heat shock protein HSP 90-alpha	36



2.1.4 GO和KEGG富集分析

本部分对340个交集靶点利用Metascape在线数据库进行分析，旨在揭示神经酰胺脂质体和乳酸菌发酵溶胞产物改善皮肤敏感及脆弱的可能作用机制。根据P值小于0.01得到生物过程247个条目，细胞组分72个条目，分子功能104个条目。生物过程主要集中于激素反应(response to hormone)、含核碱的小分子代谢过程(nucleobase-containing small molecule metabolic process)、蛋白质磷酸化(protein phosphorylation)等方面；细胞组成主要包括囊泡腔(vesicle lumen)、膜筏(membrane raft)、液泡腔(vacuolar lumen)等部位；分子功能主要涉及磷酸转移酶活性(phosphotransferase activity)、核受体活性(nuclear receptor activity)、羧酸结合(carboxylic acid binding)等方面，见图3。KEGG富集结果表明，交集靶点涉及到154条信号通路($P < 0.01$)，根据P值选取前20个条目进行可视化分析。从图看出与皮肤敏感及脆弱相关的有PI3K-AKT信号通路(PI3K-AKT signaling pathway)、黏接结(Adherens junction)、Th17细胞分化(Th17 cell differentiation)等等，见图4。磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)是参与脂质信号转导途径的细胞内激酶^[9]，AKT是一种丝氨酸/苏氨酸激酶，参与PI3K下游关键蛋白^[10]。据报道，牛皮癣皮肤损伤的角质形成细胞中PI3K和AKT蛋白水平表达明显高于正常皮肤细胞^[11]。Jeon等研究表明抑制PI3K/AKT信号通路可以有效减轻皮肤炎症反应^[12]。此外，PI3K/AKT信号与表皮中角质形成细胞的增殖和分化密切相关^[13]。

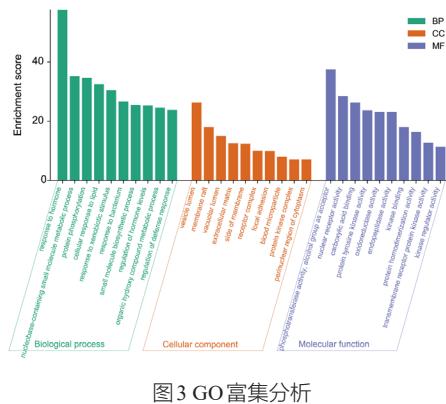


图3 GO富集分析

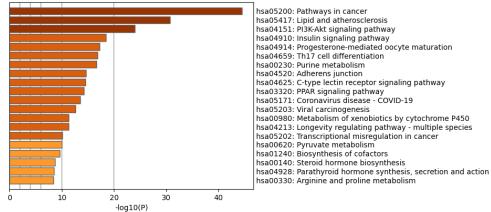


图4 KEGG通路分析

2.2 体外HaCaT细胞验证

2.2.1 乳酸菌发酵溶胞产物、神经酰胺脂质体对组胺诱导的HaCaT细胞中PPI网络核心靶点的影响

PCR结果显示，与对照组相比，模型组的核心靶点(SRC、MAPK1)表达量显著降低($P < 0.05$)。HaCaT细胞在神经酰胺脂质体与乳酸菌发酵溶胞产物3:1的质量比下，SRC和MAPK1的mRNA的相对表达量与模型组相比没有显著性差异。当质量比加到5:1和8:1时，SRC、MAPK1 mRNA的相对表达量与模型组相比显著增加($P < 0.05$)。然而，AKT1靶点在模型组中相对正常组表达量更高的，当HaCaT细胞受到质量比8:1刺激时，AKT1 mRNA的相对表达量与模型组相比显著降低($P < 0.05$)。通过实验结果可以看出，神经酰胺脂质体与乳酸菌发酵溶胞产物在皮肤敏感中扮演重要角色，并通过影响特定基因的表达水平来调节皮肤反应。SRC是细胞蛋白酪氨酸激酶中的膜相关Src家族激酶之一，过表达能促进人角质形成细胞迁移影响到皮肤伤口的愈合^[14]。AKT1是一个重要的细胞增殖和存活相关的激酶，神经酰胺脂质体和乳酸菌发酵溶胞产物可能调节AKT1的活性影响皮肤细胞的生长和存活能力，帮助改善皮肤脆弱症状。AKT活性在角质形成细胞分化过程中增加，归因于AKT1的特异性激活，此激活可能参与调节角质形成细胞的增殖、分化和存活^[15]。MAPK1是丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)通路中的一个重要成员，参与调节细胞应激反应和炎症反应。通过影响MAPK1的活性，神经酰胺脂质体和乳酸菌发酵溶胞产物可能调控皮肤细胞的炎症状态，减轻皮肤敏感症状。该研究表明在神经酰胺脂质体与乳酸菌发酵溶胞产物的刺激下，皮肤细胞中SRC和MAPK1基因表达受到显著调控，而AKT1基因表达则呈现相反的趋势。这些结果为深入理解皮肤敏感的分子机制提供了重要线索。

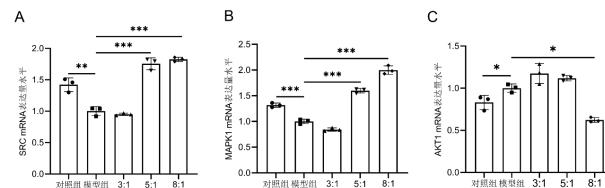
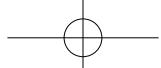


图5 各组SRC、MAPK1和AKT1 mRNA的表达水平

2.2.2 乳酸菌发酵溶胞产物、神经酰胺脂质体对组胺诱导的HaCaT细胞中紧密连接蛋白mRNA表达水平的影响

在人角质形成细胞中，紧密连接蛋白可以通过与其他细胞连接蛋白和细胞骨架蛋白相互作用，参与调节细胞内



外信号传导的平衡,以及细胞极性的维护。由图6实验结果显示,与对照组相比,模型组的紧密连接蛋白(Occludin、Claudin-1、Claudin-4)表达量显著降低($P < 0.05$);与模型组比较,不同质量比给药组皆可显著增加Occludin的表达量且呈剂量依赖性。当神经酰胺脂质体与乳酸菌发酵溶胞产物在8:1的质量比下时,Claudin-1和Claudin-4相比模型组的mRNA表达水平显著增加($P < 0.05$)。表明乳酸菌发酵溶胞产物、神经酰胺脂质体在达到一定质量比时能增强细胞中紧密连接蛋白(Occludin、Claudin-1、Claudin-4)的表达,具有修复皮肤黏膜屏障功能。

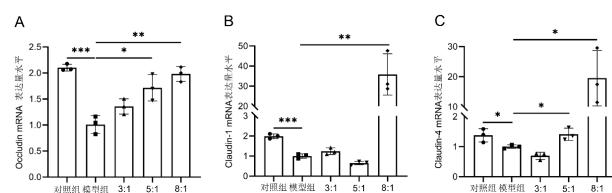


图6各组细胞中Occludin、Claudin-1、Claudin-4 mRNA的表达水平
2.2.3 乳酸菌发酵溶胞产物、神经酰胺脂质体对组胺诱导的HaCaT细胞中PI3K-AKT通路

通过Western blot方法检测PI3K-AKT信号通路蛋白表达情况。图7结果显示,与对照组相比,模型组HaCaT细胞中p-PI3K、AKT蛋白表达明显升高($P < 0.05$),与模型组相比,不同比例下的神经酰胺脂质体与乳酸菌发酵溶胞产物作用后,p-PI3K、AKT蛋白表达明显降低($P < 0.05$)。提示神经酰胺脂质体与乳酸菌发酵溶胞产物的混合物通过抑制PI3K-AKT通路发挥治疗作用。通过抑制PI3K-AKT信号通路,该复合物能够有效减轻组胺诱导的细胞炎症反应,从而使细胞对炎症刺激的反应更加稳定,并表现出良好的炎症抑制效应。这表明复配物具有潜力作为改善炎症性皮肤的候选物质。Cheng等研究发现外部环境刺激皮肤细胞会造成氧化损伤,且证明PI3K-AKT通路及PIK3R1基因在皮肤修复中发挥重要作用^[16]。因此,神经酰胺脂质体和乳酸菌发酵溶胞产物通过作用于这些关键靶点,有望实现多靶点、多通路的协同效应,从而改善皮肤敏感和脆弱症状,为皮肤健康提供全方位的支持和保护。

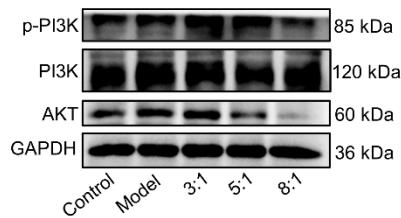


图7不同比例下的神经酰胺脂质体与乳酸菌发酵溶胞产物对组胺诱导的HaCaT细胞中PI3K-AKT信号通路

3. 结论与展望

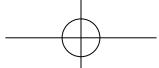
皮肤敏感,从医学角度来看,通常不被视为一种皮肤疾病,而是指皮肤对多种因素产生主观感觉症状,表现为皮肤反应性高、耐受性差,甚至容易过敏^[17]。敏感皮肤在日常生活状态下,没有明显的皮肤损伤或皮肤疾病的症状,其主要特点是干燥、紧绷和发红。当皮肤受到略微刺激时,可能会产生瘙痒、脱屑,甚至感到灼热和刺痛等不适感。敏感性皮肤的产生和机制复杂多变,暂无特效治疗的方法^[18]。

本研究通过多维度机制解析证实:神经酰胺脂质体与乳酸菌发酵溶胞产物可通过调节SRC、PIK3R1、MAPK1、AKT1等枢纽蛋白,协同调控PI3K-AKT信号通路及黏附连接通路(Adherens junction),改善敏感皮肤的特征性反应。体外实验进一步验证,在组胺刺激的HaCaT细胞模型中,二者协同作用,可以降低PI3K/AKT通路关键蛋白表达,重建紧密连接蛋白网络,有效修复皮肤屏障功能。这为敏感性皮肤的多靶点干预提供了新策略。

在未来研究将着重解析以下关键层面:深入探索PIK3R1等核心靶点的上下游调控网络,明确其与PI3K/AKT信号通路的级联响应机制;系统解析非PI3K/AKT通路(如MAPK通路)的潜在贡献权重,完善多通路互作的理论框架;后续将开展组合制剂在敏感皮肤人群的功效动态验证,构建功效指标与皮肤生物标志物的关联模型,为神经酰胺脂质体-乳酸菌发酵溶胞产物协同体系在化妆品原料开发中的应用提供科学依据。

参考文献

- [1] 何黎.中国敏感性皮肤临床诊疗指南(2024版)[J].中国皮肤性病学杂志,2024(05):473-81.
- [2] RICHTERS R J, UZUNBAJAKAVA N E, HENDRIKS J C, et al. A model for perception-based identification of sensitive skin [J]. J Eur Acad Dermatol Venereol, 2017(2): 267-73.
- [3] MORIZOT F, GUINOT C, LOPEZ S, et al. Sensitive skin: Analysis of symptoms, perceived causes and possible mechanisms [J]. Cosmetics and toiletries, 2000(115): 83-89.
- [4] 何黎,郑捷,马慧群,等.中国敏感性皮肤诊治专家共识[J].中国皮肤性病学杂志,2017(01):1-4.
- [5] HAUSMANN C, HERTZ-KLEPTOW D, ZOSCHKE C, et al. Reconstructed Human Epidermis Predicts Barrier-Improving Effects of Lactococcus lactis Emulsion in Humans [J]. Skin Pharmacol Physiol, 2018(31): 1-10.



- 2019(2): 72–80.
- [6]CUI H, FENG C, ZHANG T, et al. Effects of a lotion containing probiotic ferment lysate as the main functional ingredient on enhancing skin barrier: a randomized, self-control study [J]. *Sci Rep*, 2023(1): 16879.
- [7]CODERCH L, LOPEZ O, DE LA MAZA A, et al. Ceramides and skin function [J]. *Am J Clin Dermatol*, 2003(2): 107–29.
- [8]UCHIDA Y, PARK K. Ceramides in Skin Health and Disease: An Update[J]. *Am J Clin Dermatol*, 2021(6): 853–66.
- [9]FRANKE T F. PI3K/Akt: getting it right matters [J]. *Oncogene*, 2008(50): 6473–88.
- [10]邢潇匀, 马蕾. PI3K/AKT信号通路在银屑病发病机制中的研究进展 [J]. 国际医药卫生导报, 2022(05): 594–7.
- [11]王昊, 冉立伟, 惠珂, 等. Survivin和PI3K、Akt在寻常型银屑病皮损角质形成细胞中的表达及其相关性 [J]. 南方医科大学学报, 2017(11): 1512–6.
- [12]JEON Y J, KIM B H, KIM S, et al. Rhododendrin ameliorates skin inflammation through inhibition of NF-κappaB, MAPK, and PI3K/Akt signaling[J]. *Eur J Pharmacol*, 2013(1–3): 7–14.
- [13]ZHANG M, ZHANG X. The role of PI3K/AKT/FOXO signaling in psoriasis[J]. *Arch Dermatol Res*, 2019(2): 83–91.
- [14]WU X, YANG L, ZHENG Z, et al. Src promotes cutaneous wound healing by regulating MMP-2 through the ERK pathway [J]. *Int J Mol Med*, 2016(3): 639–48.
- [15]THRASH B R, MENGES C W, PIERCE R H, et al. AKT1 provides an essential survival signal required for differentiation and stratification of primary human keratinocytes [J]. *J Biol Chem*, 2006(17): 12155–62.
- [16]CHENG W, SHI X, ZHANG J, et al. Role of PI3K–AKT Pathway in Ultraviolet Ray and Hydrogen Peroxide–Induced Oxidative Damage and Its Repair by Grain Ferments [J]. *Foods*, 2023(4): 806.
- [17]樊琳娜, 贾焱, 蒋丽刚, 等. 敏感皮肤成因解析及化妆品抗敏活性评价进展 [J]. 日用化学工业, 2015(07): 409–14.
- [18]兰宇贞, 谢志强. 敏感性皮肤研究进展 [J]. 中国中西医结合皮肤性病学杂志, 2013(03): 199–201.

Prediction and Validation Study of the Synergistic Anti-skin Sensitivity Molecular Mechanism of Ceramide Liposomes and Lactic Acid Bacteria Fermentation Lysate in a Pharmaceutical Context

Liu Chang-jie, Gong Xue*

(SIMPLY THIS Skin Ecology Research Institute, Shili (Shanghai) Biotechnology Co., Ltd., Shanghai, 201100)

Abstract : This study integrated network pharmacology and in vitro experiments to investigate the synergistic mechanism of ceramide liposomes and lactobacillus-fermented lysate in ameliorating skin sensitivity. Targets for ceramide/lactic acid and skin-sensitivity-related targets were retrieved from the PubChem, PharmMapper, and GeneCards databases. Jvnn analysis identified 340 overlapping targets (core targets: SRC, MAPK1, PIK3R1), followed by protein-protein interaction (PPI) network construction and Gene Ontology (GO)/Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analyses. In vitro experiments demonstrated that the combined application of ceramide liposomes and lactobacillus-fermented lysate regulated the mRNA expression of SRC, MAPK1, and AKT1 in HaCaT cells, significantly enhanced the expression of tight junction proteins (Ocludin, Claudin-1, and Claudin-4), and concurrently inhibited the activation of the p-PI3K/AKT pathway. This study is the first to reveal the molecular mechanism underlying the synergistic anti-skin sensitivity effects of these two components, providing a foundation for developing novel skin barrier repair strategies.

Keywords : skin sensitivity; ceramide; lactic acid bacteria fermentation lysate; network pharmacology; experimental validation

