

皮肤光老化动物模型制备要素和受试物数据的文献分析

邓亚胜, 林 江, 甘池伶, 曾官凤, 黄嘉茵, 邓慧芳, 麻颖贤, 韩丝银

(广西中医药大学基础医学院, 南宁 530200)

[摘要] **目的** 分析皮肤光老化动物模型的造模要素和受试物情况, 为该动物模型的制备和完善提供参考, 也为科学评价受试物提供依据。**方法** 通过在中国知网、万方、PubMed 数据库中检索收集 2010—2022 年皮肤光老化动物模型制备的相关文献, 对文献中记载的模型动物种类、性别、造模方法、造模周期、辐射光源与造模部位距离、累计辐射量、检测指标、受试物 (药物或治疗手段) 内容进行整理归纳, 建立数据库后进行统计分析。**结果** 筛选出 257 篇符合纳入标准的文献, 其中模型动物使用最多的是 SKH-1 无毛小鼠, 其次为 SD 大鼠和 KM 小鼠; 动物的性别选择以单一雌性为主, 常采用中波紫外线 (ultraviolet B, UVB) 作为辐射光源, 辐射光源与造模部位的距离多为 30 cm, 造模周期多控制在 40 ~ 60 d; 长波紫外线 (ultraviolet A, UVA) 累计照射剂量在 100 ~ 150 J/cm² 的所占比例最大, 中波紫外线 (ultraviolet B, UVB) 累计照射剂量在 5 ~ 10 J/cm² 的所占比例最大。模型建立后采用的检测指标为皮肤组织病理检查、皮肤组织匀浆、纤维染色、免疫印迹检查等。受试物包括中药、中药提取物、中成药、中药复方、化学药、生物制剂以及其他治疗手段, 同时皮肤光老化动物模型还应用于中医外治、物理疗法、阳性对照药方面的临床疗效研究。**结论** 皮肤光老化动物实验常选用 SKH-1 雌性无毛小鼠, 采用 UVB 作为辐射光源, 造模周期多控制在 40 ~ 60 d, UVB 累计照射剂量在 0 ~ 10 J/cm², 按照最小红斑量 (minimum erythema dose, MED) 逐周递增方式进行造模, 具有成模率高、重现性好以及与临床疾病高度吻合等优点。

[关键词] 皮肤光老化; 动物模型; 造模要素; 受试物; SKH-1 无毛小鼠; 中波紫外线

[中图分类号] Q95-33; R-332 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2023)04-0406-09



Literature Analysis of the Preparation Elements of Animal Models of Skin Photoaging and the Data of Subjects

DENG Yasheng, LIN Jiang, GAN Chiling, ZENG Guanfeng, HUANG Jiayin, DENG Huifang, MA Yingxian, HAN Siyin

(School of Basic Medical Sciences, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China)

Correspondence to: HAN Siyin (ORCID: 0000-0001-8562-7723), E-mail: 1715252639@qq.com

[ABSTRACT] **Objective** To analyze the modeling elements and subjects of the animal model of skin photoaging, and to provide a reference for the preparation and improvement of the model and a basis for the scientific evaluation of the subject. **Methods** By searching and collecting relevant literature on the preparation of animal models of skin photoaging from 2010 to 2022 in the China National Knowledge Infrastructure, Wanfang Database, and PubMed database, the model animal species, gender, modeling method, modeling cycle, radiation source and its distance from the modeling site, cumulative radiation volume, detection indicators, and subjects (drugs or treatments) recorded in the literature were collated

[基金项目] 广西自然科学基金项目“合浦珍珠提取液对中波紫外线诱导人皮肤角质形成细胞光老化干预机制的基础研究”(2020GXNSFBA159039); 广西高校中青年教师科研基本能力提升项目“水解南珠粉对人体皮肤美白及抗衰老作用机制的研究”(2019KY0312); 广西中医药大学引进博士科研启动基金项目“南珠粉及水解成分的美白活性物质初探和合成筛查研究”(2018BS013); 2021 年国家级大学生创新创业训练计划项目“南珠粉对 II 级烫伤小鼠皮肤的修复作用研究”(202110600005); 2019 年广西中医药大学校级科研青年基金项目“南珠提取物对光老化人皮肤细胞的干预作用研究”(2019QN003)

[第一作者] 邓亚胜 (1993—), 男, 硕士研究生, 研究方向: 特色方剂的配伍及成药化研究。E-mail: 1440362586@qq.com

[通信作者] 韩丝银 (1991—), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 海洋药物研究及产品开发工作。E-mail: 1715252639@qq.com。ORCID: 0000-0001-8562-7723

and summarized, and a database was established for statistical analysis. **Results** 257 articles that met the inclusion criteria were selected. Among them, the most common animal model was SKH-1 hairless mice, followed by SD rats and KM mice; the gender of animals was mainly female, medium-wave ultraviolet B (UVB) was often used as the radiation source, the distance between the radiation source and the modelling site was mostly 30 cm, and the modelling period was usually 40-60 days. The cumulative dose of long-wave ultraviolet A (UVA) was between 100-150 J/cm², and the cumulative dose of UVB was between 5-10 J/cm². The tests used after model establishment were skin histopathological examination, skin tissue homogenization, fibre staining, immunoblotting, etc. Subjects included Chinese herbal medicines, Chinese herbal extracts, Chinese patent medicines, Chinese herbal compound medicines, chemical drugs, biological agents and other treatments, while the animal model of skin photoaging was also used for clinical efficacy studies of external Chinese medicine, physiotherapy and positive control drugs. **Conclusion** In skin photoaging animal experiments, female SKH-1 hairless mice are often used, and UVB is used as the radiation source. The modeling period is usually 40-60 days, and the minimum erythema dose (MED) is incremented week by week. The cumulative UVB irradiation dose ranges from 0 to 10 J/cm², which has the advantages of high success rate, good reproducibility and high similarity with clinical disease.

[Key words] Skin photoaging; Animal model; Modeling element; Subject; SKH-1 hairless mice; Ultraviolet B (UVB)

皮肤光老化是指在紫外线 (ultraviolet, UV) 辐射下, 表皮生长因子受体和细胞因子受体被激活后发生的一系列激酶级联反应, 导致皮肤弹性下降、变粗糙、皱纹形成的过程^[1]。皮肤光老化发病的主要外在诱因因素是 UV 辐射, 其次为环境污染物^[2-3]。UV 辐射对人体的损害主要来自长波紫外线 (UVA, 波长 315~400 nm) 和中波紫外线 (UVB, 波长 280~315 nm)。UV 辐射引起皮肤光老化的机制主要表现在炎症反应、DNA 损伤、氧化应激、免疫抑制、细胞凋亡、细胞老化等方面^[3-4]。临床上, 皮肤光老化主要表现为肤色丧失、色素斑、表皮粗糙增厚、皱纹增多, 同时与痤疮、脂溢性角化、色素斑及皮肤肿瘤等疾病的产生紧密相关^[5-6]。皮肤光老化不仅会使患者产生严重的心理负担, 也会严重影响患者正常的生活社交与工作, 皮肤光老化导致的皮肤肿瘤等疾病出现甚至会对患者家庭和经济造成巨大负担, 已经成为 21 世纪最严重的公共卫生问题之一^[7-8]。

近年来, 防晒霜等护肤品被广泛应用于防治 UV 辐射, 具备预防皮肤光老化、色素沉着、DNA 损伤和光致癌方面的功效, 但其在逆转皮肤光老化方面的效用不够显著^[9]。维甲酸、5-氟尿嘧啶以及抗氧化剂等药物对逆转光损伤皮肤起到一定程度的作用, 但作用有限, 并伴有诸多使用条件限制及毒副作用^[10-11]。因此, 进一步扩大和加深对皮肤光老化病理机制发生发展的研究, 通过药物干预皮肤光老化进展从而减轻疾病症

状是现阶段研发药物的重点, 而合适的动物模型是防治和研究皮肤光老化疾病的重要基础。本文对近 13 年来涉及皮肤光老化动物模型制备的文献进行综合分析, 旨在为皮肤光老化动物模型建立的动物种属及性别选择、造模方法 (包括造模周期、辐射光源与造模部位距离、累计辐射量)、检测指标等综合因素提供参考。

1 文献检索及分析方法

1.1 文献检索

利用 PubMed 数据库、中国知网数据库、万方数据库检索 2010 年 1 月 1 日至 2022 年 1 月 1 日国内外公开发表的有关皮肤光老化动物模型的相关文献。中文数据库以“皮肤光老化”并且“动物模型”或“鼠”或“猪”或“兔”或“犬”或“猴”为主题词进行检索, 在 PubMed 数据库中以“Skin Photoaging” AND “Animal Model” OR “Mouse” OR “rat” OR “Pig” OR “Rabbit” OR “Dog” OR “Monkey”为主题词进行检索。

1.2 文献纳入及排除标准

纳入标准: 选取皮肤光老化动物模型造模方法完整及过程清晰的文献。排除标准: 排除文献中造模方法不全、皮肤光老化合并其他疾病、体外细胞实验、硕博学位论文、会议论文、文献研究、科技成果等文献。

1.3 资料提取与处理

采用 Note Express 软件对录入文献进行管理。初步

检索获得中国知网 199 篇、万方 219 篇、PubMed 816 篇,共 1 234 篇相关文献。经查重后排除 176 篇,入选 1 058 篇。进一步通过阅读题目、摘要、全文信息,根据排除标准删除与纳入标准不符的文献 801 篇,最终纳入 257 篇文献。将文献中涉及的模型动物种属、性别、造模方法、造模周期、辐射光源与造模部位的距离、累计辐射量、检测指标等信息录入 Microsoft Excel 2019 软件,建立皮肤光老化动物模型数据集,对录入的数据进行整合、统计和分析,总结造模要素和受试物数据。

2 皮肤光老化动物模型的制备要素

2.1 动物种类和性别

对 257 篇文献进行统计分析,发现模型制备过程中使用动物频次最多的是小鼠(187 次,72.76%),其中 SKH-1 无毛小鼠 60 次(占比 23.34%)、KM 小鼠 52 次(占比 20.23%)、BALB/c 小鼠 23 次(占比 8.95%),其次为大鼠(64 次,24.9%),其中 SD 大鼠 53 次(占比 20.62%)。动物种类及频次分布详见表 1。需要说明,文献检索时不局限于鼠、猪两个物种,同时也对兔、犬、猴等动物进行检索,结果显示使用兔的中外文文献共 42 篇,但阅读全文后发现均被排除标准所剔除,而犬、猴等动物的检索结果为 0。此外,纳入文献中单独使用雌性动物 122 篇(47.47%),单独使用雄性动物 74 篇(28.79%),雌雄各半 29 篇(11.28%),雌雄不限 6 篇(2.33%),雌雄不详 26 篇(10.12%)。

2.2 辐射光源与造模周期

根据文献统计数据结果,257 篇文献中皮肤光老化动物模型制备的辐射光源中,UVB 使用频次最多(120,46.89%),UVA 使用频次为 17 次(占比 6.62%),而 UVA+UVB 联用的频次为 118 次(占比 45.91%),具体辐射光源不详的 2 次(占比 0.78%)。

皮肤光老化动物模型的造模周期较长,通常采用的造模时长可分为 6 个时间段:≤20 d、21~40 d、41~60 d、61~80 d、81~100 d、≥100 d,各时间段的频次分别为 34、38、62、37、58 和 19,其中主要分布在 41~60 d(占比 24.12%)和 81~100 d(占比 22.50%),使用这两种造模周期进行造模的总占比达 46.69%;另外,造模周期信息不详的有 9 次(占比 3.50%)。

2.3 辐射光源与造模部位的距离以及辐射剂量

符合纳入标准的 257 篇文献中,109 篇描述了辐射光源与模型动物造模部位之间的照射距离,辐射光源

表1 皮肤光老化模型的动物选择种类及频次分布
Table 1 Species and frequency distribution of skin photoaging model animals

动物种类	品种品系	频次(所占百分比)
Animal species	Breed or strain	Frequency (percentage/%)
小鼠 Mouse	SKH-1 无毛小鼠	60 (23.34)
	KM 小鼠	52 (20.23)
	BALB/c 小鼠	23 (8.95)
	HR-1 无毛小鼠	22 (8.56)
	ICR 小鼠	20 (7.78)
	C57BL/6 小鼠	3 (1.17)
	Swiss 小鼠	3 (1.17)
	HRM-2 无毛小鼠	2 (0.78)
大鼠 Rat	未知种类无毛小鼠	2 (0.78)
	SD 大鼠	53 (20.62)
	Wistar 大鼠	8 (3.11)
	F344 大鼠	2 (0.78)
豚鼠 Guinea pig	HWY/Slc 无毛大鼠	1 (0.39)
	未知种类	4 (1.56)
猪 Pig	广西巴马小型猪	2 (0.78)

与造模部位距离最常见为 30 cm(36 次,33.03%),其次为 40 cm(21 次,19.27%),详见表 2。

在 257 篇文献中有 86 篇对紫外线累计照射剂量进行了说明,其中 UVA 占 9 篇,UVB 占 20 篇,UVA+UVB 占 57 篇。将辐射光源 UVA+UVB 进行分开统计,文献中采用 UVA 作为辐射光源的频次为 66 次,采用 UVB 作为辐射光源的频次为 77 次。模型制备过程中 UVA 累计照射剂量在 100~150 J/cm² 的所占比例最大(20,30.30%),UVB 累计照射剂量在 5~10 J/cm² 的所占比例最大(24,31.17%),详见表 2。

3 皮肤光老化动物模型的评价指标

将 257 篇文献的全部检测指标进行标准化分类处理。例如,皮肤组织过氧化氢酶(catalase, CAT)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、羟脯氨酸(hydroxyproline, Hyp)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)和谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-PX)等检测统一分类为皮肤组织匀浆检测。同时将弹性纤维和胶原性纤维的染色检查统一分类为纤维染色,包括皮肤胶原纤维染色使用的三色染色(Masson)、维多利亚蓝染色(Van Gieson)、天狼星红染色(Sirius Red)等,皮肤弹力纤维染色使用的铁苏木素染色法(Verhoeff)、间苯二酚品红染色(Weigert)。皮肤外观观察包括皮肤粗糙程度、有无脱屑、皮肤松弛情况、红斑等变化;皮肤含水量变化包

表2 皮肤光老化动物模型的辐射光源与造模部位距离以及紫外线累计照射剂量

Table 4 Distance between the radiation source and the modelling site as well as cumulative UV exposure doses in the animal model of skin photoaging

辐射光源与造模部位距离/cm Distance between the radiation source and the moulding site/cm	频次(所占百分比/%) Frequency (percentage/%)	累计照射剂量/(J·cm ²) Cumulative exposure dose/ (J·cm ²)	频次(所占百分比/%) Frequency (percentage/%)
2	1 (0.92)	UVA≤50	6 (9.09)
6.5	1 (0.92)	50 < UVA≤100	13 (19.70)
10	4 (3.67)	100 < UVA≤150	20 (30.30)
15	6 (5.50)	150 < UVA≤200	13 (19.70)
18	2 (1.84)	200 < UVA≤250	0 (0.00)
20	11 (10.09)	250 < UVA≤300	5 (7.58)
22	1 (0.92)	UVA > 300	9 (13.63)
23	2 (1.83)	UVB≤5	12 (15.58)
25	3 (2.75)	5 < UVB≤10	24 (31.17)
30	36 (33.03)	10 < UVB≤15	8 (10.39)
35	10 (9.17)	15 < UVB≤20	2 (2.60)
40	21 (19.27)	20 < UVB≤25	10 (12.99)
42	2 (1.84)	25 < UVB≤30	1 (1.30)
50	6 (5.50)	UVB > 30	20 (25.97)
100	3 (2.75)		

注: UVA, 长波紫外线 (波长 315 ~ 400 nm); UVB, 中波紫外线 (波长 280 ~ 315 nm)。

Note: UVA, long-wave ultraviolet light (wavelength 315 ~ 400 nm); UVB, medium-wave ultraviolet light (wavelength 280-315 nm).

括经皮水分损失 (transepidermal water loss, TEWL)、角质层含水量测定等。对统计结果中出现5次以上的检测指标进行归纳, 详见表3。

4 皮肤光老化动物模型的受试范围

国内外学者在上述动物模型建立的基础上, 进行了中药、中药提取物、中成药、中药复方、化学药、生物制剂等多种受试物的治疗效果评价, 以及作用机制方面的研究, 为后续皮肤光老化防治的药物研发及应用提供了一定的实验基础。此外, 皮肤光老化动物模型还应用于中医外治疗法、物理疗法、阳性对照药物治疗等方面的临床疗效和作用机制研究。

4.1 中药及中药提取物

中药及中药提取物对于皮肤光老化具有确切的临床疗效^[12-13]。基于上述方法制备的动物模型, 在明确中药及其提取物疗效的基础上可进一步开展与其相关的作用机制研究, 为中药活性成分的进一步挖掘研究提供基础。经文献分析可知, 具有抗皮肤光老化的中药及中药提取物有益母草、珍珠粉、玉竹提取物、葛根素、人参皂苷、枸杞多糖、黄芪提取物、黄芪甲苷、黄芪多糖、灵芝多糖、芦荟多糖、黑木耳多糖、水母雪莲多糖、黄芩苷、黄芩素、柚皮素、金合欢素、柚皮苷、槲皮素、木犀草素、芹黄素、姜黄素、紫薯花

青素、圣草酚、丹皮酚、桑白皮多酚、白藜芦醇、光甘草定、水飞蓟宾、甘草酸、甘草黄酮、红景天苷、反式肉桂酸、灯盏花素、鹿茸提取物、山楂多酚提取物、红参提取物、万寿菊提取物、迷迭香提取物、绞股蓝提取物、杜仲提取物、辣木叶多酚提取物、乳香提取物、核桃蛋白水解物等。

4.2 中成药及中药复方

中药复方可最大限度地发挥方中各组成药物的相互作用, 部分中药复方及中成药在临床抗皮肤光老化治疗中已取得确切疗效^[14-15]。通过制备动物模型进行中药复方或中成药的作用机制研究, 为临床探索中医药治疗皮肤光老化的新手段奠定基础。经文献分析可知, 基于上述动物模型开展研究所使用的中成药及中药复方包括玉屏风散、玉屏风凝胶、沙参麦冬汤、十精丸、桃红四物汤、加味茵陈蒿汤、加减滋水清肝饮、康复新液、敦煌养颜面脂、益智油雪花膏、积雪苷霜软膏、人参花软膏、黄芪甲苷乳膏等。

4.3 化学药物

基于上述动物模型开展的药效学文献分析表明, 存在多种化学药物具备抗皮肤光老化疗效, 包括视黄酸 (即维甲酸)、A型肉毒毒素、茺菁挥发油、花椒精油、虾青素、黄皮果果核挥发油、左旋维生素C、丹酚酸B乳剂、雷帕霉素、羟基乙酸、0.1%激素乳

表3 皮肤光老化动物模型的检测指标及分类

Table 3 Testing indicators and classification of skin photoaging animal models

分类 Classification	检测指标 Testing indicators	频次(所占百分比/%) Frequency(percentage/%)
皮肤外观特征 Skin appearance features	皮肤外观观察	80 (9.06)
	皮肤(表皮、真皮)厚度	46 (5.21)
	皱纹测定	31 (3.51)
	皮肤弹性	9 (1.02)
皮肤含水量变化 Skin moisture content change	经皮水分损失	41 (4.64)
	皮肤(角质层)水合作用测定	14 (1.58)
	皮肤含水量测定	5 (0.57)
皮肤病理检查 Dermatologic examination	皮肤组织病理检查	173 (19.59)
	纤维染色	99 (11.21)
	免疫组化	64 (7.26)
	免疫荧光	9 (1.02)
皮肤组织匀浆检测 Skin tissue homogenisation	丙二醛、羟脯氨酸、过氧化氢酶活性、透明质酸、超氧化物歧化酶活性、谷胱甘肽过氧化酶活性、皮肤组织总抗氧化能力	108 (12.23)
免疫检测 Immunity testing	免疫印迹	81 (9.17)
PCR分析 PCR analysis	酶联免疫吸附试验	26 (2.94)
	反转录PCR	30 (3.40)
血液检查 Blood examination	实时荧光PCR	19 (2.15)
	血清	19 (2.15)
其他 Others	全血或血浆	6 (0.68)
	β -半乳糖苷酶染色	8 (0.91)
	体重变化	9 (1.02)
	活性氧定量分析/髓过氧化物酶活性测定	6 (0.68)

膏、氟芬那酸丁酯软膏、松脂醇二葡萄糖苷、富勒烯亮肤精华液、锌制剂(柠檬酸锌)等。通过动物模型进行化学药物临床疗效的确认,为后续药物的临床应用提供参考价值。

4.4 生物制剂

对于抗皮肤光老化的研究,目前国内外不断研究开发新的治疗手段。文献分析结果表明,生物制剂在抗皮肤光老化方面效果显著,包括真皮成纤维细胞、脂肪干细胞、富血小板血浆凝胶、基质血管成分胶、骨髓间充质干细胞、真皮多能干细胞、干细胞外泌体、罗非鱼皮多肽、胶原蛋白肽、浓缩生长因子制剂、南极磷虾肽、鸡卵清白蛋白多肽、黑豆乳清多肽、葵粕多肽、大豆低聚肽等。

4.5 中医外治

中医外治疗法抗皮肤光老化是近年的研究热点。能够制备稳定可靠的动物模型是开发皮肤光老化新型防治方法的重要保障和基础。国内外学者常采用上述动物模型开展外治疗法抗皮肤光老化的研究,主要采用的中医外治方法包括针刺、电针、微针、艾灸等疗法。

4.6 物理疗法

近年来,物理疗法作为皮肤光老化的治疗手段发展迅速。在上述制备的动物模型基础上,国内外学者采用的抗皮肤光老化物理治疗手段包括光动力疗法[5-氨基酮戊酸(光敏剂)]、激光(点阵CO₂激光、皮秒激光等)、强脉冲光、射频技术、等离子技术、发光半导体等。结果表明,此类物理疗法对于抗皮肤光老化具有显著的疗效,为临床研究中与其他治疗手段联合应用的开展奠定了基础。

4.7 阳性对照药

现阶段,国内外学者普遍认为维生素E对于皮肤光老化的治疗具有确切疗效^[16-17],因此部分实验为确保实验结果的可靠性,一般采用维生素E(滴剂/胶丸/软膏)作为阳性对照药物。

4.8 其他治疗

伴随医学科学技术的进步,国内外学者对于皮肤光老化的研究开发较为深入、广泛,所采取的有效治疗手段众多,除上述抗皮肤光老化方法外,还有注射填充治疗(肉毒素注射、皮肤填充术)以及手术治疗等手段。

5 分析与讨论

皮肤光老化是目前临床上常见的皮肤疾病。抗皮肤光老化的新药物、新疗法的开发仍是近年来的研究热点之一。构建与临床疾病高度吻合的动物模型是研究皮肤光老化发病机制及治疗手段的重要基础。通过挖掘分析文献得知,皮肤光老化动物模型的制备与动物种类、性别、辐射光源选择、累计照射剂量、造模周期以及辐射光源与模型动物造模部位的距离等因素紧密相关。

5.1 常用实验动物的种类、性别选择分析

由文献分析可知,皮肤光老化动物的使用频次由高到低分别为SKH-1无毛小鼠、SD大鼠、KM小鼠、BALB/c小鼠、HR-1无毛小鼠、ICR小鼠、Wistar大鼠等。动物种属常选用啮齿类,与其具有易饲养、易繁殖、成模周期短和易操作的优势相关,同时鼠类与人类基因序列高度相似,存在很多基因互补的抗体和探针酶,为研究皮肤光老化相关基因的表达提供了很大的便利^[18-20]。

皮肤光老化动物模型的构建多选用单一的雌性动物,雄性或者雌雄各半的动物占比偏低,这主要是与雌性动物体内雌激素含量多有关。因为有研究表明,皮肤是雌激素最重要的非生殖靶器官之一,雌激素在皮肤光老化进程中具有抗氧化、抗炎作用^[21-22]。另外,雌激素可以增强皮肤的水合作用,通过合成透明质酸、糖胺聚糖和皮脂,增加皮肤弹性、真皮厚度,并促进角质形成细胞和成纤维细胞的增殖^[23-24]。再者,雌激素可以增加细胞活力和细胞外基质成分,如增加组织基质金属蛋白酶抑制剂(tissue inhibitors of metalloproteinases, TIMPs)、纤维蛋白含量以及抑制基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)表达,通过其抗氧化特性抑制氧自由基(reactive oxygen species, ROS)和氧化应激(oxidative stress, OS)反应,促使其他抗氧化剂和解毒酶的表达增加^[23,25-26]。因此,皮肤光老化动物模型制备过程中,应尽可能排除雌激素因素及其他性别二态性差异等因素对实验研究造成的偏差。

5.2 造模方法的要素分析

皮肤光老化动物模型的制备要素除了与模型动物的种类及性别选择、模型制备过程的辐射光源选择、累计照射剂量、造模周期、辐射光源与模型动物造模部位的距离等要素密切相关以外,也与是否使用光敏

剂、照射部位等要素有关。经上述文献分析可知,皮肤光老化动物模型的制备辐射光源常选用UVB,造模周期多控制在40~60 d, UVA累计照射剂量常在100~150 J/cm², UVB累计照射剂量常在5~10 J/cm²,辐射光源与模型动物造模部位的最佳距离为30 cm,可以有效地提高造模效率。部分实验通过采用8-甲氧基补骨脂素(8-methoxypsoralen, 8-MOP)作为光敏剂可有效缩短造模周期。研究表明,背部组织是最容易发生脆性损伤的部位之一,故模型的制备多选择动物背部进行^[27]。

模型制备过程中,缩短辐射光源与造模部位的距离、加大辐射光源强度、增加辐射频率等方法虽可以在一定程度上缩短成模时间,但较高的辐射强度会导致皮肤出现急性光损伤,大大降低成模率,故研究时应综合考虑辐射光源与造模部位的距离、辐射强度以及辐射频率等因素。因此在实验过程中通常采用MED逐周递增的照射方式进行实验, MED可以充分考虑辐射光源、辐射光源与造模部位的距离、造模时间、造模部位皮肤对光源的敏感程度等因素,既能够保证辐射剂量的充足稳定,避免皮肤出现破溃、糜烂等情况,同时也保证UV辐射能够扩散到皮肤组织中一定深度,确保制备出与皮肤光老化疾病病理特征吻合度更高的动物模型^[28]。

5.3 辐射光源的选择分析

UV辐射是引起皮肤产生炎症反应、DNA损伤、氧化应激、免疫抑制、细胞凋亡、细胞老化等光老化损伤的主要原因,故常选择UV作为制备皮肤光老化动物模型的辐射光源^[4,8,29-30]。造模辐射光源的选择应与研究内容紧密联系。

UVB是目前使用最广泛的造模辐射光源。研究表明,UVB会破坏皮肤细胞中的DNA和蛋白质结构,主要以高能量形式被表皮完全吸收,作用于皮肤的表皮层,其致病特点是引起晒伤细胞的出现和皮肤细胞中环丁烷嘧啶二聚体(cyclobutane pyrimidine dimer, CPD)的产生,以及急性炎症反应和脂质膜、线粒体、DNA、蛋白质等细胞成分的氧化损伤^[31-32]。UVB会诱发红斑、晒伤、增生、增殖、炎症、氧化应激、DNA损伤、p53突变、免疫抑制以及PI3K/AKT和NF- κ B细胞存活信号通路的改变^[33-35],因此选择UVB作为造模辐射光源对于DNA损伤、黑色素合成、炎症反应、皮肤含水量及皮肤屏障功能、抗氧化酶表达等方面的研究较为重要^[36-38]。

UVA较UVB穿透力更强,作用于皮肤的真皮层,可以诱导氧化应激及细胞外基质(extracellular matrix, ECM)降解。UVA会导致基质金属蛋白酶的过量产生,从而降解ECM成分,包括胶原蛋白以及成纤维细胞和其他类型的细胞,使皮肤弹性降低且皱纹形成增加^[39]。此外,UVA可通过诱导ROS产生和DNA损伤来激活下游信号和炎症细胞因子的释放,造成皮肤损伤,并通过刺激ROS的产生,直接诱导并进一步损伤DNA^[8]。故采用UVA作为辐射光源造模对于研究皮肤炎症反应、DNA损伤、氧化应激反应、基质金属蛋白酶表达、胶原蛋白表达、皮肤皱纹测定等较为重要^[40-42]。

UVA+UVB作为辐射光源可最大限度地还原人体皮肤光老化的致病环境,使光老化动物模型的宏微观指标与人类皮肤光老化具有较高的重现性;同时UVA与UVB对诱发皮肤光老化具备协同作用,可缩短造模周期,多用于研究皮肤光老化疾病的炎症反应、皮肤含水量、氧化应激、DNA损伤、基质金属蛋白酶表达、胶原蛋白及弹性蛋白表达等指标^[43-45]。

5.4 受试物分析

现阶段,抗皮肤光老化治疗手段众多,包括中药、中药提取物、中成药、中药复方、化学药物、生物制剂等。各类受试物通过相同或不同的作用机制发挥抗皮肤光老化的作用,如果在受试物作用机制清楚的情况下,可根据各受试物以及老化皮肤的特点选择具有针对性的治疗手段,能够取得较好的治疗效果。但总体来说,抗皮肤光老化采用单一的治疗措施还是难以取得满意的疗效。因此,临床上探究新的抗皮肤光老化治疗手段仍是未来研究的主要方向,合适的动物模型可以为后续开展抗皮肤光老化治疗手段的研究奠定基础。

6 总结

综上所述,模型制备过程中应注意模型动物的种类、性别、辐射光源选择、累计照射剂量、造模周期以及辐射光源与模型动物造模部位的距离等诸多要素的影响。实验中应根据研究目的选择适宜的模型制备方法和检测指标,充分考虑模型各制备要素之间的关系,以期构建出重现性好、成功率高、与临床疾病高度吻合的皮肤光老化动物模型,为提高动物模型构建效率、科学评价受试物提供参考。

通过本次文献分析,笔者建议在后续开展皮肤光

老化模型的制备时,选择以下适宜的造模方法:选用雌性SKH-1无毛小鼠,采用UVB作为辐射光源,造模周期多控制在40~60 d,UVB累计照射剂量在0~10 J/cm²,按照MED逐周递增方式进行造模。

[作者贡献 Author Contribution]

邓亚胜负责论文设计、收集资料和论文写作;
甘池伶、曾官凤收集数据、协助完成论文内容;
黄嘉茵、邓慧芳、麻颖贤负责收集资料;
林江负责文章审核及修改;
韩丝银负责课题及本论文审核与修改定稿。

[利益声明 Declaration of Interest]

所有作者均声明本文不存在利益冲突。

[参考文献 References]

- [1] CHEN X, YANG C S, JIANG G. Research progress on skin photoaging and oxidative stress[J]. *Postepy Dermatol Alergol*, 2021, 38(6):931-936. DOI: 10.5114/ada.2021.112275.
- [2] BOCHEVA G, SLOMINSKI R M, JANJETOVIC Z, et al. Protective role of melatonin and its metabolites in skin aging [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(3):1238. DOI: 10.3390/ijms23031238.
- [3] PARRADO C, MERCADO-SAENZ S, PEREZ-DAVO A, et al. Environmental stressors on skin aging. mechanistic insights [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 759. DOI: 10.3389/fphar.2019.00759.
- [4] SALMINEN A, KAARNIRANTA K, KAUPPINEN A. Photoaging: UV radiation-induced inflammation and immunosuppression accelerate the aging process in the skin[J]. *Inflamm Res*, 2022, 71(7):817-831. DOI: 10.1007/s00011-022-01598-8.
- [5] SWIADER A, CAMARÉ C, GUERBY P, et al. 4-hydroxynonenal contributes to fibroblast senescence in skin photoaging evoked by UV-A radiation[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2021, 10(3): 365. DOI: 10.3390/antiox10030365.
- [6] KANG M K, KIM D Y, OH H, et al. Dietary collagen hydrolysates ameliorate furrowed and parched skin caused by photoaging in hairless mice[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(11): 6137. DOI: 10.3390/ijms22116137.
- [7] JIN X X, ZHANG X D, LI Y B, et al. Long-acting microneedle patch loaded with adipose collagen fragment for preventing the skin photoaging in mice[J]. *Biomater Adv*, 2022, 135: 212744. DOI: 10.1016/j.bioadv.2022.212744.
- [8] CHEN Q Y, ZHANG H Y, YANG Y M, et al. Metformin attenuates UVA-induced skin photoaging by suppressing mitophagy and the PI3K/AKT/mTOR pathway[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(13):6960. DOI: 10.3390/ijms23136960.
- [9] GUAN L L, LIM H W, MOHAMMAD T F. Sunscreens and Photoaging: A Review of Current Literature[J]. *Am J Clin Dermatol*, 2021, 22(6): 819-828. DOI: 10.1007/s40257-021-00632-5.
- [10] POON F, KANG S, CHIEN A L. Mechanisms and treatments of photoaging[J]. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, 2015, 31(2): 65-74. DOI: 10.1111/phpp.12145.

- [11] LIANG Y, SIMAITI A, XU M, et al. Antagonistic Skin Toxicity of Co-Exposure to Physical Sunscreen Ingredients Zinc Oxide and Titanium Dioxide Nanoparticles[J]. *Nanomaterials* (Basel), 2022, 12(16). DOI: 10.3390/nano12162769.
- [12] 丁苗苗, 魏玲, 陈春宇, 等. 中药有效成分抗皮肤光老化作用及其机制研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2022, 47(14): 3709-3717. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcmm.20220415.601.
DING M M, WEI L, CHEN C Y, et al. Anti-photoaging effects and mechanisms of active ingredients of Chinese medicine: a review[J]. *China J Chin Mater Med*, 2022, 47(14): 3709-3717. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcmm.20220415.601.
- [13] 朱姗, 赵志月, 王子静, 等. 皮肤老化分子机制及中药防治皮肤老化研究进展[J]. *天津中医药大学学报*, 2021, 40(4): 431-439. DOI: 10.11656/j.issn.1673-9043.2021.04.06.
ZHU S, ZHAO Z Y, WANG Z J, et al. Research progress of molecular mechanism of skin aging and prevention of skin aging with traditional Chinese medicine[J]. *J Tianjin Univ Tradit Chin Med*, 2021, 40(4): 431-439. DOI: 10.11656/j.issn.1673-9043.2021.04.06.
- [14] 王璐, 李中平, 曹艳亚, 等. 沙参麦冬汤对皮肤光老化模型小鼠的保护作用[J]. *中国老年学杂志*, 2015, 35(6): 1628-1631. DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2015.06.091.
WANG L, LI Z P, CAO Y Y, et al. Protective effect of Shashen Maidong Decoction on skin photoaging model mice[J]. *Chin J Gerontol*, 2015, 35(6): 1628-1631. DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2015.06.091.
- [15] 张宇, 曹南开, 张小卿, 等. 桃红四物汤对光老化小鼠皮肤组织中 MMP-1、MMP-3 mRNA 及血清中 TNF- α 、IL-1 含量表达的影响[J]. *中华中医药学刊*, 2015, 33(4): 919-921, 后插 8. DOI: 10.13193/j.issn.1673-7717.2015.04.048.
ZHANG Y, CAO N K, ZHANG X Q, et al. Effect of Taohongsiwu Decoction on expressions of MMP-1, MMP-3 mRNA in skin tissue and TNF- α , IL-1 in blood serum of photoaged mice[J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2015, 33(4): 919-921, 10008. DOI: 10.13193/j.issn.1673-7717.2015.04.048.
- [16] SHAMLOUL N, HASHIM P W, NIA J J, et al. The role of vitamins and supplements on skin appearance[J]. *Cutis*, 2019, 104(4): 220-224.
- [17] 邓映, 杜宇, 刘萍, 等. 氧化应激在皮肤光老化中的作用[J]. *中国医疗美容*, 2020, 10(8): 117-122. DOI: 10.19593/j.issn.2095-0721.2020.08.030.
DENG Y, DU Y, LIU P, et al. The role of oxidative stress in skin photoaging[J]. *Chin Med Cosmetol*, 2020, 10(8): 117-122. DOI: 10.19593/j.issn.2095-0721.2020.08.030.
- [18] CHENOUARD V, REMY S, TESSON L, et al. Advances in genome editing and application to the generation of genetically modified rat models[J]. *Front Genet*, 2021, 12: 615491. DOI: 10.3389/fgene.2021.615491.
- [19] MEEK S, MASHIMO T, BURDON T. From engineering to editing the rat genome[J]. *Mamm Genome*, 2017, 28(7): 302-314. DOI: 10.1007/s00335-017-9705-8.
- [20] 王诗萌, 李甜, 杨田野, 等. 紫外线照射实验动物的皮肤光老化模型研究进展[J]. *中国美容医学*, 2018, 27(7): 146-150. DOI: 10.14163/j.cnki.11-5547/r.2016.30.160.
WANG S M, LI T, YANG T Y, et al. Progress of skin photoaging models of ultraviolet irradiated experimental animals[J]. *Chin J Aesthetic Med*, 2018, 27(7): 146-150. DOI: 10.14163/j.cnki.11-5547/r.2016.30.160.
- [21] RUIZ-LARREA M B, MARTÍN C, MARTÍNEZ R, et al. Antioxidant activities of estrogens against aqueous and lipophilic radicals; differences between phenol and catechol estrogens[J]. *Chem Phys Lipids*, 2000, 105(2): 179-188. DOI: 10.1016/S0009-3084(00)00120-1.
- [22] LEPHART E D. Skin aging and oxidative stress: Equol's anti-aging effects via biochemical and molecular mechanisms[J]. *Ageing Res Rev*, 2016, 31: 36-54. DOI: 10.1016/j.arr.2016.08.001.
- [23] LEPHART E D, NAFTOLIN F. Menopause and the skin: old Favorites and new innovations in cosmeceuticals for estrogen-deficient skin[J]. *Dermatol Ther* (Heidelb), 2021, 11(1): 53-69. DOI: 10.1007/s13555-020-00468-7.
- [24] PARK H M, CHO M H, CHO Y, et al. Royal jelly increases collagen production in rat skin after ovariectomy[J]. *J Med Food*, 2012, 15(6): 568-575. DOI: 10.1089/jmf.2011.1888.
- [25] LEPHART E D. A review of the role of estrogen in dermal aging and facial attractiveness in women[J]. *J Cosmet Dermatol*, 2018, 17(3): 282-288. DOI: 10.1111/jocd.12508.
- [26] LEPHART E D, NAFTOLIN F. Factors influencing skin aging and the important role of estrogens and selective estrogen receptor modulators (SERMs) [J]. *Clin Cosmet Investig Dermatol*, 2022, 15: 1695-1709. DOI: 10.2147/CCID.S333663.
- [27] LI W G, LUO X Y. An invariant-based damage model for human and animal skins[J]. *Ann Biomed Eng*, 2016, 44(10): 3109-3122. DOI: 10.1007/s10439-016-1603-9.
- [28] 陶丛敏, 马文字. 光老化的动物模型研究进展[J]. *临床皮肤科杂志*, 2018, 47(6): 386-388. DOI: 10.16761/j.cnki.1000-4963.2018.06.017.
TAO C M, MA W Y. Research progress of animal model of skin photoaging[J]. *J Clin Dermatol*, 2018, 47(6): 386-388. DOI: 10.16761/j.cnki.1000-4963.2018.06.017.
- [29] GUO K K, LIU R, JING R R, et al. Cryptotanshinone protects skin cells from ultraviolet radiation-induced photoaging via its antioxidant effect and by reducing mitochondrial dysfunction and inhibiting apoptosis[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 1036013. DOI: 10.3389/fphar.2022.1036013.
- [30] 孔悦, 郭砚. 皮肤光老化小鼠模型的构建及效果评估[J]. *实验动物与比较医学*, 2021, 41(2): 116-121. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2020.191
KONG Y, GUO Y. Construction and evaluation of skin photoaging mouse model[J]. *Lab Animal Comp Med*, 2021, 41(2): 116-121. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2020.191.
- [31] GENDRISCH F, ESSER P R, SCHEMP C M, et al. Luteolin as a modulator of skin aging and inflammation[J]. *Biofactors*, 2021, 47(2): 170-180. DOI: 10.1002/biof.1699.
- [32] ZAMARRÓN A, LORRIO S, GONZÁLEZ S, et al. Fernblock prevents dermal cell damage induced by visible and infrared A radiation[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(8): 2250. DOI: 10.3390/ijms19082250.
- [33] CHOI K S, KUNDU J K, CHUN K S, et al. Rutin inhibits UVB

- radiation-induced expression of COX-2 and iNOS in hairless mouse skin: p38 MAP kinase and JNK as potential targets[J]. Arch Biochem Biophys, 2014, 559: 38-45. DOI: 10.1016/j.abb.2014.05.016.
- [34] KUNDU J K, CHANG E J, FUJII H, et al. Oligonol inhibits UVB-induced COX-2 expression in HR-1 hairless mouse skin: AP-1 and C/EBP as potential upstream targets[J]. Photochem Photobiol, 2008, 84(2): 399-406. DOI: 10.1111/j.1751-1097.2007.00277.x.
- [35] PAL H C, ATHAR M, ELMETS C A, et al. Fisetin inhibits UVB-induced cutaneous inflammation and activation of PI3K/AKT/NFκB signaling pathways in SKH-1 hairless mice[J]. Photochem Photobiol, 2015, 91(1): 225-234. DOI: 10.1111/php.12337.
- [36] MOON N R, KANG S, PARK S. Consumption of ellagic acid and dihydromyricetin synergistically protects against UV-B induced photoaging, possibly by activating both TGF-β1 and Wnt signaling pathways[J]. J Photochem Photobiol B Biol, 2018, 178:92-100. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2017.11.004.
- [37] TSUKAHARA K, MORIWAKI S, FUJIMURA T, et al. Inhibitory effect of an extract of *Sanguisorba officinalis* L. on ultraviolet-B-induced photodamage of rat skin[J]. Biol Pharm Bull, 2001, 24(9):998-1003. DOI: 10.1248/bpb.24.998.
- [38] TANG Z T, TONG X L, HUANG J H, et al. Research progress of keratinocyte-programmed cell death in UV-induced Skin photodamage[J]. Photodermatol Photoimmunol Photomed, 2021, 37(5):442-448. DOI: 10.1111/phpp.12679.
- [39] Oh J H, KARADENIZ F, LEE J I, et al. Antiphotodamage Effect of (2'S)-Columbianetin from *Corydalis heterocarpa* in UVA-Irradiated Human Dermal Fibroblasts[J]. App Sci, 2020, 10(7): 2568. DOI:10.3390/app10072568.
- [40] VATS K, KRUGLOV O, MIZES A, et al. Keratinocyte death by ferroptosis initiates skin inflammation after UVB exposure[J]. Redox Biol, 2021, 47:102143. DOI: 10.1016/j.redox.2021.102143.
- [41] RANA S, FATIMA N, YAQOOB S, et al. Probing photoprotection properties of lipophilic chain conjugated thiourea-aryl group molecules to attenuate ultraviolet-A induced cellular and DNA damages[J]. Sci Rep, 2022, 12(1): 20907. DOI: 10.1038/s41598-022-25515-5.
- [42] ZAMARRÓN A, MOREL E, LUCENA S R, et al. Extract of *Deschampsia antarctica* (EDA) prevents dermal cell damage induced by UV radiation and 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(6): 1356. DOI: 10.3390/ijms20061356.
- [43] ATALAY S, GÜGÖTEK A, WRÓŃSKI A, et al. Therapeutic application of cannabidiol on UVA and UVB irradiated rat skin. A proteomic study[J]. J Pharm Biomed Anal, 2021, 192: 113656. DOI: 10.1016/j.jpba.2020.113656.
- [44] KHAN A Q, TRAVERS J B, KEMP M G. Roles of UVA radiation and DNA damage responses in melanoma pathogenesis[J]. Environ Mol Mutagen, 2018, 59(5): 438-460. DOI: 10.1002/em.22176.
- [45] KHAN A, BAI H L, KHAN A, et al. Neferine prevents ultraviolet radiation-induced skin photoaging[J]. Exp Ther Med, 2020, 19(5):3189-3196. DOI: 10.3892/etm.2020.8587.

(收稿日期:2023-02-24 修回日期:2023-04-11)

(本文编辑:张俊彦,富群华,丁宇菁,吴昊晟)

【引用本文】

邓亚胜, 林江, 甘池伶, 等. 皮肤光老化动物模型制备要素和受试物数据的文献分析[J]. 实验动物与比较医学, 2023, 43(4): 406-414. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2023.026.

DENG Y S, LIN J, GAN C L, et al. Literature analysis of the preparation elements of animal models of skin photoaging and the data of subjects[J]. Lab Anim Comp Med, 2023, 43(4): 406-414. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2023.026.

有关《食蟹猴缺血再灌注模型的建立及依达拉奉干预作用》一文的撤稿声明

潘梦鲜等发表于本刊2023年第2期的《食蟹猴缺血再灌注模型的建立及依达拉奉干预作用》一文(DOI:10.12300/j.issn.1674-5817.2022.165),日前被广西盛思蓝生物医药技术有限公司来信质疑部分内容不属实——未经该公司立项及伦理审批。后经三方沟通确认,作者投稿时提交的实验动物福利伦理审批件不规范。为避免潜在的版权及其他法律纠纷,本刊编辑部决定对其进行撤稿处理,并从即日起终止该文献的网络传播。

特此声明!

附原文信息:

潘梦鲜, 黄晓姣, 黄中理, 等. 食蟹猴缺血再灌注模型的建立及依达拉奉干预作用[J]. 实验动物与比较医学, 2023, 43(2): 136-144. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2022.165.

PAN M X, HUANG X J, HUANG Z L, et al. Establishment of ischemia-reperfusion model in cynomolgus macaques and effects of edaravone intervention[J]. Lab Anim Comp Med, 2023, 43(2): 136-144. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2022.165.

《实验动物与比较医学》编辑部

2023年8月25日