

郑丹阳,徐梦漪,李淑敏,等. 斑马鱼模型在化妆品功效评价研究中的应用进展 [J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(4): 541-548.

Zheng DY, Xu MY, Li SM, et al. Progress of the application of zebrafish models in the study of the efficacy of functional cosmetics [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2023, 31(4): 541-548.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2023.04.015

斑马鱼模型在化妆品功效评价研究中的应用进展

郑丹阳^{1,3,4}, 徐梦漪^{2*}, 李淑敏¹, 朱永闯^{1,3}, 龚盛昭^{1,3}, 蔡丽华¹, 胡翠萍¹

(1. 广东轻工职业技术学院, 广州 510300; 2. 广州番禺职业技术学院, 广州 511483; 3. 广东省绿色日用化工工程技术研究中心, 广州 510300; 4. 仲恺农业工程学院, 广州 510225)

【摘要】 斑马鱼具有个体小、易饲养、胚胎透明、易观察等优势, 是一种广泛应用于医学和毒理学研究的模式生物。因其具有可高通量筛选、测试周期短、实验结果可信度高等优势, 近年, 斑马鱼逐步用于化妆品功效评价, 且成为化妆品行业认可的评价方式, 也是学者们研究的热点。目前, 化妆品功效种类繁多, 而斑马鱼模型评价标准正逐步完善, 本文阐述了斑马鱼模型在化妆品美白、抗炎、抗氧化等功效评价中的应用进展。

【关键词】 斑马鱼; 化妆品; 功效评价

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2023) 04-0541-08

Progress of the application of zebrafish models in the study of the efficacy of functional cosmetics

ZHENG Danyang^{1,3,4}, XU Mengyi^{2*}, LI Shumin¹, ZHU Yongchuang^{1,3}, GONG Shengzhao^{1,3}, CAI Lihua¹, HU Cuiping¹

(1. Guangdong Industry Polytechnic, Guangzhou 510300, China. 2. Guangzhou Panyu Polytechnic, Guangzhou 511483. 3. Guangdong Engineering Technical Research Center for Green Household Chemicals, Guangzhou 510300. 4. Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225)

Corresponding author: XU Mengyi. E-mail: 12663109@qq.com

【Abstract】 The zebrafish has many advantages. The individuals are small, easy to feed, have transparent embryos, and are easy to observe. The zebrafish is a model organism widely used in medical and toxicological research. Recently, because of its high throughput screening, short testing life cycle, and the high credibility of the experimental result, the zebrafish is beginning to be used to evaluate functional cosmetics. It has become an approved evaluation method in the cosmetics industry and is a hot spot for scholars. At present, the efficacy of functional cosmetics is variable, but zebrafish model evaluation criteria have not yet been finalized. In this paper, we describe the progress made in the application of zebrafish models for evaluating the efficacy of functional cosmetics, such as their whitening or soothing properties.

【Keywords】 zebrafish; cosmetics; efficacy evaluation

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

化妆品,是指以涂擦、喷洒或者其他类似方法,施用于皮肤、毛发、指甲、口唇等人体表面,以清洁、保护、美化、修饰为目的的日用化学工业产品^[1]。

2021年5月1日正式施行的《化妆品功效宣称评价规范》中第五条明确指出化妆品的功效宣称应有充分的科学依据^[2]。基于此,寻求客观、全面、系统的

【基金项目】 广东省科技创新战略专项资金-广东“攀登计划”(pdjh2022b0797), 广东省绿色化学产品技术重点实验室开放课题(GC202117)。

Funded by Guangdong Provincial Science and Technology Innovation Strategy Special Fund-Guangdong “Climbing Plan”(pdjh2022b0797), Guangdong Provincial Key Laboratory of Green Chemical Products Technology Open Project (GC202117).

【作者简介】 郑丹阳(1996—),女,在读硕士研究生,研究方向:化妆品功效与安全。Email: 2020080014@gdip.edu.cn

【通信作者】 徐梦漪,女,教授,博士,研究方向:化妆品功效与安全。Email: 12663109@qq.com

评价化妆品功效技术是时代进步所需。

在化妆品功效评价的体外方法中,斑马鱼模型是一种新型评价方法之一。截至目前,我国公开的团体标准中已有利用斑马鱼模型来进行功效评价的方法,以此证明斑马鱼模型在化妆品行业具有较高的认可度^[3-10]。斑马鱼被誉为“水中小白鼠”^[11],是一种近年逐步发展起来的水生模式生物,尤其在中国,采用斑马鱼作为研究模型正逐年增加^[12];同时,与其他模式生物相比,斑马鱼有其特有的评价优势^[13]。越来越多的研究表明,斑马鱼用于评价化妆品功效性,可实现快速有效的高通量筛选^[14]。2021 年 4 月 9 日国家药监局发布的《化妆品功效宣称评价规范》^[2],使得斑马鱼模型逐渐进入大众视野,成为国内外评价化妆品认可度高的方法之一。结合人体试验、消费者使用测试、动物实验、体外实验等多维度评价方法,让化妆品功效宣称更有说服力。本文结合近年来国内外关于斑马鱼模型在化妆品及原料功效评价中取得的应用进展进行阐述与分析。

1 斑马鱼模型的优势

斑马鱼原产于印度和孟加拉国,早先主要用于发育生物学研究,近年来被广泛应用于化妆品功效性评价,具有很高的科研价值和广泛的应用前景。作为一种新兴化妆品评价用模式生物,斑马鱼具有以下诸多的优点:个体较小,易于饲养;胚胎透明,易于观察;可用于短期大规模的实验,进行高通量筛选;同时,其繁殖能力强,一次产卵量大于 200 枚^[15];斑马鱼与人类基因组具有高度同源性,约占 87%,能可靠地模拟和预测人类生理,呈现出与人类相似的生理学特征^[16],被科学界公认为是评价化学品最敏感的体内方法^[17]。斑马鱼皮肤与人类皮肤结构相似,包含基底层、棘层、颗粒层、透明层和表皮角质细胞层,皮肤间质结缔组织、胶原及其邻近的纤维母细胞及皮肤基因表达与人类皮肤相似,因此采用斑马鱼评价化妆品功效具有较大的参考价值。与其他哺乳动物相比,采用斑马鱼模型评价化妆品功效性,具有独特优势。

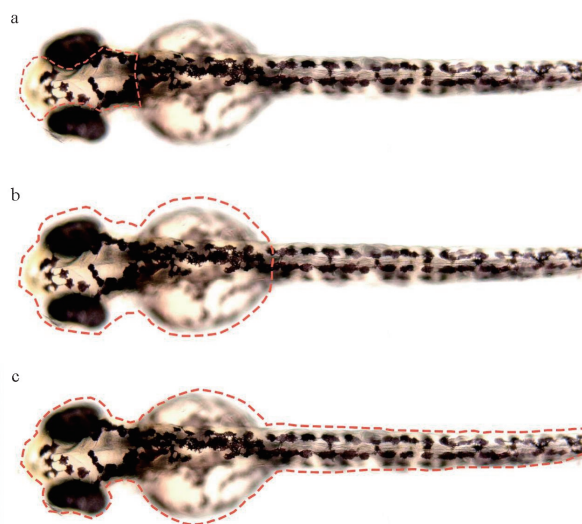
2 斑马鱼模型在化妆品功效评价中的应用

化妆品均由复杂的化学成分组成,功效成分良莠不齐,种类日益丰富,其表现的功效性可能是多种活性成分与体内多靶点结合的结果,因此,可利

用模式生物斑马鱼对化妆品及原料进行功效评价。

2.1 美白功效评价

斑马鱼幼鱼透明,其体表有黑色素沉淀,用光学显微镜可直接观察体表黑色素变化^[18-20],可直接用于评价化妆品美白功效,简化实验过程。目前,行业通用的斑马鱼模型评价美白类化妆品及原料功效的标准,主要为团体标准(表 1),表 1 中团体标准采用的评价原理均为酪氨酸经过酪氨酸酶作用,氧化生成多巴,多巴经氧化、脱羧等反应转变成吲哚醌,最后吲哚醌聚合为黑色素,在斑马鱼体表呈现。胚胎时期的斑马鱼通体透明,便于在肉眼眼下用体视显微镜直接观察拍照,并用图片分析软件(如 Image J)计算黑色素含量,比较处理组与对照组的胚胎体表黑色素变化,计算得出黑色素的抑制效果。该黑色素分布测定法(图像法)可直观快速反映出测试样品的美白效果(如图 1)。



注:实验所用斑马鱼品种为 AB 品系,购于国家斑马鱼资源中心。

图 1 斑马鱼胚胎体表黑色素观察部位示意图
(红色区域为色素测量区域)

Note. The zebrafish species used in the experiment was the AB strain, purchased from the China Zebrafish Resource Center.

Figure 1 Schematic diagram of the observation site of melanin on the surface of zebrafish embryo (Red area is the pigment measurement area)

通过图像法,简单直观判别受试物的美白功效,成为众多研究者研究原料美白功效的方法之一。Park 等^[21]通过图像法分析得出,在相同浓度下,与熊果苷(A)相比,金纳米粒子(GNPs)-熊果苷作用于斑马鱼胚胎,其头部和卵黄位置具有较好的美白活性;与熊果苷或苯基 β -D-葡萄糖苷(P)相比,

表 1 全国现行斑马鱼评价美白化妆品团体标准

Table 1 Current national zebrafish evaluation of spot removal whitening cosmetics group standards

团体名称 Groups name	标准编号 Standards number	标准名称 Standards name	公布日期 Date	观察部位 Observation part	参考文献 References
浙江省健康产品化妆品行业协会 Zhejiang Health Products & Cosmetics Industry Association	T/ZHCA 012-2021	化妆品美白功效测试-斑马鱼胚胎黑色素抑制功效测试方法 Whitening efficacy test of cosmetics-zebrafish embryos test method of melanin inhibition	2022-01-04	头部边缘(除眼睛部分)至与卵黄囊相切部分(图 1a) The edge of head (except eye part) to the part tangent to yolk (figure 1a)	[3]
上海日用化学品行业协会 Shanghai Daily Chemistry Trade Association	T/SHRH 036-2021	化妆品黑色素抑制测试-斑马鱼胚胎测试方法 Melanin inhibition test of cosmetics-zebrafish embryo test method	2021-09-30	头和卵黄背部区域(图 1b) Head and yolk dorsal area (figure 1b)	[4]
广州开发区黄埔化妆品产业协会 Huangpu Cosmetics Industry Association of Guangzhou Development Zone	T/HPCIA 005-2022	化妆品美白功效的测定斑马鱼胚法 Cosmetics-determination of whitening-zebrafish (<i>Danio rerio</i>) embryo assay	2022-06-14	俯视位体表区域(图 1c) The site surface area (figure 1c)	[5]

GNP-P2 表现出更强的美白效果。因此,生物活性糖苷-GNP 复合物可能成为美白化妆品的方向。张文娟等^[22]通过图像法研究水仙鳞茎提取物对斑马鱼胚胎体表黑色素合成的抑制作用。从斑马鱼侧视和俯视位体表区域比较,在浓度为 100、200、500 $\mu\text{g/mL}$ 的水仙花溶液提取物处理组中,48 h 和 72 h 斑马鱼胚胎的脊椎及背部黑色素依次递减,尤其是 500 $\mu\text{g/mL}$ 处理组,黑色素沉着点接近于阳性对照组(200 $\mu\text{g/mL}$ 的熊果苷,Ar)。通过实验得出水仙鳞茎醇提取物能够达到与熊果苷相似的美白效果。

此外,T/HPCIA 005-2022 团体标准中还提到另外两种评价方法,分别是黑色素生成抑制检测法和酪氨酸酶活性抑制检测法^[5]。这两种方法的前处理均为将斑马鱼胚胎破碎离心分层;不同之处在于检测分层后的混合液,黑色素生成抑制检测法是取不同浓度受试样的黑色素沉淀物,在波长为 405 nm 下检测吸光度值,计算黑色素含量,进而计算黑色素生成抑制率;酪氨酸酶活性抑制检测法是取不同浓度受试样的上清液,在波长为 475 nm 下检测吸光度,进而计算酪氨酸酶活性抑制率。这两种方法是从黑色素生成抑制和酪氨酸酶活性抑制的靶点来评判化妆品的美白功效,数据呈现更直观,适合于利用黑色素生成抑制和酪氨酸酶抑制机理的美白功效评价。陈艳梅等^[23]采用黑色素生成抑制检测法分析曲酸衍生物(KAD3)对斑马鱼黑色素形成的抑制作用,随着 KAD3 浓度的增加,斑马鱼胚胎黑色素含量减少。而酪氨酸酶是黑色素生成的一个重要因素,KAD3 能够有效抑制酪氨酸酶的活性,最终

抑制黑色素的合成。为进一步探究祛斑美白功效,还可从黑色素形成的信号通路来评价。调节黑色素形成的信号通路与微噬菌体相关转录因子(MITF)有关,下调 MITF 活性可以降低相关酶的表达,从而抑制黑色素的形成^[24-25]。Ding 等^[26]发现海洋多酚化合物二氯邻羟基香豆酚(DPHC)能较强烈地抑制酪氨酸酶活性,其通过减少 CAMP 依赖蛋白激酶 A(PKA)的磷酸化来抑制 CAMP 响应元素结合蛋白(CREB)的磷酸化表达,导致 MITF 表达水平下降。在斑马鱼体内研究中,DPHC 显著抑制斑马鱼胚胎体表黑色素合成,为 DPHC 在化妆品行业的应用提供参考依据。根据化妆品原料美白的作用靶点不同,可选择对应的检测方法,评价化妆品美白功效。

2.2 抗炎功效评价

当皮肤受到刺激时,炎症细胞(巨噬细胞、中性粒细胞等)增殖,释放出炎症因子,毛细血管扩张,通透性增加,皮肤出现红肿、刺痛、瘙痒等症状,此称为炎症反应。炎症是目前实验室评价抗炎功效的指标之一。斑马鱼免疫细胞类型和形态与人类相似,存在巨噬细胞、中性粒细胞、淋巴细胞等,使其成为研究炎症的理想体系^[27]。全国现行斑马鱼评价抗炎化妆品团体标准情况如表 2 所示。

对斑马鱼尾部进行断尾处理,可以诱发斑马鱼尾部局部损伤,促使斑马鱼免疫细胞发生免疫应答^[28]。但成丽等^[29]通过切割尾部构建巨噬细胞聚集的转基因斑马鱼(zlyz:EGFP)炎症模型,以此研究血人参提取物的抗炎活性,结果显示:除水层外,血人参提取物不同极性部分——石油醚层和醋酸

表 2 全国现行斑马鱼评价抗炎化妆品团体标准

Table 2 Current national zebrafish evaluation of spot removal soothing cosmetics group standards				
团体名称 Groups name	标准编号 Standards number	标准名称 Standards name	公布日期 Date	参考文献 References
浙江省健康产品化妆品行业协会 Zhejiang Health Products & Cosmetics Industry Association	T/ZHCA 016-2022	化妆品舒缓功效评价斑马鱼幼鱼中性粒细胞抑制率法 Soothing effect evaluation of cosmetics-method for inhibition rate of neutrophil in zebrafish larvae	2022-04-01	[6]
广州开发区黄埔化妆品产业协会 Huangpu Cosmetics Industry Association of Guangzhou Development Zone	T/HPCIA 006-2022	化妆品温和刺激性的测定斑马鱼胚法 Cosmetics-mild irritation-Zebrafish (Danio rerio) embryo assay	2022-06-14	[7]

乙酯层在低浓度下对转基因斑马鱼炎症模型损伤尾部的巨噬细胞聚集具有显著的抑制作用;何林燕等^[30]主要从巨噬细胞和中性粒细胞的聚集和清除情况来表征大麻叶提取物对斑马鱼尾鳍损伤部位抗炎功效,结果显示:2.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度下的大麻叶提取物对斑马鱼尾鳍伤口处的巨噬细胞和中性粒细胞聚集有抑制作用,对巨噬细胞和中性粒细胞的清除有促进作用,且具有显著性差异,说明大麻叶提取物具有良好的抗炎功效。此外,过高浓度的脂多糖(LPS)可引起斑马鱼强烈的炎症反应,分泌大量的炎症因子^[31]。倪立颖等^[32]研究羊栖菜多酚对LPS诱导的斑马鱼的抗炎作用,发现多酚浓度为200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,NO生成率和ROS生成率分别由202.48%和353.44%降至75.62%和128.91%,并且显著降低斑马鱼心跳速率和卵黄囊大小。伍露露等^[33]研究虾青素二十二碳六烯酸(DHA)单酯对LPS诱导斑马鱼炎症反应的保护作用,虾青素DHA单酯组可有效抑制斑马鱼的活性氧ROS和丙二醛MDA含量,且下调炎症因子的表达水平,表明出良好的抗炎活性。 CuSO_4 诱导的急性炎症是由于 CuSO_4 刺激可使斑马鱼免疫细胞迅速迁移至神经丘,而抗炎功效产品可抑制免疫细胞迁移^[34]。Chen等^[35]利用斑马鱼胚胎和细胞模型研究栀子提取物的抗炎活性。研究发现栀子提取物可有效抑制 CuSO_4 诱导的斑马鱼胚胎中原始巨噬细胞向侧线的迁移;与体外细胞模型结果相似,添加栀子提取物处理组降低了LPS诱导的IL-1 β 、IL-6和TNF- α 基因的表达,且导致nkap的表达明显下降,抑制促炎症细胞因子上调。

通过以上3种方法(经过断尾诱导的局部炎症、脂多糖(LPS)诱导的全身炎症和硫酸铜(CuSO_4)诱导的急性炎症)模拟免疫系统对炎症的应激过程,进而评判抗炎功效化妆品的功效性。

此外,T/HPCIA006-2022团体标准中,通过建立

斑马鱼刺激模型,评估抗炎功效化妆品。实验方法是采用24 hpf斑马鱼胚胎,通过行为学——自主运动频率评估抗炎功效化妆品^[7]。何健华等^[36]采用斑马鱼刺激模型与传统斑马鱼炎症模型(斑马鱼体内中性粒细胞数量)对甘草酸二钾和黄芩素抗炎功效进行对比,结果显示两种模型的评价结果基本一致,即甘草酸二钾和黄芩素均能有效发挥抗炎功效。通过斑马鱼行为学评价,更为直观反映化妆品的抗炎功效,且该方法较传统斑马鱼验证模型操作简单,大大节省化妆品开发的实验成本。

2.3 抗氧化功效评价

斑马鱼模型除评价美白和抗炎功效外,还可用于筛选具有抗氧化功效潜力的化妆品。活性氧(reactive oxygen species,ROS)是斑马鱼体内代谢产物之一,是机体正常生理活动的象征。当斑马鱼受到外源物刺激时,体内的ROS含量就会增加,从而导致ROS的自由基代谢异常,诱导脂质过氧化,进而导致细胞发生氧化应激性损伤。正常情况下斑马鱼体内ROS的产生和消除保持动态平衡,当ROS含量发生变化时,斑马鱼可依靠抗氧化物发挥作用清除ROS^[37]。ROS可被特异性染料检测,且斑马鱼胚胎透明,使得检测方法更为便捷;斑马鱼氧化应激模型评价化妆品的抗氧化功效,具有可靠、快速、高效等优点。

目前,通常采用2,2-偶氮二(2-甲基丙基咪)二盐酸盐(AAPH)、LPS等处理诱导斑马鱼产生氧化应激^[38],通过荧光强弱展示ROS产率,进而评价化妆品的抗氧化功效。王杰等^[39]将7~9 hpf的斑马鱼胚胎暴露于不同浓度马齿苋黄酮水溶液1 h后,加入15 mmol/L AAPH建立氧化应激诱导模型,暴露至24 hpf后,将所有溶液更换为胚胎培养液孵育至72 hpf,此时胚胎孵化为仔鱼,对其进行荧光染色1 h后,拍照处理计算得出ROS产生率;结果显示,50~300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的马齿苋黄酮可显著降低AAPH

诱导后斑马鱼仔鱼 ROS 产生率,说明马齿苋黄酮具有较强的体内抗氧化功效,为马齿苋资源的深度开发利用提供数据支撑。邹娅雪等^[40]采用同上方法,对琼胶寡糖(agaro-oligosaccharides, AOS)进行评价,研究得出 AOS 通过清除斑马鱼体内大量 ROS 生成和阻止细胞死亡损伤,提高抗氧化活性,这为 AOS 在化妆品中的应用奠定理论基础。冯敏等^[41]将 6 ~ 7 hpf 的斑马鱼胚胎分别暴露于 2.9 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 维生素 C 和不同浓度洛神花花青素溶液 12 h 后,加入 12 mmol/L AAPH 建立氧化应激诱导模型,暴露至 24 h 后停止 AAPH 诱导损伤,更换为原受试液继续暴露至 2 d,最后全部更换为胚胎培养液,对斑马鱼胚胎进行荧光染色,拍照计算抗氧化功效,结果显示 11.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 洛神花花青素溶液极显著降低斑马鱼 ROS 产生,作用效果与 2.9 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 维生素 C 组相近,具有较好的抗氧化功效。万庆家等^[42]采用 LPS 对斑马鱼胚胎进行氧化应激诱导,挑选 7 ~ 9 hpf 胚胎于不同浓度大麻叶提取物中孵育 1 h 后,加入 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ LPS 孵育至 72 h,荧光染色 1 h 后分析计算荧光强度,得出 2.0 mg/mL 大麻叶提取物显著抑制 ROS 产生,荧光强度较弱,证明大麻叶提取物具有潜在的抗氧化功效,可应用于化妆品中。

通过建立斑马鱼氧化应激模型,结合胚胎透明优势,利用 ROS 荧光强度,可直观反映化妆品的抗氧化功效,减少实验成本。

2.4 其他功效评价

斑马鱼表皮渗透压超过耐受范围时,皮肤将发生脱水现象^[43],且斑马鱼皮肤结构与人体相似。因此,采用高渗透溶液建立斑马鱼补水保湿的诱导模型,模拟评价补水保湿功效化妆品性能。周示玉等^[44]将 2 dpf 斑马鱼置于不同浓度受试物中,孵育 18 h 后对比斑马鱼尾部面积大小,以此评价甘油葡糖苷补水保湿功效,结果表明甘油葡糖苷具有良好的补水保湿功效。陈金龙等^[45]采用 72 hpf 野生型斑马鱼仔鱼置于不同浓度受试物中,孵育 15 min 后对比渗透前后尾部长度变化,计算得出斑马鱼尾部长度收缩率,结果表明 1% 浓度下的三款面膜均有潜在的保湿功效。何林燕等^[46]选取 72 hpf 野生型斑马鱼置于不同浓度的库拉索芦荟叶水中,孵育 20 min 后拍照测量尾部长度(卵黄囊末端尾椎末端),计算斑马鱼尾部长度收缩率,结果表明 25% ~ 100% 浓度下的库拉索芦荟叶水有显著的保湿功效,为库拉索芦荟在化妆品中的应用提供保障。采用

斑马鱼胚胎评价化妆品补水保湿功效,可大大降低实验成本,且实验操作性强,可广泛推广。

斑马鱼伤口皮肤愈合迅速,尾鳍再生是研究组织修复的一种特别有效的模型,因此,可用斑马鱼尾鳍再生模型评价化妆品修护功效。杨娟等^[47]采用 3 d 野生型斑马鱼胚胎,切除尾鳍后暴露于不同浓度受试物中,暴露 48 h 后对胚胎进行拍照分析,结果表明 6% 浓度下的二裂酵母发酵产物溶胞物(Ferment-DFL)对斑马鱼胚胎尾鳍修护促进率达 15%,说明 Ferment-DFL 具有促进修护功效,可广泛应用于护肤品中。

斑马鱼肥大细胞的结构与功能与人类相似,可参与机体的免疫和过敏反应。N-苯甲酰-DL-精氨酸对硝基苯酰胺盐酸盐(BAPNA)是胰蛋白酶(Tryptase)特异性底物,可以检测斑马鱼体内的 Tryptase 表达水平,定量分析化妆品的抗过敏功效。万庆家等^[48]采用 3 dpf 斑马鱼,先后加入相同体积的不同浓度库拉索芦荟花提取物、Compound 48/80、BAPNA 溶液中,各孵育 1 h,使用酶标仪检测吸光值(OD405),以此计算 Tryptase 表达水平和抑制率;结果表明,0.1% ~ 0.4% 的库拉索芦荟花提取物能显著抑制 Tryptase 分泌量,具有潜在的抗过敏功效,为其在化妆品中的应用提供依据。

除以上评价化妆品功效方法外,仍有其他化妆品功效评价方法有待开发,结合斑马鱼自身优势,评价化妆品不同功效性能,有利于化妆品高质量发展。

3 结语

在“颜值经济”社会大背景下,消费者对功效化妆品的需求在逐年增加。由此可见,功效化妆品的研发具有巨大的发展潜力。同时,也需规范功效化妆品市场,让功效宣称与实际功效效果相对应,保障消费者权益。

目前已有美白、抗炎、抗氧化、补水保湿、修护、抗过敏等功效评价模型,斑马鱼模型不仅用于筛选优化功效成分的组方和配比,还可优化功效产品配方和工艺,从功效成分源头进行评价筛选,为后期成品功效性能奠定基础。目前,采用斑马鱼模型评价功效成分的研究较多,而对化妆品产品功效研究的报道较少,缺乏相关数据支撑;化妆品功效宣称种类繁多,而斑马鱼模型评价化妆品功效规范与标准,还在逐步建设和完善。因此,规范斑马鱼模型

评价化妆品方法,完善相关标准,是化妆品行业及科学研究迫切所需。将斑马鱼模型与体外实验、人体试验等评价手段相结合,为深入开展化妆品研究提供更为可靠、快速、有效的方法体系。

总而言之,规范斑马鱼模型评价功效化妆品方法,出台完善的标准规范评价不同功效化妆品,是当务之急。

参 考 文 献(References)

- [1] 中华人民共和国国务院令.第 727 号.关于公布《化妆品安全管理条例》的通知 [EB/OL]. (2020-06-29) [2021-05-06]. http://www.gov.cn/zhengce/content/2020-06/29/content_5522593.html.
Decree of the state council of the people's republic of China. Notice on the promulgation of the regulations on the safety management of cosmetics. No. 727 [EB/OL]. (2020-06-29) [2021-05-06]. http://www.gov.cn/zhengce/content/2020-06/29/content_5522593.html.
- [2] 国家药品监督管理局.国家药监局关于发布《化妆品功效宣称评价规范》的公告(2021 年第 50 号) [EB/OL]. (2021-04-08) [2021-11-15]. <https://www.nmpa.gov.cn/zhuanqi/hzhp2021fhwj/20210409160321110.html>.
State Drug Administration. Announcement of the state food and drug administration on the issuance of the specification for the evaluation of cosmetic efficacy claims (No. 50 [2021]) [EB/OL]. (2021-04-08) [2021-11-15]. <https://www.nmpa.gov.cn/zhuanqi/hzhp2021fhwj/20210409160321110.html>.
- [3] 全国团体标准信息平台.浙江省健康产品化妆品行业协会: T/ZHCA 012-2021 [S]. 2021.
National group standard information platform. Zhejiang Health Products & Cosmetics Industry Association; T/ZHCA 012-2021 [S]. 2021.
- [4] 全国团体标准信息平台.上海日用化学品行业协会: T/SHRH 036-2021 [S]. 2021.
National group standard information platform. Shanghai Daily Chemistry Trade Association; T/SHRH 036-2021 [S]. 2021.
- [5] 全国团体标准信息平台.广州开发区黄埔化妆品产业协会: T/HPCIA 005-2022 [S]. 2022.
National group standard information platform. Huangpu Cosmetics Industry Association of Guangzhou Development Zone; T/HPCIA 005-2022 [S]. 2022.
- [6] 全国团体标准信息平台.浙江省健康产品化妆品行业协会: T/ZHCA 016-2022 [S]. 2022.
National group standard information platform. Zhejiang Health Products & Cosmetics Industry Association; T/ZHCA 016-2022 [S]. 2022.
- [7] 全国团体标准信息平台.广州开发区黄埔化妆品产业协会: T/HPCIA 006-2022 [S]. 2022.
National group standard information platform. Huangpu Cosmetics Industry Association of Guangzhou Development Zone; T/HPCIA 006-2022 [S]. 2022.
- [8] 全国团体标准信息平台.广州开发区黄埔化妆品产业协会: T/HPCIA 007-2022 [S]. 2022.
National group standard information platform. Huangpu Cosmetics Industry Association of Guangzhou Development Zone; T/HPCIA 007-2022 [S]. 2022.
- [9] 全国团体标准信息平台.浙江省健康产品化妆品行业协会: T/ZHCA 014-2022 [S]. 2022.
National group standard information platform. Zhejiang Health Products & Cosmetics Industry Association; T/ZHCA 014-2022 [S]. 2022.
- [10] 全国团体标准信息平台.浙江省健康产品化妆品行业协会: T/ZHCA 015-2022 [S]. 2022.
National group standard information platform. Zhejiang Health Products & Cosmetics Industry Association; T/ZHCA 015-2022 [S]. 2022.
- [11] 郭胜亚,朱晓宇,周佳丽,等.斑马鱼在功能性食品研究中的应用进展 [J]. 中国实验动物学报, 2020, 28(1): 143-147.
Guo SY, Zhu XY, Zhou JL, et al. Application of zebrafish in functional food research [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2020, 28(1): 143-147.
- [12] 潘番媛.国家斑马鱼资源中心发表斑马鱼胚胎实验系列操作手册 [EB/OL]. (2022-05-17). <http://www.zfish.cn/Article/4765.html>.
Pan LY. China Zebrafish Resource Center published a series of operational manuals for zebrafish embryo experiments [EB/OL]. (2022-05-17). <http://www.zfish.cn/Article/4765.html>.
- [13] 李礼,罗凌飞.以斑马鱼为模式动物研究器官的发育与再生 [J]. 遗传, 2013, 35(4): 321-332.
Li L, Luo LF. Zebrafish as the model system to study organogenesis and regeneration [J]. Hereditas, 2013, 35(4): 321-332.
- [14] 秦帅,张永萍,陈希,等.应用斑马鱼高通量筛选平台筛选抗炎民族药研究 [J]. 中华中医药杂志, 2020, 35(8): 4146-4148.
Qin S, Zhang YP, Chen X, et al. Study on screening anti-inflammatory ethnic medicine by zebrafish high-throughput platform [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2020, 35(8): 4146-4148.
- [15] Wu HL, Zhao YC, Huang QL, et al. NK1R/5-HT1AR interaction is related to the regulation of melanogenesis [J]. FASEB J, 2018, 32(6): 3193-3214.
- [16] Du Y, Guo Q, Shan M, et al. Spatial and temporal distribution of dopaminergic neurons during development in zebrafish [J]. Front Neuroanat, 2016, 10: 115.
- [17] Cline A, Feldman SR. Zebrafish for modeling skin disorders [J]. Dermatol Online J, 2016, 22(8): 13030.
- [18] Zhang JB, Chambers I, Yun SJ, et al. Hrg1 promotes heme-iron recycling during hemolysis in the zebrafish kidney [J]. PLoS Genet, 2018, 14(9): e1007665.
- [19] Logan DW, Burn SF, Jackson IJ. Regulation of pigmentation in

- zebrafish melanophores [J]. *Pigment Cell Res*, 2006, 19(3): 206–213.
- [20] 管淑玉. 黑色素相关研究中动物模型的应用进展 [J]. *中国实验动物学报*, 2009, 17(6): 475–477.
- Guan SY. Application of animal models in melanin-related studies [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2009, 17(6): 475–477.
- [21] Park JJ, Hwang SJ, Kang YS, et al. Synthesis of arbutin-gold nanoparticle complexes and their enhanced performance for whitening [J]. *Arch Pharm Res*, 2019, 42(11): 977–989.
- [22] 张文娟, 许璟瑾, 陈晓莹, 等. 水仙醇提取物对斑马鱼胚胎黑色素合成的抑制作用 [J]. *中国实验动物学报*, 2017, 25(4): 425–432.
- Zhang WJ, Xu JJ, Chen XY, et al. Alcohol extracts of *Narcissus* bulb inhibits melanogenesis in zebrafish embryos [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2017, 25(4): 425–432.
- [23] 陈艳梅, 胡昱, 黄玲珑, 等. 曲酸衍生物 KAD3 的合成及其抑制黑色素形成的作用机制 [J]. *厦门大学学报(自然科学版)*, 2020, 59(6): 929–938.
- Chen YM, Hu Y, Huang LL, et al. Synthesis of kojic acid derivative KAD3 and its mechanism of inhibiting melanin formation [J]. *J Xiamen Univ Nat Sci*, 2020, 59(6): 929–938.
- [24] Wu PY, You YJ, Liu YJ, et al. Sesamol inhibited melanogenesis by regulating melanin-related signal transduction in B16F10 cells [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(4): 1108.
- [25] Thanigaimalai P, Manoj M, Sang HJ. Downregulation of melanogenesis: drug discovery and therapeutic options [J]. *Drug Discov Today*, 2017, 22(2): 282–298.
- [26] Ding Y, Jiang Y, Im ST, et al. Diphlorethohydroxycarmalol inhibits melanogenesis via protein kinase A/cAMP response element-binding protein and extracellular signal-regulated kinase-mediated microphthalmia-associated transcription factor downregulation in α -melanocyte stimulating hormone-stimulated B16F10 melanoma cells and zebrafish [J]. *Cell Biochem Funct*, 2021, 39(4): 546–554.
- [27] 段秀英, 马瑞娇, 张云, 等. 斑马鱼炎症模型及其在中药抗炎领域的应用 [J]. *药物评价研究*, 2021, 44(8): 1573–1580.
- Duan XY, Ma RJ, Zhang Y, et al. Zebrafish inflammation model and its application in anti-inflammatory field of traditional Chinese medicine [J]. *Drug Eval Res*, 2021, 44(8): 1573–1580.
- [28] Martin P, Feng Y. Inflammation: wound healing in zebrafish [J]. *Nature*, 2009, 459(7249): 921–923.
- [29] 但成丽, 张艳焱, 张永萍, 等. 基于转基因斑马鱼炎症模型的血人參提取物抗炎活性筛选研究 [J]. *时珍国医国药*, 2016, 27(11): 2617–2620.
- Dan CL, Zhang YY, Zhang YP, et al. Study on anti-inflammatory activity of *Radix Indigofera* extract based on transgenic zebrafish mode-screening [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2016, 27(11): 2617–2620.
- [30] 何林燕, 包萝艳, 曾庆敏, 等. 大麻叶提取物的抗炎功效研究 [J]. *香料香精化妆品*, 2021, 4: 51–54, 58.
- He LY, Bao LY, Zeng QM, et al. Study on the anti-inflammatory effect of *Cannabis sativa* L. leaf extract [J]. *Flavour Frag Cosmet*, 2021, 4: 51–54, 58.
- [31] Jiang X, Chen L, Shen L, et al. Trans-astaxanthin attenuates lipopolysaccharide-induced neuroinflammation and depressive-like behavior in mice [J]. *Brain Res*, 2016, 1649: 30–37.
- [32] 倪立颖, 邹娅雪, 付晓婷, 等. 利用 LPS 诱导胚胎期斑马鱼炎症模型研究羊栖菜多酚抗炎机制 [J]. *食品工业科技*, 2019, 40(21): 279–285.
- Ni LY, Zou YX, Fu XT, et al. Anti-inflammatory mechanism of phenolic compounds from *Sargassum fusiforme* by LPS-induced zebrafish embryo model [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2019, 40(21): 279–285.
- [33] 伍露露, 王晓旭, 罗京义, 等. 虾青素 DHA 单酯对脂多糖诱导炎症反应的保护作用 [J]. *食品科学*, 2022, 43(19): 158–164.
- Wu LL, Wang XX, Luo JY, et al. Protective effect of astaxanthin docosahexaenoic acid monoester on lipopolysaccharide-induced inflammatory responses [J]. *Food Sci*, 2022, 43(19): 158–164.
- [34] Pereira TCB, Campos MM, Bogo MR. Copper toxicology, oxidative stress and inflammation using zebrafish as experimental model [J]. *J Appl Toxicol*, 2016, 36(7): 876–885.
- [35] Chen J, Tchivelekete GM, Zhou X, et al. Anti-inflammatory activities of *Gardenia jasminoides* extracts in retinal pigment epithelial cells and zebrafish embryos [J]. *Exp Ther Med*, 2021, 22(1): 700.
- [36] 何健华, 郭清泉, 王雅馨, 等. 斑马鱼胚胎行为学在化妆品原料舒缓功效评价中的应用 [J]. *轻工学报*, 2022, 37(3): 117–126.
- He JH, Guo QQ, Wang YX, et al. Application of zebrafish embryos behavior in soothing efficacy evaluation of cosmetic ingredients [J]. *J Light Ind*, 2022, 37(3): 117–126.
- [37] 尹娜, 陈秋燕, 王瑞芳, 等. 模式生物斑马鱼在植物多糖生物活性评价中的应用进展 [J]. *中国实验动物学报*, 2022, 30(5): 705–712.
- Yin N, Chen QY, Wang RF, et al. Progress in the application of model organism zebrafish in the evaluation of plant polysaccharide bioactivity [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2022, 30(5): 705–712.
- [38] Kang MC, Cha SH, Wijesinghe WA, et al. Protective effect of marine algae phlorotannins against AAPH-induced oxidative stress in zebrafish embryo [J]. *Food Chem*, 2013, 138(2-3): 950–955.
- [39] 王杰, 王瑞芳, 王园, 等. 响应面优化马齿苋黄酮水提工艺及其抗氧化活性评价 [J]. *食品与发酵工业*, 2020, 46(19): 197–204.
- Wang J, Wang RF, Wang Y, et al. Optimization of water extraction technology by response surface methodology for flavonoids in *Portulaca oleracea* L. and its antioxidant activity assessment [J]. *Food Ferment Ind*, 2020, 46(19): 197–204.
- [40] 邹娅雪, 付晓婷, 段德麟, 等. 利用斑马鱼模型研究琼胶寡

- 糖抗氧化机制 [J]. 食品工业科技, 2019, 40(4): 286–291, 298.
- Zou YX, Fu XT, Duan DL, et al. Antioxidant activities of agaro-oligosaccharides in AAPH-induced zebrafish model [J]. Sci Technol Food Ind, 2019, 40(4): 286–291, 298.
- [41] 冯敏, 幸宏伟, 尤琳峰, 等. 洛神花花青素提取工艺及抗氧化活性研究 [J/OL]. 重庆工商大学学报(自然科学版): 1–10 [2023–03–15]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1155.n.20220907.1102.004.html>.
- Feng M, Xing HW, You LF, et al. Study on extraction process optimization and antioxidant activity of anthocyanin from roselle [J/OL]. J Chongqing Technol and Busin Univ: 1–10 [2023–03–15]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1155.n.20220907.1102.004.html>.
- [42] 万庆家, 廖海慧, 曾庆敏, 等. 大麻叶提取物的抗氧化功效研究 [J]. 香料香精化妆品, 2021(3): 37–39, 46.
- Wan QJ, Liao HH, Zeng QM, et al. Study on the antioxidant effect of *Cannabis sativa* L. Leaf extract [J]. Flavour Frag Cosmet, 2021(3): 37–39, 46.
- [43] Connolly MH, Paredes E, Mazur P. A preliminary study of osmotic dehydration in zebrafish embryos: implications for vitrification and ultra-fast laser warming [J]. Cryobiology, 2017, 78: 106–109.
- [44] 周示玉, 范嘉莹, 沈佳琪, 等. 甘油葡萄糖苷的护肤功效评价 [J]. 广东化工, 2021, 48(23): 103–105, 92.
- Zhou SY, Fan JY, Shen JQ, et al. Evaluation of the efficacy of glycosyl glycerol in skin care [J]. Guangdong Chem Ind, 2021, 48(23): 103–105, 92.
- [45] 陈金龙, 何家郎, 刘永周, 等. 斑马鱼模型在化妆品保湿功效评价中的应用 [J]. 广东化工, 2022, 49(18): 68–70.
- Chen JL, He JL, Liu YZ, et al. Application of zebrafish model in the evaluation of moisturizing effect of cosmetics [J]. Guangdong Chem Ind, 2022, 49(18): 68–70.
- [46] 何林燕, 李兰珠, 钱绍祥, 等. 斑马鱼模型法评估库拉索芦荟叶水的保湿功效研究 [J]. 精细与专用化学品, 2023, 31(1): 20–23.
- He LY, Li LZ, Qian SX, et al. Study on the moisturizing efficacy of aloe vera leaf water evaluated by zebrafish model [J]. Fine and Speci Chem, 2023, 31(1): 20–23.
- [47] 杨娟, 刘新琳, 郑雅莉, 等. 二裂酵母发酵产物溶胞物在化妆品中的功效评估 [J]. 日用化学品科学, 2022, 45(12): 24–26, 39.
- Yang J, Liu XL, Zheng YL, et al. Efficacy evaluation of bifida ferment lysate in cosmetics [J]. Deterg Cosmet, 2022, 45(12): 24–26, 39.
- [48] 万庆家, 于晓霞, 李想, 等. 库拉索芦荟花抗过敏功效研究 [J]. 精细与专用化学品, 2020, 28(7): 42–45.
- Wan QJ, Yu XX, Li X, et al. Study on the antiallergic effect of Aloe Vera flower [J]. Fine and Speci Chem, 2020, 28(7): 42–45.

[收稿日期] 2022–06–26