蚕蛹蛋白肽组方的抗氧化活性评价

魏定钧[1]，赵智全[1]，刘民[1]，刘军[1]，赵林[1]，余熙[2]，吴海强[3]，吴序栎[4*]

（1.深圳市创华生物医药有限公司，广东深圳 518000）（2.深圳大学医学部生物医学工程学院，广东深圳 518000）（3.深圳大学医学部药学院，广东深圳 518000）（4.深圳大学医学部公共卫生学院，广东深圳 518000）

摘要：该文基于不同剂量的蚕蛹蛋白肽、透明质酸钠、远志提取物组成的组方，评价该组方对光老化的功效。建立小鼠光老化模型，设置正常组、模型组、阳性对照组和处理组，处理组设置 3 个剂量。评价了小鼠皮肤损伤程度；染色观察小鼠皮肤结构病理变化；测定皮肤水分含量以及抗氧化物酶活性、氧化应激产物含量、抗氧化物质 GSH 含量；测定 HFF-1 细胞线粒体膜电位（MMP）。结果显示，该组方有助于减轻由光老化引起的皮肤结构受损，抑制皮肤表皮层和真皮层厚度增加，减少水分和胶原蛋白的流失，提高抗氧化酶活性，抑制氧化应激产物的产生。经中、高剂量组方治疗后 GSH 含量由模型组的 2.30 mg/g 显著提高至 3.63、4.17 mg/g，线粒体相对膜电位由模型组的 50.33% 提升至 61.33%、94.00%。以上结果表明，该组方在一定剂量浓度下，能够缓解光老化造成的氧化应激，具有抗光老化的功效，呈剂量依赖性。该文为蚕蛹蛋白肽组方对抗紫外线引起的皮肤光损伤提供了重要的理论依据，为开发相关“皮肤友好型”保健品提供了重要的研究基础，该组方极具进一步研究和开发的价值。

关键词：蚕蛹蛋白肽；透明质酸钠；远志提取物；光老化；抗氧化

文章编号：1673-9078(2025)04-117-124 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.4.0262

Evaluation of Antioxidant Efficacy of a Silkworm Pupa Peptide Prescription

WEI Dingjun[1], ZHAO Zhiquan[1], LIU Min[1], LIU Jun[1], ZHAO Lin[1], YU Xi[2], WU Haiqiang[3], WU Xuli[4*]

(1.Shenzhen Chuanghua Biopharmaceutical Co. Ltd., Shenzhen 518000, China)

(2.School of Biomedical Engineering, Health Science Center, Shenzhen University, Shenzhen 518000, China)

(3.School of Pharmaceutical Sciences, Health Science Center, Shenzhen University, Shenzhen 518000, China)

(4.School of Public Health, Health Science Center, Shenzhen University, Shenzhen 518000, China)

Abstract: The anti-photoaging efficacy of a prescription comprising silkworm pupa peptides, sodium hyaluronate, and *Polygala tenuifolia* extract was evaluated in this study. A mouse model of photoaging was established, and normal, model, positive control, and treatment group were set up at three dosage levels. Key assessments included the severity of skin damage, histopathological changes, water content, antioxidant enzyme activity, oxidative stress markers, glutathione (GSH) levels, and mitochondrial membrane potential in HFF-1 cells. The results revealed that the prescription alleviated structural damage caused by photoaging, inhibited epidermal and dermal thickening, reduced water and collagen loss, and promoted increases in antioxidant enzyme activities, whilst suppressing oxidative stress markers. In response to treatments with the prescription at medium and high doses, there were significant increases in GSH content in the model group from 2.30 mg/g to

引文格式：

魏定钧,赵智全,刘民,等.蚕蛹蛋白肽组方的抗氧化活性评价[J].现代食品科技,2025,41(4):117-124.

WEI Dingjun, ZHAO Zhiquan, LIU Min, et al. Evaluation of antioxidant efficacy of a silkworm pupa peptide prescription [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(4): 117-124.

收稿日期：2024-03-04

基金项目：国家自然科学基金项目（32172311）；深圳市科技计划项目（JCYJ20220531102205012；GJHZ20210705141803010）

作者简介：魏定钧（1997-），男，硕士，实验员，研究方向：食品营养，E-mail：weidingjun@126.com

通讯作者：吴序栎（1977-），男，博士，教授，研究方向：食品营养，E-mail：wxl@szu.edu.cn

3.63 and 4.17 mg/g, respectively, and there were corresponding elevations in mitochondrial membrane potential from 50.33% to 61.33% and 94.00%. These findings indicate that at certain dosage concentrations, the prescription can alleviate oxidative stress caused by photoaging and has dose-dependent anti-photoaging effects. The findings of this study provide an important theoretical basis for application of silkworm pupa peptide prescriptions in preventing the photodamage of skin caused by ultraviolet irradiation, as well as an important research basis for the development of related “skin-friendly” health products. Moreover, this prescription has considerable potential for further research and development.

Key words: silkworm pupa peptide; sodium hyaluronate; *Polygala tenuifolia*; photoaging; antioxidant

皮肤是人体暴露在最外部的器官，主要包括以下两个方面的作用：一是防止体内水分、电解质等物质的流失；二是减少外部机械性的损伤，阻止有害物质的侵入。

紫外线（Ultraviolet, UV）可以影响皮肤的结构和功能[1]，包括皮肤粗糙、松弛、皱纹加深、不规则的色素沉着等，严重可导致皮肤癌和免疫抑制[2-4]。UV 对皮肤造成的损伤主要是通过提高活性氧（Reactive Oxygen Species, ROS）的水平，过量的 ROS 无法及时被机体清除，从而引起核酸、蛋白质、脂质损伤，并激活丝裂原活化蛋白激酶（Mitogen-Activated Protein Kinase, MAPK）信号通路，刺激基质金属蛋白酶（Matrix Metalloproteinases, MMPs）表达，造成胶原蛋白和弹性蛋白流失，并且抑制细胞内超氧化物歧化酶（Super Oxide Dismutase, SOD）、过氧化氢酶（Catalase, CAT）、谷胱甘肽过氧化物酶（Glutathione Peroxidase, GSH-Px）等抗氧化酶，加速细胞外基质（Extracellular Matrix, ECM）的降解，造成皮肤光老化[5,6]。

维生素 C 作为一种抗氧剂，可以清除氧自由基，抑制脂质代谢等[7]，还可减少皮肤皱纹，改善皮肤纹理、强度和均匀性。但长期大剂量使用维生素 C 可能导致腹泻、恶心、呕吐、胃痛、头痛[8,9]。近年有大量研究表明，部分植物提取物、蛋白水解物可用于缓解光老化症状，他们通过抑制 ROS 或 MMPs 生成，抑制皮肤增生，改善皮肤水分状态，增加透明质酸和胶原蛋白含量[10-13]。家蚕（Bombyx Mori）是一种家养昆虫，具有极高的营养价值和药用功效。近年来，研究发现，蚕蛹的酶解产物，蚕蛹蛋白肽（Silkworm Pupa Peptide, SPP）具有多种生物活性，如抗氧化、抗肿瘤、降血压、提高免疫等。作为天然来源，SPP 有望改善皮肤功能。

透明质酸钠（Sodium Hyaluronate, SH）是透明质酸的钠盐，由 D-葡糖醛酸和 N-乙酰-D-氨基葡萄糖组成，其作为一种优秀的保湿剂，能够吸附并保持水分，使皮肤和组织保持湿润，有助于维持皮肤的弹性和光泽。

佤药远志（*Polygala Tenuifolia*），又名娘母良（*Polygala Crotalarioides*, 佤文：Nya Miex Tiang），属远志科远志属多年生草本植物，通常生长在中国的北方地区[14]。佤药远志为佤族稀有珍贵药材，是一味中医常用的中药，其提取物具有抗氧化性质，有助于减少自由基的产生，减缓皮肤衰老，亦具有抗炎作用，可以减轻皮肤炎症。

本文选取蚕蛹蛋白肽、透明质酸钠、远志提取物按不同比例调配成组方，在动物水平和细胞水平上探讨该组方对小鼠皮肤光老化的治疗保护作用。首先，构建小鼠皮肤光老化损伤模型，通过皮肤表征评分、皮肤弹性测试、皮肤厚度测量、皮肤水分含量测试来评价小鼠皮肤损伤程度；HE 染色、Masson 染色观察小鼠皮肤结构病理变化；测试抗氧化物酶活性；测试氧化应激产物以及抗氧化物质的含量；测定 HFF-1 细胞线粒体膜电位（Mitochondrial Membrane Potential，MMP），评价不同剂量组方抗皮肤光老化功效，为针对皮肤光老化，开发“皮肤友好型”保健品提供了重要的研究支持。

1 材料与方法

1.1 实验仪器

BSA224S 电子分析天平，德国 Sartorious 公司；MX-S 涡旋混合器，美国 SCILOGEX 公司；SYNERGY HTX 全波长酶标仪，美国 Bio Tek 公司；Milli-Q 超纯水仪，美国 Millipore 公司；Centrifuge 5424 R 小型台式高速离心机，德国 Eppendorf 公司；P-系列单道可调式移液器，美国 Gilson 公司；T5 6W UVA-340、UVB-313 灯管，东莞市川谷照明科技有限公司；Scientz-10N 台式冷冻干燥机，宁波新芝生物科技股份有限公司；ULTS1651 超低温冰箱，美国

Thermofisher 公司。

1.2 实验材料

蚕蛹蛋白肽（批号 20220926，肽含量为：77.9%），南通福尔生物制品有限公司；透明质酸钠（批号 20220607，纯度为：98.0%），山东葆力嘉生物科技有限公司；远志提取物（批号 22103141，皂苷含量为：8.0%），陕西天行健生物化工技术有限公司；所有皮肤病理切片相关材料，北京索莱宝科技有限公司；丙二醛测定试剂盒，南京建成生物工程研究所；活性氧荧光法测试盒、总超氧化物歧化酶比色法测试盒、过氧化氢酶比色法测试盒、谷胱甘肽过氧化物酶比色法测试盒、谷胱甘肽比色法测试盒，武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司；生理盐水，北京索莱宝科技有限公司；JC-1 线粒体膜电位试剂盒，美国 Thermofisher 公司。

1.3 实验动物

SPF 级雌性昆明小鼠，体质量 29~36 g，由广东省医学实验动物中心提供（许可证号码：SXCK（粤）2022-0002）。饲养条件为：室温，（20±2）℃；湿度，50%±5%；12 h 明 / 暗循环，自由饮水饮食。

1.4 实验方法

1.4.1 小鼠光老化模型的建立

研究发现，蚕蛹蛋白肽、远志提取物具有明显抗氧化的作用[15,16]，但二者配伍后的抗光老化作用尚待深入研究。此外，前文述及透明质酸钠具有保持皮肤的弹性和光泽的作用，因此将蚕蛹蛋白肽、远志提取物和透明质酸钠调配成组方，以期能够通过三种物质的协同作用，增强抗光老化的功效。参考刘洋[17]的方法，并作修改，具体而言，使用宠物剃毛刀对各组小鼠背部大部区域进行剃毛，使之完全暴露。除正常组外，各组小鼠放入自制辐射笼中，每隔一天用自制紫外灯箱照射小鼠背部皮肤，辐照。辐照源：UVA（340 nm）=850 μW/cm^2；UVB（313 nm）=592.3 μW/cm^2。单次辐照剂量为 110 mJ/cm^2，实验共照射 24 次，总剂量为 2.64 J/cm^2。每次辐照后灌胃处理，各组剂量参照文献[18]，并作修改，如表 1 所示。实验时需仔细观察小鼠背部是否出现溃烂、流脓、红肿等严重炎症反应，如果有则需停止辐照，直至背部皮肤无上述症状。第八周后取辐照区的皮肤置于 −80 ℃冰箱备用，保存血清。（动物实验伦理号：IACUC-202300134）

表 1 动物的分组和处理

Table 1 Grouping and handling of animals

分组	灌胃物和剂量
正常组	生理盐水
模型组	生理盐水
阳性对照组	维生素 C 40 mg/(kg·d)
低剂量组	蚕蛹肽 250 mg/(kg·d)，透明质酸钠 6.75 mg/(kg·d)，远志提取物 2.5 mg/(kg·d)
中剂量组	蚕蛹肽 500 mg/(kg·d)，透明质酸钠 13.5 mg/(kg·d)，远志提取物 5.0 mg/(kg·d)
高剂量组	蚕蛹肽 1 000 mg/(kg·d)，透明质酸钠 27 mg/(kg·d)，远志提取物 10 mg/(kg·d)

1.4.2 皮肤弹性测试

参考彭志兰[19]的方法，将小鼠以适量水合氯醛处理后，轻轻提起剃毛区皮肤，使其四肢恰好离开平面，松手，立即计时，精确记录皮肤恢复原态时所花时间，即为皮肤恢复时间。

1.4.3 皮肤表征评分

小鼠处死后，对其背部裸露皮肤进行拍照和皮肤表征评分。评分标准参照文献[20]，并作修改，如表 2 所示。

表 2 皮肤光老化评分标准

Table 2 Skin photoaging rating scale

评分	评分标准
0	皮肤无皱纹、松弛
1	皮肤出现少量横向细纹
2	皮肤出现大量横向细纹
3	出现横向浅皱纹，无红斑、创伤、水肿
4	出现少量横向深皱纹，皮肤泛红、轻微创伤、水肿
5	大量横向粗糙深皱纹，皮肤松弛，明显红肿、创伤
6	重度皱纹，大块红肿，肿瘤或病变

1.4.4 皮肤厚度测量

处死小鼠后，剪取小鼠背部剃毛区的皮肤，用电子游标卡尺测量小鼠皮肤自然松弛状态下的厚度（mm）。

1.4.5 小鼠皮肤切片HE、Masson染色

小心剪取小鼠背部裸露皮肤，置于适量质量分数为 4% 的多聚甲醛中，包埋于石蜡，切片 4 μm，染色。

HE 染色：苏木精染液主要染色细胞核，呈蓝紫色，使细胞核清晰可见。伊红染料可以将细胞质和细胞外基质染成红色，使胞浆结构显现。在显微镜下观察得到的组织切片并拍摄图片。

Masson 染色：Masson 染色是一种用于组织学

研究的特殊染色技术，能够将胶原纤维染成蓝色，而细胞核和肌纤维则呈红色，主要用于观察和分析胶原纤维的分布和形态。

1.4.6 皮肤含水量测定

参照文献[21]，取一定质量的小鼠皮肤，60 ℃烘干 4 h，精密称量烘干前后的皮肤质量。

$$WC=\frac{m_1-m_2}{m_1}\times 100\% \quad (1)$$

式中：

WC——皮肤含水量，%；

m_1——烘干前皮肤质量，mg；

m_2——烘干后皮肤质量，mg。

1.4.7 皮肤成分相关指标测定

皮肤匀浆液制备：取一定质量的小鼠背部脱毛区皮肤组织，以生理盐水漂洗后精密称量皮肤组织质量。冰浴下，快速剪碎皮肤组织并移至玻璃匀浆管中，加入适量 0.2 mol/L 磷酸盐缓冲液，以 44 720×*g* 匀浆 10 s，间歇 30 s，反复进行 3 次，制成质量分数为 10% 的组织匀浆，1 062×*g* 离心 5~10 min，取上清液待测，离心取上清液。相关指标的测定严格按照试剂盒步骤进行测定。

1.4.8 线粒体功能检测

按照参考文献[22]的操作方法，并稍作修改。以 PBS 清洗、收集的 HHF-1 细胞为测试对象，并用酶标仪分析结果。测试 JC-1 单体荧光强度：激发波长 515 nm，发射波长 529 nm；测试 JC-1 聚合物荧光强度：激发波长 585 nm，发射波长 590 nm。计算单体和聚合物的荧光值比例反映 MMP，进而反映线粒体功能。

1.4.9 数据分析

使用 Prism 5 作图，多组间资料比较通过单向方差分析（ANOVA）进行检验，组间比较 *P＜0.05 表示差异显著，**P＜0.01 表示差异非常显著。

2 结果与讨论

2.1 小鼠背部皮肤表征

长时间接受紫外线照射容易导致皮肤老化，表现为干燥、松弛、皱纹增加、厚度增加和出现红斑。同时，急性光损伤会扩张血管并增加通透性，从而加重炎症反应。根据图 1 的结果，正常组和阳性对照组的小鼠背部皮肤呈现出相对光滑的状态，而模型组的小鼠背部皮肤则呈现横向皱纹和红斑，表明成功建立了小鼠皮肤光老化模型。与模型组的小鼠相比，低剂量和中剂量小鼠的背部皮肤红斑程度有所减轻，高剂量小鼠的背部皮肤则没有明显的红斑。

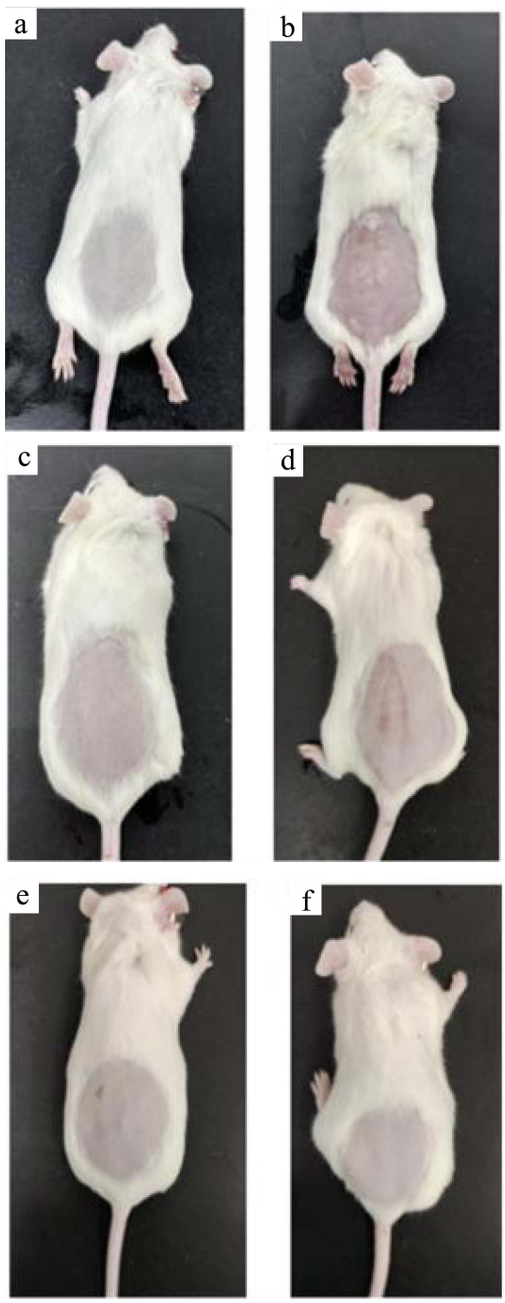

图 1 小鼠背部皮肤外观

Fig.1 Appearance of the skin on the back of mice

注：a 为正常组，b 为模型组，c 为阳性组，d 为低剂量组，e 为中剂量组，f 为高剂量组。图 6、7 同。

从表 3 可知，模型组小鼠的皮肤评分（5.27）、提皮恢复时间（6.85 s）和皮肤总厚度（1.13 mm）三项指标较正常组小鼠（分别为 0.00、2.17 s、

0.41 mm）均显著增加，这说明长期的紫外照射使得小鼠皮肤出现皱纹、红肿、皮肤厚度增加等情况，引起对小鼠皮肤出现明显的损伤。与模型组相比，处理组小鼠（高剂量、中剂量）的三项指标均有下降，尤其是高剂量组小鼠（分别为 3.32、4.37 s、0.62 mm）。该组方呈明显的剂量依赖性，可能通过增加弹性蛋白和胶原蛋白含量，保持皮肤紧致和弹性；通过减少炎症反应，收缩血管，减轻皮肤红肿症状，同时可以有效缓解急性光损伤造成的瘢痕增生，降低皮肤厚度。

表 3 组方对小鼠光老化皮肤表征评价的影响

Table 3 The effect of prescription on the characterization and evaluation of photo-aged skin in mice (*n*=5)

组别	皮肤评分	提皮恢复时间/s	皮肤总厚度/mm
正常组	0.00 ± 0.00**	2.17 ± 0.10**	0.41 ± 0.02**
模型组	5.27 ± 0.42	6.85 ± 0.39	1.13 ± 0.06
阳性组	2.47 ± 0.73*	2.32 ± 0.12**	0.53 ± 0.04**
高剂量组	3.32 ± 0.24*	4.37 ± 0.22*	0.62 ± 0.03*
中剂量组	3.80 ± 0.23*	5.44 ± 0.37*	0.75 ± 0.07*
低剂量组	4.33 ± 0.41	6.37 ± 0.32	0.89 ± 0.06

注：与模型对照组比较，*P＜0.05，**P＜0.01。

2.2 光老化小鼠皮肤水分含量

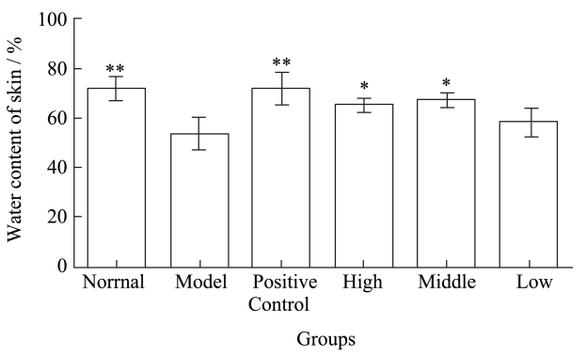

图 2 组方对光老化小鼠皮肤水分含量的影响

Fig.2 Effect of the complex prescription on the water content of skin (*n*=5)

注：与模型对照组比较，*P＜0.05，**P＜0.01。图 3、4、8 同。

长期的紫外照射导致皮肤含水量降低，可能导致皱纹的出现，这也是光老化的指标之一。如图 2 所示，正常组小鼠的皮肤含水量为 71.21%，长时间暴露在紫外线导致模型组小鼠皮肤含水量降低至 53.32%；在处理组中，相对于模型组，高剂量组小鼠皮肤含水量显著提高至 65.41%，这说明高剂量下，该组方具有一定改善皮肤水分状态的效果。SH 是一种优秀的保湿剂，它能渗透进皮肤表皮层，与皮肤组织形成粘黏性液体，为皮肤提供机械性保护的同时，将结构蛋白等带入皮肤损伤处，有利于消除皮肤红肿，保持皮肤水润，促进组织修复。因此，在组方中添加 SH 可增强对抗光老化造成的皮肤干燥，减少皱纹形成的功效。

2.3 氧化损伤指标分析

紫外线可诱导体内产生过量的 ROS，引起细胞膜损伤，引起蛋白质的结构和功能改变，攻击细胞核中的 DNA，导致 DNA 损伤，引起基因突变，从而增加癌症等疾病的风险。在自由基的参与下，脂质被过度氧化，产物为丙二醛（Malondialdehyde, MDA）类似物，因此MDA也作为氧化应激的生物标志物之一。

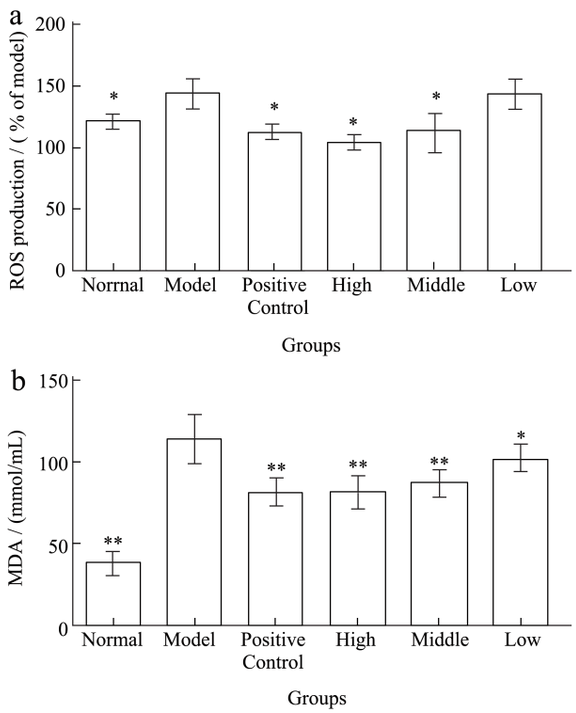

图 3 组方对光老化小鼠皮肤中 ROS、MDA 含量影响

Fig.3 Effect of the complex prescription on the level of ROS and MDA of photoaging mice (*n*=5)

如图 3 所示，模型组小鼠皮肤匀浆中的 ROS 相对水平为 145.10%，显著高于正常组的 122.22%，这表明模型组小鼠皮肤组织出现明显的氧化应激损伤，说明小鼠模型建立成功。与模型组小鼠相比，经维生素 C 或高剂量、中剂量组方治疗后，小鼠体内 ROS 相对水平分别下降至 113.19%、104.27%、114.21%，缓解了小鼠氧化应激损伤。除此之外，与正常组小鼠相比，模型组小鼠的 MDA 浓度显著上升 400.36%，这表明紫外照射加剧了氧化应激。与模型组相比，经维生素 C 或组方治疗后的小鼠

MDA 含量显著降低 10.47%~22.39%。蚕蛹蛋白肽中含有的氨基酸，如半胱氨酸、赖氨酸和甘氨酸等，具有潜在对抗自由基的作用，中和氧化应激产物，从而减少氧化应激产物对细胞的损伤，也可能保护线粒体免受损伤或促进其功能，影响细胞内的氧化还原状态和相关信号通路来减少 ROS 产生；远志提取物中的远志皂苷能够激活体内抗氧化酶的活性，抑制炎症介质的产生和炎症信号通路的激活，间接减少 ROS 和 MDA 的生成。上述结果证明，该组方能有效抑制体内 ROS 以及 MDA 的产生，缓解氧化应激反应，抵御紫外线对皮肤的损伤。

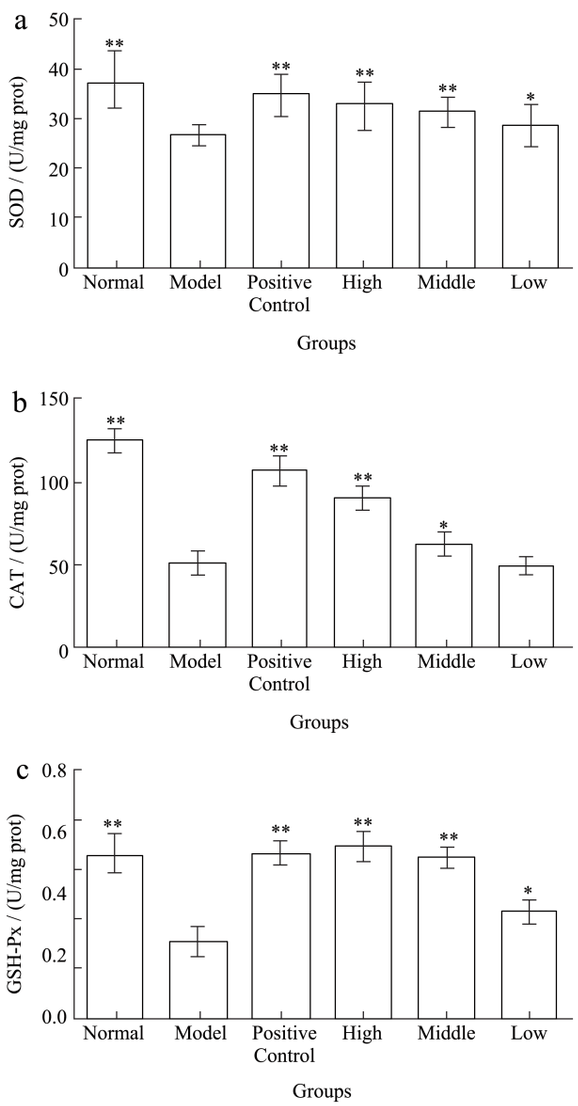

图 4 组方对光老化小鼠皮肤中 SOD、CAT、GSH-Px 含量影响

Fig.4 Effect of the complex prescription on the level of SOD, CAT, GSH-Px of photoaging mice (*n*=5)

2.4 抗氧化酶活性分析

在正常生理情况下，少量的 ROS 参与维系细胞必要的信号通路，ROS 的水平受到 SOD、GSH-Px 和 CAT 等抗氧化酶的严格调控，起到屏障的作用。在长期紫外照射下，过量的 ROS 突破屏障，造成氧化应激损伤。如图 4 所示，模型组小鼠 SOD、CAT、GSH-Px 活性较正常组分别降低 28.32%、58.73%、51.92%，这表明长期紫外照射降低了小鼠体内抗氧化酶活性。而对比模型组，经过组方治疗的小鼠上述酶活性显著提高，这表明该组方能在皮肤受到损伤后，提升抗氧化酶活性。蚕蛹蛋白肽可能通过激活抗氧化应答途径来提高抗氧化酶的表达和活性，增强细胞对氧化应激的防御能力；远志皂苷可能能够直接与 SOD、CAT、GSH-Px 相互作用，能导致酶的构象变化，使其更容易与底物结合并催化反应从而增强其活性。该研究与王玉玲等[23]的研究相比，经高剂量组方治疗后，提高 SOD 活性效果显著优于其研究的透明质酸、依克多因组合物。

2.5 抗氧化物质还原性谷胱甘肽（GSH）分析

谷胱甘肽（Glutathione，GSH）是由谷氨酸、甘氨酸和半胱氨酸组成的一种多肽，作为分子清除剂，可以清除体内 O_2^-、H_2O_2、LOOH。同时，其作为 GSH-Px 和谷胱甘肽 S-转移酶（Glutathione S-Transferase, GST）两种酶类的底物，是这两种酶分解氢过氧化物所必需的物质，它能稳定含巯基的酶，防止血红蛋白及其他辅助因子受氧化损伤。缺乏或耗竭 GSH 会促使许多化学物质产生中毒作用，GSH 量的多少是衡量机体抗氧化能力大小的重要因素。如图 5 所示，模型组小鼠 GSH 含量为 2.30 mg/g，正常组 GSH 含量为 5.67 mg/g，模型组小鼠 GSH 含量显著降低，这表明长期紫外线照射会造成小鼠体内 GSH 耗竭。蚕蛹蛋白肽可能提供了合成 GSH 所需的氨基酸，例如半胱氨酸、谷氨酸和甘氨酸，这些氨基酸是 GSH 的组成部分，提供足够的原料有助于细胞合成更多的 GSH。此外，通过清除自由基和其他氧化应激物质，蚕蛹蛋白肽可以减少细胞内 GSH 的消耗。远志皂苷可能增加 GSH 的合成速率，同时也可能增加 GSH 的再生速率。对比模型组，经中、高剂量组方处理后 GSH 含量显著提高至 3.63、4.17 mg/g，这表明中、高剂量组方中的蚕蛹蛋白肽和远志提取物能够逆转紫外线照射造成的 GSH 耗竭。

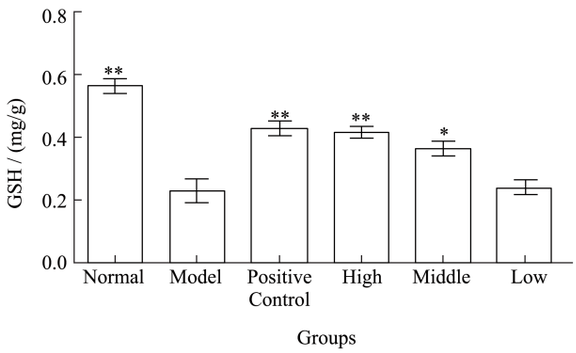

图 5 组方对光老化小鼠皮肤中 GSH 含量影响

Fig.5 Effect of the complex prescription on the level of GSH of photoaging mice (*n*=5)

注：与模型对照组比较，*P＜0.05，**P＜0.01。

2.6 皮肤组织病理性分析

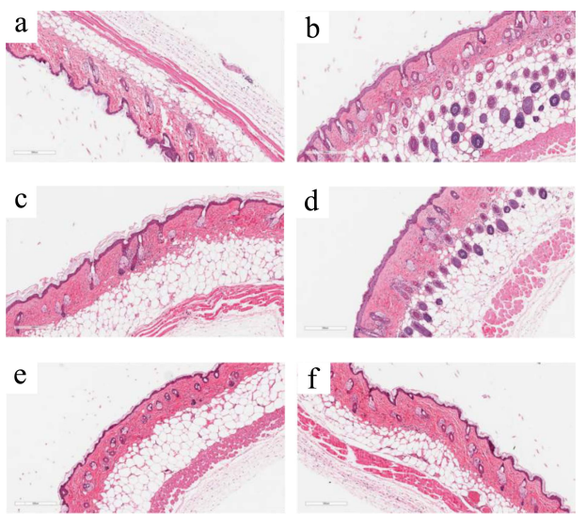

图 6 小鼠皮肤组织 HE 染色

Fig.6 Histology of skin samples from photoaging mice

HE 和 Masson 染色显示：正常组和阳性组小鼠皮肤结构完整，细胞呈现有序的排列，表皮厚度较小，真皮层胶原纤维分布均匀，排列紧致有序，厚度较小。模型组小鼠皮肤有明显创伤，细胞排列无序，体积增大，表皮包被厚度较大的角蛋白，真皮层胶原纤维明显增厚，脂肪细胞有明显炎性细胞浸润，皮脂腺消失。低剂量组小鼠表皮角化严重，表皮增厚，真皮层胶原纤维明显增厚，排列无序，仍有明显炎性细胞浸润。中剂量组小鼠表皮轻度角化，表皮厚度较厚，真皮层胶原纤维仍明显增厚，排列无序，但趋于正常，未发现明显炎性细胞。高剂量组小鼠表皮层厚度趋于正常，真皮层胶原纤维分布恢复正常，数量明显增加，结构完整。这表明高剂量组方可有效缓解小鼠表皮增厚，抑制炎症，增加胶原蛋白和弹性蛋白数量，维持胶原纤维的结构和排列次序，有效缓解表皮层的过度角化，保护真皮层细胞。

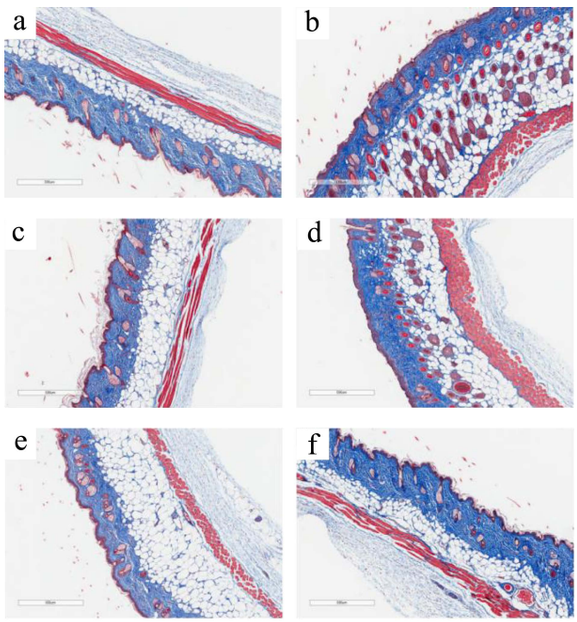

图 7 小鼠皮肤组织 Masson 染色

Fig.7 Masson's trichrome staining of skin samples from photoaging mice

2.7 MMP测定

线粒体是细胞内的细胞器，主要参与能量的生产，而 MMP 是线粒体内外膜之间的电位差，对于维持正常的线粒体功能至关重要。长期紫外线照射的 HFF-1 细胞，细胞内 Ca^{2+} 内流能够引起线粒体膜电位下降，导致出现细胞炎症和细胞凋亡。光老化处理后的 HFF-1 细胞产生大量的 ROS，也会促进细胞内 Ca^{2+} 浓度提高，影响线粒体内电子传递，改变线粒体膜通透性，通过其他系列酶促反应，进一步产生 ROS。由图 8 所示，模型组相较于正常组，MMP 显著降低至 50.33%，这说明紫外线对于细胞内的 MMP 作用显著。低剂量组对 MMP 没有明显提升，中、高剂量组相较模型组，分别提升 MMP 至 61.33%、94.00%。这表明该组方能够有效抑制细胞内 Ca^{2+} 内流，调节线粒体通透性，对于光老化诱导的 MMP 下降具有显著的逆转作用，效果呈剂量依赖性。该研究结果与艾丽奇[24]相比，高剂量组方提升 MMP 的效果远大于其研究的 6 种胶原蛋白肽。

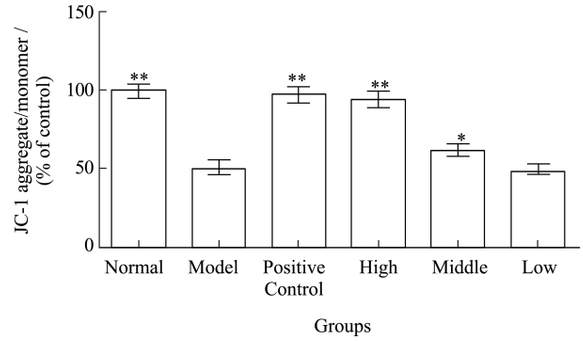

图 8 组方对 HFF-1 细胞 MMP 的影响

Fig.8 Effect of the complex prescription on MMP in HFF-1 cells (*n*=5)

3 结论

综上所述，本文成功建立小鼠光老化模型，在动物水平和细胞水平研究了基于不同剂量的蚕蛹蛋白肽、透明质酸钠、远志提取物组成的组方对光老化模型小鼠的影响，结果如下：该组方有助于减轻由光老化引起的皮肤结构受损，抑制皮肤表皮层和真皮层厚度增加，减少水分和胶原蛋白的流失，提高抗氧化酶活性，抑制氧化应激产物的产生。经中、高剂量组方治疗后 GSH 含量由模型组的 2.30 mg/g 显著提高至 3.63、4.17 mg/g，线粒体相对膜电位由模型组的 50.33% 提升至 61.33%、94.00%。以上结果表明，该组方在一定剂量浓度下，能够缓解光老化造成的氧化应激，具有抗光老化的功效，呈剂量依赖性。该文为蚕蛹蛋白肽组方对抗紫外线引起的皮肤光损伤提供了重要的理论依据，为开发相关“皮肤友好型”保健品提供了重要的研究基础，该组方极具进一步研究和开发的价值。

参考文献

[1] GARRE A, NARDA M, VALDERAS-MARTINEZ P, et al. Antiaging effects of a novel facial serum containing L-Ascorbic acid, proteoglycans, and proteoglycanstimulating tripeptide: *ex vivo* skin explant studies and *in vivo* clinical studies in women [J]. Clin Cosmet Investig Dermatol, 2018, 11: 253-263.

[2] DIFFEY B L. Solar ultraviolet radiation effects on biological systems [J]. Physics in Medicine & Biology, 1991, 36(3): 299-328.

[3] FISHER G J, WANG Z Q, DATTA S C, et al. Pathophysiology of premature skin aging induced by ultraviolet light [J]. The New England Journal of Medicine, 1997, 337(20): 1419-1428.

[4] CHUNG J H. Photoaging in Asians [J]. Photodermatol Photoimmunol Photomed, 2003, 19(3): 109-121.

[5] ZHOLOBAK NM, SHCHERBAKOV AB, BOGORAD-KOELSKA AS, et al. Panthenol-stabilized cerium dioxide nanoparticles for cosmeceutic formulations against ROS-induced and UV-induced damage [J]. Journal of Photochemistry & Photobiology Biology, 2014, 130: 102-108.

[6] DU Y, CHEN H, ZHANG Y, et al. Photodegradation of gallic acid under UV irradiation: Insights regarding the pH effect on direct photolysis and the ROS oxidation-sensitized process of DOM [J]. Chemosphere, 2014, 99: 254-260.

[7] ZHU W, XU J, GE Y, et al. Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) protects skin cells from ionizing radiation via heme oxygenase-1 (HO-1) over expression [J]. Journal of Radiation Research, 2014, 55(6): 1056-1065.

[8] NOROOZI M, ANGERSON W J, LEAN M E J. Effects of flavonoids and vitamin C on oxidative DNA damage to human lymphocytes [J]. American Journal of Clinical Nutrition, 1998, 67(6): 1210-1218.

[9] DI Q, LEE W H, GAO Z, et al. Protective effects of antioxidin-RL from *Odorrana livida* against ultraviolet B-irradiated skin photoaging [J]. Peptides, 2018, 101: 124-134.

[10] SUN L, ZHANG Y, ZHUANG Y. Antiphotoaging effect and purification of an antioxidant peptide from tilapia (*Oreochromis niloticus*) gelatin peptides [J]. Journal of Functional Foods, 2013, 5(1): 154-162.

[11] HOU H, LI B, ZHAO X, et al. The effect of pacific cod (*Gadus macrocephalus*) skin gelatin polypeptides on UV radiation-induced skin photoaging in ICR mice [J]. Food Chemistry, 2012, 115(3): 945-950.

[12] HOU H, LI B, ZHANG Z, et al. Moisture absorption and retention properties, and activity in alleviating skin photodamage of collagen polypeptide from marine fish skin [J]. Food Chemistry, 2012, 135(3): 1432-1439.

[13] CHEN T, HOU H, FAN Y, et al. Protective effect of gelatin peptides from pacific cod skin against photoaging by inhibiting the expression of MMPs via MAPK signaling pathway [J]. Journal of Photochemistry & Photobiology B Biology, 2016, 165: 34-41.

[14] 余熙,赵智全,吴海强,等.佤药远志醇提物对斑马鱼的助眠作用[J].现代食品科技, 2023,39(12):89-94.

[15] 谢书越.蚕蛹蛋白酶解产物抗氧化和抑制肿瘤增殖活性研究[D].湛江:广东海洋大学,2015.

[16] 吴剑峰.远志属两种药用植物化学成分及生物活性研究[D].沈阳:沈阳药科大学,2007.

[17] 刘洋.弹性蛋白肽的抗皮肤光老化功效及其作用机制研究[D].广州:华南理工大学,2020.

[18] 林晓.蚕蛹蛋白肽降尿酸及抗光老化的功效研究[D].深圳:深圳大学,2023.

[19] 彭志兰.牡蛎蛋白源抗皮肤光老化活性肽的分离纯化、鉴定及其作用机理研究[D].湛江:广东海洋大学,2022.

[20] KONG S Z, LI D D, LUO H, et al. Anti-photoaging effects of chitosan oligosaccharide in ultraviolet-irradiated hairless mouse skin [J]. Experimental Gerontology, 2017, 103: 27-34.

[21] 黎重阳.金枪鱼鱼皮和鱼骨胶原多肽抗皮肤光老化活性及作用机制差异 [D].重庆:西南大学,2021.

[22] 崔凤霞.海参胶原蛋白生化性质及胶原肽活性研究[D].青岛:中国海洋大学,2007.

[23] 王玉玲,任姝静,吴越,等.基于透明质酸,依克多因组合物的抗光老化作用研究[J].日用化学品科学,2022,45(7):51-56.

[24] 艾丽奇.鳕鱼皮胶原蛋白肽的抗皮肤光老化功效及其作用机制研究[D].广州:华南理工大学,2020.