

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2013.02.016

[http://www.crter.org]

周湘君, 叶才果, 杨广丽, 刘林生. 丹酚酸B对小鼠皮肤光老化的保护效应[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(2): 275-279.

丹酚酸B对小鼠皮肤光老化的保护效应**

周湘君¹, 叶才果², 杨广丽³, 刘林生⁴

1 广东医学院药理教研室, 广东省东莞市 523808

2 广东医学院肿瘤研究所, 广东省东莞市 523808

3 广东食品药品技术学院药物制剂技术系, 广东省广州市 510000

4 佛山市中医院药剂科, 广东省佛山市 528000

文章亮点:

丹酚酸B能有效地对紫外线引起细胞致死性损伤起到保护作用, 通过显著降低皮肤组织丙二醛含量, 提高羟脯氨酸含量, 超氧化物歧化酶和谷胱甘肽氧化酶活性而起到抑制皮肤光老化作用。

关键词:

组织构建; 皮肤组织构建; 丹酚酸B; 皮肤; 光老化; 羟脯氨酸; 超氧化物歧化酶; 谷胱甘肽氧化酶; 省级基金

缩略语:

超氧化物歧化酶: superoxide dismutase, SOD; 谷胱甘肽氧化酶: glutathione peroxidase, GSH-Px

摘要

背景: 中药及其提取物在改善皮肤组织结构、提高抗氧化酶活性、抑制基质金属蛋白酶高表达、增强皮肤免疫防御功能等多方面对皮肤光老化起着防治作用。

目的: 验证丹酚酸B对皮肤光老化的保护作用。

方法: 同时建立小鼠皮肤体外细胞培养紫外线损伤模型及小鼠紫外照射致皮肤衰老模型, 给予不同剂量的丹酚酸B, 通过MTT法, 单细胞凝胶电泳等观察各组皮肤细胞损伤程度以及丹酚酸B对细胞损伤的保护作用, 小鼠灌胃口服不同剂量丹酚酸B, 通过对皮肤组织羟脯氨酸、超氧化物歧化酶等含量的检测, 评价丹酚酸B是否具有抑制皮肤光老化的作用。

结果与结论: 紫外照射可使皮肤丙二醛含量明显上升, 羟脯氨酸含量, 超氧化物歧化酶和谷胱甘肽氧化酶活性下降。丹酚酸B能有效地对紫外线引起细胞致死性损伤起到保护作用, 能显著降低皮肤组织丙二醛含量, 提高羟脯氨酸含量, 超氧化物歧化酶和谷胱甘肽氧化酶活性而起到抑制皮肤光老化作用。结果证实丹酚酸B具有保护皮肤光老化作用。

周湘君★, 男, 1982年生, 广东省湛江市人, 汉族, 2006年广东药学院毕业, 硕士, 实验师, 主要从事皮肤药理, 药代动力学研究。
cytomie@126.com

中图分类号: R318

文献标识码: A

文章编号: 2095-4344

(2013)02-00275-05

收稿日期: 2012-05-03

修回日期: 2012-05-22

(20120303001/W · W)

Protective action of salvianolic acid B on skin photoaging in mice

Zhou Xiang-jun¹, Ye Cai-guo², Yang Guang-li³, Liu Lin-sheng⁴

1 Department of Pharmacology, Guangdong Medical University, Dongguan 523808, Guangdong Province, China

2 Institute of Tumor, Guangdong Medical University, Dongguan 523808, Guangdong Province, China

3 Department of Pharmaceutical Preparations, Guangdong Food and Drug Vocational College, Guangzhou 510000, Guangdong Province, China

4 Department of Pharmacy, Foshan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Foshan 528000, Guangdong Province, China

Zhou Xiang-jun★, Master,
Experimentalist, Department of
Pharmacology, Guangdong
Medical University, Dongguan
523808, Guangdong Province,
China
cytomie@126.com

Supported by: the Young
Scientific Research Foundation
of Guangdong Medical
University, No. XQ0805*

Received: 2012-05-03

Accepted: 2012-05-22

Abstract

BACKGROUND: Chinese medicine and its extract can improve skin structure, improve the activity of antioxidant enzymes, inhibit high expression of matrix metalloproteinase, and enhance the immune defense function of the skin, which plays a preventive effect against skin photoaging.

OBJECTIVE: To observe the protective effect of salvianolic acid B on skin photoaging in mice.

METHODS: Mouse skin cells were cultured and irradiated *in vitro* to prepare UV damage models, which were treated with different doses of salvianolic acid B. MTT and single cell electrophoresis were performed to observe the severity of skin injury and protective role of salvianolic acid B on cell injury. Skin photoaging models were prepared through UV irradiation in mice, and then model mice were intragastrically administrated with different doses of salvianolic acid B. Hydroxyproline and superoxide dismutase contents were determined to evaluate whether salvianolic acid B can inhibit skin photoaging.

RESULTS AND CONCLUSION: UV irradiation could increase malondialdehyde content in the skin, decrease hydroxyproline content as well as superoxide dismutase and glutathione oxidase activity. Salvianolic acid B could effectively protect the cells from UV damage, remarkably reduce malondialdehyde content in the skin, increase hydroxyproline, superoxide dismutase and glutathione oxidase contents, playing an inhibitory effect on skin photoaging. These findings indicate that salvianolic acid B has a protective effect on skin photoaging in mice.

Key Words: tissue construction; skin tissue construction; salvianolic acid B; skin; photoaging; hydroxyproline; superoxide dismutase; malondialdehyde; provincial grants-supported paper

Zhou XJ, Ye CG, Yang GL, Liu LS. Protective action of salvianolic acid B on skin photoaging in mice. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2013;17(2): 275-279.

0 引言

皮肤老化是一个复杂的生物学过程, 主要包括内源性老化和外源性老化。内源性老化是指随年龄增长皮肤的程序性自然老化过程。而外源性老化是指皮肤受环境因素影响而引起的衰老变化, 其中主要以紫外线的影响为主, 因而被定义为光老化。紫外线反复照射造成曝光部位的皮肤出现粗糙、干燥、皱纹深大等现象。据估计, 暴露皮肤的老化约90%是由紫外线的光老化作用引起。

目前对皮肤光老化的研究是多方面的, 近年来国内外应用多种不同中药、植物药或其提取物对皮肤光老化的防治作用进行了颇有成效的研究。众多对天然植物防光研究的结果表明, 中药及其提取物在改善皮肤组织结构、提高抗氧化酶活性、抑制基质金属蛋白酶高表达、增强皮肤免疫防御功能等多方面对皮肤光老化起着防治作用。中药是拮抗皮肤光老化的一种有效手段, 在改善和防治皮肤光老化方面具有巨大的潜力^[1-6]。

丹参为唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 的干燥根及根茎。丹酚酸B(salvianolic acid B, Sal B)是从丹参中分离的水溶性成分之一, 相对分子质量为718, 具有酚酸性结构, 为3分子丹参素与1分子咖啡酸缩合而成。近20多年来的研究表明, 丹酚酸是丹参活血化瘀作用的主要功能成分。丹酚酸的种类多, 在丹参中的组成和含量不同, 其中丹酚酸B含量最多, 功效显著^[7-9]。丹酚酸对多种原因产生的氧自由基、羟自由基等表现出较强的清除作用, 自由基与皮肤衰老有紧密的联系, 提示丹酚酸B可能具有抗皮肤衰老的作用。

实验希望通过建立紫外线照射导致皮肤光老化体外及体内模型, 探讨丹酚酸B是否具有抑制皮肤光衰老的作用。

1 材料和方法

设计: 对比观察。

时间及地点: 实验于2010年12月至2011年10月在广东医学院肿瘤研究所完成。

材料:

实验动物: SPF级3月龄昆明小鼠50只, 雌雄各半, 18–22 g, 正式试验前适应性饲养1周。1 d龄KM小鼠20只, 用作原代细胞培养。由广东医学院动物中心提供, 许可证号: SYXK2008-0007。

试剂及设备:

Reagents and instruments:

试剂及仪器	来源
丹参	东莞国药
醋酸乙酯	天津科密欧
synergy2 多功能酶标仪	Biotek 公司
UV 光源	东莞兴万电子
紫外强度测定仪	Waldmann Medizintechnik 公司
高速组织匀浆机	上海骠马
紫外荧光灯管	东莞兴万电子
超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶、谷胱甘肽氧化酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px)、丙二醛、羟脯氨酸试剂盒	南京建成生物工程有限公司

实验方法:

丹酚酸B制备: 取丹参, 粉碎成粗粉, 体积分数30%乙醇浸泡24 h, 浓缩后调pH值至酸性, 用醋酸乙酯萃取4次。醋酸乙酯层蒸干, 加水溶解, 调pH至中性后, 再用醋酸乙酯萃取3次, 合并醋酸乙酯, 蒸干, 加水溶解后通过D-101大孔树脂。先用4倍量的水冲洗, 再用体积分数30%乙醇洗脱(流速为60BV/h), 合并乙醇洗脱液, 干燥后得淡黄色无定形丹酚酸B粉末。

紫外线损伤皮肤体外试验:

皮肤组织的原代细胞培养及给药: 取小鼠乳鼠背部皮肤, 加入适量中性蛋白酶溶液, 37 °C消化, 细胞计数后于六孔板中培养, 设丹酚酸B 0.32, 1.00, 3.20, 10.00, 32.00 g/L 剂量组及对照组, 每组设6个平行孔。置37 °C, 体积分数5%CO₂培养箱培养。实验时换入不含酚红的培养液, 置于UV光源下照射, 紫外强度测定仪调整照射剂量为30, 60, 120 mJ/cm²结束后换入新鲜培养液及含有不同质量浓度丹酚酸B的培养液。培养48 h后检测。

MTT法测量细胞存活率: 细胞培养48 h后, 每孔加入MTT (5 g/L)20 μL, 于细胞培养箱内培养4 h, 吸去培养液, 每孔加入150 μL二甲基亚砜, 振荡10 min, 用酶联免疫检测仪测各孔吸光度。

单细胞凝胶电泳(SCGE)测量尾距: 将110 μL 0.5%

的正常熔点琼脂糖浇注到磨砂的载玻片上, 盖上盖玻片, 置于4 °C使琼脂糖固化。取75 μL含细胞悬液的0.7%的低熔点琼脂糖加到第一层胶上, 立即盖上盖玻片, 置于4 °C固化。再取75 μL LMP铺在第2层胶上, 盖上盖玻片4 °C 10 min。将载玻片浸于新配制的裂解液中。从裂解液中取出载玻片, 蒸馏水冲洗干净后置于水平电泳槽中, 加入电泳缓冲液, 液面高于载玻片0.25 cm, 盖上盖子, 避光静置30 min, 使DNA解旋。电压为25 V电流300 mA, 室温下电泳30 min。电泳完毕, 取出载玻片浸泡在Tris缓冲液中漂洗15 min, 重复3次, 用滤纸将缓冲液吸干, 后加入无水乙醇将凝胶浸埋1 h。每凝胶滴加30 μL 50 mg/L的SYBR溶液, 盖上盖玻片染色20 min。实验重复3次, 每个浓度作2张片子。用ImageJ软件测量尾距(tail moment, TM) 即“彗星”头部和尾部各自分布的中心点间的距离与总体DNA在尾部的分数的乘积。

小鼠光老化模型建立及给药方法: 小鼠50只随机分成5组, 每组10只。空白对照组, 模型组, 丹酚酸B低剂量组, 丹酚酸B中剂量组, 丹酚酸B高剂量组, 剃刀剃去背部鼠毛, 每组紫外照射前重复剃毛。除空白对照组外, 其余4组每天照射UV 2 h, 照射高度40 cm, 紫外强度测定仪调整照射剂量120 mJ/cm², 连续照射2个月。空白对照组每天灌胃生理盐水, 模型组紫外照射后, 每天灌胃生理盐水。丹酚酸B各组紫外照射后, 灌胃不同剂量丹酚酸B, 低剂量组每天灌胃0.5 g/kg, 中剂量组每天灌胃1.5 g/kg, 高剂量组每天灌胃2.5 g/kg。实验2个月麻醉下处死小鼠, 取小鼠背部正中央皮肤, 测定皮肤SOD、GSH-Px、羟脯氨酸和丙二醛, 测定方法遵循试剂盒说明。

主要观察指标: ①丹酚酸B对皮肤细胞紫外损伤保护作用。②单细胞凝胶电泳测量尾距结果。③各组小鼠皮肤SOD、GSH-Px、羟脯氨酸和丙二醛的变化。

统计学分析: 采用SPSS 18.0统计软件包, 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, *t* 检验, *P* < 0.05为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 实验动物数量分析 实验选用小鼠50只, 分为5组, 进入结果分析50只。

2.2 丹酚酸B对皮肤细胞紫外线损伤保护作用 丹酚酸B对小鼠皮肤原代细胞抗紫外辐射损伤作用中随着丹酚酸B剂量的增加而增强, 紫外线照射后细胞存活率显著升高, 但在32 g/L组保护作用却较10 g/L组低, 可能是药物浓度过高对细胞的直接损伤作用。见图1。

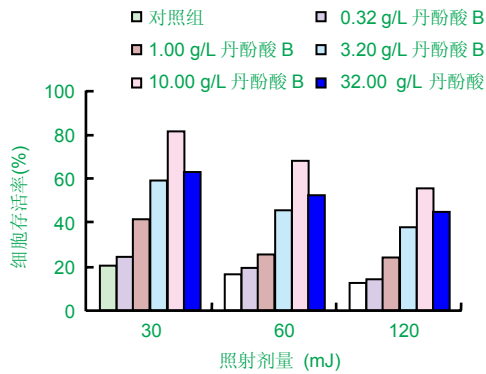


图1 不同剂量丹酚酸B作用紫外线照射后皮肤细胞存活率

Figure 1 The survival rate of skin cells following salvianolic acid B treatment under UV irradiation

2.3 细胞凝胶电泳测量结果 在辐射剂量为 30 mJ/cm^2 时, 细胞核就已经出现核固缩, 染色质凝集和凋亡小体产生等典型的凋亡特征, 加入低剂量丹酚酸B改变不明显, 中高剂量的丹酚酸B细胞核不完整的细胞数目减少, 凋亡的细胞数目下降, 用ImageJ软件测量尾距得出尾距的乘积降低, 说明丹酚酸B对细胞DNA损伤具有修复和保护作用, 见表1。

表1 不同剂量丹酚酸B在不同紫外照射量下对皮肤细胞保护作用(彗星尾距的乘积)

Table 1 Protective role of different dose salvianolic acid B on skin cells under different amount of UV irradiation

剂量(g/L)	对照组	30 mJ/cm ²	60 mJ/cm ²	120 mJ/cm ²
0	0.022±0.002	0.879±0.140	2.136±0.225	4.040±0.261
0.32	0.024±0.002	0.881±0.089	2.003±0.149	3.922±0.186
1.00	0.026±0.002	0.758±0.034	1.781±0.130	3.769±0.184
3.20	0.026±0.001	0.692±0.039	1.597±0.086	2.790±0.225
10.00	0.027±0.002	0.541±0.036	0.992±0.118	1.992±0.172
32.00	0.029±0.002	0.564±0.031	1.058±0.107	2.219±0.164

2.4 丹酚酸B对光老化皮肤组织SOD、GSH-Px、羟脯氨酸和丙二醛影响 经紫外照射后小鼠皮肤组织丙二醛含量明显增加, 羟脯氨酸含量下降, SOD, GSH-Px活性降低, 与空白对照组各指标变化比较差异有显著性意义($P < 0.01$)。口服丹酚酸B后, 小鼠皮肤中SOD活力明显升高, 丙二醛含量显著降低, 差异均有显著性意义($P < 0.05$), 提示丹酚酸B可增强皮肤对自由基的防护功能, 减少脂质过氧化产物堆积, 该作用随剂量的增大而增强。口服丹酚酸B后, 低剂量组和模型组羟脯氨酸含量比较无显著性差异, 但是中, 高剂量组小鼠皮肤羟脯氨酸含量提高, 提示丹酚酸B内服可促进皮肤胶原蛋白的合成, 使皮肤趋于年轻化改变, 见表2。

表2 丹酚酸B对光老化皮肤组织超氧化物歧化酶、谷胱甘肽氧化酶、羟脯氨酸和丙二醛影响

Table 2 Effect of salvianolic acid B on superoxide dismutase, glutathione oxidase, hydroxyproline and malondialdehyde in photoaging skin

组别	超氧化物歧化酶 (mkat/g)	谷胱甘肽氧化酶 (U/mg)	羟脯氨酸 (mg/g)	丙二醛 (μmol/g)
空白对照组	3.33±0.15	18.5±1.7	5.66±0.42	7.76±0.35
光老化模型组	2.46±0.18 ^a	8.8±1.3 ^a	3.50±0.41 ^a	12.0±1.2 ^a
丹酚酸B低剂量组	2.54±0.19	10.7±1.9 ^b	4.02±0.37 ^c	11.0±0.97 ^c
丹酚酸B中剂量组	2.88±0.13 ^c	11.7±1.0 ^c	5.60±0.39 ^c	9.69±0.87 ^c
丹酚酸B高剂量组	3.00±0.14 ^c	16.2±1.9 ^c	6.81±0.60 ^c	8.94±0.71 ^c

与空白对照组相比, ^a $P < 0.01$, 与光老化模型组相比, ^b $P < 0.05$, ^c $P < 0.01$

3 讨论

紫外线分为UVA, UVB, UVC 3类, 其中UVC几乎全被大气臭氧层吸收, 到达地球表面对人体产生作用的主要是UVB和UVA, 在3种不同波长的紫外线中, UVA致细胞自由基生成、脂质氧化的能力最强, 可影响真皮组织中的胶原及弹力纤维, 产生皮肤光老化; UVB主要引起表皮层及真皮浅层的病变, UVA和UVB联合作用可同时引起表皮和真皮的一系列病变。

近年很多研究表明, UVA与皮肤光老化关系密切, UVA可扩大或协同UVB的光老化作用。紫外线可使皮肤组织胶原纤维减少、异常弹性纤维沉积、基质消失, 代之以杂乱的微丝, 导致皱纹、松弛及其他老化症状的出现。紫外线可以引起皮肤细胞水平的一系列变化, 包括表皮角质形成细胞增生、朗格汉斯细胞减少、炎症细胞浸润以及角质细胞表皮生长因子受体的激活等^[10-11]。紫外线可被细胞内的非DNA色基(色氨酸、酪氨酸、泛醌、反式尿刊酸等)吸收而产生活性氧簇。研究证明, 高浓度的活性氧簇可引起DNA损伤, 导致相关基因表达水平的改变或发生基因突变; 低浓度的活性氧簇主要作为第二信使启动了UV辐射后的细胞信号传导过程, 这在光老化机制中十分重要^[12]。

已有大量的研究证明紫外线辐射可诱导人类皮肤成纤维细胞产生基质金属蛋白酶, 基质金属蛋白酶能特异性降解绝大部分细胞外基质成分, 在皮肤光老化中起着重要作用。而且基质金属蛋白酶能降解前胶原I和III, 使皮肤在紫外线损伤后胶原修复能力下降。研究表明中性粒细胞通过浸润后分泌弹性蛋白酶和基质金属蛋白酶参与了皮

肤光老化的过程。紫外线照射可以产生活化的单线态氧自由基, 使DNA形成嘧啶二聚体, 加速了端粒的缩短, 而端粒是染色体的末端, 它控制与老化有关的基因表达和细胞的增殖^[13]。因此紫外线照射能加速细胞的老化。

研究表明UVB照射可以引起体内外细胞发生凋亡。其机制主要是DNA直接损伤, 二聚体的形成, 基因突变, 免疫抑制以及细胞膜受体被激活^[14]。UVB照射使细胞集聚于S期, 在p53等转录因子的调控下发生凋亡^[15]。单细胞电泳已被广泛用于体内体外实验, 评估各种试剂对哺乳动物造成的损伤及修复作用在UV照射形成的衰老模型中加入丹酚酸B^[16], MTT显示活细胞数目增多, 彗星电泳中彗星细胞出现率降低, 尾距减少, 表明丹酚酸B对皮肤细胞DNA损伤具有修复和保护作用, 其确切机制尚待进一步研究阐明。

紫外线照射会造成小鼠皮肤组织SOD活性显著下降, 羟脯氨酸含量下降及丙二醛含量增加, 可以造成小鼠皮肤光老化。羟脯氨酸是真皮内含量较高且相对稳定的氨基酸, 为胶原蛋白特有的氨基酸之一, 其含量可以间接反映出真皮内胶原蛋白含量的变化, 而胶原含量的变化可以提示皮肤的衰老程度。故可作为判定皮肤衰老程度的一个特殊而敏感的指标。SOD是一种生物活性蛋白, 可切断各种色斑、粉刺、皱纹的发生与发展, 是最有效的抗氧化剂和自由基清除剂。丙二醛是脂质过氧化反应链终止阶段产生的小分子产物, 其含量可以间接反映自由基的产生情况和机体组织细胞的过氧化程度。

动物实验结果显示口服丹酚酸B能提高紫外线照射后小鼠皮肤组织中羟脯氨酸含量, 能提高SOD, GSH-Px活性, 并能降低丙二醛含量, 其作用随着剂量增加而增加, 提示丹酚酸B有抗皮肤光老化作用, 推测作用机制主要是通过提高SOD活性和羟脯氨酸的含量, 减少自由基代谢产物的堆积等方面的协同作用而发挥的。

基金资助: 广东医学院青年科研基金项目资助(XQ0805)。

作者贡献: 设计、实施、评估者均为本文作者。

利益冲突: 实验过程中对动物的处置应符合 2009 年《Ethical issues in animal experimentation》相关动物伦理学标准的条例。

作者声明: 文章为原创作品, 数据准确, 内容不涉及泄密, 无一稿两投, 无抄袭, 无内容剽窃, 无作者署名争议, 无与他人课题以及专利技术的争执, 内容真实, 文责自负。

4 参考文献

- [1] Alcaraz MV, Pathak MA, Rius F, et al. An extract of Polypodium leucotomos appears to minimize certain photoaging changes in a hairless albino mouse animal model. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 1999; 15: 120-126.
- [2] Moon HI, Kim EJ, Lee J, et al. The effect of sativan from *Viola verecunda* A. Gray on the expressions of matrix metalloproteinase-1 caused by ultraviolet irradiated cultured primary human skin fibroblasts. *J Ethnopharmacol*. 2006; 104: 12-17.
- [3] Moon HI, Lee J, Kwak JH, et al. Isoflavonoid from *Viola hondoensis*, regulates the expression of matrix metalloproteinase-1 in human skin fibroblasts. *Biol Pharm Bull*. 2005; 28: 925-928.
- [4] Cheng JY, Liu GH, Huang JC, et al. Shizhen Guoyi Guoyao. 2006; 17(9): 1672-1673.
程基焱, 刘国红, 黄吉春, 等. 人皂苷Rb1与芳维甲酸乙酯对光老化皮肤真皮成纤维细胞基质金属蛋白酶影响的比较研究[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(9): 1672-1673.
- [5] Wang SH. *Zhongyiyao Xuekan*. 2006; 24(4): 718-719.
王诗晗. 黄芪提取液对光老化无毛小鼠皮肤组织HYP MDA含量及SOD活力的影响[J]. 中医药学刊, 2006, 24(4): 718-719.
- [6] Min W, Luo D, Lin XF. *Xuzhou Yixueyuan Xuebao*. 2004; 24(2): 167-171.
闵玮, 骆丹, 林向飞. 黄芩对皮肤细胞紫外线辐射损伤的保护作用[J]. 徐州医学院学报, 2004, 24(2): 167-171.
- [7] Du GH, Zhang JT. *Yiyao Daobao*. 2004, 23(6): 355.
杜冠华, 张均田. 丹参现代研究概况与进展(续一)[J]. 医药导报, 2004, 23(6): 355.
- [8] Du GH, Zhang JT. *Jichuyixue Yu Linchuang*. 2000; 20(5): 210.
杜冠华, 张均田. 丹参水溶性有效成分一丹酚酸研究进展[J]. 基础医学与临床, 2000, 20(5): 210.
- [9] Peng ZG, Chen HS. *Zhongguo Yaoxue Zazhi*. 2003; 38(10): 744.
彭宗根, 陈鸿珊. 紫草酸B的药理作用研究进展[J]. 中国药学杂志, 2003, 38(10): 744.
- [10] He YY, Huang JL, Gentry JB, et al. Epidermal growth factor receptor down-regulation induced by UVA in human keratinocytes does not require the receptor kinase activity. *J Biol Chem*. 2003; 278(43): 42457-42465.
- [11] Maziere C, Floret S, Santus R, et al. Impairment of the EGF signaling pathway by the oxidative stress generated with UVA. *Free Radic Biol Med*. 2003; 34(6): 629-636.
- [12] Yaar M, Gilchrist BA. Photoageing: mechanism, prevention and therapy. *Br J Dermatol*. 2007; 157: 874-887.
- [13] Kosmadaki MG, Gilchrist BA. The role of telomeres in skin aging/photoaging. *Micron*. 2004; 35: 155-159.
- [14] Liu Y, Wang BX. Review of mechanism of carcinoma by ultraviolet. *Chin J Public Health*. 2000; 18: 183-185.
- [15] Du H. *Di Yi Jun Yi Daxue*. 2003.
杜华. 紫外辐射对人角质形成细胞的细胞周期调控的影响[D]. 第一军医大学, 2003.
- [16] He Z, Cho YY, Liu G, et al. p38 Mitogen-activated protein kinase regulation of JB6 Cl41 cell transformation promoted by epidermal growth factor. *J Biol Chem*. 2003; 278(29): 26435-26442.