



高原地区黄褐斑动物模型不同构建方法的探索*

旦增德琼¹, 方龙伟¹, 尼珍¹, 王瑾¹, 多吉卓玛¹, 央拉¹, 索朗旺堆²,
德央³, 巴桑卓玛^{1△}

1. 西藏大学高原健康科学研究中心(拉萨 850000); 2. 日喀则市藏医院(日喀则 857000);

3. 西藏自治区兽医生物药品制药厂(拉萨 850000)

【摘要】目的 使用平原地区常用的黄体酮注射+紫外灯照射(Model I)和本课题组自创的黄体酮注射+自然光照射(Model II)、自然光照射(Model III)两种方法来探索在高原(拉萨市, 海拔3 650 m)自然环境条件下建立黄褐斑动物模型的适宜方法和效能, 为下一步进行相关的基础研究提供实验技术支撑。**方法** 在高原环境下选取20只6~8周龄、体质量18~22 g的雌性SPF级昆明小鼠, 随机分为黄体酮注射+紫外灯照射(Model I)、黄体酮注射+自然光照射(Model II)、自然光照射(Model III)及对照组(Control), 每组5只。观察各组小鼠的表观状态; 造模第29~40天所有小鼠每2 d测一次小鼠皮肤生理参数, 包括皮肤红斑指数(E)、黑色素(M)、皮肤类型角(ITA)、皮肤亮度(L)、发红(a)、发黄(b)、角质层水分含量(CM); 造模40 d后, 检测各组小鼠血清、肝脏组织匀浆液(liver tissue homogenate, LTH)、皮肤组织匀浆液(skin tissue homogenate, STH)中的丙二醛(malondialdehyde, MDA)、超氧化歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、酪氨酸酶(tyrosinase, TYR)等生化指标; 同时对皮肤生理参数和生化指标进行相关性分析(基于Model组 I 的数据)。**结果** 与Control组比较, 3个Model组的皮肤照射部位出现干燥、明显色素沉着等现象, 且Model组小鼠的反应更迟钝、垫料潮湿、饮食更大、小便更多, Control组则无皮损现象。皮肤生理参数结果显示, Model组 I、II、III的CM值低于Control组($P<0.05$), Model组 I、III的ITA值低于Control组($P<0.05$), Model组 I、II、III的E值和a值高于Control组($P<0.05$), Model组 II的L值低于Control组($P<0.01$), Model组 I、III的b值高于Control组($P<0.05$)。生化指标表明, 与Control组比较, Model组 I的MDA_{serum}水平增加($P<0.001$), Model组 III的MDA_{STH}水平增加($P<0.05$); Model组 I的SOD_{LTH}、SOD_{STH}活性比Model组 II SOD_{LTH}、SOD_{STH}活性低($P<0.05$)。相关性分析表明, MDA_{LTH}与E值呈正相关($r=0.72$), MDA_{LTH}、MDA_{STH}与L值呈负相关($r=-0.63$ 、 -0.72), SOD_{serum}与ITA呈正相关($r=0.59$)。**结论** Model I的造模效能更佳, 而Model II、Model III的模型尚未完全稳定。

【关键词】 高原病 黄褐斑 模型, 动物

Exploration of Different Methods for Constructing Animal Models of Melasma in Plateau Regions

DANZENGDEQIONG¹, FANG Longwei¹, NIZHEN¹, WANG Jin¹, DUOJIZHUOMA¹, YANGLA¹, SUOLANGWANGDUI², DEYANG³, BASANGZHUOMA^{1△}. 1. High Altitude Health Science Research Center of Xizang University, Lhasa 850000, China; 2. Shigatse Tibetan Hospital, Shigatse 857000, China; 3. Xizang Autonomous Region Veterinary Biological Products Factory, Lhasa 850000, China

△ Corresponding author, E-mail: 1207452530@qq.com

This study was supported by the Noncommunicable Chronic Diseases-National Science and Technology Major Project (No. 2025ZD0551811), Shigatse City 2024 Regional Collaborative Innovation Project (No. QYXTZX-RKZ2024-01-1), Shigatse City 2025 Science and Technology Plan Project (No. RKZ2025ZD-003), 2023 Science and Technology Department of Xizang Autonomous Region Project (No. XZ202303ZY0008G), National Natural Science Foundation of China (No. 82241023), 2024 Project Co-funded by the Science and Technology Department of Xizang Autonomous Region (No. XZ202403ZY0006), Discipline Leading Talents Program of Xizang University (No. 0061243/047), and 2024 Annual Project Funded by the Science and Technology Bureau of Lhasa City (No. LSKJ202466).

[Abstract] Objective To investigate suitable methods and efficacy for establishing a melasma animal model under natural high-altitude conditions (Lhasa City, 3 650 m) using three approaches: the commonly used progesterone injection

* 四大慢病重大专项项目(No. 2025ZD0551811)、日喀则市2024年区域科技协同创新专项项目(No. QYXTZX-RKZ2024-01-1)、日喀则市2025年度科技计划项目(No. RKZ2025ZD-003)、2023年度西藏自治区科技厅“揭榜挂帅”项目(No. XZ202303ZY0008G)、国家自然科学基金(No. 82241023)、2024年度西藏自治区科技厅联合资助项目(No. XZ202403ZY0006)、西藏大学学科领军人才项目(No. 0061243/047)和2024年度拉萨市科技局资助项目(No. LSKJ202466)资助

△ 通信作者, E-mail: 1207452530@qq.com

出版日期: 2026-01-20

plus UV lamp irradiation (Model I), and our research group's novel methods of progesterone injection plus natural light irradiation (Model II) and natural light irradiation alone (Model III). The goal is to provide experimental technical support for subsequent basic research. **Methods** Twenty female SPF Kunming mice, aged 6-8 weeks and weighing 18-22 g, were selected in the plateau environment. The mice were randomly divided into four groups: progesterone injection plus UV lamp irradiation (Model I), progesterone injection plus natural light irradiation (Model II), natural light irradiation alone (Model III), and a control group (Control), with five mice per group. The apparent status of mice in each group was observed. From days 29 to 40 after modeling, skin physiological parameters of all mice were measured every 2 days, including erythema index (E), melanin (M), skin type angle (ITA), skin lightness (L), redness (a), yellowness (b), and stratum corneum moisture content (CM). After 40 days of modeling, the following biochemical indicators were measured in serum, liver tissue homogenate (LTH), and skin tissue homogenate (STH) from each group: malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), tyrosinase (TYR), and other biochemical indicators. Correlation analysis was performed between skin physiological parameters and biochemical indicators (based on Model group I data). **Results** Compared with the Control group, the skin irradiation sites in the three Model groups showed dryness and marked hyperpigmentation. Mice in the Model groups also showed blunted responses, wet bedding, increased food intake, and increased urination, while the Control group showed no skin lesions. Skin physiological parameter results indicated that CM values in Model groups I, II, and III were lower than those in the Control group ($P < 0.05$); ITA values in Model groups I and III were lower than in the Control group ($P < 0.05$); E and a values in all three Model groups were higher than in the Control group ($P < 0.05$); L values in Model group II were lower than in the Control group ($P < 0.05$); and b values in Model groups I and III were higher than in the Control group ($P < 0.05$). Biochemical indicators showed that, compared with the Control group, Model group I had increased MDA_{serum} levels ($P < 0.001$), while Model group III had elevated MDA_{STH} levels ($P < 0.05$). Additionally, Model group I had lower SOD_{LTH} and SOD_{STH} activities than Model II ($P < 0.05$). Correlation analysis indicated that MDA_{LTH} was positively correlated with E value ($r = 0.72$), while MDA_{LTH} and MDA_{STH} levels were negatively correlated with L value ($r = -0.63, -0.72$). Additionally, SOD_{serum} activity was positively correlated with ITA ($r = 0.59$). **Conclusion** Model I demonstrated superior modeling efficacy, while Models II and III remained incompletely stabilized.

[Key words] Altitude sickness Chloasma Models, animal

黄褐斑(肝斑)是一种黑色素沉着过多引起的面部慢性色素增加的皮肤病,也是一种光老化性皮肤病^[1-2]。黄褐斑常呈蝶形对称分布于两颊、下颌,皮损表现为大小不等、边缘清楚的黄褐色斑块,日晒后颜色加深,具有难治性和复发性的特点,病程可迁延数年。目前认为黄褐斑的病因主要为日晒、性激素、种族、遗传、化妆品使用不当、皮肤炎症等,黄褐斑在亚洲育龄期女性发病率为30%^[3-6]。根据种族和地域的不同,黄褐斑总发病率也具有显著性差异(8.8%~55.1%),且靠近赤道的国家因紫外线照射强烈,因此,发病率明显高于其他地区^[1,7-8],尤其在印度和中国的高海拔地区,黄褐斑的发病率就更高,原因可能为在这些海拔地区紫外线辐射程度比其他地区更强^[9]。青藏高原的紫外线辐射强度在全球高海拔地区中位居前列,且具有低压、低氧、干燥、昼夜温差大等环境特点,对人群皮肤的影响较大,但目前国内外相关研究鲜见报道,特别是利用动物模型进行高原皮肤病研究未见报道,且缺乏统一的动物模型构建方法和标准。

目前平原地区常用的黄褐斑动物模型构建方法主要是紫外线照射法、黄体酮注射法、情绪刺激法、紫外线+黄体酮注射法等,其中最常用的方法是紫外线+黄体

酮注射方法。由于高原地区紫外线强、日照时间长,因此本研究一是评价平原地区最常用的黄褐斑造模方法在高原的适用性,二是利用高原环境特点采用黄体酮注射+自然光照射(Model II)和自然光照射(Model III)两种模式探索在高原建立黄褐斑动物模型的适宜方法,为高原地区进一步开展黄褐斑的研究提供可靠的动物模型。

1 材料与方法

1.1 实验动物

选取6~8周SPF级雌性昆明小鼠20只,体质量18~22g,购自成都恩斯维尔生物科技有限公司,许可证号:SCXK(湘)2021-0002。从四川成都空运到西藏拉萨(海拔:3650 m)。本研究经西藏大学生命科学与医学伦理审查委员会实验动物伦理审查通过〔伦理批第(ZDYXLL2025012)〕。

1.2 实验材料与仪器

黄体酮注射液购自浙江仙琚制药股份有限公司,超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)试剂盒、丙二醛(malondialdehyde, MDA)试剂盒、酪氨酸酶(tyrosinase, TYR)检测试剂盒均购自上海酶联生物。皮肤角质层含

水量测量仪、皮肤颜色测量仪(Delfin Skin Colar Catch, Delfin Technologies Ltd)。薇婷脱毛膏, 紫外照射灯(UVB), 低温高速离心机(Sartorius Centrisart A-14); 精密电子天平(Mettler Toledop1203); 酶标仪(Infinite M200Pro0); 紫外线测试仪(HX8203)。

1.3 实验方法

1.3.1 分组及纳入排除方法

根据伦理考量(3R原则): “在能回答科学问题的前提下, 尽量减少动物使用数量是核心伦理要求, 3只可能是满足基本需求的最小值”, 每组3只小鼠的基础上增加2只小鼠, 共每组5只。所有小鼠进入高原适应性饲养一周后, 随机抽取进行分组, 之后对小鼠编号, 根据编号分组情况进行对照和干预组的实验, 固定的实验人员明确知晓分组情况。实验分为黄体酮注射+紫外灯照射(Model I)、黄体酮注射+自然光照射(Model II)、自然光照射(Model III)和Control组共4组, 每组各5只小鼠。

纳入标准: 所有纳入实验的小鼠均为同一品系, 且在实验开始前经过严格的健康检查, 确保无明显疾病症状, 如无体质量异常下降、无皮肤损伤等。排除标准: 在实验过程中, 如果小鼠出现死亡或患有严重疾病(如严重的感染、肿瘤等), 将被排除出实验, 若小鼠出现明显的行为异常, 如过度焦虑、攻击性行为等, 可能影响实验操作和结果的准确性, 也将被排除。数据异常: 在数据分析过程中, 如果发现某个数据点明显偏离正常范围, 且无法通过合理的解释来确定其有效性(如可能是实验操作失误、仪器故障等原因导致的异常数据), 则会将该数据点排除。Model I: 由于1只意外死亡, 1只出现异常数据点, 共纳入3只。Model II: 实验过程1只小鼠中暑意外死亡, 1只出现异常数据点, 共纳入3只。Model III: 实验过程2只小鼠中暑意外死亡, 共纳入3只。Control: 1只小鼠体质量异常下降, 1只出现异常数据点, 共纳入3只。

1.3.2 造模

所有小鼠从平原进入高原适应性饲养一周后各组小鼠均背部剃毛, 剃毛面积 $5\text{ cm}\times 4\text{ cm}$, 每周剃毛2~3次, 剃毛区域均匀涂抹脱毛膏, 作用3~5 min后以湿纱布轻柔清除残留物, 备用。Model组 I: 黄体酮注射液(20 mg/kg , 5 mL/kg), 每日1次, 两后肢交替注射; 同时选取波长 $275\sim 320\text{ nm}$ 的中波紫外线, UVB照射强度 $300\sim 1\,000\text{ }\mu\text{W/cm}^2$, 每日皮肤局部照射1次, 每次1 h, 小鼠皮肤与光原的距离为 20 cm , 连续造模40 d^[10]; 造模期间室内温度: $17\sim 25\text{ }^\circ\text{C}$, 湿度: 40%。Model组 II: 黄体酮注射方式同Model组 I, 自然光照射1 h, 为确保自然光照射条件的一致性与稳定性, 选择在紫外线强度相对稳定的时段(北京时间12: 00–

14: 00)进行自然光照射实验; 使用紫外线测量仪测量, 该时段内平均自然光照射强度为 $5\,574\text{ }\mu\text{W/cm}^2$, 后续实验均在每天同一时间、同一地点进行, 且该地点的自然光照射强度与上述测量值相近; 期间室外温度: $19.1\text{ }^\circ\text{C}$, 湿度53.7%, 连续造模40 d。Model组 III: 自然光照射方法同Model组 II。Control组注射等量的灭菌水, 注射方式同Model组。

1.4 检测指标

1.4.1 表观状态

观察模型动物的皮肤色变情况、皮毛光泽度、垫料洁净度、反应、二便、饮食情况。模型动物的背部裸露皮肤可见明显色变, 呈灰褐色, 皮毛光泽度减退为黄褐斑模型制备成功标志。

1.4.2 皮肤生理参数指标

造模第29~40天所有小鼠每两天测一次小鼠皮肤生理参数, 监测造模过程中的皮肤生理参数变化趋势。测试参数如下: 皮肤红斑指数(erythema, E)、黑色素(melanin, M)、皮肤类型角(ITA° , ITA)、皮肤亮度(lvalue, L)、发红(avalue, a)、发黄(bvalue, b)、角质层水分含量(corneometer, CM)。

1.4.3 生化指标

造模40 d后, 所有小鼠脱臼处死后立即取血、取受试肝脏与脱毛并照射部位的皮肤标本, 经 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 预冷的生理盐水漂洗标本, 除去皮下脂肪以及其他结缔组织, 然后用滤纸拭干, 并切取皮肤和肝脏标本各 0.5 g , 制备肝脏组织匀浆液(liver tissue homogenate, LTH)和皮肤组织匀浆液(skin tissue homogenate, STH), 检测 $\text{MDA}_{\text{serum}}$ 、 $\text{SOD}_{\text{serum}}$ 、 $\text{TYR}_{\text{serum}}$; MDA_{LTH} 、 SOD_{LTH} 、 TYR_{LTH} ; MDA_{STH} 、 SOD_{STH} 、 TYR_{STH} , 判断造模是否成功。实验步骤严格按照试剂盒说明书进行。模型动物的 $\text{TYR}_{\text{serum}}$ 、 TYR_{LTH} 、 TYR_{STH} 活性升高, $\text{SOD}_{\text{serum}}$ 、 SOD_{LTH} 、 SOD_{STH} 活性降低, $\text{MDA}_{\text{serum}}$ 、 MDA_{LTH} 、 MDA_{STH} 含量增加, 表明模型制备成功^[10-11]。

1.5 统计学方法

使用SPSS21.0对数据进行处理, 一般资料采用统计学描述, 若满足正态分布采用单因素ANOVA分析方法, 若不满足正态分布采用非参数检验的独立样本检验。符合正态分布且方差齐的两两比较使用LSD检验, 若满足正态分布但方差不齐的两两比较使用Tamhane's T2检验; 不符合正态分布的两两比较采用Kruskall-Wallis H非参数检验。对于重复测量的分析, 符合正态分布使用重复测量方差分析, 采用GraPhPad Prism10.1.2软件制作图表。采用R语言软件对皮肤参数与生化指标的关系进行线性相关性分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 表观指标

Control组与Model组比较, Model组的小鼠皮肤裸露

部分出现干燥、脱屑, 局部皮肤发红、发黄、暗沉等现象, Control组小鼠皮损程度较轻, 未见有色素沉着。与Control组相比, 3个Model组小鼠的反应更迟钝, 皮毛无色泽, 垫料较潮湿, 饮食量稍大, 小便增加。见图1。

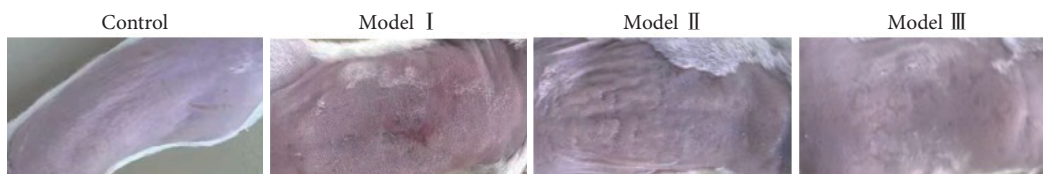


图1 高原地区黄褐斑动物模型的皮损肉眼观察

Fig 1 Macroscopic observation of skin lesions in the melasma animal model in plateau regions

2.2 皮肤生理参数变化趋势

通过对第29~40天的皮肤生理参数趋势图分析得知, Model组的E值、a值高于Control组, Model组的ITA值低于Control组。第33天起Model组的M值高于

Control组, L值小于Control组。Model组的b值高于Control组, 但第39天开始Model组 II 和 III 的b值小于Control组。Model组 I 的CM值低于Control组, Model组 II 和 III 的CM值第35天开始趋势不稳定。见图2。

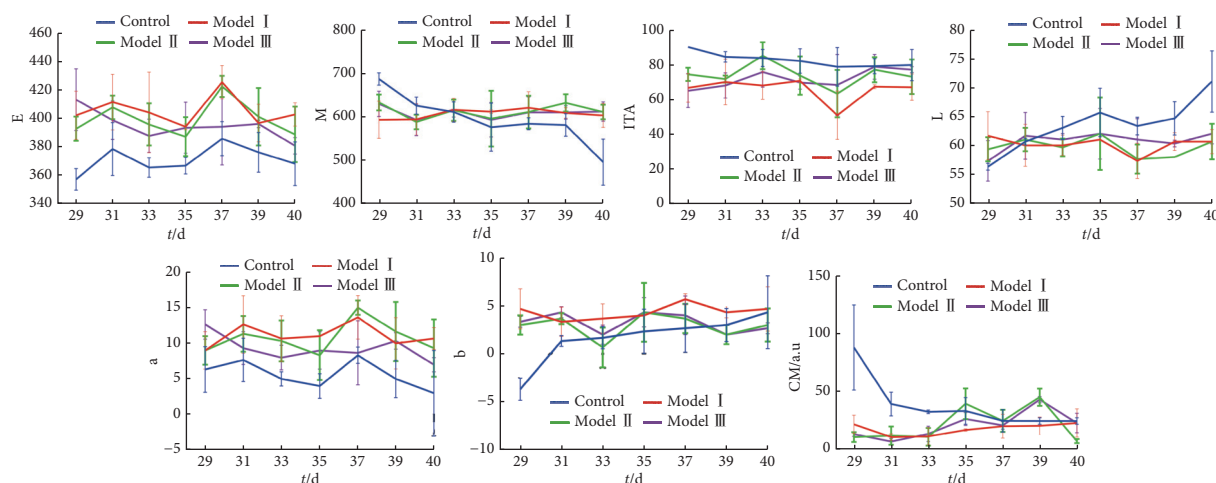


图2 第29~40天皮肤生理参数变化趋势

Fig 2 Trends in skin physiological parameters from day 29 to day 40

E: erythema; M: melanin; ITA: ITA°; L: lvalue; a: avalue; b: bvalue; CM: corneometer. $n = 3$.

通过对第29~40天的皮肤生理参数数据比较分析得知(表1), 与Control组比较, 3个Model组的CM值均降低($P < 0.01$), E值均升高($P < 0.05$), ITA值均降低(除外Model组 II, 其余均 $P < 0.05$), L值均降低[仅Model组 II 的差异有统计学意义($P < 0.01$)], a值均升高($P < 0.05$), b值均升高(除外Model组 II, 其余均 $P < 0.05$)。3个Model组的M值与Control组比较差异无统计学意义。结果提示, 3个Model组的皮肤比Control组更暗沉、红斑指数更大、更干燥、更红、更黄。Model组 I 的b值高于Model组 II, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 说明Model组 I 的皮肤比Model组 II 黄。

2.3 生化指标

生化指标表明(表2), 与Control组的MDA_{serum}比较, Model组 I 的MDA_{serum}水平增加($P < 0.001$), 与Control组的MDA_{STH}比较, Model组 III 的MDA_{STH}水平增加($P < 0.05$); 与Model组 I 比较, Model组 II 和Model组 III 的MDA_{serum}水平均降低($P < 0.01$); Model组 II 的MDA_{serum}水平较Model组 III 更低($P < 0.05$)。Model组 I 的SOD_{LTH}、SOD_{STH}活性比Model组 II SOD_{LTH}、SOD_{STH}活性低, 且差异均有统计学意义($P < 0.05$)。Model组 I 的TYR_{serum}、TYR_{LTH}和TYR_{STH}较Control组有增加的趋势, 但Model组 II 和Model组 III 的TYR_{LTH}较Control组下降($P < 0.05$)。结

表 1 第 29 ~ 40 天各组小鼠皮肤生理参数变化情况 ($n=3$)
Table 1 Changes in skin physiological parameters among groups from day 29 to day 40 ($n=3$)

Group	E	M	ITA	L	a	b	CM/a.u
Control	371.00 ± 13.74	593.71 ± 61.91	82.48 ± 6.69	63.52 ± 4.94	5.62 ± 3.19	1.67 ± 3.01	37.97 ± 25.17
Model I	405.14 ± 16.86**	606.19 ± 26.75	65.81 ± 9.79**	60.19 ± 2.58	11.1 ± 2.84**	4.33 ± 1.43**	19.00 ± 10.00**
Model II	399.29 ± 16.68*	611.71 ± 31.71	74.00 ± 9.52	59.76 ± 2.96**	10.71 ± 3.33**	2.90 ± 1.87 [#]	21.31 ± 16.09**
Model III	394.76 ± 16.67*	608.52 ± 27.67	71.76 ± 9.18*	60.76 ± 2.98	9.29 ± 2.69*	3.24 ± 1.37*	22.19 ± 15.61**

E: erythema; M: melanin; ITA: ITA°; L: lvalue; a: avalue; b: bvalue; CM: corneometer. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, vs. control group; [#] $P < 0.05$, vs. Model I group.

表 2 小鼠血清、皮肤和肝脏组织中的生化指标结果 ($n=3$)
Table 2 Results of biochemical indicators in mouse serum, skin, and liver tissue ($n=3$)

Group	SOD/(U/mL)			MDA/(nmol/mL)			TYR/(U/mL)		
	Serum	LTH	STH	Serum	LTH	STH	Serum	LTH	STH
Control	99.531 ± 7.292	153.123 ± 6.776	164.397 ± 19.561	2.953 ± 0.254	2.972 ± 0.078	2.646 ± 0.262	197.160 ± 6.337	335.247 ± 12.265	130.650 ± 21.157
Model I	84.905 ± 6.890	141.726 ± 4.447	145.866 ± 5.478	3.916 ± 0.324***	3.713 ± 0.471	3.483 ± 0.245	210.407 ± 17.013	350.568 ± 56.282	155.137 ± 8.025
Model II	85.343 ± 0.010	240.965 ± 52.934 [#]	242.885 ± 26.770 [#]	2.821 ± 0.100***	3.870 ± 1.303	4.241 ± 1.191	158.530 ± 0.120	200.250 ± 91.565*	202.637 ± 97.580
Model III	104.660 ± 0.070	158.568 ± 7.159	155.319 ± 8.678	3.230 ± 0.270** [△]	3.610 ± 0.300	4.120 ± 0.380*	214.940 ± 0.280	175.250 ± 78.624*	196.397 ± 70.888

SOD: superoxide dismutase; MDA: malondialdehyde; TYR: tyrosinase; LTH: liver tissue homogenate; STH: skin tissue homogenate. * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$, vs. control group; [#] $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, vs. Model I group; [△] $P < 0.05$, vs. Model II group.

果显示Model组 I 的造模效能优于Model组 II、III。Model组 II、III 所构建的模型目前尚未达到完全稳定的状态, 仍存在一定程度的波动与不确定性。

2.4 相关性分析

根据Model组 I 的数据进行相关性分析, 结果显示 MDA_{STH} 与 M 值呈正相关 ($r=0.74$), MDA_{LTH} 与 E 值呈正相关 ($r=0.72$), SOD_{serum} 与 ITA 值呈正相关 ($r=0.59$)。 MDA_{LTH} 与 ITA 值呈负相关 ($r=-0.66$), MDA_{LTH} 、 MDA_{STH} 与 L 值呈负相关 ($r=-0.63$ 、 0.72), TYR_{LTH} 与 M 值呈负相关 ($r=-0.60$), 说明可以采用皮肤参数的变化等预测模型的构建。皮肤生理参数与模型生化指标之间相关分析热图见网络资源附件附图1。

3 讨论

本研究使用平原地区常用的黄体酮注射+紫外灯照射 (Model组 I)^[10, 12, 13] 和本课题组自行探索的黄体酮注射+自然光照射 (Model组 II)、自然光照射 (Model组 III) 3 种方法率先探索在高原地区建立黄褐斑动物模型的方法。在本研究中, 经综合评估各项关键指标, 结果显示 Model组 I 的造模效能显著优于Model组 II、III, 并发现皮肤生理参数在预测模型成功与否方面具有潜在价值。

皮肤生理参数研究结果显示, 3 个 Model 组与 Control 组相比, E 值、a 值、b 值升高, CM 值、ITA 值和 L 值降低, 这与既往研究^[14-15]吻合, 说明 Model 组的皮肤屏障功

能的受损与色素沉着增加。3 个 Model 组的 M 值较 Control 组无明显变化。生化指标方面, Model 组 I 的 Serum、LTH、STH 中均出现 MDA 含量增加, SOD 活性降低, TYR 活性升高的趋势, 这与经典黄褐斑模型的结果一致^[10, 13, 16], 但是差异无统计学意义 (除外 MDA_{serum} 与 Control 组比较差异有统计学意义), 这可能是高原低压低氧环境可诱导活性氧 (ROS) 生成增加, 皮肤氧化损伤和黑色素合成异常而促进 MDA 含量增加、SOD 活性下降^[17-20], 导致 Control 组也有氧化应激代偿机制。Model 组 II 的 MDA_{serum} 、 SOD_{LTH} 、 SOD_{STH} 、 TYR_{serum} 、 TYR_{LTH} , Model 组 III 的 SOD_{serum} 、 SOD_{LTH} 、 TYR_{LTH} 的趋势与经典模型结果的趋势不一致^[13], 其原因可能是 Model 组 II 和 III 使用的是高原自然光照射, 其光谱范围更广, 包含更广的 UVA 波段, UVA 可深入真皮层, 与紫外灯 (UVB 为主) 相比, 通过间接氧化损伤促进 MDA 生成^[20-22], UVA 诱导的氧化应激虽通过激活信号通路, 上调 TYR 表达, 但其作用较直接照射 UVB 更缓慢^[23-24]。此外, Model 组 I 的构建效能优于其他两组, 这可能是 Model I 的照射距离和空间更集中的原因。因此其表观特征 (如皮肤干燥、红斑加深) 及生化指标更易达到临床黄褐斑病理指标。

本研究中 Model 组 II、Model 组 III 中的自然光紫外线平均强度达到 $5\,574\,\mu W/cm^2$, Model 组 I 采用的紫外线灯 (UVB) 平均强度达到 $300\sim1\,000\,\mu W/cm^2$ 。尽管自然光的总紫外线强度显著高于 Model 组 I 中 UVB 光源, 但观察

到的氧化损伤在Model组 I 更为显著。导致该现象的关键在于,自然光的紫外线中UVA约占95%,穿透性较强,能穿透皮肤表皮层作用于真皮层,导致皮肤皱缩产生皱纹,日久会引起皮肤老化。UVB穿透性较小,主要作用于皮肤的表皮基底细胞层,虽然只占天然紫外线的5%,但与UVA相比,UVB具有更强的生物活性,在相同剂量下,UVB对皮肤损伤程度是UVA的800~1 000倍^[25]。Model组 I 中UVB光源则将其辐射能量(300~1 000 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$)高度集中于UVB波段(275~320 nm)。因此,尽管本实验中Model组 II、Model组 III中的总辐照度较高,但由于其光谱中高效损伤波段(UVB)占比极低,而主要由低效能的UVA和可见光组成,其单位强度引发的初始氧化反应强度远低于同等强度的UVB辐射。

在高原自然光照射和UVB灯管照射都会增加血清MDA水平,但UVB灯管照射增加得更明显。这是因为UVB光的能量更高,更容易引发细胞内的氧化反应,产生更多的自由基,进而导致细胞膜中的脂肪酸氧化,产生MDA。而自然光虽然也有紫外线,但其中的UVB成分能量较低,引发的氧化反应相对较弱,所以MDA增加得相对弱一些。自然光照射对SOD活性的影响也比较复杂,而UVB灯管照射的影响比较明确。UVB照射初期,细胞为了对抗UVB引发的大量自由基,会增加SOD的活性来清除自由基。但随着时间延长,细胞受到的损伤过大,SOD自身也可能受损,活性就会下降。自然光照射下,由于其成分复杂,细胞内的反应也更复杂,SOD活性受到多种因素影响,所以其变化更为复杂。自然光照射和UVB灯管照射都能让TYR活性升高,但UVB灯管照射的促进作用更强。这是因为UVB光能直接刺激黑色素细胞,激活细胞内的信号通路,让TYR的活性增加,从而促进黑色素的合成^[26-27]。而自然光中的其他光成分对黑色素细胞的刺激相对较弱,所以TYR活性增加的程度不如UVB灯管照射明显,导致Model组 II 和 III 生化指标变化趋势与经典黄褐斑模型不完全一致^[10]。通过相关性分析表明(基于Model组 I 的数据),MDA_{LTH}与E值呈正相关,与ITA、L值呈负相关,表明肝脏氧化损伤情况与皮肤红斑程度、皮肤类型和亮度之间存在关联;MDA_{STH}与M值呈正相关,说明皮肤氧化损伤程度与黑色素色素沉着程度相关;SOD_{serum}与ITA呈正相关,提示血清抗氧化能力与皮肤类型之间有一定的联系。TYR_{LTH}与M值呈负相关,这可能是因为高原低压低氧环境对肝脏代谢应激的诱导效应,以及该效应与皮肤色素合成局部调控通路之间的复杂关联。总之,皮肤生理参数与生化指标之间存在显著关联,这一发现为通过无创皮肤参数检测预测模型成功

提供了新的思路。然而由于本研究样本量较小,未能深入探讨其他皮肤生理参数与模型构建的关系,未来研究可加大样本量,进一步增加检测指标以达到更高、更好的建模效能。

在本研究中,经综合评估各项关键指标,结果显示Model组 I 的建模效能显著优于Model组 II、III。Model组 II、III所构建的模型目前尚未达到完全稳定的状态,仍存在一定程度的波动与不确定性。此外,除一些已知的生化指标可以预测模型构建是否成功外,皮肤生理参数也具有预测价值。

* * *

作者贡献声明 旦增德琼负责论文构思、正式分析、研究方法、初稿写作和审读与编辑写作,方龙伟和尼珍负责软件,王瑾负责数据审编,多吉卓玛和央拉负责可视化,索朗旺堆负责验证,德央负责提供资源,巴桑卓玛负责数据审编、经费获取、研究项目管理和审读与编辑写作。所有作者已经同意将文章提交给本刊,且对将要发表的版本进行最终定稿,并同意对工作的所有方面负责。

Author Contribution DANZENGDEQIONG is responsible for conceptualization, formal analysis, methodology, writing--original draft, and writing--review and editing. FANG Longwei and NIZHEN are responsible for software. WANG Jin is responsible for data curation. DUOJIZHUOMA and YANGLA are responsible for visualization. SUOLANGWANGDUI is responsible for validation. DEYANG is responsible for resources. BASANGZHUOMA is responsible for data curation, funding acquisition, project administration, and writing--review and editing. All authors consented to the submission of the article to the Journal. All authors approved the final version to be published and agreed to take responsibility for all aspects of the work.

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

Declaration of Conflicting Interests All authors declare no competing interests.

参 考 文 献

- [1] MCKESEY J, TOVAR-GARZA A, PANDYA A G. Melasma treatment: an evidence-based review. *Am J Clin Dermatol*, 2020, 21(2): 173-225. doi: 10.1007/s40257-019-00488-w.
- [2] SHETH V M, PANDYA A G. Melasma: A comprehensive update. *J Am Acad Dermatol*, 2011, 65(4): 689-697. doi: 10.1016/j.jaad.2010.12.046.
- [3] PASSERON T, PICARDO M. Melasma, a photoaging disorder. *Pigment Cell Melanoma Res*, 2018, 31(4): 461-465. doi: 10.1111/pcmr.12684.
- [4] TAMEGA A D A, MIOT L D B, BONFIETTI C, et al. Clinical patterns and epidemiological characteristics of facial melasma in brazilian women. *J Eur Acad Dermatol Venerol*, 2012, 27(2): 151-156. doi: 10.1111/j.1468-3083.2011.04430.x.
- [5] NOH T K, CHOI S J, CHUNG B Y, et al. Inflammatory features of melasma lesions in asian skin. *J Dermatol*, 2014, 41(9): 788-794. doi: 10.1111/1346-8138.12573.
- [6] SEO E Y, JIN S P, SOHN K C, et al. Uchl1 regulates melanogenesis through controlling mitf stability in human melanocytes. *J Invest Dermatol*, 2017, 137(8): 1757-1765. doi: 10.1016/j.jid.2017.03.024.
- [7] KUMARAN M S, NARAYAN R V. Clinico-epidemiological profile and long term follow up in melasma. *Dermatol Ther*, 2021, 34(6): e15143. doi: 10.1111/dth.15143.

- [8] EIDE M J, WEINSTOCK M A. Association of UV index, latitude, and melanoma incidence in nonwhite populations-us surveillance, epidemiology, and end results (seer) program, 1992 to 2001. *Arch Dermatol*, 2005, 141(4): 477-481. doi: 10.1001/archderm.141.4.477.
- [9] SINGH G, CHATTERJEE M, GREWAL R, *et al.* Incidence and care of environmental dermatoses in the high-altitude region of ladakh, india. *Indian J Dermatol*, 2013, 58(2): 107-112. doi: 10.4103/0019-5154.108038.
- [10] 苗明三, 付珍娜, 曹利华. 黄褐斑动物模型制备规范(草案). *中药新药与临床药理*, 2017, 28(5): 649-653. doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2017.05.018. MIAO M S, FU Z N, CAO L H. Standard for preparation of animal model of chloasma (draft). *New Drugs of Traditional Chinese Medicine and Clinical Pharmacology*, 2017, 28(5): 649-653. doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2017.05.018.
- [11] 张万卷. 氨甲环酸联合壬二酸治疗黄褐斑小鼠模型的实验研究. 衡阳: 南华大学, 2024. doi:10.27234/d.cnki.gnhuu.2024.000260. ZHANG W J. Experimental study of tranexamic acid combined with azelaic acid in the treatment of melasma mice. Hengyang: University of South China, 2024. doi:10.27234/d.cnki.gnhuu.2024.000260.
- [12] 胡莹, 张雨曦, 曾丹. 红花茯苓三七及其组合物对黄褐斑模型小鼠的作用研究. *实用中医内科杂志*, 2024, 38(12): 49-52. doi: 10.13729/j.issn.1671-7813.Z20232384. HU Y, ZHANG Y X, ZENG D. Study on the effect of safflower poria notoginseng and its composition on chloasma model mice. Study on the effect of safflower poria notoginseng and its composition on chloasma model mice. *Journal of Practical Traditional Chinese Internal Medicine*, 2024, 38(12): 49-52. doi: 10.13729/j.issn.1671-7813.Z20232384.
- [13] 张婉婷, 姚天宇, 钟逸斌, 等. 自拟桃仁白芍三七粉对黄褐斑模型小鼠的治疗作用研究. *实用中医内科杂志*, 2024, 38(6): 25-27. doi: 10.13729/j.issn.1671-7813.Z20230980. ZHANG W T, YAO T Y, ZHONG Y B, *et al.* Study on the therapeutic effect of self-made peach kernel white peony notoginseng powder on chloasma model mice. *Journal of Practical Traditional Chinese Internal Medicine*, 2024, 38(6): 25-27. doi: 10.13729/j.issn.1671-7813.Z20230980.
- [14] 王瑶池. 中国健康人群暴露部位和非暴露部位皮肤衰老的生理功能变化研究. 合肥: 安徽医科大学, 2020. doi:10.26921/d.cnki.ganyu.2020.000902. WANG Y C. The physiological changes of skin aging in exposed and non-exposed areas of healthy Chinese Population. Hefei: Anhui Medical University, 2020. doi:10.26921/d.cnki.ganyu.2020.000902.
- [15] 孙琳, 韩婷婷, 马来记, 等. 上海地区黄褐斑人群皮肤生理参数与微生物群落特征分析. *中国皮肤性病学杂志*, 2022, 36(8): 884-889. doi: 10.13735/j.cjdv.1001-7089.202109044. SUN L, HAN T T, MA L J, *et al.* Analysis of skin physiological parameters and microbial community characteristics of chloasma population in Shanghai. *Chinese Journal of Dermatology and Venereology*, 2022, 36(8): 884-889. doi: 10.13735/j.cjdv.1001-7089.202109044.
- [16] XIAO Y, TAO W, SHAN X, *et al.* Components analysis of San-Bai decoction, and its pharmacodynamics and mechanism on preventing and treating melasma. *J Ethnopharmacol*, 2024, 332: 118388. doi: 10.1016/j.jep.2024.118388.
- [17] PENA E, EL ALAM S, SIQUES P, *et al.* Oxidative stress and diseases associated with high-altitude exposure. *Antioxidants (Basel)*, 2022, 11(2): 267. doi: 10.3390/antiox11020267.
- [18] SARADA S, HIMADRI P, MISHRA C, *et al.* Role of oxidative stress and nfkb in hypoxia-induced pulmonary edema. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2008, 233(9): 1088-1098. doi: 10.3181/0712-rm-337.
- [19] ARANEDA O F, GARCÍA C, LAGOS N, *et al.* Lung oxidative stress as related to exercise and altitude. Lipid peroxidation evidence in exhaled breath condensate: a possible predictor of acute mountain sickness. *Eur J Appl Physiol*, 2005, 95(5/6): 383-390. doi: 10.1007/s00421-005-0047-y.
- [20] BATTIE C, JITSUKAWA S, BERNERD F, *et al.* New insights in photoaging, UVA induced damage and skin types. *J Exp Dermatol*, 2014, 23 Suppl 1: 7-12. doi: 10.1111/exd.12388.
- [21] FITSIOU E, PULIDO T, CAMPISI J, *et al.* Cellular senescence and the senescence-associated secretory phenotype as drivers of skin photoaging. *J Invest Dermatol*, 2021, 141(4S): 1119-1126. doi: 10.1016/j.jid.2020.09.031.
- [22] 胡青梅, 景海霞, 雷铁池. UVA及UVB诱导人皮肤光生物学反应差异的研究进展. *临床与病理杂志*, 2017, 37(1): 199-202. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.01.034. HU Q M, JING H X, LEI T C. Research progress on the difference of photobiological response of human skin induced by UVA and UVB. *Journal of Clinical and Pathology*, 2017, 37(1): 199-202. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.01.034.
- [23] OU-YANG H, STAMATAS G, SALIOU C, *et al.* A chemiluminescence study of uva-induced oxidative stress in human skin *in vivo*. *J Invest Dermatol*, 2004, 122(4): 1020-1029. doi: 10.1111/j.0022-202X.2004.22405.x.
- [24] STARNER R J, MCCLELLAND L, ABDEL-MALEK Z, *et al.* Pge(2) is a uvr-inducible autocrine factor for human melanocytes that stimulates tyrosinase activation. *Exp Dermatol*, 2010, 19(7): 682-684. doi: 10.1111/j.1600-0625.2010.01074.x.
- [25] 邓明高. 松茸提取物对UVB诱导的小鼠皮肤氧化应激和炎症的保护作用. 广州: 广东工业大学, 2020. doi:10.27029/d.cnki.ggdgu.2020.000303. DENG M G. Protective Effect of Tricholoma Matsutake Extract against UVB-induced Oxidative Stress and Inflammation in Mouse Skin. Guangzhou: Guangdong University of Technology, 2020. doi: 10.27029/d.cnki.ggdgu.2020.000303.
- [26] KAN D, ZHANG Y, ZENG J, *et al.* Physiological response and molecular mechanisms against UV-B radiation in brachionus asplanchnoidis (rotifera). *J Ecotoxicol Environ Saf*, 2023, 262: 115319. doi: 10.1016/j.ecoenv.2023.115319.
- [27] KIM S H, LEE J, JUNG J, *et al.* Interruption of p38^{MAPK}-MSK1-CREB-MITF-M pathway to prevent hyperpigmentation in the skin. *Int J Biol Sci*, 2024, 20(5): 1688-1704. doi: 10.7150/ijbs.93120.

(2025-04-08收稿, 2025-08-02修回)

编辑 余琳



开放获取 本文使用遵循知识共享署名—非商业性使用4.0国际许可协议(CC BY-NC 4.0), 详细信息请访问

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>。

OPEN ACCESS This article is licensed for use under Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (CC BY-NC 4.0). For more information, visit <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>.

© 2026《四川大学学报(医学版)》编辑部

Editorial Office of Journal of Sichuan University (Medical Sciences)