

肿瘤发病机制与治疗

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.000131

绞股蓝总皂苷对紫外线照射的人皮肤细胞原癌基因表达的影响

马月丹¹, 张 燚², 王继慧³, 吴景东⁴, 马贤德⁵

(辽宁中医药大学 1. 经济管理学院公共管理教研室; 2. 附属第三医院; 3. 基础医学院中医基础理论教研室;

4. 学生工作处; 5. 教学实验中心生物技术实验室, 沈阳 110847)

【摘要】目的:探讨绞股蓝总皂苷对紫外线照射的人皮肤相关原癌基因 c-Fos 和 c-Jun 表达的影响。**方法:**制备空白大鼠血清和绞股蓝含药血清。将人永生化角质形成细胞(human immortal skin keratinocytes, HaCaT)40 瓶随机分为 4 组(A~D 组), 每组 10 瓶, 将人皮肤成纤维细胞(human skin fibroblast, HSF)60 瓶随机分为 6 组(I~VI 组), 每组 10 瓶。分别用中波紫外线(ultra-violet B, UVB)对 HaCaT 细胞 B~D 组、用长波紫外线(ultraviolet A, UVA)对 HSF 细胞 II~VI 组进行照射。将 HaCaT 4 组细胞培养上清液分别加入 HSF 细胞的 III~VI 组。最终制成用于检测的 6 组细胞, 分别为空白对照组(I 组)、UVA 模型组(II 组)、HaCaT 培养上清液 A 组(III 组)、HaCaT 培养上清液 B 组(IV 组)、HaCaT 培养上清液 C 组(V 组)、HaCaT 培养上清液 D 组(VI 组)。采用反转录聚合酶链反应(reverse transcription-PCR, RT-PCR)和蛋白免疫印迹(Western blot)方法检测 I~VI 组细胞 c-Fos 和 c-Jun 基因和蛋白的表达水平。**结果:**与 I 组比较, II 组细胞 c-Fos 和 c-Jun 基因和蛋白的表达水平明显上调(各组 P 值均为 0.000); 与 II 组比较, IV 组 c-Fos 和 c-Jun 基因和蛋白表达均上调($P_{c-Fos \text{ 基因}}=0.016$, $P_{c-Fos \text{ 蛋白}}=0.001$, $P_{c-Jun \text{ 基因}}=0.005$, $P_{c-Jun \text{ 蛋白}}=0.000$), 而 III 组变化不明显; 与 IV 组比较, VI 组 c-Fos 和 c-Jun 基因和蛋白表达均下调(各组 P 值均为 0.000), 而 V 组变化不明显($P_{c-Fos \text{ 基因}}=0.081$, $P_{c-Fos \text{ 蛋白}}=0.088$, $P_{c-Jun \text{ 基因}}=0.109$, $P_{c-Jun \text{ 蛋白}}=0.026$)。**结论:**经 UVB 照射的 HaCaT 细胞分泌细胞因子促进经 UVA 照射的 HSF 细胞原癌基因 c-Fos 和 c-Jun 基因和蛋白的表达。绞股蓝总皂苷对 UVB 照射 HaCaT 细胞培养上清液作用的 UVA 照射 HSF 细胞中原癌基因 c-Fos 和 c-Jun 的表达具有抑制作用。

【关键词】绞股蓝总皂苷; 紫外线照射; 皮肤细胞; 原癌基因; c-Fos; c-Jun**【中图分类号】**R758.14**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2013-08-28

Effect of gypenosides on expression of proto-oncogene in skin cells following ultraviolet irradiation

Ma Yuedan¹, Zhang Yi², Wang Jihui³, Wu Jingdong⁴, Ma Xiande⁵

(1. Teaching and Research Section of Public Management, College of Economics and Management;

2. the Third Affiliated Hospital; 3. Teaching and Research Section of Basic Theory Traditional Chinese Medicine, Basic Medical Sciences; 4. Student Affair Office; 5. Biotechnology Laboratory, Experiment Center for Teaching and Learning, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine)

【Abstract】Objective: To research the effect of gypenosides-containing serum on the expression of proto-oncogene c-Fos and c-Jun in ultraviolet irradiated cells. **Methods:** Blank serum and gypenosides-containing serum were made. Human immortal skin keratinocytes (HaCaT) were divided into 4 groups(A-D), 10 bottles in each group. Human skin fibroblast(HSF) were divided into 6 groups(I-VI), 10 bottles in each group. B, C, D groups of irradiated HaCaT and II, III, IV, V, VI groups of HSF underwent UVB and UVA radiation. Supernatant of 4 groups HaCaT was put into HSF III-VI groups in turn. Six groups for measurement were made: blank control group(I group), UVA model group(II group), HaCaT supernatant A group(III group), HaCaT supernatant B group(IV group), HaCaT supernatant C group(V group), HaCaT supernatant D group(VI group). Expression levels of c-Fos and c-Jun mRNA and protein in each group were measured by RT-PCR and Western blot. **Results:** c-Fos and c-Jun mRNA and protein expression was significantly higher in group II than in group I (all $P=0.000$). c-Fos and c-Jun mRNA and protein expression was significantly higher in group IV than in group II ($P_{c-Fos \text{ mRNA}}=0.016$, $P_{c-Fos \text{ protein}}=0.001$, $P_{c-Jun \text{ mRNA}}=0.005$, $P_{c-Jun \text{ protein}}=0.000$). Changes in group III were not significant. c-Fos and c-Jun mRNA and protein expression was significantly lower in group VI than in group IV (all $P=0.000$). Changes in group V were not significant($P_{c-Fos \text{ mRNA}}=0.081$, $P_{c-Fos \text{ protein}}=0.088$, $P_{c-Jun \text{ mRNA}}=0.109$, $P_{c-Jun \text{ protein}}=0.026$). **Conclusions:** The UVB irradiated HaCaT cell secrete cytokine to increase c-Fos and c-Jun mRNA and protein expression in UVA irradiated cell HSF. Gypenosides can inhibit c-Fos and

作者介绍: 马月丹, Email: mydpony@163.com,

研究方向: 中医美容的基础理论研究。

通信作者: 吴景东, Email: lnzywd0719@163.com。

基金项目: 辽宁省自然科学基金资助项目(编号: 201102150)。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13406/j.cnki.cyx.000131.html>

c-Jun mRNA and protein expression of UVA irradiated HSF cells which are affected by UVB irradiated HaCaT supernatant.

【Key words】gypenosides; ultraviolet irradiation; skin cells; proto-oncogene; c-Fos; c-Jun

原癌基因是存在于人体细胞内,机体正常生命活动所必须,与细胞增殖密切相关的一类基因。已经证明,原癌基因不仅与癌症的发生关系密切,在其他疾病的发生过程中也有重要作用。c-Fos 和 c-Jun 是原癌基因中具有转录因子功能的基因,它们分别是 Fos 家族和 Jun 家族中的成员之一^[1]。绞股蓝始载于明代的《救荒本草》,《本草纲目》中开始以“乌薺莓”入药。味苦、微甘,性凉,无毒,归肺、脾、肾经。具有清热解毒、止咳化痰、补气生津、健脾安神之功效。现代药学研究表明,其主要药效成分是绞股蓝总皂苷,具有抗氧化、抗衰老、增强免疫力等作用^[2]。本研究拟探讨在紫外线照射下人皮肤细胞中 c-Fos 和 c-Jun 表达的变化,以及中药绞股蓝是否能通过影响 c-Fos 和 c-Jun 的表达而减轻紫外线对皮肤的损害。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康 SPF 级大鼠 10 只,雄性,体质量 200~250 g,购自中国医科大学,合格证号 SCXK(辽) 2008-2005;常规喂养。

1.2 实验试剂和设备

人永生角质形成细胞(human immortal skin keratinocytes, HaCaT),人皮肤成纤维细胞(human skin fibroblast, HSF),购于上海艾研生物科技有限公司;绞股蓝总皂苷(MUST-11031401),购于成都曼斯特生物科技有限公司;大鼠抗人 c-fos 抗体、大鼠抗人 c-jun 抗体(bs-0637R,北京博奥森生物科技有限公司);电热恒温培养箱(HH-B11-500型,上海跃进医疗器械厂);RT-PCR 试剂盒(DRR014A,大连宝生物工程公司);凝胶成像分析系统(Chemi Imager 5500 型,美国 Alphainnotech Chemi Imager 公司);垂直板电泳装置(Mini-Protein III 型,美国 BIORAD 公司);长波紫外线(ultra-violet, A)UVA、中波紫外线(ultraviolet B, UVB)光源(20 W, 南京华强电子有限公司);紫外光光度计(UV-340A 型),购于台湾路昌电子仪器有限公司。

1.3 血清制备

选取 10 只大鼠随机分成 2 组,分别为空白血清组、含药血清组,每组 5 只。

含药血清:成人绞股蓝最大服药量约为 30 g/d,绞股蓝总皂苷的提取浓度是 3%,根据 Meeh-Rubner 氏公式,按成人与大鼠体表面积比例进行给药量换算,200 g 体质量的大鼠给药量约为 0.016 g/d,即 80 mg/(kg·d),在预实验中分别设 80、160、320 mg/(kg·d)为低、中、高剂量组,根据结果选取量效比最高者,选取中等剂量水平给药,即 160 mg/(kg·d)。

含药血清组将绞股蓝总皂苷颗粒按给药量计算溶于生理盐水后灌胃,1 次/d,共 7 d,第 7 天灌胃后 1 h,经腹主动脉取血,置于促凝管中,于室温下静置 1 h,2 000 r/min 离心,10 min 后收集上清。将收集好的血清于 56 ℃水浴中灭活 30 min,0.22 μm 滤膜过滤除菌,分装于离心管,冻存备用。

空白血清组给予等量生理盐水灌胃,血清采集、灭活、除菌方法同上。

1.4 HaCaT 和 HSF 的培养与实验分组

于 37 ℃下,5%CO₂ 培养箱内,10% FBS、双抗的 DMEM 高糖培养基培养,0.25%胰蛋白酶消化传代。将处于对数生长期的 HaCaT 和 HSF 细胞分别消化成细胞悬液,并分别以 1×10^4 个/ml 接种于另一细胞培养瓶,5 ml/瓶。

HaCaT 共接种 40 瓶,随机分为 A、B、C、D 4 组,分别为空白对照组、UVB 模型组、空白血清组、含药血清组,每组 10 瓶。

HSF 细胞共接种 60 瓶,随机分为 I、II、III、IV、V、VI 6 组,分别为空白对照组、UVA 模型组、HaCaT 培养上清液 A 组、HaCaT 培养上清液 B 组、HaCaT 培养上清液 C 组、HaCaT 培养上清液 D 组。每组 10 瓶。

1.5 实验模型制备

HaCaT 和 HSF 紫外线照射的实验模型制备。由于辐射剂量没有金标准,故结合相关文献和预实验结果^[3],将照射剂量确定为 35 mJ/cm²。对 HaCaT 细胞 B、C、D 组采用 UVB 303 nm 灯管 5 根并排照射,灯管与培养瓶的距离是 15 cm,根据公式:UV 剂量=UV 辐照强度×时间,照射剂量为 35 mJ/cm²;同理,对 HSF 细胞 II、III、IV、V、VI 组采用 UVA 365 nm 灯管 5 根并排照射,灯管与培养瓶的距离是 15 cm,根据公式:UV 剂量=UV 辐照强度×时间,照射剂量为 35 mJ/cm²。

1.6 给药与处理

HaCaT 细胞:空白对照组(A 组):不作处理,正常培养;UVB 模型组(B 组)、空白血清组(C 组)、含药血清组(D 组)在 UVB 照射,弃去 PBS 后,分别加入 5 ml 新鲜培养液、含有 10%空白大鼠血清的培养液 5 ml、含有 10%含药大鼠血清的培养液 5 ml,之后正常培养。

HSF 细胞:空白对照组(I 组):不作处理,正常培养,收集细胞用于检测;UVA 模型组(II 组):UVA 照射后,弃去 PBS,加入 5 ml 新鲜培养液,正常培养,收集细胞用于检测;HaCaT 培养上清液 A 组(III 组)、HaCaT 培养上清液 B 组(IV 组)、HaCaT 培养上清液 C 组(V 组)、HaCaT 培养上清液 D 组(VI 组)分别在 UVA 照射后,加入 HaCaT 细胞 A、B、C、D 组细胞培养 12 h 后的上清液 5 ml,正常培养,收集细胞用于检测。

1.7 指标检测

1.7.1 RT-PCR 法检测基因表达量 取以上 6 组细胞,每组随机抽取 5 瓶,采用 RT-PCR 法检测细胞中 c-Fos 和 c-Jun 的 mRNA 水平。内参 GAPDH:上游:5'-GTCAGTGGTGGACCTGACCT-3',下游:5'-AGGGGTCTACATGGCAACTG-3',扩增片段长度 420 bp;目的基因 c-Fos 引物序列上游:5'-CTCGGGCTTCAACGCAGACTA-3',下游:5'-GGAATGAAGTTGGCACTGGAGAC-3',扩增片段长度 150 bp;目的基因 c-Jun:引物序列上游:5'-AGAATCCGAAGGGAAAGGAA-3',下游:5'-CTTCTCCTTCAGCAGGTTGGT-3',扩增片段长扩增片段长度:221 bp。

收集细胞,应用 Trizol 提取细胞中总 RNA,然后将 mRNA 逆转录为 cDNA,再利用引物对其进行扩增,扩增后的产物于 1.5%的琼脂糖凝胶中进行电泳,电泳结束后在凝胶成像分析

系统中进行观察,之后采集照片,对各条带的积分光密度值进行测定结果,最后以每个样本的目的条带与内参条带的积分光密度值之比表示 c-Fos 和 c-Jun 基因的表达水平。

1.7.2 Western blot 法检测蛋白表达量 取 6 组细胞每组剩余 5 瓶,采用 Western blot 法对细胞中 c-Fos 和 c-Jun 蛋白水平进行检测,收集细胞,应用 Western blot 及 IP 细胞裂解缓冲液于冰上提取总蛋白,BCA 法测定各组蛋白含量。暗室内 ECL 发光,X 光胶片曝光,采集照片,分析结果,以目的条带积分光密度值/内参条带积分光密度值的比值表示 c-Fos 和 c-Jun 蛋白表达量。

1.8 统计分析

采用 SPSS 16.0 软件包对各组数据进行分析。计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组均数比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD-*t* 方法。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 c-Fos 基因和蛋白检测结果

各组细胞 c-Fos 基因和蛋白的检测结果显示: I 组细胞 c-Fos 基因和蛋白的表达水平较低;与 I 组比较, II 组细胞 c-Fos 基因和蛋白的表达水平明显上调(P 均为 0.000),差异有统计学意义;与 II 组比较, IV 组 c-Fos 基因和蛋白表达均上调($P_{c-Fos \text{ 基因}}=0.016, P_{c-Fos \text{ 蛋白}}=0.001$),有统计学意义,但 III 组 c-Fos 下调差异不明显;与 IV 组比较, VI 组 c-Fos 基因和蛋白表达均下调(P 均为 0.000),有统计学意义, V 组 c-Fos 基因和蛋白表达差异均不明显($P_{c-Fos \text{ mRNA}}=0.081, P_{c-Fos \text{ 蛋白}}=0.088$)。

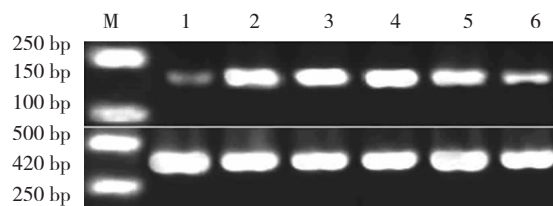
各组细胞 c-Fos 基因和蛋白的表达见表 1、图 1、图 2。

2.2 c-Jun 基因和蛋白检测结果

各组细胞 c-Jun 基因和蛋白的检测结果显示: I 组细胞 c-Jun 基因和蛋白的表达水平较低;与 I 组比较, II 组细胞 c-Jun 基因和蛋白的表达水平明显上调(P 均为 0.000),差异有统计学意义;与 II 组比较, IV 组 c-Jun 基因和蛋白表达均上调($P_{c-Jun \text{ 基因}}=0.005, P_{c-Jun \text{ 蛋白}}=0.000$),有统计学意义, III 组 c-Jun 表达下调,但差异不明显;与 IV 组比较, VI 组 c-Jun 基因和蛋白表达均下调(P 均为 0.000),有统计学意义, V 组 c-Jun 基因和蛋白表达差异不一致($P_{c-Jun \text{ mRNA}}=0.109, P_{c-Jun \text{ 蛋白}}=$

0.026)。

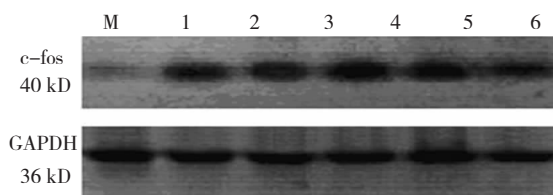
各组细胞 c-Jun 基因和蛋白的表达见表 1、图 3、图 4。



M. marker; 1. I 组; 2. II 组; 3. III 组; 4. IV 组; 5. V 组; 6. VI 组 c-Fos 扩增片段长度为 150 bp; GAPDH 扩增片段长度为 420 bp

图 1 各组细胞中 c-Fos mRNA 表达电泳图

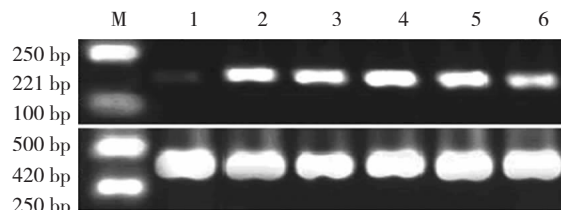
Fig.1 Electrophoregram of c-Fos mRNA expression of cells in various groups



M. marker; 1. I 组; 2. II 组; 3. III 组; 4. IV 组; 5. V 组; 6. VI 组

图 2 各组细胞中 c-Fos 蛋白表达电泳图

Fig.2 Electrophoregram of c-Fos protein expression of cells in various groups



M. marker; 1. I 组; 2. II 组; 3. III 组; 4. IV 组; 5. V 组; 6. VI 组 c-Jun 扩增片段长度为 221 bp; GAPDH 扩增片段长度为 420 bp

图 3 各组细胞中 c-Jun mRNA 的表达电泳图

Fig.3 Electrophoregram of c-Jun mRNA expression of cells in various groups

表 1 各组细胞中 c-Fos 和 c-Jun 基因和蛋白的表达水平 ($n=5$)

Tab.1 c-Fos and c-Jun mRNA and protein expression of cells in various groups ($n=5$)

组别	c-Fos 基因		c-Fos 蛋白		c-Jun 基因		c-Jun 蛋白	
	$\bar{x} \pm s$	P 值	$\bar{x} \pm s$	P 值	$\bar{x} \pm s$	P 值	$\bar{x} \pm s$	P 值
I 组	0.286 $\pm$ 0.021		0.213 $\pm$ 0.017		0.126 $\pm$ 0.013		0.231 $\pm$ 0.026	
II 组	0.505 $\pm$ 0.038 ^a	0.000 ^a	0.528 $\pm$ 0.046 ^a	0.000 ^a	0.452 $\pm$ 0.022 ^a	0.000 ^a	0.560 $\pm$ 0.057 ^a	0.000 ^a
III 组	0.481 $\pm$ 0.029 ^b	0.215 ^b	0.469 $\pm$ 0.050 ^b	0.105 ^b	0.433 $\pm$ 0.028 ^b	0.266 ^b	0.507 $\pm$ 0.055 ^b	0.096 ^b
IV 组	0.554 $\pm$ 0.037 ^c	0.016 ^c	0.657 $\pm$ 0.077 ^c	0.001 ^c	0.501 $\pm$ 0.034 ^c	0.005 ^c	0.704 $\pm$ 0.040 ^c	0.000 ^c
V 组	0.520 $\pm$ 0.025 ^d	0.081 ^d	0.594 $\pm$ 0.069 ^d	0.088 ^d	0.474 $\pm$ 0.030 ^d	0.109 ^d	0.632 $\pm$ 0.044 ^d	0.026 ^d
VI 组	0.387 $\pm$ 0.027 ^e	0.000 ^e	0.389 $\pm$ 0.057 ^e	0.000 ^e	0.329 $\pm$ 0.023 ^e	0.000 ^e	0.395 $\pm$ 0.058 ^e	0.000 ^e
F 值	57.277	0.000	40.110	0.000	148.583	0.000	62.789	0.000

注: a, I 组与 II 组比较, $P \leq 0.05$; b, II 组与 III 组比较, $P > 0.05$; c, II 组与 IV 组比较, $P \leq 0.05$; d, IV 组与 V 组比较, $P > 0.05$; e, IV 组与 VI 组比较, $P \leq 0.05$

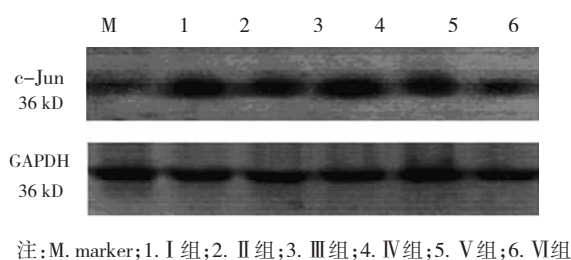


图 4 各组细胞中 c-Jun 蛋白的表达电泳图

Fig.4 Electrophoregram of c-Jun protein expression of cells in various groups

3 讨论

在紫外线照射人体皮肤过程中,UVB 和 UVA 分别主要影响 HaCaT 和 HSF 细胞。原癌基因 c-Fos 和 c-Jun 是在皮肤光老化过程中能够被第二信使诱导,转录表达产物为核内转录因子,并进一步调控其他基因转录或表达的早期基因^[4-5]。

当紫外线照射作为应激源作用于皮肤细胞,表皮生长因子受体和有关细胞因子受体则通过一系列上游激酶的活化激活丝裂原活化蛋白激酶(MAPK),c-Fos 通过与 c-Jun 结合形成结构更为稳定的异二聚体,形成转录因子活化蛋白-1(AP-1)^[6-7]。转录因子活化蛋白-1 通过亮氨酸拉链结构(LZ 结构)与 DNA 结合,刺激基质金属蛋白酶的基因转录,特异性降解细胞外基质,从而影响细胞的代谢和增殖^[8-9]。

本研究结果显示:与 I 组比较,II 组细胞 c-Fos 和 c-Jun 基因和蛋白的表达水平上调,说明通过 UVA 辐射使 HSF 细胞中 c-Fos 和 c-Jun 形成异二聚体增加,参与了细胞过度增殖,导致皮肤外观和组织的改变。与 II 组比较,IV 组 c-Fos 和 c-Jun 基因和蛋白表达均上调,而 III 组的变化则不明显,说明在 UVA 辐射的 HSF 细胞中加入 UVB 辐射 HaCaT 的培养上清液,使 c-Fos 和 c-Jun 基因和蛋白的表达水平更高。究其原因,可能是经 UVB 照射后的 HaCaT 细胞中分泌出细胞因子或其他成份在其上清液中,这种成份可以促使 c-Fos 和 c-Jun 的表达更高。Fagot 等^[10]认为 HaCaT 释放出的细胞因子是以一种旁分泌的方式间接促进 HSF p38 促分裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinase-

es,p38 MAPK)和 c-Jun 的表达。本研究结果与 Fagot 等的结论基本一致。

研究从植物中药中提取有效成份来预防和治理皮肤光损伤是近年来的热点问题,本研究另一结果显示:与 IV 组比较,VI 组 c-Fos 和 c-Jun 基因和蛋白表达均下调,而 V 组 c-Fos 和 c-Jun 基因和蛋白表达差异不显著。研究结果提示:绞股蓝总皂苷含药血清中的成份可能具有降低 c-Fos 和 c-Jun 基因和蛋白的表达水平的功能,同时,空白大鼠血清组没有发生类似的变化,说明这种变化与大鼠血清的影响无关联,绞股蓝总皂苷具有抑制 c-Fos 和 c-Jun 转录表达的作用,进而抑制紫外线对皮肤的影响。

参 考 文 献

- [1] Hunt DP, Jahoda C, Chandran S. Multipotent skin-derived precursors: from biology to clinical translation[J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2009, 20(5): 522-530.
- [2] 史琳, 赵红, 张璐雅, 等. 绞股蓝药理作用的研究进展[J]. *药物评价研究*, 2011, 34(2): 125-129.
- [3] 林秉奖, 闵玮, 骆丹, 等. 中波紫外线对 HaCaT 细胞凋亡、细胞周期变化及 p16、c-myc 蛋白表达的影响及阿魏酸干预作用研究[J]. *中国中西医结合皮肤性病杂志*, 2010, 9(1): 8-11.
- [4] Moriaki S, Takahashi Y. Photoaging and DNA repair[J]. *J Dermatol Sci*, 2008, 50(3): 169-176.
- [5] Rabe JH, Mamelak AJ, McElgunn PJ, et al. Photoaging Mechanisms and repair[J]. *J Am Acad Dermatol*, 2006, 55(1): 1-19.
- [6] Yuan G, Qian L, Song L, et al. Heregulin-beta promotes matrix metalloproteinase-7 expression via HER2-mediated AP-1 activation in MCF-7 cells[J]. *Mol Cell Biochem*, 2008, 318(1-2): 73-79.
- [7] 郭碧蓉, 刘平, 马鑫鑫, 等. 光老化性疾病皮损中 c-jun、c-fos 的表达及意义[J]. *中国皮肤性病杂志*, 2009, 23(12): 790-792.
- [8] Akasaka E, Takekoshi S, Horikoshi Y, et al. Protein oxidative damage and heme oxygenase in sunlight-exposed human skin: roles of MAPK responses to oxidative stress[J]. *Tokai J Exp Clin Med*, 2010, 35(4): 152-164.
- [9] Sharma SD, Meeran SM, Katiyar SK. Dietary grape seed proanthocyanidins inhibit UVB-induced oxidative stress and activation of mitogen-activated protein kinases and nuclear factor-kappa B signaling in vivo SKH-1 hairless mice[J]. *Mol Cancer Ther*, 2007, 6(3): 995-1005.
- [10] Fagot D, Asselineau D, Benard F. Direct role of human dermal fibroblasts and indirect participation of epidermal keratinocytes in MMP-1 production after U-VB irradiation[J]. *Arch Dermatol Res*, 2002, 293(11): 576-583.

(责任编辑:冉明会)