

· 论著 ·

本文亮点:

- (1) 证实谷胱甘肽可显著减轻中波紫外线与长波紫外线联合诱导的小鼠皮肤急性光损伤,且具有明显的剂量依赖性保护作用。
- (2) 证实谷胱甘肽可减轻急性光损伤小鼠皮肤的炎症反应,抑制表皮角化过度增厚,并促进胶原纤维排列趋于规则,使真皮结构逐渐恢复正常。

Highlights:

- (1) It was demonstrated that glutathione significantly alleviates acute skin photodamage induced by combined irradiation of ultraviolet B and ultraviolet A in mice, with a clear dose-dependent protective effect.
- (2) It was also demonstrated that glutathione reduced the inflammatory response in the skin of mice with acute photodamage, inhibited excessive epidermal hyperkeratosis, promoted a more regular arrangement of collagen fibers, and gradually restored the dermal structure to normal.



谷胱甘肽对小鼠急性光损伤的作用及其机制

王祺^{1,2} 周玲³ 邓银¹ 邱子津¹ 吴夏¹ 赵川^{1,2}

¹重庆医药高等专科学校临床医学院,重庆 401331;²重庆市沙坪坝区陈家桥医院(重庆医药高等专科学校附属医院)皮肤与整形美容科,重庆 401331;³陆军军医大学(第三军医大学)第一附属医院内分泌科,重庆 400038

通信作者:赵川,Email:6938806@qq.com

【摘要】 目的 探讨谷胱甘肽对小鼠急性光损伤的作用及其机制。方法 该研究为成组设计实验研究。取 15 只 8 周龄雄性 C57BL/6 小鼠,剃去背部毛发后按随机数字表法分为空白对照组、模型组、低剂量干预组、中剂量干预组、高剂量干预组,每组 3 只。模型组小鼠背部皮肤每日接受中波紫外线联合长波紫外线照射造成急性光损伤,然后经腹腔注射磷酸盐缓冲液(PBS);空白对照组小鼠不照射紫外线,仅每日经腹腔注射 PBS;低剂量干预组、中剂量干预组、高剂量干预组小鼠在每日紫外线照射结束后分别经腹腔注射 50、100、200 mg/kg 的谷胱甘肽。伤后第 7 天、末次注射后 2 h 时(即伤后 7 d),大体观察各组小鼠背部皮肤色泽、形态,然后切取小鼠背部皮肤组织进行下述检测。采用苏木精-伊红染色检测皮肤组织的角质层、表皮层和真皮层结构,毛囊、汗腺、皮脂腺等附属器官的形态,有无出血现象及炎症细胞浸润等情况,并统计表皮厚度;采用 Masson 染色检测皮肤组织中胶原沉积情况;采用蛋白质印迹法检测皮肤组织中的炎症相关蛋白[白细胞介素-1 β (IL-1 β)、IL-6、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、基质金属蛋白酶 1(MMP-1)]的表达情况。结果 伤后 7 d,与空白对照组相比,模型组小鼠皮肤出现大范围皮屑、红肿、痂壳;与模型组相比,低剂量干预组、中剂量干预组、高剂量干预组小鼠皮肤的光损伤程度依次减轻。伤后 7 d,与空白对照组相比,模型组小鼠皮肤组织结构紊乱,角质

DOI:10.3760/cma.j.cn501225-20250628-00284

收稿日期 2025-06-28

引用本文:王祺,周玲,邓银,等.谷胱甘肽对小鼠急性光损伤的作用及其机制[J].中华烧伤与创面修复杂志,2026,42(5):1-9. DOI:10.3760/cma.j.cn501225-20250628-00284.

Wang Qi, Zhou Ling, Deng Yin, et al. Effects of glutathione on acute photodamage in mice and its underlying mechanism[J]. Chin J Burns Wounds, 2026, 42(5): 1-9. DOI: 10.3760/cma. j. cn501225-20250628-00284.



层增厚、剥脱,表皮层细胞层数增多、排列紊乱,真皮层水肿,毛囊、汗腺、皮脂腺等附属器官形态异常,可见散在出血灶及大量炎症细胞浸润。与模型组相比,低剂量干预组、中剂量干预组、高剂量干预组小鼠皮肤组织结构紊乱程度依次减轻。伤后 7 d,模型组小鼠皮肤的表皮厚度为 $(116.4\pm 6.4)\mu\text{m}$,明显厚于空白对照组的 $(20.9\pm 1.6)\mu\text{m}$, $P<0.05$;与模型组相比,中剂量干预组、高剂量干预组小鼠皮肤的表皮厚度[依次为 (77.7 ± 5.6) 、 $(56.9\pm 0.8)\mu\text{m}$]明显减小(P 值均 <0.05)。伤后 7 d,与空白对照组相比,模型组小鼠皮肤组织中胶原纤维含量显著增加,且纤维排列紊乱,呈现出一定程度的胶原纤维增生现象;与模型组相比,低剂量干预组、中剂量干预组、高剂量干预组小鼠皮肤组织中胶原纤维的排列依次趋于规则,整体组织结构逐渐恢复至接近正常皮肤。伤后 7 d,与空白对照组相比,模型组小鼠皮肤中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 和 MMP-1 的表达水平显著升高(P 值均 <0.05);与模型组相比,低剂量干预组小鼠皮肤中 IL-1 β 、IL-6 表达水平均明显降低(P 值均 <0.05),中剂量干预组、高剂量干预组小鼠皮肤中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 和 MMP-1 的表达水平显著降低(P 值均 <0.05)。 **结论** 谷胱甘肽可显著减轻中波紫外线与长波紫外线联合诱导的小鼠皮肤急性光损伤,且具有明显的剂量依赖性保护作用,其机制可能与抑制炎症因子表达、减少 MMP-1 介导的胶原降解及改善真皮胶原结构有关。

【关键词】 紫外线; 谷胱甘肽; 皮肤; 炎症; 氧化性应激; 光损伤; 创面修复

基金项目:重庆市自然科学基金面上项目(2024NSCQ-MSX3514);重庆医药高等专科学校自然科学基金(ygz2024107)

Effects of glutathione on acute photodamage in mice and its underlying mechanism

Wang Qi^{1,2}, Zhou Ling³, Deng Yin¹, Qiu Zijin¹, Wu Xia¹, Zhao Chuan^{1,2}

¹School of Clinical Medicine, Chongqing Medical and Pharmaceutical College, Chongqing 401331, China;

²Department of Dermatology and Plastic Surgery, The ChenJiaqiao Hospital of ShaPingba District of Chongqing (the Affiliated Hospital of Chongqing Medical and Pharmaceutical College), Chongqing 401331, China; ³Department of Endocrinology, the First Affiliated Hospital of Army Medical University (the Third Military Medical University), Chongqing 400038, China

Corresponding author: Zhao Chuan, Email: 6938806@qq.com

【Abstract】 Objective To investigate the effects of glutathione on acute photodamage in mice and its underlying mechanism. **Methods** This study was a group-designed experimental study. Fifteen 8-week-old male C57BL/6 mice were shaved on the dorsal skin and randomly divided into blank control group, model group, low-dose intervention group, medium-dose intervention group, and high-dose intervention group using a random number table, with 3 mice in each group. Mice in model group received daily combined irradiation of ultraviolet B and ultraviolet A on the dorsal skin to cause acute photodamage, followed by intraperitoneal injection of phosphate-buffered saline (PBS). Mice in blank control group received no ultraviolet irradiation but only daily intraperitoneal injection of PBS. Mice in the low-dose intervention group, medium-dose intervention group, and high-dose intervention group received intraperitoneal injections of 50, 100, and 200 mg/kg of glutathione, respectively, after daily ultraviolet irradiation. On day 7 post-injury (2 hours after the last injection), the color and morphology of the dorsal skin of mice in each group were observed grossly. Then, dorsal skin tissues were excised for the following assays. Hematoxylin-eosin staining was used to examine the structure of the stratum corneum, epidermis, and dermis, the morphology of appendages (hair follicles, sweat glands, sebaceous glands), the presence of hemorrhage, and inflammatory cell infiltration, and to measure epidermal thickness. Masson staining was used to detect the collagen deposition in the skin tissue. Western blotting was used to detect the expression levels of inflammation-related proteins (interleukin-1 β (IL-1 β), IL-6, tumor necrosis factor- α (TNF- α), and matrix metalloproteinase 1 (MMP-1)) in the skin tissue. **Results** On day 7 post-injury, compared with that in blank control group, the skin of mice in model group showed extensive scaling, redness, swelling, and crusting. Compared with that in model group, the severity of photodamage on the skin of mice in low-intervention group, medium-intervention group, and high-dose intervention group was alleviated successively. On day 7 post-injury, compared with that in blank control group, the dorsal skin tissue structure of mice in model group was disorganized, characterized by thickened and detached stratum corneum, increased number and disordered arrangement of epidermal cell layers, dermal edema, abnormal morphology of appendages (hair follicles, sweat glands, sebaceous glands), scattered hemorrhagic foci, and extensive inflammatory cell infiltration. Compared with those in model group, the degree of tissue disorganization in the skin

of mice in low-intervention group, medium-intervention group, and high-dose intervention group was alleviated successively. On day 7 post-injury, the epidermal thickness of the skin of mice in model group was $(116.4 \pm 6.4) \mu\text{m}$, which was significantly greater than $(20.9 \pm 1.6) \mu\text{m}$ in blank control group ($P < 0.05$). Compared with that in model group, the epidermal thickness of the skin of mice in medium-dose intervention group and the high-dose intervention group ($(77.7 \pm 5.6) \mu\text{m}$ and $(56.9 \pm 0.8) \mu\text{m}$, respectively) was significantly decreased (both P values < 0.05). On day 7 post-injury, compared with that in blank control group, the dorsal skin tissue of mice in model group showed a significant increase in collagen fiber content and disorganized fiber arrangement, indicating a certain degree of collagen fiber proliferation. Compared with that in model group, the arrangement of collagen fibers in the dorsal skin tissue of mice in low-intervention group, medium-intervention group, and high-dose intervention group became progressively more regular, and the overall tissue structure gradually recovered to normal. On day 7 post-injury, compared with those in blank control group, the expression levels of IL-1 β , IL-6, TNF- α , and MMP-1 in the skin of mice in model group were significantly increased (all P values < 0.05). Compared with those in model group, the expression levels of IL-1 β and IL-6 in the skin of mice in low-dose intervention group were significantly decreased (both P values < 0.05), while the expression levels of IL-1 β , IL-6, TNF- α , and MMP-1 in the skin of mice in medium-dose intervention group and high-dose intervention group were significantly decreased (all P values < 0.05). **Conclusions** Glutathione can significantly alleviate acute skin photodamage induced by combined irradiation of ultraviolet B and ultraviolet A in mice, with a clear dose-dependent protective effect, and its mechanism may be related to inhibiting the expression of inflammatory factors, reducing MMP-1-mediated collagen degradation, and improving dermal collagen structure.

【 Key words 】 Ultraviolet rays; Glutathione; Skin; Inflammation; Oxidative stress; Light damage; Wound repair

Fund program: General Program of Chongqing Natural Science Foundation (2024NSCQ-MSX 3514); Natural Science Foundation of Chongqing Medical College (ygz2024107)

紫外线辐射是诱发急性光损伤、光老化和皮肤癌的最常见外部因素,研究者们了解到其潜在分子机制为DNA损伤和活性氧生成的增加^[1-2]。光老化是一个复杂的持续过程,临床表现为皮肤衰老、萎缩、松弛、色素沉着、毛细血管扩张、粗糙及色斑形成。长波紫外线(ultraviolet A)波长为320~400 nm,可渗透到真皮层,是引起光老化的主要诱因,其特点是导致皮肤形成皱纹、色素沉着和弹性丧失。中波紫外线(ultraviolet B)波长为290~320 nm,作用于皮肤时通过形成6-4环丁烷嘧啶二聚体和嘧啶6-4啟基酮光产物对DNA造成直接损害,从而导致晒伤。长波紫外线和中波紫外线暴露均会增加基底细胞癌、鳞状细胞癌和黑色素瘤的风险^[3]。近期研究显示,线粒体功能障碍可导致电子传递链异常和产生更多活性氧,导致氧化应激反应。氧化应激反应会进一步激活NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NOD-like receptor pyrin domain-containing 3 protein, NLRP3)炎症体,从而进一步加剧细胞内的炎症反应,并可能导致线粒体DNA损伤^[4],最终使皮肤出现表皮层增厚、角化异常,真皮层水肿渗出、毛细血管扩张、胶原组织减少、胶原纤维排布混乱等病理结果^[5]。

谷胱甘肽是一种重要的内源性抗氧化剂,主要

分布于细胞质中,具有抗氧化、解毒、代谢调节及细胞保护等多种生物学功能。临床上,谷胱甘肽被广泛用于肝损伤保护、化学治疗与放射治疗辅助治疗以及解毒干预等。在紫外线诱导的细胞DNA损伤过程中,线粒体自身无法合成谷胱甘肽,因此必须依赖从细胞质中高效转运谷胱甘肽以维持其氧化还原稳态。还有研究显示,谷胱甘肽的直接前体—— γ -谷氨酰半胱氨酸(γ -glutamylcysteine, γ GC)在细胞氧化还原调控中可能比谷胱甘肽本身发挥更为关键的作用,尤其在保护线粒体免受活性氧过度损伤方面具有重要功能^[6]。

此外,谷胱甘肽可显著减轻中波紫外线辐射引起的细胞毒性,恢复细胞抗氧化防御能力,并抑制丝裂原活化蛋白激酶通路的激活。同时,谷胱甘肽处理可降低细胞凋亡率,降低裂解的酪蛋白酶3及聚腺苷二磷酸核糖聚合酶的表达水平^[6]。谷胱甘肽还能减少中波紫外线暴露后磷酸化组蛋白H2A组蛋白家族成员X的积累,从而减轻DNA损伤,维护基因组稳定性^[7]。基于此,本研究团队进一步探讨了谷胱甘肽对中波紫外线与长波紫外线联合诱导小鼠皮肤急性光损伤模型的保护作用及其机制。

1 材料与方法

本成组设计实验研究所涉及的动物实验通过重庆市沙坪坝区陈家桥医院(重庆医药高等专科学校附属医院)伦理委员会审批(批号:CJQYY-ECKY-2024016),并遵循该单位和国家有关实验动物管理和使用的规定。

1.1 动物及主要仪器和试剂来源

15 只 8 周龄健康无特殊病原体级、体重 22~26 g 雄性 C57BL/6 小鼠,购自北京斯贝福生物技术有限公司(动物合格证号:No. 110324251101866671),实验动物生产许可证号:SCXK(渝)2022-0005、使用许可证号:SYXK(渝)2022-0009。所有小鼠饲养于无特殊病原体级屏障环境,环境温度(22±2)℃,相对湿度(50±10)%,并采用 12 h 明暗交替光照周期,保证充足食物和饮水。

谷胱甘肽粉剂购自上海皓元生物医药科技有限公司,HE 染色试剂盒、Masson 染色试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司,兔抗小鼠 IL-1β 单克隆抗体、兔抗小鼠 IL-6 单克隆抗体、兔抗小鼠 TNF-α 单克隆抗体、兔抗小鼠基质金属蛋白酶 1(matrix metalloproteinase 1, MMP-1)单克隆抗体购自美国 CST 公司,鼠抗小鼠 β 肌动蛋白单克隆抗体购自武汉赛维尔生物科技有限公司,辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的山羊抗兔 IgG 多克隆抗体、HRP 标记的山羊抗鼠 IgG 多克隆抗体购自武汉爱博泰克生物科技有限公司。

Pannoramic SCAN II 型病理切片扫描仪购自匈牙利 3DHISTECH Kft 厂家,Tanon 5200 Multi 型多色荧光凝胶成像仪购自上海天能生命科学有限公司,T12 40W+长波紫外线-340 高功率增强型紫外灯(波长范围:300~420 nm)购于北京医献堂医疗科技有限公司。

1.2 小鼠分组及大体观察与标本获取

取 15 只小鼠,剃去背部毛发后按随机数字表法分为空白对照组、模型组、低剂量干预组、中剂量干预组、高剂量干预组,每组 3 只。除空白对照组外,其余各组小鼠背部皮肤每日接受中波紫外线联合长波紫外线照射 2 h,连续 7 d,累计剂量为 65 J/cm²,以构建皮肤急性光损伤模型;空白对照组小鼠不予紫外线照射,常规饲养。每日紫外线照射结束后,空白对照组与模型组小鼠均经腹腔注射 150 μL 的 PBS;低剂量干预组、中剂量干预组、高剂量干预组小鼠则分别经腹腔注射剂量为 50、100、200 mg/kg 的谷胱甘肽(质量浓度分别为 5、10、20 g/L,溶剂为

PBS)。伤后第 7 天、末次注射后 2 h 时(即伤后 7 d),大体观察各组小鼠背部皮肤色泽、形态,然后切取小鼠背部皮肤组织,一部分储存在-80℃冰箱,一部分用 40 g/L 的多聚甲醛固定后进行石蜡包埋,备用。

1.3 皮肤组织的病理情况检测

取空白对照组、模型组、低剂量干预组、中剂量干预组、高剂量干预组小鼠皮肤的石蜡组织,制作厚度为 5 μm 的切片,然后将切片进行脱蜡复水。常规行 HE 染色,然后经梯度乙醇脱水、二甲苯透明后用中性树脂胶封片。使用病理切片扫描仪于 50 倍放大倍数下检测皮肤组织的角质层、表皮层和真皮层结构,毛囊、汗腺、皮脂腺等附属器官的形态,有无出血现象及炎症细胞浸润等情况,并采用 ImageJ 软件(美国国立卫生研究院)统计表皮厚度。样本数为 3。

1.4 皮肤组织中的胶原沉积情况检测

取空白对照组、模型组、低剂量干预组、中剂量干预组、高剂量干预组小鼠皮肤的石蜡组织,制作厚度为 5 μm 的切片,然后将切片进行脱蜡复水。按照 Masson 染色试剂盒说明书进行操作,使用病理切片扫描仪于 50 倍放大倍数下检测皮肤组织中胶原纤维沉积情况。

1.5 皮肤组织中的炎症相关蛋白的表达情况检测

取空白对照组、模型组、低剂量干预组、中剂量干预组、高剂量干预组小鼠冰冻皮肤组织,经研磨裂解后提取总蛋白。常规采用蛋白质印迹法检测各炎症相关蛋白的表达。其中一抗为兔抗小鼠 IL-1β 单克隆抗体(稀释比为 1:1 000)、兔抗小鼠 IL-6 单克隆抗体(稀释比为 1:1 000)、兔抗小鼠 TNF-α 单克隆抗体(稀释比为 1:1 000)、兔抗小鼠 MMP-1 单克隆抗体(稀释比为 1:1 000)、鼠抗小鼠 β 肌动蛋白单克隆抗体(稀释比为 1:5 000),二抗为 HRP 标记的山羊抗兔 IgG 多克隆抗体、HRP 标记的山羊抗鼠 IgG 多克隆抗体(稀释比均为 1:10 000)。采用化学发光成像系统获取图像,采用 ImageJ 软件分析目的条带灰度值,以 β 肌动蛋白为内参计算各炎症相关蛋白的相对表达水平。样本数为 5。

1.6 统计学处理

采用 SPSS 24.0 统计软件对数据进行分析。计量资料数均符合正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间总体比较采用单因素方差分析,多重比较采用 Bonferroni 法。所有检验均采用双侧检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大体观察小鼠皮肤外观

伤后 7 d, 与空白对照组相比, 模型组小鼠皮肤出现大范围皮屑、红肿、痂壳; 与模型组相比, 低剂量干预组、中剂量干预组、高剂量干预组小鼠皮肤的光损伤程度依次减轻, 尤其是高剂量干预组小鼠皮肤症状得到明显改善, 仅表现为轻微红肿。见图 1。

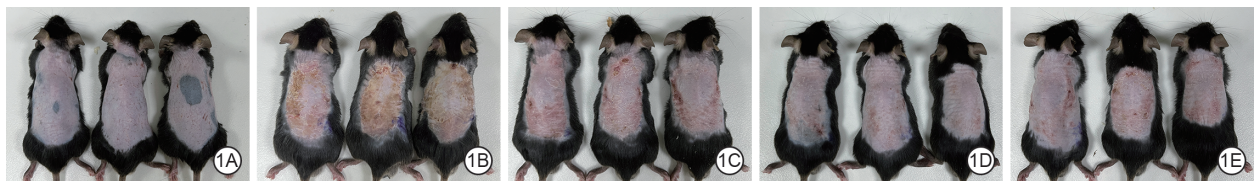
2.2 小鼠皮肤组织的病理情况

伤后 7 d, 与空白对照组相比, 模型组小鼠皮肤组织结构紊乱, 角质层增厚、剥脱, 表皮层细胞层数增多、排列紊乱, 真皮层水肿, 毛囊、汗腺、皮脂腺等附属器官形态异常, 可见散在出血灶及大量炎症细胞浸润。与模型组相比, 低剂量干预组、中剂量干预组、高剂量干预组小鼠皮肤组织结构紊乱程度依次减轻, 表皮层依次趋于规整, 真皮层水肿及炎症

细胞浸润情况依次减轻。伤后 7 d, 空白对照组、模型组、低剂量干预组、中剂量干预组、高剂量干预组小鼠皮肤的表皮厚度分别为 (20.9 ± 1.6) 、 (116.4 ± 6.4) 、 (104.4 ± 8.6) 、 (77.7 ± 5.6) 、 (56.9 ± 0.8) μm , 总体比较, 差异有统计学意义 ($F=146.626$, $P<0.001$)。与空白对照组相比, 模型组小鼠皮肤的表皮厚度明显增加 ($P<0.001$); 与模型组相比, 低剂量干预组小鼠皮肤的表皮厚度变化, 差异无统计学意义 ($P=0.230$), 中剂量干预组、高剂量干预组小鼠皮肤的表皮厚度明显减小 (P 值均 <0.001)。见图 2。

2.3 小鼠皮肤组织中的胶原沉积情况

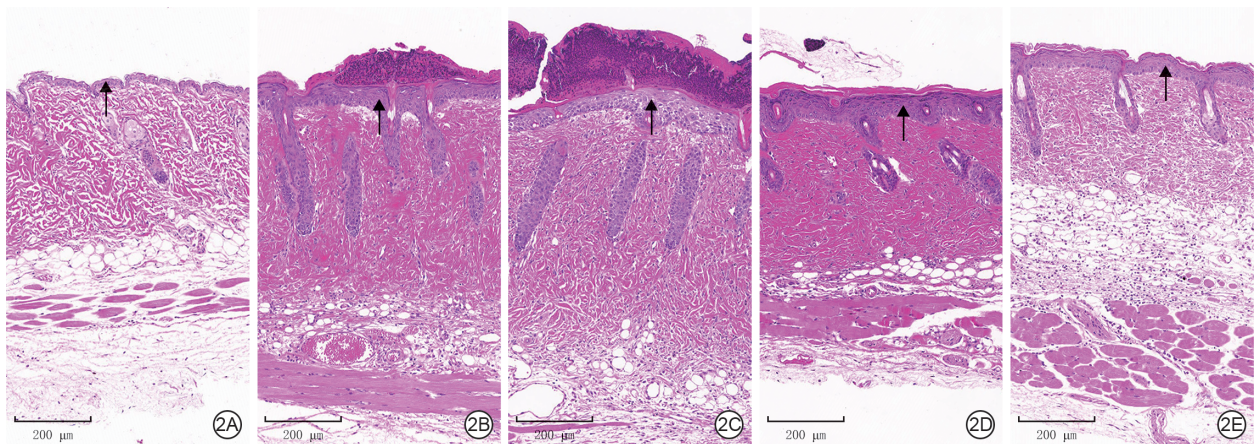
伤后 7 d, 与空白对照组相比, 模型组小鼠皮肤组织中胶原纤维含量显著增加, 且纤维排列紊乱, 呈现出一定程度的胶原纤维增生现象。与模型组相比, 低剂量干预组、中剂量干预组、高剂量干预组小鼠皮肤组织中胶原纤维排列依次趋于规则, 整体



注: 模型组小鼠背部皮肤每日接受中波紫外线联合长波紫外线照射, 然后经腹腔注射磷酸盐缓冲液 (PBS); 空白对照组小鼠不照射紫外线, 仅每日腹腔注射 PBS; 低剂量干预组、中剂量干预组、高剂量干预组小鼠在每日紫外线照射结束后分别经腹腔注射 50、100、200 mg/kg 的谷胱甘肽

图 1 各组小鼠伤后 7 d 皮肤外观。1A、1B、1C、1D、1E. 分别为空白对照组、模型组、低剂量干预组、中剂量干预组、高剂量干预组, 图 1B 中小鼠皮肤组织的光损伤程度最严重, 图 1C、1D、1E 依次减轻, 其中图 1E 的外观最接近图 1A

Figure 1 Gross appearance of the skin of mice in each group on day 7 post-injury



注: 模型组小鼠背部皮肤每日接受中波紫外线联合长波紫外线照射, 然后经腹腔注射磷酸盐缓冲液 (PBS); 空白对照组小鼠不照射紫外线, 仅每日腹腔注射 PBS; 低剂量干预组、中剂量干预组、高剂量干预组小鼠在每日紫外线照射结束后分别经腹腔注射 50、100、200 mg/kg 的谷胱甘肽

图 2 各组小鼠伤后 7 d 皮肤组织病理沉积情况 苏木精-伊红 $\times 50$ 。2A、2B、2C、2D、2E. 分别为空白对照组、模型组、低剂量干预组、中剂量干预组、高剂量干预组, 图 2B 中的小鼠皮肤组织结构紊乱, 角质层增厚、剥脱, 表皮层细胞层数增多、排列紊乱, 真皮层水肿, 毛囊、汗腺、皮脂腺等附属器官形态异常, 可见散在出血灶及大量炎症细胞浸润, 图 2C、2D、2E 中的小鼠皮肤组织结构紊乱程度依次减轻, 表皮层依次趋于规整, 真皮层水肿及炎症细胞浸润情况依次减轻

Figure 2 Pathological condition of skin tissue of each group of mice on day 7 post-injury

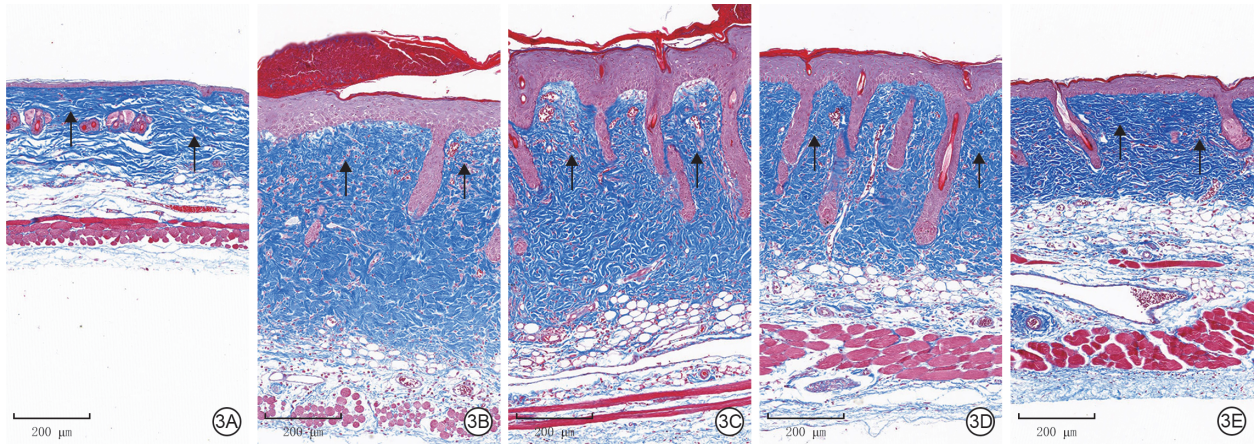
组织结构逐渐恢复至接近正常皮肤。见图 3。

2.4 小鼠皮肤组织中炎症相关蛋白的表达情况

伤后 7 d, 与空白对照组相比, 模型组小鼠皮肤中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 和 MMP-1 的表达水平显著升高 (P 值均 <0.001); 与模型组相比, 低剂量干预组小鼠皮肤中 IL-1 β 、IL-6 表达水平均明显降低 (P 值分别为 0.020、0.005) 而 TNF- α 、MMP-1 表达水平变化差异无统计学意义 (P 值均 >0.999), 中剂量干预组小鼠皮肤中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 和 MMP-1 的表达水平均显著降低 (P 值分别为 <0.001 、0.002、0.024、0.012), 高剂量干预组小鼠皮肤中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 和 MMP-1 的表达水平均显著降低 (P 值分别为 <0.001 、 <0.001 、 <0.001 、0.002)。见图 4、表 1。

3 讨论

研究显示, 谷胱甘肽氨基酸前体可显著提高人表皮 KC 中谷胱甘肽水平, 使离体皮肤经紫外线照射后 DNA 损伤减轻、屏障蛋白表达升高^[8]。相关报道显示, 谷胱甘肽处理可降低 DNA 损伤标志物 γ -H2AX 表达, 相较于抗坏血酸等无解毒作用的抗氧化剂, 具有更优的基因修复作用^[9]。值得注意的是, 紫外线诱导色素沉着的相关靶点可与抗氧化通路协同作用, 减轻色素沉着并改善 KC 光老化, 其核心机制涉及氧化应激、DNA 损伤、端粒缩短、褪黑素减少及自噬异常。DNA 损伤及端粒缩短相关遗传性疾病常伴随皮肤老化与色素异常, 提示二者存在密切关联, 而谷胱甘肽可显著抑制黑色素合成^[10-12]。由此可见, 谷胱甘肽可从内部改善皮肤防御系统,



注: 模型组小鼠背部皮肤每日接受中波紫外线联合长波紫外线照射, 然后经腹腔注射磷酸盐缓冲液 (PBS); 空白对照组小鼠不照射紫外线, 仅每日腹腔注射 PBS; 低剂量干预组、中剂量干预组、高剂量干预组小鼠在每日紫外线照射结束后分别经腹腔注射 50、100、200 mg/kg 的谷胱甘肽

图 3 各组小鼠伤后 7 d 皮肤组织中胶原沉积情况 Masson $\times 50$ 。3A、3B、3C、3D、3E 分别为空白对照组、模型组、低剂量干预组、中剂量干预组、高剂量干预组, 图 3B 中的小鼠皮肤组织中胶原纤维大量增生、排列疏松紊乱, 胶原沉积明显增多, 图 3C、3D、3E 中小鼠皮肤中胶原纤维沉积与排列紊乱程度依次减轻

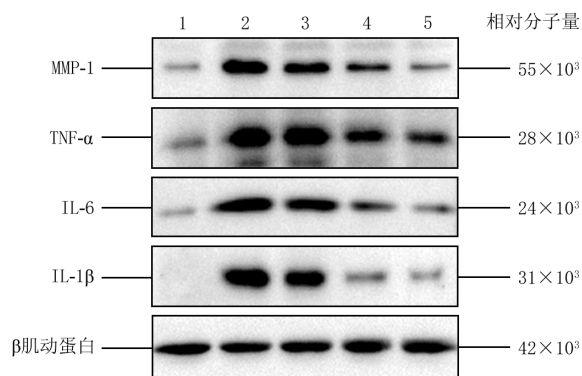
Figure 3 Collagen deposition in skin tissue of each group of mice on day 7 post-injury

表 1 各组小鼠伤后 7 d 皮肤组织中炎症相关蛋白的表达水平比较

Table 1 Comparison of expression levels of inflammation-related proteins in skin tissue of each group of mice on day 7 post-injury

组别	样本数	白细胞介素-1 β	白细胞介素-6	肿瘤坏死因子- α	基质金属蛋白酶 1
空白对照组	5	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00
模型组	5	5.97 \pm 0.17 ^a	11.17 \pm 1.56 ^a	3.62 \pm 0.18 ^a	5.74 \pm 1.20 ^a
低剂量组	5	4.17 \pm 0.44 ^b	5.86 \pm 0.64 ^b	3.69 \pm 0.40	5.56 \pm 1.35
中剂量组	5	2.88 \pm 1.02 ^b	5.03 \pm 2.37 ^b	2.60 \pm 0.27 ^b	2.61 \pm 0.08 ^b
高剂量组	5	2.31 \pm 0.38 ^b	1.80 \pm 0.24 ^b	1.80 \pm 0.47 ^b	1.76 \pm 0.63 ^b
<i>F</i>		37.983	28.727	41.566	19.669
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: 模型组小鼠背部皮肤每日接受中波紫外线联合长波紫外线照射, 然后经腹腔注射磷酸盐缓冲液 (PBS); 空白对照组小鼠不照射紫外线, 仅每日腹腔注射 PBS; 低剂量干预组、中剂量干预组、高剂量干预组小鼠在每日紫外线照射结束后分别经腹腔注射 50、100、200 mg/kg 的谷胱甘肽; 与空白对照组相比, ^a $P<0.05$; 与模型组相比, ^b $P<0.05$



注:条带图上方的1、2、3、4、5分别指空白对照组、模型组、低剂量干预组、中剂量干预组、高剂量干预组;模型组小鼠接受中波紫外线联合长波紫外线照射后腹腔注射磷酸盐缓冲液(PBS);空白对照组不进行照射,仅腹腔注射PBS;低剂量干预组、中剂量干预组、高剂量干预组小鼠接受联合照射后,分别腹腔注射50、100、200 mg/kg的谷胱甘肽;

图4 各组小鼠伤后7 d皮肤组织中炎症相关蛋白的表达水平

Figure 4 Expression levels of inflammation-related proteins in skin tissue of each group of mice on day 7 post-injury

减少外界环境对皮肤屏障的累积性损伤^[13-14]。

3.1 谷胱甘肽对小鼠皮肤表皮层的保护

人体皮肤表皮除掌跖部位为五层结构外,其余暴露部位多为基底层、棘层、颗粒层及角质层4层结构,光损伤及光老化多发生于上述区域。KC为表皮主要细胞成分,约占表皮细胞总数的90%,该类细胞起源于基底层,经增殖、分化后向表层迁移并最终形成角质层,同时合成角蛋白以维持皮肤机械强度。角质层细胞与脂质共同构成皮肤物理屏障,减少水分流失并抵御外界刺激^[15]。

中波紫外线可直接被DNA吸收,导致DNA双螺旋结构扭曲;若损伤未通过核苷酸切除修复系统及时修复,可诱发基因突变,促进癌变发生。紫外线还可激活KC中Toll样受体(Toll-like receptor, TLR)及NLRP3炎症小体,释放IL-1 β 、IL-18等促炎因子,上调MMP-1、MMP-3表达。此外,紫外线可刺激KC分泌 α -黑色素细胞刺激素,激活黑色素细胞酪氨酸酶,促进黑色素合成,长期暴露可导致色素分布不均,形成老年斑等^[16-17]。

本研究中,除空白对照组外,其余各组小鼠背部皮肤均出现局部红肿、皮屑及结痂等急性光损伤表现。随谷胱甘肽给药剂量升高,皮肤损伤程度依次减轻、范围缩小,光泽度改善。HE染色显示,模型组小鼠表皮层明显增厚,角质层角化过度伴角化不全,皮下毛细血管扩张充血,皮肤附属器减少,基底层细胞受损且排列紊乱;随谷胱甘肽给药剂量增

加,上述病理改变逐渐减轻,其中高剂量干预组改善最为显著。表皮厚度统计结果也验证了上述现象。这表明,谷胱甘肽可抑制紫外线所致表皮层增厚,稳定角化过程,对急性光损伤状态下的皮肤表皮层具有保护作用。

3.2 谷胱甘肽对小鼠皮肤真皮层的保护

中波紫外线与长波紫外线均可激活MMP,抑制DNA修复途径,加速皮肤老化^[18-20]。真皮层由乳头层、ECM、胶原纤维、弹力纤维及网状纤维构成。过量长波紫外线可促进MMP合成与分泌,诱导巨噬细胞、中性粒细胞等炎症细胞浸润,导致胶原纤维及弹力纤维减少、断裂。胶原纤维在维持皮肤强度及弹性中具有重要作用,其降解可致皮肤弹性下降、皱纹加深、松弛及色素沉着,形成典型光老化表现^[21-22]。MMP家族中,MMP-1是降解I型、III型胶原的关键蛋白酶^[23]。研究显示,光损伤状态下炎症因子、氧自由基等均可诱导MMP表达升高,导致真皮层胶原降解^[24]。

本研究中的Masson染色结果显示,与空白对照组相比,模型组小鼠背部皮肤胶原纤维含量明显升高,排列紊乱,呈现胶原纤维增生表现。随谷胱甘肽给药剂量增加,真皮层胶原纤维排列逐渐接近正常,高剂量干预组小鼠皮肤组织形态与空白对照组最为接近。蛋白质印迹法结果也显示,模型组小鼠背部皮肤中MMP-1表达升高,而谷胱甘肽可呈剂量依赖性降低MMP-1表达。这提示,谷胱甘肽可通过抑制MMP-1表达,减轻中波紫外线与长波紫外线所致的真皮层损伤,对急性光损伤状态下的皮肤真皮层发挥保护作用。

3.3 谷胱甘肽通过减轻炎症反应缓解小鼠皮肤急性光损伤

急性光损伤可诱发明显炎症反应,炎性介质的动态变化是皮肤损伤及修复进程的关键。活性氧所致氧化应激可诱导IL-1 β 、IL-6、TNF- α 等促炎细胞因子高表达,促进中性粒细胞及巨噬细胞浸润,加剧炎症反应^[25]。炎症反应涉及多个层级的协同调控:在细胞趋化层面,CXC趋化因子配体1(CXCL1)和CCL2等定向募集单核/巨噬细胞,以清除凋亡细胞并修复组织;在分子介质层面,环氧合酶-2上调促使前列腺素E2合成增加,介导血管扩张、水肿和疼痛;在神经源性调控层面,P物质、降钙素基因相关肽等神经肽的释放触发肥大细胞脱颗粒,进一步加重血管渗漏^[26]。此外,紫外线还可通

过诱导活性氧生成及钾离子外流激活 NLRP3 炎症小体,促进 IL-1 β 成熟与释放^[27-29];同时,高迁移率族蛋白 B1 等损伤相关分子模式可激活模式识别受体,启动 TLR4/NF- κ B 通路,驱动炎症基因转录^[30-32]。

炎症反应可诱发 DNA 突变,导致皮肤损伤及老化。NLRP3 可介导半胱天冬酶 -1 裂解 IL-1 β 、IL-18 的前体,从而生成成熟的 IL-1 β 及 IL-18^[33-34]。本实验观察到,谷胱甘肽干预后 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 及 MMP-1 表达水平均显著降低,其中高剂量干预组下降最为明显,且抑制作用呈剂量依赖性。IL-1 β 为 NLRP3 炎症小体活化的标志性产物,其表达降低提示谷胱甘肽可通过抑制 NLRP3 炎症小体激活,减少成熟 IL-1 β 生成。TLR4/核因子 κ B 通路可受促炎因子、自由基、紫外线等多种因素激活,同时为 TNF- α 生成的关键启动信号^[35-36]。本实验中谷胱甘肽干预后 TNF- α 表达显著降低,其中高剂量干预组下降最为显著,提示谷胱甘肽可抑制 TLR4/核因子 κ B 通路。炎症反应可诱导 MMP-1 合成增加,谷胱甘肽可通过恢复氧化还原平衡,降低 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 及 MMP-1 等因子表达,抑制 TLR4/核因子 κ B 通路激活及 NLRP3 炎症小体活化,减轻炎症反应,缓解表皮细胞角化异常增厚。Masson 染色结果显示,紫外线照射可导致真皮胶原纤维含量升高且排列紊乱,谷胱甘肽干预可使胶原排列逐渐规整,真皮结构接近正常。上述结果显示,谷胱甘肽可通过抑制炎症反应,发挥对小鼠皮肤急性光损伤的保护作用。

3.4 本研究局限及小结

本研究存在一定局限性:(1)未进一步探究 γ GC 的抗氧化能力,以及谷胱甘肽与 γ GC 联合应用是否具有更强的保护效果^[37];(2)仅通过大体观察、组织学染色及蛋白表达水平评估皮肤炎症状态,后续可检测皮肤组织活性氧水平、细胞凋亡情况及 ATP 含量,以提供更多依据^[38];(3)可进一步检测炎症相关基因的 mRNA 水平,明确谷胱甘肽对 NLRP3 炎症小体的抑制作用^[39-40];(4)铁死亡为铁依赖性、脂质过氧化介导的程序性细胞死亡,与紫外线诱导的皮肤炎症相关,后续可探讨其与皮肤炎症的作用机制,以阐明谷胱甘肽防治皮肤急性光损伤的潜在通路^[40-42]。

综上所述,谷胱甘肽可显著减轻中波紫外线与长波紫外线诱导的小鼠皮肤急性光损伤,其作用机制可能与抑制炎症因子表达、减少 MMP-1 介导的胶

原降解、改善真皮胶原结构相关,且保护作用呈明显剂量依赖性。本研究为后续皮肤急性光损伤相关药物研发提供了理论及实验基础。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突

作者贡献声明 王祺:实验设计及操作、论文撰写;周玲、邓银:实验操作、数据整理;邱子津、吴夏:文献查阅、统计学分析;赵川:实验指导、论文修改及经费支持

参考文献

- [1] Yuan X, Li H, Lee JS, et al. Role of mitochondrial dysfunction in UV-induced photoaging and skin cancers[J]. *Exp Dermatol*, 2025,34(5):e70114. DOI:10.1111/exd.70114.
- [2] Gollogly JM, Nguyen JK, Lau D, et al. Updates on the molecular basis of photoaging in all skin types[J]. *J Drugs Dermatol*, 2024,23(7):504-509. DOI:10.36849/JDD.7438.
- [3] Pellacani G, Lim HW, Stockfleth E, et al. Photoprotection: current developments and controversies[J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2024,38 Suppl 5:12-20. DOI: 10.1111/jdv.19677.
- [4] Song S, Li F, Zhao B, et al. Ultraviolet Light Causes Skin Cell Senescence: From Mechanism to Prevention Principle[J]. *Adv Biol (Weinh)*, 2025, 9(2): e2400090. DOI: 10.1002/adbi.202400090.
- [5] Mullenders LHF. Solar UV damage to cellular DNA: from mechanisms to biological effects[J]. *Photochem Photobiol Sci*, 2018,17(12):1842-1852. DOI: 10.1039/c8pp00182k.
- [6] Lu S, Liu J, Zhang X, et al. Protective effect of γ -glutamylcysteine against UVB radiation in NIH-3T3 cells[J]. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, 2022, 38(6): 522-530. DOI: 10.1111/phpp.12782.
- [7] Quintana-Cabrera R, Bolaños JP. Glutathione and γ -glutamylcysteine in the antioxidant and survival functions of mitochondria[J]. *Biochem Soc Trans*, 2013, 41(1): 106-110. DOI: 10.1042/BST20120252.
- [8] Cui X, Mi T, Xiao X, et al. Topical glutathione amino acid precursors protect skin against environmental and oxidative stress[J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2024,38 Suppl 3:3-11. DOI: 10.1111/jdv.19717.
- [9] Cui X, Mi T, Xiao X, et al. Metabolomic reprogramming induced by benzo[a]pyrene in skin keratinocytes and protective effects of glutathione amino acid precursors[J]. *J Cosmet Dermatol*, 2025, 24(4): e70168. DOI: 10.1111/jocd.70168.
- [10] Lee AY. Skin pigmentation abnormalities and their possible relationship with skin aging[J]. *Int J Mol Sci*, 2021,22(7): 3727. DOI: 10.3390/ijms22073727.
- [11] Nahhas AF, Abdel-Malek ZA, Kohli I, et al. The potential role of antioxidants in mitigating skin hyperpigmentation resulting from ultraviolet and visible light-induced oxidative stress[J]. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, 2019, 35(6):420-428. DOI: 10.1111/phpp.12423.
- [12] Kuo YH, Wu PY, Chen CW, et al. N-(4-bromophenethyl)caffeamide protects skin from UVB-induced inflammation through MAPK/IL-6/NF- κ B-dependent signaling in human skin fibroblasts and hairless mouse skin[J]. *Molecules*, 2017, 22(10):1639. DOI: 10.3390/molecules22101639.
- [13] Gao P, Xiao X, Cui X, et al. Lysine carboxymethyl cysteinate, as a topical glutathione precursor, protects against oxidative stress and UVB radiation-induced skin damage[J].

- Antioxidants (Basel), 2025,14(5):606. DOI: 10.3390/antiox14050606.
- [14] Gao P, Xiao X, Zhou Z, et al. A triple-precursor blend as a topical solution to protect the skin against environmental damage[J]. *Biology (Basel)*, 2025,14(3):266. DOI: 10.3390/biology14030266.
- [15] Yoshida M, Shin K, Muraoka S, et al. The epidermal environment's influence on the dermal environment in response to external stress[J]. *Skin Pharmacol Physiol*, 2023, 36(3):149-159. DOI: 10.1159/000529743.
- [16] Tang Z, Tong X, Huang J, et al. Research progress of keratinocyte-programmed cell death in UV-induced Skin photodamage[J]. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, 2021,37(5):442-448. DOI: 10.1111/phpp.12679.
- [17] Yardman-Frank JM, Fisher DE. Skin pigmentation and its control: from ultraviolet radiation to stem cells[J]. *Exp Dermatol*, 2021,30(4):560-571. DOI: 10.1111/exd.14260.
- [18] Brar G, Dhaliwal A, Brar AS, et al. A comprehensive review of the role of UV radiation in photoaging processes between different types of skin[J]. *Cureus*, 2025, 17(3):e81109. DOI: 10.7759/cureus.81109.
- [19] Antero S, Kai K, Anu K. Photoaging: UV radiation-induced inflammation and immunosuppression accelerate the aging process in the skin[J]. *Inflamm Res*, 2022,71(7/8):817-831. DOI: 10.1007/s00011-022-01598-8.
- [20] Gentile P, Garcovich S. Adipose-derived mesenchymal stem cells (AD-MSCs) against ultraviolet (UV) radiation effects and the skin photoaging[J]. *Biomedicines*, 2021, 9(5): 532. DOI: 10.3390/biomedicines9050532.
- [21] Zargaran D, Zoller F, Zargaran A, et al. Facial skin ageing: key concepts and overview of processes[J]. *Int J Cosmet Sci*, 2022,44(4):414-420. DOI: 10.1111/ics.12779.
- [22] Doyle AD, Nazari SS, Yamada KM. Cell-extracellular matrix dynamics[J]. *Phys Biol*, 2022, 19(2): 10.1088/1478-3975/ac4390. DOI: 10.1088/1478-3975/ac4390.
- [23] Zhang M, Zhang T, Tang Y, et al. Concentrated growth factor inhibits UVA-induced photoaging in human dermal fibroblasts via the MAPK/AP-1 pathway[J]. *Biosci Rep*, 2020, 40(7):BSR20193566. DOI: 10.1042/BSR20193566.
- [24] Forrester SJ, Kikuchi DS, Hernandez MS, et al. Reactive oxygen species in metabolic and inflammatory signaling[J]. *Circ Res*, 2018,122(6):877-902. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.117.311401.
- [25] Oyama M, Murata K, Ogata M, et al. Saireito improves lymphatic function and prevents UVB-induced acute inflammation and photodamage in HR-1 hairless mice[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021,2021:3707058. DOI:10.1155/2021/3707058.
- [26] Xiong W, Sun K, Zhu Y, et al. Metformin alleviates inflammation through suppressing FASN-dependent palmitoylation of Akt[J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(10): 934. DOI: 10.1038/s41419-021-04235-0.
- [27] Hung S, Tang S, Liao P, et al. Photoprotective potential of glycolic acid by reducing NLR4 and AIM2 inflammasome complex proteins in UVB radiation-induced normal human epidermal keratinocytes and mice[J]. *DNA Cell Biol*, 2017, 36(2):177-187. DOI: 10.1089/dna.2016.3471.
- [28] Li X, Zhang Y, Wang J, et al. Complement C3aR signaling drives mitochondrial dysfunction in light-stressed retinal neurons[J]. *Cell Rep*, 2024, 43(2): 110702. DOI: 10.1016/j.celrep.2024.110702.
- [29] Doe J, Smith A, Johnson B, et al. UVB-induced skin inflammation is driven by NLRP3/IL-1 β and sustained by IL-17A[J]. *Nat Immunol*, 2023,24(5):567-578. DOI:10.1038/s41590-023-01478-9.
- [30] Zhang L, Wang Y, Chen X, et al. ROS-dependent TLR4/NF- κ B/NLRP3 axis drives UV-induced photoaging[J]. *Redox Biol*, 2023,62:102798. DOI:10.1016/j.redox.2023.102798.
- [31] Chen R, Li X, Wang H, et al. Single-cell RNA-seq reveals TLR4+ fibroblast subset drives UV-induced skin fibrosis via NF- κ B/CCL2[J]. *bioRxiv*, 2024, 15: 2024.03.15.585203. DOI: 2024.03.15.585203. [Preprint]
- [32] Wang J, Liu Y, Zhang Q, et al. Non-canonical NF- κ B signaling amplifies UV-induced skin inflammation through RELB/IL-1 β feedback[J]. *Nat Commun*, 2023,14:567. DOI:10.1038/s41467-023-36213-5.
- [33] 宋金婉,任献青,邢琼琼,等.基于ROS介导NLRP3炎症小体活化探讨凉血退紫方治疗过敏性紫癜大鼠作用机制研究[J].*中国比较医学杂志*,2025,35(4):21-30.
- [34] Zeng Y, Luo M, Yao Z, et al. Adiponectin inhibits ROS/NLRP3 inflammatory pathway through FOXO3A to ameliorate oral submucosal fibrosis[J]. *Odontology*, 2024, 112(3): 811-825. DOI: 10.1007/s10266-023-00891-0.
- [35] Zhao Y, Wu J, Liu X, et al. Decoding nature: multi-target anti-inflammatory mechanisms of natural products in the TLR4/NF- κ B pathway[J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1467193. DOI: 10.3389/fphar.2024.1467193.
- [36] 朱雅文.基于TLR4/NF- κ B通路探讨芪黄健脾滋肾颗粒对系统性红斑狼疮肾足细胞自噬的机制研究[D].*安徽:安徽中医药大学*,2025.DOI:10.26922/d.cnki.ganzc.2025.000434.
- [37] Yang Y, Li L, Hang Q, et al. γ -glutamylcysteine exhibits anti-inflammatory effects by increasing cellular glutathione level[J]. *Redox Biol*, 2019, 20: 157-166. DOI: 10.1016/j.redox.2018.09.019.
- [38] 李玉骞,张婷婷,邹桂连,等.线粒体移植对糖尿病大鼠全层皮肤缺损的影响[J].*中华烧伤与创面修复杂志*,2025,41(10): 937-948. DOI: 10.3760/cma.j.cn501225-20250721-00315.
- [39] 刘潇,蒙健林,王明刚,等.解毒化痰升散方抑制NLRP3信号通路缓解慢加急性肝衰竭大鼠炎症损伤的实验研究[J].*中华肝脏病杂志*, 2024, 32(4): 354-362. DOI: 10.3760/cma.j.cn501113-20230816-00060.
- [40] 肖红艳,苏珊,安嘉伟,等.氨基胍对急性肝损伤小鼠的作用及其机制[J].*中华烧伤与创面修复杂志*,2026,42(2):163-172. DOI: 10.3760/cma.j.cn501225-20251016-00431.
- [41] Vats K, Kruglov O, Mizes A, et al. Keratinocyte death by ferroptosis initiates skin inflammation after UVB exposure [J]. *Redox Biol*, 2021,47:102143. DOI: 10.1016/j.redox.2021.102143.
- [42] Yan T, Hong C, Danfeng X, et al. Specific knockdown of the NDUFS4 gene reveals important roles of ferroptosis in UVB-induced photoaging[J]. *Inflammation*, 2025, 48(1): 223-235. DOI: 10.1007/s10753-024-02057-8.