

## 皮肤色素沉着发生机制研究进展

### New recognition and biological research progresses of skin pigmentation

李承新,王 玲 综述

(第四军医大学西京医院皮肤科 陕西 西安 710032)

人体皮肤的色素沉着过程非常重要,它不仅决定皮肤、眼睛和头发的颜色,还可以保护皮肤免受紫外线的过度照射。尽管色素障碍性皮肤病的病因不全相同,但均存在不同程度的黑素代谢障碍。了解黑素的合成、转移及其代谢过程有助于理解皮肤色素沉着的复杂过程。目前的研究表明至少有 125 个基因直接或间接的参与其中<sup>[1]</sup>。不仅如此,这一过程还需要黑素细胞与角质形成细胞的合作。黑素细胞合成与储存黑素是在黑素小体中进行的,通过黑素小体向周围角质形成细胞传递,最后在周围角质形成细胞中重新分布。本文就黑素合成以及黑素小体的传递与再分布的研究进展综述如下。

#### 1 黑素小体的发生及黑素生成的分子生物学基础

黑素细胞中的黑素都是在黑素小体中合成与储存的,目前认为黑素小体是一种分泌型溶酶体。形态学的观察提示,黑素小体最初来源于内质网产生的一种相对无定形的球状小囊泡—前黑素小体,前黑素小体缺乏酪氨酸酶和黑素小体的基本结构。前黑素小体与周围多巴阳性的高尔基体接触,转变成纤维状的含酪氨酸酶的细胞器。随着黑素小体的不断成熟,色素的合成与储存也不断地增加,直到腔内聚集满黑素为止。蛋白质组学的研究表明,黑素小体是一种单独存在的杂合细胞器<sup>[2-3]</sup>,其蛋白构成分别产生于黑素细胞中的其他各种细胞器。

黑素合成是一个多步骤的酶促生化反应,并受到复杂而精细的调控。一些特殊的酶和结构蛋白参与其中<sup>[4-5]</sup>,大体可以分为三类:①酪氨酸酶基因家族蛋白:酪氨酸酶(tyrosinase, TYR),酪氨酸酶相关蛋白 1 (tyrosinase-related protein-1, TYRP1) 和多巴色素互变异构酶(dopachrome tautomerase, DCT);②功能和结构蛋白:如 Pmel17/gp100;③目前功能尚不清楚的分子,如 MART1 和 OA1<sup>[6]</sup>(见图 1)。TYR 是黑素合成的关键酶,该酶催化黑素合成早期限速反应,首先通过羟基化作用将酪氨酸转变为多巴,然后多巴被氧化为多巴醌,最后在半胱氨酸的参与下,多巴醌被化学修饰为 3-半胱酰多巴和 5-半胱酰多巴,正是这两种物质氧化并聚合成嗜黑色素<sup>[7-8]</sup>。随着反应的进行,半胱氨酸逐步被消耗,而多巴醌却能够自然地形成多巴色素,接着多巴色素失去羧基并通过一系列的氧化和聚合反应形成另一种暗褐色的色素 5,6-二羟吲哚(dihydroxyindole, DHI)。与此同时,由于 DCT 的存在使得部分多巴色素的羧基依然存在并通过一系列的氧化与聚合反应被转换为第三种黑素形式—二羟吲哚-2-羧酸(DHICA-melanin),这种黑素颜色较浅,呈棕褐色<sup>[9]</sup>。至此,黑素合成完全结束。在这一过程中 TYRP1 是

酪氨酸运输给黑素小体的关键酶, TYRP1 的合成速率与黑素合成呈正相关<sup>[10]</sup>。而 DCT 在黑素聚合的过程中扮演了非常重要的角色<sup>[11]</sup>。

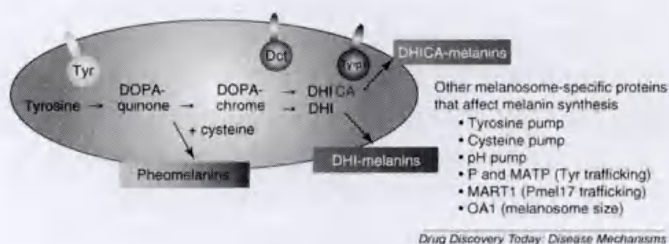


图 1 黑素合成过程示意图

人类皮肤色素沉着受基因调控的过程非常复杂,但目前已证实,遗传性色素异常性皮肤病的发生与少数几个基因直接相关。正常人群中皮肤色素沉着的多样性是由黑素皮质素受体 1 (melanocortin-1 receptor, MC1R) 决定的(见图 2)。MC1R 是一种 G 蛋白耦联受体,它存在于黑素细胞的表面,调控黑素的合成<sup>[12-13]</sup>。MC1R 的功能主要通过 G 蛋白异源三聚体的激活和腺苷酸环化酶的激活完成,提高细胞内环磷酸腺苷(cAMP)水平,启动蛋白激酶 A (PKA) 活性<sup>[14]</sup>。α-促黑素(α-melanocyte stimulating hormone, α-MSH) 和促肾上腺皮质激素(adrenocorticotrophic hormone, ACTH) 是 MC1R 的激动剂,而 agouti-signaling 蛋白(ASP) 是它的抑制剂。研究表明 MC1R 与其激动剂结合后激活腺苷酸环化酶,促进了 cAMP 的合成,进而激活 PKA。随后一系列的反应(目前其中的许多部分还不清楚)引起了黑素合成的增加。如果使用 agouti-signaling 蛋白阻断 MC1R,这时合成的黑素就被转变成了嗜黑色素。由此可见 MC1R 的调控在黑素合成中发挥着非常重要的作用。研究表明,除了 MC1R 的调控外,紫外线辐射、皮肤中角质形成细胞和成纤维细胞分泌的一些细胞因子都能影响黑素的合成。Yamaguchi 等<sup>[15]</sup>研究发现,由掌跖部位真皮层的成纤维细胞分泌的细胞因子 DKK1 能阻断 Wnt/β-连环蛋白通路,从而明显地抑制黑素细胞的增殖和功能。DKK1 不仅能抑制转录因子和黑素合成过程中一些蛋白的表达,还能降低角质形成细胞从黑素细胞摄取黑素的能力。此外,还有其他一些影响黑素合成的因子,如膜相关转运蛋白(membrane-associated transporter protein, MATP) 在将 TYR 运输给黑素小体的过程中起着非常关键的作用。MATP 确切的作用机制还有待于进一步研究,目前认为其发挥着细胞内离子迁移载体的作用,调控着 TYR 的运输过程进而影响黑素的合成。色素沉着的种群研究提示<sup>[16]</sup>, MATP 与 MC1R



的基因多态性是决定正常人群头发、皮肤与眼睛色素沉着的主要原因。总而言之,黑素合成不仅由黑素细胞的数量决定,黑素细胞中一些蛋白的表达和功能同样非常重要。

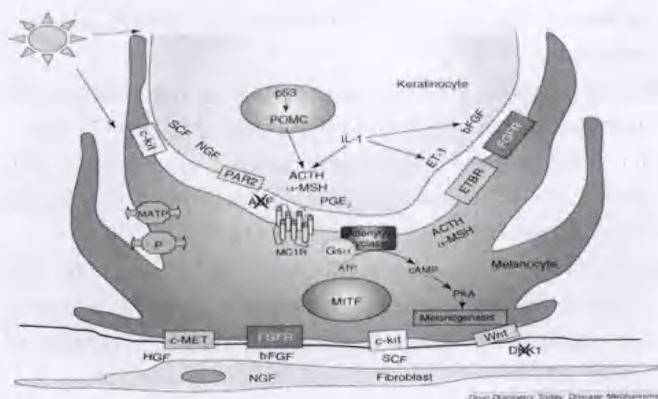


图 2 黑素合成及调控示意图

黑素合成完成后,黑素小体由核周向树突端运动,并传递至周围角质形成细胞。研究表明,皮肤色素沉着不但取决于黑素产生的种类和数量,而且与黑素小体转运、再分布和降解能力有关。作为一种单层膜的细胞器,黑素小体是一种非常理想的用来研究细胞器在胞内运动机制的模型(见图3)。与其他的细胞器类似,黑素小体在细胞内传递的分子动力主要来源于丝状肌动蛋白(F-actin)和(或)肌球蛋白(myosin)<sup>[17-18]</sup>。事实上,黑素小体由核周运动至树突远端依赖于F-actin和微管蛋白(tubulin)的共同作用。tubulin使黑素小体进行远距离运动,而F-actin则是用于近距离的移动和定位。黑素小体首先以离心的方式向微管的正极运动,这是由驱动蛋白(kinesin)和动力蛋白(dynein)互相协调运动的结果。kinesin促使黑素小体向微管的正向运动,而dynein则推动其向相反的方向运动。黑素细胞树突远端富含的F-actin,连接着肌球蛋白Va(myosin-Va)与肌球蛋白VI(myosin-VI),当它们和黑素小体结合后,在微管中进行的双向长运动立刻就停止了。随后黑素小体就被局限在树突远端区域并以F-actin为轨道进行着短距离的运动<sup>[19-20]</sup>,myosin-Va牵动着黑素小体向着黑素细胞外运动,而myosin-VI则牵动着黑素小体向着反方向运动。正是这两种蛋白的相互协调,带着黑素小体一步步的向着黑素细胞外运动,为下一步进入周围角质形成细胞做好了充分的准备<sup>[21]</sup>。目前的研究证明,一种ashen鼠基因编码的产物Rab27a存在于黑素小体的膜表面,能特异地与myosin-Va结合。Taruho等<sup>[22]</sup>研究发现,一种Rab27a结合蛋白Slp2-a与Rab27a介导的黑素小体转运有关,Slp2-a不仅可以调控黑素小体在黑素细胞外周的分布,还可以影响黑素细胞的形态。Fukuda等<sup>[23]</sup>研究发现Melanophilin,一种leaden鼠的突变基因产物也具有调节黑素小体向树突远端运动的作用,它同样可以与myosin-Va结合。总之,这是一个非常复杂的系统,只有所有的组成部分

都正常而有序地发挥各自的功能,黑素小体才可以自然地分布于黑素细胞的外周,一旦其中任何一种蛋白发生了变化都有可能影响到黑素小体的运动<sup>[24-25]</sup>。

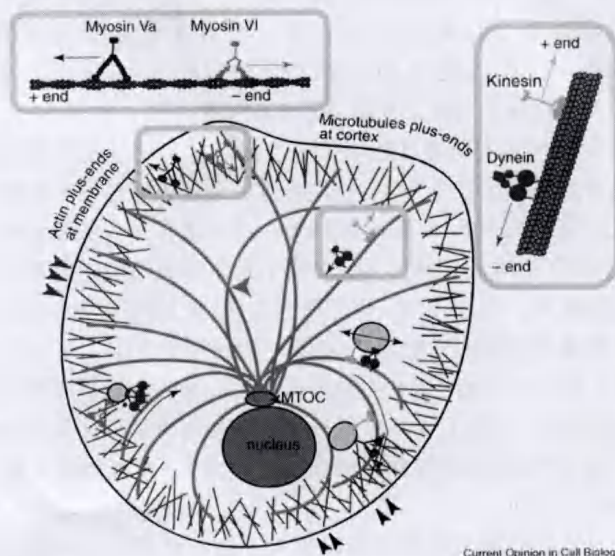


图 3 黑素小体在黑素细胞内的运动过程

## 2 黑素小体进入周围角质形成细胞的机制及调控因素

在黑素小体由黑素细胞向角质形成细胞传递的过程中,树突作为黑素小体转运的中介点紧密联系着这两种细胞,因此树突的形态与长短直接影响着黑素小体的传递。研究表明,Rho蛋白家族,特别是Rac与Rho主要调控着树突的形状与数量<sup>[26]</sup>。在黑素细胞内活化的Rac可以促进树突的形成和延伸,而Rho则起到相反的作用。此外,有些因素也可以间接地作用于Rho蛋白家族而改变树突的功能,如促黑素细胞刺激激素可以激活细胞内腺苷酸环化酶,通过cAMP第二信号通路,抑制Rho并激活Rac,从而促进黑素细胞的树突化<sup>[27]</sup>。Scott等研究发现,磷脂酶C(LPC)能增强一种由表皮角质形成细胞释放出的分泌型的x型磷酸酯酶A2(sPLA2-x)的活性。LPC还可以活化蛋白激酶C(PKC)并激活cAMP第二信号通路,通过这两种途径都能促进黑素细胞树突化,有利于黑素小体的传递<sup>[28]</sup>。

黑素小体向角质形成细胞传递的机制至今还不是很清楚,主要有以下四种假说:①黑素细胞以胞吐的方式释放黑素小体,继而被周围的角质形成细胞吞入胞内;②角质形成细胞通过活跃的吞噬作用吞噬黑素细胞的远端树突,并进而将吞噬的树突融合入胞体;③黑素细胞直接将黑素小体植入角质形成细胞内;④黑素细胞和角质形成细胞膜融合,形成连续的孔道使得黑素小体得以通过<sup>[29]</sup>。但是大多数学者认可的机制是角质形成细胞对黑素小体的吞噬。目前的研究认为,黑素细胞和角质形成细胞表面存在特异性的膜分子,如细胞膜的糖蛋白和细胞凝集素。这些膜分子有利于两种细胞间的识别、物质接触以及黑素小体的传递。

近年来,随着研究的不断深入,角质形成细胞在黑素转运过程中的作用受到越来越多的重视,只表达于角质形成细胞膜表面的蛋白酶活性受体 2 (PAR-2), 是热点分子之一。PAR-2 是一种七次跨膜的 G 蛋白耦联受体, 该受体在胞外可被丝氨酸蛋白酶剪切而活化, 介导黑素小体的传递。Seiberg 等<sup>[30]</sup>通过实验证实,活化的 PAR-2 能够增强培养的角质形成细胞对孤立的黑素小体的吞噬作用。另外,在皮肤炎症后色素改变的过程中,PAR-2 激活后可诱导角质形成细胞释放前列腺素  $E_2$  和  $F_2$ , 它们作为旁分泌因子与黑素细胞膜上的前列腺素  $E_1$ 、 $E_3$  和前列腺素 F 受体结合, 刺激黑素细胞的 cAMP 生成,促进树突化,有利于角质形成细胞对黑素小体的摄取<sup>[31]</sup>。Cardinali 等<sup>[32]</sup>研究发现,角质形成细胞表面具有角质形成细胞生长因子 (KGF) 特异性受体,KGF 可以通过 Rho 和 Cdc42/Rac 联合机制发挥作用, 增强角质形成细胞的吞噬能力。虽然目前已经发现了一些参与黑素小体传递的分子调节剂,如烟酰胺和膜糖蛋白,但在这一领域依然有很大的研究空间。

皮肤色素沉着最后是以黑素小体在角质形成细胞中再分布和降解结束,这一机制同样尚不清楚。目前的观点认为,黑素小体进入角质形成细胞后由细胞骨架成分和微管动力蛋白的共同作用向表皮侧移位,随着角质形成细胞向角质层上方分化而不断降解,最终消失。

### 3 小结

皮肤的色素沉着不仅需要黑素的合成,黑素小体向角质形成细胞内传递与再分布、降解同样也起到了非常重要的作用。虽然目前对皮肤色素沉着机制的研究并不是很全面,但随着对黑素合成与黑素小体传递机制以及各种因子调控途径认识的不断深入,临床上治疗色素性疾病的手段也变得多样化。不仅如此,皮肤色素沉着机制也是皮肤美容的研究基础,随着人们对皮肤美容需求的不断扩大,各种美容手段与美白药物的研制也不断发展,色素沉着机制的研究就显得更为紧迫和重要。

#### [参考文献]

- [1]Bennett DC,Lamoreux ML.The color loci of mice-agenetic century [J]. *Pigment Cell Res*, 2003,16:333-344.
- [2]Kushimoto T,Basrur V,Matsunaga J,et al.A new model for melanosome biogenesis based on the purification and mapping of early melanosomes [J].*Proc Natl Acad Sci USA*,2001,98:10698-10703.
- [3]Basrur V,Yang F,Kushimoto T,et al.Proteomic analysis of early melanosomes:identification of novel melanosomal proteins [J].*J Prot Res*, 2003,2:69-79.
- [4]Chi A.Proteomic and bioinformatic characterization of the biogenesis and function of melanosomes[J]. *J Proteome Res*, 2006,5:3135-3144.
- [5]Hu ZZ.Comparative bioinformatics analyses and profiling of lysosome-related organelle proteomes [J].*Int J Mass Spectrom*, 2007,259:147-160.
- [6]Vincent J.Hearing Biogenesis of pigment granules: a sensitive way to regulate melanocyte function[J]. *Dermatology J dermsci*,2004,8:014.
- [7]Hennessy A. Eumelanin and pheomelanin concentrations in human epidermis before and after UVB irradiation [J]. *Pigment Cell Res*, 2005,18:220-223.
- [8]Liu Y.Comparison of structural and chemical properties of black and red human hair melanosomes[J]. *Photochem. Photobiol*,2005,81:135-144.
- [9]Ito S,Wakamatsu K. Quantitative analysis of eumelanin and pheomelanin in humans, mice, and other animals: a comparative review[J].*Pigment Cell Res*, 2003,16:523-531.
- [10]Toyofuku K.Oculocutaneous albinism types 1 and 3 are ER retention diseases: mutation of tyrosinase or Tyrp1 can affect the processing of both mutant and wild-type proteins [J].*FASEB J*, 2001,15:2149-2161
- [11]Urabe K. The inherent cytotoxicity of melanin precursors: arevision. *Biochim[J]. Biophys Acta*,1994,1221: 272-278
- [12]Lin JY,Fisher DE. Melanocyte biology and skin pigmentation [J]. *Nature*,2007,445:843-850.
- [13]Rees JL.The melanocortin 1 receptor (MC1R): more than just red hair[J].*Pigment Cell Res*,2000,13: 135-140.
- [14]Michaela Brenner,Vincent J.Hearing Modifying skin pigmentation approaches through intrinsic biochemistry and exogenous agents *Drug Discovery Today*[J].*Disease Mechanisms*,2008,5(2):189-199.
- [15]Yamaguchi Y. The effects of dickkopf 1 on gene expression and Wnt signaling by melanocytes: mechanisms underlying its suppression of melanocyte function and proliferation [J].*J Invest Dermatol*,2007,127:1217-1225.
- [16]Graf J.Single nucleotide polymorphisms in the MATP gene are associated with normal human pigmentation variation [J].*Hum Mutat*,2005,25:278-284.
- [17]Wu X,Hammer JA.Making sense of melanosome dynamics in mouse melanocytes[J].*Pigment Cell Res*,2000,13:241-247.
- [18]Westbroek W,Lambert JM,Naeyaert JM.The dilute locus and Griscelli syndrome: gateways towards a better understanding of melanosome transport[J].*Pigment Cell Res*,2001,14:320-327.
- [19]Hara M,Yaar M,Byers HR,et al.Kinesin participates in melanosomal movement along melanocyte dendrites [J].*J Invest Dermatol*, 2000,114:438-443.
- [20]Irina Semenova.Actin Dynamics Is Essential for Myosin-Based Transport of Membrane Organelles [J].*Current Biology*,2008,18: 581-1586.
- [21]Jennifer L Ross. Cargo transport: molecular motors navigate a complex cytoskeleton [J].*Current Opinion in Cell Biology*,2008,20: 41-47.
- [22]Taruho S,Kuroda,Mitsunori Fukuda.Rab27A-binding protein Slp2-a is required for peripheral melanosome distribution and elongated cell shape in melanocytes[J].*Nature cell biology*,2004,6:1195-1203.
- [23]Fukuda M,Kuroda TS,Mikoshiba K.Slac2-a/melanophilin,the missing link between Rab27 and myosin Va: Implications of a tripartite protein complex for melanosome transport [J].*J Biol Chem*, 2002,277:12432-12436.



- [24]Westbrock W,Lambert J,Bahadoran P,et al.Interactions of human myosin Va isoforms,endogenously expressed in human melanocytes, are tightly regulated by the tail domain [J].J Invest Dermatol,2003,120:465-475.
- [25]Bahadoran P,Busca R,Chiaverini C,et al.Characterization of the molecular defects in Rab27a, caused by RAB27A missense mutations found in patients with Griscelli syndrome[J].J Biol Chem, 2003,278:11386-11392.
- [26]Scoat G. Rac and rho: the story behind melanocyte dendrite formation[J]. Pigment Cell Res,2002,15(5):322-330.
- [27]Scott G,Leopardi S.The cAMP signaling pathway has opposing effects on Rac and Rho in B16F10 cells: implications for dendrite formation in melanocytic cells[J]. Pigment Cell Res,2003,16(2):139-148.
- [28]Scott G.Lysophosphatidylcholine mediates melanocyte dendricity through PKCzeta activation[J]. J Invest Dermatol,2007,127(3):668-675.
- [29]Seiberg M. Keratinocyte-melanocyte interactions during melanosome transfer[J]. Pigment Cell Res,2001,14:236-242.
- [30]Seiberg M, Paine C, Sharlow E, et al. The protease-activated receptor-2 regulates pigmentation via keratinocyte-melanocyte interactions[J].Exp Cell Res, 2000,254:25-32.
- [31]Scott G.Proteinase-activated receptor-2 stimulates prostaglandin production in keratinocytes: analysis of prostaglandin receptors on human melanocytes and effects of PGE2 and PGF2alpha on melanocyte dendricity[J].J Invest Dermatol,2004,122(5):1214-1224.
- [32]Cardinali G,Ceccarelli S,Kovacs D,et al.Keratinocyte growth factor promotes melanosome transfer to keratinocytes [J]. J Invest Dermatol, 2005,125(6):1190-1199.

[收稿日期]2009-05-25 [修回日期]2009-07-30

编辑 / 李阳利

## 射频除皱术的原理及临床应用

### Principle and clinical application of Radiofrequency rejuvenating technique

仇萌 综述, 邹先彪 审校

(解放军总医院第一附属医院皮肤科 北京 100037)

皱纹是人类衰老过程中的必然产物,随着人们生活水平的提高,如何有效地祛除皱纹备受大家关注。在过去的几十年中,医学工作者们不断发明和尝试各种祛皱方法,从最初的机械磨削法和化学剥脱法,逐渐过渡到激光磨削术、光子嫩肤等方法,虽然有一定的疗效,但常会出现色素沉着等不良反应<sup>[1-2]</sup>。因此,继光子技术后新出现的一种非侵袭性、非手术的治疗方式—射频技术倍受到人们的青睐。本文就射频技术治疗皱纹的作用原理、影响因素、操作方法及临床应用疗效总结如下。

#### 1 射频的定义及发展史

射频(RF)也称为射频电流,是一种高频交流变化电磁波的简称。每秒变化小于 1000 次的交流电称为低频电流,大于 10000 次的称为高频电流,射频就是指这种高频电流<sup>[3]</sup>。医学上把频率在 0.5~8MHz 的交流高频电流称为射频电波。自 1868 年 Da rsonval 首次将射频技术应用于活体组织后,射频技术便逐渐应用于神经学、心脏病学、肝脏肿瘤等临床领域,直到 1996 年美国 THERMAGE 公司的 ManjT, Abraham 发明 ThermoCool 技术,并于 2002 年获 FDA 批准后,射频技术开始用于皮肤美容领域,大量文献报道射频具有祛皱、改善皮肤松弛、改善皮肤质量等效果<sup>[3-4]</sup>,为皮肤年轻化技术的发展又提供了一个新的台阶。

#### 2 射频除皱的作用原理及影响因素

2.1 作用原理:与激光的选择性光热原理不同,射频电流是

受电阻的影响而转化为热能的。射频除皱仪主要组成部分包括射频发生器、冷却系统、电极治疗头三部分<sup>[5]</sup>。人体是一个导体,具有一定大小的电阻,当射频电流作用于人体时,人体便成为电路的一部分,高频电流、中性电极和特殊制作的治疗头共同作用下在皮下形成深层均衡的电磁场,作用到胶原内的水分子,从而引起双极水分子以每秒几百万次的速度震动、旋转来产生热量<sup>[4]</sup>,选择性作用于真皮深层和深部的纤维隔,引起胶原纤维的收缩和新生胶原纤维沉积,并增加胶原纤维弹性<sup>[6]</sup>。

2.2 影响因素:由于个体差异,不同的人有不同大小的电阻,根据欧姆定律,在一定的电压下,通过人体的电流因人体电阻的不同而不同。而人体电阻的大小主要受以下几种因素影响:①皮肤的条件:角质层厚薄、干湿度及粗糙程度;②电流的频率:在接触相同电流的条件下,电流频率高对人体的总阻抗小,电流频率低对人体的总阻抗大;③接触条件:接触松紧度、接触面的大小、接触面的清洁度及耦合剂的存在;④治疗部位的不同:人体内各种组织的导电能力主要取决于它们的含水量和相对密度。例如:肌肉、脑的含水量较大,阻抗就小;而肌腱和腱鞘、骨的含水量较小,则呈现的阻抗就大。肌腱和腱鞘是不良导体,脂肪和骨骼是最差的;⑤其他因素:皮肤有无破损等<sup>[7,9]</sup>。

#### 3 适应证

①面颈部皱纹及皮肤松弛,包括鱼尾纹、前额纹、眉间纹、上下睑皮肤松弛、鼻根横纹、颧部皮肤松弛皱纹、口角两