

黄芩素对 A375 细胞黑素合成的抑制作用及相关细胞信号通路调控的初步研究

陈 晨， 徐艳明， 王 雪， 耿 放^{*}， 刘国良， 雷双媛， 张 宁^{*}
(1. 黑龙江中医药大学，黑龙江 哈尔滨 150040；2. 哈尔滨师范大学，黑龙江 哈尔滨 150025)

摘要：目的 研究黄芩素对体外培养的 A375 细胞黑素合成的影响及丝裂原活化蛋白激酶（MAPK）信号通路与该作用的相关性。方法 用黄芩素处理 A375 细胞，采用四甲基噻唑蓝（MTT）法测定 A375 细胞的活性，NaOH 法测定黑素量，多巴氧化法测定酪氨酸酶（TYR）活性，RT-PCR 法测定 *TYR*、酪氨酸酶相关蛋白-1（*TRP-1*）和 *TRP-2* 以及 MAPK 信号通路关键蛋白激酶 *ERK1*、*ERK2*、*JNK2* 的 mRNA 表达。结果 0.1 ~ 0.001 $\mu\text{mol/L}$ 的黄芩素可明显抑制 A375 细胞黑素合成及 TYR 活性，0.1 $\mu\text{mol/L}$ 黄芩素明显下调 A375 细胞 *TYR*、*TRP-1*、*TRP-2* mRNA 表达，以及 *ERK1*、*ERK2*、*JNK2* mRNA 表达。结论 黄芩素具有抑制 A375 细胞的黑素合成的作用，其机制可能与抑制 TYR 活性和/或下调 *TYR*、*TRP-1* 及 *TRP-2* mRNA 表达，以及抑制 *ERK1*、*ERK2*、*JNK2* 的表达有关。

关键词：黄芩素；A375 细胞；黑素；MAPK 信号通路

中图分类号：R966 文献标志码：A 文章编号：1001-1528(2015)12-2600-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2015.12.006

Inhibitory effect of melanogenesis in A375 cells and related cell signaling pathways regulating mechanism of baicalein

CHEN Chen, XU Yan-ming, WANG Xue, GEN Fang^{*}, LIU Guo-liang, LEI Shuang-yuan, ZHANG Ning^{*}
(1. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China; 2. Harbin Normal University, Harbin 150025, China)

ABSTRACT: **AIM** To study the effects of baicalein on melanogenesis and investigate the relationship between MAPK signal pathway and the role in A375 cell lines. **METHODS** The A375 cell lines were treated with baicalein. Effects of baicalein on cell viability, tyrosinase (TRY) activity and melanogenesis in cultured A375 cells were measured by MTT method, NaOH method and L-dopa oxidation method, respectively. RT-PCR was applied to measuring the mRNA expression levels of (TYR) and tyrosinase related proteins and the mRNA expression levels of *ERK1*, *ERK2* and *JNK2*. **RESULTS** 0.1 ~ 0.001 $\mu\text{mol/L}$ baicalein can significantly inhibit melanin synthesis and TYR activities in A375 cell lines. Baicalein (0.1 $\mu\text{mol/L}$) can significantly inhibit *TYR*, *TRP-1*, *TRP-2* mRNA and *ERK1*, *ERK2*, *JNK2* mRNA expression levels. **CONCLUSION** It is assumed that baicalein can significantly suppress melanogenesis of A375 cells. The possible molecular mechanism of baicalein inhibiting melanin synthesis may be by cutting *TYR*, *TRP-1* and *TRP-2* mRNA expression quantity and associating with the inhibi-

收稿日期：2014-07-15

基金项目：国家自然科学基金面上项目（81274035）；黑龙江省自然科学基金面上项目（D201234）；黑龙江省博士后科研启动金（LBH-Q13162）；黑龙江中医药大学优秀创新人才支持计划资助（2012）

作者简介：陈 晨（1991—），女，硕士生，主要从事中药药理学研究。Tel：（0454）6050350，E-mail：chenchen1208@yeah.net

* 通信作者：张 宁（1974—），男，博士，副教授，主要从事中药药效物质基础及体内代谢研究。Tel：（0454）6050350，E-mail：zhangning0454@163.com

耿 放（1981—），女，博士，副教授，硕士生导师，主要从事天然药物活性成分研究。Tel：（0451）82475863，Email：gengfang1980@163.com

网络出版日期：2014-10-17

网络出版地址：http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20141017.1200.001.html

tion of the expression of *ERK1*、*ERK2* and *JNK2*.

KEY WORDS: baicalein; A375 cells; melanin; MAPK signal pathway

黑素代谢障碍是黄褐斑产生的主要病机。黑素在黑素细胞内由酪氨酸经酪氨酸酶氧化而合成,酪氨酸酶(TYR)过表达导致黑素合成亢进。近年来研究发现,MAPK 信号通路参与了黑素细胞中黑素生成的调控,在调节黑素细胞生理活动及功能方面发挥重要作用^[1]。Jang Ji Yeon^[2]等体外培养鼠 B16F10 黑素瘤细胞发现,甘松提取物能够诱导 MEK/ERK 磷酸化和 PI3K/Akt 信号激活,抑制环磷酸腺苷(cAMP)表达水平来下调小眼畸形转录因子(MITF)和 TRP 蛋白表达,从而抑制 TYR 活性,抑制黑素的合成。杜仲是青娥方中君药,能够使未成熟小鼠子宫质量增加,阴道细胞角化提前进入动情周期,促使未成熟小鼠靶器官发育,发挥雌激素样作用^[3]。黄芩素是杜仲的有效成分,属雌激素类化合物。李晓红等^[4]通过研究发现黄芩素能够诱导雌激素反应元件(ERE)的激活来下调 MITF 蛋白表达,对 TYR 活性有抑制作用,从而降低黑素合成起到脱色素作用。雌激素受体(ER)的生理作用与 MAPK 信号通路的转导密切相关,MAPK 家族主要包括三个亚家族—细胞外调节蛋白激酶(ERK1/2)、c-JunN 末端蛋白激酶(JNK1/2)和 p38 蛋白激酶(p38 MAPK)^[5]。因此,本研究探讨黄芩素对黑素细胞黑素分泌的调节作用以及 MAPK 信号通路的相关性,初步确定黄芩素对黄褐斑的潜在治疗作用及作用机制。

1 材料与仪器

1.1 材料 人黑素瘤细胞 A375 (中国科学院细胞中心提供);DMEM 培养液(美国 Gibco 生物公司);二甲基亚砒 DMSO (美国 Sigma 公司);四甲基噻唑蓝 MTT (美国 Sigma 公司);Trizol 细胞裂解液(美国 Gibco 生物公司);焦碳酸二乙酯(DEPC) (美国 Gibco 生物公司);PCR 试剂盒(上海生工生物工程技术有限公司)。

1.2 仪器 TGL-16G-C 型高速台式冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂),PCR 扩增仪(德国 Biometra 公司),酶标仪(上海热电仪器有限公司),Olympus 倒置显微镜(日本 Olympus 株式会社),HeXios γ 可见紫外分光光度计(美国热电公司),DYYOC 型电泳仪(北京市六一仪器厂),Cham1Ge15000 凝胶成像系统(北京赛智创业科技有限公司)。

1.3 药品 黄芩素购于南京泽朗科技有限公司,纯度 98%,批号为 491678120525;雌二醇购于中国食品药品检定研究院,纯度 98%,批号为 150-28-21。

2 实验方法

2.1 药液配制 精密称取雌二醇 5.5 mg,用 4 mL 无水乙醇溶解,配制成 20 $\mu\text{mol/L}$ 的原液,实验前再用 DMEM 完全培养液稀释至 0.001 $\mu\text{mol/L}$,待用。精密称取黄芩素 5.4 mg,用 DMEM 完全培养液溶解,配制成 200 $\mu\text{mol/L}$ 的原液,实验前再梯度稀释成 0.001 ~ 100 $\mu\text{mol/L}$ 的 6 种药液,待用。

2.2 细胞分组与处理 选取对数生长期的 A375 细胞常规消化,计数,以 3×10^3 个/孔接种细胞于 96 孔培养板上,每孔 200 μL ,24 h 后,分别设空白对照组、阳性对照组(0.001 $\mu\text{mol/L}$ 的雌二醇)、黄芩素组(设定浓度的黄芩素),各组设 6 个复孔。将另一部分细胞以 9×10^4 个/孔接种细胞于 6 孔培养板中,每孔 2 mL,分组处理同前,每组设 4 个复孔。培养 48 h 后,分别进行 MTT 实验、黑素含量实验、TYR 活性实验、RT-PCR 实验。

2.3 指标检测

2.3.1 细胞活性 向 96 孔板各孔加 20 μL MTT (5 mg/mL),继续培养 4 h,弃上清,每孔加入 150 μL DMSO 振荡 10 min,选择 490 nm 在酶标仪上测定各孔吸光度值。细胞增值率用 D_{490} 表示。

细胞增值抑制率 = D_{490} 给药 / D_{490} 空白 $\times 100\%$

2.3.2 黑素含量 弃掉 6 孔板培养液,PBS 洗 2 次,每孔加入 1 mL 0.25% 胰酶消化 10 min 后,再加入 1 mL DMEM 培养液终止消化,收集各组细胞悬液至 15 mL 离心管中,1 500 r/min 离心 3 min,弃上清,加入 1 mol/L 的 NaOH 溶液 100 μL ,混匀,37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 1 h,加入 400 μL 双蒸水,混匀,从每支离心管中取出 100 μL 溶液加至 96 孔板中,选择 490 nm 在酶标仪上测定各孔吸光度值。黑素合成用 D_{490} 表示。

2.3.3 TYR 活性 弃掉 96 孔板培养液,PBS 洗 2 次,每孔加入 1% Triton X-100 溶液 100 μL ,迅速将其置于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中 30 min,取出室温融化。每孔加入 50 μL 预热的 0.2% 左旋多巴(L-dopa)溶液,37 $^{\circ}\text{C}$ 下反应 3 h,选择 490 nm 在酶标仪上测定各孔吸光度值。TYR 活性用 D_{490} 表示。

2.3.4 RT-PCR 法检测细胞 *TYR*、*TRP-1*、*TRP-2*、*ERK1*、*ERK2*、*JNK2* mRNA 表达 收集 6 孔板中各组细胞,按照 Trizol 说明书提取总 RNA,各组以 RNA 3 μg 进行反转录。反应条件:25 ℃ 反应 10

min,42 ℃ 反应 60 min,70 ℃ 反应 10 min 终止反应,得到 cDNA。引物序列由上海生工生物工程技术服务有限公司设计与合成,以 *β-actin* 为内参照,引物序列信息见表 1。

表 1 RT-PCR 引物序列
Tab.1 Primer sequences of RT-PCR

引物名称	正向引物(5'-3')	反向引物(5'-3')	预扩增片段长度/bp
<i>TYR</i>	TCACGGCTCTGTGAATGTCT	CTGAAGTTGGGCGAGATGAT	143
<i>TRP-1</i>	ACATCATTCCCTCACCAAAGAC	AGAAGTCCGAAAGCCAAGTAAA	223
<i>TRP-2</i>	GTTCTTTTCTTCCCTCCAGTG	TTCCTTTATGTGTCAGCGTCAGA	223
<i>ERK1</i>	GGGAGGTGGAGATGGTGAAG	AGCAGGTGGAGGGCTTTAGAT	302
<i>ERK2</i>	ACCCACACAAGAGGATTGAAGT	AAAAGCCACAAC TACCAGAAAC	353
<i>JNK2</i>	CCTTCTTTACCAGATGCTTTGTG	ATACGGTCAGTGCCTTGAATA	303
<i>β-actin</i>	CGTGACATCCGCAAAGAC	AAGAAAGGGTGTAAACGCAACTA	302

扩增条件:94 ℃ 预变性时间 2 min;94 ℃ 变性 30 s、退火 40 s (*TYR* 54 ℃、*TRP-1* 57 ℃、*TRP-2* 55 ℃、*ERK1* 57 ℃、*ERK2* 54 ℃、*JNK2* 54 ℃、*β-actin* 54 ℃)、72 ℃ 延伸 40 s,35 个循环;72 ℃ 终止延伸 10 min。PCR 扩增产物 5 μL 与 6 × DNA loading buffer 1 μL 混匀,加入 1.5% 琼脂糖凝胶中,80 V 恒压电泳 30 min 后,凝胶成像系统观察电泳结果,应用 gel-pro 凝胶分析软件对电泳谱带进行分析,用校正值 (*TYR/β-actin*、*TRP-1/β-actin*、*TRP-2/β-actin*、*ERK1/β-actin*、*ERK2/β-actin*、*JNK2/β-actin*) 表示 mRNA 水平。

2.4 统计学方法 实验数据用 SPSS 19.0 软件进行单因素方差分析 (ANOVA),用 LSD 法对数据进行两两比较。 $P<0.05$ 具有统计学意义。

3 结果

3.1 对细胞活性的影响 结果见表 2,与空白对照组相比,100、10、1 μmol/L 的黄芩素对细胞的增殖有显著抑制作用 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$),说明上述剂量的药物对细胞有毒性作用,不适合进行下一步的药效学研究;0.1、0.01、0.001 μmol/L 的黄芩素不影响细胞活性。

3.2 对黑素合成的影响 结果见表 3,与空白对照组相比,黄芩素组给药剂量为 0.1、0.01、0.001 μmol/L 时,对黑素合成有显著的抑制作用 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$);阳性对照组对黑素合成有极显著的促进作用 ($P<0.01$)。

3.3 对 TYR 活性的影响 结果见表 4,与空白对照组相比,黄芩素组给药剂量为 0.1、0.01、0.001 μmol/L 时,对 TYR 活性有极显著的抑制作用 ($P<0.01$);阳性对照组对 TYR 活性有极显著

2602

的促进作用 ($P<0.01$)。

表 2 黄芩素对 A375 细胞活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Tab.2 Effects of bicalcin on the activity of A375 cells ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/(μmol·L ⁻¹)	吸光度值	细胞增殖率/%
空白对照组	—	0.336 ± 0.025	100
阳性对照组	0.001	0.339 ± 0.036	101
黄芩素组	100	0.124 ± 0.012 **	37 **
黄芩素组	10	0.279 ± 0.024 **	83 **
黄芩素组	1	0.300 ± 0.047 *	89 *
黄芩素组	0.1	0.329 ± 0.023	98
黄芩素组	0.01	0.319 ± 0.033	95
黄芩素组	0.001	0.326 ± 0.041	97

注:与空白对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

表 3 黄芩素对 A375 细胞黑素合成的影响 ($\bar{x} \pm s, n=4$)

Tab.3 Effects of baicalein on the synthesis of melanocytes of A375 ($\bar{x} \pm s, n=4$)

组别	剂量/(μmol·L ⁻¹)	吸光度值	与空白组 D 比值/%
空白对照组	—	0.074 ± 0.003	100
阳性对照组	0.001	0.093 ± 0.006 **	125 **
黄芩素组	0.1	0.060 ± 0.006 **	81 **
黄芩素组	0.01	0.063 ± 0.004 **	85 **
黄芩素组	0.001	0.065 ± 0.002 *	88 *

注:与空白对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

表 4 黄芩素对 A375 细胞 TYR 活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Tab.4 Effect of baicalein on TYR activity of A375 cells ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/(μmol·L ⁻¹)	吸光度值	与空白组 D 比值%
空白对照组	—	0.079 ± 0.002	100
阳性对照组	0.001	0.096 ± 0.003 **	121 **
黄芩素组	0.1	0.068 ± 0.004 **	86 **
黄芩素组	0.01	0.069 ± 0.002 **	87 **
黄芩素组	0.001	0.070 ± 0.002 **	88 **

注:与空白对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

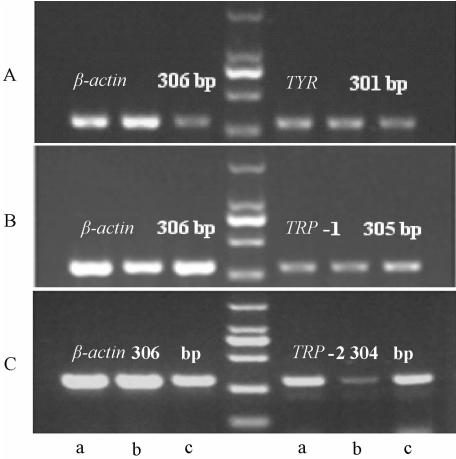
3.4 对细胞 *TYR*、*TRP-1*、*TRP-2* mRNA 表达的影响 均明显降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 阳性对照组结果见表 5 和图 1, 与空白对照组相比, 黄芩素组 *TYR*、*TRP-1*、*TRP-2* 的 mRNA 的表达均明显增强 ($P < 0.01$)。

表 5 *TYR*、*TRP-1*、*TRP-2* mRNA 的 RT-PCR 产物凝胶电泳定量分析结果 ($\bar{x} \pm s, n=4$)

Tab. 5 Quantitative analysis of gel electrophoresis results on the RT-PCR products of *TYR*、*TRP-1*、*TRP-2* mRNA ($\bar{x} \pm s, n=4$)

组别	剂量/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	<i>TYR</i> / β -actin	<i>TRP-1</i> / β -actin	<i>TRP-2</i> / β -actin
空白对照组	—	0.602 $\pm$ 0.013	0.534 $\pm$ 0.032	0.574 $\pm$ 0.089
阳性对照组	0.001	0.859 $\pm$ 0.062 **	0.698 $\pm$ 0.065 **	0.845 $\pm$ 0.046 **
黄芩素组	0.1	0.499 $\pm$ 0.025 *	0.235 $\pm$ 0.040 **	0.437 $\pm$ 0.035 *

注：与空白对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$



注：a. 阳性对照组；b. 黄芩素组 (0.1 $\mu\text{mol/L}$)；c. 空白对照组；A. β -actin 与 *TYR* 的 PCR 结果；B. β -actin 与 *TRP-1* 的 PCR 结果；C. β -actin 与 *TRP-2* 的 PCR 结果

图 1 黄芩素对 A375 *TYR*、*TRP-1*、*TRP-2* mRNA 表达水平的影响

Fig. 1 Effects of baicalein on the mRNA expression levels of *TYR*, *TRP-1*, *TRP-2* in A375 cells

3.5 对细胞 *ERK1*、*ERK2*、*JNK2* mRNA 表达的影响 结果见表 6 和图 2, 与空白对照组相比, 黄芩素组 (0.1 $\mu\text{mol/L}$) *ERK1*、*ERK2*、*JNK2* 的 mRNA

表 6 *ERK1*、*ERK2*、*JNK2* mRNA 的 RT-PCR 产物凝胶电泳定量分析结果 ($\bar{x} \pm s, n=4$)

Tab. 6 Quantitative analysis of gel electrophoresis results on the RT-PCR products of *ERK1*, *ERK2*, *JNK2* mRNA ($\bar{x} \pm s, n=4$)

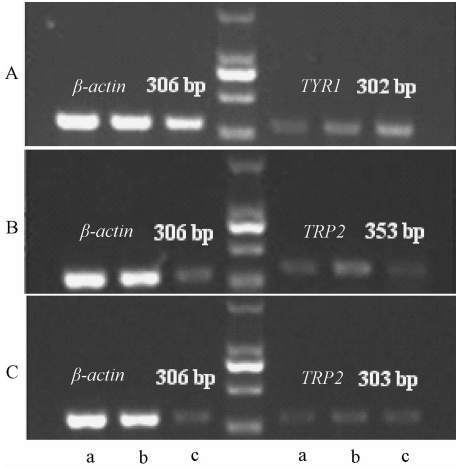
组别	剂量/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	<i>ERK1</i> / β -actin	<i>ERK2</i> / β -actin	<i>JNK2</i> / β -actin
空白对照组	—	0.326 $\pm$ 0.035	0.517 $\pm$ 0.018	0.321 $\pm$ 0.013
阳性对照组	0.001	0.485 $\pm$ 0.006 **	0.853 $\pm$ 0.087 **	0.483 $\pm$ 0.036 **
黄芩素组	0.1	0.272 $\pm$ 0.014 *	0.410 $\pm$ 0.012 *	0.271 $\pm$ 0.013 *

注：与空白对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

4 讨论

黄褐斑是一种常见的获得性色素沉着性皮肤病, 黑素在皮肤内的增多是导致黄褐斑产生的主要原因^[6]。黑素生成及代谢的任何一个环节发生改变, 都可引起色素障碍性皮肤病。人体内黑素在黑素细胞黑素体中合成, 其合成受酪氨酸酶

表达均明显降低 ($P < 0.05$), 阳性对照组 *ERK1*、*ERK2*、*JNK2* 的 mRNA 表达均明显增强 ($P < 0.01$)。



注：a. 阳性对照组；b. 黄芩素组；c. 空白对照组；A. β -actin 与 *ERK1* 的 PCR 结果；B. β -actin 与 *ERK2* 的 PCR 结果；C. β -actin 与 *JNK2* 的 PCR 结果

图 2 黄芩素对 A375 *ERK1*、*ERK2*、*JNK2* mRNA 表达水平的影响

Fig. 2 Effects of baicalein on the mRNA expression levels of *ERK1*, *ERK2*, *JNK2* in A375 cells

(*TYR*)、酪氨酸酶相关蛋白-1 (*TRP-1*) 和 *TRP-2* 调控, *TYR* 在黑素合成过程中起到关键限速酶的作用, 而 *TRP-1* 和 *TRP-2* 在黑素生物合成途径下游起作用^[7-9]。人黑素细胞合成黑素的量取决于酪氨酸酶的活性水平, 降低酪氨酸酶活性可阻止皮肤黑素生成, 能够抑制酪氨酸酶活性并减少黑素生成

的药物可以提高黄褐斑的治疗效果^[10]。在黑素瘤 A375 细胞中存在着雌激素受体 (ER), 雌激素作为一种细胞外信号, 其发挥作用的途径一般是与 ER 结合, MAPK 信号通路是细胞外信号引起细胞生理反应的共同途径。雌激素通过皮肤细胞 ER 对黄褐斑的产生有调节作用, 而植物雌激素有类雌激素作用。黄芩素作为一种植物雌激素能够抑制 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞增殖并且诱导细胞凋亡^[11]。因此, 选择具有雌激素样作用成分黄芩素来进行治疗黄褐斑的研究。

实验表明, 黄芩素安全剂量作用于 A375 细胞后, 能显著抑制细胞黑素合成及 TYR 活性且呈正相关, 抑制 A375 细胞中 *TYR*、*TRP-1*、*TRP-2* 的 mRNA 表达, 提示黄芩素可能通过抑制 TYR 活性和/或抑制 *TYR*、*TRP-1*、*TRP-2* mRNA 表达抑制黑素合成, 并且黄芩素能显著抑制 MAPK 信号通路蛋白激酶 *ERK1*、*ERK2*、*JNK2* 的 mRNA 表达, 推测 MAPK 信号通路可能参与了黑素细胞中黑素生成的调控。

现在医学中常用的脱色剂等虽对黄褐斑有一定的疗效, 但长期应用容易产生毒副作用。中药因其毒副作用小, 疗效较好, 受到越来越多的关注。陈龙等^[12]通过研究发现养颜青娥丸对黑素细胞的增殖以及酪氨酸酶的活性有抑制作用, 对黑素合成的量也有降低作用, 认为养颜青娥丸具有治疗黄褐斑的作用。养颜青娥丸处方中的君药杜仲对黑素细胞增殖及酪氨酸酶活性有抑制作用且对黑素合成有降低作用, 对黄褐斑有一定的治疗作用^[12]。李洪武^[13]等用中波紫外线 (UVB) 诱导豚鼠背部肤色素沉着后用白术、茯苓、山茱萸等乙醇提取物治疗, 可显著抑制 TYR 活性, 茯苓、白术乙醇提取物能在基因转录水平下调豚鼠皮肤酪氨酸酶 mRNA 表达抑制酶蛋白生物合成。我们通过从 ER 信号通路角度, 探索植物雌激素成分黄芩素对相关细胞信号通路的调控作用, 推测中药植物雌激素治疗黄褐斑的分子机制, 探讨黄芩素对黄色斑等色素性皮肤病可能具有的治疗作用, 为合理利用中药植物雌激素防治黄褐斑等皮肤色素沉着疾病提供理论基础, 更好的指导临床用药。

参考文献:

- [1] 姜泽群. 几种中药有效成分促黑色素生成的机制研究 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2009.
- [2] Jang J Y, Kim H N, Kim Y R, *et al.* Partially purified components of *Nardostachys chinensis* suppress melanin synthesis through ERK and Akt signaling pathway with cAMP down-regulation in B16F10 cells [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 137 (3): 1207-1214.
- [3] Xu Y, Zhang Z J, Geng F, *et al.* Treatment with Qing' E, a kidney invigorating Chinese herbal formula, antagonizes the estrogen decline in ovariectomized mice [J]. *Rejuvenation Res*, 2010, 13(4): 497-488.
- [4] 李晓红, 栗玉珍, 党 林, 等. 黄芩素通过 ERK 途径抑制黑素生成 [C] //中华医学会第 16 次全国皮肤性病学术年会摘要集. 广州: 中华医学会皮肤性病学会分会, 2010.
- [5] Cohen P. The search for physiological substrates of MAP and SAP kinases in mammalian cells [J]. *Trends Cell Biol*, 1997, 7(9): 353-361.
- [6] Cayce K A, Mcmichael A J, Feldman S R. Hyperpigmentation: an overview of the common afflictions [J]. *Dermatol Nurs*, 2004, 16(5): 401-406, 413-416, 417.
- [7] Hashimoto Y, Ito Y, Kato T, *et al.* Expression profiles of melanogenesis-related genes and proteins in acquired melanocytic nevus [J]. *J Cutan Pathol*, 2006, 33(3): 207-215.
- [8] Lu F, Yan D, Zhou X, *et al.* Expression of melanin-related genes in cultured adult human retinal pigment epithelium and uveal melanoma cells [J]. *Mol Vis*, 2007, 13 (3): 2066-2072.
- [9] Fang D, Kute T, Setaluri V. Regulation of tyrosinase-related protein-2 (TYRP-2) in human melanocytes: relationship to growth and morphology [J]. *Pigment Cell Res*, 2001, 14 (2): 132-139.
- [10] 赵玲玲, 张理平. 抑制酪氨酸酶药物研究新进展 [J]. 海峡药学, 2009, 21(12): 124-126.
- [11] 徐维恒, 肖 雷, 马宜明. 黄芩素对乳腺癌细胞 MCF-7 和 MDA-MB-231 增殖的影响 [J]. 中国药师, 2011, 14(1): 26-28.
- [12] 陈 龙, 郑 义, 高 进, 等. 养颜青娥丸对小鼠 B16 黑素瘤细胞株黑素合成和酪氨酸酶的影响 [J]. 中国医院药学杂志, 2002, 22(3): 151-153.
- [13] 李洪武, 朱文元, 夏明玉, 等. 白术及茯苓提取物对豚鼠皮肤酪氨酸酶 mRNA 基因表达水平的影响 [J]. 中华皮肤科杂志, 2001, 34(2): 134-135.