

## 天然产物对毛发色素的调节作用研究进展

韩明暖, 李云飞, 陆建美, 俞捷\*, 赵荣华\*

云南中医学院中药学院, 云南 昆明 650500

**摘要:** 毛发的颜色不仅受年龄、环境因素的影响, 还受到众多因子的调控, 其中主要有阿黑皮素原 (POMC)、黑色素细胞刺激素 ( $\alpha$ -MSH)、黑色素 1 受体 (MC1R)、小眼畸形相关蛋白因子 (MITF)、酪氨酸酶 (TYR)、酪氨酸相关蛋白酶 1 (TRP-1)、酪氨酸相关蛋白酶 2 (TRP-2)、刺鼠信号蛋白 (ASIP) 等。毛发颜色的异常常被认为是衰老的特征, 给患者带来巨大的心理压力, 但相关的治疗药物目前尚属空白。总结了天然药物对毛发颜色的影响程度和作用方式, 以期阐明天然药物在治疗须发早白方面可能的作用途径及靶点, 为从天然产物中寻找发掘新的药物奠定基础。

**关键词:** 毛发; 色素; 黑色素; 天然产物; 分子调控; 新药发现

**中图分类号:** R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253 - 2670(2015)09 - 1393 - 06

**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.09.024

## Advances in study on regulation of hair pigment expression by natural products

HAN Ming-nuan, LI Yun-fei, LU Jian-mei, YU Jie, ZHAO Rong-hua

College of Chinese Materia Medica, Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500, China

**Abstract:** Hair color is affected not only by genetic, age, and environmental factors, but also by the regulation of many cytokines and proteins. The generation of melanin is mainly regulated by POMC,  $\alpha$ -MSH, MC1R, MITF, tyrosinase, TRP-1, TRP-2, ASIP, etc. Hair color anomaly is often considered to be a feature of aging which brings great psychological pressure to the people, but the treatment by relevant drugs is still blank. This article summarizes the effect target and the function ways of those natural medicines with great efficacy on the treatment of hair graying. This review may provide some theoretical basis for the application of natural medicines in the treatment of hair graying.

**Key words:** hair; pigment; melanin; natural products; molecular regulation; new drug discovery

须发早白是人体衰老和许多疾病发病早期的重要现象, 目前的预防措施和治疗效果不佳, 亦无专属或特效药物, 天然药物因其成分多样及联合用药较多, 不仅在促进毛发生长方面<sup>[1]</sup>, 在须发早白治疗领域也具有一定的优势和前景。本文对近年来关于毛发中色素表达的调节蛋白、细胞因子、激素、涉及的信号通路及天然产物在这一领域的治疗作用及可能的靶点进行总结, 为天然药物在治疗发白方面提供可能的理论基础, 为今后在乌发中的新靶点和天然药物的有效成分的研究提供依据。

### 1 黑色素的形成过程与影响因素

头发的颜色是由发干细胞中颜料质粒产生的。这些质粒呈卵圆形或棒状, 皮质中大量的颜料质粒产生头发颜色, 在髓质中也有质粒存在, 头发越黑, 质粒越大<sup>[2]</sup>。

从毛发的结构上来看, 黑色素细胞起源于胚胎神经嵴, 在胚胎发育第 7 周进入表皮<sup>[3]</sup>, 阿黑皮素原为黑色素的前体, 经分解可产生黑色素。促黑色素细胞激素 ( $\alpha$ -MSH) 来源于其前体激素阿黑皮素原 (POMC)<sup>[4]</sup>。在黑色素生成路径中, 通过 G 蛋白偶联受体介导的跨膜信号转导途径合成黑色素。 $\alpha$ -MSH 与黑色素细胞膜上的黑皮激素受体 (MC1R) 结合后可激活鸟苷酸结合蛋白 (Gs 蛋白), Gs 蛋白激活膜内侧的腺苷酸环化酶 (AC), AC 的活化使细胞内环磷酸腺苷 (cAMP) 水平升高, 后者能活化蛋白激酶 A (PKA), 导致 CREB (cAMP-responsive element-binding) 的磷酸化。磷酸化的 CREB 可激活小眼畸形相关转录因子 (MITF), MITF 通过调控黑素生成相关基因的表达而调节黑色素细胞的分化、增殖和存活<sup>[5-6]</sup>。

收稿日期: 2014-11-19

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81060337, 81260553, 81460623); 云南省应用基础研究重点项目 (2014FA035); 云南省应用基础研究面上项目 (2010ZC105, 2012FD043); 南药协同创新中心项目 (30270100500)

作者简介: 韩明暖 (1988—), 女, 硕士研究生, 研究方向为天然药物作用及机制研究。Tel: 13095368108 E-mail: 410816390@qq.com

\*通信作者 俞捷, 女, 博士, 副教授, 硕士研究生导师, 主要从事药理学及药物分析学研究。Tel: 15887251422 E-mail: cz.yujie@gmail.com  
赵荣华, 男, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事中药炮制研究。Tel: 13888074508 E-mail: kmzhaoronghua@hotmail.com

黑色素的形成主要是由黑色素细胞内的 4 种酶：酪氨酸酶 (tyrosinase)、多巴异构酶 (TRP-2)、过氧化酶、5,6-二羟基吲哚羧酸即 DHICA 氧化酶 (TRP-1) 等酶单独或协同作用的结果<sup>[2]</sup>。其中酪氨酸酶是黑素合成中最为关键的限速酶，催化黑素合

成过程的前 2 步 (即羟化 L-酪氨酸成 L-多巴和氧化后者成为多巴醌)，其表达和活性决定着黑素生成的速度和产量；TRP-2 作为多巴色素互变异构酶，维持黑色素中酚的成分，而 TRP-1 则能氧化 TRP-2 产生的 5,6-二羟基吲哚羧酸 (图 1)<sup>[7-8]</sup>。

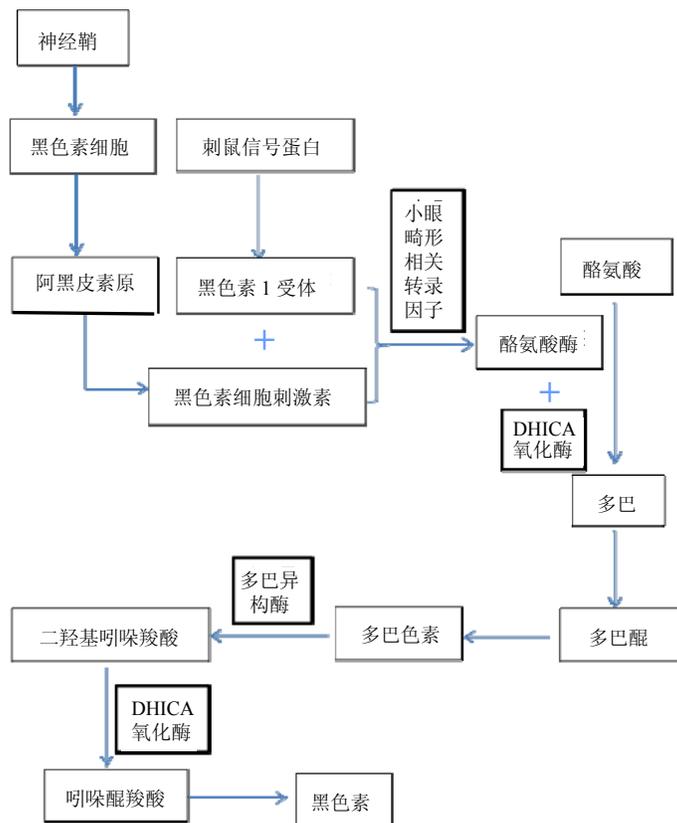


图 1 黑色素的形成过程

Fig. 1 Formation process of melanin

Agouti 位点编码刺激信号蛋白 (ASIP)，它是旁分泌信号分子，与  $\alpha$ -MSH 竞争性结合 MC1R，引起 cAMP 水平下降，从而使黑色素的量减少，伪黑色素相对增加<sup>[9]</sup>。

## 2 调节毛发色素的相关因素及天然药物对这些因素的调控作用

### 2.1 毛发黑色素生成过程中相关蛋白的研究

**2.1.1 ASIP** ASIP 是由邻近黑素细胞的乳头状细胞分泌的旁分泌信号蛋白，含 137 个氨基酸，由刺激信号基因位点 (agouti gene locus) 编码，ASIP 的表达导致暗黑素的合成<sup>[10]</sup>。

ASIP 在人和小鼠体内均有表达。ASIP 能拮抗  $\alpha$ -MSH 而竞争性地结合在 MC1R 上，因而抑制腺苷酸环化酶活性，增加褐黑素的合成。过表达 ASIP 使得小鼠被毛表现为黄色；ASIP 的失活突变，使得 C57BL6 小鼠毛色为黑色。此外，研究表明 ASIP 基

因 3' 非翻译区的一个单核苷酸多态性与深发色及棕色眼睛相关<sup>[11]</sup>。

而且 ASIP 与 MC1R 结合后能抑制  $\alpha$ -MSH 对 MC1R 的激动作用，同时使黑色素细胞从合成优黑素向合成褐黑素转变，使皮肤着色能力降低<sup>[12]</sup>。

**2.1.2 MITF** MITF 是一个含碱性-螺旋-环-螺旋 (basic-Helix-Loop-Helix, bHLH) 和亮氨酸拉链 (leucine zipper) 的转录因子，它可以结合到靶基因启动子的特定保守序列 M-(AGTCATGTGCT) 框和 E-(CATGTG) 框，调控酪氨酸酶、TRP-1、TRP-2 和 PKC- $\beta$  等基因的转录<sup>[13]</sup>。磷酸化的 MITF 结合在 M-框或 E-框保守序列，激活靶基因转录<sup>[14]</sup>，但同时磷酸化状态会降低 MITF 的稳定性，加快其在蛋白酶体中的降解<sup>[15]</sup>。最新研究表明，MITF 也是 *ashen* (Rab27a<sup>ash</sup>) 的一个关键转录因子<sup>[16]</sup>，Rab27a 通过与另外 2 种蛋白相互作用，在黑素体的运输中

发挥重要作用<sup>[17]</sup>。因此, MITF 在黑色素合成、黑色素体运输中起重要作用<sup>[18]</sup>。六味地黄通络方能促进黑色素合成途径相关基因 TRP1 和 MITF 的表达, 从而增强酪氨酸酶的活性和黑色素的合成<sup>[19]</sup>。

**2.1.3  $\alpha$ -MSH 与 MC1R**  $\alpha$ -MSH 来源于 POMC, POMC 是一个相对分子质量为 31 000 的大分子糖蛋白, 含有 240 个氨基酸, 主要在下丘脑弓状核、下丘脑背侧区、隔区及垂体前叶、中叶表达, 在其他外周组织主要由 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞、单核细胞、角朊细胞、黑色素细胞以及朗格汉斯细胞等表达<sup>[20]</sup>。角质化细胞产生的  $\alpha$ -MSH 在体内可能是黑色素细胞的自然生长因子。现已证实在皮肤黑色素细胞和毛囊存在多种生长因子和细胞因子以及它们的受体<sup>[21]</sup>。

MC1R 又称促黑色素细胞激素受体, 也是由毛色扩展位点编码而成<sup>[22]</sup>, 是一种由 317 个氨基酸构成的肽类物质, 属于 G 蛋白耦合受体, 是  $\alpha$ -MSH 的受体<sup>[23]</sup>。 $\alpha$ -MSH 通过与其黑色素细胞表面受体 MC1R 结合, 激活腺苷酸环化酶提高细胞内 cAMP 水平, 还可以使黑色素细胞内酪氨酸酶的表达增加、活性增强, 调控黑色素生成增加, 并优先刺激真黑素的合成<sup>[24]</sup>, 同时对维持和调节黑色素细胞的树突形成、增殖功能起着重要的调节作用<sup>[25]</sup>。刺蒺藜水提物引起皮肤黑色素细胞内聚集的  $\alpha$ -MSH 除了可以直接激活其受体 MC1R, 还可使黑色素细胞内酪氨酸酶的表达增加<sup>[26]</sup>。

**2.1.4 酪氨酸酶、TRP-1 和 TRP-2** 酪氨酸酶定位于黑素体膜上, 其编码基因 TYR 位于人类第 11 号染色体, 有 5 个外显子和 4 个内含子。酪氨酸酶基质结构域约占此蛋白的 90%, 其中包含了催化部位。催化部位的组氨酸残基会结合铜离子, 这对于酪氨酸酶的活性是必需的。酪氨酸酶的跨膜结构域和胞浆结构域约由 30 个氨基酸残基组成<sup>[27]</sup>。TRP-1 和 TRP-2 是 2 种酪氨酸酶相关蛋白 (tyrosinase-related proteins, TRP), 它们的氨基酸残基与酪氨酸酶约有 40% 的同源性, 而且在结构上与酪氨酸酶相关, 这表明它们有共同的祖先基因。TRP-1 位于人类第 9 号染色体, TRP-2 位于人类第 13 号染色体, 二者均含有 8 个外显子和 7 个内含子。与酪氨酸酶类似, TRP-1 和 TRP-2 也是定位于黑素体膜上的跨膜蛋白, 尽管它们确切的功能还没有阐释清楚, 但 TRP-1 的突变可引起肤色和发色变浅<sup>[28]</sup>。TRP-1 能与磷酸化的酪氨酸酶形成复合体, 从而可能对酪氨酸酶的激活和

(或) 稳定起作用<sup>[29]</sup>, 抑制 TRP-1 的表达会引起黑素体的结构异常<sup>[30]</sup>。TRP-2 可与酪氨酸酶和 TRP-1 形成复合物<sup>[31]</sup>, 在黑色素合成过程中, TRP-2 将多巴色素 (DOPAchrome) 催化为羧化物衍生物 DHICA。与酪氨酸酶类似, TRP-2 的酶活性同样需要金属离子, 但它需要的是锌离子, 而不是铜离子<sup>[18,32]</sup>。有报道表明丹参用甲醇作提取剂再用乙醚萃取后对酪氨酸酶的激活率可达 266.17%<sup>[33]</sup>。

## 2.2 毛发黑色素生成过程中相关通路的研究

**2.2.1 cAMP-PKA 信号通路与黑色素生成的关系** cAMP-PKA 介导的磷酸化反应在黑色素生成过程中具有重要作用。在黑色素细胞中, 活化的 PKA 在核内的主要靶标蛋白是 CREB, 它可以上调 MITF 的转录, 促使 MITF 结合到酪氨酸酶基因启动子的 M 框上, 激活酪氨酸酶的表达, 从而促进黑色素的生成。毛喉素 (forskolin) 是一种从薄荷科植物块茎中提取的二萜类化合物, 是一种血小板聚集抑制剂, 也是一种腺苷酸环化酶的特异激动剂, 可以快速增加细胞内 cAMP 的浓度并增强 PKA 的活性, 激活 AC-cAMP-PKA 信号通路。目前有研究发现将毛喉素添加到细胞培养基中, 能够提高细胞内 cAMP 水平, 激活 cAMP-PKA 信号传导途径, 诱导黑色素细胞分裂, 从而促使黑色素的生成<sup>[34]</sup>。

**2.2.2 丝裂原活化蛋白激酶 (MAPKs) 途径与黑色素生成的关系** 近年来 p38 MAPK 被发现参与了压力诱导的黑色素生成过程,  $\alpha$ -MSH 和紫外线辐射都被发现可激活 p38 MAPK 信号通路, 促进类似 MITF 的转录因子 USF-1 的磷酸化, 使其进一步结合并激活酪氨酸酶启动子<sup>[35]</sup>。有研究发现 p38 MAPK 信号通路在胎盘类脂促进黑色素生成的过程中扮演了重要角色, 这一作用是通过上调酪氨酸酶基因的表达来实现的<sup>[36]</sup>。与此相反, ERK 作为细胞增殖和分化的信号调控因子, 它的激活会引起 MITF 在 73 位丝氨酸的磷酸化, 并伴随着 MITF 的降解<sup>[37-38]</sup>, 从而导致酪氨酸酶活性下降和黑素生成的减少<sup>[39]</sup>。JNK/SAPK 信号通路则被发现可以通过降低 CREB 的磷酸化水平来抑制 MITF 和酪氨酸酶基因的表达, 从而导致黑色素生成的减少<sup>[40]</sup>。何首乌的有效成分二苯乙烯苷可通过激活有丝分裂原活化蛋白激酶 p38MAPK 和转录因子 MITF, 促进酪氨酸酶基因的表达, 增强酪氨酸酶的活性<sup>[41]</sup>。

**2.2.3 磷脂酰肌醇-3-激酶 (PI3K) 信号途径与黑色素生成的关系** PI3K 是与细胞内信号转导有关的脂类

第2信使。近年来的研究发现 PI3K 信号途径的抑制会引起 MITF 在丝氨酸 298 位的磷酸化, 促进酪氨酸酶基因的转录, 从而上调黑色素的生成<sup>[42]</sup>, 而 PI3K 信号途径的激活则会抑制黑色素的生成<sup>[42-43]</sup>。

天然药物成分活性多样且存在多种联合用药形式, 在促进毛发黑色素生成领域广为应用, 本文将目前在乌发治疗中常用的天然药物及其作用进行总结, 见表 1。

表 1 天然药物在乌发领域的应用及作用靶点

Table 1 Application and targets of natural medicine in hair-blackening field

| 药物  | 在乌发中的作用   |
|---|---|
| 几种常见乌发组方 <sup>[44]</sup><br>组方 1: 侧柏叶 20 g、何首乌 10 g、地骨皮 10 g、防风 10 g<br>组方 2: 侧柏叶 20 g、女贞子 10 g、旱莲草 20 g、桑甚 10 g、黄芩 10 g、薄荷 10 g<br>组方 3: 桑白皮 10 g、侧柏叶 10 g<br>组方 4: 蔓荆子 10 g、侧柏叶 10 g、川芎 10 g、桑白皮 10 g、旱莲草 10 g、藁本 10 g<br>组方 5: 黄芪 10 g、当归 10 g、独活 10 g、川芎 10 g、芍药 10 g、防风 10 g、辛夷 10 g、地黄 10 g、藁本 10 g、薤白 10 g<br>组方 6: 薄荷 10 g、川芎 10 g、骨碎补 10 g、旱莲草 15 g、何首乌 20 g、黑芝麻 20 g、女贞子 15 g、干姜 10 g、菟丝子 15 g、夏枯草 15 g、泽兰 15 g | 组方 1~6 水提物和组方 2、3、4、5、6 醇提物均具有激活酪氨酸酶的作用; 组方 1、2、3、5 水提物和组方 2、4、5、6 醇提物具有促细胞增殖作用; 全部组方水提物和醇提物均具有促进黑色素合成的作用   |
| 刺蒺藜 <sup>[26]</sup>   | 刺蒺藜水提物引起皮肤黑色素细胞内聚集的 $\alpha$ -MSH 除了可以直接激活其受体 MC1R, 使黑色素细胞内酪氨酸酶的表达增加、活性增强, 黑色素合成增加, 并优先刺激优黑素的合成来调节皮肤色素沉着  |
| 丹参 <sup>[33]</sup>  | 丹参用甲醇作提取剂再用乙醚萃取可得到较多的有效成分, 对酪氨酸酶的激活率可达 266.17%  |
| 薄荷 <sup>[45]</sup>  | 薄荷水提物对酪氨酸酶具有较强的激活作用。在一定浓度范围内, 随着剂量的增加, 激活作用增强   |
| 补骨脂 <sup>[46-47]</sup><br>东宫生发乌发液 <sup>[48]</sup><br>何桑 2 号 <sup>[49]</sup> : 制首乌 75 g、女贞子 60 g、桑白皮 60 g、当归 60 g、川芎 60 g、桑椹子 50 g、川椒 50 g、蒲公英 50 g、补骨脂 50 g、紫草 50 g、丁香 50 g<br>黑芝麻 <sup>[41,50]</sup>   | 对酪氨酸酶有明显的激活作用<br>促进 B16 黑素瘤细胞增殖; 对酪氨酸酶有明显的激活作用增加酪氨酸酶活性  |
| 何首乌 <sup>[41]</sup>   | 0.5~2.0 mg/mL 质量浓度内的黑芝麻水提液作用于 B16 黑素瘤细胞 72 h 后, 均可促进黑色素瘤细胞酪氨酸酶活性的增高和黑色素量的增多, 且黑芝麻水提液也能够促进黑色素细胞的增殖; 芝麻中具有显著增色作用的有效成分芝麻素可通过激活有 p38 MAPK 和 cAMP 依赖的 PKA 信号通路来上调酪氨酸酶和 MITF 基因的表达, 从而促进 B16 黑素瘤细胞中黑色素的生成   |
| 六味地黄通络方 <sup>[19]</sup> : 生地黄 15 g、山药 15 g、山茱萸 12 g、茯苓 15 g、牡丹皮 15 g、泽泻 15 g、补骨脂 15 g、白芷 15 g、全蝎 12 g、僵蚕 9 g、乌梢蛇 9 g、桃仁 12 g、红花 12 g、丹参 30 g<br>人参 <sup>[51]</sup>  | 何首乌水提物和醇提物对蘑菇酪氨酸酶和黑色素均有不同程度的激活作用, 其中水提物的激活作用更为明显; 何首乌的有效成分二苯乙烯苷可通过激活 p38 MAPK 和转录因子 MITF, 促进酪氨酸酶基因的表达, 增强酪氨酸酶的活性, 从而上调 B16 黑素瘤细胞中黑色素的生成<br>增强 M14 黑色素瘤细胞的增殖、酪氨酸酶的活性、黑色素的合成和促进黑色素合成途径相关的基因 TYRP1 和 MITF 的表达<br>人参皂苷 Rb <sub>1</sub> 可促进正常人黑素细胞的黑色素合成和酪氨酸酶活性; PKA/CREB/MITF/酪氨酸酶信号通路参与了人参皂苷 Rb <sub>1</sub> 的促黑色素生成机制 |

### 3 结语

毛发的颜色受到多种信号通路和相关蛋白的影响,天然产物对这些因素的影响也得到了一些研究的证实,但天然药物在治疗须发早白领域依然由于活性成分不清、作用靶点研究尚不清晰、制剂形式单一等原因而受到一定限制,尚未得到充分的发掘及应用。本文总结了天然药物对毛发颜色的影响程度和作用方式,以期阐明天然药物在治疗须发早白方面可能的作用途径及靶点,为从天然产物中寻找、发掘新的治疗药物奠定基础。

### 参考文献

- [1] 李云飞,林佩,贺嫣然,等.天然药物对毛发生长影响因素调节作用的研究进展[J].中草药,2014,45(11):1655-1662.
- [2] 孙婧.天然中草药中乌发成分的提取和性能测定[D].无锡:江南大学,2005.
- [3] 张琳西.黑素细胞研究的进展[J].中国美容医学,2000,9(3):174-176.
- [4] Wakamatsu K, Graham A, Cook D, et al. Characterisation of ATCH peptides in human skin and their activation of the melanocortin-1 receptor [J]. *Pigment Cell Res*, 1997, 10(5): 288-297.
- [5] Goding C R. Mitf from neural crest to melanoma: signal transduction and transcription in the melanocyte lineage [J]. *Genes Dev*, 2000, 14(14): 1712-1728.
- [6] Steingrimsson E, Copeland N G, Jenkins N A. Melanocytes and the microphthalmia transcription factor network [J]. *Annu Rev Genet*, 2004, 38(2): 365-411.
- [7] Camaeho-Hubner A, Beermann F. Cellular and molecular features of mammalian pigmentation-tyrosinase and TRP [J]. *Pathol Biol*, 2000, 48(6): 577-583.
- [8] Malliek S, Singh S K, Sarkar C, et al. Human Placental lipid induces melanogenesis by increasing the expression of tyrosinase and its related proteins *in vitro* [J]. *Pigment Cell Res*, 2005, 18(1): 25-33.
- [9] Ollmann M M, Lamoreux M L, Wilson B D, et al. Interaction of agouti protein with the melanocortin 1 receptor *in vitro* and *in vivo* [J]. *Genes Dev*, 1998, 12(3): 316-330.
- [10] McNulty J C, Jackson P J, Thompson D A, et al. Structures of the agouti signaling protein [J]. *J Mol Biol*, 2005, 346(4): 1059-1070.
- [11] Kanetsky P A, Swoyer J, Panossian S, et al. A polymorphism in the agouti signaling protein gene is associated with human pigmentation [J]. *Am J Hum Genet*, 2002, 70(3): 770-775.
- [12] 薛春雨,邢新,李鑫,等.刺鼠信号蛋白对自体移植皮片中黑素细胞功能的影响[J].第二军医大学学报,2006,27(9):969-972.
- [13] Park H Y, Wu C, Yonemoto L, et al. MITF mediates cAMP-induced protein kinase C-beta expression in human melanocytes [J]. *Biochem J*, 2006, 395(3): 571-578.
- [14] Hemesath T J, Price E R, Takemoto C, et al. MAP kinase links the transcription factor Microphthalmia to c-K itsignalling in melanocytes [J]. *Nature*, 1998, 391(6664): 298-301.
- [15] Xu W D, Gong L M, Haddad M M, et al. Regulation of microphthalmia-associated transcription factor MITF protein levels by association with the ubiquitin-conjugating enzyme hUBC9 [J]. *Exp Cell Res*, 2000, 255(2): 135-143.
- [16] Chiaverini C, Beuret L, Flori E, et al. Microphthalmia-associated transcription factor regulates RAB27A gene expression and controls melanosome transport [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(18): 12635-12642.
- [17] Du J Y, Miller A J, Widlund H R, et al. MLANA/MART1 and SILV/PMEL17/GP100 are transcriptionally regulated by MITF in melanocytes and melanoma [J]. *Am J Pathol*, 2003, 163(1): 333-343.
- [18] 张军玉.黑色素代谢相关蛋白的研究进展[J].河南医学研究,2009,18(3):257-261.
- [19] 赵光.六味地黄通络方对人M14黑色素瘤细胞的增殖、酪氨酸酶活性及黑色素合成的影响[D].泸州:泸州医学院,2013.
- [20] 路秀英.α-促黑激素抗炎作用研究进展[J].中国神经免疫学和神经病学杂志,2003,10(2):137-140.
- [21] Akiyama M, Smith L T, Holbrook K A. Growth factor and growth factor receptor localization in the hair follicle bulge and associated tissue in human fetus [J]. *J Invest Dermatol*, 1996, 106(3): 391-396.
- [22] Winder A, Kobayashi T, Tsukamoto, et al. The tyrosinase gene family-interactions of melanogenic proteins to regulate melanogenesis [J]. *Cell Mol Biol Res*, 1994, 40(7/8): 613-626.
- [23] 杨前勇,叶俊华,任军,等.黑素皮质激素受体1(MC1R)基因系统发育树与犬的毛色[J].遗传,2006,28(3):357-361.
- [24] Suzuki I, Cone R D, Im S, et al. Binding of melanotropic hormones to the melanocortin receptor MC1R on human melanocytes stimulates proliferation and melanogenesis [J]. *Endocrinology*, 1996, 137(5): 1627-1633.
- [25] 于志慧,白瑞,范瑞文,等.α-黑素细胞刺激素(α-MSH)对羊驼皮肤黑素细胞增殖和黑素生成的影响

- [J]. 畜牧兽医学报, 2010, 41(9): 1095-1101.
- [26] 顾为望, 路建伟, 杨柳. 刺蒺藜对豚鼠皮肤黑素细胞刺激素表达影响的研究 [J]. 辽宁中医杂志, 2007, 34(4): 527-529.
- [27] Park H Y, Gilchrist B A. Signaling pathways mediating melanogenesis [J]. *Mol Cell Biol*, 1999, 45(7): 919-930.
- [28] Boissy R E, Zhao H Q, Oetting W S, et al. Mutation in and lack of expression of tyrosinase-related protein-1 (TRP-1) in melanocytes from an individual with brown oculocutaneous albinism: A new subtype of albinism classified as "OCA 3" [J]. *Am J Hum Genet*, 1996, 58(6): 1145-1156.
- [29] Kobayashi T, Imokawa G, Bennett D C, et al. Tyrosinase stabilization by Tyrp1 (the brown locus protein) [J]. *J Biol Chem*, 1998, 273(48): 31801-31805.
- [30] Setaluri V. The melanosome: Dark pigment granule shines bright light on vesicle biogenesis and more [J]. *J Invest Dermatol*, 2003, 121(4): 650-660.
- [31] Wu H, Park H Y. Protein kinase C-beta-mediated complex formation between tyrosinase and TRP-1 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 311(4): 948-953.
- [32] Solano F, Martinezliarte J H, Jimenezcervantes C, et al. Dopachrome tautomerase is a zinc-containing enzyme [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1994, 204(3): 1243-1250.
- [33] 孙婧, 李鹏飞, 王建新. 丹参中活化酪氨酸酶的有效成分的研究 [J]. 日用化学工业, 2005, 35(3): 194-196.
- [34] Busca R, Ballotti R. Cyclic AMP a key messenger in the regulation of skin Pigmentation [J]. *Pigment Cell Res*, 2000, 13(2): 60-69.
- [35] Galibert D M, Carreira S, Goding R C. The Usf-1 transcription factor is a novel target for the stress-responsive p38 kinase and mediates UV-induced tyrosinase expression [J]. *EMBO J*, 2001, 20(17): 5022-5031.
- [36] Sinh S K, Sarkar C, Mallick S, et al. Human Placental lipid induces Melanogenesis through p38 MAPK in B16F10 mouse melanoma cells [J]. *Pigment Cell Res*, 2005, 18(2): 113-121.
- [37] Hemesath T J, Price E R, Takemoto C, et al. MAP kinase links the transcription factor microphthalmia to c-Kit signalling in melanocytes [J]. *Nature*, 1998, 391(6664): 298-301.
- [38] Wu M, Hemesath T J, Takemoto C M, et al. c-Kit triggers dual phosphorylations, which couple activation and degradation of the essential melanocyte factor Mi [J]. *Genes Dev*, 2000, 14(3): 301-312.
- [39] Kim D S, Hwang E S, Lee J E, et al. Sphingosine-1-Phosphate decreases melanin synthesis via sustained ERK activation and subsequent MITF degradation [J]. *J Cell Sci*, 2003, 116(PT 9): 1699-1706.
- [40] Bu J, Ma P C, Chen Z Q, et al. Inhibition of MITF and tyrosinase by paeonol-stimulated JNK/SAPK to reduction of phosphorylated CREB [J]. *Am J Chin Med*, 2008, 36(2): 245-263.
- [41] 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.
- [42] Khaled M, Larribere L, Bille K, et al. Glycogen synthase kinase 3beta is activated by cAMP and plays an active role in the regulation of melanogenesis [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(37): 33690-33697.
- [43] Lee J, Jung K, Kim Y S, et al. Diosgenin inhibits melanogenesis through the activation of phosphatidylinositol-3-kinase pathway (PI3K) signaling [J]. *Life Sci*, 2007, 81(3): 249-254.
- [44] 张健. 不同中药组方乌发作用的体外实验研究 [D]. 广州: 南方医科大学, 2010.
- [45] Kubo I, Yokokawa Y, Kinoshita H. Tyrosinase inhibitors from Bolivian medicinal plants [J]. *J Nat Prod*, 1995, 58(5): 739-743.
- [46] 刘林兴, 吕淑琴, 梁艳凤, 等. 3396名中小学生学习情况的调查分析 [J]. 中国校医, 1993, 7(1): 21-23.
- [47] 朱铁君, 陈书元. 色素性皮肤病 [M]. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1996.
- [48] 苏盈盈. 东宫生发乌发液的药理活性研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2009.
- [49] 赵明川. 何桑 2 号凝胶乌发作用的实验研究 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2012.
- [50] 徐继敏. 黑芝麻水提液对鼠黑素瘤细胞黑色素生成及相关基因表达的影响 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2009.
- [51] 卢珊珊. 人参皂甙 Rb<sub>1</sub> 对人表皮黑素细胞黑色素生成的影响 [D]. 大连: 大连医科大学, 2011.