

DOI: 10.3969/j.issn.1004-4949.2025.16.014

细胞外基质修复对人体皮肤抗皱紧致功效的研究

许立博, 高学伟, 王 玥, 邹鹏飞, 李 颖, 刘斯月

[国珍健康科技(北京)有限公司, 北京 102200]

[摘要]目的 探究细胞外基质修复对人体皮肤抗皱紧致的功效。方法 于2024年9月-10月, 选取北京地区30名年龄在30~40岁的健康女性为研究对象, 筛选棕榈酰三肽-5、水解人参皂苷类及寡肽类物质作为核心活性成分, 设计含上述成分的乳液产品, 从细胞实验、斑马鱼模型实验以及人体功效实验3个维度对其抗皱紧致功效进行系统全面评估。结果 安全性测试显示, 受试产品鸡胚绒毛尿囊膜实验刺激性评分(IS)为0(无刺激性), 且30名受试者斑贴实验均无不良反应; 细胞实验中, 与对照组相比, 加入产品的实验组HFF-1细胞的糖胺聚糖(GAG)、弹性蛋白(ELN)、I型胶原蛋白、III型胶原蛋白、转化生长因子(TGF- β)含量分别提升32.80%、60.64%、16.47%、20.79%、13.11% ($P<0.05$); 斑马鱼实验中, 受试产品可使斑马鱼弹性蛋白相关基因(eln1)、I型胶原蛋白相关基因(col1a1a)相对表达量分别提升108.77%、20.61% ($P<0.05$); 人体自评结果显示, 30名受试者使用4周后, 肌肤滋润感、紧致度、皱纹淡化等6项评估指标均得到改善。结论 棕榈酰三肽-5、水解人参皂苷类及寡肽类物质具有明确的抗皱紧致功效, 且安全性良好, 可作为有效活性成分应用于抗皱化妆品的开发。

[关键词] 抗皱; 紧致; 细胞外基质修复; 多维度功效评估; 化妆品开发**[中图分类号]** R622**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1004-4949(2025)16-0056-05

Research on the Efficacy of Extracellular Matrix Repair in Anti-Wrinkle and Firming of Human Skin

XU Libo, GAO Xuewei, WANG Yue, ZOU Pengfei, LI Ying, LIU Siyue

[Guozhen Health Technology (Beijing) Co., Ltd., Beijing 102200, China]

[Abstract]**Objective** To explore the efficacy of extracellular matrix repair in anti-wrinkle and firming of human skin. **Methods** From September to October 2024, 30 healthy women aged 30-40 years in Beijing were selected as the research subjects. Palmitoyl tripeptide-5, hydrolyzed ginsenosides and oligopeptides were screened as core active ingredients, and a lotion product containing the above ingredients was formulated. The anti-wrinkle and firming efficacy was systematically and comprehensively evaluated from three dimensions: cell experiment, zebrafish model experiment and human efficacy experiment. **Results** Safety tests showed that the irritation score (IS) of the tested product in the chick embryo chorioallantoic membrane test was 0 (non-irritating), and there were no adverse reactions in the patch test of 30 subjects. In the cell experiment, compared with the control group, the contents of glycosaminoglycan (GAG), elastin (ELN), type I collagen, type III collagen and transforming growth factor (TGF- β) in HFF-1 cells of the experimental group with the product added were increased by 32.80%, 60.64%, 16.47%, 20.79% and 13.11%, respectively ($P<0.05$). In the zebrafish experiment, the tested product could increase the relative expression levels of zebrafish elastin-related gene (eln1) and type I collagen-related gene (col1a1a) by 108.77% and 20.61%, respectively ($P<0.05$). Human self-assessment results showed that after 4 weeks of use by 30 subjects, six evaluation indicators including skin hydration, firmness and wrinkle reduction were improved. **Conclusion** Palmitoyl tripeptide-5, hydrolyzed ginsenosides and oligopeptides have definite anti-wrinkle and firming effects and good safety, and can be used as effective active ingredients in the development of anti-wrinkle cosmetics.

[Key words] Anti-wrinkle; Firming; Extracellular matrix repair; Multi-dimensional efficacy evaluation; Cosmetic development

皮肤修复 (skin repair) 是应用符合生理机制的方法修复皮肤组织损伤、改善皮肤老化状态,恢复其屏障功能、形态美观及促进皮肤健康的学科领域^[1-4]。随着公众对皮肤健康与抗衰老的需求持续攀升,其中皱纹改善等皮肤老化问题尤为受到关注,这推动着皮肤修复领域从单一功能改善向兼顾整体修复与美学提升的复合方向发展。现代皮肤修复研究不仅关注特定皮肤问题的针对性改善,更强调从皮肤基质整体调控入手,实现多层次、系统化的修复效果。棕榈酰三肽-5、水解人参皂苷类及寡肽类物质作为皮肤修复领域的潜在活性成分,其在促进皮肤基质修复、改善皮肤状态等方面的作用已受到初步关注^[5, 6]。然而,现有研究多局限于单一成分或特定作用机制的探索,在整体修复效能及多维度验证方面仍存在不足^[7-9]。鉴于皮肤老化与基质成分变化的密切关联,以及抗皱需“防”“治”结合的核心特点^[9-12],本研究结合细胞实验、斑马鱼实验及人体功效实验3个维度,系统探究上述物质对人体皮肤基质的整体修复效能,旨在为抗皱紧致化妆品研发提供理论依据与实践参考,助力行业实现系统化、高效化的抗衰发展。

1 资料与方法

1.1 一般资料 于2024年9月-10月,选取北京地区30名年龄在30~40岁的健康女性为研究对象,均无皮肤疾病史、过敏史,且近3个月内未使用过其他抗皱紧致类护肤品。所有研究对象均充分知情本研究目的与流程,并签署知情同意书。研究期间,30名受试者按照规范使用指南,每日早晚两次涂抹产品于面部及颈部肌肤,持续试用4周,记录皮肤状态改变情况。在实验周期内,30名受试者分别于第0周(基线期)和第4周(试验结束期)填写标准化自我评价调查问卷。问卷围绕肌肤滋润感、柔软度、水润度、紧致度、弹性以及皱纹淡化6个核心维度,采用5分制李克特量表(1分=无改善;5分=显著改善),要求受试者基于自身肌肤触感、视觉变化及使用体验进

行主观评分。

1.2 产品 本研究受试产品为含目标活性成分的均相乳液,具体配方如下:以棕榈酰三肽-5(质量分数0.8%)、水解人参皂苷类(质量分数1%)、寡肽类(质量分数0.6%)为核心活性成分,其余组分作为基质载体,保障活性成分分散均匀性与产品稳定性,通过乳化工艺制备而成,产品外观呈乳白色,pH值控制在5.5~6.5。

1.3 方法

1.3.1 鸡胚绒毛尿囊膜实验 取样品(10%浓度)直接滴加于白来航鸡绒毛尿囊膜(CAM)表面,观察CAM反应,并记录作用5 min内其出血、凝血、血管溶解等每种毒性效应的初始出现时间^[13]。采用反应时间法进行实验,应用下式计算刺激性评分(IS),结果保留两位小数。

$$IS = \frac{(301 - \text{Sec H}) * 5}{300} + \frac{(301 - \text{Sec L}) * 7}{300} + \frac{(301 - \text{Sec C}) * 9}{300} \quad (1)$$

式中,Sec H(出血时间,hemorrhage time):CAM膜上观察到开始出血的平均时间,单位为秒(s);Sec L(血管溶解时间,vessel lysis time):CAM膜上观察到开始发生血管溶解的平均时间,单位为秒(s);Sec C(凝血时间,coagulation time):CAM膜上观察到开始发生凝血的平均时间,单位为秒(s)。当 $IS < 1$ 时,对应的刺激性分类为无刺激性;当 $1 \leq IS < 5$ 时,属于轻刺激性;当 $5 \leq IS < 9$ 时,为中度刺激性;当 $IS \geq 10$ 时,则被归类为强刺激性/腐蚀性。

1.3.2 化妆品刺激性评价 参考《化妆品安全技术规范》(2015版),通过对受试者前臂曲侧进行1%样品水溶液皮肤封闭斑贴实验,观察去除斑贴后0.5、24和48 h受试区域的皮肤状况,评估受试物是否具有刺激性,并判断其不良反应级别^[14]。按表1中标准观察皮肤反应并记录结果。若30例受试者中出现以下情况之一,判定受试物对人体有不良反应:1级皮肤不良反应人数>5例;2级皮肤不良反应人数>2例;出现任何1例3级或以上皮肤不良反应。

表 1 斑贴反应分级标准

反应程度	评分等级	皮肤反应
-	0	阴性反应
±	1	可疑反应: 仅有微弱红斑
+	2	弱阳性反应 (红斑反应): 红斑、浸润、水肿、可有丘疹
++	3	强阳性反应 (红斑反应): 红斑、浸润、水肿、可有丘疹; 反应可超出受试区
+++	4	极强阳性反应 (红斑反应): 明显红斑、严重浸润、水肿、融合性疱疹; 反应超出受试区

1.3.3细胞抗皱紧致实验 采用HFF-1人体成纤维细胞, 以 5×10^3 /孔的细胞密度 (每孔接种 $100 \mu\text{l}$) 接种于24孔板内, 置于细胞培养箱培养24 h。实验设实验组与对照组, 两组细胞均先经 $300 \text{ mJ}/\text{cm}^2$ 的UVB (中波紫外线) 照射处理。UVB照射后, 向孔内加入产品继续孵育24 h为实验组; UVB照射后, 孔内不加入产品继续培养24 h为对照组。培养周期结束后, 分别收集上清液, 采用酶联免疫吸附测定试剂盒测定糖胺聚糖 (GAG)、弹性蛋白 (ELN)、I 型/III型胶原蛋白、转化生长因子 (TGF- β) 的含量^[15, 16]。

1.3.4斑马鱼抗皱紧致实验 选取斑马鱼置于6孔板中, 每孔30尾, 以水溶方式给予样品, 同时设置正常对照组 (每孔容量为3 ml)。实验设3次生物学重复, 于28 ℃避光条件下孵育24 h后, 提取各实验斑马鱼总RNA, 并合成cDNA, 利用q-PCR技术检测 β -actin (内参基因) 和目的基因的基因表达。用 β -actin作为内参, 根据公式 (2) ~ (4) 计算目的基因的RNA相对表达量^[17]。

$$\text{RNA相对表达量} = 2^{-\Delta\Delta C(t)} \quad (2)$$

$$\Delta\Delta C(t) = \Delta C(t)_{\text{正常对照组}} - \Delta C(t)_{\text{样品组}} \quad (3)$$

$$\Delta C(t) = C(t)_{\text{目的基因}} - C(t)_{\beta\text{-actin}} \quad (4)$$

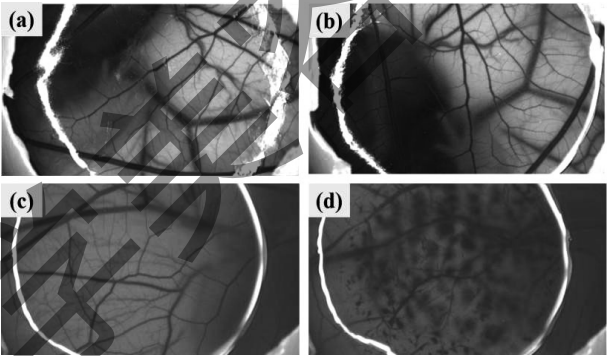
1.4 统计学方法 采用Excel进行数据统计, 计数资料以 $[n (\%)]$ 进行描述, 计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 进行描述。

2 结果

2.1 化妆品安全性测试

2.1.1鸡胚绒毛尿囊膜实验 如图1所示, 鸡胚绒毛尿囊膜实验结果显示, 加入10%样品5 min内, CAM膜未观察到出血、凝血及血管溶解现象 (SecH=301 s, SecL=301 s, SecC=301 s); 依据公式 (1) 计算10%样品的刺激性评分IS=0。进一步根据计算的IS值对受试物眼刺激性进行分

类, 鸡胚绒毛尿囊膜实验表明, 样品刺激性评分IS为0, 符合IS<1, 证明受试物无刺激性。



注: a: 加样前-10%样品; b: 加样5 min后-10%样品; c: 加样前-5%氢氧化钠; d: 加样5 min后-5%氢氧化钠。

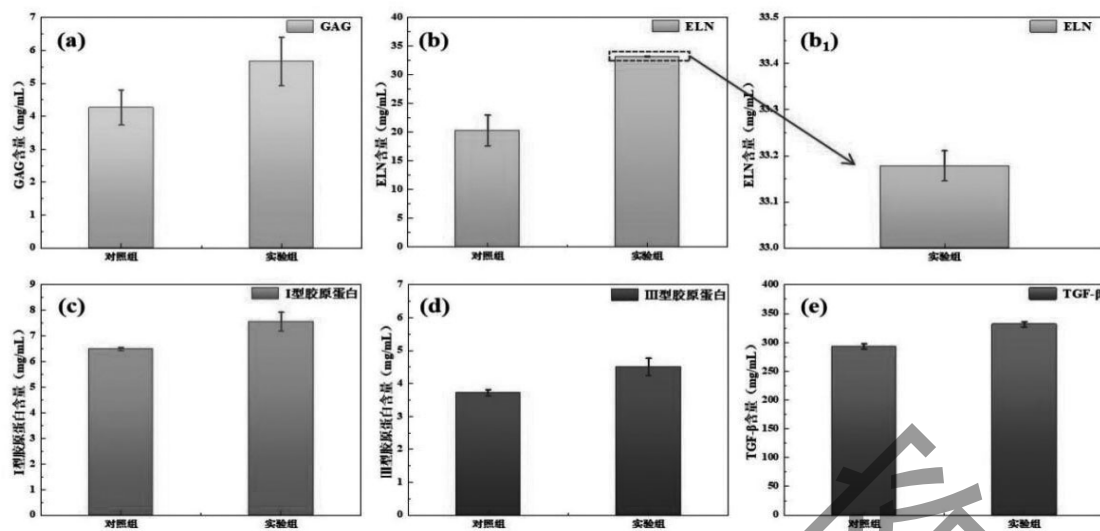
图 1 鸡胚绒毛尿囊膜实验结果

2.1.2化妆品刺激性评价 30名受试者均未出现皮肤不良反应, 表明测试样品对人体皮肤无刺激性反应, 斑贴反应分级评分均为0。综合鸡胚绒毛尿囊膜实验和化妆品刺激性评价结果, 自制样品符合《化妆品安全技术规范》无刺激性标准, 安全性良好。

2.2 细胞抗皱紧致实验 与对照组相比, 使用产品的实验组HFF-1细胞GAG、ELN、I 型/III型胶原蛋白、TGF- β 含量均提升, 其中GAG提升32.80%, ELN提升60.64%, I 型胶原蛋白提升16.47%, III型胶原蛋白提升20.79%, TGF- β 提升13.11% ($P<0.05$), 见图2。

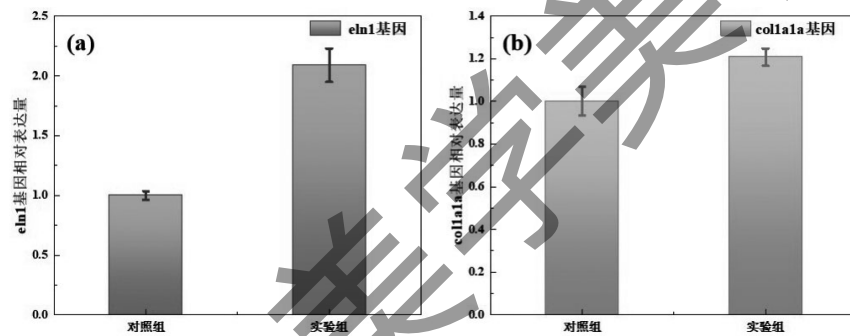
2.3 斑马鱼抗皱紧致实验 斑马鱼体内弹性蛋白 (elnl基因) 和I 型胶原蛋白 (colla1a基因) 的相关基因表达量均提升, 其中elnl基因相对表达量提升108.77%, colla1a基因的相对表达量提升20.61% ($P<0.05$), 见图3。

2.4 受试者自评评估结果 受试者使用后各维度的肌肤状态均优于使用前, 见表2。



注: a: GAG; b: ELN; c: I型胶原蛋白; d: III型胶原蛋白; e: TGF-β。

图2 抗皱紧致样品对UV照射后HFF-1细胞的细胞外基质含量的影响



注: a: eln1 基因; b: colla1a1 基因。

图3 斑马鱼弹性蛋白和I型胶原蛋白相关基因相对表达量

表2 受试者自评评估结果 [n (%), $\bar{x} \pm s$]

项目	1分		2分		3分	
	使用前	使用后	使用前	使用后	使用前	使用后
肌肤滋润感	0	0	3 (10.00)	0	15 (50.00)	0
肌肤柔软度	1 (3.33)	0	2 (6.67)	0	13 (43.33)	0
肌肤水润感	2 (6.67)	0	2 (6.67)	0	15 (50.00)	2 (6.67)
肌肤紧致度	0	0	6 (20.00)	0	20 (66.67)	2 (6.67)
肌肤弹性	0	0	6 (20.00)	0	12 (40.00)	0
皱纹淡化	2 (6.67)	0	5 (16.67)	0	12 (40.00)	0

项目	4分		5分		平均分 (分)	
	使用前	使用后	使用前	使用后	使用前	使用后
肌肤滋润感	12 (40.00)	14 (46.67)	0	16 (53.33)	3.300 ± 0.651	4.533 ± 0.507
肌肤柔软度	13 (43.33)	11 (36.67)	1 (3.33)	19 (63.33)	3.367 ± 0.809	4.633 ± 0.490
肌肤水润感	11 (36.67)	11 (36.67)	0	17 (56.67)	3.167 ± 0.834	4.500 ± 0.630
肌肤紧致度	3 (10.00)	10 (33.33)	1 (3.33)	18 (60.00)	2.967 ± 0.669	4.533 ± 0.629
肌肤弹性	12 (40.00)	11 (36.67)	0	19 (63.33)	3.200 ± 0.761	4.633 ± 0.490
皱纹淡化	11 (36.67)	12 (40.00)	0	15 (50.00)	3.067 ± 0.907	4.600 ± 0.498

3 讨论

在全球老龄化趋势加速与颜值经济深度融合的背景下,消费者对兼具安全性与有效性的抗皱紧致化妆品需求日益迫切。然而,当前行业研发存在一定局限,对多成分协调调控基质修复探索不足,功效验证体系缺乏多维度连贯证据,这些问题不仅制约着消费者对高效能产品诉求的满足,也阻碍了化妆品系统化、科学化的研发路径。本实验以棕榈酰三肽-5、水解人参皂草苷类及寡肽类物质为研究对象,从细胞、斑马鱼、人体试验等多维度,系统验证了成分协调搭配对细胞外基质的修复,从而达到抗皱紧致效果。

本研究结果显示,以棕榈酰三肽-5、水解人参皂草苷类及寡肽类物质为核心的祛皱紧致乳,在安全性与抗皱紧致功效上均表现优异。安全性层面,自制样品刺激性评分为0分,符合无刺激性标准;30名受试者斑贴实验全程未出现皮肤刺激或致敏现象。功效性方面,多维度实验共同揭示了其作用机制:在UV损伤的HFF-1细胞实验中,该产品可修复受损细胞外基质,其中GAG含量提升32.80%、ELN提升60.64%、I型及III型胶原蛋白分别提升16.47%和20.79%、TGF- β 提升13.14%,表明其能通过减少基质成分降解、促进关键调控因子表达,维持基质保水性与结构支撑;斑马鱼实验显示,elnl、colla1a1表达分别提升108.77%和20.61%,进一步证实其可通过上调相关基因表达,加速弹性蛋白与胶原蛋白合成,增强皮肤弹性网络完整性;人体受试者连续使用4周后,肌肤滋润感、紧致度等6项评估指标均得到改善,从临床层面验证了其从基质修复到外观改善的完整抗皱紧致效能。

综上所述,棕榈酰三肽-5、水解人参皂草苷类及寡肽类物质通过协调调控细胞外基质修复,在抗皱紧致方面展现出优异的安全性与效能。

[参考文献]

[1]陈丽美,高耀星,都日娜.胶原蛋白肽在皮肤光老化中的研究进展[J].内蒙古医学杂志,2024,56(12):1481-1484.
[2]杜克斯,李泽巧,张宝江,等.面部皮肤衰老的外观变化及形成因素[J].日用化学工业,2022,52(2):199-206.

[3]孙阳,招冠钰,黄英荷,等.皮肤老化过程中细胞及其作用机制的研究进展[J].安徽医科大学学报,2025,60(6):1160-1165.
[4]陈珩,王珏,周栩.紫外线辐射致皮肤老化机制的研究进展[J].组织工程与重建外科,2024,20(3):382-387.
[5]王莹,冷冷.细胞外基质(ECM)与类器官在皮肤组织修复中的作用[J].中国细胞生物学学报,2025,47(5):981-990.
[6]何杏杏,赵越,鲁朝刚,等.胶原蛋白、弹性蛋白、纤连蛋白在化妆品中的功效及评价研究[J].精细与专用化学品,2023,31(10):39-43.
[7]王文成,张亚文,马瑞,等.时序性老化中皮肤形态学的变化及MMP1、MMP12定量分析研究[J].宁夏医科大学学报,2022,44(5):459-465.
[8]张颖,贺芳,叶蓓,等.TGF- β_1 基因缺失对UVB辐射后小鼠皮肤损伤的影响[J].中国医药科学,2022,12(11):31-34,162.
[9]Kim YI, Kim KS, Ahn HJ, et al. Reduced matrix metalloproteinase and collagen transcription mediated by the TGF- β /Smad pathway in passaged normal human dermal fibroblasts[J]. J Cosmet Dermatol, 2020, 19(5):1211-1218.
[10]阮晖,竺莹莹,林思敏,等.基于功能微生物的抗皮肤光老化研究进展[J].香料香精化妆品,2025(1):71-78.
[11]Ansary TM, Hossain MR, Kamiya K, et al. Inflammatory Molecules Associated with Ultraviolet Radiation-Mediated Skin Aging[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(8):3974.
[12]Fraguas-Sánchez AI, Martín-Sabroso C, Torres-Suárez AI. The Chick Embryo Chorioallantoic Membrane Model: A Research Approach for Ex Vivo and In Vivo Experiments[J]. Curr Med Chem, 2022, 29(10):1702-1717.
[13]化妆品眼刺激性/腐蚀性的鸡胚绒毛尿囊膜试验:SN/T 2329-2009[S]. 2009.
[14]国家食品药品监督管理总局. 化妆品安全技术规范(2015年版)[S]. 2015.
[15]冯法晴,李静,陈亚非,等.化妆品抗皱、紧致功效评价(I)—实验室试验方法[J].香料香精化妆品,2024(5):56-63.
[16]刘金坤,房凡仁,李晓,等.人参组织培养物护肤品紧致抗皱功效的研究[J].中国化妆品,2024(6):96-100.
[17]浙江省健康产品化妆品行业协会. 化妆品紧致功效评价 斑马鱼幼鱼弹性蛋白基因相对表达量法:T/ZHCA 015—2022[S]. 2022.