吴佳辉, 袁永雷, 曲丽萍. L-精氨酸对小鼠皮肤光老化的改善作用及对皮肤 AQP3、FLG 表达的影响 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(6): 379−386. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025020218
WU Jiahui, YUAN Yonglei, QU Liping. Effects of L-Arginine on Skin Photoaging and Expression of AQP3 and FLG in Mice[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(6): 379−386. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025020218

·营养与保健·

L-精氨酸对小鼠皮肤光老化的改善作用及对皮肤 AQP3、FLG 表达的影响

吴佳辉[1], 袁永雷[1], 曲丽萍[1,2,*]
（1.云南贝泰妮生物科技集团股份有限公司, 云南昆明 650106;
2.云南特色植物提取实验室有限公司, 云南昆明 650106）

摘　要: 目的：探究 L-精氨酸对紫外线诱导的小鼠皮肤光老化的治疗效果及其潜在分子机制。方法：采用 UVB 和 UVA 联合辐照 C57BL/6J 小鼠成功构建皮肤光老化模型，与此同时采用口服与透皮给药两种途径对小鼠实施干预，然后测定各组小鼠血清中与皮肤功能性和氧化应激相关的指标，运用苏木精-伊红（HE）、马松（Masson）及甲苯胺蓝（TB）染色观察皮肤病理变化，并借助蛋白免疫印迹法（WB）和免疫荧光（IF）检测水通道蛋白 3（AQP3）和丝聚蛋白（FLG）的表达。结果：高剂量 L-精氨酸口服或透皮给药后，小鼠血清中 I 型胶原蛋白（CoL-I）、羟脯氨酸（HYP）、透明质酸（HA）及神经酰胺（CER）含量显著回升（P<0.05），总超氧化物歧化酶（T-SOD）和过氧化氢酶（CAT）活性增强（P<0.05），丙二醛（MDA）水平降低（P<0.05），表明机体抗氧化能力明显提升。与此同时，皮肤组织光老化的病理症状显著减轻，AQP3 和 FLG 的蛋白表达上调（P<0.05）。结论：L-精氨酸能够通过增强抗氧化能力、促进皮肤组织修复以及调节关键蛋白表达，有效改善光老化损伤，为功能性食品、功效性化妆品及药品的开发提供科学依据与多样选择。

关键词: L-精氨酸, 紫外线, 皮肤光老化, 抗氧化, 水通道蛋白 3, 丝聚蛋白
中图分类号: TS201.4　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)06−0379−08
DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025020218　　本文网刊:

Effects of L-Arginine on Skin Photoaging and Expression of AQP3 and FLG in Mice

WU Jiahui[1], YUAN Yonglei[1], QU Liping[1,2,*]
（1.Yunnan Botanee Bio-technology Group Co., Ltd., Kunming 650106, China;
2.Yunnan Characteristic Plant Extraction Laboratory Co., Ltd., Kunming 650106, China）

Abstract: Objective: To investigate the therapeutic effect of L-Arginine on ultraviolet-induced skin photoaging in mice and its potential molecular mechanism. Methods: C57BL/6J mice were irradiated with UVB and UVA to successfully establish a skin photoaging model. Meanwhile, the mice were intervened with oral and transdermal administration. Subsequently, the indicators related to skin function and oxidative stress in the serum of each group of mice were measured. Hematoxylin-eosin (HE), Masson, and toluidine blue (TB) staining were used to observe the pathological changes in skin structure. Western blot and immunofluorescence were employed to detect the expressions of aquaporin 3 (AQP3) and filaggrin (FLG). Results: Following oral or transdermal administration of high-dose L-arginine, we detected significant increases in the contents of collagen I, hydroxyproline, hyaluronic acid, and ceramide in the sera of mice (P<0.05). Furthermore, we detected the enhanced activities of total superoxide dismutase and catalase (P<0.05), whereas there were significant reductions in the levels of malondialdehyde (MDA) (P<0.05), thereby indicating a clear enhancement of the antioxidant

收稿日期: 2025−02−26
基金项目: 云南特色植物提取实验室自主研究项目基金（2022YKZY001, 2023YKZY004）。
作者简介: 吴佳辉（1996−）, 男, 硕士, 研究方向: 食药资源研究与开发, E-mail: wjh210512@163.com。
*** 通信作者:** 曲丽萍（1976−）, 女, 博士, 高级工程师, 研究方向: 功效植物研究与开发应用, E-mail: quliping@botanee.com。

capacities of mice. Concurrently, the pathological manifestations of photoaging in skin tissue were markedly alleviated, and we detected the up-regulated expression of AQP3 and FLG proteins (P<0.05). Conclusion: By enhancing antioxidant capacity, promoting skin tissue repair, and regulating the expression of key proteins, L-arginine can contribute to an effective alleviation of photoaging damage, thereby providing a scientific basis and diverse options for the development of functional foods, functional cosmetics, and drugs.

Key words: L-arginine; ultraviolet; skin photoaging; antioxidant; aquaporin 3 (AQP3); filaggrin (FLG)

皮肤作为人体表面积最大的器官系统，并且长期暴露于外界环境中，极易受到各种因素的影响[1]。其中，太阳辐射中的紫外线（UV）是导致皮肤衰老的主要外源性因素，由此引发的皮肤光老化问题备受关注。紫外线主要包括 UVA（320~400 nm）和 UVB（280~320 nm）两种类型[2]。其中，UVA 的穿透力较强，能够深入真皮层基质，通过诱导活性氧簇（ROS）的过度生成，使真皮弹性纤维网络结构受损，导致皮肤弹性下降和皱纹的形成，还能干扰黑色素细胞酪氨酸酶活性调控系统，引发异常色素沉积[3]。相比之下，UVB 因波长较短，主要作用于表皮角质层，但其高能量特性可以快速诱发 DNA 光损伤，且长期积累与表皮细胞恶性转化风险呈正相关[4]。更为关键的是，UVA 和 UVB 会协同破坏表皮-真皮连接结构，下调水通道蛋白 3（AQP3）表达，削弱皮肤水合能力；同时抑制丝聚蛋白（FLG）合成，导致角质层脂质排列紊乱，最终引发皮肤干燥、弹性下降等典型光老化表型[5]。随着健康意识的提高，研发高效且全面的光老化防治活性物质已成为皮肤科学领域的研究热点和迫切需求。

精氨酸（Arginine）是一种条件性必需氨基酸，广泛存在于肉类、鱼类及乳制品等天然食物中，以 L-精氨酸（L-Arginine）形式为主，且依据 GB 2760-2024 标准可作为食品用香料[6−8]。在皮肤生理调控方面，L-精氨酸作为一氧化氮（NO）合成的前体物质，通过激活 NO/cGMP 信号轴，能有效促进真皮成纤维细胞的胶原生物合成[9−10]；其抗氧化特性还可清除过氧亚硝基阴离子，阻断脂质过氧化链式反应，展现出多重光老化保护效应[11−12]。

在皮肤光老化进程中，AQP3 和 FLG 在维持皮肤水分稳态及屏障完整性方面发挥着核心作用[13]。其中，AQP3 作为跨膜水通道蛋白，通过构建水回路促进甘油及水分在细胞内的转运，从而确保皮肤水分含量稳定[14]。FLG 则主要富集于颗粒层和角质层，与角蛋白结合形成致密的角质层结构，并参与天然保湿因子的生成，共同构筑皮肤物理屏障[15]。近年来研究发现，L-精氨酸与 AQP3、FLG 存在潜在调控关联[16]。从分子机制来看，L-精氨酸结构中的碱性氨基可调节表皮微环境，促进尿素、吡咯烷酮羧酸（PCA）等天然保湿因子的合成，影响 AQP3 介导的水分转运及 FLG 降解产物积累[17−18]；在细胞信号转导层面，L-精氨酸可能通过激活 NO/cGMP 信号轴，间接调控 AQP3 和 FLG 的基因转录与蛋白表达[19−20]。然而，目前关于 L-精氨酸直接干预皮肤光老化的研究仍存在空白，其对 AQP3 和 FLG 表达的影响尚不明确。本研究通过构建小鼠皮肤光老化模型，系统探究 L-精氨酸对光老化损伤的改善作用，解析其对 AQP3 和 FLG 表达的调控机制，以期为功能性食品和美容制剂研究提供理论依据和实践指导。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

雄性 SPF 级 C57BL/6 小鼠　6 周龄，体重 20±2 g，实验动物生产许可证号：SYXK（辽）2018-0007、标准饲料　辽宁长生生物技术股份有限公司；L-精氨酸　纯度≥98%（HPLC），Sigma-Aldrich 公司；蛋白浓度测定（BCA）试剂盒、PVDF 膜　美国 Millipore 公司；卡波姆 940　上海麦克林生化科技股份有限公司；无水乙醇、甲醇、氯仿、异丙醇　分析纯，天津科密欧化学试剂有限公司；三羟甲基氨基甲烷（Tris）、牛血清蛋白（BSA）、磷酸盐粉末（PBS）、蛋白酶抑制剂（PMSF）、十二烷基硫酸钠（SDS）、吐温 20　上海碧云天生物技术有限公司；过氧化氢酶（CAT）、总超氧化物歧化酶（T-SOD）、丙二醛（MDA）试剂盒　南京建成生物工程研究所有限公司；小鼠 I 型胶原蛋白（CoL-I）、羟脯氨酸（HYP）、神经酰胺（Ceramide）、透明质酸（HA）ELISA 试剂盒　江苏酶标生物科技有限公司；Alpha Tubulin Polyclonal antibody、HRP-conjugated Goat Anti-Rabbit　武汉三鹰生物技术有限公司；Aquaporin 3 Rabbit pAb　成都正能生物技术有限责任公司；Filaggrin antibody　深圳欣博盛生物科技有限公司。

AL104 电子天平　梅特勒托利多科技（中国）有限公司；Multiskan MK3 酶标仪　美国赛默飞世尔科技公司；CF16RX 高速冷冻离心机　日立（中国）有限公司；XEPU-1235L 紫外辐照箱　上海析浦科学仪器有限公司；Ti2 倒置荧光显微镜　日本尼康公司；PowerPac HC 电泳仪、ChemiDoc XRS+化学发光成像仪　上海伯乐生命医学产品有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1　实验动物分组及造模　本实验均经大连医科大学动物保护与使用委员会批准（伦理登记号：AEE24067），所有实验步骤均遵照国家科学技术委员会公布的《实验动物管理条例》进行。小鼠于实验前在 SPF 级动物房进行为期 1 周的适应性饲养，饲养环境符合国家标准（GB 14925-2010）。随后，将 36 只 C57BL/6 雄性小鼠随机分为 6 组（n=6），分别

为正常对照组（Control 组）、模型组（Model 组）、L-精氨酸低、高剂量灌胃组（L-IG-Arg 和 H-IG-Arg）和 L-精氨酸低、高剂量凝胶组（L-TTS-Arg 和 H-TTS-Arg）。为了最大限度地还原人体皮肤光老化的致病环境，李张军等[21]采用 UVA 和 UVB 联合照射。实验开始前对所有组小鼠进行背部剃毛处理，形成约 4 cm×3 cm 大小的暴露区域，往后每隔 2 d 进行 1 次剃毛。除 Control 组外，其余 5 组均在距离 40 W 紫外线灯管（UVA+UVB）下 40 cm 处照射，3 次/周（周一、周三、周五）；第 1 周至第 3 周每次照射时间 UVB 分别为 18、37、56 min，UVA 分别为 35、58、66 min；以后每周照射时间维持在 UVB 为 75 min，UVA 为 117 min，共照射 8 周。

1.2.2　L-精氨酸的配制和给药方式　L-精氨酸溶液配制：将 L-精氨酸粉末溶于生理盐水中，确保充分溶解；L-精氨酸凝胶的制备：将 100 mL L-精氨酸生理盐水溶液与等量 2% 卡波姆溶液混合，调整 L-精氨酸凝胶浓度为 10 mg/mL 和 20 mg/mL，并用三乙醇胺调 pH 到 6.5 至透明，最后均于 4 ℃ 保存备用。从照射第 1 d 开始，所有小鼠在每次照射前 30 min 均接受灌胃和涂抹处理，正常对照组和模型组小鼠等体积灌胃生理盐水以及涂抹空白凝胶；L-精氨酸低、高剂量灌胃组分别给予灌胃 0.2 mL 100、200 mg/(kg·d)L-精氨酸溶液，涂抹等体积空白凝胶；L-精氨酸低、高剂量凝胶组分别在背部裸露皮肤上外涂 0.2 mL 10、20 mg/(mL·d)L-精氨酸凝胶，灌胃等体积生理盐水；直至小鼠结束照射。

1.2.3　小鼠样本采集　照射结束 24 h 后，采用 10% 水合氯醛腹腔麻醉，经腹主动脉采血，置于促凝管内，然后常温离心取上清，−20 ℃ 保存；并迅速剪取背部皮肤，分成 2 份，一份皮肤组织经 4% 多聚甲醛固定，另一部分立即放入液氮中速冻后置于−80 ℃ 冰箱中保存待用。

1.2.4　ELISA 法测定小鼠血清中 CoL-I、HYP、HA 和 CER 水平　从−20 ℃ 冰箱中取出储存的血清，在冰浴条件下逐步解冻。随后，采用双抗体夹心 ELISA 法对 CoL-I、HYP、HA 和 CER 的水平进行测定。整个检测过程严格遵循 ELISA 试剂盒说明书的操作流程，并确保每一步操作都准确无误。最后，使用全波长酶联免疫检测系统进行吸光度测定，在 450 nm 处读取 OD 值，并通过标准曲线（R^2>0.99）计算出 CoL-I、HYP、HA 和CER 的浓度。

1.2.5　小鼠血清中 T-SOD、CAT 和 MDA 水平的测定　取−20 ℃ 的血清，按照制造商说明书测定小鼠血清中氧化应激指标（T-SOD、CAT 和 MDA）水平。SOD 测定试剂盒是基于 WST-1 的显色反应在 450 nm 波长处测定吸光度（OD）值，计算 SOD 活力。其中公式为：

$$\text{SOD活力(U/mL)} = \frac{(\Delta A_{对照} - \Delta A_{测定})}{\Delta A_{对照} \times 0.5} \times D_{反应} \times N_{样品}$$

式中：$\Delta A_{对照}$为对照组相比空白对照组的吸光度变化值；$\Delta A_{测定}$为测定组相比样品空白组吸光度变化值；0.5 为 50% 抑制率对应值；$D_{反应}$为反应体系稀释倍数 12；$N_{样品}$为样品测试前稀释倍数。

CAT 测定试剂盒是通过钼酸铵法在 405 nm 处测定其变化量，可计算出 CAT 的活力。根据说明书上的公式：

$$\text{CAT活力(U/mL)} = \frac{(A_{对照} - A_{测定})}{V_{样品} \times t} \times K \times N_{样品}$$

式中：$A_{对照}$为空白对照组的吸光度值；$A_{测定}$为测定样品吸光度值；$V_{样品}$为体系取样体积 0.1 mL；t 为反应时间 60 s；K 为摩尔消光系数相关常数 271；$N_{样品}$为样品测试前稀释倍数。

MDA 测试盒通过硫代巴比妥酸（TBA）缩合，形成红色产物，在 532 nm 处的 OD 值测定 MDA 水平。其公式是：

$$\text{MDA浓度(nmol/mL)} = \left(\frac{A_{测定} - A_{对照}}{A_{标准} - A_{空白}}\right) \times C_{标准} \times N_{样品}$$

式中：$A_{测定}$为测定样品吸光度值；$A_{对照}$为样品对照吸光度值；$A_{标准}$为试剂盒标准品吸光度值；$A_{空白}$为空白溶剂的吸光度值；$C_{标准}$为标准品浓度 10 nmol/mL；$N_{样品}$为样品测试前稀释倍数。

1.2.6　小鼠皮肤组织病理学检测　4% 多聚甲醛固定 24 h 后、脱水、透明、用石蜡包埋切成 5 μm 薄片，然后进行 H&E、Masson、甲苯胺蓝染色，用光学显微镜观察拍照，评估皮肤的整体形态、胶原蛋白的含量分布、皮肤肥大细胞的数量。

1.2.7　蛋白免疫印迹（Western blotting）法检测皮肤组织 AQP3 和 FLG 蛋白表达　取适量皮肤组织剪碎后，使用 IP 裂解液进行匀浆处理，随后在 4 ℃ 条件下以 12000×g 离心 5 min，取上清液。通过 BCA 试剂盒测定上清中蛋白浓度后，按 4∶1 体积比加入上样缓冲液（5×），沸水浴中变性 10 min，冷却后取 50 μg 进行 SDS-PAGE 电泳分离，随后利用湿法转移至 PVDF 膜上。使用 5% 脱脂奶粉溶液封闭，在室温下孵育 1.5 h。随后分别加入兔抗小鼠 AQP3、FLG 及 α-Tubulin 单克隆抗体（均 1∶1000 稀释），并在 4 ℃ 条件下摇床过夜完成免疫反应。洗涤后，加入 HRP 标记的山羊抗兔 IgG 二抗（稀释 1∶4000），室温孵育 1 h。用 PBST 充分洗涤后，加入 ECL 发光液显影，并使用 BIO-RAD 凝胶成像系统进行扫描分析。最后以 α-Tubulin 蛋白作为内参，利用 ImageJ 软件对目标条带的灰度值进行定量分析。

1.2.8　免疫荧光检测皮肤组织 AQP3 和 FLG 蛋白的表达水平　将皮肤组织石蜡切片依次经过二甲苯脱蜡和乙醇梯度脱水后，进行抗原修复并冷却，再以 PBS 清洗。随后，将切片于 1% 牛血清白蛋白中封

闭 1 h, PBS 洗涤后, 4 ℃ 下加入 AQP3 和 FLG 抗体(均 1∶1000 稀释)孵育过夜。次日, 洗片后加入荧光标记二抗(1∶300 稀释)室温避光孵育 1 h。随后 DAPI 染色 10 min 标记细胞核, PBS 充分洗涤, 最后在避光条件下使用荧光显微镜采集图像。

1.3 数据处理

使用 Image J 软件处理图片, 采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析, 计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示, 两组间比较使用独立样本 t 检验, 多组间比较使用单因素 ANOVA 方差分析。

2 结果与分析

2.1 L-精氨酸对皮肤光老化小鼠皮肤组织形态的影响

为系统评估光老化对皮肤生理功能的影响, 本研究首先观察了模型动物的表型变化: 小鼠行为上变得慵懒、倦怠, 常呈蜷缩状态; 皮肤外观表现为粗糙、增厚并出现红斑、色素沉着, 局部有起皮、溃烂、皮革样改变, 这些均为皮肤光老化的典型特征[22]。进一步, 本研究选择Ⅰ型胶原蛋白(CoL-Ⅰ)、羟脯氨酸(HYP)、透明质酸(HA)及神经酰胺(CER)作为关键的生化指标进行定量分析。实验结果如图 1 所示, 与空白组相比, 在皮肤光老化模型组中, 上述指标均呈现显著下降趋势(P<0.05)。从机制上来看, CoL-Ⅰ的下调表明皮肤细胞外基质的合成功能受到损害, 这可能直接影响了皮肤的机械支撑结构的完整性[23]; 作为胶原特征性氨基酸的 HYP 水平下降, 既反映胶原代谢失衡, 也间接提示基质金属蛋白酶活性异常升高导致的胶原降解加速[24]; HA 含量减少与真皮层水合作用减弱及细胞外基质微环境改变密切相关[25]; CER 水平的降低则提示表皮脂质双分子层结构紊乱, 可能导致经皮水分丢失率上升[26]。该一系列指标变化验证了 UVA+UVB 联合辐照成功建立皮肤光老化动物模型的可靠性。

更重要的是, 本研究通过采用口服灌胃及局部涂抹凝胶两种给药方式, 系统评估了 L-精氨酸对皮肤光老化的改善效果。图 1 结果显示, 这些生化指标的水平在治疗后均呈现恢复趋势。具体而言, 与 Model 组相比, 口服灌胃给药方面, 高剂量 L-精氨酸(H-IG-Arg)使小鼠血清中 CoL-Ⅰ表达量提升 17.7%, HYP 代谢水平增加 76.5%, 表明其通过激活 NO/cGMP 信号轴, 有效促进胶原蛋白合成; HA 合成量上升 8.6%、CER 含量提升 55.8%, 说明该方式可调节表皮微环境与角质形成细胞代谢, 增强皮肤保湿及屏障功能。凝胶涂抹给药时, 高剂量 L-精氨酸(H-TTS-Arg)使小鼠血清 CoL-Ⅰ表达量提高 17.3%, 直接作用于皮肤促进胶原蛋白生成。HYP 代谢水平提升达 139.2%, 效果远超口服, 表明局部高浓度药物更高效激活合成通路。HA 合成量增加 12.2%, 保湿效果显著; CER 含量提升 27.6%, 针对性修复角质层屏障。凝胶涂抹通过局部渗透精准作用于皮肤组织, 在改善光老化方面效果显著; 口服灌胃则发挥全身调节

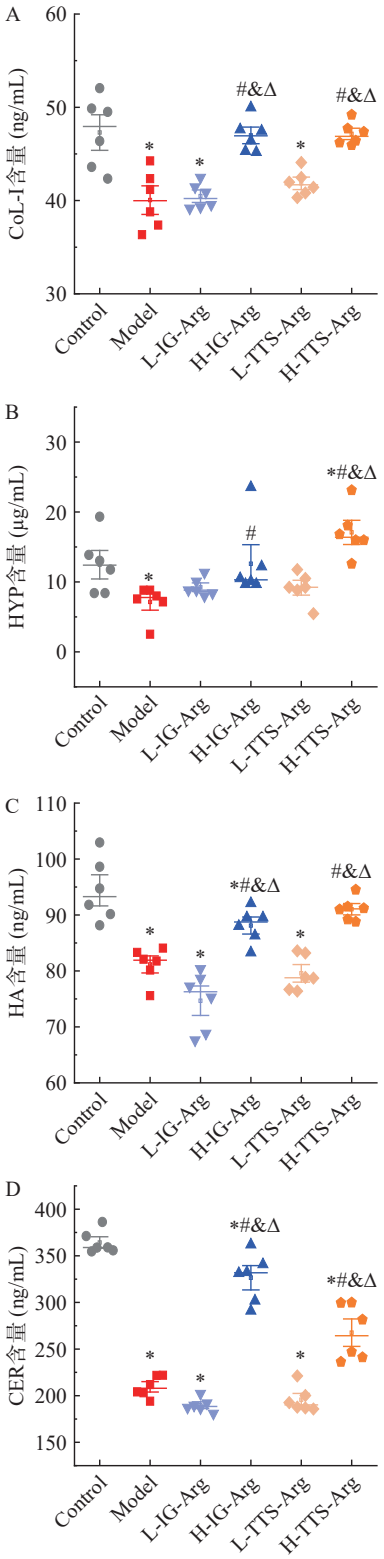


图 1 L-精氨酸对光老化小鼠血清中皮肤功能指标 CoL-Ⅰ、HYP、HA 和 CER 的影响

Fig.1 Effect of L-arginine on skin functional indicators CoL-Ⅰ, HYP, HA and CER in serum of photoaged mice

注: 与 Control 组比较, *P<0.05; 与 Model 组比较, #P<0.05; 与 L-IG-Arg 组比较, &P<0.05; 与 L-TTS-Arg 组比较, ΔP<0.05; 图 2、图 4 同。

优势。两种给药方式各有所长, 为 L-精氨酸在功能性食品及美容制剂的应用提供多元策略, 助力个性化抗光老化皮肤方案制定。

2.2　L-精氨酸对皮肤光老化小鼠氧化应激的影响

光老化病理机制研究证实，UVA 与 UVB 作为关键致病因子，其可诱导生成超氧阴离子（$O_2^{-}\cdot$）、过氧化氢（H_2O_2）及羟基自由基（·OH）等活性氧簇（ROS），介导光老化病理进程[5,27]。生理条件下，机体通过超氧化物歧化酶（SOD）、过氧化氢酶（CAT）及谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-Px）等构成的抗氧化防御网络，可以有效清除 ROS 并抑制脂质过氧化终产物丙二醛（MDA）的积累[28]。

本研究通过检测 UVA+UVB 辐照诱导的小鼠皮肤光老化模型中血清 T-SOD、MDA 及 CAT 活性，探讨了 L-精氨酸在缓解皮肤光老化过程中氧化应激状态方面的潜在效果。实验结果如图 2 所示，与 Control 组相比，Model 组小鼠中的 T-SOD 和 CAT 活性显著下降（P<0.05），而 MDA 水平则显著上升（P<0.05），这表明皮肤光老化对机体抗氧化防御系统造成了明显的负面影响。通过对小鼠进行 L-精氨酸治疗后发现，上述指标的异常变化得到了不同程度的改善。结果显示，H-IG-Arg 组较 Model 组，T-SOD、CAT 活性分别提升 123.9%、112.6%，MDA 水平降低 40.9%，通过全身吸收调节机体代谢，系统性增强抗氧化防御能力，对整体氧化应激状态改善作用显著；而 H-TTS-Arg 组较 Model组，T-SOD、CAT 活性提升幅度分别为 114.1%、76.2%，MDA 水平降低 30.9%，虽在提升幅度上略逊于口服组，但凭借局部渗透优势，可促进皮肤细胞内抗氧化物质的生成，减少因光老化导致的活性氧积累，进而维持抗氧化防御系统的平衡。L-精氨酸的两种给药方式虽然各有侧重，但都缓解了皮肤光老化对机体抗氧化防御系统的损伤。

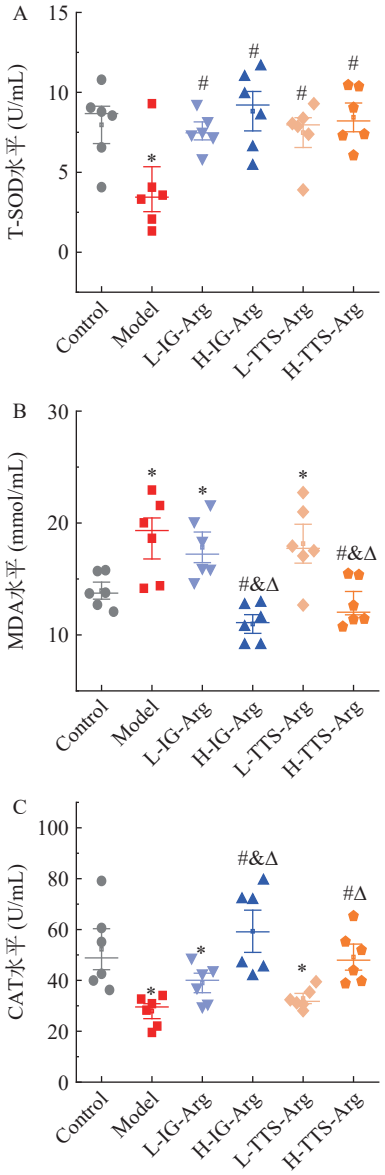


图 2　L-精氨酸对光老化小鼠血清中氧化应激相关指标 T-SOD、MDA 和 CAT 水平的影响

Fig.2　Effect of L-arginine on the levels of oxidative stress related indicators T-SOD, MDA and CAT in serum of photoaged mice

2.3　皮肤组织染色

苏木精-伊红染色（Hematoxylin and Eosin，HE）是一种经典的组织学染色技术，广泛应用于皮肤组织病理变化的观察，能够清晰展现表皮与真皮厚度的动态变化、细胞形态及其分布特征，为评估皮肤结构完整性提供可靠依据[29]。皮肤的结构完整性则高度依赖于胶原纤维，其不仅对于维持皮肤的弹性和紧致性，还对皮肤屏障功能的完整性起着关键作用。针对光老化背景下胶原纤维变化的研究，马松染色（Masson）作为一种高度敏感且特异性的染色方法，能够定量评估真皮中胶原纤维的排列状态及其病理改变[30]。此外，甲苯胺蓝染色（Toluidine Blue）作为一种组织化学检测手段，能够敏感地揭示皮肤组织中外基质成分的变化，为深入研究光老化机制及其治疗策略提供依据[31]。因此本研究对 UVA+UVB 辐照诱导的光老化小鼠皮肤进行了 HE、Masson 和 Toluidine Blue 染色实验。

图 3 染色图像显示，在 Model 组小鼠皮肤中，UVA+UVB 辐照导致了典型的光老化病理特征：表皮与真皮层出现肿胀性增厚，表皮角化过度现象显著，真皮-表皮连接结构发生扁平化改变，胶原纤维束数量明显减少且呈现形态扭曲和断裂，同时伴随肥大细胞数量的增加及炎症反应的加剧[32]。这些变化导致皮肤支撑结构受损，屏障功能下降，加速皮肤衰老。然而，经 L-精氨酸干预后，小鼠皮肤组织的上述病理学改变呈现出显著改善的趋势，且改善程度与给药剂量呈正相关性。组织病理学分析显示，与 Model 组相比，在 HE 染色中，H-IG-Arg 和 H-TTS-Arg 组表皮厚度都有明显降低（P<0.05），真皮-表皮连接结构恢复至近 Control 组形态，再一次表明 L-精氨酸能够促进胶原合成，进而修复皮肤架构。Masson 染色显示，H-IG-Arg 和 H-TTS-Arg 组胶原密度较 Model 组提升显著，且 H-TTS-Arg 组胶原纤维排列要比 H-IG-Arg 组更加规则（P<0.05）。此外，TB 染色结果显

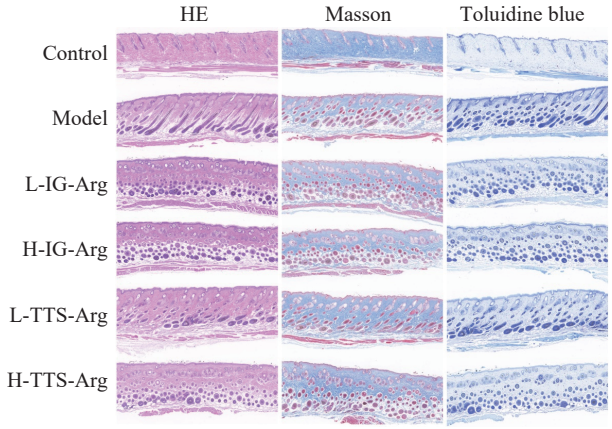


图 3 各组小鼠皮肤组织 HE、Masson 和 Toluidine Blue 染色图像(200×)

Fig.3 HE, Masson and toluidine blue staining images of skin tissues of mice in each group (200×)

示, H-IG-Arg 组和 H-TTS-Arg 组的肥大细胞数量较 Model 组明显下降, 可能通过抑制相关炎症因子的释放, 减少肥大细胞的募集和活化[33]。值得注意的是, 低剂量组染色皮肤组织相比 Model 组改善幅度均较小。综合上述结果表明, L-精氨酸能够从皮肤组织结构和功能完整性等多个层面有效改善光老化引起的皮肤病理改变, 且高剂量局部应用在组织结构修复方面更具优势。

2.4 L-精氨酸对 UVA+UVB 诱导的皮肤光老化小鼠皮肤组织中 AQP3、FLG 的影响

AQP3 和 FLG 还协同参与调控皮肤细胞的增殖、分化过程, 是维持皮肤正常生理功能不可或缺的因素[34-35]。然而, 长期紫外线暴露会对皮肤产生明显的负面影响, 有研究表明紫外线暴露可显著抑制 AQP3 介导的甘油转运进程, 并干扰 FLG 前体蛋白的翻译后加工, 导致表皮渗透屏障与保湿功能双重受损, 增加光老化风险[36]。

基于上述病理机制, 本研究通过免疫印迹技术系统评估了 L-精氨酸对 AQP3/FLG 信号通路的调控效应。实验设计涵盖空白组(Control)、UVA+UVB 诱导光老化模型组(Model)、口服给药组(IG-Arg)及局部凝胶给药组(TTS-Arg), 其中高剂量组分别对应 200 mg/(kg·d)灌胃给药与 20 mg/(mL·d)浓度局部凝胶涂抹。结果如图 4 所示, 相较于 Model 组, L-精氨酸灌胃与涂抹的高剂量处理组中 AQP3 和 FLG 蛋白表达水平均呈现显著上调趋势, 且差异具有统计学意义。具体而言, 与 Model 组相比, L-精氨酸溶液高剂量组及 L-精氨酸凝胶高浓度组中 AQP3 蛋白的相对表达量分别提升了 185.1% 和 139.9%; 相应地, FLG 蛋白的表达量也显著提升 235.3% 和 92.2%。这些数据不仅证实了 L-精氨酸在促进皮肤保护蛋白表达方面的潜力, 也为通过调节 AQP3 与 FLG 表达来改善皮肤屏障功能和水分保持能力, 进而延缓皮肤光老化进程提供了有力的实验依据。

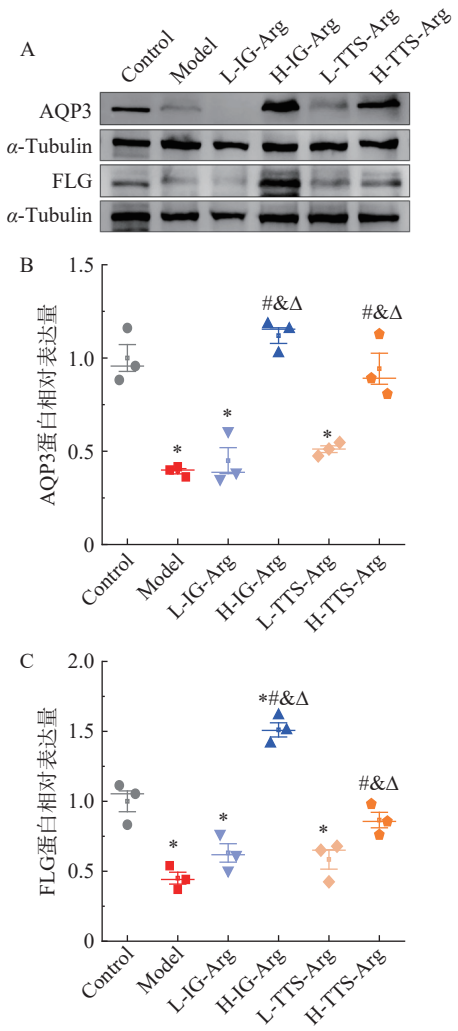


图 4 L-精氨酸对小鼠皮肤组织中 AQP3 和 FLG 蛋白表达的影响

Fig.4 Effect of L-Arginine on the expression of AQP3 and FLG proteins in mouse skin tissue

2.5 L-精氨酸通过 AQP3、FLG 蛋白保护 UVA+UVB 诱导的小鼠皮肤光老化

为了深入探究 L-精氨酸对皮肤屏障结构与组织形态的维护作用, 特别是其调节 AQP3 和 FLG 表达的能力, 本研究采用了免疫荧光技术(IF)。该技术不仅能够实现多种蛋白质的同时检测, 还能在评估蛋白表达水平的同时, 清晰地揭示细胞和组织的形态结构, 这对于分析蛋白表达与组织形态变化之间的潜在联系具有重要意义[37]。

如图 5 所示, 蓝色荧光标记的 DAPI 用于定位细胞核; 绿色荧光代表 FLG 的表达; 红色荧光则指示 AQP3 的位置。通过 Merge 图像, 即 DAPI、FLG 和 AQP3 的共定位图像分析发现, 在 Model 组小鼠皮肤中, 相较于 Control 组, AQP3 和 FLG 的荧光强度显著减弱, 这表明 UVA+UVB 联合照射确实抑制了这两种蛋白的表达。值得注意的是, 在给予不同方式(口服灌胃和凝胶涂抹)以及不同剂量的 L-精氨酸治疗后, AQP3 和 FLG 的荧光强度呈现出不同程度的恢复。这一观察结果与先前基于蛋白质印迹

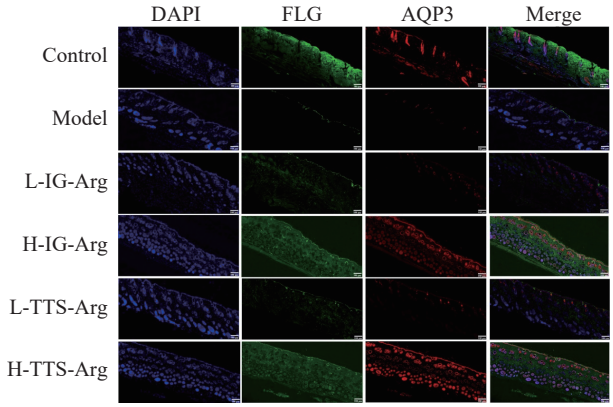


图 5　小鼠皮肤组织中 AQP3 和 FLG 免疫荧光表达图像（200×）

Fig.5　Immunofluorescence expression images of AQP3 and FLG in mouse skin tissues (200×)

技术（WB）分析得出的结论高度一致。这些发现有力地支持了 L-精氨酸能够改善因 UVA+UVB 照射而受到抑制的小鼠皮肤组织中 AQP3 和 FLG 蛋白表达水平的结论，也为其作为潜在的皮肤光老化保护成分提供了有力支持。

3　结论

本研究通过构建 UVA+UVB 辐照小鼠皮肤光老化模型，从氧化应激、组织病理学修复及分子机制调控等多维度，首次系统探究 L-精氨酸对皮肤光老化的治疗作用。实验显示，UVA+UVB 辐照导致小鼠 CoL-I、HYP、HA 及 CER 含量显著降低，皮肤出现表皮与真皮肿胀增厚、胶原纤维紊乱、肥大细胞增多等光老化特征，成功验证模型有效性。采用口服灌胃与局部涂抹凝胶的双重给药策略发现，L-精氨酸能有效回升光老化所致生化指标水平，增强机体抗氧化能力，减轻细胞损伤；同时显著改善皮肤组织病理变化，使表皮与真皮肿胀减轻、胶原纤维排列规整、肥大细胞数量减少。更重要的是，通过 WB 和 IF 技术证实，L-精氨酸可上调因紫外线暴露而下调的 AQP3 和 FLG 蛋白表达，有效改善皮肤屏障功能和水分保持能力。该研究填补了 L-精氨酸治疗皮肤光老化的研究空白，创新性地采用双重给药策略，通过多维度评估体系，揭示 L-精氨酸通过调控 AQP3 和 FLG 改善皮肤光老化的新机制，为功能性食品、化妆品和药品研发提供重要科学依据，为皮肤光老化防治开辟新方向，同时为后续深入研究其作用机制与临床应用潜力奠定坚实基础。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] MOKRZYŃSKI K, KRZYSZTYŃSKA-KULETA O, ZAWROTNIAK M, et al. Fine particulate matter-induced oxidative stress mediated by UVA-visible light leads to keratinocyte damage [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(19): 10645.

[2] KIYOI T. Evaluation of skin damage under UV exposure[M]. Rheumatoid Arthritis. New York, NY: Springer US, 2024: 281-291.

[3] BATTIE C, JITSUKAWA S, BERNERD F, et al. New insights in photoaging, UVA induced damage and skin types[J]. Experimental Dermatology, 2014, 23(Suppl 1): 7−12.

[4] FITSIOU E, PULIDO T, CAMPISI J, et al. Cellular senescence and the senescence-associated secretory phenotype as drivers of skin photoaging[J]. The Journal of Investigative Dermatology, 2021, 141(4S): 1119−1126.

[5] 丁欣瑶. 中波紫外线 UVB, UVA 对皮肤衰老的影响及差异性研究进展[J]. 医药卫生, 2021, 9(5): 17. [DING X Y. Research progress on the effects of UVB and UVA on skin aging and differences[J]. Medicine and Hygiene, 2021, 9(5): 17.]

[6] FUNG T S, RYU K W, THOMPSON C B. Arginine: At the crossroads of nitrogen metabolism[J]. The EMBO Journal, 2025, 44(5): 1275−1293.

[7] GAMBARDELLA J, KHONDKAR W, MORELLI M B, et al. Arginine and endothelial function[J]. Biomedicines, 2020, 8(8): 277.

[8] BROOKS J R, OKETCH-RABAH H, LOW DOG T, et al. Safety and performance benefits of arginine supplements for military personnel: A systematic review[J]. Nutrition Reviews, 2016, 74(11): 708−721.

[9] LI D, KABIR M, STUEHR D J, et al. Substrate- and isoform-specific dioxygen complexes of nitric oxide synthase[J]. Journal of the American Chemical Society, 2007, 129(21): 6943−6951.

[10] KOCIC H, ARSIC I, STANKOVIC M, et al. Proliferative, anti-apoptotic and immune-enhancing effects of L-arginine in culture of skin fibroblasts[J]. Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents, 2017, 31(3): 667−672.

[11] 梁明才, 杨林. 精氨酸抗氧化作用机制[J]. 生物信息学, 2020, 18(4): 201−205. [LIANG Mingcai, YANG Lin. Antioxidant mechanism of arginine[J]. Chinese Journal of Bioinformatics, 2020, 18(4): 201−205.]

[12] 张苗苗, 郭瑜洁. 精氨酸的药理作用研究进展[J]. 科学咨询, 2022(1): 62−65. [ZHANG Miaomiao, GUO Yujie. Research progress on pharmacological effects of arginine[J]. Policy & Scientific Consult, 2022(1): 62−65.]

[13] DING Wenyu, FAN Linna, TIAN Yan, et al. Study of the protective effects of cosmetic ingredients on the skin barrier, based on the expression of barrier-related genes and cytokines[J]. Molecular Biology Reports, 2022, 49(2): 989−995.

[14] LI Ji, TANG Hua, HU Xinglin, et al. Aquaporin-3 gene and protein expression in Sun-protected human skin decreases with skin ageing[J]. The Australasian Journal of Dermatology, 2010, 51(2): 106−112.

[15] KIM S H, KIM J H, LEE S J, et al. Minimally invasive skin sampling and transcriptome analysis using microneedles for skin type biomarker research[J]. Skin Research and Technology, 2022, 28(2): 322−335.

[16] SOLANO F. Metabolism and functions of amino acids in the skin[M]. Amino Acids in Nutrition and Health. Cham: Springer International Publishing, 2020: 187−199.

[17] LEUNG M H Y, TONG X Z, SHEN Z Y, et al. Skin microbiome differentiates into distinct cutotypes with unique metabolic functions upon exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons[J]. Microbiome, 2023, 11(1): 124.

[18] O'SHAUGHNESSY R F L. Adding arginine to the list of single amino acids important in epidermal barrier function[J]. The British Journal of Dermatology, 2025, 193(1): 7−8.
[19] ZHU Cui, YE Jinling, BAI Yinshan, et al. Arginine promotes the expression of aquaporin-3 and water transport in porcine trophectoderm cells through NO- and cAMP-dependent mechanisms [J]. Frontiers in Bioscience, 2022, 27(3): 83.
[20] WOHLRAB J, SIEMES C, MARSCH W C. The influence of L-arginine on the regulation of epidermal arginase[J]. Skin Pharmacology and Applied Skin Physiology, 2002, 15(1): 44−54.
[21] 李张军, 牛新武, 肖生祥, 等. 全反式维 A 酸抑制光老化皮肤基质金属蛋白酶-3, 13 表达的受体机制[J]. 中国皮肤性病学杂志 , 2016, 30(9): 890−894. [LI Zhangjun, NIU Xinwu, XIAO Shengxiang, et al. Receptor mechanisms of all-trans retinoic acid-induced inhibition of the MMP-3 and MMP-13 expressions in photoaged skin[J]. The Chinese Journal of Dermatovenereology, 2016, 30(9): 890−894.]
[22] 郑博文, 阮光洪, 张淑玲, 等. 建立快速光老化动物模型新方法[J]. 皮肤病与性病, 2017, 39(4): 241−244. [ZHENG B W, RUAN G H, ZHANG S L, et al. A new method for establishing animal model of rapid photoaging[J]. Dermatology and Venereology, 2017, 39(4): 241−244.]
[23] NAOMI R, RIDZUAN P M, BAHARI H. Current insights into collagen type I[J]. Polymers, 2021, 13(16): 2642.
[24] YANG Chunying, XU Bin, SUN Yinong. Effects of acupuncture and moxibustion on MDA, GSH-Px, and hyp in the skin of senile mice[J]. Journal of Acupuncture and Tuina Science, 2011, 9(3): 142−144.
[25] YOSHIDA H, OKADA Y. Role of HYBID (hyaluronan binding protein involved in hyaluronan depolymerization), alias KIAA1199/CEMIP, in hyaluronan degradation in normal and photoaged skin[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(22): 5804.
[26] VÁVROVÁ K, KOVÁČIK A, OPÁLKA L. Ceramides in the skin barrier[J]. European Pharmaceutical Journal, 2017, 64(2): 28−35.
[27] STOYKOVA I D, KOYCHEVA I K, BINEV B K, et al. Myconoside and calceolarioside E restrain UV-induced skin photoaging by activating NRF2-mediated defense mechanisms[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25(4): 2441.
[28] CALVO M J, NAVARRO C, DURÁN P, et al. Antioxidants in photoaging: From molecular insights to clinical applications[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25(4): 2403.
[29] JO K, BAE G Y, CHO K, et al. An anthocyanin-enriched extract from *Vaccinium uliginosum* improves signs of skin aging in UVB-induced photodamage[J]. Antioxidants, 2020, 9(9): 844.
[30] KHAN A, BAI H L, KHAN A, et al. Neferine prevents ultraviolet radiation-induced skin photoaging[J]. Experimental and Therapeutic Medicine, 2020, 19(5): 3189−3196.
[31] PUEBLA-OSORIO N, SARCHIO S N E, ULLRICH S E, et al. Detection of infiltrating mast cells using a modified toluidine blue staining[J]. Methods in Molecular Biology, 2017, 1627: 213−222.
[32] TANVEER M A, RASHID H, TASDUQ S A. Molecular basis of skin photoaging and therapeutic interventions by plant-derived natural product ingredients: A comprehensive review[J]. Heliyon, 2023, 9(3): e13580.
[33] LECHOWSKI S, FEILHAUER K, STAIB L, et al. Combined arginine and glutamine decrease release of *de novo* synthesized leukotrienes and expression of proinflammatory cytokines in activated human intestinal mast cells[J]. European Journal of Nutrition, 2013, 52(2): 505−512.
[34] BOLLAG W B, AITKENS L, WHITE J, et al. Aquaporin-3 in the epidermis: More than skin deep[J]. American Journal of Physiology. Cell Physiology, 2020, 318(6): C1144−C1153.
[35] KIM Y, LIM K M. Skin barrier dysfunction and filaggrin[J]. Archives of Pharmacal Research, 2021, 44(1): 36−48.
[36] QU Liping, MA Xiao, WANG Feifei. The roles of gut microbiome and metabolites associated with skin photoaging in mice by intestinal flora sequencing and metabolomics[J]. Life Sciences, 2024, 341: 122487.
[37] IM K, MARENINOV S, DIAZ M F P, et al. An introduction to performing immunofluorescence staining[J]. Methods in Molecular Biology, 2019, 1897: 299−311.