

ICS 01.040.11

M734

团体标准

T/ZGKSL 004-2022

人体皮肤衰老评价标准 Evaluation criteria for human skin aging

2022-09-01 发布

2022-09-01 实施

中国抗衰老促进会 发布

目 次

前言	II
引言	III
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 皮肤衰老评价参数	2
4.1 皮肤衰老临床表现	2
4.2 皮肤衰老的图像评价	3
4.3 皮肤衰老的影像评价	7
4.4 皮肤衰老生理学参数变化趋势	9
4.5 皮肤衰老的组织学参数	10
4.6 皮肤衰老的分子指标	17
5 头皮与毛发衰老	20
5.1 毛发衰老的评价方法及指标	20
5.2 头皮表面生理学参数	22
5.3 头皮与毛发衰老组织学表现	22
6 皮脂腺衰老	25
6.1 皮肤表面脂质	25
6.2 皮脂腺组织学	25
6.3 组学指标	26
7 甲衰老表现的评价参数	27
7.1 甲衰老临床表现及评价指标	27
7.2 甲板衰老化学成分变化	27
7.3 甲衰老的组织学改变	27
7.4 甲衰老程度图片分级	27
附录 A (资料性附录) 皮肤衰老图像评价示例	29
A.1 皮肤皱纹 9 级评分图示	29
A.2 皮肤松弛下垂、手背、面部色斑 6 级评分图示	35
A.3 皮肤衰老程度 4 度评价图示	36
附录 B (资料性附录) 皮肤衰老研究模型	43
B.1 细胞模型	43
B.2 生物工程皮肤模型(皮肤 3D 模型)	44
B.3 动物模型	46
参考文献	49

前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分 标准化文件的结构和起草规则》起草。请注意本文件的某些内容可能涉及专利，本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国抗衰老促进会皮肤慢病管理与健康促进分会提出并归口。

本文件起草单位：四川大学华西医院、空军特色医学中心、中山大学附属第三医院、复旦大学附属华山医院、昆明医科大学第一附属医院、江西中医药大学第二附属医院、中国科学院上海营养与健康研究所、同济大学附属皮肤病医院、郑州大学人民医院、上海交通大学医学院附属仁济医院、复旦大学人类表型组学研究院、懿奈（上海）生物科技有限公司、麦吉丽生物科技有限公司、德肤科（上海）生物科技有限公司、杭州时光肌生物科技有限公司、花安堂生物科技集团有限公司、华熙生物科技股份有限公司、强生（中国）有限公司、广州点阵科技有限公司、厦门美图宜肤科技有限公司、上海弗图品牌管理有限公司、上海复硕正态质量技术服务有限公司、水中银（国际）生物科技有限公司、云南贝泰妮生物科技集团股份有限公司、上海馥盾检测技术有限公司。

本文件主要起草人：李利、刘玮、赖维、郑志忠、何黎、刘巧、汪思佳、史玉玲、李雪莉、吴文育、鞠强、袁超、郑跃、马彦云、薛斯亮、杨莉、陈是静、杜乐、杨帆、叶睿、胡晓芸、华勉、张智婷、刘喆、李茜、蒋华、李志阳、梅鹤祥、孙华、陈雪平、王飞飞、张馨元。

引言

随着新的抗皮肤衰老的药品、仪器设备（医疗机构用和家庭用）、保健品和化妆品的不断涌现，急需制定规范可量化的皮肤衰老特征的评价标准，以推动皮肤衰老的科学研究，指导皮肤衰老测量仪器设备的开发和皮肤抗衰老相关产品的功效验证。

目前国内外虽然已有很多方法用于皮肤衰老特征的评估，但采用的测量方法和参数指标各不相同，严重影响了临床和科研的发展与交流，以及产品功效的准确评价。为了建立适合国人皮肤衰老状态的统一评价标准，用于指导皮肤衰老相关研究、皮肤衰老检测仪器设备开发和参数设置以及各种新产品功效评价，特制定本文件。

本文件旨在提高评价皮肤衰老特征的科学性和特异性，促进相关科学研究，推动新产品和仪器设备的研发和应用。

人体皮肤衰老评价标准

1. 范围

本文件规定了皮肤衰老评价参数、头皮与毛发衰老、皮脂腺衰老、甲衰老的评价参数等内容。

本文件适用于抗皮肤衰老相关的药品、仪器设备（医疗机构用和家庭使用）、保健品、化妆品原料和产品作用效果和安全性评价的参数以及相关的科学研究。

2. 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682—2008	分析实验室用水规格和试验方法
GB/T 27830-2011	化学品 体外皮肤腐蚀 人体皮肤模型试验方法
GB/T 30989-2014	高通量基因测序技术规程
GB/T 37370-2019	中国常见色色名和色度特性
JJG 639-1998	医用超声诊断仪超声源检定规程
SN/T 3899—2014	化妆品体外替代试验 良好细胞培养和样品制备规范
T/CPQS E0007-2020	家用和类似用途皮肤美容器评价规范
T/SHRH036-2021	化妆品黑色素抑制测试-斑马鱼胚胎测试方法

3. 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件：

3.1.

皮肤衰老 Skin aging

也称为皮肤老化，是皮肤组织在内外环境的不断作用下细胞结构和功能发生退化，出现皮肤质地改变（如弹性、张力、厚薄及表面纹理等）、色素改变、血管萎缩或增生的生理现象。皮肤衰老通常分为内源性老化（自然衰老）和外源性老化（光老化等）。

3.2.

内源性老化 Intrinsic aging

又称为自然衰老。是由基因决定的细胞功能的自然退化和随年龄增长的细胞外基质丧失导致的一个不可避免的过程。

3.3.

外源性老化 Extrinsic aging

由于外界环境（如辐照、污染/刺激、温度、湿度等）和生活习惯（如睡眠、饮食、压力等）导致的皮肤老化。由于日光中紫外线是环境因素中导致皮肤老化的主要因素，故又称为光老化（Photoaging）。

3.4.

皮肤初老 Early aging manifestations of the skin

指皮肤老化的最初征象，尤其是女性对面部皮肤老化早期改变的自我感知，在亚洲人的调查报告中发现，常见的皮肤初老包括：皮肤晦暗、肤色不均、皮肤饱满度降低、干燥脱屑以及面部开始出现细纹等。

4. 皮肤衰老评价参数

皮肤衰老是人体衰老最直观的特征性变化。皮肤衰老的评价方法包括问卷调查、照片半定量评分、各种无创性的仪器设备客观定量检测及实验室检测。实验室检测包括皮肤组织学、血清学、核酸蛋白组学以及各种皮肤老化相关的代谢产物等。皮肤衰老研究模型参见附录 B。

4.1. 皮肤衰老临床表现

4.1.1. 皱纹 (Wrinkle)

主要位于面部皮肤暴露部位。皮肤表面纹理加深，粗糙，形成细纹。随着皮肤表情肌肉长期反复动作，皮肤表面细小纹理随着肌肉运动的张力线方向逐渐加深，早期只在运动时出现，晚期在静态也可以见到深浅不一的纹线或沟壑。如额纹、眉间纹与抬眉、皱眉相关，鱼尾纹与笑相关，嘴角纹、鼻唇沟纹与口唇运动相关。

4.1.2. 弹性 (Elasticity)

皮肤弹性是指皮肤在发生形变后回到原来状态的能力，衰老皮肤弹性下降，紧致度降低。

4.1.3. 松弛和下垂 (Sagging)

衰老皮肤表面松弛，并随地心引力方向下垂。如眼袋形成，鼻唇沟皱褶加深，下颌缘轮廓线模糊。

4.1.4. 色素变化 (Pigment alteration)

随着年龄增加，色素痣颜色变浅，甚至与周围肤色相近。非曝光部位因受黑色素合成减少肤色变浅，但在曝光部位，受日光紫外线影响，不仅色素合成增加，肤色暗沉，还出现针尖、米粒甚至钱币大小的色斑。

4.1.5. 表皮增生 (Epidermal proliferation)

衰老皮肤表皮角质形成细胞不规则增生，形成大小不一的丘疹、斑丘疹（脂溢性角化），在颈部、腋下等皮肤薄嫩部位呈现为针头至米粒大小的软纤维瘤。

4.1.6. 血管改变 (Vascellum change)

在非曝光部位，血管增生形成散在分布的针头至米粒大小红色突起（樱桃状血管瘤）。在曝光部位，部分人随着年龄增加出现皮肤血管扩张，网状血管增生，生活在高原上的人更为显著。

参考国内外文献中多个量表，并根据国人的实际情况，本文件将以上皮肤老化主要的临床表现归纳并进行严重程度分级见表 4-1。

表 4-1 皮肤衰老量表

等级	皮肤质地	皮肤机械力学	皮肤色素	表皮/血管增生	相关年龄
无	水润光泽	饱满充盈	无	无增生	< 25 岁
轻	静态皮纹粗糙， 动态见细小皱纹	饱满度略降低	有少量小斑点	个别脂溢性角化/ 点状血管增生	25~35 岁
中	静态见皱纹，动 态皱纹明显粗大	皮肤的饱满充盈 消失，可见皮肤 轻度松弛	皮肤小斑点 增加，大斑 点出现	见脂溢性角化/血 管不规则增生	36~55 岁

重	静态见明显皱纹，动态皱纹数目增加、粗大	弹性明显降低，皮肤中等松弛，轻度下垂、变薄	大小斑点较多，肤色暗沉	脂溢性角化血管增生	56~70岁
极重	静态动态皱纹多且粗大	皮肤明显松弛、下垂、变薄	密集大小斑点，肤色晦暗	脂溢性角化和血管增生明显	>70岁

4.2. 皮肤衰老的图像评价

基于高清图像制定的不同程度老化图谱是评价皮肤衰老程度最常见的方式之一。根据文献资料和编写单位各实验室工作积累，本文件初步制定曝光部位皮肤老化图谱，包括面部皱纹、面部色斑、面颈部皮肤松弛、手背部皮肤老化。并结合不同使用者需求，将皱纹严重程度划分为4度，9级；松弛、手背皮肤、色斑严重程度划分为4度，6级。皮肤衰老部分图像评价示例见附录A。

4.2.1. 皱纹 (Wrinkle)

面颈部皱纹包括额纹、鱼尾纹、眉间纹、眶下皱纹、鼻唇沟纹、木偶纹、颈纹等。分级描述如下表。

4.2.1.1. 额纹 (Forehead wrinkles)

位于发际线以下，眉以上区域，与额肌纤维垂直走行，沿额部平行排列。见表4-2。

表4-2 额纹4度、9级评分

严重程度	评分	描述
无	0	皮肤光滑无皱纹
轻	1	皮纹稍加深
	2	皮纹明显
	3	1~2条浅表皱纹
中	4	≥3条浅皱纹
	5	1~2条中等程度皱纹，及少量浅表皱纹
	6	≥3条中等程度皱纹，及多条浅表皱纹
重	7	1~2条深度皱纹，及多条中等程度皱纹
	8	≥3条深度皱纹

4.2.1.2. 鱼尾纹 (Crow's feet wrinkles)

以眼外眦为起点，向外侧呈放射状排列。见表4-3。

表4-3 鱼尾纹4度、9级评分

严重程度	评分	描述
无	0	皮肤光滑无皱纹
轻	1	皮纹稍加深
	2	皮纹明显
	3	1~2条浅表皱纹
中	4	≥3条浅皱纹
	5	1~2条中等程度皱纹
	6	≥3条中等程度皱纹

重	7	1~2 条深度皱纹
	8	≥3 条深度皱纹

4.2.1.3. 眉间纹 (Glabellar frown lines)

位于两眉之间，垂直走向，与降眉间肌纤维走向平行。见表 4-4。

表 4-4 眉间纹 4 度、9 级评分

严重程度	评分	描述
无	0	皮肤光滑无皱纹
轻	1	皮纹稍加深
	2	皮纹明显
	3	1~2 条浅表皱纹, 长度 ≤ 1cm
中	4	1~2 条浅皱纹, 长度 > 1cm
	5	1~2 条中等程度皱纹
	6	≥3 条中等程度皱纹
重	7	1~2 条深度皱纹
	8	进一步加深皱纹, 两侧皮肤隆起

4.2.1.4. 眶下皱纹 (Underneath eye wrinkles)

位于眶下区域。见表 4-5。

表 4-5 眶下皱纹 4 度、9 级评分

严重程度	评分	描述
无	0	眶下皮肤紧致、光滑
轻	1	眶下皮肤纹理略增粗
	2	眶下皮肤纹理加深
	3	内眦下方较多浅表细纹
中	4	内眦下方浅表细纹延长至眶下区域
	5	内眦下方中等程度皱纹
	6	内眦下方中等程度皱纹延长至眶下区域
重	7	内眦下方及眶下区少量重度皱纹
	8	内眦下方及眶下区大量重度皱纹

4.2.1.5. 鼻唇沟纹 (法令纹, Nasolabial folds)

位于鼻翼旁到口角之间的连线。见表 4-6。

表 4-6 鼻唇沟纹 4 度、9 级评分

严重程度	评分	描述
无	0	皮肤光滑, 软组织无凹陷
轻	1	皮肤软组织轻度凹陷
	2	皮肤软组织中度凹陷
	3	浅表皱纹伴轻度凹陷

中	4	中等程度皱纹伴轻度凹陷
	5	中等程度皱纹伴中度凹陷
	6	深度皱纹伴皮肤软组织中度凹陷
重	7	中度皱纹延伸至口角以下，伴皮肤软组织重度凹陷
	8	深度皱纹伴皮肤软组织重度凹陷

4.2.1.6. 木偶纹（嘴角皱纹，Wrinkles of the corner of the lips）

口角与下颌缘的连线。见表 4-7。

表 4-7 木偶纹 4 度、9 级评分

严重程度	评分	描述
无	0	皮肤光滑无皱纹，皮肤软组织无凹陷
轻	1	皮肤纹理加深，皮肤软组织无凹陷
	2	口角短而浅的轻度皱纹，皮肤软组织轻度凹陷
	3	口角较短的中度皱纹，皮肤软组织轻度凹陷
中	4	口角较短中度皱纹，皮肤软组织轻度凹陷，皮肤轻度松弛
	5	口角中度皱纹延长，皮肤软组织轻度凹陷，皮肤轻度松弛
	6	口角中度皱纹延长至下颌缘，皮肤软组织中度凹陷，皮肤中度松弛
重	7	口角重度皱纹，皮肤软组织明显凹陷，外侧皮肤中度松弛
	8	口角重度皱纹，皮肤软组织明显凹陷，外侧皮肤重度松弛

4.2.1.7. 颈纹（Horizontal neck fold）

下颌以下至锁骨线以上颈部区域横向走行的纹线。见表 4-8。

表 4-8 颈纹 4 度、9 级评分

严重程度	评分	描述
无	0	皮肤光滑无皱纹
轻	1	1~2 条浅表皱纹
	2	≥3 条浅表皱纹
	3	1~2 条中等程度皱纹
中	4	≥3 条中等程度皱纹
	5	1~2 条深度皱纹
	6	1~2 条深度皱纹，伴颈部皮肤软组织松弛
重	7	≥3 条深度皱纹，伴颈部皮肤软组织明显松弛
	8	深度皱纹明显，颈部皮肤软组织重度松弛

4.2.2. 皮肤松弛

4.2.2.1. 眼袋（Eye bags）

下眼睑皮肤下垂、臃肿，呈袋状。见表 4-9。

表 4-9 眼袋 4 度、6 级评分

严重程度	评分	描述
------	----	----

无	0	眶下皮肤紧致、光滑
轻	1	眶下皮肤轻度松弛
	2	眼袋轻度膨出，眶缘到眼袋下缘距离 $\leq 0.5\text{cm}$
中	3	眼袋轻度膨出，眶缘到眼袋下缘距离在 $0.5-1\text{cm}$ 之间
	4	眼袋中度膨出，眶缘到眼袋下缘距离在 $1-1.5\text{cm}$ 之间
重	5	眼袋重度膨出，眶缘到眼袋下缘距离 $\geq 1.5\text{cm}$

4.2.2.2. 下颌缘 (Mandibular margin)

反应下颌缘轮廓的清晰度、圆润度，流畅度及紧致度。见表 4-10。

表 4-10 下颌缘 4 度、6 级评分

严重程度	评分	描述
无	0	下颌缘轮廓清晰、流畅，皮肤紧致，无松弛
轻	1	下颌缘较清晰、流畅，皮肤紧致
	2	下颌缘欠清晰，稍欠流畅，皮肤稍欠紧致
中	3	下颌缘欠清晰，欠流畅，皮肤较松弛
	4	下颌缘不清晰，欠流畅，皮肤松弛
重	5	下颌缘不清晰，欠流畅，皮肤明显松弛

4.2.2.3. 手背皮肤评价量表

根据皮肤纹理粗细、皮肤厚薄、脂肪厚度、静脉和肌腱裸眼可视程度以及色斑的数量、面积来评价手背部皮肤的衰老情况，见表 4-11。

表 4-11 手背皮肤 4 度、6 级评分

严重程度	评分	描述
无	0	皮肤细腻、丰满，无脂肪丢失，无老年斑
轻	1	皮肤略显粗糙、轻度脂肪丢失，隐约可见静脉，无老年斑
	2	皮肤粗糙，中度脂肪丢失，见静脉及肌腱或色斑个数 ≤ 10 个或总面积 $\leq 1\text{cm}^2$
中	3	重度脂肪丢失，较明显静脉及肌腱或色斑个数 $10-20$ 个或总面积 $1-2\text{cm}^2$
	4	严重脂肪丢失，静脉及肌腱突显或色斑个 $21-30$ 个或总面积 $2-3\text{cm}^2$
重	5	非常严重脂肪丢失，显著静脉及肌腱或色斑个 ≥ 31 个或总面积 $\geq 3\text{cm}^2$

4.2.2.4. 面部色斑 (Facial spots)

主要评价因光老化出现的老年斑，皮损的颜色由浅黄至深褐色不等。根据色斑的数目、色斑的面积，分为 6 个等级，评分 0~5 分，见表 4-13。

表 4-12 面部色斑 4 度、6 级评分

严重程度	评分	描述
------	----	----

无	0	无色斑
轻	1	色斑个数低于 10 个或总面积低于 3cm^2
	2	色斑个数为 10-20 个或总面积在 $3-6\text{cm}^2$
中	3	色斑个数为 20-30 个或总面积在 $6-9\text{cm}^2$ 之间
	4	色斑个数为 30-40 个或总面积在 $9-12\text{cm}^2$
重	5	色斑个数 ≥ 40 个或总面积 $\geq 12\text{cm}^2$

4.3. 皮肤衰老的影像评价

利用光学成像和超声成像技术获取的皮肤影像资料可用于皮肤衰老程度的评价，光学成像技术包括二维影像、三维影像、显微成像、激光多普勒成像和皮肤光反射特性测量。

4.3.1. 二维影像评估法

4.3.1.1. 皮肤表面扫描仪 (Skin Surface Scanner)

皮肤扫描仪采集皮肤二维影像进行定量检测。相关参数详见表 4-13。

表 4-13 皮肤表面扫描仪及成像示例

检测参数	衰老特征
皮肤纹理	随年龄增加，皮肤纹理越深、皱纹越多
角质层剥落	衰老程度越高，角质细胞越易脱落
皮肤粗糙度	皮肤越粗糙，衰老程度越高
皮纹密度	皮纹密度越少，衰老程度越高

4.3.1.2. 皮肤镜 (Dermoscope)

皮肤镜又称皮表透光显微镜，临床常用皮肤镜放大倍数为 10~100 倍，能够清晰看到皮肤纹理、色素沉积、血管模式、皮损边界及形态等。

4.3.1.3. 面部皮肤多光源数字化检测仪 (Multi-light Digital Detector for Facial Skin)

采用多光源（如标准光、紫外光、绿光、黄光、交叉偏振光和平行偏振光等）拍摄面部的二维图像，对面部皮肤的色斑、纹理、皱纹、松弛等方面进行定量评估。参数值包括不同部位皮肤色斑等级和密度、皱纹长度、宽度、深度等数十个参数值，详见表 4-14。

表 4-14 面部皮肤多光源数字化检测仪皮肤衰老相关参数

检测参数	参数特征及衰老变化
皮肤色斑	包括数量、密度及等级，数值越高其衰老程度越严重
皮肤皱纹	包括数量、长度及宽度，数值越高其衰老程度越严重
眼睑松弛	眼睑部位皮肤下垂程度，数值越高其衰老程度越严重

4.3.2. 三维影像评估法

三维影像评估皮肤衰老的仪器有多种类别，包括反射式条纹光投影仪、光学相干断层扫描仪、反射式共聚焦激光扫描显微镜、激光红外摄像仪、多功能 3D 皮肤成像仪等。

4.3.2.1. 3D 皮肤检测仪 (人体皮肤快速三维成像系统)

基于数字显微条纹光投影的原理。可用于皮肤皱纹、粗糙度的测量，测试参数主要有皱纹深度、皱纹长度、纹理的均粗糙度等。

4.3.2.2. 光学相干断层扫描仪 (Optical Coherence Tomography, OCT)

光学相干断层扫描仪（OCT）是一类皮肤断层扫描设备，随衰老程度的增加，OCT 测得皮肤表面粗糙度增加，表皮厚度降低。

4.3.2.3. 反射式共聚焦显微镜（Reflectance Confocal Microscopy, RCM）

采用共轭聚焦原理获得被测皮肤组织的灰度图像。能清楚地观察真表皮交界和真皮浅层，并能够反复、实时、动态获得细胞水平高清晰度图像。相关参数见表 4-15。

表 4-15 与皮肤老化相关的 RCM 成像特征

成像位置		与皮肤老化相关的成像特征
表皮层	表皮厚度	从最早出现的蜂窝状结构断层到基底膜带下最早出现的胶原结构之间的距离被认为是标准的表皮厚度。衰老皮肤的表皮厚度偏低。
	表皮沟嵴	表皮沟是指对应着角质形成细胞之间的暗黑褶皱，常用其方向及其交叉程度来表示，可形成典型的“菱形”或“线性”结构。表皮沟随年龄增长而增加。
	斑驳样色素沉着	在蜂窝状结构中可见聚集的明亮角质形成细胞，随衰老逐渐增加。
基底膜带	皮脂腺	以毛囊为中心的椭圆形的环状结构就是皮脂腺实质成像结构
	多环乳头结构	对应球状突起和张力细丝，有时二者相互吻合并卷曲排列。
真皮乳头层	细小网状胶原	成像表现为明亮的纤细网状结构；此种结构多在毛囊的开口周围出现。随着年龄增长，细小网状胶原减少。
	粗大胶原结构	较粗的丝状结构聚集于一处；仍可见网状成像，但网格较粗大且不规则。随年龄增长，粗大胶原结构增加。
	蜷缩状胶原	成像表现为大面积的低反应性无固定形态低反射组织；单个胶原纤维不再可见。随年龄增长，蜷缩状胶原增加。
	卷曲明亮结构	高反射性的厚且短的波浪形纤维，衰老皮肤或可表现为致密斑块图像。该特征主要出现在年老群体中。

4.3.3. 皮肤衰老超声评价

4.3.3.1. 皮肤超声诊断仪（Ultrasonic Imaging of Skin）

利用高频超声探头（频率>20MHz）可评估表皮/真皮厚度、真皮胶原蛋白、皮下脂肪的分布。见图 4-1。

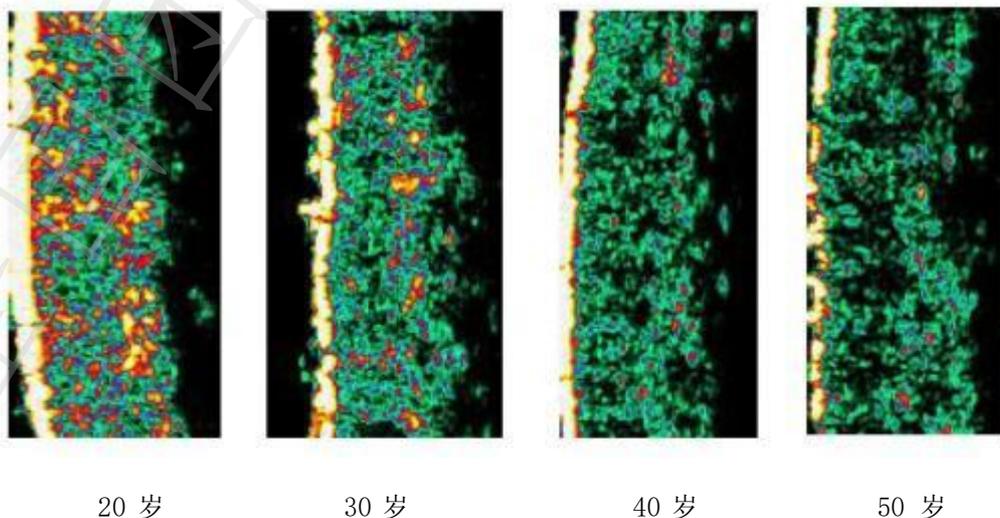


图 4-1 皮肤超声诊断仪及其成像：真皮致密度从高到低（图片引自参考文献 12.）

4.3.4. 皮肤衰老相关色素评价

4.3.4.1. 形容词/肤色模块比较法

通过语言描述将肤色分成若干等级；也可利用不同颜色的色块，按肤色深浅梯度对应色块编号进行肤色归纳分级。

4.3.4.2. L*a*b*三维色度体系 (CIE L*a*b* color system)

L*a*b*三维色度体系是国际照明委员会设定的标准色度体系。其中，L*值表征皮肤黑-白色度轴，其值越大，颜色越偏向白色；a*值代表绿-红色度轴，其值越大颜色越偏红；b*值代表蓝-黄色度轴，其值越大，颜色越偏黄。

在衰老人群中，L*值总体下降，b*值增加，如面部伴有血管充血、扩张或增生，则 a*值增加。由测得的 L*值和 b*值可以计算个体类型角 (individual typology angle, ITA°)，在皮肤曝光部位，随年龄升高，ITA°值逐渐下降。

4.3.4.3. 窄谱反射光度计 (Narrow Spectrum Reflection Photometer)

利用窄谱反射光度计检测皮肤黑色素值、血红蛋白值，用于评价皮肤衰老的色素表现。测量数值越高，说明皮肤中黑色素和血红素的含量越高。

非曝光部位衰老皮肤黑色素值趋向降低；曝光部位黑色素指数升高，如曝光部位伴有血管扩张或增生，血红蛋白值升高。

4.3.5. 皮肤微循环评估法

4.3.5.1. 激光多普勒血流仪 (Laser Doppler Flow-meter)

该仪器能够实时监测组织内血流灌注，测量微循环状态。测量参数为血流量大小的相对单位，也可以得到图像中每个点的血红细胞浓度值。随年龄增加，真皮变薄，所测真皮血流量有逐渐增加的趋势。

4.3.5.2. 视频毛细血管镜 (Video Capillaroscopy)

该仪器能够拍摄皮肤毛细血管形态。获取的主要指标包括：毛细血管襻数量/mm²，毛细血管环长度 (mm) 和直径 (mm)、襻状毛细血管间距、襻状毛细血管面积比与血管总长等。年轻人真皮乳头层毛细血管襻较长且均匀，随着年龄增长，毛细血管襻的数目减少，长度逐渐缩短，均匀程度降低。年龄与襻状血管数、襻状血管面积呈负相关，与襻状血管间距、平行血管总长正相关。

4.4. 皮肤衰老生理学参数变化趋势

皮肤生理学参数主要通过皮肤无创仪器测量角质层含水量、经表皮失水率、表面皮肤 pH 值、皮脂含量和皮肤弹性等指标，从一定程度可以作为皮肤衰老程度的评价参数，详见表 4-16。测量时要求房间恒温恒湿无噪音，探头与皮肤接触平稳，以保证获得相对准确的参数值。

4.4.1. 角质层含水量 (Stratum Corneum Hydration, SCH)

维持皮肤角质层一定的含水量，可抵抗内外因素加速皮肤水分蒸发所造成的干燥、甚至脆裂等损害。中国人群在青少年时期 (10~20 岁) 角质层含水量逐渐升高，约在 25 岁左右达到最高值，随着年龄增长开始递减，全年龄段呈现先升高再降低的过程。目前对角质层含水量的检测包括电容法、电导法等。

4.4.2. 经表皮失水率 (Transepidermal Water Loss, TEWL)

经表皮失水率 (TEWL) 是水分通过真皮和表皮向皮肤表面扩散的通量密度，反映水分从皮肤表面蒸发速率，是评估皮肤屏障功能的关键参数 (g/(h·m²))。经表皮失水量受角质层水分含量的影响，因此，TEWL 与角质层水分含量的比值也用于皮肤衰老评价。

4.4.3. 表面皮肤 pH 值 (Skin Surface pH)

皮肤表面的酸碱度在调节表皮屏障动态平衡、角质层完整性与连续性以及抗菌防御系统等方面有着至关重要的作用。正常情况下呈弱酸性，在 4.5~6.5 之间。中国人群中皮肤表面pH值随年龄、性别和身体部位的不同而变化，年轻人群的皮肤pH 值较低，50 岁以后人群的皮肤pH 值明显升高，可达6~7。目前测量皮肤 pH 的仪器众多，比较常用的一个玻璃电极和参比电极做成一体的特殊测试探头，通过测量接触皮肤表面的玻璃电极与参比电极之间的电位差，从而测得皮肤表面的酸碱度pH 值；或通过离子敏感场效应晶体管测量皮肤表面pH 值。

4.4.4. 皮肤弹性 (Skin Elasticity)

皮肤弹性是指皮肤在发生形变后回到原来状态的能力，反映皮肤生物力学特征，随年龄增加逐渐降低。30 岁以后弹性下降加快，面部等暴露部位的皮肤弹性低于非暴露部位，尤其是眼角、鼻唇沟、颈前区、前臂屈侧部位的皮肤随年龄增长弹性下降更为明显。测量皮肤弹性，一种是采用基于负压吸入力和拉伸原理，通过计算皮肤形变过程中的物理特性完成弹性的定量测定。也可以采用硬度计压力探头施加于皮肤时，测量皮肤抵抗该压力而发生的形变，从而获得皮肤即时弹性值 (N/m)。

4.4.5. 皮肤各向异性指数 (Skin Anisotropy Index)

皮肤的力学性能是各向异性的。年轻的皮肤具有较小的各向异性指数，更多的皮纹网络密度。年老的皮肤具有较大的各向异性指数，更少的皮纹网络密度。同一年龄，光遮盖皮肤具有较小的各向异性指数，更多的皮纹网络密度，曝光部位则与之相反。

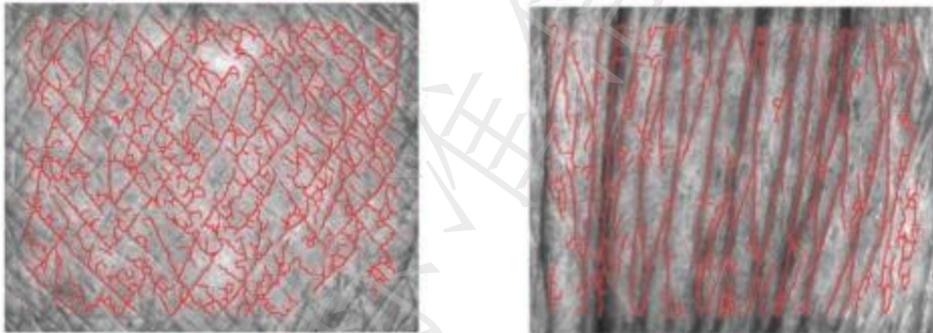


图 4-2 皮肤各向异性指数 (图片引自参考文献 21.)

左图示光遮盖部位，皮肤各向异性指数 27.26，皮纹网络密度 134
右图示光暴露部位，皮肤各向异性指数 76.35，皮纹网络密度 44

表 4-16 皮肤衰老生理学参数

参 数	与中国人皮肤衰老关系
角质层含水量	先升高，25 岁左右达到高峰，后持续降低
pH 值	年轻偏低，到了 50 岁后明显升高
各向异性	年龄越大，各向异性指数增加，皮纹密度降低
皮肤弹性	随着年龄的增大而持续降低
皮脂分泌*	青春期显著升高，保持分泌量到 35-40 岁，后急速下降

*见皮脂腺章节

4.5. 皮肤衰老的组织学参数

4.5.1. 表皮组织学变化

4.5.1.1. 自然衰老

表皮平均厚度为 50~100 μm ，30~50 岁后随着年龄的增长，每十年减少约 6.4%；真-表皮连接处厚度 (约 50~400nm)，60 岁时减少约 35%；真皮单位面积的乳突数量急剧减少，从年轻皮肤约 40 个/ mm^2 下降至 14 个/ mm^2 (65 岁后)；表皮嵴 (epidermal rete ridges) 消失；衰老皮肤角质

形成细胞形状变短变粗，有丝分裂率降低，更新周期变长；表皮内树突状细胞和黑素细胞数量减少，酶活跃的黑素细胞 每十年减少8~20%，黑素小体合成减少；表皮基底层细胞大小不均，体积增大。

4.5.1.2. 光老化

角质层增厚，角质细胞不规则增生或萎缩，排列紊乱，分化标记物外皮蛋白在角质层中表达增加。表皮黑素细胞分布不均匀，HE 染色表皮中的Meissner 和 Pacinian 小体数量减少。表皮朗格汉斯细胞和树枝状细胞密度都显著降低，CD3+T 细胞数量增加。大量的基底层细胞产生并表达突变的 p53。

4.5.2. 真皮组织学变化

4.5.2.1. 自然衰老

真皮层厚度在衰老过程中逐渐减少，主要是真皮胶原蛋白和弹性蛋白的减少导致。80 岁以上胶原蛋白减少约 75%。女性在绝经后，皮肤总厚度每年减少 1.13%，胶原蛋白含量每年减少 2%。真皮弹性蛋白钙化和弹性纤维退化。真皮乳突减少，真皮浅层和真皮乳头内微血管数量减少，体积缩小。肥大细胞减少。成纤维细胞数量 80 岁以上与 18-29 岁人皮肤相比减少了约 35%，同时细胞体积变大，形状不规则，粗面内质网小泡扩张（prominent cisternae of rough endoplasmic reticulum）。衰老标记物 β -半乳糖苷酶表达呈年龄依赖性增加。基质金属蛋白酶（matrix metalloproteinase, MMP）尤其是 MMP-1 增加。

4.5.2.2. 光老化

真皮层新生胶原蛋白减少，而基质金属蛋白酶活性增加，提高胶原蛋白的破坏速度，新胶原的合成和老胶原的分解之间的失衡进一步导致细胞外基质(extracellular matrix, ECM)中胶原的耗尽，弹性蛋白表达增高，但是弹性纤维出现变性、断裂、聚集，最终使皮肤变硬，变厚，出现松弛，细纹和皱纹；真皮微血管密度随年龄增加而减少，功能下降，并伴有超微结构变化。毛细血管密度和周细胞与内皮细胞之比(PC/EC 比值)是微血管老化的两个重要指标，可通过抗 3G5（周细胞标记物）、抗 von Willebrand 细胞因子（内皮细胞标记物）和 DNA 荧光三重染色研究毛细血管中的 PC/EC 比值。微血管衰老可分为两个时间段，15 岁青春期前，主要受自然老化影响，真皮上部乳头层的毛细血管数量以及毛细血管和小静脉的 PC/EC 比值急剧下降近一半，成年后，光老化对真皮上部微血管丛的影响比自然老化更大，毛细血管密度和 PC/EC 比值进一步缓慢降低。

4.5.3. 皮下组织学变化

4.5.3.1. 自然衰老

衰老皮肤皮下层变薄，毛细血管数量减少，血管收缩。衰老过程中皮脂腺的数量变化不大，但是皮脂腺细胞的体积在青春期时增大，直到 70 岁后逐渐变小，分泌活性逐渐降低；汗腺的数量逐渐减少，分泌能力减弱；外分泌腺数量减少（年轻皮肤数量约 3×10^6 个），分泌活性降低；毛囊密度降低；基底膜厚度增加。衰老过程中成熟脂肪细胞体积逐渐变小，小脂肪细胞数量也逐渐减少。衰老也会导致脂肪的重新分布，导致皮下：内脏脂肪比例降低，皮下脂肪组织逐渐向真皮层渗透，真皮层出现异位脂肪沉积。

4.5.3.2. 光老化

皮下血管迂曲、扩张，透明基底膜明显增厚，血管脆性增加。面部皮肤经日光照射以及韧带松弛，皮下脂肪移位和重新分布，从而呈现出明显的衰老特征。

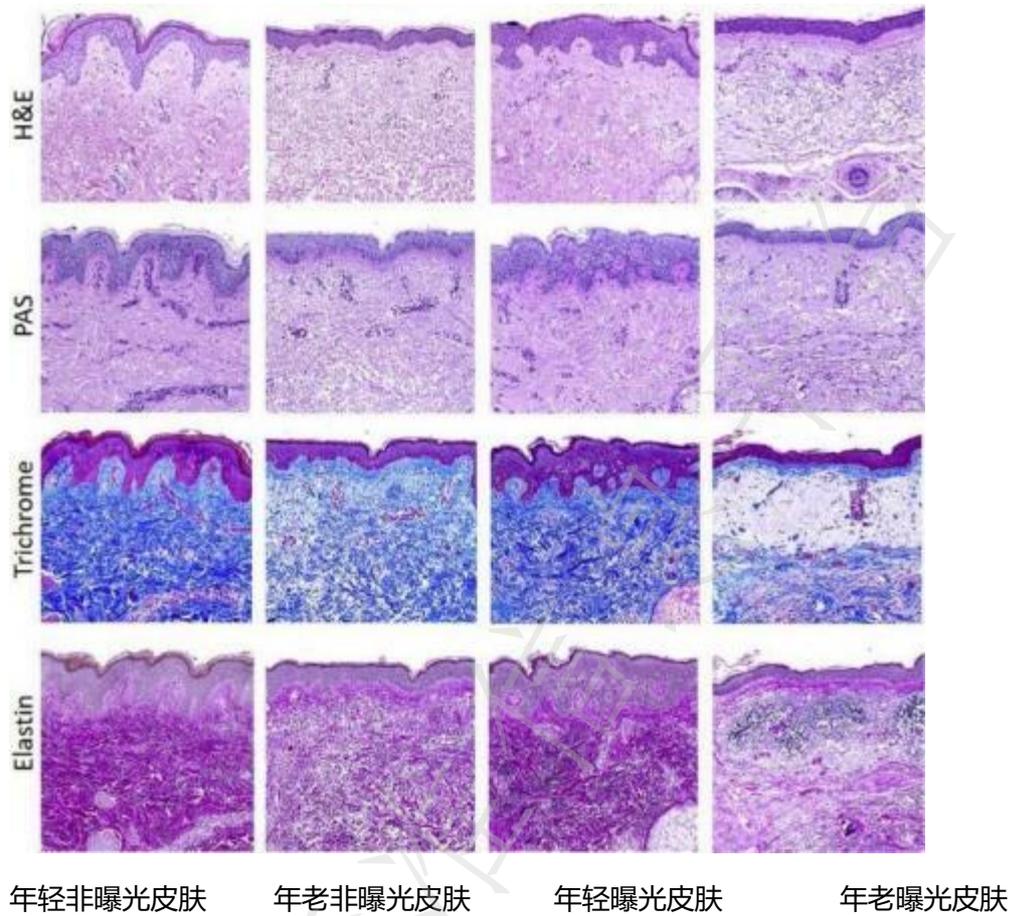


图 4-3 年轻皮肤（29岁）和的重度衰老皮肤（88岁）面部皮肤（曝光部位，光老化）和腹部皮肤（非曝光部位，自然衰老）病理变化

曝光/非曝光部位的衰老皮肤表皮显著变薄，皮突消失，真皮胶原蛋白密度降低，染色浅；曝光部位的衰老皮肤真皮层有显著异常的弹力纤维，这在非曝光部位并不存在（×100）。（图片引自参考文献 24.）

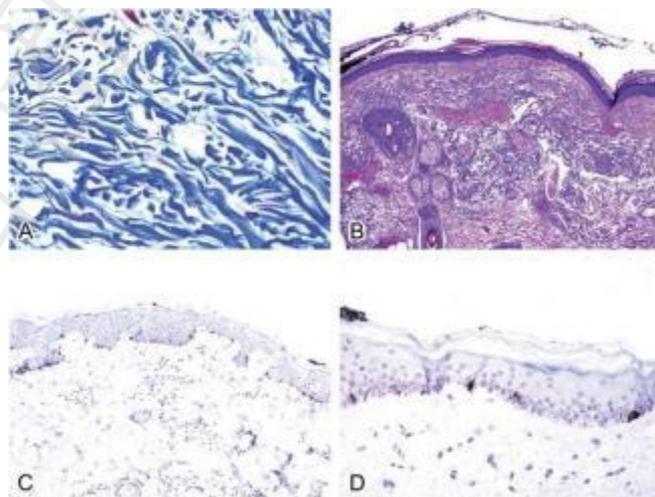


图 4-4 年轻皮肤（29岁，背部）和的重度衰老皮肤（87岁，肩部）真皮胶原纤维、皮肤血管及表皮黑色素细胞分布

A. 胶原纤维分离破坏 (×40); B. 毛细血管扩张通常是曝光部位皮肤的一个特征性表现 (×4);
C. 年轻皮肤的黑素细胞在表皮的均匀分布 (×4); D. 衰老皮肤黑素细胞在表皮的非均分布 (×20)。
(图片引自参考文献 25.)

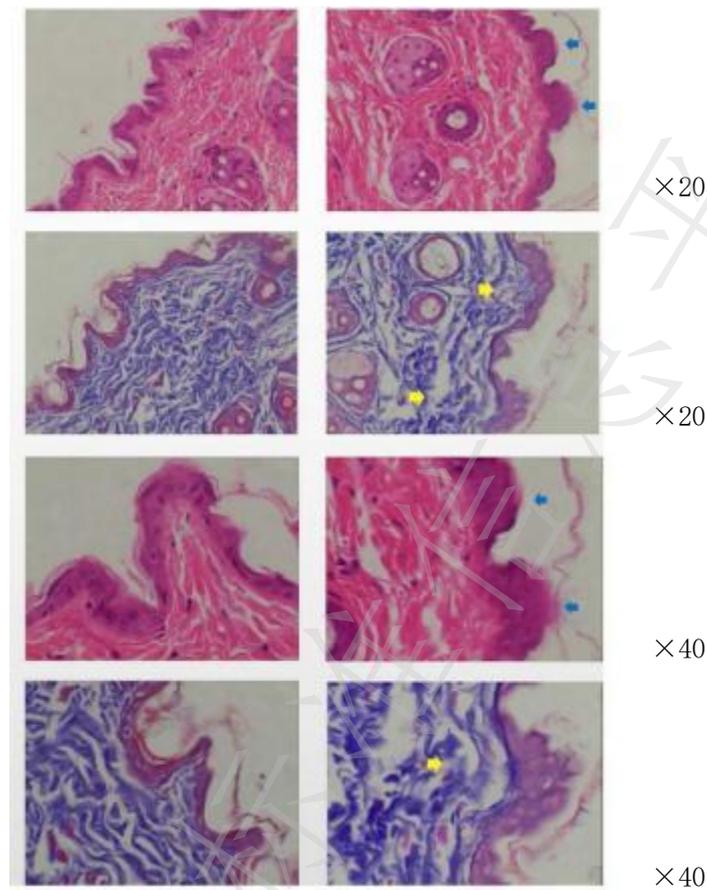


图 4-5 正常与光老化病理变化

蓝色箭头：角质形成细胞核增大，表皮增厚，黄色箭头：胶原纤维变性与破坏
(图片引自参考文献 26.)

按衰老程度，自然衰老和光老化病理表现均可分为 4 级，见表 4-17，4-18。

表 4-17 内源性衰老（自然衰老）皮肤组织病理变化分级

分级	表皮	真皮	皮下组织
0 级（年轻皮肤）	<ul style="list-style-type: none"> ·平均厚度 50~100μm; ·角质形成细胞排列有序 ·真皮-表皮连接厚度约为 50-400nm; ·表皮内树突状细胞和黑色素细胞分布及数量正常; ·表皮基底层细胞大小均一、排列整齐。 	<ul style="list-style-type: none"> ·厚度约 2~3mm; ·真皮皮突密度约 40 个/mm^2; ·胶原蛋白和弹性蛋白含量正常，I 型胶原蛋白含量通常占 70% 左右，III 型胶原蛋白的比例为 30% 左右; ·弹性蛋白无明显变性; ·成纤维细胞衰老相关标 	<ul style="list-style-type: none"> ·厚度正常，皮下脂肪层小脂肪细胞直径在 7~20 μm 之间，成熟脂肪细胞直径通常大于 60 μm; ·毛细血管数量正常; ·皮脂腺数量正常; 外分泌腺的数量约

		记物 β -半乳糖苷酶的表达不超过 10%。	3×10^6 个； ·毛囊密度正常。
1 级（轻度衰老皮肤）	<ul style="list-style-type: none"> ·平均厚度轻度减少，约 5%~10%； ·角质形成细胞形状轻度变短变粗； ·真皮-表皮连接处轻度变平，厚度轻度减少，约 5%~15%； ·皮突密度轻度下降，约 30~40 个/mm²； ·表皮内树突状细胞和黑色素细胞数量轻度减少，酶活跃的黑色素细胞减少约 8~20%，黑色素小体合成轻度减少； ·表皮基底层细胞轻度大小不均、体积增大。 	<ul style="list-style-type: none"> ·厚度轻度减少，胶原蛋白和弹性蛋白含量轻度减少，胶原蛋白减少约 25%； ·弹性蛋白轻度钙化，功能性弹性蛋白轻度减少，弹性纤维轻度退化； ·真皮层皮突轻度减少，少量细胞的细胞核固缩、胞内出现凋亡小体； ·成纤维细胞数量减少约 10%，少量成纤维细胞体积变大、形状不规则、出现粗糙的粗面内质网的小泡扩张； ·在真皮成纤维细胞和表皮角质形成细胞中 β-半乳糖苷酶轻度表达，基质金属蛋白酶（MMP）尤其是 MMP-1 轻度增加； ·真皮浅层和真皮乳头内微血管数量轻度减少，体积轻度变小。 	<ul style="list-style-type: none"> ·厚度轻度变薄，皮下脂肪层成熟脂肪细胞轻度变小，小脂肪细胞数量轻度减少，皮下：内脏脂肪比例轻度降低，少部分皮下脂肪组织向真皮层渗透，真皮层出现轻度异位脂肪沉积； ·毛细血管数量轻度减少，少量血管收缩； ·皮脂腺细胞的体积轻度变大，分泌活性轻度降低； ·汗腺数量轻度减少，分泌能力轻度减弱； ·毛囊密度轻度降低； ·外分泌腺数量轻度减少，分泌活性轻度降低。
2 级（中度衰老皮肤）	<ul style="list-style-type: none"> ·平均厚度中度减少，约 10%~20%； ·角质形成细胞形状中度变短变粗； ·真皮-表皮连接处中度变平，厚度中度减少，约 15%~30%； ·皮突密度中度下降，约 20~30 个/mm²； ·表皮内树突状细胞和黑色素细胞数量中度减少； ·酶活跃的黑色素细胞减少约 20~40%，黑色素小 	<ul style="list-style-type: none"> ·厚度中度减少，胶原蛋白和弹性蛋白含量中度减少，胶原蛋白减少约 50%； ·弹性蛋白中度钙化，功能性弹性蛋白中度减少，弹性纤维中度退化； ·真皮层皮突中度减少，中等数量细胞的细胞核固缩、胞内出现凋亡小体； ·成纤维细胞数量减少约 20%； 	<ul style="list-style-type: none"> ·厚度中度变薄，皮下脂肪层成熟脂肪细胞中度变小，小脂肪细胞数量中度减少，皮下：内脏脂肪比例中度降低，较多皮下脂肪组织向真皮层渗透，真皮层出现中度异位脂肪沉积； ·毛细血管数量中度减少，中度量血管收缩； ·皮脂腺细胞的体积

	<p>体合成中度减少；</p> <p>·表皮基底层细胞中度大小不均、体积增大。</p>	<p>·中等数量成纤维细胞体积变大、形状不规则、出现粗糙的粗面内质网的小泡扩张；</p> <p>·在真皮成纤维细胞和表皮角质形成细胞中β-半乳糖苷酶中度表达，基质金属蛋白酶（MMP）尤其是MMP-1中度增加；</p> <p>·真皮浅层和真皮乳头内微血管数量中度减少，体积中度变小。</p>	<p>中度变大，皮脂腺单位中度变小、分泌活性中度降低；</p> <p>·汗腺数量中度减少，分泌能力中度减弱；</p> <p>·毛囊密度中度降低；</p> <p>·外分泌腺数量中度减少，分泌活性中度降低。</p>
3级（重度衰老皮肤）	<p>·平均厚度重度减少，$> 30\%$，角质形成细胞形状严重变短变粗；</p> <p>·真皮-表皮连接处严重变平，厚度明显减少，$> 35\%$；</p> <p>·皮突密度重度下降，约$10\sim 15$个/mm^2；</p> <p>·表皮内树突状细胞和黑色素细胞数量明显减少，酶活跃的黑色素细胞减少$> 50\%$，黑素小体合成重度减少；</p> <p>·表皮基底层细胞重度大小不均、体积增大。</p>	<p>·厚度重度减少，胶原蛋白和弹性蛋白含量重度减少，胶原蛋白减少约75%；</p> <p>·弹性蛋白重度钙化，功能性弹性蛋白重度减少，弹性纤维重度退化；</p> <p>·真皮层皮突重度减少，大量细胞的细胞核固缩、胞内出现凋亡小体；</p> <p>·成纤维细胞数量减少约35%，大量成纤维细胞体积变大、形状不规则、出现粗糙的粗面内质网的小泡扩张；</p> <p>·在真皮成纤维细胞和表皮角质形成细胞中β-半乳糖苷酶大量表达，基质金属蛋白酶（MMP）尤其是MMP-1明显增加；</p> <p>·真皮浅层和真皮乳头内微血管数量明显减少，体积明显变小。</p>	<p>·厚度明显变薄，皮下脂肪层成熟脂肪细胞中度变小，小脂肪细胞数量中度减少，皮下：内脏脂肪比例中度降低，大量皮下脂肪组织向真皮层渗透，真皮层出现大量异位脂肪沉积；</p> <p>·毛细血管数量明显减少，大量血管收缩；</p> <p>·皮脂腺细胞的体积明显变大，分泌活性明显降低；</p> <p>·汗腺数量明显减少，分泌能力明显减弱；</p> <p>·毛囊密度明显降低；</p> <p>·外分泌腺数量明显减少，分泌活性明显降低。</p>

表 4-18 外源性衰老（光老化）皮肤组织病理变化分级

分级	·表皮	·真皮	·皮下组织
0级（无光老化）	<ul style="list-style-type: none"> ·厚度正常，角质细胞规则、排列整齐，无分化标记物外皮蛋白表达； ·表皮黑色素细胞分布均匀，HE染色表皮中的Meissner和Pacinian小体数量正常； ·表皮朗格汉斯细胞的密度和树枝状细胞密度正常，CD3+T细胞数量正常； ·基底层细胞数量正常，不表达突变的p53。 	<ul style="list-style-type: none"> ·厚度和细胞密度正常，无炎性淋巴细胞浸润。 ·成纤维细胞数量、形态正常； ·I型胶原纤维数量和形态正常； ·弹性蛋白数量正常、弹性纤维形态正常； ·真皮微血管密度和毛细血管数量正常； ·周细胞与内皮细胞之比（PC/EC比值）正常。 	<ul style="list-style-type: none"> ·皮下血管形态正常。
1级（轻度光老化）	<ul style="list-style-type: none"> ·轻度增厚，角质细胞轻度不规则增生或萎缩，排列轻度紊乱，分化标记物外皮蛋白在角质层中表达轻度增加； ·表皮黑色素细胞轻度分布不均匀，HE染色表皮中的Meissner和Pacinian小体数量轻度减少； ·表皮朗格汉斯细胞的密度和树枝状细胞密度轻度降低，CD3+T细胞数量轻度增加； ·基底层细胞轻度增加，并表达突变的p53。 	<ul style="list-style-type: none"> ·真皮轻度炎性淋巴细胞浸润； ·成纤维细胞数量轻度减少，少量细胞出现细胞老化形态改变； ·I型胶原纤维轻度减少、排列杂乱； ·变性的弹性蛋白轻度增加； ·真皮微血管及毛细血管轻度增多、扩展； ·PC/EC比值轻度降低。 	<ul style="list-style-type: none"> ·皮下血管则轻度迂曲、扩张、血管脆性增加； ·面部皮肤少部分皮下脂肪重新分配，使面部表现出轻度的衰老特征。
2级（中度光老化）	<ul style="list-style-type: none"> ·中度增厚，角质细胞中度不规则增生或萎缩，排列轻度紊乱，分化标记物外皮蛋白在角质层中表达中度增加； ·表皮黑色素细胞中度分布不均匀，HE染色表皮中的Meissner和Pacinian小体数量中度减少； ·表皮朗格汉斯细胞的密度和树枝状细胞密度中 	<ul style="list-style-type: none"> ·真皮中度炎性淋巴细胞浸润； ·成纤维细胞数量减少，中等数量细胞出现较多细胞老化形态改变； ·I型胶原纤维中度减少，排列杂乱； ·变性弹性蛋白表达中度增加； ·真皮微血管及毛细血管密度中度增生及扩张； 	<ul style="list-style-type: none"> ·皮下血管则中度迂曲、扩张、血管脆性增加； ·面部皮肤较多皮下脂肪重新分配，使面部表现出中度的衰老特征。

	度降低, CD3+T 细胞数量中度增加; ·基底层细胞中度增加, 并表达突变的 p53。	·PC/EC 比值中度降低。	
3 级 (重度光老化)	·重度增厚, 角质细胞重度不规则增生或萎缩, 排列轻度紊乱, 分化标记物外皮蛋白在角质层中表达重度增加; ·表皮黑色素细胞重度分布不均匀, HE 染色表皮中的 Meissner 和 Pacinian 小体数量重度减少; ·表皮朗格汉斯细胞的密度和树枝状细胞密度重度降低, CD3+T 细胞数量重度增加; ·基底层细胞大量增加, 并表达突变的 p53。	·真皮大量炎性淋巴细胞浸润。正常成纤维细胞数量明显减少, 大量细胞出现较多细胞老化形态改变; ·I 型胶原纤维明显减少, 排列杂乱; ·变性弹性蛋白增加; ·真皮微血管/毛细血管明显增生及扩张; ·PC/EC 比值明显降低。	·皮下血管则明显迂曲、扩张、血管脆性增加; ·面部皮肤大量皮下脂肪移位, 重新分布, 使面部表现出重度的衰老特征。

4.6. 皮肤衰老的分子指标

皮肤衰老在分子水平上的参数指标主要包括皮肤衰老相关基因及表达、遗传学指标、端粒和端粒酶、以及衰老相关分泌表型 (senescence-associated secretory phenotype, SASP) 的产生。SASP 由促炎细胞因子、生长因子、趋化因子和基质金属蛋白酶等一系列细胞因子组成。

4.6.1. 皮肤衰老相关基因及表达

皮肤衰老过程中基因表达变化最多。氧化应激、能量代谢、细胞衰老和表皮屏障途径相关基因在 20 岁到 74 岁之间发生进行性改变, 并且在 60 岁和 70 岁时变化加剧。大量基因会发生异常表达, 主要为细胞外基质调控相关基因。

4.6.1.1. p16INK4A

p16INK4A 蛋白是由 CDKN2A 基因编码, 是细胞周期蛋白依赖激酶 4 和细胞周期蛋白依赖激酶 6 的抑制剂, 是人皮肤衰老的一个重要指标。真皮和表皮中 p16INK4A 表达量随年龄增长而增加, 表皮中 p16INK4A 的表达量与老化相关的弹性纤维形态呈正相关, 并与年龄相关的皱纹呈显著正相关。

4.6.1.2. Bmi-1

Bmi-1 在皮肤中呈现高表达, 表达量随年龄增长而逐渐减少。在衰老的角质形成细胞中, Bmi-1 的表达降低。Bmi-1 调控细胞衰老的机制是 Bmi-1 可通过抑制 Ets-1, 降低 p16INK4A 的表达, 从而抑制细胞衰老。p16INK4A 与 Bmi-1 呈显著负相关。

4.6.1.3. c-Jun 与 MMPs

c-Fos 在不同年龄组中的表达无差异, c-Jun 的表达随年龄增长而增加。c-Jun 可以调节结缔组织降解酶基质金属蛋白酶-1 (MMP-1) 表达。MMP-1 的表达量也与年龄呈正相关, 它分解 I 型、II 型和 III 型胶原。

4.6.1.4. TGF- β 1 与胶原蛋白基因

真皮层中 TGF- β 1 的表达量随年龄增长而减少，TGF- β 1 可以促进纤维细胞产生胶原蛋白，因此 TGF- β 1 的减少导致 I 型前胶原蛋白的表达减少，导致皮肤衰老。

表 4-19 皮肤衰老的生物标志物

	基因名称	作用
上调基因	p16INK4A	抑制细胞 G1/S 期转变
	MMP-1	分解 I 型、II 型和 III 型胶原
	c-Jun	调节 MMP-1 表达
下调基因	Bmi-1	抑制 Ets-1，降低 p16INK4A 表达
	TGF- β 1	调节 I 型前胶原表达

4.6.2. 皮肤衰老相关表观遗传学特征

DNA 甲基化是表观遗传的调控机制之一，甲基化程度与基因被转录的能力有关。另外含有 CpG 岛 (CpG island) 的启动子中，CpG 岛的甲基化可以阻遏转录。

DNA 的甲基化与皮肤的自然老化和非自然老化存在关联。衰老皮肤中的增强子和启动子呈局部高度甲基化，并且与年龄相关的差异甲基化区 (differentially methylated regions, DMRs) 大小在 100bp~150bp 之间，比人类其他已知结构的 DMRs 小。在衰老过程中表观基因组的一个关键特征是 DNA 甲基化模式的年龄相关性侵蚀 (age related erosion of DNA methylation patterns)，即人类表皮基因甲基存在局部特定结构出现与年龄相关的不连续甲基化差异，如老年人细胞 CpG 岛的超甲基化。

长期日晒导致 DNA 呈现低甲基化状态，临床中的光老化等级严重程度与表皮基因低甲基化程度成正相关。而无日晒影响的自然老化 CpG 岛呈现广泛超甲基化。

4.6.3. 皮肤衰老相关的端粒特征

端粒被认为是老化的生物标志物，在自然和非自然老化中都可以观察到端粒的缩短。端粒功能障碍诱导的病灶 (telomere dysfunction-induced foci, TIF) 经常用于定量检测体内和体外衰老细胞，真皮中 TIF 与年龄呈正比。

随着皮肤细胞老化，端粒长度缩短，皮肤细胞进入衰老状态。皮肤中 Lamin B1 的减少与端粒缩短相关。Lamin B1 的减少或丢失与细胞衰老有关。

4.6.4. 皮肤衰老相关的线粒体功能

线粒体在氧化磷酸化过程中不断产生潜在破坏性的活性氧簇 (Reactive oxygen species, ROS)，ROS 会导致 mtDNA 损伤。紫外线照射会导致皮肤 mtDNA 产生 4,900 bp 的“常见”缺失，该“常见”缺失可作为皮肤光老化的生物标志物。此外，mtDNA 3715 bp 和 6278 bp 缺失也可以作为潜在的皮肤光老化生物标志物。

抗氧化防御的关键转录因子之一是核因子 NF-E2 相关因子 (Nrf2)。Nrf2 通过诱导调控一系列抗氧化因子的表达，减轻活性氧和亲电体引起的线粒体及细胞损伤，使细胞处于稳定状态，维持机体氧化还原动态平衡。Nrf2 调控的重要抗氧化因子包括血红素氧合酶-1 (HO-1)，醌氧化还原酶 1 (NQO1)，以及 γ -谷氨酰半胱氨酸合成酶 (γ -GCLC)。

过氧化物酶体增殖物激活受体 (PPARs) 属于细胞核激素受体一族，包括 PPAR- α ，PPAR- γ ，PPAR- δ 三个亚型。其中 PPAR- α 参与脂质代谢、脂肪酸氧化和葡萄糖稳态的转录调节。PPAR- α 激活剂可通过调控 MAPK/AP-1 和 NF- κ B 通路抑制 MMPs、IL-6 和 IL-8 的表达。PPAR- δ 上调过氧化氢酶 (CAT) 的表达，并抑制 MMP1 的表达，参与细胞外基质的调控。过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活因子 (PGC-1) 能促进线粒体活性，清除自由基。

4.6.5. 皮肤衰老相关的炎症因子

光老化过程中细胞因子和生长因子受体相关的信号通路参与其中，主要涉及的炎症因子包括肿瘤坏死因子 (Tumor necrosis factor, TNF)、白细胞介素 (Interleukin, IL)、表皮生长因子 (Epidermal growth factor, EGF) 和成纤维细胞生长因子 (Fibroblast growth factors, FGF) 等。

与年轻人相比，老年人血浆中 IL-1 β ， IL-6 和 TNF- α 水平升高，而局部外用含有生理性脂质润肤霜后老年人角质层水合作用增强，血浆中 IL-1 β ， IL-6 和 TNF- α 水平有所下降。表皮角质形成细胞分泌促炎细胞因子，直接刺激表皮增殖和真皮炎性细胞。经 IL-1 α 处理培养的人角质形成细胞可以刺激表皮脂质合成。然而在老年人中，IL-1 α 在角质形成细胞中表达减少。随着年龄增长，除了促炎症细胞因子水平有变化外，健康人皮肤冲洗液中的抗炎症细胞因子干扰素（interferon, IFN）IFN- α 2 和 IL-1RA 水平也有所下降。

随着年龄增长，成纤维细胞活性降低，FGF 水平也会降低。与年轻人相比，老年人皮肤冲洗液中 FGF-2 水平有所下降。EGF 除了维持皮肤屏障功能以外，还具有抗皮肤衰老的作用。EGF 具有促进成纤维细胞产生 I 型原骨胶原及透明质酸的作用，尤其是对透明质酸作用显著，因此具有抗皮肤衰老的作用。类似地，一项随机对照研究发现外用含 EGF 的霜剂能够通过协同改善皮肤厚度及密度从而起到抗皮肤衰老的作用。随着年龄增长，血液和人体皮肤冲洗液中 EGF 水平会下降。体外研究发现转化生长因子（Transforming growth factor, TGF）TGF- β 1 能够明显促进成纤维细胞产生 I 型原骨胶原，同时也有促进透明质酸产生的作用。因此，TGF- β 1 具有抗皮肤衰老的作用。然而，随着机体衰老血清中 TGF- β 1 水平降低，并且与年龄呈负相关。

表 4-20 皮肤衰老相关的炎症因子

名称	来源	变化趋势
IL-1 α	角质形成细胞	降低
IL-1 β	血清	增高
IL-6	血清	增高
IFN- α 2	皮肤漂洗液	降低
TNF- α	血清	增高
EGF	血清、皮肤漂洗液	降低
FGF-2	血清、皮肤漂洗液	降低
TGF- β 1	血清	降低

4.6.6. 皮肤衰老相关的脂质、蛋白质及代谢物

随着年龄增长，表皮层的结构和成分发生变化。皮肤表面的皮脂膜在 30 岁左右达到峰值，此后逐渐减弱。细胞间脂质如神经酰胺、游离脂肪酸、胆固醇等减少，比值发生改变。维持皮肤屏障结构的聚丝蛋白（filaggrin, FLG）、内披蛋白（involucrin, INV）、兜甲蛋白（recombinant lorricrin, LOR），小分子富含脯氨酸蛋白（small Proline Rich Proteins, SPRPS）、水通道蛋白（aquaporin, AQP）减少。

支撑皮肤充盈和弹性的胶原蛋白、弹性蛋白减少，真皮基质成分糖胺多糖（glycosaminoglycan, GAGs），包括硫酸软骨素（chondroitin sulfate）、硫酸角质素（keratan sulfate）、硫酸肝素（heparan sulfate）和透明质酸（hyaluronic acid）减少。

基质金属蛋白酶（MMP）具有溶解胶原蛋白和真皮基质的作用，在老化皮肤中增加。

β -半乳糖苷酶（ β -Galactosidase）是一种源于溶酶体的衰老标志物，能够在衰老细胞中增加溶酶体生物合成，是细胞衰老特异性标志物。

活性氧簇，过氧化脂质及脂质过氧化代谢产物如丙二醛增高，红细胞中具有抗自由基作用的超氧化物歧化酶减低。

脂褐素（Lipofuscin）是蓄积于胞浆内的黄褐色的微细颗粒，由含有脂肪的残存物与溶酶体消化物所组成。皮肤细胞中的脂褐素随年龄而增加，可使皮肤粗糙、黯淡无光，是形成老年斑的主要原因之一。

4.6.7. 皮肤衰老相关的糖化反应

皮肤糖化反应是蛋白质和脂质与体内存在的还原糖类物质经过缓慢的反应后，生成一系列的晚期糖化终末产物（Advanced Glycation End Products, AGEs）的过程。AGEs 可影响表皮角质形成细胞的功能，表皮粗糙度以及皮肤弹性。AGEs 使皮肤产生衰老，暗沉，发黄。

对于皮肤糖基化状况或抗糖基化的功效糖基化反应的判断可通过以下两种方式进行：1. 测定体外糖基化反应形成糖基化终末产物AGEs 的情况，比如测定角质形成细胞中糖基化终末产物AGEs，如：羧甲基赖氨酸(Carboxymethyl lysine, CML)等的含量；2. 通过皮肤分光测色计分析皮肤肤色（b-value）来间接判断糖基化反应的影响。

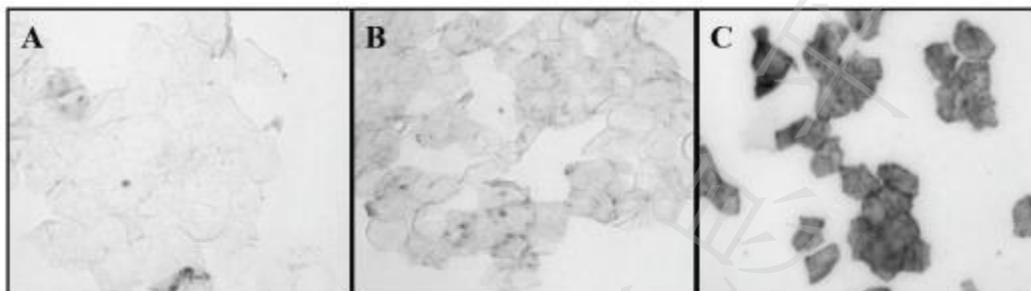


图 4-3 表皮角质细胞平均 AGEs 染色强度（图片引自参考文献 52.）

A: 强度 3.56; B: 强度: 9.53; C : 强度: 14.43

5. 头皮与毛发衰老

毛发衰老是人体老化表型特征之一，毛发衰老通常表现为毛发弥漫性稀疏、毛发变细、变软、变灰白、毛发强韧度下降、逐渐失去光泽等。通常可以从毛发密度、直径、白发比例以及毛发强韧度等进行评价。

毛发衰老的临床评价方法包括临床照片、毛发镜定点照片分级评估和各种无创性的仪器设备客观定量检测。实验室的参数包括带毛囊头皮组织学、核酸蛋白组学等检测技术。

检测评估前需使用洗发水清洗，15 分钟内吹干头发，在温度为 $21 \pm 1^\circ\text{C}$ 和湿度为 $50 \pm 10\%$ 的室内环境中休息等待 20 分钟。

5.1. 毛发衰老的评价方法及指标

5.1.1. 毛发密度 (Hair density)

毛发密度随年龄增加逐渐变得稀少。老年性脱发主要表现为毛发弥漫性稀疏，无明显的脱发模式。用毛发镜定点拍照测量毛发密度，计算头顶区域 3 个部位（顶点和相邻前后方向 5cm 间隔处）单位平方厘米的毛发数量(根/ cm^2)。毛发密度分为 6 个等级，评分为 0-5 分，见表 5-1 和图 5-1。

表 5-1 毛发密度 6 等级

评分	毛发密度 (根/ cm^2)
0	>190
1	171-190
2	151-170
3	131-150
4	111-130
5	≤ 110

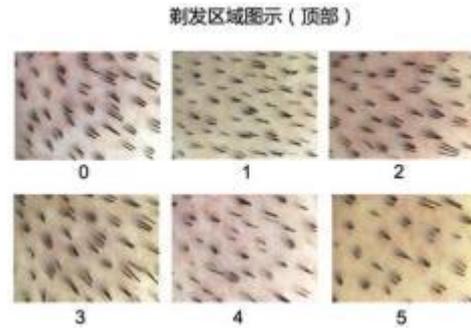


图 5-1 毛发密度 6 等级

5.1.2. 毛发直径 (Hair diameter)

毛发质地随年龄增加逐渐变细软，毛发直径变小。用毛发镜定点测量毛发直径，测量头顶区域 3 个部位（顶点和相邻前后方向 5cm 间隔处）至少 5 根毛发的平均毛发直径，取平均值。毛发直径分为 6 个等级，评分为 0-5 分，见表 5-2 和图 5-2。

表 5-2 毛发直径 6 等级

评分	毛发直径 (μm)
0	>100
1	91-100
2	81-90
3	71-80
4	61-70
5	≤ 60



图 5-2 毛发直径 6 等级

5.1.3. 白发比例 (White hair ratio)

随年龄增加，毛发色素减低，逐渐呈现灰白色，白发比例增加。使用标准发束，对照志愿者白发区域进行白发比例打分。白发比例分为 6 个等级，评分为 0-5 分，见图表 5-3。

表 5-3 白发比例 6 等级

评分	白发百分比 (%)
0	0
1	1-20

2	21-40
3	41-60
4	61-80
5	81-100



图 5-3 白发比例

5.1.4. 毛发强韧度 (Hair toughness)

毛发强韧度随年龄增加逐渐减少。收集头皮顶点处的 10 根头发使用自动拉伸测试仪测量毛发强韧度。头发一端被固定在支架上，以每分钟 2 厘米的速度拉动，测量毛纤维断裂所需的力 (g)，即毛发强韧度。毛发强韧度分为 6 个等级，评分为 0-5 分，见表 5-4。

表 5-4 毛发强韧度 6 等级

评分	毛发强韧度 (g)
0	>110
1	106-110
2	101-105
3	96-100
4	91-95
5	≤90

5.2. 头皮表面生理学参数

通过测量受试者头皮皮肤表面生理学参数，包括：经表皮失水、角质层含水量、pH 值、皮脂、皮肤弹性等，通过“年龄-生理学参数”坐标的变化情况，说明头皮衰老对头皮表面生理学参数的影响，部分可参考皮肤衰老生理学参数指标；但现有样本量较少，未发现这些参数随着年龄的增长有明显的分布趋势变化。现有文献中也差异不明显，待后续进一步验证。

5.3. 头皮与毛发衰老组织学表现

5.3.1. 毛发衰老的组织学表现

与身体其他部位的皮肤老化相比，头皮衰老最显著的区别在于毛囊的变化。毛囊生长期缩短，导致毛囊变小。皮肤纤维化阻碍毛囊下部的重塑，降低其下移至皮下组织的能力。

基于 4mm 环钻活检组织的综合表现为老年性秃发的特征表现（图 5-4 和图 5-5）：①毛发总量轻度下降（正常亚洲人群约 20 个/每高倍视野）；②休止期毛发数量大于 15%；③正常比例的终毛/毳毛比低于 2 : 1；④深部的毛囊周围无炎症表现。

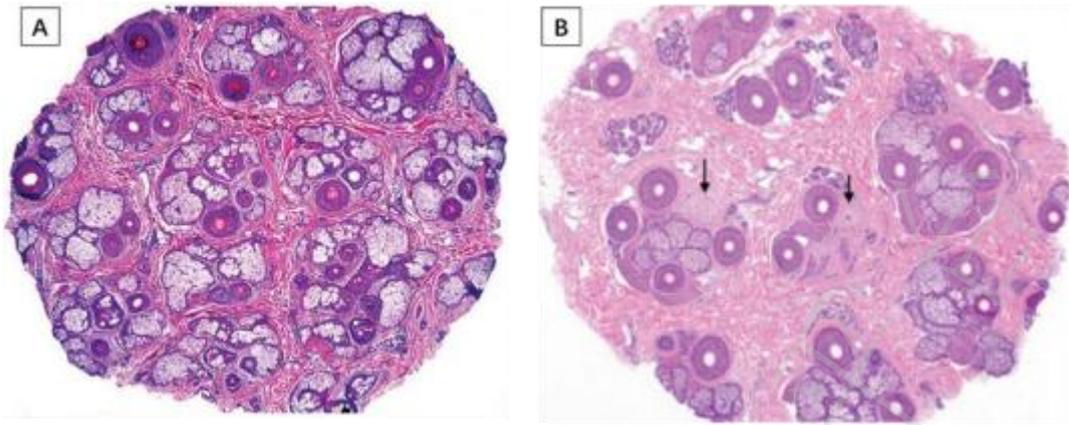


图 5-4. 头皮毛囊横切面

A. 正常毛囊结构和计数横切面图：图中共有14个毛囊单位、20个毛囊，终毛：毳毛比为1:1，休止期毛发计数为40%；B. 老年性秃发头发密度中度、弥漫性减低。毛发总数处于正常范围的低值，毛发大小及毛囊均正常。两束纤维组织(箭头)表明至少有数根终毛出现永久性脱落。（图片引自参考文献 57.）

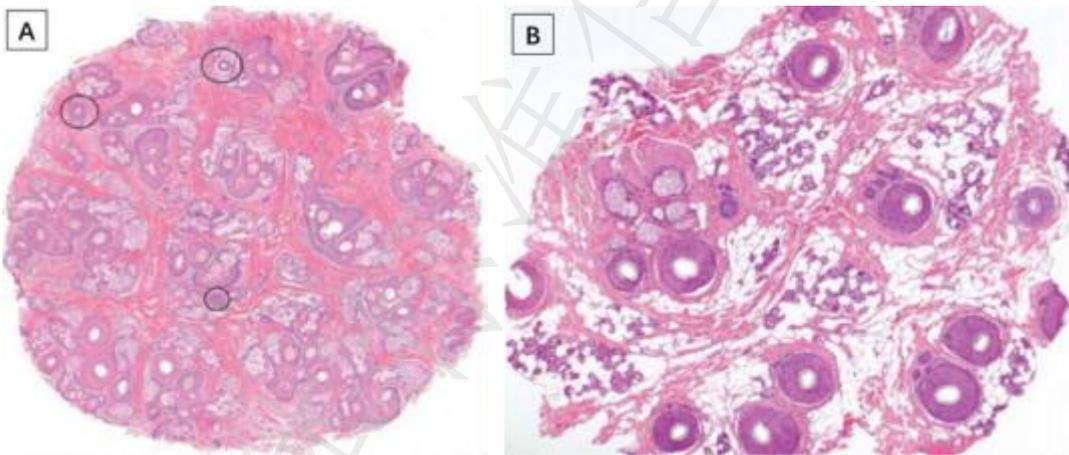


图 5-5 头皮毛囊横切面

A. 来自正常人头皮活检样本，圆圈处为3处毳毛；B. 老年性秃发。70岁女性，头发密度轻度、弥漫性减低，数年后逐渐脱发。终毛大小均匀，休止期毛发数量少。毛发总数正常范围的下限是典型的老年性脱发。（图片引自参考文献 57.）

5.3.2. 头皮衰老其他组织学变化

头皮内在衰老的标志是表皮-真皮相接处变平，其他变化包括表皮朗格汉斯细胞和黑素细胞减少，成纤维细胞和血管网丧失，真皮细胞外基质减少。在长期暴露于紫外线的皮肤中，典型的组织学变化是皮肤弹性组织变性，伴随胶原纤维和弹性纤维降解物的沉积增厚。由于日光性弹性组织变性程度增加，秃发的头皮具有较厚的真皮层。在日晒伤的头皮中也可看到其他老化特征，包括表皮厚度和细胞结构的显著变化、黑素细胞分布不均匀和真皮中炎症细胞的增多。

衰老的女性头皮的毛囊组织展现出明显的结构和生物学变化，真皮乳头层及网状层的界线在年轻头皮中难以区分，但在年龄>40岁的衰老头皮中界线相对清晰，胶原组织增多，见图5-6。

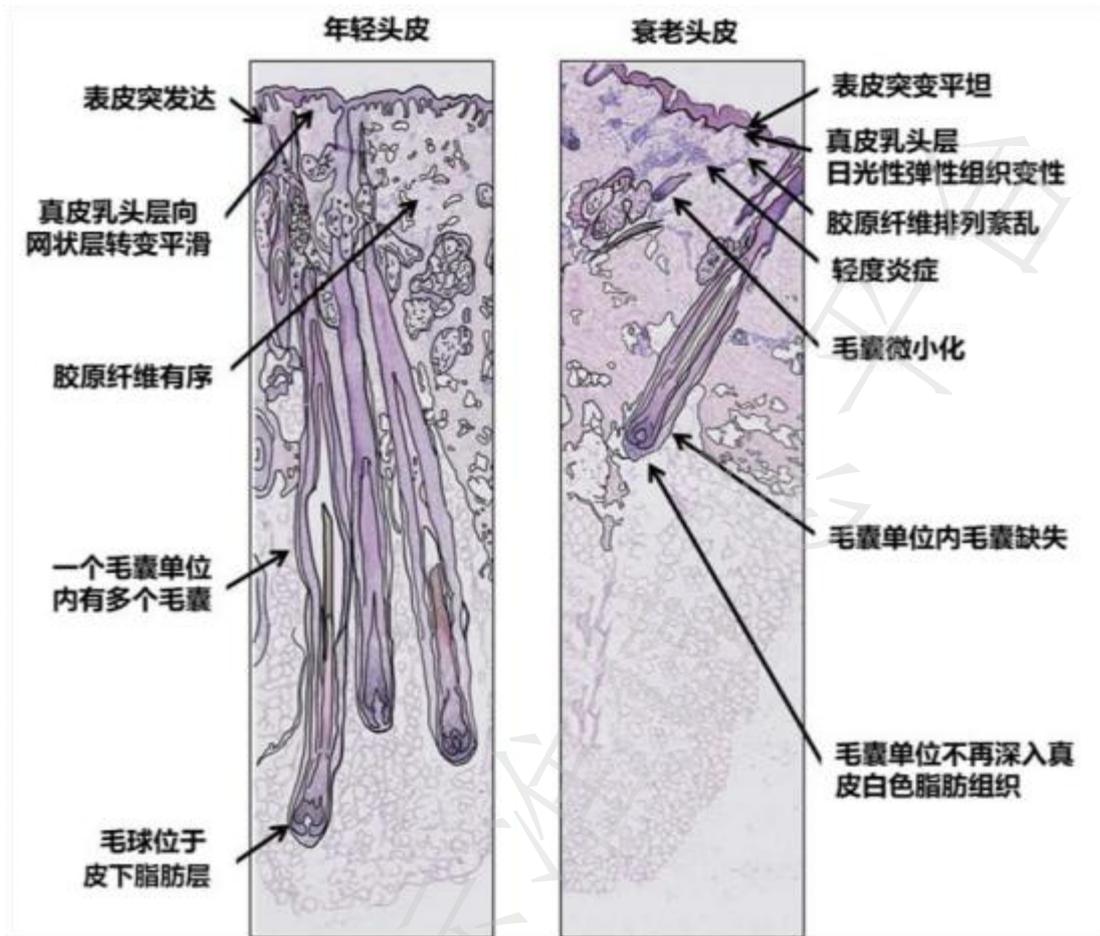


图 5-6. 女性头皮衰老相关结构和生物学变化的示意图 (图片引自参考文献 55.)

5.3.3. 头皮与毛发衰老相关的分子指标

5.3.3.1. 头皮水平的基因表达变化

在衰老头皮的真皮胶原组织内平足蛋白 (podoplanin, PDPN) 表达减少、多功能蛋白聚糖 (versican, VCAN) 表达增加; 在毛乳头和真皮鞘部位, 透明质酸合成酶 2 (Hyaluronic acid synthase 2, HAS2) 高表达, 基质金属蛋白酶 1 (matrix metalloproteinase 1, MMP1) 水平升高。

5.3.3.2. 细胞水平的基因表达变化

毛乳头细胞随着年龄的增长 MMP1 基因表达升高; 在真皮鞘细胞中, HAS2 和 PDPN 表达增加, α -平滑肌肌动蛋白 (α -smooth muscle actin, α SMA) 表达减少。在毛乳头细胞与真皮鞘细胞中软骨寡聚蛋白 (cartilage oligomeric protein, COMP) 表达均升高。另外, 随着年龄的增长毛乳头细胞分泌的真皮鞘蛋白增加。

5.3.3.3. 其他分子指标变化

头皮衰老的其他分子指标变化与皮肤衰老类似, 包括细胞周期蛋白、端粒等。端粒缩短或端粒结构的破坏、各种有害因素引起的 DNA 损伤、染色质结构改变及某些癌基因的表达均是毛发产生老化的促发因素。衰老过程是借助于信号转导途径实现的, 其中细胞周期蛋白依赖激酶抑制因子 (CKI) 如 p16INK4A, p21^{CIP1} 和 p53 控制的信号途径至关重要。衰老细胞表达高水平的 p16INK4a, 其可阻断 CDK4-6 对视网膜母细胞瘤抑制蛋白 (retinoblastoma protein, Rb) 的磷酸化, 阻止细胞进入 S 期。DNA 损伤可以激活 p53 基因使其蛋白产物迅速积累, 进而诱导 p21^{CIP1} 引起 G1 期限制点停顿, 在细胞衰老及凋亡中发挥作用。

6. 皮脂腺衰老

6.1. 皮肤表面脂质

皮肤表面脂质主要来源于皮脂腺分泌，一生中皮脂腺分泌呈双峰现象：即刚出生时受母体激素的影响，皮脂腺分泌旺盛，为第一次高峰，数周后随着母体激素的逐渐消退脂质分泌减少。1-7岁儿童期肾上腺处于静默期，皮脂分泌量最低。8岁左右开始逐渐进入青春期，肾上腺活性增强并大量分泌性激素前体硫酸脱氢表雄酮（DHEAs）以及性腺活跃并分泌的睾酮等激素作用下，皮脂腺分泌脂质再次逐渐达到高峰。不同人群皮脂分泌峰值年龄有差异，中国人群第二个峰值女性出现在40岁左右，男性出现在50岁左右，然后前额和前臂皮脂量开始出现缓慢下降（图6-1），皮脂腺代表性脂质成分鲨烯和蜡脂也随着年龄增加出现下降。不论任何年龄，男性皮脂分泌平均水平始终高于女性。皮脂分泌量评估常采用皮肤无创测量包括直接法、间接法和皮肤影像法如长波紫外线诱导的荧光（UVF）等（图6-2）。

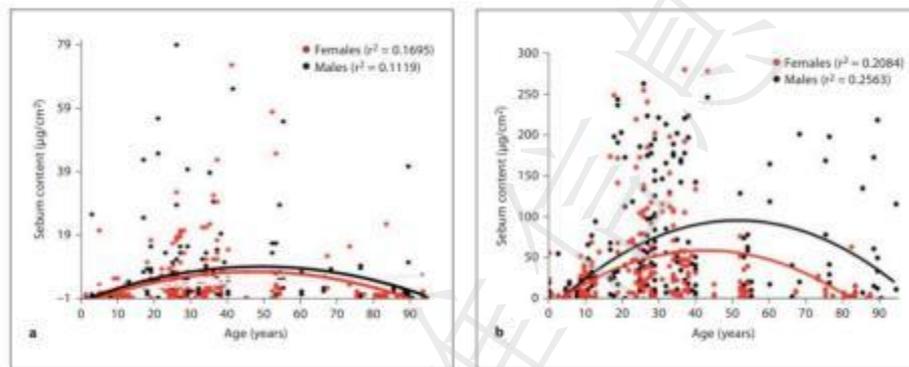


图 6-1 皮脂量随着年龄的变化趋势：a) 前臂部位；b) 前额部位（图片引自参考文献 62.）

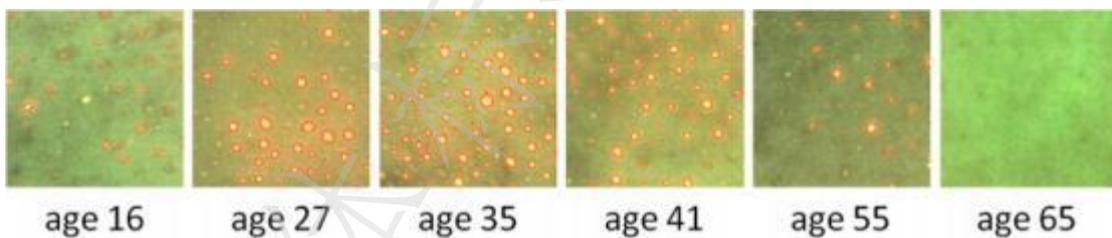


图 6-2 不同年龄人群皮肤的UVF 表现（图片引自参考文献 62.）

6.2. 皮脂腺组织学

6.2.1. 皮脂腺数量

随年龄的增长，皮脂腺的数量基本保持不变，但其大小有增加的趋势。

6.2.2. 皮脂腺形态

刚出生时皮脂腺增大活性增加，数周后随着母体激素消退皮脂腺变小甚至儿童时期很难检测到，青春期开始皮脂腺增大活性增加。但老年后皮脂腺虽然活性出现下降脂质分泌减少，但皮脂腺形态不但没有萎缩反而出现增大。因此在老化皮肤中尤其是面部，会出现老年性皮脂腺增生，临床表现为直径约1-5mm的淡黄色或肤色丘疹、结节，中央有脐凹，可单发或多发（图6-3）。组织病理检查表现为真皮浅层大量增生的成熟皮脂腺，皮脂腺小叶由大量成熟的皮脂腺细胞组成，细胞胞浆丰富，呈空泡状（图6-4）。



图 6-3 老年性皮脂腺增生临床表现（图片引自参考文献 63.）

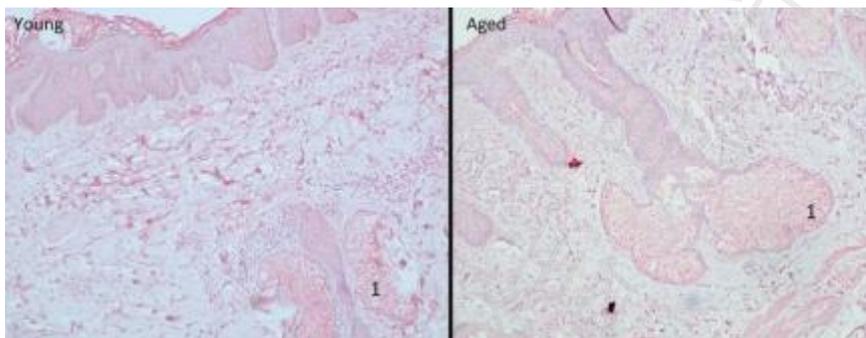


图 6-4 年轻人与老年人皮脂腺组织学特点（图片引自参考文献 63.）

6.3. 组学指标

皮脂腺组学指标见表 6-1。

表 6-1 皮脂腺组学指标

皮脂腺老化中上调的基因	① 核苷酸及ATP代谢和结合的基因：ACVR1、ALS2CR2和 CAMK2G； ② 与TGF-β 家族及BMPs相关的基因：MADH4, INHBA, THBS1, ACVR1, SMURF2。
皮脂腺老化中下调的基因	① 与线粒体功能，氧化应激损伤，应激反应相关的基因在年老皮脂腺细胞中表达改变，例如TXN2, ESTs, DHCR7以及 FDFT1这一类具有氧化还原酶活性的基因； ② 热休克蛋白（HSP27/HSPB1）及泛素蛋白体（UBE2G2, UBE2M 和UBE3A）； ③ 与胆固醇合成及自由脂肪酸相关的基因（DHCR7, FDFT1, MVD, PMVK, LYPLA1）； ④ 与DNA 修复相关的基因如VCP, TREX1以及NOTCH2, SIRT6在年老皮脂腺细胞内表达下降
皮脂腺衰老中上调表达的蛋白及信号通路	Wnt-β-catenin通路、Smad7、TGF-β、p53、AhR
皮脂腺衰老中下调表达的蛋白及信号通路	c-MYC、FASN、NOTCH 通路、EMA、硬脂酰CoA去饱和酶 (SCD) 1

7. 7甲衰老表现的评价参数

7.1. 甲衰老临床表现及评价指标

7.1.1. 甲衰老的甲板颜色改变

在甲衰老中观察到最常见的表现为甲板颜色变化，甲板由无色半透明变为外观粗糙不反光、苍白或不透明。出现色素细胞活化，指/趾出现多条灰色到褐色纵行甲黑线。由于甲板增厚，角质堆积及甲下角化过度，甲板可呈黄色、灰色。

7.1.2. 甲衰老的甲板厚度改变

男性的甲板比女性厚，指甲和趾甲的正常平均厚度，男性分别为 0.6 和 1.65 毫米，女性分别为 0.5 和 1.38 毫米，随着年龄的增长，甲板的厚度可以变厚、变薄，也可以保持不变。

7.1.3. 甲衰老的甲板轮廓改变

老年性改变包括横向凸度的增加和纵向曲率的减少。

7.1.4. 甲衰老的甲板纹理改变

随着年龄的增长，甲板会变得越来越脆弱，导致层裂、表面剥脱、纵裂。甲板表面纵向条纹变明显。

7.1.5. 甲衰老的甲板生长速度改变

年龄相关指甲生长速率变化：指甲和趾甲正常平均生长速率分别为每月 3 毫米和每月 1 毫米。甲板增长率在 25 岁以后会每年下降约 0.5%。

7.2. 甲板衰老化学成分变化

甲板由甲母质上皮产生的层状角化细胞组成，主要由中间丝状蛋白或角蛋白组成(其中 80~90%为硬角蛋白)。其他甲板成分包括水(7%~18%)、脂类(0.1%~5%)和微量元素(主要是铁 Fe、锌 Zn、钙 Ca和镁 Me)。通常，甲板钙(Ca)含量低，占甲板重量的 0.2%；而硫(S)含量高，占甲板重量 10%。有研究表明，指甲和趾甲的钙含量随着年龄的增长而下降，而镁(Mg)含量则随着年龄的增长而上升。老年性指甲的铁(Fe)含量通常也会下降。甲板包含的脂类有胆固醇和胆固醇硫酸盐，它们也存在于角质化的皮肤区域和头发中。随着年龄的增长，女性的指甲胆固醇硫酸盐水平显著降低，这可能老年人指甲脆性的发生率更高的原因。

7.3. 甲衰老的组织学改变

与年轻人相比，衰老的甲床真皮通常会出现弹性组织变性和血管增厚。此外，甲板的角化细胞通常增大，残余角化细胞核增多。目前还没有老化导致甲母质发生变化的报道。

7.4. 甲衰老程度图片分级

目前没有统一的甲衰老分级。我们将甲衰老分为年轻、轻度衰老、中度衰老和重度衰老见表 7-1 (图片见附录 A, 图 A.2.3)。

表 7-1 甲衰老程度分级

无衰老	甲周皮肤润泽、有弹性、无明显炎症、不干燥、无脱屑。甲板平滑、无明显颜色改变、无甲脆裂。
轻度衰老	出现甲周皮肤衰老表现(同皮肤衰老)。甲板增厚，纵脊、横沟增加。可出现甲黑线。甲板脆性增加，出现甲层裂。
中度衰老	甲周皮肤进一步干燥，起皱。可见长期摩擦造成慢性外伤。甲板生长速度慢。

	甲板进一步增厚，甲下角化过度、甲板脆裂，甲下裂片状出血。甲板表面纵脊横沟越加明显、甲板横向弧度增加，可产生嵌甲
重度衰老	甲周皮肤更加明显干燥、起皱、萎缩、色沉。甲小皮炎症加重可消失。可见长期摩擦造成慢性外伤。甲板生长速度变慢。甲板增厚甲下角化过度、甲板脆裂、甲下裂片状出血、甲板表面纵脊横沟越加明显、甲板横向弧度增加等表现更加严重。

附录A
 (资料性附录)
 皮肤衰老图像评价示例

附录 A 为曝光部位皮肤衰老图像评价示例，包括面部皱纹、面颈部皮肤松弛、手背部皮肤老化和面部老年斑。并结合不同使用者需求，将皮肤皱纹的严重程度划分为 9 级，4 度；皮肤松弛下垂、手背皮肤衰老程度划分为，6 级 4 度。评价分别图示如下：

A.1 皮肤皱纹 9 级评分图示

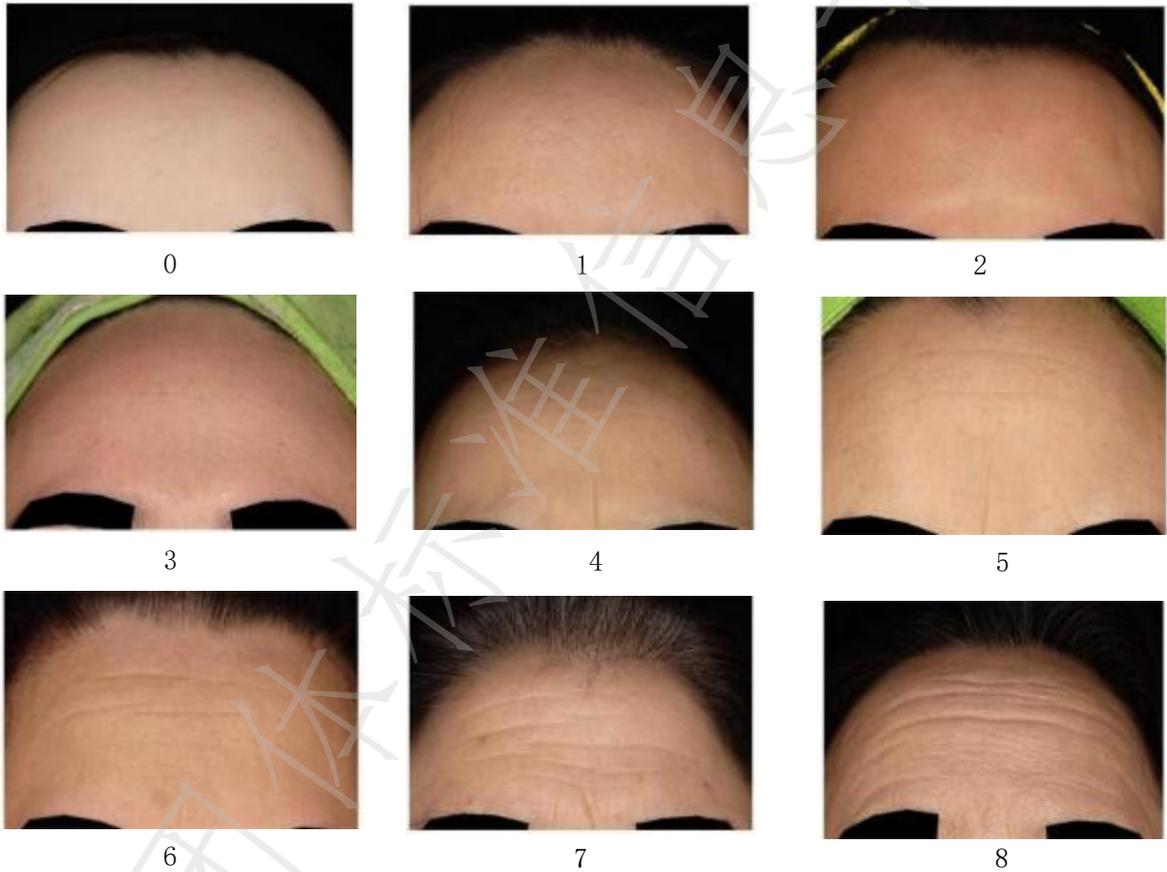


图 A.1.1 额纹 9 级评分图示



图 A.1.2 鱼尾纹 9 级评分图示



图 A.1.3 眉间纹 9 级评分图示



图 A.1.4 眶下皱纹 9 级评分图示



图 A.1.5 鼻唇沟（法令纹）9 级评分图示



图 A.1.6 木偶纹 9 级评分图示

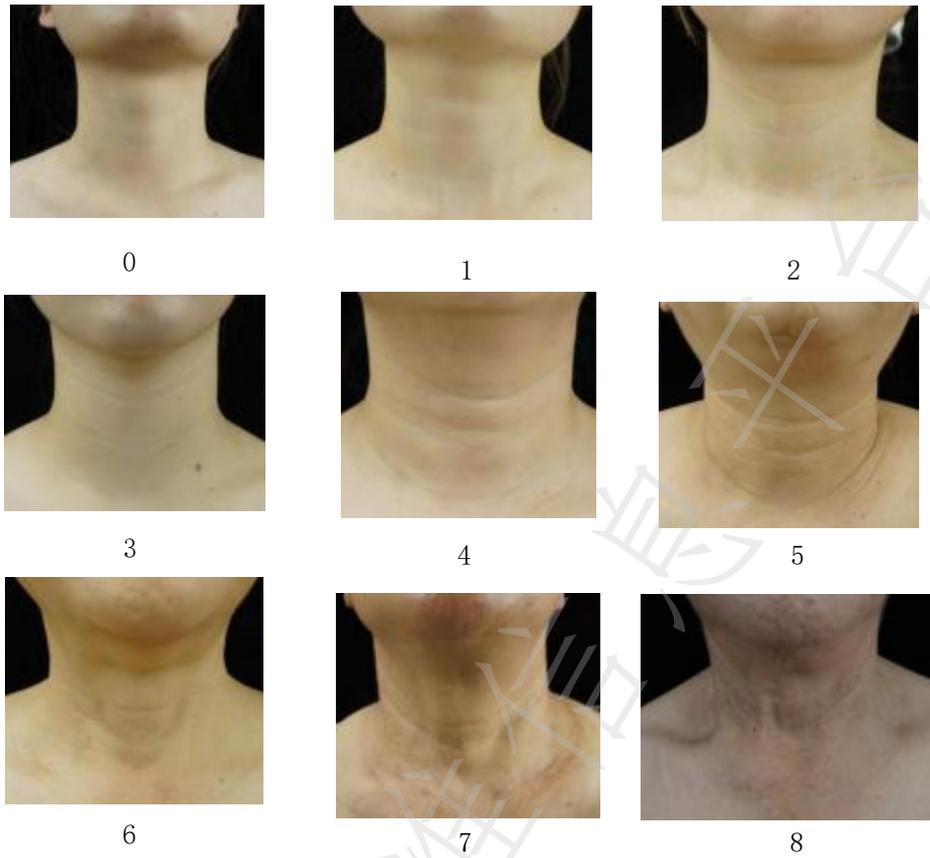


图 A. 1. 7 颈纹 9 级评分图示

A.2 皮肤松弛下垂、手背衰老 6 级评分图示



图 A.2.1 眼袋 6 级评分图示



图 A.2.2 下颌缘 6 级评分图示

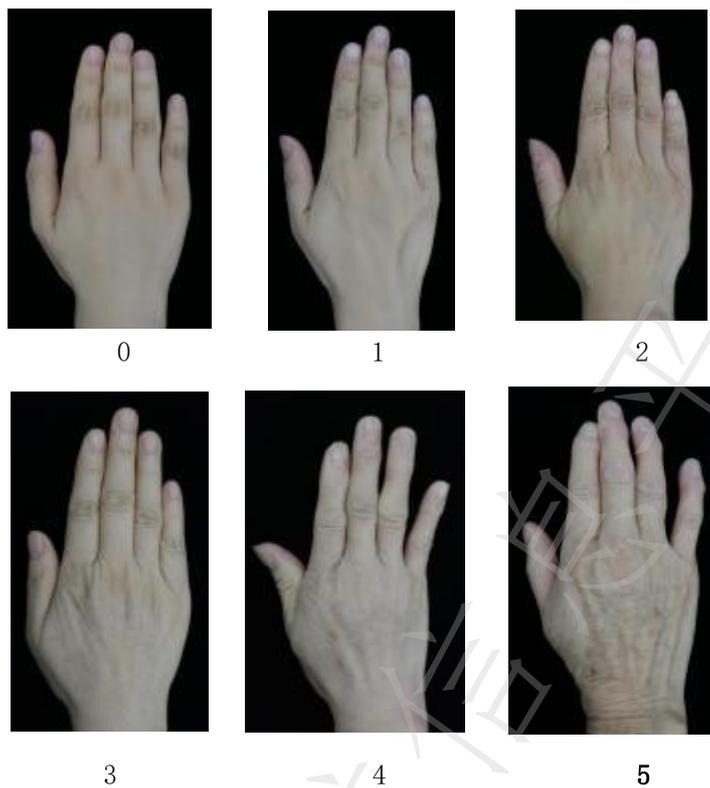


图 A. 2. 3 手背皮肤 6 级评分图示

A. 3 皮肤衰老程度 4 度评价图示

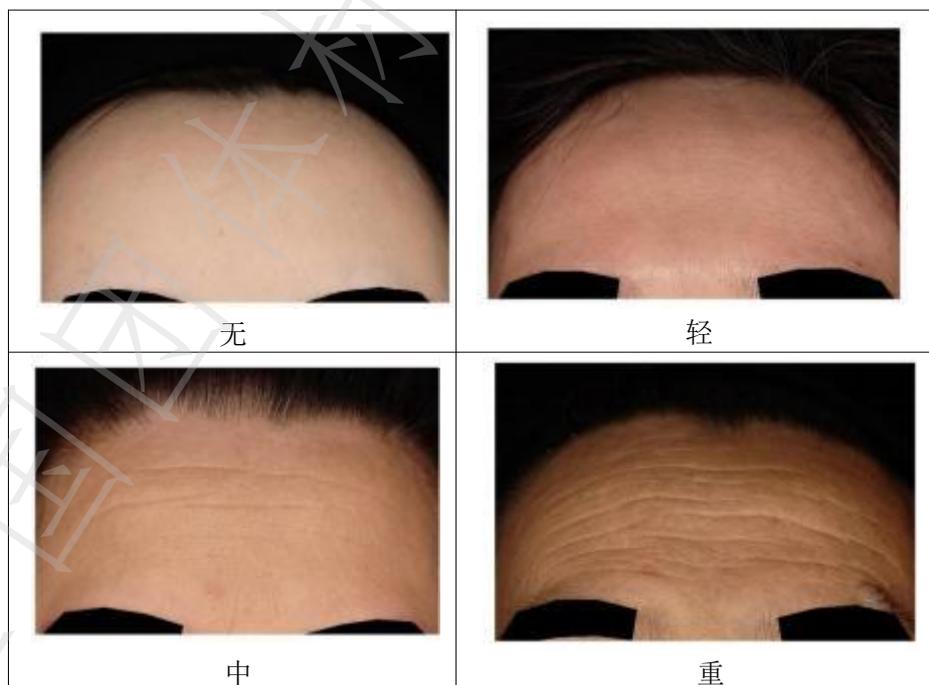


图 A. 3. 1 额纹 4 度评价图示

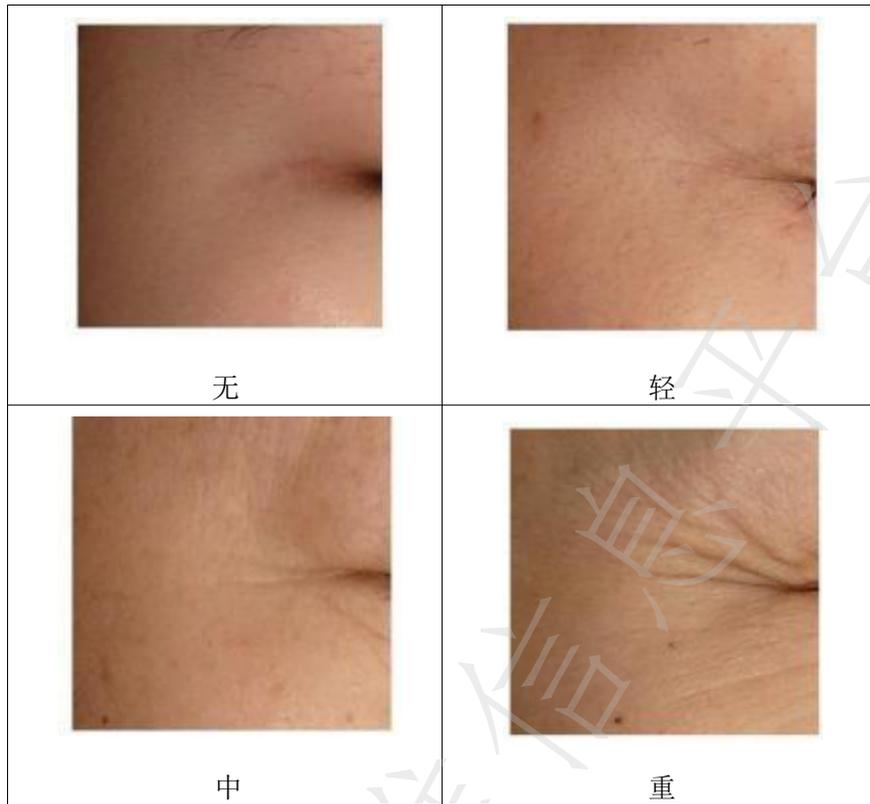


图 A. 3. 2 鱼尾纹 4 度评价图示

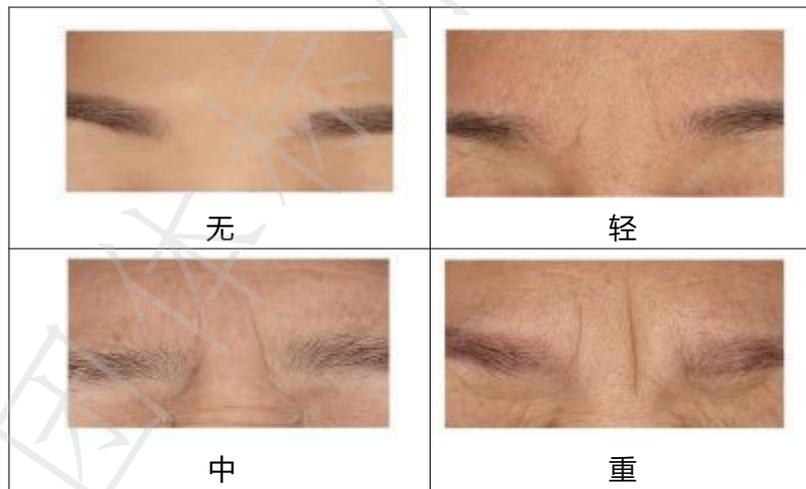


图 A. 3. 3 眉间纹 4 度评价图示

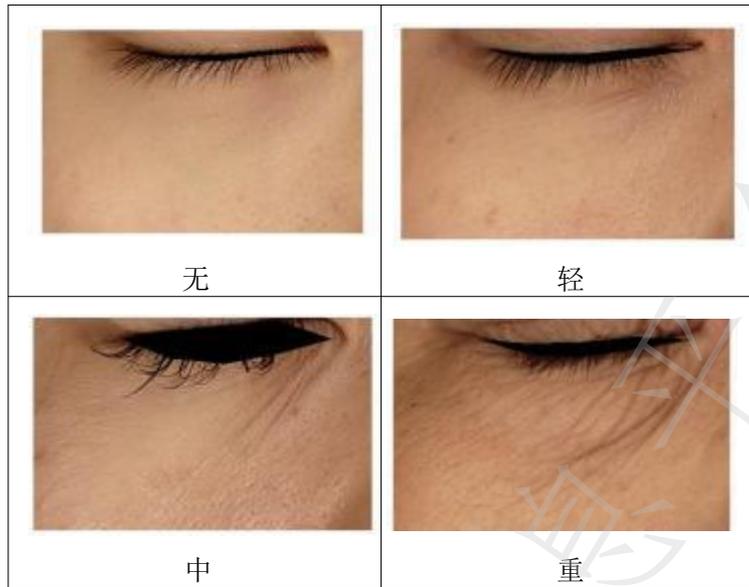


图 A. 3. 4 眶下皱纹 4 度评价图示



图 A. 3. 5 鼻唇沟（法令纹）4 度评价图示

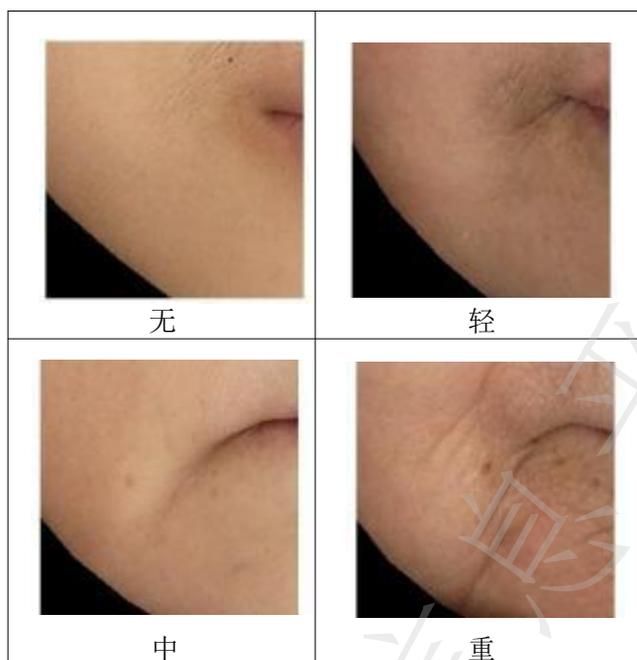


图 A. 3. 6 口角纹 4 度评价图示

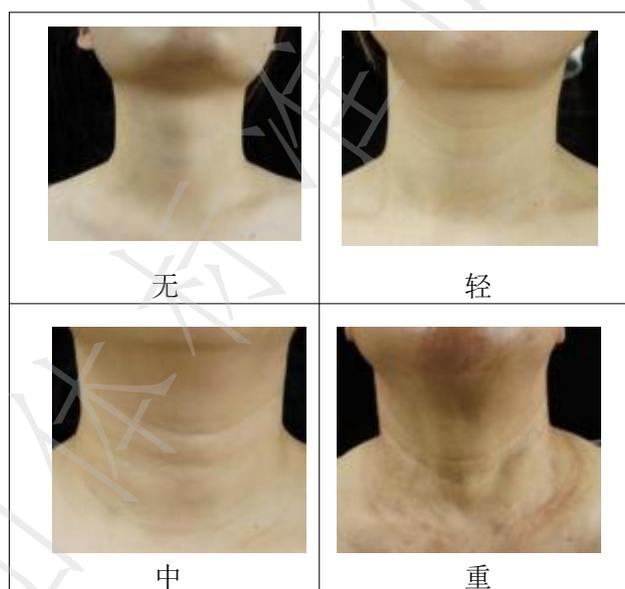


图 A. 3. 7 颈纹 4 度评价图示



图 A. 3. 8 眼袋 4 度评价图示

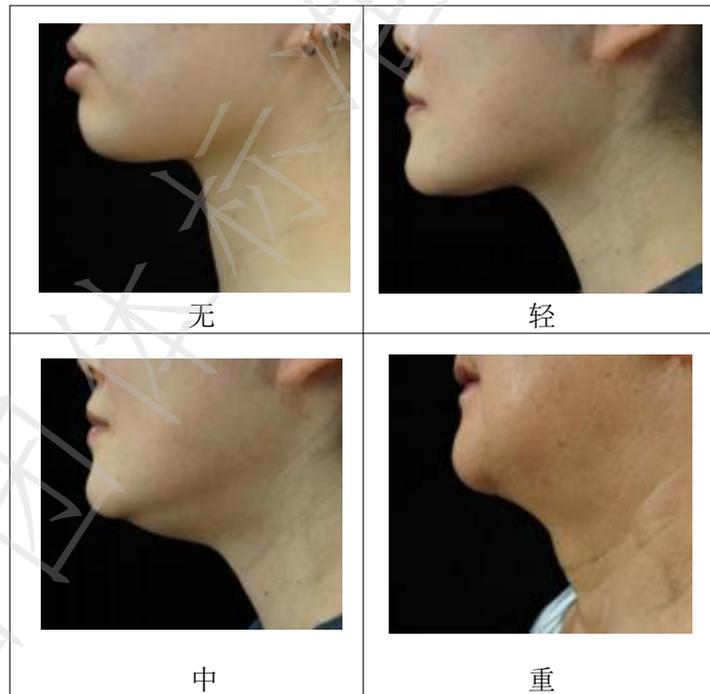
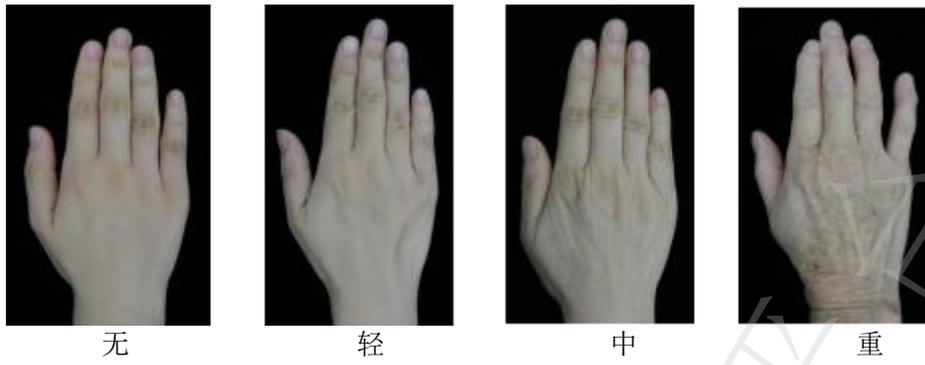


图 A. 3. 9 下颌缘 4 度评价图示



无

轻

中

重

图 A. 3. 10 手背 4 度评价图示

指甲图例	趾甲图例
无衰老	
轻度衰老	



图 A. 3. 11 指/趾甲4 度评价图示

全国团体标准信息网

附录B
(资料性附录)
皮肤衰老研究模型

B.1 细胞模型**B.1.1 成纤维细胞体外培养模型****B.1.1.1 检测参数**

通过实验组与空白对照组和阳性对照比较，检测成纤维细胞增殖率，成纤维细胞 I、III、IV、VII型胶原蛋白、弹性蛋白和纤连蛋白的上调率，MMP1、MMP3、MMP9的抑制率，以及TIMP1的上调率，评价受试物在抗衰老方面是否具有功效。

B.1.1.2 检测方法

MTT法测定细胞增殖，ELISA法测定蛋白含量，qPCR染料法测定基因表达。MTT法测定细胞增殖阳性对照物可选用成纤维细胞生长因子（FGF），ELISA和qPCR检测阳性对照物为转化生长因子 β 1（TGF- β 1）。

B.1.1.3 实验系统判断

至少进行3个批次试验，细胞活性测试阳性对照均能检出细胞增殖上调，增殖率需 $\geq 20\%$ ；ELISA或qPCR检测阳性对照 I、III、IV、VII型胶原蛋白、弹性蛋白，纤连蛋白和TIMP1蛋白/基因表达均能检出上调，上调率需 $\geq 50\%$ ；ELISA或qPCR检测阳性对照MMP1、MMP3、MMP9蛋白/基因表达均能检出下降，抑制率需 $\geq 20\%$ ，则认为试验系统有效。

统计各组复孔间的标准差（Standard Deviation, SD），并计算变异系数（Coefficient of Variation, C.V），C.V值 $\leq 20\%$ ，则认为试验平行性有效。

B.1.1.4 实验结果判断

见表B.1。

表B.1 实验结果判断

检测指标	无	轻	中	强
成纤维细胞增值率	<0	$0 \leq \text{至} < 20\%$	$20\% \leq \text{至} < 80\%$	$\geq 80\%$
I型/III型/IV型VII型胶原蛋白/基因上调率	$0 \leq$	$0 \leq \text{至} < 50\%$	$50\% \leq \text{至} < 80\%$	$\geq 80\%$
弹性蛋白/基因上调率				
纤连蛋白/基因上调率				
TIMP1蛋白/基因上调率				
MMP1/MMP3/MMP9 蛋白/基因抑制率				

B.1.2 角质形成细胞体外培养模型**B.1.2.1 检测参数**

通过 UVB 诱导细胞衰老模型，设置实验组与对照组，检测角质形成细胞增殖率，细胞凋亡率、活性氧（ROS）水平、线粒体膜电位指数、细胞中相关氧化应激指标（谷胱甘肽过氧化物酶GSH-Px、超氧化物

歧化酶 SOD、过氧化氢酶 CAT) 活性、透明质酸 (HA)、水通道蛋白 3 (AQP3) 的表达量变化, 评价受试物在抗衰老方面是否具有功效。

B. 1. 2. 2 检测方法

MTT 法测定细胞增殖, Annexin V-FITC 试剂盒检测细胞凋亡, JC-1 染色测定线粒体膜电位指数, DCFH-DA 染色法测定细胞中 ROS 含量, 试剂盒检测 GSH-Px、SOD、CAT、AQP3 含量, ELISA 法测定透明质酸蛋白含量。MTT 法测定细胞增殖阳性对照物可选用表皮细胞生长因子 (EGF)。

B. 1. 2. 3 实验系统与结果判断

至少设置 3 个重复, 使用 GraphPad Prism7.04 软件处理数据, 用 Image J 软件进行图像荧光强度分析, 根据荧光分析结果计算各组细胞凋亡指数、线粒体膜电位指数。统计各组复孔间的标准差 (Standard Deviation, SD), 并计算变异系数 (Coefficient of Variation, C.V), C.V 值 $\leq 20\%$, 则认为试验平行性有效。组间比较采用单因素方差分析 (one-way ANOVA), 实验数据均用平均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm S$) 表示。当 $P \leq 0.05$ 则认为试验结果间具有显著性差异。

B. 2 生物工程皮肤模型(皮肤 3D模型)

皮肤老化是一个复杂的过程, 3D 全皮皮肤模型拥有与人正常皮肤相似的生理和结构, 具有典型的表皮层、真皮层。并且市售 3D 全皮皮肤为统一化生产, 结构特征较为稳定, 3D 全皮皮肤模型存在真皮层之间的重要相互作用, 在这样的构建体系下, 两层结构之间可以相互影响, 促进彼此的分化与成熟, 可实现体外模拟皮肤老化的过程, 在体外重现了人类皮肤的复杂性。利用 3D 全皮皮肤模型进行抗衰老活性物的检测, 可以用 3D 全皮皮肤模型模拟真实皮肤的逐渐衰老的状态, 检测主要的皮肤衰老相关基因的表达和蛋白合成的变化, 研究皮肤内源性、外源性老化过程中的生物学机制。

B. 2. 1 基于延长培养时间的皮肤内源性老化3D模型

一种方式: 通过皮肤等效模型 (skin equivalent model) 延长培养时间, 检测随时间延长各参数的变化观察皮肤老化规律。

表B. 2 模型中随时间变化的检测指标 (1)

检测指标	随时间变化趋势 (45 天、60 天、75 天、120 天)。
表皮变化	表皮厚度在每个观察时间节点上有规律的下降 20%; 萎缩主要发生在棘细胞层, 而角质层和颗粒层几乎不受影响。同时基底细胞显示出大小上的异质性增加, 整体体积增加, 类似于体内衰老过程。
表皮分化标志物	由于分化能力随着内在衰老的增加而降低, 分化标志物 (外皮蛋白、中间丝相关蛋白、兜甲蛋白和转谷氨酰胺酶) 的表达降低。
基底膜带	电镜下观察到基底膜带超微结构的紊乱, 半桥粒-角蛋白丝结合的破坏和半桥粒致密板的减小。
透明质酸与 CD44	在真、表皮中表达均显著降低。

另一种方式: 利用含有表皮层和真皮层的 3D 全皮皮肤模型, 模拟皮肤内源性老化, 加入抗衰老活性物后, 通过检测随时间延长各参数的变化观察皮肤老化和抗衰老的功效。

表B. 3 模型中随时间变化的检测指标 (2)

检测指标	随时间变化趋势 (0 天, 3-10 天)。
全皮水分值变化	利用皮肤水分值测试仪探头对全皮皮肤模型的水分值进行测定, 随着内在衰老, 水分值降低; 同期对比添加过抗衰老活性物的全皮皮肤模型的水分值能够有效保持。

真皮层厚度变化	由于分化和增殖能力随着内在衰老的增加而降低，真皮层的厚度对比加过抗衰老活性物的全皮皮肤模型的真皮层厚度是变薄的。
基质金属蛋白酶 MMP 家族	通过实时荧光定量 PCR 检测 MMP 家族中的 MMP9、MMP1 等基因的表达，随着衰老，基因表达上调，胶原蛋白被降解，而添加过抗衰老活性物的全皮皮肤模型的基因表达显著下调。
胶原蛋白合成相关基因表达	通过实时荧光定量 PCR 检测 Collagen 家族中的 COL3A1、proCollagen I 等基因的表达，随着衰老，基因表达下调，而添加过抗衰老活性物的全皮皮肤模型的基因表达显著上调。
真皮连接处蛋白和基因的表达	真皮连接处的 DEJ 相关蛋白随着自然衰老，蛋白表达会减少，连接越松散，通过通过实时荧光定量 PCR 和 western blot 检测 Elastin 等的表达，观察其衰老后 Elastin 的表达是否显著下调，而添加过抗衰老活性物的全皮皮肤模型的基因表达显著上调。

B. 2. 2 在3D皮肤器官模型中整合来自衰老供体的细胞

与由年轻的成纤维细胞生成的皮肤模型相比，老化的成纤维细胞掺入皮肤的真皮层可以诱导角质形成细胞增殖减少，细胞外基质合成减少和降解酶的增加，使表皮变薄，对表皮形态也有显著影响。

B. 2. 3 在3D皮肤器官模型中在加入糖化终末产物

皮肤类器官的糖化导致了一些与年龄相关的变化，包括皮肤屏障受损、促炎细胞因子的上调和细胞外基质蛋白的合成减少，尽管只模拟了皮肤老化的一个方面，但这些模型可以用于筛选新的抗糖化化合物。

B. 2. 4 模拟外部老化和光老化

3D 皮肤器官模型已被应用于研究紫外线辐射对人体皮肤结构的影响。用 UVA、UVB 照射皮肤类器官可诱导皮肤老化的特征，包括 3D 全皮模型水分值的含量降低、氧化应激增加、角质形成细胞增殖能力降低、胶原蛋白的降解和真皮细胞外基质降解。用 UVB 照射体外构建的含有表皮层和真皮层的 3D 皮肤模型诱导皮肤老化，包括胶原蛋白的降解和基质金属蛋白酶表达的升高等。

B. 2. 5 皮肤类器官衰老模型的应用

B. 2. 5. 1 表面外胚层细胞和颅神经嵴细胞 (surface ectoderm and cranial neural crest cells) 检测

在皮肤类器官培养后的第 14 天，通过形态学检测、标志物基因和蛋白表达鉴定表面外胚层细胞和颅神经嵴细胞形态、数量。同时通过 HE 组织染色鉴定每个类器官中表皮和真皮结构形态。

B. 2. 5. 2 毛囊检测

在皮肤类器官培养后的第 60 天，检测皮肤类器官中毛囊数量、大小和形态；进一步检测毛囊周期分布，包括休止期、生长期、退行期。

B. 2. 5. 3 复杂皮肤结构检测

在皮肤类器官培养后的第 130 天，检测类器官中分层的皮肤层、色素毛囊、皮脂腺、默克尔细胞和感觉神经元。

B. 2. 5. 4 皮肤类器官维持时间检测

理论上，皮肤类器官可在培养体系中保持 150 天。因此，可有效检测衰老对皮肤类器官维持作用。

综上，可通过类器官形成中不同阶段的相关指标，有效评估衰老（紫外线，环境污染物等）在皮肤类器官初级发育、毛囊生成、复杂结构组建，以及结构维持中的动态效果。

B.3 动物模型

因欧盟、北美、日韩等多个国家和地区相续出台禁止哺乳动物化妆品实验的法律法规，现多采用斑马鱼代替并已获得行业认同。也有采用线虫、果蝇作为皮肤衰老模型。下面例举的哺乳动物模型主要用于药品、食品、保健品类产品或仪器设备抗皮肤衰老的功效检测。

B.3.1 斑马鱼

B.3.1.1 皮肤衰老相关表征参数

B.3.1.1.1 皮肤色素

斑马鱼皮肤的色素形成相关基因在序列和调控机制上和人类高度相似，在衰老过程中皮肤肤色的变化和和人体相同，也会出现肤色暗沉失去光泽。对人体皮肤有减淡肤色作用的物质，对斑马鱼也有相同效果，已成为人体肤色相关研究的经典模型，见图 1。



图1斑马鱼中的肤色变化。青年斑马（左）及中老年斑马鱼（右）

B.3.1.1.2 皮肤黄化

衰老皮肤体内糖分积累过多，与蛋白质、脂肪或核酸通过非酶糖基化反应，生成不可逆转的晚期糖化终末产物（AGEs）。当皮肤积累褐色糖化蛋白质到一定的数量，皮肤就会发黄。斑马鱼暴露于高糖溶液中也会和人类一样加速糖基化产生AGEs，故可作为人体皮肤抗糖化作用研究模型。

B.3.1.1.3 皮肤炎症反应

斑马鱼和人一样具有先天免疫系统和获得性免疫系统，拥有中性粒细胞、巨噬细胞和肥大细胞等免疫细胞。其中中性粒细胞在形态，生物化学和功能上，都与哺乳类动物高度相似。也会和人体皮肤一样，在衰老过程中免疫力下降，更容易出现皮肤感染、溃烂等问题。

B.3.1.2 皮肤衰老非表征参数

B.3.1.2.1 皮肤胶原蛋白和弹性蛋白

斑马鱼皮肤胶原蛋白主要是 I 型，由 colla1a, colla1b 和 colla2 三个基因组成，这 3 个基因突变模型出现的症状和人体 I 型胶原蛋白相关疾病完全一致。人类弹性蛋白只有一个基因，斑马鱼有两个（即 eln1/elna 和 eln2/elnb），其中 eln1/elna 是人类弹性蛋白的对应基因。虽然斑马鱼和人类弹性蛋白基因之间的 DNA 序列同源性有限，但合成的蛋白都具有该蛋白质家族的特征性交替结构排列和含赖氨酸的交联基序。因此，可通过斑马鱼胶原蛋白和弹性蛋白基因表达或皮肤胶原蛋白层厚度（图 2）变化研究人体皮肤胶原蛋白和弹性蛋白再生的抗衰作用。

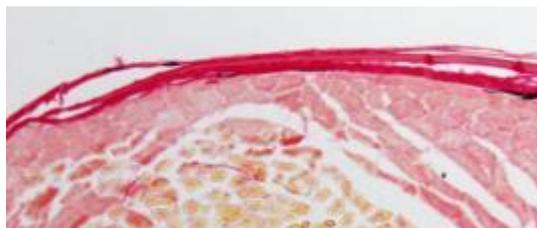


图2. 天狼猩红染色斑马鱼皮肤胶原蛋白（红色层）

B.3.1.2.2 皮肤活性氧（ROS）

斑马鱼胚胎阶段个体小且透明，体内 ROS 水平可通过荧光染料（如H2DCFDA）进行活体染色实现可视化和可量化的检测（见图 3），便于研究和筛查对 ROS 水平有调节作用的物质。



图3. 斑马鱼胚胎经H2DCFDA染色显示正常（左）和ROS部分清除（右）

B.3.1.2.3 皮肤微循环

斑马鱼胚胎的血管及血管中的血细胞于显微镜下清晰可见，通过测试血流速度和血管宽度（图 4），可以研究和测试扩张血管和促进血液循环效果。



图4. 斑马鱼胚胎血细胞和血管系统

Tg(flk:EGFP/gata1:dsRed) 转基因斑马鱼胚胎的血细胞（红色荧光）和血管系统（绿色荧光）。

B.3.1.3 其他衰老相关参数

B.3.1.3.1 衰老相关 β -半乳糖苷酶

斑马鱼衰老相关 β -半乳糖苷酶高表达突变模型的衰老速度显著加快。应用过氧化物如过氧化叔丁醇诱导斑马鱼胚胎高衰老相关 β -半乳糖苷酶模型（见图 5），可用于 β -半乳糖苷酶相关研究和测试。



图5. 斑马鱼胚胎衰老相关 β -半乳糖苷酶染色

高（左）和部分清除衰老相关 β -半乳糖苷酶（右）代表图。

B.3.1.3.2 端粒酶

端粒是染色体末端的 DNA 重复序列，作用是保持染色体的完整性和控制细胞分裂周期。端粒酶是一种由RNA 和蛋白质组成的核糖核蛋白复合体，属于反转录酶，能在 DNA 复制完成时把端粒修复延长。因此，促进端粒酶活性能延长端粒，增加细胞分类次数而延缓衰老。通过对斑马鱼端粒酶活性进行端粒重复序列扩增程序（TRAP）测试或端粒酶基因表达进行 qPCR 分析，可以研究和测试影响皮肤端粒酶的物质。

B.3.1.3.3 自噬（Autophagy）

自噬对保持皮肤内平衡至关重要，且随着皮肤衰老而逐渐减弱。应用自噬荧光标记转基因斑马鱼（如GFP-LC3）研究发现促进自噬可减低细胞凋亡，促进胶原蛋白等成分再生和加速损伤修复。故可应用斑马鱼模型研究对皮肤自噬有调节作用的物质。

B.3.2 线虫衰老模型

秀丽隐杆线虫因其体积小、身体透明、生命周期短等特点作为模式生物被广泛使用。通过营养干预、药物二甲双胍、百草枯、过氧化氢刺激等方式诱导线虫衰老模型。

线虫衰老模型相关实验和检测指标：线虫生存曲线、线虫抗氧化应激生存曲线；脂褐素含量测定、检测线虫内源性 ROS、过氧化物丙二醛（malondialdehyde, MDA）含量；导致线虫衰老关键信号通路胰岛素 IGF-1 路、Nrt2/SKN-1 信号通路活性水平；抗氧化应激的超氧化物歧化酶 SOD、过氧化氢酶 CAT、谷胱甘肽过氧化物酶 GPX 基因的表达水平；检测寿命延长相关基因 Rpn11 的表达，以及寿命缩短相关基因 mth 的表达来评估线虫寿命维持机制。

B.3.3 果蝇衰老模型

寿命是评价抗衰老作用最为直接的观测指标，而果蝇有着生活史短、易于繁殖、含有人类 75% 已知疾病的同源基因等优良特性，是抗衰老研究中常用的动物模型。通过营养干预、药物二甲双胍、百草枯、过氧化氢刺激等方式诱导果蝇衰老模型。

果蝇衰老模型相关实验和检测指标：果蝇生存试验、果蝇抗氧化活性实验；过氧化物丙二醛（malondialdehyde, MDA）含量；导致果蝇衰老关键信号通路胰岛素 IGF-1、PI3K/AKT/TOR 信号通路活性水平；抗氧化应激的超氧化物歧化酶 SOD、过氧化氢酶 CAT、谷胱甘肽过氧化物酶 GPX 基因的表达水平。同时检测寿命延长相关基因 FOXO 的表达来评估果蝇寿命维持机制。

B.3.4 小鼠

B.3.4.1 衰老模型的建立

通过紫外线刺激、过氧化氢刺激等方式诱导小鼠衰老模型，以及通过自然年龄增长获取衰老小鼠。

B.3.4.2 衰老指标检测

B.3.4.2.1 氧化应激指标测定

活性氧自由基测定采用化学发光法。T-AOC 能力、MDA 质量摩尔浓度、SOD 活性、CAT 活性、GSH-Px 活性用相应的试剂盒进行测定。

B.3.4.2.2 皮肤细胞外基质指标测定

皮肤羟脯氨酸（HYP）质量分数严格按照试剂盒说明书测定。同时检测 COL1A1/COL1A2/COL3A1 等皮肤组织高丰富胶原蛋白合成基因含量变化；此外，检测金属基质蛋白酶 MMPs 家族基因表达，综合评估皮肤组织胶原合成以及分解的动态平衡。

B.3.4.2.3 血浆炎症因子的测定

血浆中的 TNF- α 、IL-1、IL-6、IL-10 均严格按照 ELISA 试剂盒说明书测定。

B.3.4.2.4 组织切片

观察表皮、真皮的形态学变化；细胞外基质和各种胶原纤维、弹性纤维的形态和结构等变化。

B.3.4.2.5 衰老机制检测

MAPKs、TGF- β 、ERK1/2 通过调节 I 型胶原合成或成纤维细胞增殖产生嫩肤作用。除上述果蝇、线虫氧化应激相关检测外，生物钟机制 BMAL1 和 CLOCK 调节的 NAD⁺ 补救途径 NAMPT 表达，以及 SIRT1 的去乙酰酶活性是小鼠皮肤衰老的重要机制。因此，可检测 BMAL1、CLOCK、NAMPT 和 SIRT1 表达。

参考文献

- [1] 唐莉、李利、邓次冰、李咏, 女性皮肤弹性与年龄和部位的相关性研究, 中国美容医学, 2005, 14(6):73-75.
- [2] 李艳、李利、蒋小月、李咏、邓次冰, 皮肤颜色和部位、年龄及性别的相关性研究, 中国美容医学, 2005, 14(5)62:4-626.
- [3] 刘玮, 皮肤光老化, 临床皮肤科杂志, 2003, 32(7):424-426.
- [4] Ye R, Chang W, Hu J, Qiao L, Wang Q. A new method for skin aging evaluation of Chinese women. *J Cosmet Dermatol*. 2021 ;20(1):256-262.
- [5] Zhang Y, Liu X, Wang J, Du L, Ma Y, Liu W, Ye R, Yang Y, Xu H. Analysis of Multi-Part Phenotypic Changes in Skin to Characterize the Trajectory of Skin Aging in Chinese Women. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2022 Apr 13 ;15:631-642.
- [6] Buranasirin P, Pongpirul K, Meephansan J. Development of a Global Subjective Skin Aging Assessment score from the perspective of dermatologists [J]. *BMC Res Notes*. 2019 ; 12: 364.
- [7] Vierkötter A, Hüls A, Yamamoto A, Stolz S, Krämer U, Matsui MS, Morita A, Wang S, Li Z, Jin L, Krutmann J, Schikowski T. Extrinsic skin ageing in German, Chinese and Japanese women manifests differently in all three groups depending on ethnic background, age and anatomical site [J]. *J Dermatol Sci*. 2016 Sep;83(3):219-225.
- [8] Xie X, Wang Y, Zeng Q, Lv Y, Hu R, Zhu K, Liu C, Lai W, Guan L. Characteristic features of neck skin aging in Chinese women [J]. *J Cosmet Dermatol*. 2018;17(5):935-944.
- [9] Firooz A, Rajabi-Estarabadi A, Zartab H, Pazhoji N, Fanian F, Janani L. The influence of gender and age on the thickness and echo-density of skin [J]. *Skin Res Technol*. 2017 Feb ;23(1):13-20.
- [10] Wan B, Ganier C, Du-Harpur X, Harun N, Watt FM, Patalay R, Lynch MD. Applications and future directions for optical coherence tomography in dermatology [J]. *Br J Dermatol*. 2021 Jun;184(6):1014-1022.
- [11] 刘玮, 王学民, 赖维, 李利, 张萍, 吴琰瑜, 吕瑛, 李艳, 田燕, 吴艳, et al. 四城市407例女性皮肤颜色测定和分级, 中华皮肤科杂志, (2005):772 - 773.
- [12] 高频皮肤彩超系统 (DermaScan-C) 说明书。由CORTEX TECHNOLOGY DENMARK提供。
- [13] 何永福, 耿彦, 华山, Leonhard Zastrow. 不同年龄段人群的皮肤角质层的含水量, 经表皮水分流失量, pH值和皮脂的测定及其研究[C]//2004年中国化妆品学术研讨会论文集, 2004:159-163.
- [14] Qin J, Qiao L, Hu J, Xu J, Du L, Wang Q, Ye R. New method for large-scale facial skin sebum quantification and skin type classification [J]. *Cosmet Dermatol*. 2021 ;20(2):677-683.
- [15] Jang SI, Lee M, Han J, Kim J, Kim AR, An JS, Park JO, Kim BJ, Kim E. A study of skin characteristics with long-term sleep restriction in Korean women in their 40s [J]. *Skin Res Technol*. 2020 Mar;26(2):193-199.
- [16] 张学军, 郑捷主编《皮肤性病学》, 第9版, 何黎: 第8章第2节, P60.
- [17] Sofrona E, Tziveleka LA, Harizani M, Koroli P, Sfiniadakis I, Roussis V, Rallis M, Ioannou E. In Vivo Evaluation of the Wound Healing Activity of

- Extracts and Bioactive Constituents of the Marine Isopod *Ceratothoa oestroides* [J]. *Mar Drugs*. 2020 Apr 18;18(4):219.
- [18] Berardesca E, Loden M, Serup J, Masson P, Rodrigues LM. The revised EEMCO guidance for the in vivo measurement of water in the skin [J]. *Skin Res Technol*. 2018 Aug;24(3):351-358.
- [19] 程方, 高金平, 杨森, 张学军. 汉族人群皮肤弹性与年龄和部位的相关性分析 [J], *中国美容医学*, 2017;26(2):61-64.
- [20] Humbert P, Fanian F, Maibach HI, Agache P. 主编 《Agache皮肤测量学》第98章: 声速和频散 测量皮肤的黏弹性角质层张力的影响 [M]. P943-958.
- [21] Information and Instruction Manual for Visioscan® VC 20plus and its Software, p36
- [22] Farage, M. A. Textbook of Aging Skin [M]. Second Edition ed. 2017: Springer.
- [23] Zhang S, Duan E. Fighting against Skin Aging: The Way from Bench to Bedside [J]. *Cell Transplant*. 2018 May;27(5):729-738.
- [24] Russell-Goldman E, Murphy GF. The Pathobiology of Skin Aging: New Insights into an Old Dilemma [J]. *Am J Pathol*. 2020 Jul;190(7):1356-1369.
- [25] Fernandez-Flores A, Saeb-Lima M. Histopathology of Cutaneous Aging [J]. *Am J Dermatopathol*. 2019 Jul;41(7):469-479.
- [26] Xie Y, Zhu G, Yi J, Ji Y, Xia Y, Zheng Y, Ye C. A new product of multi-plant extracts improved skin photoaging: An oral intake in vivo study [J]. *J Cosmet Dermatol*. 2021;17.
- [27] Kimball AB, Alora-Palli MB, Tamura M, Mullins LA, Soh C, Binder RL, Houston NA, Conley ED, Tung JY, Annunziata NE, Bascom CC, Isfort RJ, Jarrold BB, Kainkaryam R, Rocchetta HL, Swift DD, Tiesman JP, Toyama K, Xu J, Yan X, Osborne R. Age-induced and photoinduced changes in gene expression profiles in facial skin of Caucasian females across 6 decades of age [J]. *J Am Acad Dermatol*. 2018 Jan;78(1):29-39.
- [28] Waaijer ME, Gunn DA, Adams PD, Pawlikowski JS, Griffiths CE, van Heemst D, Slagboom PE, Westendorp RG, Maier AB. P16INK4a Positive Cells in Human Skin Are Indicative of Local Elastic Fiber Morphology, Facial Wrinkling, and Perceived Age [J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2016 Aug;71(8):1022-1028.
- [29] Li J, Liu M, Liang S, Yu Y, Gu M. Repression of the Antioxidant Pyrroloquinoline Quinone in Skin Aging Induced by Bmi-1 Deficiency [J]. *Biomed Res Int*. 2022 Feb 9;2022:1732438.
- [30] Jia Q, Nash Jf. Textbook of Aging Skin 2nd ed Berlin Heidelberg: Springer-Verlag [M]. 2017: 363-385.
- [31] Bormann F, Rodríguez-Paredes M, Hagemann S, Manchanda H, Kristof B, Gutekunst J, Raddatz G, Haas R, Terstegen L, Wenck H, Kaderali L, Winnefeld M, Lyko F. Reduced DNA methylation patterning and transcriptional connectivity define human skin aging [J]. *Aging Cell*. 2016;15(3):563-571.
- [32] Sidler C, Kovalchuk O, Kovalchuk I. Epigenetic Regulation of Cellular Senescence and Aging [J]. *Front Genet*. 2017;8:138.
- [33] Gu Y, Han J, Jiang C, Zhang Y. Biomarkers, oxidative stress and autophagy in skin aging [J]. *Ageing Res Rev*. 2020;59:101036.

- [34]Opresko PL, Shay JW. Telomere-associated aging disorders. *Ageing Res Rev.* 2017 Jan ;33:52-66.
- [35]Peters A, Nawrot TS, Baccarelli AA. Hallmarks of environmental insults [J]. *Cell.* 2021;184(6):1455-1468.
- [36]Boo YC. Natural Nrf2 Modulators for Skin Protection [J]. *Antioxidants (Basel).* 2020;9(9):812.
- [37]Helou DG, Martin SF, Pallardy M, Chollet-Martin S, Kerdine-Römer S. Nrf2 Involvement in Chemical-Induced Skin Innate Immunity [J]. *Front Immunol.* 2019;10:1004.
- [38]Ko HJ, Kim J, Ahn M, Kim JH, Lee GS, Shin T. Ergothioneine alleviates senescence of fibroblasts induced by UVB damage of keratinocytes via activation of the Nrf2/HO-1 pathway and HSP70 in keratinocytes [J]. *Exp Cell Res.* 2021;400(1):112516.
- [39]Yamamoto, M., T.W. Kensler, and H. Motohashi, The KEAP1-NRF2 System: a Thiol-Based Sensor-Effector Apparatus for Maintaining Redox Homeostasis. *Physiol Rev,* 2018. 98(3) : p. 1169-1203.
- [40]Kang YP, Mockabee-Macias A, Jiang C, Falzone A, Prieto-Farigua N, Stone E, Harris IS, DeNicola GM. Non-canonical Glutamate-Cysteine Ligase Activity Protects against Ferroptosis [J]. *Cell Metab.* 2021;33(1):174-189.
- [41]Furue K, Mitoma C, Tsuji G, Furue M. Protective role of peroxisome proliferator-activated receptor α agonists in skin barrier and inflammation [J]. *Immunobiology.* 2018;223(3):327-330.
- [42]Hur J, Kang ES, Hwang JS, Lee WJ, Won JP, Lee HG, Kim E, Seo HG. Peroxisome proliferator-activated receptor- δ -mediated upregulation of catalase helps to reduce ultraviolet B-induced cellular injury in dermal fibroblasts [J]. *J Dermatol Sci.* 2021;103(3):167-175.
- [43]Aghaei S, Nilforoushzadeh MA, Aghaei M. The role of peroxisome proliferator-activated receptor-coactivator-1 gene in skin aging [J]. *J Res Med Sci.* 2016;21:36.
- [44]Ye L, Mauro TM, Dang E, Wang G, Hu LZ, Yu C, Jeong S, Feingold K, Elias PM, Lv CZ, Man MQ. Topical applications of an emollient reduce circulating pro-inflammatory cytokine levels in chronically aged humans: a pilot clinical study [J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2019;33(11):2197-2201.
- [45]Araújo R, Lôbo M, Trindade K, Silva DF, Pereira N. Fibroblast Growth Factors: A Controlling Mechanism of Skin Aging [J]. *Skin Pharmacol Physiol.* 2019;32(5):275-282.
- [46]Kwon SB, An S, Kim MJ, Kim KR, Choi YM, Ahn KJ, An IS, Cha HJ. Phytosphingosine-1-phosphate and epidermal growth factor synergistically restore extracellular matrix in human dermal fibroblasts in vitro and in vivo [J]. *Int J Mol Med.* 2017;39(3):741-748.
- [47]Valiathan R, Ashman M, Asthana D. Effects of Ageing on the Immune System: Infants to Elderly. *Scand J Immunol* [J]. 2016;83(4):255-266.
- [48]田鸣, 青春, 牛轭雯, 等. 晚期糖基化终末产物对表皮角质形成细胞功能的影响及其机制[J]. *中华创伤杂志,* 2006, 22(10):779-782.
- [49]Yokota M, Tokudome Y. Permeation of Hydrophilic Molecules across Glycated Skin Is Differentially Regulated by the Stratum Corneum and Epidermis -Dermis [J]. *Biological and Pharmaceutical Bulletin,* 2015, 38(9):1383-1388.

- [50] 李汇柯, 冯楠, 王闻博, 等. 皮肤糖化反应发生机制, 影响因素及抗糖化在化妆品行业中的发展现状[J]. 日用化学工业, 2021, 51(2): 153-160.
- [51] Laughlin T, Tan Y, Jarrold B, Chen J, Li L, Fang B, Zhao W, Tamura M, Matsubara A, Deng G, Wang X, Hakozaiki T. Autophagy activators stimulate the removal of advanced glycation end products in human keratinocytes [J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2020 ;34 Suppl 3:12-18.
- [52] Gomi T, Nishikawa K, Tada A. A New Look at Skin Aging: Advanced Glycation End Products (AGEs) in the Stratum Corneum [J]. 26th Congress of the International Federation of Societies of Cosmetic Chemists, 2010.
- [53] Khmaladze I, Österlund C, Smiljanic S, Hrapovic N, Lafon-Kolb V, Amini N, Xi L, Fabre S. A novel multifunctional skin care formulation with a unique blend of antipollution, brightening and antiaging active complexes [J]. *J Cosmet Dermatol*. 2020;19(6):1415-1425.
- [54] 吴文育, 林尽染, 杨蓉娅 等. 中国头皮抗衰专家共识[J]. 实用皮肤病学杂志. 2020;13(6):321-325.
- [55] Williams R, Westgate GE, Pawlus AD, Sikkink SK, Thornton MJ. Age-Related Changes in Female Scalp Dermal Sheath and Dermal Fibroblasts: How the Hair Follicle Environment Impacts Hair Aging [J]. *J Invest Dermatol*. 2021;141(4S):1041-1051.
- [56] Miteva M. Hair Pathology with Trichoscopic Correlations [M]. CRC Press, 2021: 22-23.
- [57] Dawber R. An Atlas of Hair Pathology--with Clinical Correlations [J]. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 2003, 96(10): 516-517.
- [58] CSEKES E, RAČKOVÁ L. Skin Aging, Cellular Senescence and Natural Polyphenols [J]. *International journal of molecular sciences*, 2021, 22(23).
- [59] Wang AS, Dreesen O. Biomarkers of Cellular Senescence and Skin Aging. *Front Genet*. 2018;9:247.
- [60] Zouboulis CC. Neonatal Skin - Structure and Function. 2nd ed, 2003:59-88.
- [61] 刘玮, 皮肤屏障功能解析 [J], 中国皮肤性病学杂志, 2008, 22(12):758-761.
- [62] Wu Y, Akimoto M, Igarashi H, Shibagaki Y, Tanaka T. Quantitative Assessment of Age-dependent Changes in Porphyrins from Fluorescence Images of Ultraviolet Photography by Image Processing [J]. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2021 ;35:102388.
- [63] Zouboulis CC, Boschnakow A. Chronological ageing and photoageing of the human sebaceous gland [J]. *Clinical and Experimental Dermatology*, 26, 600-607.
- [64] Shang W, Quan Tan AY, van Steensel MAM, Lim X. Aberrant Wnt Signaling Induces Comedo-Like Changes in the Murine Upper Hair Follicle [J]. *J Invest Dermatol*. 2021 :S0022-202X(21)02616-6.
- [65] Cao K, Chen G, Chen W, Hou X, Hu T, Lu L, Wang L, Pan Z, Wu Q, Li X, Wei Z, Ma Y, Zouboulis CC, Ju Q. Formalin-killed *Propionibacterium acnes* activates the aryl hydrocarbon receptor and modifies differentiation of SZ95 sebocytes in vitro [J]. *Eur J Dermatol*. 2021;31(1):32-40.
- [66] Balistreri CR, Madonna R, Melino G, Caruso C. The emerging role of Notch pathway in ageing: Focus on the related mechanisms in age-related diseases [J]. *Ageing research reviews*. 2016;29:50-65.
- [67] Veniaminova NA, Grachtchouk M, Doane OJ, Peterson JK, Quigley DA, Lull MV, Pyrozhenko DV, Nair RR, Patrick MT, Balmain A, Dlugosz AA, Tsoi LC, Wong SY.

- Niche-Specific Factors Dynamically Regulate Sebaceous Gland Stem Cells in the Skin [J]. *Dev Cell*. 2019;51(3) :326-340. e4.
- [68] Murdan S. Nail disorders in older people, and aspects of their pharmaceutical treatment [J]. *Int J Pharm*. 2016;512(2):405-411.
- [69] Miranda A, Kenneth W. Miller, Howard I. Maibach, *Textbook of Aging Skin* [M]. Second Edition ed. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2017: 256-263.
- [70] Robert B, David A. R. de B, Mark H, Luc T. Disease of the nails and their.
- [71] Hong Bae Jeon, Hyun Roh, Hyo Min Ahn, Ju Hee Lee, Chae Ok Yun, Tai Suk Roh, Won Jai Lee. Metformin Inhibits Transforming Growth Factor β -Induced Fibrogenic Response of Human Dermal Fibroblasts and Suppresses Fibrosis in Keloid Spheroids. *Ann Plast Surg*. 2021 Apr 1;86(4) :406-411.
- [72] Jezabel Feru, Etienne Delobbe, Laurent Ramont, et al. Aging decreases collagen IV expression in vivo in the dermo-epidermal junction and in vitro in dermal fibroblasts: possible involvement of TGF- β 1. *European Journal of Dermatology*. 2016, 26(4) :350-360.
- [73] Dhamotharan Pattarayan, Ayyanar Sivanantham, Ramalingam Bethunaickan, Rajaguru Palanichamy, Subbiah Rajasekaran. Tannic acid modulates fibroblast proliferation and differentiation in response to pro-fibrotic stimuli. *J Cell Biochem*. 2018 Aug;119(8) :6732-6742.
- [74] 张宁, 陈巧云, 徐艳明, 等. 杜仲对紫外线诱导的人皮肤角质形成细胞光老化模型的影响[J]. *中医药信息*, 2010, 27(01):31-33.
- [75] 马月丹. 绞股蓝总皂苷干预光老化 HaCaT 细胞对 HSF 细胞 p38MAPK 信号通路的影响[D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2014.
- [76] 马蕊, 刘仲华, 黄建安, 等. 绿茶和红茶提取物抑制中波紫外线诱导 HaCaT 细胞氧化损伤和凋亡的比较[J]. *湖南农业大学学报(自然科学版)*, 2013, 39(04): 377-381.
- [77] Poljsak B, Dahmane R G, Godic A. Intrinsic skin aging: the role of oxidative stress[J]. *Acta Dermatovenerologica Alpina Panonica Et Adriatica*, 2012; 21(2) : 33-36.
- [78] 赵敏玲. 川芎嗪对长波紫外线诱导人皮肤成纤维细胞衰老的拮抗作用及其机制研究[D]. 广州中医药大学, 2015, 5.
- [79] 张丽宏, 傅云, 廖建, 等. 昔草昔对中波紫外线诱导人皮肤角质形成细胞凋亡的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(06):96-101.
- [80] 刘媛, 李福民, 廖金凤, 等. 皮肤光老化机制研究进展[J]. *临床皮肤科杂志*, 2016, 45(06):479-481.
- [81] 陈胡林, 刘仲荣, 杨慧兰, 等. 硫氧还蛋白系统在皮肤光老化中的作用研究进展[J]. *皮肤性病诊疗学杂志*, 2011, 18(02) :127-129.
- [82] 张亭亭, 李招发, 许瑞安, 等. 皮肤抗衰老研究进展及抗衰老药物的开发前景[J]. *医学研究杂志*, 2009, 38(12) :12-15.
- [83] Costello, L., et al., Tissue engineering strategies to bioengineer the ageing skin phenotype in vitro. *Aging Cell*, 2022. 21(2).
- [84] Hausmann, C., et al., Fibroblast origin shapes tissue homeostasis, epidermal differentiation, and drug uptake. *Scientific Reports*, 9(1), 2913.
- [85] Xiong ZM, O'Donovan M, Sun L, Choi JY, Ren M, Cao K. Anti-Aging Potentials of Methylene Blue for Human Skin Longevity. *Sci Rep*. 2017;7(1) :2475.
- [86] Lee SE, Kwon TR, Kim JH, et al. Antiphotaging and antioxidative activities of natural killer cell conditioned medium following UVB irradiation of human dermal fibroblasts and a reconstructed skin model. *Int J Mol Med*. 2019;44(5) :1641-1652.

- [87] Song D, Park H, Lee SH, Kim MJ, Kim EJ, Lim KM. PAL-12, a new anti-aging hexapeptide, inhibits UVB-induced photoaging in human dermal fibroblasts and 3D reconstructed human full skin model, Keraskin-FT. Arch Dermatol Res. 2017;309(9):697-707.
- [88] Singh A, Castillo HA, Brown J, et al. High glucose levels affect retinal patterning during zebrafish embryogenesis[J]. Sci Reports,2019, 9 : 4121.
- [89] Gistelinc C, Gioia R, Gagliardi A, et al. Zebrafish collagen type I: molecular and biochemical characterization of the major structural protein in bone and skin[J], Sci Rep. 2016, 6:21540.
- [90] Gistelinc C, Kwon RY, Malfait F et al. Zebrafish type I collagen mutants faithfully recapitulate human type I collagenopathies[J]. Proc Natl Acad Sci,2018,115(34) : E8037- E8046.
- [91] Santoso F, Sampurna BP, Lai YH, et al. Development of a simple imageJ-based method for dynamic blood flow tracking in zebrafish embryos and its application in drug toxicity evaluation[J]. Inventions,2019,4:65.
- [92] Eckhart L, Tschachler E, Gruber F. Autophagic control of skin aging [J]. Front Cell Dev Biol,2019,7 :143.