

## 防脱育发液对毛发生长的促进作用及其机制

牟燕鸿<sup>1,2</sup>, 李英娜<sup>1,2</sup>, 刘建增<sup>3</sup>, 罗春红<sup>4</sup>, 孙立伟<sup>2</sup>, 姜锐<sup>2</sup>

(1. 长春中医药大学药学院中药化学系, 吉林 长春 130117; 2. 长春中医药大学附属医院中医药研究中心, 吉林 长春 130021; 3. 长春中医药大学东北亚中医药研究中心, 吉林 长春 130117; 4. 广州白云美湾检测有限公司, 广东 广州 510000)

**[摘要]** **目的:** 通过人真皮毛乳头细胞(HDPCs)体外实验、C57BL/6小鼠体内实验和人体功效测试, 探讨防脱育发液(CHAaHGS)对毛发生长的影响, 阐明其潜在作用机制。**方法:** 将HDPCs分为对照组、CHAaHGS组和米诺地尔组。采用MTT法检测各组HDPCs增殖活性, 酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测各组HDPCs上清液中血管内皮生长因子(VEGF)、肝细胞生长因子(HGF)、胰岛素样生长因子1(IGF-1)和转化生长因子 $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1)水平, 实时荧光定量PCR(RT-qPCR)法检测各组HDPCs中VEGF、HGF、IGF-1、TGF- $\beta$ 1和碱性磷酸酶(ALP)mRNA表达水平, Western blotting法检测各组HDPCs中 $\beta$ -连环蛋白( $\beta$ -catenin)、蓬乱蛋白1(DVL1)、糖原合成酶激酶3 $\beta$ (GSK-3 $\beta$ )、磷酸化GSK-3 $\beta$ (p-GSK-3 $\beta$ )和无翅型MMTV整合位点家族蛋白(Wnt)家族成员3a(Wnt3a)蛋白表达水平。取18只小鼠随机分为对照组、CHAaHGS组和米诺地尔组, 每组6只。采用脱毛膏建立小鼠脱毛模型, 脱毛后立即给予相应药物处理。检测第21天各组小鼠新生毛长度和毛发质量, 采用HE染色观察各组小鼠第7天背部脱毛区皮肤毛囊形态表现, ELISA法检测各组小鼠背部脱毛区皮肤组织中VEGF、HGF、IGF-1和TGF- $\beta$ 1水平。将60名受试者随机分成对照组和CHAaHGS组, 每组30名。检测第0、4、8和12周各组受试者脱发数量和毛发密度。**结果:** MTT法, 与对照组比较, 50 mg·L<sup>-1</sup> CHAaHGS组细胞增殖活性明显升高( $P < 0.01$ )。ELISA法, 与对照组比较, CHAaHGS组细胞上清液中VEGF、HGF和IGF-1水平明显升高( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ), TGF- $\beta$ 1水平明显降低( $P < 0.01$ )。RT-qPCR法, 与对照组比较, CHAaHGS组细胞中VEGF、HGF、IGF-1和ALP mRNA表达水平明显升高( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ), TGF- $\beta$ 1 mRNA表达水平明显降低( $P < 0.01$ ); Western blotting法, 与对照组比较, CHAaHGS组细胞中 $\beta$ -catenin、DVL1、p-GSK-3 $\beta$ 和Wnt3a蛋白表达水平明显升高( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ), GSK-3 $\beta$ 蛋白表达水平明显降低( $P < 0.05$ )。动物实验, 第21天时, 与对照组比较, CHAaHGS组小鼠新生毛长度明显增长( $P < 0.05$ ), 毛发质量明显增加( $P < 0.01$ )。第7天时, HE染色, 与对照组比较, CHAaHGS组小鼠毛囊间距明显减少( $P < 0.05$ ), 毛囊数量明显增加( $P < 0.01$ ); ELISA法, 与对照组比较, CHAaHGS组小鼠脱毛区皮肤组织中VEGF、HGF和IGF-1水平明显升高( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ), TGF- $\beta$ 1水平明显降低( $P < 0.05$ )。人体功效试验测试, 与对照组比较, 第12周时CHAaHGS组受试者脱发数量明显减少( $P < 0.01$ ), 局部毛发密度增加( $P < 0.05$ )。**结论:** CHAaHGS对毛发生长具有促进作用, 其机制可能与其增加HDPCs增殖活性, 诱导VEGF、HGF和IGF-1分泌及激活Wnt/ $\beta$ -Catenin信号通路有关。

**[关键词]** 防脱育发液; 人真皮毛乳头细胞; Wnt/ $\beta$ -连环蛋白信号通路; 毛发生长; 米诺地尔

[收稿日期] 2024-11-12

[录用日期] 2024-12-23

[基金项目] 吉林省科技厅科技发展计划项目(20220401124YY, 20210502018ZP)

[作者简介] 牟燕鸿(1999—), 女, 云南省昭通市人, 在读硕士研究生, 主要从事中医药传统功效的科学内涵和生物学机制方面的研究。

[通信作者] 孙立伟, 教授, 博士研究生导师(E-mail: sunnylilwei@163.com);

姜锐, 教授, 博士研究生导师(E-mail: jiangrui800710@163.com)

[中图分类号] R285.5 [文献标志码] A

## Promotional effect of CHAaHGS on hair growth and its mechanism

MU Yanhong<sup>1,2</sup>, LI Yingna<sup>1,2</sup>, LIU Jianzeng<sup>3</sup>, LUO Chunhong<sup>4</sup>, SUN Liwei<sup>2</sup>, JIANG Rui<sup>2</sup>

(1. Department of Traditional Chinese Medicine Chemistry, School of Pharmacy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China; 2. Research Center of Chinese Medicine, Affiliated Hospital, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130021, China; 3. North East Asian Center for Traditional Chinese Medicine, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China; 4. Guangzhou Baiyun Meiyun Inspection Co., Ltd, Guangzhou 510000, China)

**ABSTRACT Objective:** To investigate the effect of Chinese Herbal Anti-Alopecia and Hair Growth Solution (CHAaHGS) on the hair growth through *in vitro* experiments on the human dermal papilla cells (HDPCs), *in vivo* experiments in the C57BL/6 mice, and human efficacy tests, and to clarify its potential mechanism. **Methods:** The HDPCs were divided into control group, CHAaHGS group, and minoxidil group. MTT method was used to detect the proliferation activities of HDPCs in various groups; enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method was used to detect the levels of vascular endothelial growth factor (VEGF), hepatocyte growth factor (HGF), insulin-like growth factor-1 (IGF-1), and transforming growth factor  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) in the supernatant of HDPCs in various groups; real-time fluorescence quantitative PCR (RT-qPCR) method was used to detect the expression levels of VEGF, HGF, IGF-1, TGF- $\beta$ 1, and alkaline phosphatase (ALP) mRNA in the HDPCs in various groups; Western blotting method was used to detect the expression levels of  $\beta$ -catenin, dishevelled segment polarity protein 1 (DVL1), glycogen synthase kinase  $3\beta$  (GSK- $3\beta$ ), phosphorylated GSK- $3\beta$  (p-GSK- $3\beta$ ), and wingless-type MMTV integration site family member 3a (Wnt3a) proteins in the HDPCs in various groups. A total of 18 mice were randomly divided into control group, CHAaHGS group, and minoxidil group, with 6 mice in each group. The mouse hair loss model was established using hair removal cream, and corresponding drug treatments were administered immediately after hair removal. The lengths and weights of newly grown hair on day 21 of the mice in various groups were detected; HE staining was used to observe the morphology of hair follicles in the dorsal depilated skin areas of the mice in various groups on day 7; ELISA method was used to detect the levels of VEGF, HGF, IGF-1, and TGF- $\beta$ 1 in the skin tissue of dorsal depilated areas of the mice in various groups. Sixty subjects were randomly divided into control group and CHAaHGS group, with 30 subjects in each group. The numbers of hair loss and hair densities of the subjects in various groups were detected at weeks 0, 4, 8, and 12. **Results:** The MTT assay results showed that compared with control group, the proliferation activity of the cells in  $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  CHAaHGS group was significantly increased ( $P < 0.01$ ). The ELISA assay results showed that compared with control group, the levels of VEGF, HGF, and IGF-1 in the cell supernatant of HDPCs in CHAaHGS group were significantly increased ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ), and the TGF- $\beta$ 1 level was significantly decreased ( $P < 0.01$ ). The RT-qPCR results showed that compared with control group, the expression levels of VEGF, HGF, IGF-1, and ALP mRNA in the cells in CHAaHGS group were significantly increased ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ), and the TGF- $\beta$ 1 mRNA expression level was significantly decreased ( $P < 0.01$ ). The Western blotting results showed that compared with control group, the expression levels of  $\beta$ -catenin, DVL1, p-GSK- $3\beta$  and Wnt3a proteins in the cells in CHAaHGS group were significantly increased ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ), and the GSK- $3\beta$  protein expression level was significantly decreased ( $P < 0.05$ ). In animal experiments, on

day 21, compared with control group, the length of newly grown hair of the mice in CHAaHGS group was significantly increased ( $P < 0.05$ ), and the hair weight was significantly increased ( $P < 0.01$ ). On day 7, the HE staining results showed that compared with control group, the hair follicle spacing of the mice in CHAaHGS group was significantly decreased ( $P < 0.05$ ), and the number of hair follicles was significantly increased ( $P < 0.01$ ); the ELISA assay results showed that compared with control group, the levels of VEGF, HGF, and IGF-1 in skin tissue of dorsal depilated area of the mice in CHAaHGS group were significantly increased ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ), and the TGF- $\beta$ 1 level was significantly decreased ( $P < 0.05$ ). In human efficacy test, compared with control group, the number of hair loss of the subjects in CHAaHGS group was significantly decreased at week 12 ( $P < 0.01$ ), and the local hair density was increased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** CHAaHGS promotes hair growth, and the mechanism may be related to its ability to increase the proliferation activity of HDPCs, induce the secretion of VEGF, HGF, and IGF-1, and activate the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway.

**KEYWORDS** Chinese Herbal Anti-Alopecia and Hair Growth Solution; Human dermal papilla cell; Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway; Hair growth; Minoxidil

脱发是国内外临床上常见、多发的皮肤病之一,给患者尤其是年轻患者带来精神压力和心理负担。西医治疗方面主要采用药物干预和移植毛囊及毛发等手段。美国食品药品监督管理局批准的米诺地尔是治疗脱发最有效的外用化学药物,但研究<sup>[1-3]</sup>表明米诺地尔在治疗过程中不良反应较多,停药后易复发。当前,中医治疗方面以中医理论为指导,选用复方通过内服、外敷或内外兼治等形式治疗脱发,已取得较好疗效,并在脱发治疗中占据重要地位<sup>[4-5]</sup>。研发安全有效且不良反应少的天然植物生发和护发产品已成为国内外研究热点<sup>[6-7]</sup>。目前天然药物在脱发的发病机制、预防和治疗方面具有积极意义。防脱育发液(Chinese Herbal Anti-Alopecia and Hair Growth Solution, CHAaHGS)由何首乌和当归等传统中药按照“君臣佐使”配伍组成。中草药对脱发具有良好疗效。SHIN等<sup>[8]</sup>研究发现:何首乌提取物可上调人真皮乳头细胞(human dermal papilla cells, HDPCs)中血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)表达,促进真皮细胞增殖,从而促进毛发生长。高合意等<sup>[9]</sup>研究发现:34例脂溢性脱发患者使用当归提取物7周后,80%志愿者的脱发症状得到改善。TRUONG等<sup>[10]</sup>研究显示:对C57BL/6小鼠给予红参提取物21 d后,药物能刺激无翅型MMTV整合位点家族(wingless-type MMTV integration site family, Wnt)  $\beta$ -连环蛋白( $\beta$ -catenin)信号通路来促进生长因子如VEGF、胰岛素样生长因子1(insulin-like growth factor 1, IGF-1)和碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)等分泌,从

而延长毛囊生长期,促进小鼠毛发生长。然而目前CHAaHGS在治疗脱发中的功效及其潜在作用机制尚未见报道。本研究通过HDPCs实验、小鼠模型实验和人体功效测试研究,探讨CHAaHGS防脱生发的作用机制,为其后续应用与推广提供理论基础。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物、细胞、主要试剂和仪器** 18只5周龄C57BL/6雄性小鼠购自长春市亿斯实验动物科技有限责任公司,动物生产许可证号:SCXK(吉)2020-0002。HDPCs购自中国武汉普诺赛生命科技有限公司。防脱液(中药成分占比36.84%,包括鳢肠叶13.00%、卷柏5.42%、马齿苋4.33%、忍冬3.25%、何首乌根2.17%、膜荚黄芪2.17%、桑叶1.08%、当归根1.08%、诃子果1.08%、地黄根0.87%、梅果0.87%、姜根0.65%,天门冬根0.43%、丹参根0.22%、石榴0.22%;1,2-戊二醇3.00%;乙基己基甘油0.10%;水60.06%)和育发液(中药成分占比共3.00%,包括对叶百部根0.79%,侧柏叶0.26%、何首乌根0.26%、丹参根0.26%、蔓荆子0.20%、掌叶大黄根/柄0.20%、当归根0.13%、紫草0.13%、王不留行0.13%、丁香花0.13%、土鳖虫0.12%、天麻根0.07%、金钱松根皮0.07%、鳢肠叶0.07%、姜根0.04%、川椒果0.04%、柳叶白前0.04%、红参0.03%、川芎0.03%;丙二醇70.00%;水27.00%)由广州美湾生物医药科技有限公司提供。防脱液和育发液按照体积比1:1的比例混合制备获得CHAaHGS,应用于本实验。米诺地尔购自美

国 MedChemExpress 公司, VEGF、肝细胞生长因子 (hepatocyte growth factor, HGF)、IGF-1 和转化生长因子  $\beta 1$  (transforming growth factor  $\beta 1$ , TGF- $\beta 1$ ) 酶联免疫吸附试验 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司, Wnt 家族成员 3a (Wnt family member 3a, Wnt3a)、 $\beta$ -catenin、蓬乱蛋白 1 (dishevelled 1, DVL1)、糖原合成酶激酶 3 $\beta$  (glycogen synthase kinase 3 $\beta$ , GSK-3 $\beta$ ) 和磷酸化 GSK-3 $\beta$  (phosphorylated GSK-3 $\beta$ , p-GSK3 $\beta$ ) 抗体购自美国 CST 公司。SCIENTZ-48 高通量组织研磨机购自上海净信科技科技股份有限公司, JHOT-3000A 三光谱 AI 毛发测试分析头皮检测仪购自深圳浩特尔电子技术有限公司, Step one plus 实时荧光定量 PCR (real-time fluorescence quantitative PCR, RT-qPCR) 仪购自美国 Applied Biosystems 公司, Synergy H1/H4 酶标仪购自美国安捷伦科技有限公司, Hitachi Himac CR22N 超高速低温离心机购自德国艾本德国际贸易有限公司。

**1.2 HDPCs 培养和分组** HDPCs 培养于含 10% 胎牛血清和 1% 三抗的 DMEM 培养基中, 置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 的细胞培养箱中培养。每隔 2 d 换液, 待细胞密度达 80%~90% 时, 加入胰酶消化 2 min, 1 000 r·min<sup>-1</sup>、4 °C 离心 5 min。将离心后的细胞进行传代 (1:3 比例) 或者冻存。

**1.3 MTT 法检测不同浓度 CHAaHGS 作用后 HDPCs 增殖活性** 取对数生长期 HDPCs, 以每孔 5×10<sup>4</sup> 个细胞的密度接种于 96 孔细胞培养板, 待细胞贴壁完全后弃去培养液。每孔分别加入 100  $\mu$ L 终浓度为 12.5、25.0、50.0 和 100.0 mg·L<sup>-1</sup> CHAaHGS 溶液处理细胞, 作为不同浓度 CHAaHGS 组。对照组加入 100  $\mu$ L 细胞培养液, 米诺地尔组加入 100  $\mu$ L 浓度为 20 mg·L<sup>-1</sup> 米诺地尔溶液<sup>[11]</sup>。每组设置 6 个复孔。培养 36 h 后, 每孔加入 5 g·L<sup>-1</sup> MTT 工作液 10  $\mu$ L, 继续培养 4 h。弃上清, 每孔加入 100  $\mu$ L 三联裂解液 (含 10 g SDS、5 mL 异丁醇和 0.1 mL 10 mol·L<sup>-1</sup> HCl, 以适量双蒸水溶解后, 定容至 100 mL 配制), 振荡混匀, 37 °C 培养过夜。待显色完全后, 使用酶标仪测定各孔在 570 nm 波长处吸光度 (A) 值。实验重复 3 次。各组细胞增殖活性 = 实验组 A 值 / 对照组 A 值 × 100%。

**1.4 ELISA 法检测各组 HDPCs 上清液中 VEGF、HGF、IGF-1 和 TGF- $\beta 1$  水平** 根据 MTT 法实验结果, 选用 50 mg·L<sup>-1</sup> CHAaHGS 处理 CHAaHGS 组细胞 (加入 50 mg·L<sup>-1</sup> CHAaHGS 培养液 0.5 mL), 对照组加入 0.5 mL 细胞培养液, 米诺地尔组加入浓度为 20 mg·L<sup>-1</sup> 米诺地尔溶液, 每组设置 6 个复孔。培养 36 h 后, 收集各组细胞上清液, 严格按照 VEGF、HGF、IGF-1 和 TGF- $\beta 1$  ELISA 检测试剂盒说明书检测各组细胞上清液中各细胞因子水平。实验重复 3 次。

**1.5 RT-qPCR 法检测各组 HDPCs 中 VEGF、HGF、IGF-1、TGF- $\beta 1$  和 ALP mRNA 表达水平** 按照“1.4”步骤进行细胞分组和处理, 培养 36 h 后弃去培养液, 按照 TRIzol 提取试剂盒说明书提取细胞总 RNA, 逆转录合成 cDNA。反应体系: RNase Free H<sub>2</sub>O 4  $\mu$ L, 上下游引物各 2  $\mu$ L, cDNA 2  $\mu$ L, 2×SYBR qPCR Mix 10  $\mu$ L。反应条件: 94 °C 变性 3 min, 94 °C 退火 10 s, 60 °C 延伸 30 s, 共 40 个循环。以  $\beta$ -actin 为内参, 采用 2<sup>- $\Delta\Delta$ Ct</sup> 法计算各组 HDPCs 中增殖相关基因 VEGF、HGF、IGF-1、TGF- $\beta 1$  和 ALP mRNA 表达水平。引物序列见表 1。

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

Primer	Sequence (5'-3')
IGF-1	F: TCAACAAGCCCACAGGGTAT
	R: ACTCGTGCAGAGCAAAGGAT
VEGF	F: GGAGGGCAGAATCATCACGA
	R: GCTCATCTCTCCTATGTGCTGG
HGF	F: CGAGGCCATGGTGCTATACT
	R: ACACCAGGGTGATTTCAGACC
TGF- $\beta 1$	F: ACAGCAACAATTCCTGGCGAT
	R: AAAGCCCTCAATTTCCCCTCC
ALP	F: TCCTGTTGACACCCCAAACC
	R: CACATGCCCATGCAACACTT
$\beta$ -actin	F: CAGGCACCAGGGCGTGAT
	R: TAGCAACGTACATGGCTGGG

**1.6 Western blotting 法检测各组 HDPCs 中 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路中相关蛋白  $\beta$ -catenin、DVL1、GSK-3 $\beta$ 、p-GSK-3 $\beta$  和 Wnt3a 蛋白表达水平** 各组 HDPCs 处理 36 h 后, 加入磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered saline, PBS) 洗涤并收集细胞, 4 °C、6 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min。细胞沉淀中加入含有

1×苯甲基磺酰氟(phenylmethylsulfonyl fluoride, PMSF)的十二烷基磺酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)裂解液,超声破碎。配制10%分离胶和5%浓缩胶。实验条件:电泳80 V、30 min, 100 V、120 min, 250 mA下转模75 min。5%脱脂牛奶室温封闭1 h,一抗(1:1 000稀释)4℃孵育过夜。含吐温的Tris缓冲盐溶液(Tris-buffered saline with Tween, TBST)洗涤3次,每次10 min,加入二抗(羊抗兔,1:5 000稀释)室温孵育1 h, TBST缓冲液洗涤。加入增强化学发光法(enhanced chemiluminescence, ECL)试剂,利用LI-COR显微成像系统分析各组蛋白条带灰度值。以 $\beta$ -actin为内参蛋白,计算目的蛋白表达水平。目的蛋白表达水平=目的蛋白条带灰度值/ $\beta$ -actin蛋白条带灰度值。

**1.7 小鼠背部脱毛模型制备和分组** 选取18只5周龄小鼠,体质量17~21 g,适应性饲养1周。以脊柱为分界线,在小鼠双侧背部对称部位标记1 cm×2 cm大小的皮肤作为实验区。在实验区均匀涂抹0.10 g脱毛膏,(90±10)s后采用温水清理干净并保持干燥,小鼠皮肤裸露呈粉红色。脱毛第2天选择脱毛彻底且皮肤无破损的小鼠进行后续实验。将实验小鼠随机分为对照组、CHAaHGS组(20 mg·kg<sup>-1</sup> CHAaHGS)和米诺地尔组(2 mg·kg<sup>-1</sup> 米诺地尔),每组6只。

### 1.8 HE染色观察各组小鼠脱毛区毛囊形态表现

取实验第7天各组小鼠背部脱毛区皮肤组织,4%多聚甲醛固定,石蜡包埋后切片进行HE染色。相同倍数显微镜下随机选取3个视野,计数各组小鼠脱毛区毛囊数量,测量毛囊间距。

**1.9 ELISA法检测各组小鼠脱毛区皮肤组织中VEGF、HGF、IGF-1和TGF- $\beta$ 1水平** 取第7天各组小鼠皮肤组织,液氮冷冻后研磨,4℃、5 000 r·min<sup>-1</sup>离心10 min,收集皮肤组织上清液。严格按照ELISA试剂盒说明书检测各组小鼠背部脱毛区皮肤组织中VEGF、HGF、IGF-1和TGF- $\beta$ 1水平。

**1.10 各组小鼠脱毛区新生毛发长度和毛发质量测定** 选用5周龄处于休止期的C57BL/6雄性小鼠进行实验<sup>[12]</sup>。各组小鼠自脱毛第2天起接受经皮涂抹给药处理,每日1次,连续21 d。于给药后第0、7、14和21天拍照记录小鼠背部脱毛区皮肤颜色变化及毛发生长情况。于给药第21天,随机在每只实验小鼠背部脱毛区收集6根新生毛发,使用游标

卡尺测量新生毛发长度,并称量新生毛发质量。

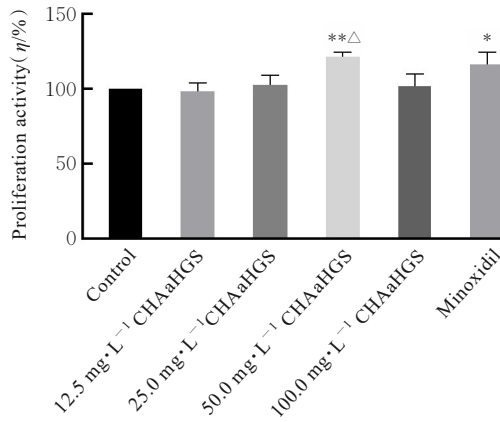
**1.11 各组受试者的脱发数量和毛发密度** 从社会招募入组志愿受试者,所有受试者均签署书面知情同意书(报告编号:CN220003)。共招募60名受试者,每组30名;对照组受试者年龄28~57岁,平均年龄(44.00±8.57)岁;CHAaHGS组受试者年龄21~54岁,平均年龄(39.00±9.94)岁。受试者纳入标准:洗脱期前使用60次梳发法计数脱发数>10根,且洗脱期结束后再次检测仍>10根。2组受试者先进入为期2周的洗脱期,待洗脱期结束后再次使用60次梳发法,脱发数仍>10根者进入正式试验。CHAaHGS组志愿者使用含100 mg·kg<sup>-1</sup> CHAaHGS的洗发水,对照组志愿者使用不含CHAaHGS的洗发水。试验中确保受试者在试验周期内正确使用本研究所配制洗发水。2组受试者连续使用洗发水12周,期间记录受试者的使用时间和使用过程中的不适感及不良反应症状,并于开始试验后第4、8和12周对志愿者脱发数量及毛发密度进行视觉评估和仪器检测计数,计算各时间点与第0周的差值。

**1.12 统计学分析** 采用GraphPad Prism 9.0.2统计软件进行统计学分析。各组细胞增殖活性,细胞上清液中VEGF、HGF、IGF-1和TGF- $\beta$ 1水平,细胞中VEGF、HGF、IGF-1、TGF- $\beta$ 1和ALP mRNA表达水平,细胞中Wnt/ $\beta$ -catenin通路相关蛋白表达水平,各组小鼠脱毛区新生毛发长度和质量,毛囊数量和毛囊间距,小鼠脱毛区皮肤组织中VEGF、HGF、IGF-1和TGF- $\beta$ 1水平以及各组受试者的脱发计数和毛发密度均符合正态分布,以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间样本均数比较采用单因素方差分析,组间样本均数两两比较采用SNK-*q*检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 各组HDPCs增殖活性** 与对照组比较,米诺地尔组和50 mg·L<sup>-1</sup> CHAaHGS组细胞增殖活性明显升高( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ );与米诺地尔组比较,50 mg·L<sup>-1</sup> CHAaHGS组细胞增殖活性明显升高( $P<0.05$ )。见图1。

**2.2 各组HDPCs上清液中VEGF、HGF、IGF-1和TGF- $\beta$ 1水平** 与对照组比较,CHAaHGS组细胞上清液中VEGF、HGF和IGF-1水平明显升高( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ),TGF- $\beta$ 1水平明显降低( $P<0.01$ );与米诺地尔组比较,CHAaHGS组细胞上



\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs control group;  $\Delta P < 0.05$  vs minoxidil group.

图1 各组HDPCs增殖活性

Fig. 1 Proliferation activities of HDPCs in various groups

表2 各组HDPCs上清液中VEGF、HGF、IGF-1和TGF- $\beta$ 1水平

Tab. 2 Levels of VEGF, HGF, IGF-1, and TGF- $\beta$ 1 in cell supernatants of HDPCs in various groups

[ $n=3, \bar{x} \pm s, \rho_B / (\text{ng} \cdot \text{L}^{-1})$ ]

Group	VEGF	HGF	IGF-1	TGF- $\beta$ 1
Control	8.71 $\pm$ 0.53	43.24 $\pm$ 4.35	5.08 $\pm$ 0.46	119.40 $\pm$ 4.49
Minoxidil	12.39 $\pm$ 0.54*	78.25 $\pm$ 4.62**	7.97 $\pm$ 0.23**	103.15 $\pm$ 5.55*
CHAaHGS	15.68 $\pm$ 0.88** $\Delta$	59.85 $\pm$ 3.58 $\Delta$	8.15 $\pm$ 0.37**	86.17 $\pm$ 6.26** $\Delta$

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs control group;  $\Delta P < 0.05$  vs minoxidil group.

表3 各组HDPCs中VEGF、HGF、IGF-1、TGF- $\beta$ 1和ALP mRNA表达水平

Tab. 3 Expression levels of VEGF, HGF, IGF-1, TGF- $\beta$ 1, and ALP mRNA in HDPCs in various groups ( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

Group	VEGF	HGF	IGF-1	TGF- $\beta$ 1	ALP
Control	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00
Minoxidil	1.33 $\pm$ 0.04**	1.15 $\pm$ 0.02*	1.07 $\pm$ 0.02	0.89 $\pm$ 0.01*	1.16 $\pm$ 0.08*
CHAaHGS	1.36 $\pm$ 0.05**	1.10 $\pm$ 0.02** $\Delta$	1.14 $\pm$ 0.03*	0.82 $\pm$ 0.02** $\Delta$	1.24 $\pm$ 0.09**

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs control group;  $\Delta P < 0.05$  vs minoxidil group.

2.4 各组HDPCs中Wnt/ $\beta$ -catenin通路相关蛋白

表达水平 与对照组比较, 米诺地尔组和CHAaHGS组HDPCs中 $\beta$ -catenin、DVL1、p-GSK-3 $\beta$ 和Wnt3a蛋白表达水平明显升高 ( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ), GSK-3 $\beta$ 蛋白表达水平明显降低 ( $P < 0.05$ )。与米诺地尔组比较, CHAaHGS组HDPCs中p-GSK-3 $\beta$ 蛋白表达水平明显升高 ( $P < 0.05$ ),  $\beta$ -catenin、DVL1、GSK-3 $\beta$ 和Wnt3a蛋白表达水平无明显变化, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见图2和表4。

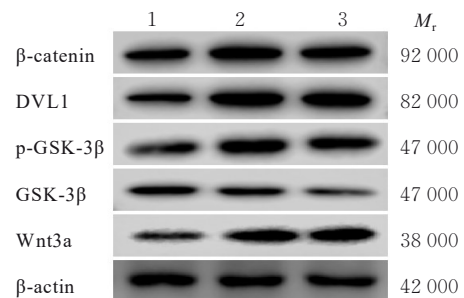
2.5 各组小鼠背部脱毛区毛发长度和毛发质量

脱毛后, 各组小鼠脱毛区皮肤给药当天呈现淡粉色; 给药第7天, CHAaHGS组和米诺地尔组小鼠

清液中VEGF水平明显升高 ( $P < 0.05$ ), HGF和TGF- $\beta$ 1水平明显降低 ( $P < 0.05$ )。CHAaHGS组和米诺地尔组细胞上清中IGF-1水平比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表2。

2.3 各组HDPCs中VEGF、HGF、IGF-1、TGF- $\beta$ 1和ALP mRNA表达水平

与对照组比较, CHAaHGS组细胞中VEGF、HGF、IGF-1和ALP mRNA表达水平明显升高 ( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ), TGF- $\beta$ 1 mRNA表达水平明显降低 ( $P < 0.01$ )。与米诺地尔组比较, CHAaHGS组细胞中HGF和TGF- $\beta$ 1 mRNA表达水平明显降低 ( $P < 0.05$ ); 2组细胞中VEGF、IGF-1和ALP mRNA表达水平比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表3。



Lane 1: Control group; Lane 2: CHAaHGS group; Lane 3: Minoxidil group.

图2 各组HDPCs中 $\beta$ -catenin、DVL1、p-GSK-3 $\beta$ 、GSK-3 $\beta$ 和Wnt3a蛋白表达电泳图

Fig. 2 Electrophorogram of expressions of  $\beta$ -catenin, DVL1, p-GSK-3 $\beta$ , GSK-3 $\beta$ , and Wnt3a proteins in HDPCs in various groups

表4 各组 HDPCs 中  $\beta$ -catenin、DVL1、GSK-3 $\beta$ 、p-GSK-3 $\beta$  和 Wnt3a 蛋白表达水平Tab. 4 Expression levels of  $\beta$ -catenin, DVL1, GSK-3 $\beta$ , p-GSK-3 $\beta$ , and Wnt3a proteins in HDPCs in various groups(n=3,  $\bar{x}\pm s$ )

Group	$\beta$ -catenin	DVL1	GSK-3 $\beta$	p-GSK-3 $\beta$	Wnt3a
Control	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00
Minoxidil	1.32 $\pm$ 0.03*	1.46 $\pm$ 0.02*	0.56 $\pm$ 0.04*	1.58 $\pm$ 0.04*	1.69 $\pm$ 0.05*
CHAAHGS	1.39 $\pm$ 0.02*	1.55 $\pm$ 0.04*	0.67 $\pm$ 0.05*	2.10 $\pm$ 0.03** $\Delta$	1.77 $\pm$ 0.06*

\* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$  vs control group;  $\Delta P<0.05$  vs minoxidil group.

脱毛区皮肤出现大面积灰黑色；给药第14天，各组小鼠脱毛区均开始生长黑色且有光泽的新生毛发；给药第21天，CHAAHGS组和米诺地尔组小鼠脱毛区毛发已基本生长完全，而对照组小鼠毛发未生长完全。见图3。与对照组比较，CHAAHGS组和米诺地尔组小鼠脱毛区毛发长度明显增加 ( $P<0.05$ )，毛发质量明显增加 ( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )；与米诺地尔组比较，CHAAHGS组小鼠脱毛区毛发长度和毛发质量差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。见表5。

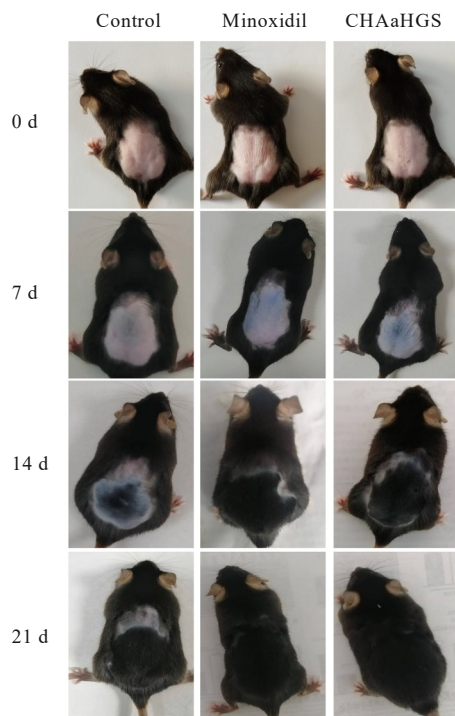


图3 实验第0、7、14和21天各组小鼠背部皮肤照片

Fig. 3 Photographs of dorsal skin of mice in various groups on days 0, 7, 14, and 21

**2.6 各组小鼠背部脱毛区皮肤毛囊形态、毛囊数量和毛囊间距** 取脱毛后第7天的各组小鼠背部脱毛区皮肤行HE染色，显微镜观察结果显示：与对照

表5 各组小鼠背部脱毛区皮肤毛发长度和毛发质量

Tab. 5 Hair lengths and weights in skin of dorsal depilated areas of mice in various groups

(n=6,  $\bar{x}\pm s$ )

Group	Hair length (l/cm)	Hair weight(m/mg)
Control	0.69 $\pm$ 0.03	13.04 $\pm$ 0.72
Minoxidil	0.81 $\pm$ 0.07*	16.36 $\pm$ 0.81*
CHAAHGS	0.81 $\pm$ 0.02*	16.84 $\pm$ 0.80**

\* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$  vs control group.

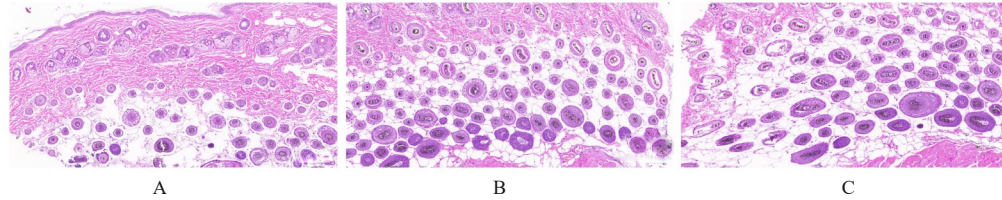
组比较，CHAAHGS组和米诺地尔组小鼠背部脱毛区皮肤毛囊形态和结构更加完整。见图4。与对照组比较，CHAAHGS组小鼠背部脱毛区皮肤毛囊数量明显增加 ( $P<0.01$ )，毛囊间距明显减少 ( $P<0.05$ )；与米诺地尔组比较，CHAAHGS组小鼠背部脱毛区皮肤毛囊数量和毛囊间距无明显变化，差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。见表6。

**2.7 各组小鼠背部脱毛区皮肤组织中 VEGF、HGF、IGF-1 和 TGF- $\beta$ 1 水平** 与对照组比较，米诺地尔组和 CHAAHGS 组小鼠脱毛区皮肤组织中 VEGF、HGF 和 IGF-1 水平明显升高 ( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )，TGF- $\beta$ 1 水平明显降低 ( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )；与米诺地尔组比较，CHAAHGS 组小鼠脱毛区皮肤组织中 VEGF 和 TGF- $\beta$ 1 水平明显升高 ( $P<0.05$ )，HGF 和 IGF-1 水平无明显变化，差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。见表7。

**2.8 各组受试者的脱发数量和毛发密度** 对 CHAAHGS 组受试者参与实验第0、4、8和12周脱发数量分析结果显示：与实验前比较，实验4周和8周后 CHAAHGS 组受试者脱发数量均明显减少 ( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )，局部和整体毛发密度无明显变化，差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )；实验12周后，CHAAHGS 组受试者脱发数量明显减少 ( $P<0.01$ )，局部毛发密度明显增加 ( $P<0.05$ )，整体毛发密度无明显变化，差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。见表8。对2组受试者脱发情况回访进行分析，结果

显示: 与对照组比较, CHAaHGS组受试者使用12周后, 脱发数量差值明显减少 ( $P < 0.05$ ), 局部毛发密度差值明显增加 ( $P < 0.05$ ), 整体毛发密度

差值无明显变化, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表9。试验过程中, CHAaHGS组受试者无红肿过敏和头皮瘙痒等现象。



A: Control group; B: CHAaHGS group; C: Minoxidil group.

图4 各组小鼠背部脱毛区皮肤组织形态表现(HE,  $\times 100$ )

Fig. 4 Morphology of skin tissue of dorsal depilated areas of mice in various groups (HE,  $\times 100$ )

表6 各组小鼠背部脱毛区毛囊数量和毛囊间距

Tab. 6 Numbers and spacing of hair follicles of dorsal depilated areas of mice in various groups ( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

Group	Hair follicle count	Hair follicle spacing ( $l/\mu\text{m}$ )
Control	38.00 $\pm$ 6.34	61.04 $\pm$ 7.68
Minoxidil	63.00 $\pm$ 7.34*	40.84 $\pm$ 7.62*
CHAaHGS	69.00 $\pm$ 6.28**	43.09 $\pm$ 8.91*

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs control group.

### 3 讨论

脱发是现代社会的常见病症, 其发病机制和病理机制复杂, 多数患者均表现出HDPCs增殖活性下降和分化异常等现象。HDPCs是毛发的特殊间

充质成分, 可作为多能干细胞、营养物质和生长因子的储存库来调控毛囊形态发生与再生循环。因此, 增强HDPCs增殖活性是促进毛发生长的有效策略。本研究选用HDPCs为体外细胞模型, 探讨传统复方中药CHAaHGS的促毛发生长作用及其对毛发生长相关信号通路的影响, 本实验结果证实CHAaHGS可明显提高HDPCs增殖活性。

本实验选用的CHAaHGS包含有多种传统中草药, 具有滋补阳气、滋阴养血和生发乌发等功效, 其中何首乌、当归、天门冬和黄芪等具有阴阳互利共生之效, 使头发生之有根、茂之有源, 可固发、乌发, 川芎、丹参、马齿苋和忍冬等可使局部气机条达, 气血通畅, 从而减少脱发, 促进毛发新

表7 各组小鼠背部脱毛区皮肤组织中VEGF、HGF、IGF-1和TGF- $\beta$ 1水平

Tab. 7 Levels of VEGF, HGF, IGF-1, and TGF- $\beta$ 1 in skin tissue of dorsal depilated areas of mice in various groups

( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

Group	VEGF [ $\rho_B/(\text{ng}\cdot\text{L}^{-1})$ ]	HGF [ $\rho_B/(\text{ng}\cdot\text{L}^{-1})$ ]	IGF-1 [ $\rho_B/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$ ]	TGF- $\beta$ 1 [ $\rho_B/(\text{ng}\cdot\text{L}^{-1})$ ]
Control	53.53 $\pm$ 4.32	152.10 $\pm$ 4.35	27.44 $\pm$ 2.43	250.13 $\pm$ 18.49
Minoxidil	72.29 $\pm$ 4.35*	224.82 $\pm$ 10.47*	38.46 $\pm$ 2.16*	187.34 $\pm$ 12.03**
CHAaHGS	83.38 $\pm$ 5.61** $\Delta$	219.51 $\pm$ 10.58*	40.69 $\pm$ 3.33*	205.09 $\pm$ 5.62 $\Delta$

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs control group;  $\Delta P < 0.05$  vs minoxidil group.

表8 CHAaHGS组受试者脱发数量和头发密度

Tab. 8 Numbers of hair loss and hair densities of subjects in CHAaHGS group

( $n=30, \bar{x} \pm s$ )

Group	Hair loss count	Local hair density ( $\text{cm}^{-2}$ )	Overall hair density ( $\text{cm}^{-2}$ )
0 week	38.00 $\pm$ 28.73	125.00 $\pm$ 20.43	3.00 $\pm$ 0.72
4 weeks	31.00 $\pm$ 24.59*	127.80 $\pm$ 18.03	3.00 $\pm$ 0.74
8 weeks	27.00 $\pm$ 18.03**	128.00 $\pm$ 19.73	3.00 $\pm$ 0.72
12 weeks	23.00 $\pm$ 14.80**	131.00 $\pm$ 19.25*	3.00 $\pm$ 0.71

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs 0 week.

表9 受试后2组受试者后脱发数量和头发密度变化差值

Tab. 9 Differences of hair loss counts and hair densities of subjects in two groups after experiment ( $n=30, \bar{x} \pm s$ )

Group	Hair loss count			Local hair density( $\text{cm}^{-2}$ )			Overall hair density( $\text{cm}^{-2}$ )		
	(week) 4	8	12	4	8	12	4	8	12
Control	-6.00±17.06	-6.00±15.76	-6.00±14.28	1.20±9.48	-1.20±8.56	2.40±7.99	0.00±0.66	0.00±0.18	0.00±0.24
CHAaHGS	-8.00±18.61	-12.00±27.20	-15.00±26.00*	2.70±12.63	3.00±11.86	6.00±12.50*	0.00±0.13	3.00±0.72	0.00±0.28

\* $P < 0.05$  vs control group.

生<sup>[13-14]</sup>。中医药传统理论认为：毛囊微环境改变会导致局部淤阻，脉络不通，从而引起脱发。西医临床病理也认为：毛发局部微环境调控障碍、毛囊微型化和毛囊周期循环障碍是引起进行性脱发的主要原因<sup>[15-17]</sup>。研究<sup>[18-19]</sup>显示：位于毛囊基底部的HDPCs对其分泌的多种细胞因子水平的调节过程与毛囊生长发育和周期性生长调控存在潜在联系。研究<sup>[20-21]</sup>显示：HGF、IGF-1和VEGF等细胞因子水平变化可影响体外培养的HDPCs增殖能力。JEONG等<sup>[22]</sup>研究显示：TGF- $\beta$ 1是有效的毛发生长抑制剂，其水平升高可抑制HDPCs生长。本研究结果显示：CHAaHGS处理后，HDPCs上清液中VEGF、HGF和IGF-1水平升高，TGF- $\beta$ 1水平降低，HDPCs中VEGF、HGF和IGF-1 mRNA表达水平升高，TGF- $\beta$ 1 mRNA表达水平降低，提示CHAaHGS可诱导HDPCs中VEGF、HGF和IGF-1分泌，从而提高细胞增殖能力，增加HDPCs数量，调控毛囊周期。ALP是HDPCs的分子标志物，与其诱导毛囊生成能力密切相关，且其表达水平会随毛发生长周期发生变化<sup>[23]</sup>。本研究结果显示：CHAaHGS处理后，HDPCs中ALP mRNA表达水平升高，提示CHAaHGS可通过上调ALP mRNA水平，增强HDPCs诱导毛囊生成能力。

Wnt信号通路作为调控毛囊发育和毛发生长的主要信号通路，其在HDPCs中的激活有助于毛囊增殖及分化，从而启动毛发周期的生长期阶段<sup>[24]</sup>。 $\beta$ -catenin是Wnt通路信号传导的启动开关，DVL1则可通过抑制GSK-3 $\beta$ 等蛋白形成复合物，阻断 $\beta$ -catenin蛋白降解，进而激活Wnt/ $\beta$ -catenin信号传导<sup>[25]</sup>。本研究结果显示：CHAaHGS处理后，HDPCs中 $\beta$ -catenin、DVL1、p-GSK-3 $\beta$ 和Wnt3a蛋白表达水平升高，GSK-3 $\beta$ 蛋白表达水平降低，提示CHAaHGS可能通过上调Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路中 $\beta$ -catenin、DVL1、p-GSK-3 $\beta$ 和Wnt3a表达，下调降解复合体组分GSK-3 $\beta$ 表达，增强Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路活性，从而促进毛囊增殖和分化

进程。

毛发呈现周期性生长特点，C57BL/6小鼠皮肤颜色变化可反映其皮肤毛囊生长周期阶段：生长期皮肤呈黑色，退行期皮肤呈灰色，休止期皮肤呈粉色<sup>[26-27]</sup>。本研究结果显示：CHAaHGS组小鼠背部脱毛区皮肤出现灰色时间最早，灰色面积最大，提示CHAaHGS可刺激小鼠毛囊提前进入毛发周期生长期；HE染色结果显示CHAaHGS组小鼠背部脱毛区皮肤毛囊数量明显增加。研究<sup>[28-30]</sup>显示：毛囊生长周期受多个因子调控，例如HGF参与诱导毛囊周围血管形成；VEGF是毛囊生长和毛囊周围血管生成的重要介质，可反映毛囊营养状态；IGF-1在生长期毛囊HDPCs中高表达，可刺激毛囊上皮和真皮生长；TGF- $\beta$ 1则负责诱导毛囊生长期加速至退行期，促进毛发脱落。本研究结果显示：CHAaHGS处理后，小鼠背部脱毛区皮肤组织中VEGF、HGF和IGF-1表达水平升高，TGF- $\beta$ 1表达水平降低，提示CHAaHGS能调控小鼠毛囊生长周期的转化，其作用机制可能是上调小鼠皮肤组织中VEGF、HGF和IGF-1表达，促进毛囊血管新生，改善毛囊营养供应，进而发挥促毛发生长功效，同时降低TGF- $\beta$ 1表达来延缓毛囊进入退行期进程。

小鼠脱毛模型广泛应用于毛囊形态发生和周期性生长相关研究，对于测试防治脱发药物治疗的有效性和安全性至关重要。然而部分化合物在小鼠模型中有效却未能取得明显人体临床疗效<sup>[31]</sup>。为验证CHAaHGS的临床价值，本研究开展人体功效测试，以受试者使用含CHAaHGS基质洗发水产品前后的脱发数量和局部及整体毛发密度为观测指标，评价CHAaHGS的防脱功效。本研究结果显示：CHAaHGS组受试者无皮肤红肿过敏或头皮瘙痒等不良反应，且使用12周后其脱发数量明显减少，局部毛发密度明显增加，表明CHAaHGS防脱效果显著，对人体安全无刺激，提示CHAaHGS具有良好的市场应用前景。

综上所述, CHAaHGS对毛发生长具有促进作用, 其机制可能与其增加HDPCs增殖活性、诱导VEGF、HGF和IGF-1分泌及激活Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路有关。本研究结果为脱发预防和改善提供了证据, 未来本课题组将进一步探讨HDPCs分泌的多种细胞因子之间的协同作用, 为解决脱发难题提供依据。

#### 利益冲突声明:

所有作者声明不存在利益冲突。

#### 作者贡献声明:

牟燕鸿和李英娜参与研究设计、研究实施、数据采集及论文撰写, 刘建增和罗春红参与数据分析及文献整理, 孙立伟和姜锐参与论文审阅及修改。

#### [参考文献]

- [1] NESTOR M S, ABLON G, GADE A, et al. Treatment options for androgenetic alopecia: efficacy, side effects, compliance, financial considerations, and ethics [J]. *J Cosmet Dermatol*, 2021, 20(12): 3759-3781.
- [2] WU S Q, KOU X H, NIU Y J, et al. Progress on the mechanism of natural products alleviating androgenetic alopecia[J]. *Eur J Med Chem*, 2024, 264: 116022.
- [3] 吴巍, 张颖, 张美, 等. 雄激素性脱发的药物研究进展[J]. *中国美容整形外科杂志*, 2022, 33(5): 308-311.
- [4] SHEN Y L, LI X Q, PAN R R, et al. Medicinal plants for the treatment of hair loss and the suggested mechanisms[J]. *Curr Pharm Des*, 2018, 24(26): 3090-3100.
- [5] 房敏, 李泉洋, 杜丽东, 等. 当归及其复方防治脱发的研究进展[J]. *中国医药导刊*, 2022, 24(11): 1113-1118.
- [6] ABELAN U S, DE OLIVEIRA A C, CACOCI É S P, et al. Potential use of essential oils in cosmetic and dermatological hair products: a review [J]. *J Cosmet Dermatol*, 2022, 21(4): 1407-1418.
- [7] PARK S, LEE J. Modulation of hair growth promoting effect by natural products[J]. *Pharmaceutics*, 2021, 13(12): 2163.
- [8] SHIN J Y, CHOI Y H, KIM J, et al. Polygonum multiflorum extract support hair growth by elongating anagen phase and abrogating the effect of androgen in cultured human dermal papilla cells [J]. *BMC Complement Med Ther*, 2020, 20(1): 144.
- [9] 高合意, 雷登凤, 程树军, 等. 当归提取物对毛发生长作用的体外与体内研究[J]. *日用化学工业*, 2020, 50(12): 867-874.
- [10] TRUONG V L, JEONG W S. Hair growth-promoting mechanisms of red ginseng extract through stimulating dermal papilla cell proliferation and enhancing skin health[J]. *Prev Nutr Food Sci*, 2021, 26(3): 275-284.
- [11] 王任, 袁婷, 周雯, 等. 桑柏生发方对毛发再生过程中VEGF等细胞因子的影响[J]. *中医药导报*, 2016, 22(15): 24-27.
- [12] 张敏, 黄蓉, 段亚君, 等. 霍山石斛通过激活自噬和抑制凋亡促进脱发模型小鼠生发作用[J]. *合肥工业大学学报(自然科学版)*, 2022, 45(6): 844-848.
- [13] 吴久阳, 曾衍生, 何海鸥, 等. 中草药提取液在防脱生发洗发水中的应用[J]. *精细与专用化学品*, 2016, 24(10): 41-44.
- [14] 赵海婷, 郑琴, 章德林, 等. 中药及其活性成分防脱生发的研究进展[J]. *中草药*, 2022, 53(22): 7254-7263.
- [15] KINOSHITA-ISE M, FUKUYAMA M, OHYAMA M. Recent advances in understanding of the etiopathogenesis, diagnosis, and management of hair loss diseases[J]. *J Clin Med*, 2023, 12(9): 3259.
- [16] YUAN A R, BIAN Q, GAO J Q. Current advances in stem cell-based therapies for hair regeneration[J]. *Eur J Pharmacol*, 2020, 881: 173197.
- [17] 冯骥, 张志英, 谢君, 等. 武汉市人群雄激素性脱发情况及影响因素调查[J]. *武汉大学学报(医学版)*, 2023, 44(1): 65-69.
- [18] LIN X Y, ZHU L, HE J. Morphogenesis, growth cycle and molecular regulation of hair follicles[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 10: 899095.
- [19] 姜晓勇, 王德辉. 人毛乳头细胞的生物学特性研究[J]. *福建医药杂志*, 2013, 35(1): 51-55.
- [20] 王晓杰, 殷文浩. 红光对人毛乳头细胞增殖和分泌细胞因子的影响[J]. *中国皮肤性病学杂志*, 2021, 35(9): 983-986.
- [21] 张欣, 朱艳, 陈小艳. 祛湿健发汤联合米诺地尔治疗脾虚湿滞型脂溢性脱发的效果及对IGF-I、HGF、TGF- $\beta_2$ 水平的影响[J]. *临床医学研究与实践*, 2023, 8(24): 130-133.
- [22] JEONG G H, BOISVERT W A, XI M Z, et al. Effect of *Miscanthus sinensis var. purpurascens* flower extract on proliferation and molecular regulation in human dermal papilla cells and stressed C57BL/6 mice[J]. *Chin J Integr Med*, 2018, 24(8): 591-599.
- [23] KIM Y, LEE J M, JANG Y N, et al. Irisin promotes hair growth and hair cycle transition by activating the GSK-3 $\beta$ / $\beta$ -catenin pathway[J]. *Exp Dermatol*, 2024, 33(8): e15155.
- [24] SHIN D W. The molecular mechanism of natural

- products activating Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway for improving hair loss[J]. *Life*, 2022, 12(11): 1856.
- [25] XUN Y, LI Z, TANG Y X, et al. Neuroglobin regulates Wnt/ $\beta$ -catenin and NF $\kappa$ B signaling pathway through Dvl1[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(7): 2133.
- [26] OH J W, KLOEPPER J, LANGAN E A, et al. A guide to studying human hair follicle cycling *in vivo*[J]. *J Invest Dermatol*, 2016, 136(1): 34-44.
- [27] ROH S S, KIM C D, LEE M H, et al. The hair growth promoting effect of *Sophora flavescens* extract and its molecular regulation[J]. *J Dermatol Sci*, 2002, 30(1): 43-49.
- [28] CECERSKA-HERYĆ E, GOSZKA M, SERWIN N, et al. Applications of the regenerative capacity of platelets in modern medicine [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2022, 64: 84-94.
- [29] COLIN-PIERRE C, BERTHÉLÉMY N, BELLOY N, et al. The glypican-1/HGF/C-met and glypican-1/VEGF/VEGFR2 ternary complexes regulate hair follicle angiogenesis[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 781172.
- [30] PARK H J, JIN G R, JUNG J H, et al. Hair growth promotion effect of Nelumbinis Semen extract with high antioxidant activity [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 2021: 6661373.
- [31] CASTRO A R, PORTINHA C, LOGARINHO E. The emergent power of human cellular *vs* mouse models in translational hair research [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2022, 11(10): 1021-1028.