

胡悦,王德成,张思怡,等. 10-11 易位蛋白 2 缺失加剧银屑病小鼠模型皮肤炎症损伤 [J]. 中国实验动物学报, 2025, 33 (5): 623-632.

HU Y, WANG D C, ZHANG S Y, et al. Ten-eleven translocation 2 (*TET2*) deficiency exacerbates skin inflammatory damage in psoriasis mouse models [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2025, 33(5): 623-632.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2025.05.001

10-11 易位蛋白 2 缺失加剧银屑病小鼠模型 皮肤炎症损伤

胡悦[#], 王德成[#], 张思怡, 韩珊珊^{*}, 晁金^{*}

(三峡大学肿瘤微环境与免疫治疗湖北省重点实验室, 三峡大学基础医学院, 湖北 宜昌 443002)

【摘要】 目的 利用 10-11 易位蛋白 2 (ten-eleven translocation 2, *TET2*) 基因敲除 (*TET2*^{-/-}) 小鼠模型, 探究 *TET2* 突变在咪喹莫特 (imiquimod, IMQ) 诱导的小鼠银屑病皮炎损伤中的影响。**方法** 将小鼠随机分为野生型 (wild type, WT) 凡士林组、WT 咪喹莫特组、*TET2*^{-/-} 凡士林组、*TET2*^{-/-} 咪喹莫特组, 在小鼠背部涂抹 IMQ 建立银屑病样皮炎模型; 造模期间每日观察对比 WT 咪喹莫特组及 *TET2*^{-/-} 咪喹莫特组小鼠的皮损程度及病理变化; 待皮损达到最高峰处死小鼠, 评估 4 组小鼠脾指数; RT-qPCR 检测小鼠背部病灶处炎症因子 *TNF-α*、*IL-6*、*IL-17A* 与 *IL-23* 的 mRNA 表达水平; 制作皮肤病理切片, 苏木素-伊红 (HE) 染色对比 4 组皮肤组织病理学变化; 免疫组化检测 4 组小鼠背部皮肤中 *IL-17*、*INF-γ* 和 *TNF-α* 的表达情况; 利用透射电镜对比观察 4 组小鼠真皮表皮层超微结构。**结果** WT 咪喹莫特组小鼠皮损处 *TET2* 表达下调; *TET2*^{-/-} 咪喹莫特组较 WT 咪喹莫特组小鼠皮炎损伤进程更快更严重, 总 PASI 评分及脾指数更高; *TET2*^{-/-} 咪喹莫特组小鼠皮损组织中 *TNF-α*、*IL-6*、*IL-17A* 与 *IL-23* 在 mRNA 的表达均高于 WT 咪喹莫特组小鼠; *TET2*^{-/-} 咪喹莫特组小鼠表皮增厚及炎症细胞浸润更为显著; *TET2*^{-/-} 咪喹莫特组小鼠皮损处 *IL-17*、*INF-γ* 和 *TNF-α* 蛋白的阳性表达显著高于 WT 咪喹莫特小鼠; 超微病理观察显示 *TET2*^{-/-} 咪喹莫特组小鼠皮损处细胞连接消失, 并存在大量线粒体脊断裂溶解、线粒体空泡以及线粒体膜质地变深现象。**结论** *TET2* 缺失会促进炎症反应, 从而加剧 IMQ 诱导的小鼠银屑病样皮炎损伤。

【关键词】 银屑病; 10-11 易位蛋白 2; 咪喹莫特; 皮肤炎症; 基础生物学实验

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2025) 05-0623-10

Ten-eleven translocation 2 (*TET2*) deficiency exacerbates skin inflammatory damage in psoriasis mouse models

HU Yue[#], WANG Decheng[#], ZHANG Siyi, HAN Shanshan^{*}, CHAO Jin^{*}

(Hubei Key Laboratory of Tumor Microenvironment and Immunotherapy, China Three Gorges University;

College of Basic Medical Sciences, China Three Gorges University, Yichang 443002, China)

Corresponding author: HAN Shanshan. E-mail: feihu.1991@163.com; CHAO Jin. E-mail: chaojin028@163.com

【基金项目】 国家自然科学基金青年项目 (82000914), 肿瘤微环境与免疫治疗湖北省重点实验室开放基金项目 (2023KZL017, 2023KZL029)。

Funded by the National Natural Science Foundation of China (82000914), the Open Foundation of Hubei Province Key Laboratory of Tumor Microenvironment and Immunotherapy (2023KZL017, 2023KZL029).

【作者简介】 胡悦, 女, 硕士, 研究方向: 分子病理与表观遗传。Email: 2410791894@qq.com;

王德成, 男, 博士, 教授, 研究方向: 慢性炎症性疾病的机制。Email: dcwang99@163.com。

[#]共同第一作者

【通信作者】 韩珊珊, 女, 博士, 副教授, 研究方向: 分子病理与表观遗传。Email: feihu.1991@163.com;

晁金, 女, 博士, 讲师, 研究方向: 慢性炎症性疾病的机制。Email: chaojin028@163.com。

^{*} 共同通信作者

【Abstract】 Objective To explore the impact of ten-eleven translocation 2 (*TET2*) mutations on imiquimod (IMQ)-induced psoriatic skin inflammation using a *TET2*-knockout (*TET2*^{-/-}) mouse model. **Methods** Mice were divided randomly into a wild-type (WT) vaseline group, WT imiquimod group, *TET2*^{-/-} vaseline group, and *TET2*^{-/-} imiquimod group. IMQ was used to establish a psoriasis-like dermatitis model, and the degree of skin lesions and pathological changes in mice in the WT imiquimod and *TET2*^{-/-} imiquimod groups were observed and compared daily during the modeling period. The mice were sacrificed when the phenotype had reached the peak and the spleen index was recorded in each group. Gene expression levels of the inflammatory factors tumor necrosis factor (TNF)- α , interleukin (IL)-6, IL-17A, and IL-23 in mouse back lesions were detected by quantitative reverse transcription polymerase chain reaction. Skin histopathology was compared in hematoxylin/eosin-stained sections. IL-17, interferon (INF)- γ , and TNF- α protein expression levels in the back skin of mice in the four groups were detected by immunohistochemistry. The ultrastructure of the dermis and epidermis was observed using transmission electron microscopy. **Results** *TET2* expression was down-regulated in skin lesions in WT imiquimod group. Dermatitis lesions were more severe and progressed faster in *TET2*^{-/-} imiquimod group compared with WT imiquimod group, and the psoriasis area and severity index score and spleen index were both higher. mRNA expression levels of TNF- α , IL-6, IL-17A, and IL-23 in skin lesions were higher and epidermal thickening and inflammatory cell infiltration were increased, and protein expression levels of IL-17, INF- γ , and TNF- α were significantly higher in skin lesions in *TET2*^{-/-} imiquimod group compared with WT imiquimod group. In addition, cell junctions were absent in skin lesions in *TET2*^{-/-} imiquimod group and mitochondrial ridges were broken and dissolved, mitochondrial vacuoles were present, and the texture of the mitochondrial membrane was darker. **Conclusions** Loss of *TET2* promotes the inflammatory response and exacerbates IMQ-induced psoriasis-like dermatitis injury in mice.

【Keywords】 psoriasis; ten-eleven translocation 2; imiquimod; skin inflammation; biological experiment
Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

银屑病是一种免疫介导的慢性炎症性皮肤病,在全球范围内发病率约为 3%^[1]。其患者典型的临床特征主要表现为边界清晰的红斑丘疹,以及附着在皮肤表面的银白色鳞屑。组织病理学表现为表皮异常增厚、网脊向下延伸及炎症细胞浸润等^[2]。该病极易反复发作,给患者的身心健康造成了巨大伤害。但银屑病的发病机理至今尚未阐明,临床仍缺乏有效治疗手段。因此发掘新的致病或易感基因,探究其参与调节银屑病发生发展的病理过程和发病机制,对临床早期预防银屑病及开发针对性治疗药物具有重要意义。

近年来,表观遗传修饰与免疫系统之间的关联已成为医学研究热点,为许多疾病的致病机理提供了新的研究思路。DNA 的甲基化与羟甲基化为表观遗传修饰的互补过程,它们可以在不改变基因序列的前提下,调控基因的表达和功能^[3]。据报道,DNA 甲基化与去甲基化失衡参与了众多自身免疫疾病的发生发展过程^[4]。其中,10-11 易位蛋白 2 (ten-eleven translocation 2, *TET2*) 是一种关键的甲基化调节酶,可通过改变 DNA 甲基化状态来调节特定基因的表达从而参

与多种炎症疾病的发生发展^[5-6]。例如,*TET2* 可以广泛抑制众多免疫细胞中的促炎基因,对调节机体免疫反应具有关键作用^[7]。此外,*TET2* 还在细胞分化和增殖中发挥着重要作用^[8]。在最近的研究中,研究人员通过注射慢病毒的方式敲低小鼠体内 *TET2* 的表达,观察到小鼠银屑病样皮炎症状减轻。虽然研究暂未涉及 *TET2* 缺失引起银屑病的致病机理,但其揭示了 *TET2* 与银屑病之间的重要关联^[9]。然而,由于目前仍然缺乏 *TET2* 缺陷的动物模型,使得有关 *TET2* 参与调节银屑病皮炎进程的研究较少且不同研究团队的研究结果之间存在较大差异。因此,本研究构建了一个新的 *TET2* 全基因敲除 (*TET2*^{-/-}) 的银屑病小鼠模型,拟通过该模型进一步探究 *TET2* 突变对银屑病样皮肤炎症反应和进展的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

16 只 SPF 级 C57BL/6J 小鼠 (本文用 wild-type, WT 表示), 6 ~ 7 周龄 (体质量约 20 g), 雌

雄不限,购买及饲养均在三峡大学实验动物中心【SCXK(鄂)2022-0012】、【SYXK(鄂)2022-0061】。8只SPF级 $TET2^{-/-}$ 小鼠由本课题组利用CRISPR/Cas9技术构建,雌雄不限,6~7周龄(体质量约20g)。食用全价营养饲料和无菌水,饲养条件:温度为21~22℃,湿度为50%~60%,光照周期为12h明暗交替。本研究经三峡大学实验动物福利与伦理委员会批准(2023020Y)。

1.1.2 主要试剂与仪器

咪喹莫特(imiquimod, IMQ)乳膏(aldera, d06bb10);凡士林(德新康医疗, q/371402dxk027);Triton-X100(索莱宝, t8200);甲苯胺蓝染色液(索莱宝, g3661);BSA(索莱宝, 4240gr250);4%多聚甲醛固定液(赛维尔, g1101);DEPC水(索莱宝, r1600);RNA isolater Total RNA Extraction Reagent(诺唯赞, r401-01);SYBR qPCR Master Mix(诺唯赞, q311-02)。

ABI PCR仪9902(applied biosystems, veriti™

96-well thermal cycler);核酸电泳仪(上海天能科技, tanon eps300);紫外分析仪(上海嘉鹏科技, uv-1000);奥林巴斯显微镜BX53F(OLYMPUS, bx53f);化学发光成像系统(上海勤翔, chemiscope6100)。

1.2 方法

1.2.1 模型构建

将小鼠随机分为4组(WT凡士林组、WT咪喹莫特组、 $TET2^{-/-}$ 凡士林组、 $TET2^{-/-}$ 咪喹莫特组),每组4只。造模前每只小鼠使用小型剃毛器及温和脱毛膏处理小鼠背部皮肤,形成约2cm×3cm裸露区域。次日起连续5d,每日1次给咪喹莫特组小鼠背部皮肤涂抹5%IMQ乳膏,剂量为62.5mg,同时给凡士林组小鼠涂抹等量凡士林。期间每日进行拍照及使用银屑病面积和严重程度指数(psoriasis area and severity index, PASI)评分记录小鼠背部皮肤病变进展(如图1所示)。

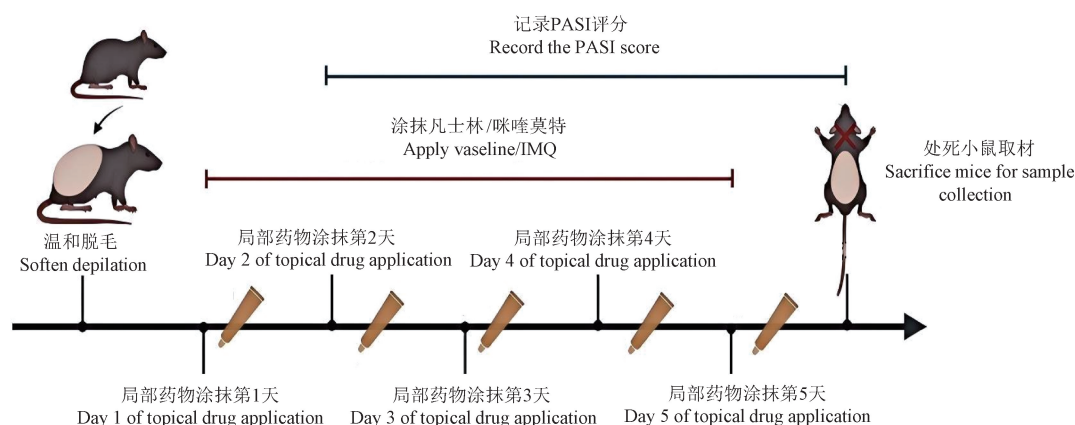


图1 小鼠银屑病造模流程

Figure 1 Procedure of mouse psoriasis model establishment

PASI评分是评估皮肤皮疹、红斑、浸润和鳞屑病损程度,具体评分方案见表1。待表型达到高峰后,处死小鼠并取材,进行后续实验。脾体积即为在取材时用尺子测量脾的大小,脾指数为脾质量(mg)/处死时体质量(g)的值。

1.2.2 苏木素-伊红(HE)染色

将小鼠皮肤组织用4%多聚甲醛固定12h,完成后进行组织修块、脱水、石蜡包埋切片(厚度约4μm)、脱蜡及乙醇浓度梯度的水化处理,后将切片进行HE染色和中性树脂封片,镜下观察皮肤组织病理改变。

HE染色结果中,小鼠表皮厚度测定是在显微镜下利用配备的测量工具进行精确测量。

1.2.3 免疫组织化学染色

制备切片过程同HE染色。用柠檬酸盐缓冲液将切片用95℃高温水浴修复20min,冷却至室温。3% H_2O_2 室温孵育15min后,用5%BSA于37℃封闭1h,吸尽废液后滴加相应一抗,4℃孵育过夜。次日二抗室温孵育1h。PBS润洗3次,每次5min。应用DAB显色液显色,蒸馏水冲洗3遍后,再次乙醇浓度梯度脱水至透明,置于通风橱内风干后,使用中性树脂封片固定。

表 1 小鼠银屑病模型 PASI 评分方案
Table 1 PASI scoring scheme for psoriasis model in mice

评估类别 Evaluation category	评分标准 Scoring criteria						
	0 分 0 points	1 分 1 point	2 分 2 points	3 分 3 points	4 分 4 points	5 分 5 points	6 分 6 points
皮疹面积 Area of rash	无皮疹 Rash-free	1% ~ 9%	10% ~ 29%	30% ~ 49%	40% ~ 59%	60% ~ 79%	80% ~ 100%
红斑 Erythema	无红斑 No erythema	呈淡红色 Light red	红色 Red	深红色 Dark red	广泛暗红色 Widespread dusky erythema	-	-
浸润 Infiltration	皮损与正常皮肤齐平 Lesions flush with normal skin	皮损轻微高于正常皮肤 Slightly raised lesions	中等程度隆起, 斑块边缘为圆型或斜坡型 Moderately elevated plaques with rounded or sloped borders	皮损肥厚, 隆起明显 Markedly elevated, hypertrophic lesions	皮损高度增厚, 隆起极为明显 Severely hypertrophic, markedly elevated lesions	-	-
鳞屑 Scale	表面无可见鳞屑 No visible scale on the epidermis	部分皮损表面上附有鳞屑, 以细微的鳞屑为主 Partial scaling present, predominantly fine scales	大多数皮损表面完全或不完全覆有鳞屑, 鳞屑呈片状 Most lesions are partially or completely covered with patchy scales	几乎全部皮损表面覆有鳞屑, 鳞屑较厚成层 Nearly all lesions are covered with thick, laminated scales	全部皮损表面均覆有鳞屑, 鳞屑很厚成层 All lesions are completely covered with thick, laminated scales	-	-

1. 2. 4 透射电镜(transmission electron microscope, TEM) 观察

取 5 mm × 5 mm 左右的皮层浸泡于 2.5%戊二醛溶液中,后将组织置于 1%四氧化锇中固定 2 h,并脱水。将组织利用环氧丙烷处理后进行烘干、包埋、超薄切片及醋酸铀与柠檬酸铅染色。最后利用高分辨率透射电子显微镜观察小鼠超微病理变化。

1.3 统计学分析

采用 GraphPad Prism 7.0.0 软件作图并进行统计学分析,数据均以平均值 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,数据分析两组间对比采用独立样本 t 检验, $P < 0.05$ 为具有统计学意义。每组实验至少独立重复 3 次。

2 结果

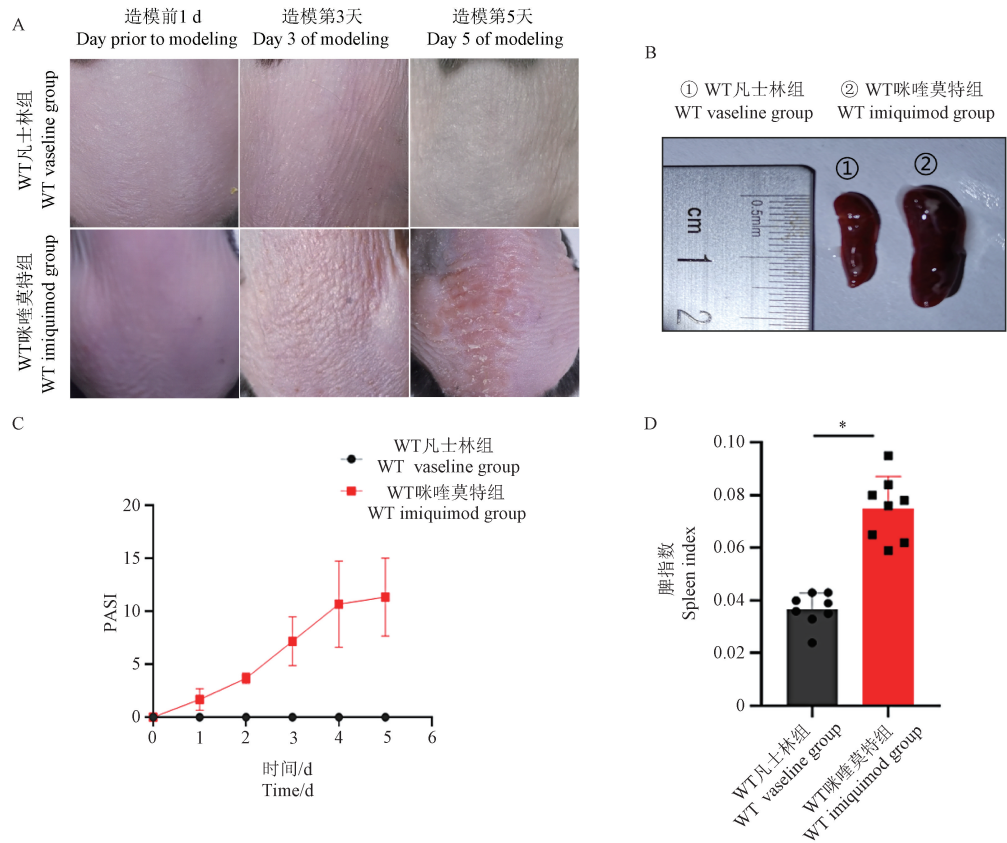
2.1 构建 IMQ 诱导的银屑病小鼠模型

研究人员按照图 1 中的造模示意对 WT 小鼠进行造模及表型记录。结果显示 WT 凡士林组背部皮肤光滑平整且无任何炎性症状,但咪喹莫特

组背部皮肤出现红斑、鳞屑等类银屑病皮炎症状。与凡士林组相比,咪喹莫特组小鼠的 PASI 总评分从造模第 2 天起持续上升,第 5 天达到表型高峰。处死小鼠后,称量小鼠体质量和脾质量,计算脾指数,发现咪喹莫特组小鼠的脾体积及脾指数均大于凡士林组 ($t = 4.037, P < 0.05$),见图 2,表明咪喹莫特组小鼠脾免疫功能更活跃。

2.2 WT 银屑病小鼠病灶处 TET2 表达下调

通过对两组小鼠的皮肤组织进行 HE 染色,发现 WT 凡士林组小鼠表皮平坦、角质层较薄且无炎症浸润等现象,但 WT 咪喹莫特组小鼠表皮明显增厚,并存在网脊向下延伸、角化过度及部分可见的炎性细胞浸润等类银屑病样病变(图 3A)。于是研究人员利用 RT-qPCR 技术检测了皮损处代表性炎症因子的表达,结果显示与 WT 凡士林组相比, $TNF-\alpha$ 、 $IL-6$ 、 $IL-17A$ 与 $IL-23$ 在模型小鼠皮损处的 mRNA 表达呈不同程度的升高 ($t = 1.934, 3.190, 3.859, 6.345, P < 0.05$),见图 3B。以上结果表明,本研究成功构建了由 IMQ 诱

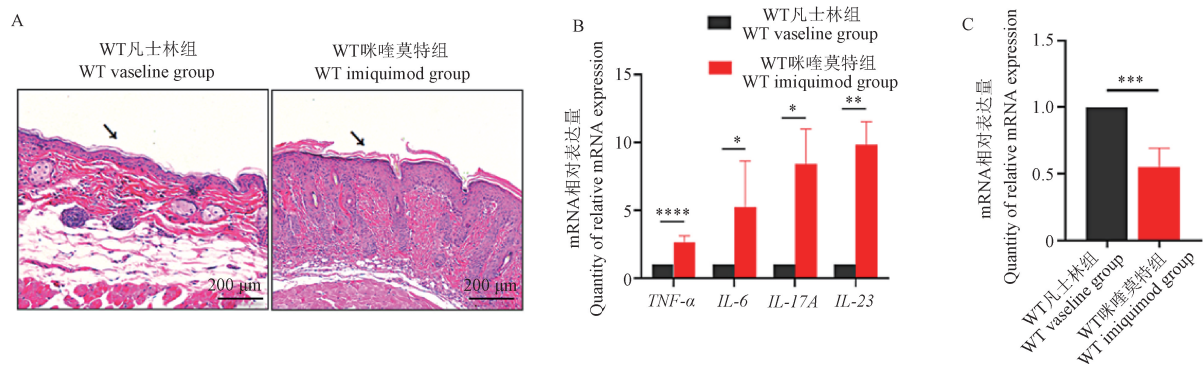


注:A:小鼠造模期间背部表型图;B:小鼠表型高峰时脾大体观;C:小鼠银屑病模型 PASI 评分统计图;D:WT 凡士林组与 WT 咪喹莫特组小鼠脾指数统计图;与 WT 凡士林组相比, * $P < 0.05$ 。(下同)

图 2 IMQ 诱导小鼠银屑病模型构建

Note. A. Phenotyping of the black of mice during modeling. B. Gross view of spleen of mice at peak phenotype. C. Statistical plot of PASI scores in a mouse psoriasis model. D. Statistical plots of spleen index of WT vaseline group and WT imiquimod group. Compared with WT vaseline group, * $P < 0.05$. (The same in the following figures)

Figure 2 Construction of IMQ-induced psoriasis model in mice



注:A:小鼠皮肤组织 HE 染色结果;B:小鼠皮肤组织炎症因子 mRNA 表达分析;C:WT 小鼠银屑病皮炎组织处 *TET2* 的 mRNA 表达水平;与 WT 凡士林组相比, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$ 。(下同)

图 3 WT 小鼠 HE 染色与关键因子分析

Note. A. HE staining results of mouse skin tissue. B. Analysis of mRNA expression of inflammatory factors in mouse skin tissue. C. *TET2* mRNA expression levels in psoriatic dermatitis tissues of WT mice. Compared with WT vaseline group, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$. (The same in the following figures)

Figure 3 HE staining and key factor analysis in WT mice

导的 WT 银屑病小鼠模型。利用该模型,在 mRNA 水平上初步探究了 WT 小鼠银屑病样皮损处 *TET2* 的表达情况。结果显示,WT 银屑病小鼠病灶处 *TET2* 的表达显著下调($t = 8.891, P < 0.001$),见图 3C,提示 *TET2* 可能参与调节银屑病皮损的消退。

2.3 *TET2* 缺失明显加重 IMQ 诱导的银屑病皮损表型

研究人员再次按照上述造模方法对 *TET2*^{-/-} 小鼠进行银屑病造模。如图 4A 所示,经 IMQ 诱导的 *TET2*^{-/-} 小鼠红斑遍布整个背部裸露区域并伴有厚层鳞屑,表皮显著增厚隆起,其病变累及范围较 WT 咪喹莫特组相比更为广泛、皮肤损伤更严重。PASI 评分显示 *TET2*^{-/-} 咪喹莫特组小鼠表型进展更快(图 4C)。此外,*TET2*^{-/-} 咪喹莫特组小鼠脾体积异常增大,且脾指数远高于 WT 咪

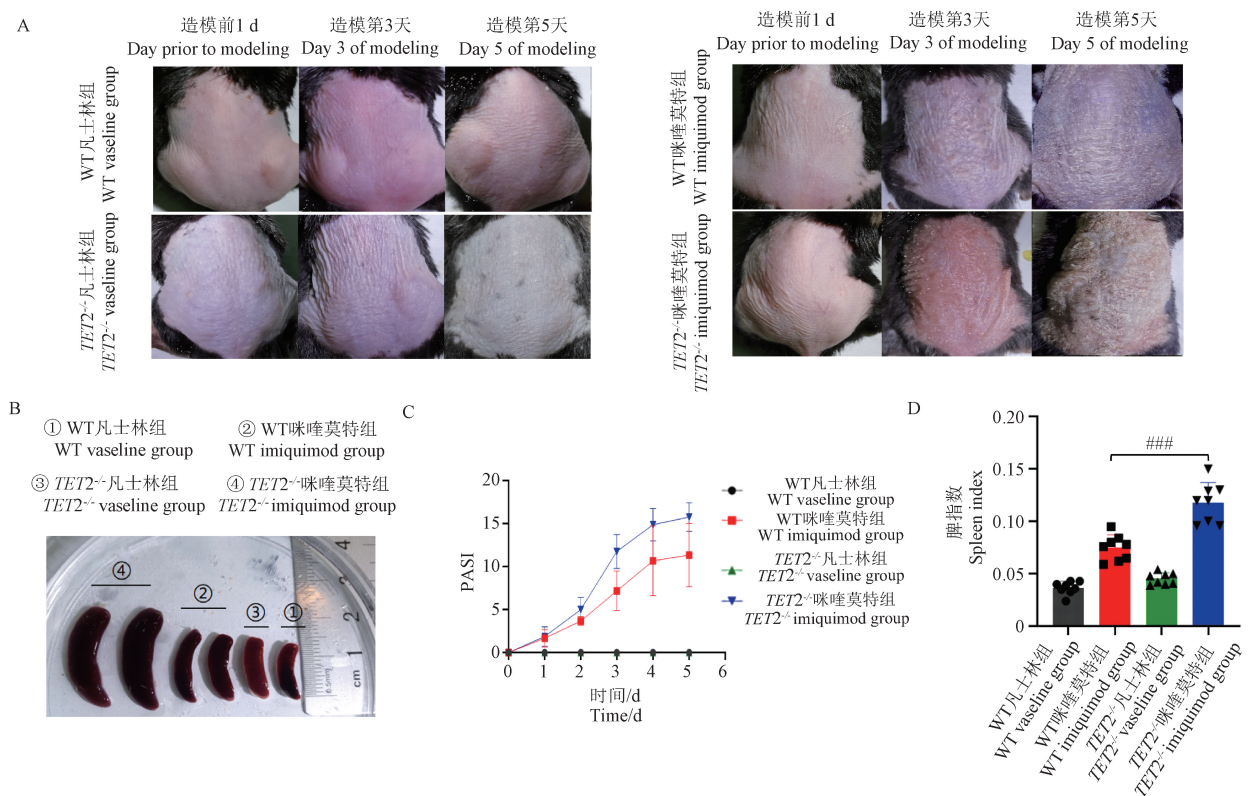
喹莫特组($t = 5.311, P < 0.001$),见图 4B,图 4D。

2.4 *TET2* 缺失对银屑病小鼠表皮的影响

同样在造模完成后将 4 组小鼠的病变组织进行 HE 染色,通过对比,发现 WT 咪喹莫特组与 *TET2*^{-/-} 咪喹莫特组小鼠的表皮较 WT 凡士林组均存在不同程度增厚(图 5A)。测量小鼠表皮垂直厚度,发现 *TET2*^{-/-} 咪喹莫特组小鼠表皮增厚程度远高于 WT 咪喹莫特组小鼠($t = 7.191, P < 0.0001$),见图 5B,表明 *TET2* 突变会加重小鼠银屑病的皮肤炎症表型。

2.5 *TET2* 缺失加剧小鼠银屑病样皮肤炎症反应

为了探究 *TET2* 缺失加剧小鼠银屑病样皮损损伤的潜在机制,首先检测了模型小鼠病灶处炎症因子及分化调节因子的表达。图 6 结果显示,

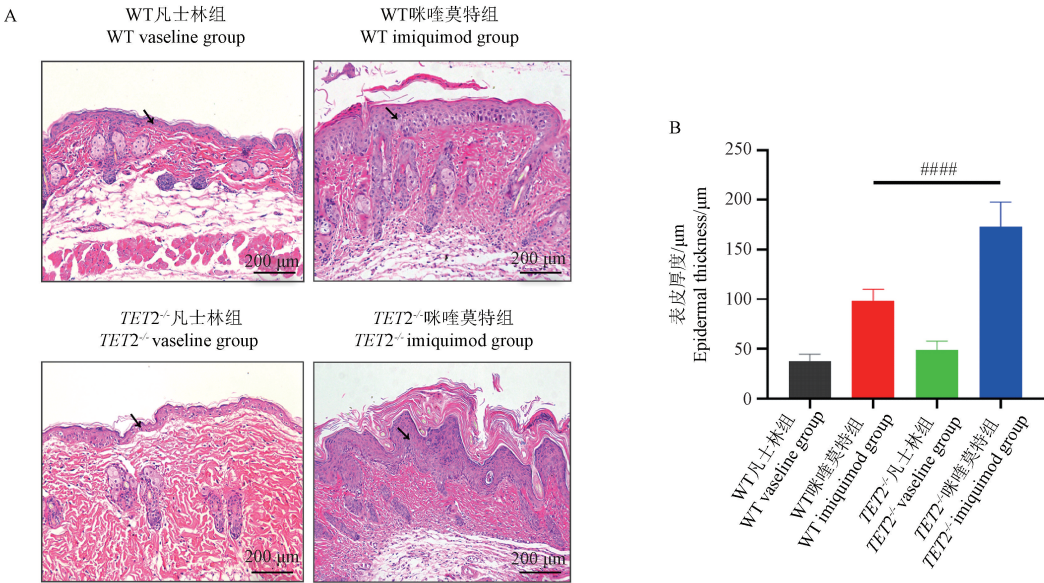


注:A:小鼠造模期间背部表型图;B:小鼠表型高峰时脾大体观;C:银屑病小鼠模型的 PASI 评分统计图;D:4 组小鼠脾指数统计分析图;与 WT 咪喹莫特组相比,### $P < 0.001$ 。(下图同)

图 4 WT 与 *TET2*^{-/-} 银屑病小鼠模型大体病变表型分析

Note. A. Phenotyping of the back of mice during modeling. B. Gross view of spleen of mice at peak phenotype. C. Statistical plot of PASI scores in a mouse psoriasis model. D. Statistical analysis of spleen index in four groups of mice. Compared with WT imiquimod group, ### $P < 0.001$. (The same in the following figures)

Figure 4 Analysis of gross lesion phenotypes between WT and *TET2*^{-/-} psoriasis mouse model

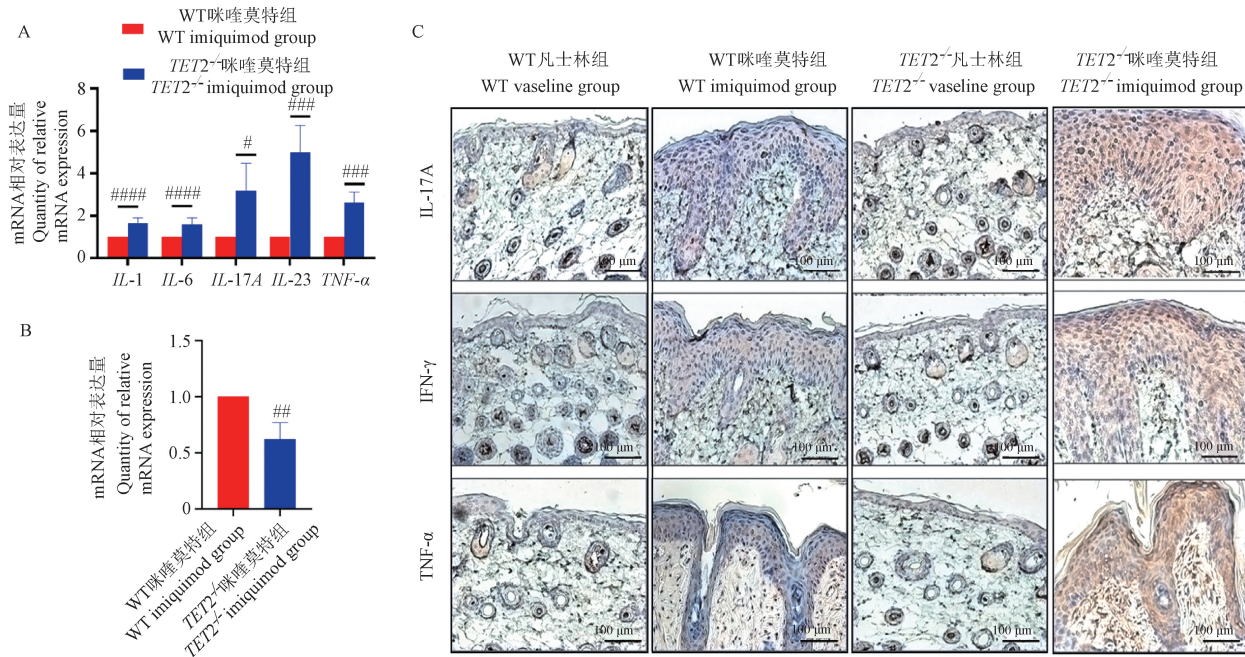


注:A:小鼠的皮肤组织 HE 染色结果;B:小鼠的表皮厚度测定;与 WT 咪喹莫特组相比,#### $P < 0.0001$ 。(下同)

图 5 各组小鼠皮肤组织 HE 染色

Note. A. HE staining results of mouse skin tissue. B. Determination of epidermal thickness in mice. Compared with WT imiquimod group, #### $P < 0.0001$. (The same in the following figures)

Figure 5 HE staining of mouse skin tissue in each group



注:A:银屑病小鼠病灶处炎症因子 IL-1、IL-6、IL-17A、IL-23 与 TNF-α 的 mRNA 表达水平分析图;B:晚期分化标志因子 K10 的 mRNA 表达水平;C:小鼠背部皮肤组织 IL-17A、IFN-γ 和 TNF-α 免疫组化染色结果;与 WT 咪喹莫特组相比, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

图 6 银屑病小鼠皮肤炎症损伤及分化探究

Note. A. Analysis of mRNA expression levels of inflammatory factors IL-1, IL-6, IL-17A, IL-23 and TNF-α in lesions of psoriatic mice. B. mRNA expression levels of the late differentiation marker K10. C. Immunohistochemical staining results for IL-17A, IFN-γ and TNF-α in mouse dorsal skin tissues. Compared with WT imiquimod group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$.

Figure 6 Investigation of skin inflammatory injury and differentiation in psoriasis mice

$TET2^{-/-}$ 咪喹莫特组小鼠炎症因子 $IL-1$ 、 $IL-6$ 、 $IL-17A$ 、 $IL-23$ 及 $TNF-\alpha$ 的 mRNA 表达较 WT 咪喹莫特组均显著上调 ($t = 5.150$ 、 5.973 、 3.190 、 9.900 、 6.134 , $P < 0.05$), 见图 6A。此外, 晚期分化因子 $K10$ 在 $TET2^{-/-}$ 咪喹莫特组小鼠病灶处表达显著降低 ($t = 4.343$, $P < 0.01$), 提示 $TET2^{-/-}$ 模型小鼠分化异常, 见图 6B。随后采用免疫组化的方法检测了 $IL-17$ 、 $INF-\gamma$ 与 $TNF-\alpha$ 在 4 组小鼠背部皮损处的表达情况。经探究发现 3 者在两组造模小鼠皮损处的表达均上调, 但 $TET2^{-/-}$ 咪喹莫特组小鼠阳性信号更多、更强烈, 见图 6C。以上结果表明, $TET2$ 缺失会加重由 IMQ 诱导的小鼠皮肤炎症水平。

2.6 表皮超微病理分析

为了进一步探究 $TET2$ 缺失加剧银屑病样皮损的原因, 选用 TEM 来观察小鼠病变处超微病理结构。结果显示, 4 组小鼠除 WT 凡士林组外均存在细胞间隙增大现象, 以 $TET2^{-/-}$ 咪喹莫特组最为严重。有研究指出表皮细胞紧密连接蛋白异常也属于银屑病的病理学特征^[10]。此外, $TET2^{-/-}$ 咪喹莫特组小鼠病灶处大量线粒体存在脊断裂溶解、空泡及质膜变深现象(图 7), 提示 $TET2$ 突变可能会破坏线粒体的结构和功能, 这可能是 $TET2$ 参与银屑病发生发展的潜在机制, 但其具体机制还需进一步探究。

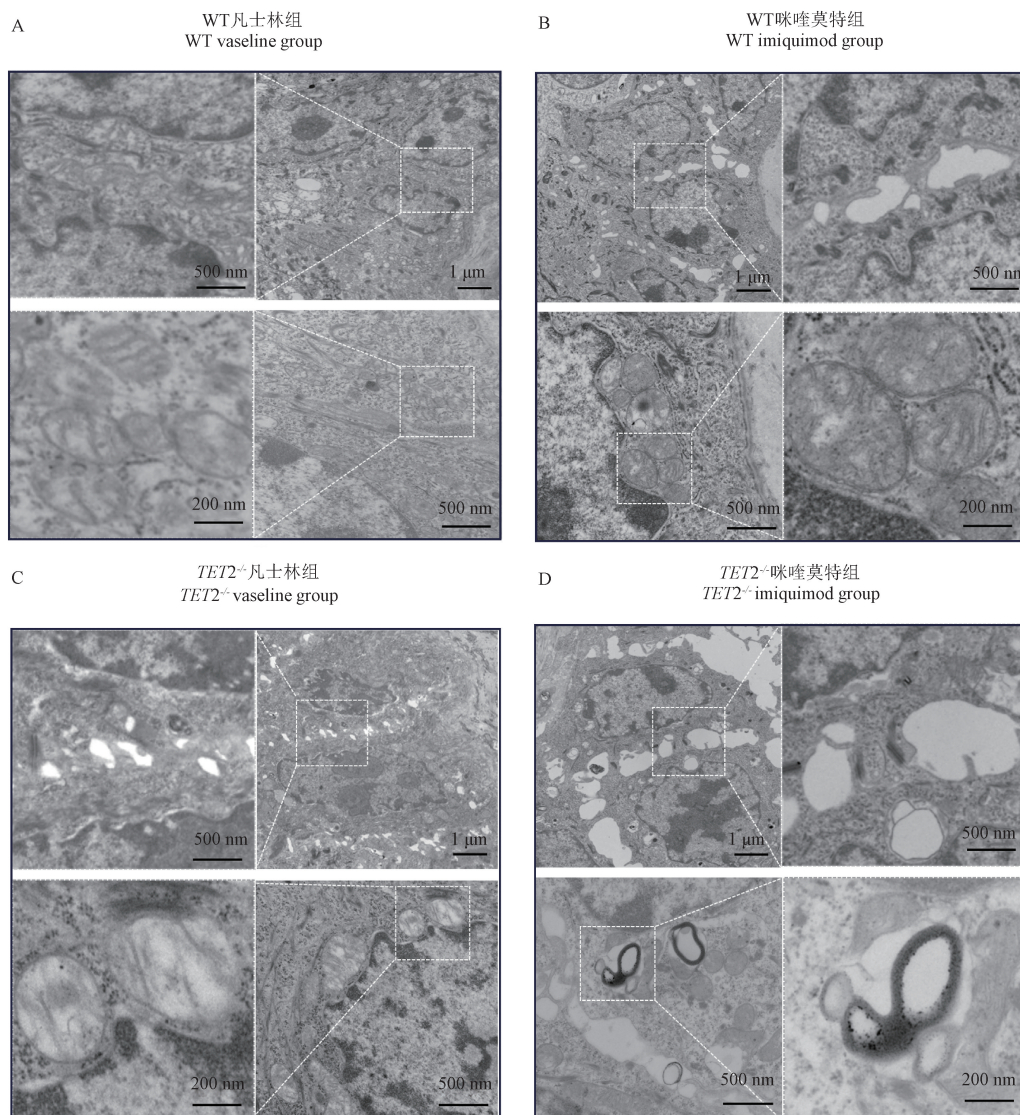


图 7 银屑病小鼠模型的 TEM 超微病理结构分析

Figure 7 TEM ultrastructural analysis of psoriasis mouse model

3 讨论

银屑病具有强遗传易感性,多因素均可引起该病发生,如遗传、表观遗传修饰、环境诱因和免疫功能障碍等^[11-12]。IMQ 是 Toll 样受体(toll-like receptors, TLR)7/8 的激动剂,将其给小鼠局部用药可诱导小鼠表皮出现增厚、角化不全等类似与临床银屑病患者的皮炎表型^[13-14]。尽管 IMQ 诱导的小鼠银屑病模型表型同人的银屑病病征高度相似,但仍存在一些差异。例如:人银屑病发病因素复杂,而 IMQ 诱导的银屑病致病原因相对单一;人银屑病病程长疾病顽固,而 IMQ 诱导的模型造模周期快,平均 5 d 即可达到表型高峰,达高峰后表型则逐日消退;人银屑病发病过程中会促使新生血管增多,然而 IMQ 诱导的银屑病模型在实验过程中未见新生血管明显增多现象。在过去的几十年里, *TET2* 通过介导 5-甲基胞嘧啶(5-methylcytosine, 5mC)的氧化来调节 DNA 甲基化与去甲基化的功能已经取得了显著的进展。大量研究表明, *TET2* 蛋白和 5-羟甲基胞嘧啶(5-hydroxymethylcytosine, 5hmC)在表观遗传调控与免疫系统中具有重要意义^[13,15]。据报道, *TET2* 通过调控多种免疫细胞内的促炎介质的表达,具有广泛的抑炎作用^[16]。因此,当 *TET2* 缺失时会导致组织炎症损伤、炎性细胞浸润等促炎表型。尽管 *TET2* 在调节免疫反应中的重要作用已被广泛报道,但 *TET2* 在银屑病中的致病机理仍未清晰。

在本研究中,首次建立了 *TET2* 全身敲除的银屑病小鼠模型。通过对该模型的表型分析,发现本结果与 WANG 等^[9]发表的研究在表型上存在差异。WANG 等^[9]在敲低小鼠体内 *TET2* 的表达后,发现小鼠银屑病样皮炎症状减轻。然而,本研究在 *TET2*^{-/-}小鼠体内观察到银屑病皮炎症状加剧的现象。在另一些炎症疾病(如脑神经炎,心肌炎以及足底皮肤炎症等)的研究中,全身敲除 *TET2* 的表达后,均使得原有疾病模型的炎症加重^[17-20]。此外,有研究报道有 BALB/c 小鼠可以自发产生银屑病,并将这种小鼠命名为 Asebia 小鼠^[21-22]。因此,推测这种表型差异可能是由两个原因引起的:(1)本研究使用的是 C57BL/6J 品系的小鼠,这与 BALB/c 品系的小鼠

在遗传背景上存在较大差异,使它们对银屑病的易感性不同;(2)本研究与 WANG 等^[9]构建 *TET2* 缺陷小鼠的方式不同, WANG 等^[9]是通过注射慢病毒的方式敲低小鼠体内 *TET2* 的表达,而本研究利用 CRISPR/Cas9 技术构建了 *TET2* 全基因敲除小鼠。这些原因可能共同造成了表型上的差异。

此外,本研究在 WT 模型小鼠病灶处检测到了 *TET2* 的表达下调,提示 *TET2* 可能参与银屑病的发生发展。后通过利用 *TET2*^{-/-}小鼠构建银屑病小鼠模型以观察其与 WT 银屑病小鼠表型,发现 *TET2* 突变会加剧银屑病小鼠的皮肤炎症反应水平,使病程进展更快、病理损伤更严重。并在超微病理结构分析中,观察到细胞连接及线粒体异常的现象,为后续进一步揭示 *TET2* 在银屑病中的致病机理提供了重要思路。综上,研究表明 *TET2* 突变会加剧 IMQ 诱导的小鼠银屑病样皮炎进展,证明 *TET2* 在银屑病发生发展中具有重要作用,但具体机制仍需进一步探究。本研究为探究 *TET2* 参与银屑病发生发展的机制提供了一个新的、理想的动物模型,并为发掘银屑病新的致病或易感基因提供了新思路。

参 考 文 献(References)

- [1] GRIFFITHS C E M, ARMSTRONG A W, GUDJONSSON J E, et al. Psoriasis [J]. Lancet, 2021, 397(10281): 1301-1315.
- [2] KAUSHIK S B, LEBWOHL M G. Psoriasis: which therapy for which patient: psoriasis comorbidities and preferred systemic agents [J]. J Am Acad Dermatol, 2019, 80(1): 27-40.
- [3] STIRZAKER C, ZOTENKO E, CLARK S J. Genome-wide DNA methylation profiling in triple-negative breast cancer reveals epigenetic signatures with important clinical value [J]. Mol Cell Oncol, 2015, 3(1): e1038424.
- [4] GREENBERG M V C, BOURC'HIS D. The diverse roles of DNA methylation in mammalian development and disease [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2019, 20(10): 590-607.
- [5] LI J, LI L, SUN X, et al. Role of Tet2 in regulating adaptive and innate immunity [J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 665897.
- [6] LIO C J, RAO A. TET enzymes and 5hmC in adaptive and innate immune systems [J]. Front Immunol, 2019, 10: 210.
- [7] CARRILLO-JIMENEZ A, DENIZ Ö, NIKLISON-CHIROU M V, et al. TET2 regulates the neuroinflammatory response

- in microglia [J]. Cell Rep, 2019, 29(3): 697–713.
- [8] SOLARY E, BERNARD O A, TEFFERI A, et al. The ten-eleven translocation-2 (TET2) gene in hematopoiesis and hematopoietic diseases [J]. Leukemia, 2014, 28(3): 485–496.
- [9] WANG X, LIU X, DUAN X, et al. Ten-eleven translocation-2 regulates DNA hydroxymethylation status and psoriasiform dermatitis progression in mice [J]. Acta Derm Venereol, 2018, 98(6): 585–593.
- [10] FOGEL O, RICHARD-MICELI C, TOST J. Epigenetic changes in chronic inflammatory diseases [J]. Adv Protein Chem Struct Biol, 2017, 106: 139–189.
- [11] AKIYAMA T, NIYONSABA F, KIATSURAYANON C, et al. The human cathelicidin LL-37 host defense peptide upregulates tight junction-related proteins and increases human epidermal keratinocyte barrier function [J]. J Innate Immun, 2014, 6(6): 739–753.
- [12] GANGWAR R S, GUDJONSSON J E, WARD N L. Mouse models of psoriasis: a comprehensive review [J]. J Invest Dermatol, 2022, 142(3): 884–897.
- [13] CONG B, ZHANG Q, CAO X. The function and regulation of TET2 in innate immunity and inflammation [J]. Protein Cell, 2021, 12(3): 165–173.
- [14] 彭玲玲, 延祝, 夏育民. 银屑病的动物模型与细胞模型研究进展 [J]. 皮肤性病诊疗学杂志, 2020, 27(3): 204–206.
- PENG L L, YAN Z, XIA Y M. Research progress in animal and cell models of psoriasis [J]. J Diagn Ther Derm Venereol, 2020, 27(3): 204–206.
- [15] ZENG Z, CHEN J, WU P, et al. OxLDL induces vascular endothelial cell pyroptosis through miR-125a-5p/TET2 pathway [J]. J Cell Physiol, 2019, 234(5): 7475–7491.
- [16] FUSTER J J, MACLAUCHLAN S, ZURIAGA M A, et al. Clonal hematopoiesis associated with TET2 deficiency accelerates atherosclerosis development in mice [J]. Science, 2017, 355(6327): 842–847.
- [17] 孟庆余, 李春华, 马灵杰, 等. 10-11 易位蛋白 2 调节足底炎症和炎性疼痛 [J]. 中国疼痛医学杂志, 2022, 28(10): 739–746.
- MENG Q Y, LI C H, MA L J, et al. Ten-eleven translocation 2 regulates plantar inflammation and inflammatory pain [J]. Chin J Pain Med, 2022, 28(10): 739–746.
- [18] ZHANG Q, ZHAO K, SHEN Q, et al. Tet2 is required to resolve inflammation by recruiting Hdac2 to specifically repress IL-6 [J]. Nature, 2015, 525(7569): 389–393.
- [19] YAN H, TAN L, LIU Y, et al. Ten-eleven translocation methyl-cytosine dioxygenase 2 deficiency exacerbates renal ischemia-reperfusion injury [J]. Clin Epigenetics, 2020, 12(1): 98.
- [20] PAN W, ZHU S, QU K, et al. The DNA methylcytosine dioxygenase Tet2 sustains immunosuppressive function of tumor-infiltrating myeloid cells to promote melanoma progression [J]. Immunity, 2017, 47(2): 284–297.
- [21] SCHÖN M P, MANZKE V, ERPENBECK L. Animal models of psoriasis-highlights and drawbacks [J]. J Allergy Clin Immunol, 2021, 147(2): 439–455.
- [22] GATES A H, KARASEK M. Hereditary absence of sebaceous glands in the mouse [J]. Science, 1965, 148(3676): 1471–1473.

[收稿日期] 2024-08-20