DOI:10.16016/j.2097-0927.202302004

寻常型银屑病患者皮损组织中 DNA 去甲基化酶 TET3 过表达介导转录因子 KLF4 显著高表达

张 帅,罗 雯,张 莲,殷秀琴,罗 宏 410000 长沙,长沙市第一医院皮肤科

［摘要］ **目的** 探讨银屑病患者皮损组织中 Krüppel 样因子 4(Krüppel-like factor 4, KLF)异常高表达的 DNA 甲基化分子机制。**方法** 以 20 例寻常型银屑病患者病理检查所取皮损组织为实验组,13 例眼外伤手术患者所取眼睑皮肤组织为对照组。采用亚硫酸氢盐测序(bisulfite sequencing, BSP)检测各组皮肤样本及转染十-十一转位 3(ten-eleven translocation 3, TET3)过表达及干扰质粒的人永生化角质形成细胞 HaCat 中转录因子 Krüppel 样因子 4(Krüppel-like factor 4, KLF4)启动子区 DNA 甲基化水平,RT-qPCR 和 Western blotting 检测各组皮肤组织样本及转染 HaCat 细胞中 KLF4、TET1(ten-eleven translocation1)、TET2、TET3 的表达水平。**结果** 实验组 KLF4 启动子 DNA 甲基化水平显著低于对照组($P<0.01$),实验组 KLF4 的 mRNA 表达水平显著高于对照组($P<0.01$)。实验组 KLF4 启动子 DNA 甲基化水平与 mRNA 表达水平呈显著负相关($r=-0.649$,$P=0.002$)。实验组 TET3 表达水平显著高于对照组($P<0.01$), TET1 及 TET2 表达水平差异无统计学意义。实验组 TET3 表达水平与 KLF4 启动子 DNA 甲基化水平呈显著负相关($r=-0.688$,$P=0.001$)。HaCat 细胞中过表达 TET3 后,KLF4 启动子 DNA 甲基化水平明显下调($P<0.01$),KLF4 表达水平显著上调($P<0.01$)。HaCat 细胞中干扰 TET3 表达后,KLF4 启动子 DNA 甲基化水平明显上调($P<0.01$),KLF4 表达水平显著下调($P<0.01$)。**结论** 过度表达的 TET3 通过下调 KLF4 启动子 DNA 甲基化水平,介导银屑病患者皮损组织中 KLF4 过度表达。

［关键词］ 银屑病;角质形成细胞;DNA 甲基化;TET 家族蛋白 3;kruppel 样因子 4
［中图法分类号］ R322.99; R394.3; R758.63 ［文献标志码］ A

Overexpression of DNA demethylase ten-eleven translocation 3 mediates high expression of Krüppel-like factor 4 in the skin lesions of patients with psoriasis vulgaris

ZHANG Shuai, LUO Wen, ZHANG Lian, YIN Xiuqin, LUO Hong Department of Dermatology, Changsha First Hospital, Changsha, Hunan Province, 410000, China

［**Abstract**］ **Objective** To investigate the molecular mechanism of DNA methylation of the abnormally high expression of Krüppel-like factor 4 (KLF4) in psoriasis vulgaris lesions. **Methods** The skin lesions of 20 patients with psoriasis vulgaris were taken as experimental group and those from 13 healthy individuals as control group. Bisulfite sequencing (BSP) was used to detect the DNA methylation of KLF4 promoter in the skin samples and in HaCat cells with ten-eleven translocation 3 (TET3) overexpression and interference, respectively. Real time PCR and Western blotting were employed to detect the expression levels of KLF4, TET1, TET2 and TET3 in skin samples and transfected HaCat cells. **Results** The DNA methylation level of KLF4 promoter was significantly lower ($P<0.01$), and the KLF4 mRNA level was obviously higher in the experimental group than the control group ($P<0.01$). A negative correlation was observed between DNA methylation level of KLF4 promoter and KLF4 mRNA level in the experimental group ($r=-0.649$, $P=0.002$). The experimental group had notably higher expression level of TET3 ($P<0.01$), but had no

［基金项目］ 湖南省卫生健康委科研计划(202204122971)
［通信作者］ 罗 宏,E-mail:lhdoctor@yeah.net

2097-0927/Copyright © 2024, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

differences in the levels of TET1 and TET2 when compared with the control group. The expression level of TET3 was negatively correlated with the DNA methylation level of KLF4 promoter in the experimental group ($r=-0.688$, $P=0.001$). After overexpression of TET3 in HaCat cells, the DNA methylation level of KLF4 promoter was significantly decreased ($P<0.01$), and KLF4 expression level was obviously increased ($P<0.01$). After interfering with TET3 expression in HaCat cells, the DNA methylation level of KLF4 promoter was notably up-regulated ($P<0.01$), and the KLF4 expression level was remarkably decreased ($P<0.01$). **Conclusion** Overexpression of TET3 mediates the overexpression of KLF4 in psoriatic lesions by down-regulating the DNA methylation level of KLF4 promoter.

[**Key words**] psoriasis; keratinocyte; DNA methylation; ten-eleven translocation 3; Krüppel-like factor 4

Supported by the Project of Scientific Research Plan of Hunan Provincial Health Commission (202204122971). Corresponding author: LUO Hong, E-mail: lhdoctor@yeah.net

银屑病是免疫介导的一种慢性炎症性皮肤病,患者常伴关节损害,严重者可累及心、肝、肾、眼等系统,还可因继发感染、电解质紊乱而危及生命[1]。根据其临床特征可分为寻常型、关节病型、脓疱型及红皮病型,其中寻常型占99%以上,其他类型都由寻常型银屑病转化而来。角质形成细胞(keratinocytes, KCs)是构成皮肤表皮的主要细胞。大量研究证实,异常增殖的KCs参与树突状细胞、中性粒细胞、巨噬细胞等炎症细胞的募集和活化过程;此外,KCs可以通过促发Th1和Th17免疫应答,介导银屑病皮肤组织的炎性损伤[2-5]。

研究发现,角蛋白17(keratin 17, KRT17)在银屑病皮损的KCs中异常高表达,高表达的KRT17通过刺激Th1及Th17细胞产生IFN-γ、IL-17、IL-22等炎性细胞因子,介导银屑病皮肤组织的炎性损伤[6-10]。本课题组前期研究显示,转录因子Krüppel样因子4(Krüppel-like factor 4, KLF4)在银屑病皮损中表达上调,大量的KLF4通过与组蛋白乙酰化酶EP300形成蛋白复合体上调KRT17启动子区组蛋白H3乙酰化水平,导致KRT17表达上调[11]。然而,银屑病患者KCs中KLF4过度表达的分子机制目前还尚不明确。

DNA甲基化可引起相应区域染色质高度螺旋化,抑制转录因子与调控元件的结合,导致基因转录失活。反之,去甲基化则导致染色质松散,有利于转录因子与调控元件的结合,活化基因转录[12]。为解释银屑病患者皮损中KLF4异常高表达的分子机制,对其基因启动子DNA序列进行了DNA甲基化预测分析,发现KLF4启动子590 bp~600 bp区域富含CpG二核苷酸序列,属于DNA甲基化敏感基因。本研究通过检测银屑病患者皮损组织表皮中KLF4启动子DNA甲基化水平,以及DNA去甲基化起始酶类DNA羟甲基化修饰酶-十-十一转位(ten-eleven translocation, TET)家族蛋白的表达水平,探讨TET蛋白对KLF4启动子DNA甲基化及表达的调控。本研究的完成对银屑病患者KCs中KLF4表达上调介导KRT17过度表达,诱导银屑病组织炎性损伤这一机制有了进一步完善。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选择长沙市第一医院皮肤科于2020年5月至2022年6月收治的20例寻常型银屑病患者为研究对象,其中男性13例,女性7例,年龄19~49(34.1±8.2)岁。银屑病患者病理活检时所取皮损组织作为实验组。13例于我院眼科进行手术的眼外伤患者为研究对照,其中男性8例,女性5例,年龄18~50(32.8±10.1)岁。眼外伤患者手术所取眼睑皮肤组织作为对照组。本实验通过长沙市第一医院伦理委员会审批(KL-2020014)。

1.2 标本的表皮分离

将正常对照组及实验组皮肤样本置于0.25%分散酶中,4 ℃消化16 h,然后用镊子分离出表皮层。

1.3 人永生化角质形成细胞HaCaT的培养及转染

HaCaT细胞购于中南大学湘雅细胞库。HaCaT细胞培养于含青霉素/链霉素、10% FBS的DMEM培养基中,在37 ℃,5% CO_2的培养条件下培养至对数生长期。消化细胞并重悬于完全培养基,以1×10^5/mL的密度接种于6孔细胞培养板,培养至细胞融合度约70%时进行转染。转染细胞分为4组,即过表达对照组、TET3过表达组、干扰对照组、TET3干扰组,每组包含3个平行孔。使用Lipofectamine 3000作为转染试剂(美国Thermo Fisher Scientific公司)。过表达对照组转染pCMV6质粒,TET3过表达组转染pCMV6-TET3质粒,干扰组对照组转染pRS质粒,TET3干扰组转染pRS-TET3质粒,转染72 h后收集细胞。所有质粒均购自美国OriGene公司。

1.4 实时荧光定量 PCR

用于检测实验组及对照组表皮样本及转染后细胞样本中相关基因的 mRNA 表达水平。取部分表皮样本放入研钵后加入液氮,用研磨棒快速研磨粉碎。向粉碎均匀的组织中加入 1 mL TRIzol(美国 Invitrogen 公司)并快速吹打混匀,并转移到离心管中。将离心管进行冰浴的同时使用电动均浆器进一步均浆 1~2 min。然后以 12 000 r/min,4℃离心 5 min。取上清移入新的离心管中,加入 200 μL 三氯甲烷,继续按常规 TRIzol 法抽提出总 RNA。转染后细胞漂洗后直接加入 1 mL TRIzol,快速吹打混匀后直接提取总 RNA。

使用逆转录试剂盒(日本 Takara Bio 公司)将提取的总 RNA 逆转录成 cDNA。以人 3-磷酸甘油醛脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)基因为内参照,使用荧光染料法(SYBR Green,日本 Takara Bio 公司)进行实时荧光定量 PCR(Real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR),比较 CT 值法($2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法)计算目的基因的相对表达量。检测基因引物序列详见表 1。

1.5 蛋白免疫印迹法(Western blotting)

用于检测实验组及对照组表皮样本及转染后细胞样本中相关基因的蛋白表达水平。取部分表皮样本,剪碎后置入装有 RIPA 裂解液(美国 Thermo Scientific 公司)的玻璃匀浆器中,冰浴同时进行研磨匀浆。研磨充分后静置裂解 30 min。将裂解液移至离心管中,以 4 ℃,12 000 r/min 的条件离心 5 min,上清即为总蛋白提取液。转染后细胞漂洗后直接加入 RIPA 裂解液,快速吹打混匀后静置裂解 30 min,后续提取总蛋白方法同组织样本。

使用 BCA 蛋白检测试剂盒(美国 Thermo Scientific 公司)测定样本蛋白浓度,取 30 μg 蛋白进行 SDS-PAGE 凝胶电泳。随后使用湿转法将电泳后的蛋白样本转印到 PVDF 膜,并用 5%脱脂牛奶室温封闭 1 h。分别加入一抗 Anti-KLF4,Anti-TET1 ,Anti-TET2,Anti-TET3 及 Anti-GAPDH 抗体(美国 Cell Signaling Technology 公司),4 ℃孵育过夜。洗膜 3 次后,加入 HRP 标记的二抗室温孵育 1 h,显影并分析结果。

1.6 亚硫酸氢盐测序(bisulfite sequencing, BSP)

用于检测实验组及对照组表皮样本及转染后细胞样本中 KLF4 启动子区 DNA 甲基化水平。取部分表皮样本,放入研钵后加入液氮,用研磨棒快速研磨粉碎。粉碎后组织使用基因组 DNA 提取试剂盒(中国天根生化科技公司)提取基因组 DNA。测定 DNA 浓度,每个 DNA 样本取 500 ng,使用亚硫酸氢盐处理试剂盒(美国 Qiagen 公司)进行亚硫酸氢盐处理和纯化。纯化后的 DNA 进行 PCR 扩增及克隆,挑取克隆后进行测序。统计各样本测序结果,计算每个样本检测区域的平均甲基化水平。转染后细胞经漂洗后直接使用基因组 DNA 提取试剂盒(中国天根生化科技公司)进行基因组 DNA 的抽提,后续亚硫酸氢盐处理、PCR 扩增、克隆及测序均同组织样本。KLF4 启动子 BSP 引物序列如下:(上游)5′-GAGAGAAGAAAGGGAGGGG-3′,(下游)5′-TTCTTCTTTAAATTAAATATAAC-3′,引物扩增区域为 1 bp~425 bp;(上游)5′-AGAGAGGGAGGG-GGAGATGGA-3′,(下游)5′-TGCTATGGCAGCTAAAT-CAACAA-3′,引物扩增区域为-127 bp~526 bp

1.7 统计学分析

以 $\bar{x}\pm s$ 表示正态分布计量资料,成组设计的两样本均数使用独立样本 t 检验进行分析比较;使用单因素方差分析(one-way ANOVA)进行多组数据间的分析比较。所有数据均使用 SPSS 22.0 软件进行分析 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

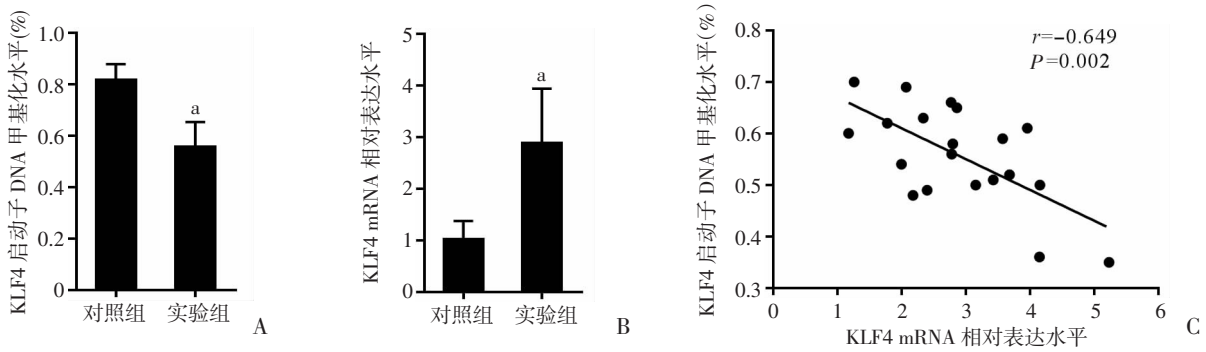
2 结果

2.1 实验组 KLF4 基因启动子区 DNA 甲基化水平低于对照组

BSP 结果显示,与对照组相比,实验 KLF4 基因启动子区 DNA 甲基化水平明显降低(0.82±0.06 *vs* 0.56±0.09,$P<0.01$)。RT-qPCR 结果显示,与对照组比较,实验组 KLF4 mRNA 水平显著升高(1.02±0.35 *vs* 2.89±1.04,$P<0.01$)。实验组 KLF4 基因启动子区 DNA 甲基化修饰水平与 KLF4 mRNA 水平呈显著负相关($r=-0.649$,$P=0.002$)。见图 1。

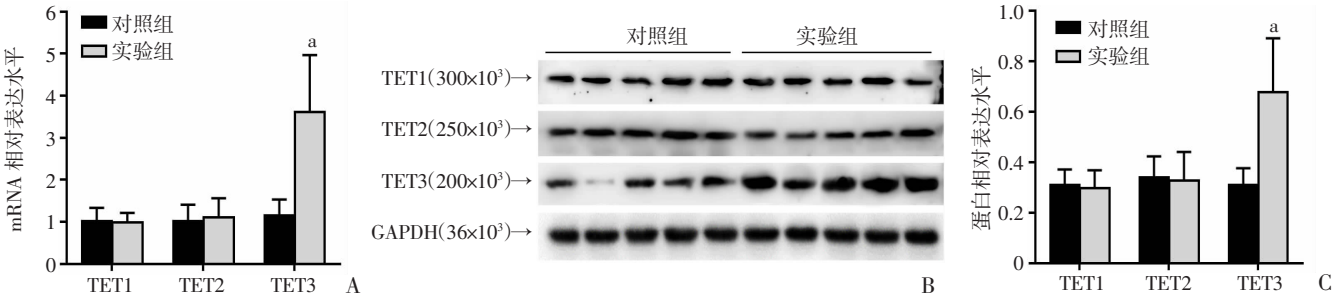
表 1 实时定量 PCR 引物序列(5'-3')

基因	上游引物	下游引物	产物长度(bp)
KLF4	GCTCACCCCACCTTCTTCACC	AATTTCCATCCACAGCCGTCC	237
TET1	GCTCCCAGGTCAGTGTAA	CTCCAGAGGCACAACAAC	128
TET2	TTGGTAGCAGTGGAGAGC	TTGATTGGAGAGATTGGG	176
TET3	CTGCGATTGCGTCGAACA	CTGCGGATCACCCACTTTG	167
GAPDH	ATGGGGAAGGTGAAGGTCG	GGGTCATTGATGGCAACAATA	108



A:对照组与实验组 BSP 结果;B:RT-qPCR 检测对照组与实验组 KLF4 mRNA 表达水平结;C:实验组 KLF4 启动子 DNA 甲基化水平与 KLF4 mRNA 水平相关性分析结果;a: $P<0.01$,与对照组比较

图 1 两组皮肤样本中 KLF4 启动子区 DNA 甲基化水平及表达水平差异



A:RT-qPCR 检测对照组与实验组 TET 家族 mRNA 表达水平结果;Western blotting 检测对照组与实验组 TET 家族蛋白表达水平显影结果;C:Western blotting 显影结果灰度值统计 a: $P<0.01$,与对照组比较

图 2 两组皮肤样本中 DNA 羟甲基化修饰酶表达水平差异

2.2 实验组 DNA 羟甲基化修饰酶 TET3 表达水平高于对照组

RT-qPCR 结果显示,与对照相比,实验组 TET3 mRNA 水平明显升高(1.16 ± 0.38 *vs* 3.62 ± 1.35,$P<0.01$),TET1 及 TET2 mRNA 水平无明显差异,分别为(1.02 ± 0.32 *vs* 0.98 ± 0.23,$P=0.73$)、(1.02 ± 0.38 *vs* 1.1 ± 0.45,$P=0.593$)。Western blotting 结果与 RT-qPCR 结果相符,与对照组比较,实验组 TET3 蛋白水平明显升高(0.31 ± 0.07 *vs* 0.68 ± 0.21,$P<0.01$),TET1 及 TET2 蛋白水平差异无统计学意。见图 2。

2.3 实验组皮肤样本中 TET3 表达水平与 KLF4 启动子区 DNA 甲基化水平呈负相关

相关性分析结果显示,实验组皮肤组织样本中 TET3 蛋白表达水平与 KLF4 启动子区 DNA 甲基化水平呈显著负相关($r=-0.688$,$P=0.001$)。见图 3。

2.4 TET3 过表达及干扰结果鉴定

Real time-PCR 及 Western blotting 结果显示,与转染对照组相比,TET3 过表达组 TET3 mRNA 及蛋白水平明显升高,分别为(1.01 ± 0.19 *vs* 5.59 ± 1.07,$P<0.01$)、(0.43 ± 0.08 *vs* 0.88 ± 0.08,$P<0.01$)。与转染对照组相比,TET3 干扰组 TET3 mRNA 及蛋白水平明显降低,分别为(1.01 ± 0.18 *vs* 0.37 ± 0.04,$P<0.01$)、(0.9 ± 0.04 *vs* 0.35 ± 0.05,$P<0.01$)。见图 4。实验重复 3 次,数据来自 3 次实验数据平均值。

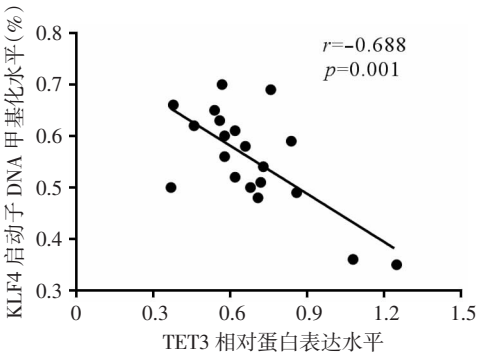
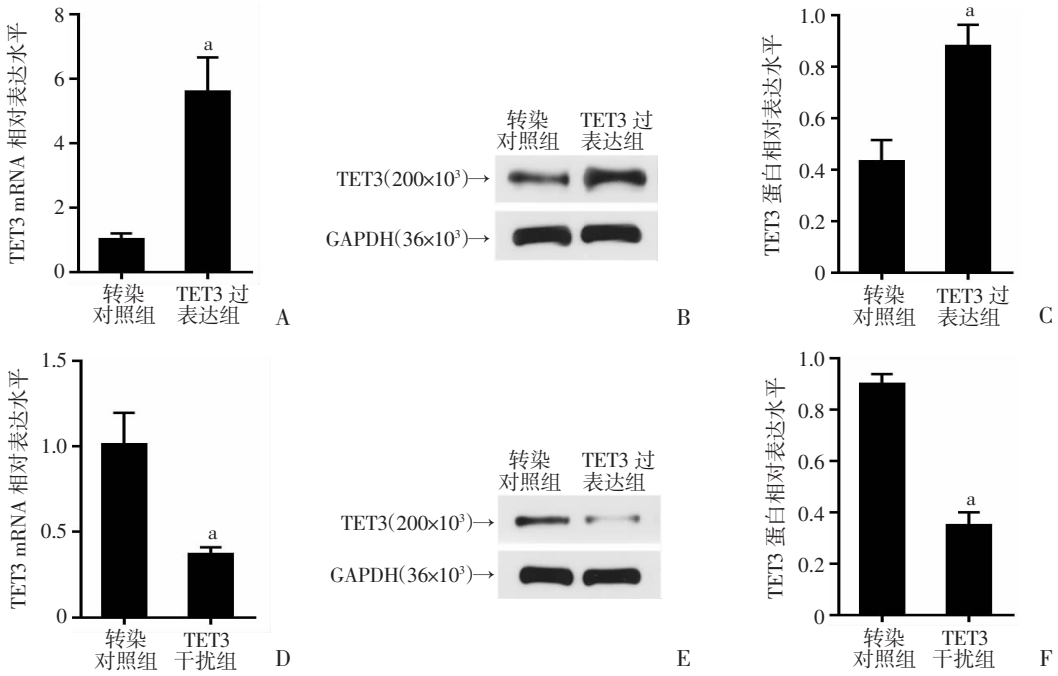


图 3 实验组皮肤样本中 TET3 蛋白表达水平与 KLF4 启动子区 DNA 甲基化水平相关性分析结果 ($n=20$)

2.5 TET3 下调 HaCaT 细胞中 KLF4 启动子 DNA 甲基化水平

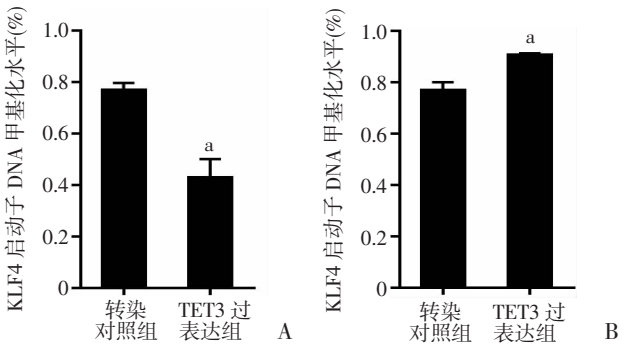
BSP 结果显示,与转染对照组相比,TET3 过表达组KLF4基因启动子区DNA甲基化修饰水平明显降



A 和 D:RT-qPCR 结果。B 和 E:Western blotting 显影结果。C 和 F:Western blotting 显影结果灰度值统计;a: $P<0.01$,与转染对照组比较

图 4 RT-qPCR 与 Western blotting 鉴定 TET3 过表达及干扰结果

低[(0.77±0.03) *vs* (0.43±0.07),$P<0.01$];与转染对照组相比,TET3 干扰组 KLF4 基因启动子区 DNA 甲基化修饰水平明显升高[(0.77±0.03) *vs* (0.91±0.01),$P<0.01$]。详见图 5。实验均重复 3 次,数据来自 3 次实验数据平均值。



A:BSP 检测过表达组的结果。B:BSP 检测干扰组的结果
a: $P<0.01$,与转染对照组比较

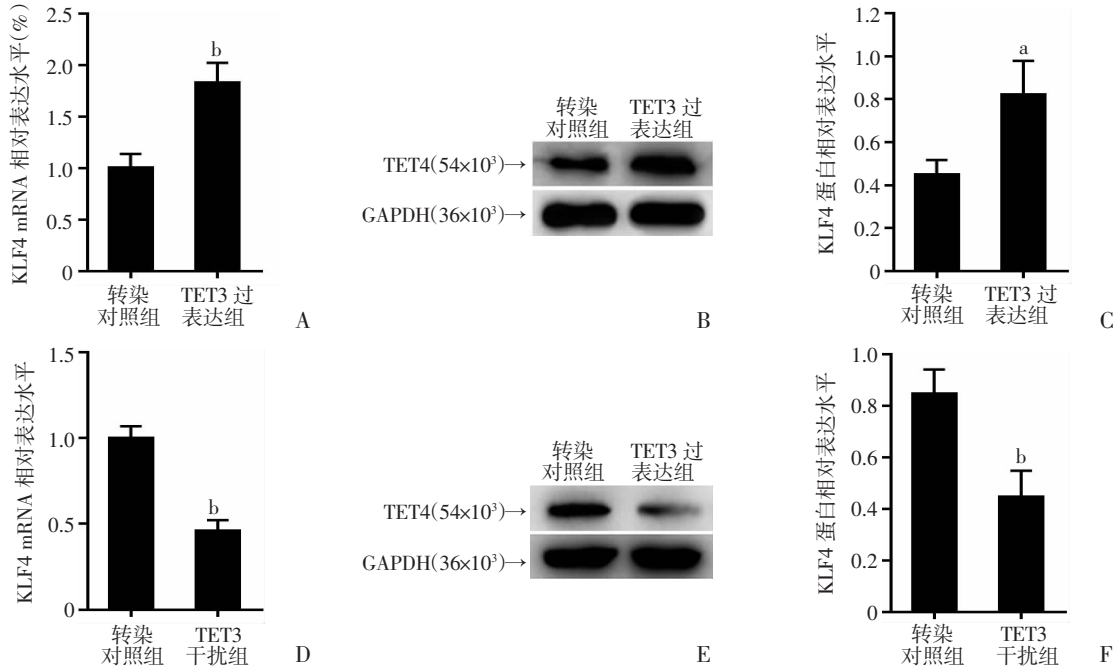
图 5 比较转染后 KLF4 启动子区 DNA 甲基化水平的改变

2.6 TET3 上调 HaCaT 细胞中 KLF4 表达水平

RT-qPCR 及 Western blotting 结果显示,与转染对照组比较,TET3 过表达组 KLF4 mRNA 及蛋白水平明显升高,分别为(1.0±0.13 *vs* 1.83±0.19,$P<0.01$)、(0.45±0.07 *vs* 0.82±0.16,$P<0.05$);与转染对照组相比,TET3 干扰组 KLF4 mRNA 及蛋白水平明显降低,分别为(1.0±0.07 *vs* 0.46±0.06,$P<0.01$)、(0.85±0.09 *vs* 0.45±0.1,$P<0.01$)。见图 6。实验重复 3 次,数据来自 3 次实验数据平均值。

3 讨论

表观遗传修饰,如 DNA 甲基化、组蛋白修饰、miRNA 调控等与多种皮肤疾病的发生发展密切相关[13-15]。大量研究已经证实,DNA 甲基化水平异常在银屑病的发病机制中发挥重要作用[16-18]。DNA 甲基化是在 DNA 甲基转移酶(DNA methyltransferase,DNMT)作用下,以 S-腺苷甲硫氨酸作为甲基供体,将甲基基团转移到 CpG 二核苷酸的脱氧胞嘧啶(Cytosine)的第 5 位碳原子,形成 5-mC 的过程。DNA 甲基化可引起基因组中相应区域高度螺旋化,导致基因转录失活;去甲基化则导致染色质松散,活化基因转录[19-20]。相对于 DNA 甲基化的简单直接,DNA 去甲基化过程则更为复杂。首先,TET 家族蛋白将 DNA 中的 5-甲基胞嘧啶(5-mC)氧化为 5-hmC、5-甲酰胞嘧啶(5fC)和 5-羧基胞嘧啶(5-caC),进而被胸腺嘧啶糖苷酶(thymine DNA glycosylase ,TDG)识别并切除,通过触发碱基切除修复机制(base-excision repair, BER)最终将该位点转化为胞嘧啶,从而实现 DNA 去甲基化[21-22]。有研究通过全基因组 DNA 甲基化免疫沉淀测序发现,与健康对照相比,银屑病患者的 Naïve $CD4^+$ T 细胞基因组的 26 个区域显示明显的低甲基化[23]。



A,D:RT-qPCR 结果;B,E:Western blotting 显影结果;C,F:Western blotting 显影结果灰度值统计;a:$P<0.05$,b:$P<0.01$,与转染对照组比较

图 6 RT-qPCR 与 Western blotting 检测转染各组 KLF4 表达水平

目前,TET3 与银屑病的相关研究比较稀缺,它们之间的关系并不明确。有研究发现,转谷氨酰胺酶 3(transglutaminase 3, TGM3)通过抑制 STAT3 的磷酸化,以及阻止 TET3 与 NF-κB 的 p65 亚基启动子的结合,导致其基因启动子超甲基化,从而减少促炎细胞因子及趋化因子的产生,发挥预防银屑病皮肤炎症的效应[24]。这项研究提示,TET3 可能通过下调炎症相关基因的 DNA 甲基化,上调其表达,进而参与银屑病的皮肤炎性进程。本研究发现银屑病患者皮损组织中 TET3 及 KLF4 表达水平均明显上调,KLF4 启动子 DNA 甲基化水平显著下调。上调角质形成细胞中 TET3 表达能下调 KLF4 启动子 DNA 甲基化水平,上调 KLF4 的表达;抑制角质形成细胞中 TET3 表达则能上调 KLF4 启动子 DNA 甲基化水平,下调 KLF4 的表达。这些结果说明增多的 TET3 通过介导银屑病患者皮损中 KLF4 启动子 DNA 过度去甲基化,进而上调 KLF4 的表达,参与银屑病的疾病进程。这一结果与其他学者的研究成果相符,证实 TET3 的异常表达确实与银屑病的疾病进程密切相关。

KLF4 属于锌指蛋白类转录因子,与免疫调节及炎症反应密切相关[25-26]。炎症因子 TNF-α、IFN-γ 能上调巨噬细胞中 KLF4 的表达,进而激活巨噬细胞,加重炎症反应[27]。皮肌炎患者的 T 细胞中 KLF4 的表达上调导致 Th17 细胞分化过度,介导皮肌炎患者的炎性损伤[28]。类风湿性关节炎患者滑膜中过多的 KLF4 通过上调 IL-1β、IL-6 等炎性因子的表达,介导患者的关节损伤[29]。本课题组前期研究证实,KLF4 在银屑病皮损中表达显著上调,过多的 KLF4 通过与组蛋白乙酰化酶 EP300 形成蛋白复合体,上调 KRT17 启动子区组蛋白 H3 乙酰化水平,介导 KRT17 异常高表达,介导银屑病患者的炎性损伤[11]。本研究是对课题组已有研究成果的进一步延伸,综合已有研究结果,发现银屑病患者皮损中可能存在 TET3/KLF4/KRT17 调节轴异常,这为银屑病的后续生物治疗提供了可靠靶点。缺乏银屑病原代角质形成细胞进行靶向干预及动物实验的进一步论证是本研究的不足之处,将在后续研究中进一步探讨。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献:

[1] HUGH J M, WEINBERG J M. Update on the pathophysiology of psoriasis[J]. Cutis, 2018, 102(5S): 6-12.

[2] NI X H, LAI Y P. Keratinocyte: a trigger or an executor of psoriasis? [J]. J Leukoc Biol, 2020, 108(2): 485-491. DOI: 10.1002/JLB.5MR0120-439R.

[3] LY K, SMITH M P, THIBODEAUX Q, *et al*. Anti IL-17 in psoriasis[J]. Expert Rev Clin Immunol, 2019, 15(11): 1185-1194. DOI: 10.1080/1744666X.2020.1679625.

[4] DE ALCANTARA C C, REICHE E M V, SIMÃO A N C.

Cytokines in psoriasis[J]. Adv Clin Chem, 2021, 100: 171-204. DOI: 10.1016/bs.acc.2020.04.004.
[5] LAURA M, FAILLA CRISTINA M, LORENA C, *et al*. Interleukin (IL)-17/IL-36 axis participates to the crosstalk between endothelial cells and keratinocytes during inflammatory skin responses[J]. PLoS One, 2020, 15(4): e0222969.
[6] ZHANG X W, YIN M M, ZHANG L J. Keratin 6, 16 and 17-critical barrier alarmin molecules in skin wounds and psoriasis[J]. Cells, 2019, 8(8): 807. DOI: 10.3390/cells8080807.
[7] ZHANG J W, LI X, WEI J A, *et al*. Gallic acid inhibits the expression of keratin 16 and keratin 17 through Nrf2 in psoriasis-like skin disease[J]. Int Immunopharmacol, 2018, 65: 84-95. DOI: 10.1016/j.intimp.2018.09.048.
[8] JIN L, WANG G. Keratin 17: a critical player in the pathogenesis of psoriasis[J]. Med Res Rev, 2014, 34(2): 438-454. DOI: 10.1002/med.21291.
[9] YANG L T, JIN L, KE Y, *et al*. E3 ligase Trim21 ubiquitylates and stabilizes keratin 17 to induce STAT3 activation in psoriasis[J]. J Investig Dermatol, 2018, 138(12): 2568-2577. DOI: 10.1016/j.jid.2018.05.016.
[10] YANG L T, ZHANG S L, WANG G. Keratin 17 in disease pathogenesis: from cancer to dermatoses[J]. J Pathol, 2018: path.5178. DOI: 10.1002/path.5178.
[11] ZHANG S, TAN Y, YIN X Q, *et al*. Molecular mechanism of KLF4 up-regulating keratin 17 expression in keratinocytes [J] Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban 2020; 51: 797-802. DOI:10.12182/20201160503.
[12] MATTEI A L, BAILLY N, MEISSNER A. DNA methylation: a historical perspective[J]. Trends Genet, 2022, 38(7): 676-707. DOI: 10.1016/j.tig.2022.03.010.
[13] WU H J, CHANG C, LU Q J. The epigenetics of lupus erythematosus[J]. Adv Exp Med Biol, 2020, 1253: 185-207. DOI: 10.1007/978-981-15-3449-2_7.
[14] SOLTANZADEH-YAMCHI M, SHAHBAZI M, ASLANI S, *et al*. microRNA signature of regulatory T cells in health and autoimmunity[J]. Biomed Pharmacother, 2018, 100: 316-323. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.02.030.
[15] WU H J, LIAO J Y, LI Q W, *et al*. Epigenetics as biomarkers in autoimmune diseases[J]. Clin Immunol, 2018, 196: 34-39. DOI: 10.1016/j.clim.2018.03.011.
[16] ADITI C, SWAPAN S, SUDIPTA R, *et al*. Epigenome-wide DNA methylation regulates cardinal pathological features of psoriasis[J]. Clin Epigenetics, 2018, 10(1): 108.
[17] LIU Y, CUI S N, SUN J Y, *et al*. Identification of potential biomarkers for psoriasis by DNA methylation and gene expression datasets[J]. Front Genet, 2021, 12: 722803. DOI: 10.3389/fgene.2021.722803.
[18] LUO Y, QU K S, KUAI L, *et al*. Epigenetics in psoriasis: perspective of DNA methylation[J]. Mol Genet Genom, 2021, 296(5): 1027-1040. DOI: 10.1007/s00438-021-01804-y.
[19] ALLEGRA A, OZREN B. Enhancer DNA methylation: implications for gene regulation[J]. Essays Biochem, 2019, 63(6): 707-715.
[20] EDWARDS J R, YARYCHKIVSKA O, BOULARD M, *et al*. DNA methylation and DNA methyltransferases[J]. Epigenetics Chromatin, 2017, 10: 23. DOI: 10.1186/s13072-017-0130-8.
[21] ATSUSHI O, EDAHÍ G A, JERRY L C W, *et al*. Roles of TET and TDG in DNA demethylation in proliferating and non-proliferating immune cells[J]. Genome Biol, 2021, 22(1): 186.
[22] ROSS S E, BOGDANOVIC O. TET enzymes, DNA demethylation and pluripotency[J]. Biochem Soc Trans, 2019, 47(3): 875-885. DOI: 10.1042/BST20180606.
[23] PARK G T, HAN J, PARK S G, *et al*. DNA methylation analysis of CD4+ T cells in patients with psoriasis[J]. Arch Dermatol Res, 2014, 306(3): 259-268. DOI: 10.1007/s00403-013-1432-8.
[24] LING S Q, XU B L, LUO Y, *et al*. Transglutaminase 3 attenuates skin inflammation in psoriasis by inhibiting NF-κB activation through phosphorylated STAT3-TET3 signaling [J]. J Invest Dermatol, 2022, 142(11): 2968-2977.e10. DOI: 10.1016/j.jid.2022.03.035.
[25] HE Z H, HE J, XIE K P. KLF4 transcription factor in tumorigenesis[J]. Cell Death Discov, 2023, 9(1): 1-13. DOI: 10.1038/s41420-023-01416-y.
[26] GHALEB A M, YANG V W. Krüppel-like factor 4 (KLF4): what we currently know[J]. Gene, 2017, 611: 27-37. DOI: 10.1016/j.gene.2017.02.025.
[27] FEINBERG M W, CAO Z X, WARA A K, *et al*. Kruppel-like factor 4 is a mediator of proinflammatory signaling in macrophages[J]. J Biol Chem, 2005, 280(46): 38247-38258. DOI: 10.1074/jbc.m509378200.
[28] TANG X Y, TIAN X Y, ZHANG Y, *et al*. Correlation between the frequency of Th17 cell and the expression of microRNA-206 in patients with dermatomyositis[J]. Clin Dev Immunol, 2013, 2013: 345347. DOI: 10.1155/2013/345347.
[29] CHOI S, LEE K, JUNG H, *et al*. Kruppel-like factor 4 positively regulates autoimmune arthritis in mouse models and rheumatoid arthritis in patients *via* modulating cell survival and inflammation factors of fibroblast-like synoviocyte[J]. Front Immunol, 2018, 9: 1339. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01339.

(**收稿**:2023-02-01;**修回**:2023-08-23)
(编辑 邓强庭)