基础研究 DOI：10.13406/j.cnki.cyxb.003630

过表达miR-31及其下游靶基因Sfn、SuFu在银屑病动物模型中的作用

景志杰，付明阳，王春芳
（山西医科大学实验动物中心/实验动物与人类疾病动物模型山西省重点实验室，太原 030001）

【摘 要】目的：研究内在过表达miR-31及其下游靶基因Sfn、SuFu在咪喹莫特诱导的小鼠银屑病模型发生发展中的作用。**方法：**从文献及PubMed收集与银屑病相关基因，使用Target Scan Human数据库预测miR-31靶基因。使用咪喹莫特乳膏对野生型FVB小鼠和miR-31转基因小鼠进行银屑病造模，每日采集造模小鼠背部变化图像，随后使用PASI评分评价小鼠银屑病样情况。HE染色观察组织形态学变化。取0 d、3 d、7 d模型小鼠的背部皮肤，随后进行RT-PCR检测miR-31及其下游靶基因mRNAs的表达，筛选出2个miR-31靶基因，并对筛选靶基因进行免疫荧光及Western blot检测分析。**结果：**Target Scan Human数据库预测出8个miR-31下游靶基因，经荧光定量PCR筛选出2个与银屑病相关靶基因Sfn、SuFu。咪喹莫特诱导小鼠产生银屑病样症状，表现为背部出现红斑、银白鳞屑，表皮增厚等，实验结果显示miR-31实验组较野生型FVB实验组银屑病样症状轻，HE染色切片同样证实此情况。RT-PCR检测3 d、7 d时miR-31，Sfn和SuFu的表达，结果显示野生型FVB小鼠miR-31的表达均升高，而miR-31转基因小鼠miR-31的表达却降低，其靶基因Sfn、SuFu均出现相反情况，免疫荧光及western blot结果均与PCR结果一致。**结论：**在银屑病动物模型中，内在过表达miR-31的皮肤，其银屑病样症状较弱，它可能联合机体内与银屑病相关的器官通过内在过表达miR-31的调控作用而减弱银屑病严重程度。Sfn、SuFu作为miR-31下游靶基因，可能在银屑病的发病过程中起抑制作用。

【关键词】微小RNA-31；银屑病；丝氨酸/苏氨酸激酶Fused抑制物；分层蛋白
【中图分类号】R758.63 **【文献标志码】**A **【收稿日期】**2023-12-01

Role of overexpression of microRNA-31 and its downstream target genes Sfn and SuFu in animal models of psoriasis

Jing Zhijie, Fu Mingyang, Wang Chunfang
(*Laboratory Animal Center of Shanxi Medical University, Shanxi Key Laboratory of Experimental Animals and Animal Models for Human Diseases*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the role of intrinsic overexpression of microRNA-31 (miR-31) and its downstream target genes Stratifin (Sfn) and Suppressor of Fused (SuFu) in the development and progression of psoriasis induced by imiquimod (IMQ) in a mouse model. ***Methods*:** The literature and PubMed were searched to identify the genes associated with psoriasis, and Target Scan Human database was used to predict the target genes of miR-31. IMQ cream was used to induce psoriasis in wild-type FVB mice and miR-31 transgenic mice; images of the dorsal skin were collected from these model mice daily, and the PASI score was used to evaluate the severity of psoriasis. HE staining was used to observe histomorphological changes. The dorsal skin of the mice was collected on days 0, 3, and 7, and RT-PCR was used to measure the mRNA expression levels of miR-31 and its downstream target genes. Two target genes were identified and analyzed by immunofluorescence assay and Western blot. ***Results*:** The Target Scan Human database predicted eight downstream target genes of miR-31, and quantitative real-time PCR obtained two target genes associated with psoriasis, i.e., Sfn and SuFu. IMQ induced psoriasis-like symptoms in mice, including erythema, scales, and epidermal thickening of the dorsal skin. The experimental results showed that the miR-31 experimental group had milder psoriatic symptoms than the wild-type FVB experimental group, which was confirmed by HE staining. RT-PCR was used to measure the expression levels of miR-31, Sfn, and SuFu on days 3 and 7, and the results showed an increase in the expression of miR-31 in wild-type FVB mice and a reduction in miR-31 transgenic mice, while the expression levels of its target genes

作者介绍：景志杰，Email：jzhijie001@126.com，研究方向：实验动物学。
通信作者：王春芳，Email：wangchunfang@sxmu.edu.cn。
基金项目：中央引导地方科技发展资金资助项目（编号：YDZJSX2022A056）。
优先出版：https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20241119.1549.002（2024-11-20）

Sfn and SuFu showed opposite changes. The results of immunofluorescence assay and Western blot results were consistent with the results of PCR. ***Conclusion***: In the animal model of psoriasis, there are weak psoriatic symptoms in the skin with intrinsic overexpression of miR-31, and it may reduce the severity of psoriasis in combination with the organs associated with psoriasis in the body through the intrinsic overexpression of miR-31. Sfn and SuFu are the downstream target genes of miR-31 and may play an inhibitory role in the pathogenesis of psoriasis.

【Key words】microRNA-31; psoriasis; suppressor of Fused; Stratifin

银屑病是一种慢性复发性炎症性皮肤病，临床表现为皮肤红斑、大量银白色鳞屑覆盖及表皮增厚，病理表现为表皮异常增生伴随颗粒层的消失、角质形成细胞的异常分化及大量炎性细胞浸润等[1-2]。目前尚无有效治疗银屑病的药物和方法。近年来随着对microRNAs（miRNAs）研究的不断发展，越来越多的miRNAs在银屑病中被发现[3]。MiRNAs是一类非编码单链小分子RNA，通过与靶mRNA完全或不完全结合，使其降解或抑制其转录，从而在转录后水平调控基因的表达[4]。MiRNAs在调节个体生长发育，细胞增殖、分化、凋亡及包括肿瘤在内的多种疾病的发生、发展中发挥重要作用。有研究使用基因芯片技术筛选银屑病皮损组织与健康人皮肤组织差异性表达的miRNAs，结果显示miR-31表达上调且最为明显[5]。但究竟是过表达的miR-31引起银屑病的发生，还是机体因银屑病的发展而使miR-31过表达，这并不是很明确。

本课题组之前构建了miR-31转基因小鼠，且miR-31在各组织器官中稳定过表达。在此基础上，本研究使用咪喹莫特乳膏对miR-31转基因小鼠和野生型FVB小鼠进行银屑病模型的制作，并形成对比。意在研究内在过表达的miR-31在银屑病的发生发展过程中所起的作用。为了进一步研究miR-31在银屑病进程中所发挥的作用，本研究筛选出2个miR-31下游靶基因Sfn和SuFu。SuFu为Hedgehog信号通路重要的抑制因子，先前研究表明Hedgehog信号通路在银屑病中是被激活的，而此通路的激活能够诱导角质形成细胞的过度增生[6-7]。Sfn是一种具有高同源性的14-3-3蛋白家族成员，在所有真核生物体中都表达的调控分子，其参与细胞周期调控，抑制细胞进入增殖周期，阻止分裂，促进终末分化，最终诱导其凋亡[8-10]。

因此，本研究利用miR-31转基因小鼠，研究内在过表达miR-31在银屑病动物模型中所发挥的作用，探究miR-31及其靶基因Sfn、SuFu如何发挥调控作用而影响银屑病的进程。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 清洁级FVB小鼠64只，3~4个月龄，体质量25~30 g，购于山西医科大学实验动物中心[编号：SCXK（晋）2019-0004]，饲养于山西医科大学实验动物中心屏障环境中[编号：SYXK（晋）2019-0007]，饲养期间给予小鼠标准饲料及洁净饮用水（均由山西医科大学实验动物中心提供）。实验小鼠的饲养过程和其他实验操作均符合实验动物伦理学要求以及中华人民共和国《实验动物管理条例》饲养环境：昼夜各半交替，湿度恒定，温度20~25 ℃。本研究得到山西医科大学实验动物伦理委员会的审查批准（伦理审批号：KQDW-2022-007）。采用随机分组方式分别将miR-31转基因小鼠（n=32）和野生型FVB小鼠（n=32）分为0 d（n=8），3 d（n=12），7 d（n=12），实验分组见表1。

表1 实验分组信息

组别	0 d	3 d	7 d
miR-31TG	8	12	12
WT FVB	8	12	12

1.1.2 实验试剂与仪器 实时荧光定量PCR系统（Thermo Fisher Scientific，美国），石蜡切片机（Leica RM 2245，德国），荧光显微镜（OLYMPUS，日本），电泳仪（Bio-Rad，美国），转膜仪（Bio-Rad，美国），高灵敏度化学发光成像系统（Bio-Rad，美国）。咪喹莫特乳膏46 mg（四川明欣药业有限责任公司），miRNA Isolation Kit（Life technologies），Trizol（Life technologies），荧光定量试剂盒（TaqMan MicroRNA Assay，ABI），一抗（Rabbit Anti-14-3-3 sigma，ab151504，abcam；Rabbit Anti-Suppressor of Fused，ab28083，abcam），二抗（FITC-Goat Anti-Rabbit IgG，BA1105，Boster；Goat Anti-Rabbit IgG，BA1054，Boster），HE染色试剂盒（G1120，Solarbio），hoechst（C0020，Solarbio）。

1.2 方法

1.2.1 收集基因 预测miR-31靶基因经文献阅读和PubMed收集相关基因40余个。与细胞增殖相关：IRF-4、PAK1、CD47；与细胞分化相关：Sfn、SuFu、RUNX3；与调控转录相关：c/EBPα、KGF等。每个基因功能多样，有的功能相

互交叉，然后利用Target Scan Human数据库预测miR-31靶基因。

1.2.2 银屑病模型制作 将实验组小鼠用1%的戊巴比妥钠（50 mg/kg）麻醉，用动物推毛器将小鼠背部毛发剔除，形成一个2 cm×3 cm的暴露区域，连续7 d在暴露区域涂抹5%咪喹莫特乳膏46 mg，采用数码照相的方式每天采集小鼠背部变化照片。

1.2.3 PASI评分 小鼠银屑病样皮损面积和疾病严重程度（psoriasis area and severity index，PASI）评分，依据PASI评分标准，对小鼠皮损处红斑（erythema）、鳞屑（scales）及浸润增厚程度（thickness）进行评分，然后汇总相加得到总分（cumulative scores）。对各组小鼠进行评分绘制趋势线，评估各组小鼠皮损的变化情况。PASI评分标准按照疾病严重程度分为0级（无），1级（轻度），2级（中度），3级（重度），4级（极重度）。不同的严重程度对应不同的症状，具体评分标准见表2。

表2 PASI评分标准

严重程度	症状
0无	无红斑，鳞屑、皮损褶皱
1轻度	少量红斑，出现细微鳞屑，轻微皮损褶皱
2中度	明显红斑，片状鳞屑，明显皮损褶皱
3重度	大量红斑，层状鳞屑，严重皮损褶皱
4极重度	皮损处全部红斑、层状鳞屑覆盖，极重皮损褶皱

1.2.4 miR-31和预测靶基因mRNA的表达量检测 取100 mg左右背部皮肤剪碎研磨，分别用miRNA Isolation Kit和Trizol提取miRNAs和总RNA，随后经RT-PCR检测miR-31和预测靶基因mRNA的表达，引物序列见表3。

表3 PCR引物序列

基因	引物序列	扩增片段（bp）
miR-31序列	AGGCAAGAUGCUGGCAUAGCUG	
Sfn	F：CTGAACAGGCCGAACGGTAT；R：CTTTTCCACGGCGCTCTTC	59
Sufu	F：GGGTCGCAAAGAAGCAGAAAT；R：AGCTTAGACCTAGGATATGCAGATGAG	77
β-actin	F：GTCGTACCACAGGCATTGTGATGG；R：GCAATGCCTGGGTACATGGTGG	493

成熟miR-31序列：AGGCAAGAUGCUGGCAUAGCUG。miR-31反转录反应步骤：100 nmol/L dNTP 0.15 μL、逆转录酶1 μL、10×逆转录缓冲液1.5 μL、RNase抑制剂0.19 μL、无核酸酶水4.16 μL、RNA 5 μL、反转录引物3 μL，反应体系：15 μL。反应程序：16 ℃ 30 min、42 ℃ 30 min、85 ℃ 5 min。荧光定量PCR反应步骤：Taqman Small RNA Assay 1 μL、cDNA 1.33 μL、Taqman Universal PCR预混液10 μL、无核酸酶水7.67 μL，反应体系：20 μL。反应程序：50 ℃ 2 min、95 ℃ 10 min、95 ℃ 15 s、60 ℃ 1 min，后2个循环重复40次。

靶基因RT反应步骤：RNA 1 μL、oligo（dt）引物1 μL、Rnase free water 4 μL，70 ℃ 10 min后冰上急冷2 min以上。模板引物变性溶液6 μL、5×M-MLV缓冲液2 μL、dNTP预混液0.5 μL、Rnase抑制剂0.25 μL、M-MLV逆转录酶0.25 μL、无核酸酶水1 μL，反应体系：10 μL。反应程序：42 ℃ 1 h、70 ℃ 15 min。荧光定量PCR反应步骤：SBRY Green 10 μL、引物0.6 μL、cDNA 1 μL、无核酸酶水8.4 μL，反应体系：20 μL。反应程序：50 ℃ 2 min、95 ℃ 10 min、95 ℃ 15 s、60 ℃ 1 min，后2个循环重复40次。

1.2.5 HE染色及免疫荧光染色 皮肤取材后立即置于4%多聚甲醛进行固定，常规步骤脱水包埋。将包埋好的蜡块置于切片机上，5 μm厚度连续切片，经展片、捞片、烘片后待用。HE染色：切片脱蜡，苏木精3 min，蒸馏水冲洗，分化液30 s，蒸馏水浸泡15 min，伊红染液2 min，蒸馏水冲洗，常规脱水透明，中性树脂封片后镜下观察。免疫荧光染色：切片脱蜡后进行抗原热修复，7%山羊血清室温封闭30 min，一抗4 ℃过夜孵育，PBS清洗后二抗室温避光孵育2 h，hoechst复染后荧光显微镜下观察。

1.2.6 Western blot 100 mg皮肤组织加入增强型RIPA裂解液和1% PMSF冰上充分研磨，4 ℃、12 000 r/min离心20 min后分装收集蛋白，经BCA蛋白浓度测定后-80 ℃保存待用。依蛋白分子量配置适宜的分离胶和5%的浓缩胶，依各组蛋白浓度20 μg等质量上样，按marker条带切下目的条带，转膜1 h，5%脱脂奶粉室温封闭1 h，适宜浓度一抗4 ℃孵育过夜，TBST清洗后适宜浓度二抗室温孵育2 h，TBST清洗后拍照保存。

1.3 统计学方法

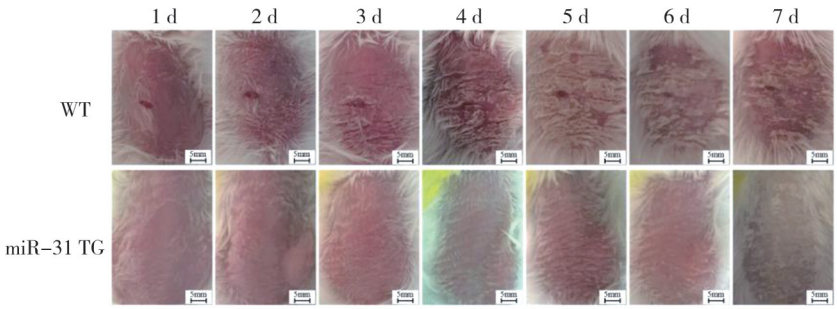
所得数据采用SPSS 13.0统计软件和GraphPad Prism 6软件处理。在经过正态性检验及方差齐性验证之后，满足正态分布和方差齐的计量资料以均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示。2组组间比较采用独立样本t检验分析；多组间比较采用单因素方差分析，进一步两两比较采用LSD-t检验；组内不同时间点比较进行重复测量资料的方差分析。检验水准α=0.05。

2 结 果

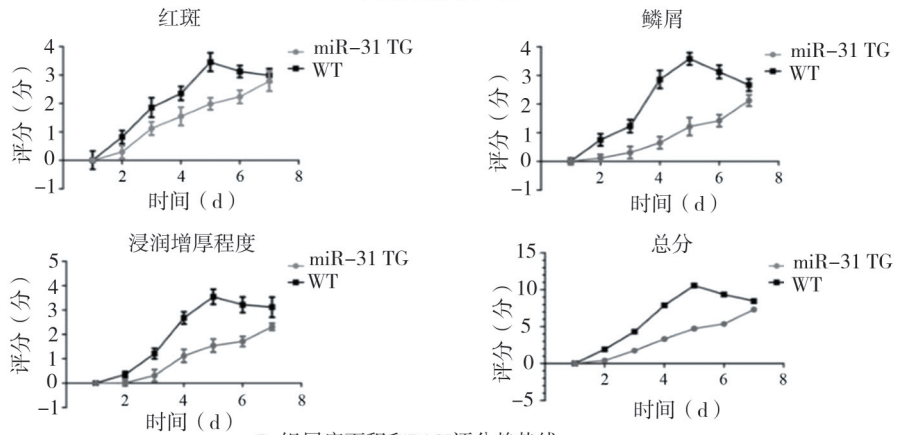
2.1 小鼠银屑病动物模型皮损形态学变化及PASI评分

咪喹莫特诱导小鼠产生银屑病样症状。一般从第3天开始出现少量红斑、细微银白鳞屑、轻微皮损褶皱，随后症状逐渐加重，连续涂药5~8 d（默认第7天为最严重时期）出现明显银屑病样症状，此后鳞屑开始脱落，症状减弱。依图可见野生型FVB实验组小鼠第3天出现银屑病样症状，第4天出现片状银白鳞屑，第5天达到最严重期，可见层状银白色鳞屑覆盖，随着时间的推移，鳞屑脱落，症状减弱。MiR-31转基因小鼠第3天同样出现银屑病样症状，但较普通FVB小鼠较轻，随着时间的推移，银白鳞屑少量增加、轻微皮损褶皱，但不及普通FVB小鼠的银屑病症状（图1A）。PASI评分

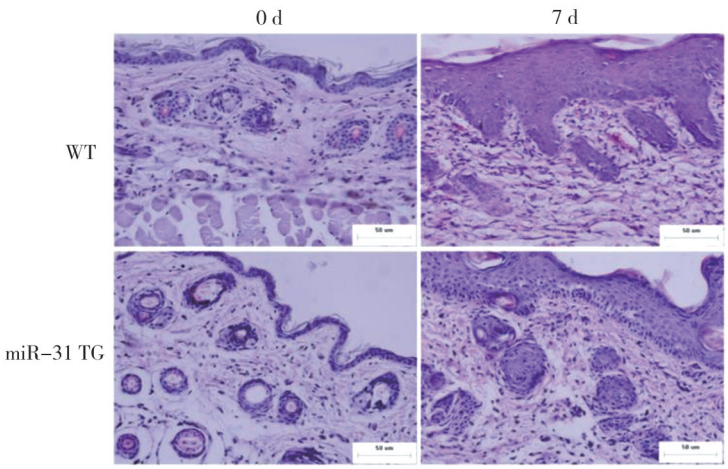
趋势线同样反映出2组实验小鼠皮损变化对比情况（图1B）。HE染色切片显示，第0天实验组小鼠皮肤表皮及细胞形态正常，2组并无差异。第7天时，野生型FVB实验组小鼠表皮层明显增厚，基底层角化细胞异常增生，膜脊延长，真皮层毛细血管扩张、炎性细胞浸润；miR-31转基因小鼠症状则相对较轻（图1C）。另外在第7天时，本研究解剖发现与空白对照组相比，实验组中两组小鼠脾脏均明显淤血肿大，而且症状越严重的野生型FVB小鼠，脾脏淤血肿大程度越重（图1D）。说明银屑病的进展不仅会引起表皮症状，还会累及脾脏等其他器官。



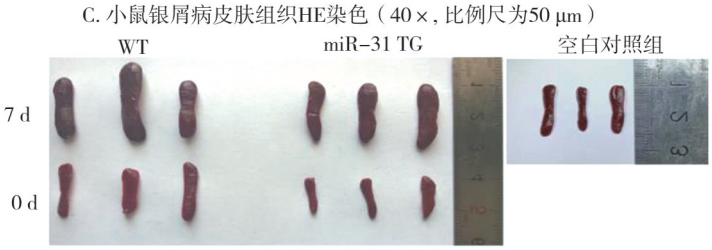
A. 小鼠银屑病模型图



B. 银屑病面积和PASI评分趋势线



C. 小鼠银屑病皮肤组织HE染色（40×，比例尺为50 μm）



D. 小鼠银屑病脾脏形态

图1　小鼠银屑病动物模型及皮损形态学变化

2.2 筛选Sfn、SuFu

Taget Scan Human数据库预测出8个miR-31靶基因*Bcl-XL*、*cebpα*、*Xiap*、*Irf4*、*Sfn*、*SuFu*、*Tnip1*、*Pak1*（图3A）。荧光定量PCR结果显示，造模7 d时，野生型FVB小鼠miR-31的表达升高，而miR-31转基因小鼠miR-31的表达则降低（图2B）。依据miRNA与靶基因的表达关系，Bcl-XL、cebpα、Irf4、Pak1、Sfn、SuFu符合miR-31下游靶基因变化趋势（图2C）。经文献阅读及基因功能分析，挑选出*Sfn*（F=17.108，P=0.014）、*SuFu*（F=12.395，P=0.024）2个下游靶基因做进一步研究（图2A）。

2.3 miR-31、Sfn、SuFu在银屑病进程中的动态变化

为了更好地研究miR-31、Sfn、SuFu在银屑病中的动态变化情况，本研究在银屑病造模过程中取第3天（刚出现银屑病症状）皮肤进行检测。RT-PCR结果显示，第3天时，野生型FVB小鼠miR-31的表达最高（图3A），Sfn、SuFu的表达均降低（图3B）；miR-31转基因小鼠miR-31的表达最低（图3A），Sfn、SuFu的表达均升高（图3B）。总体来说在银屑病样症状开始出现到最严重时期这个时间段，普通FVB小鼠miR-31的表达升高（F=19.594，P=0.011），而miR-31转基因小鼠miR-31的表达则降低（F=32.260，P=0.005），Sfn和SuFu的表达均符合靶基因变化趋势。

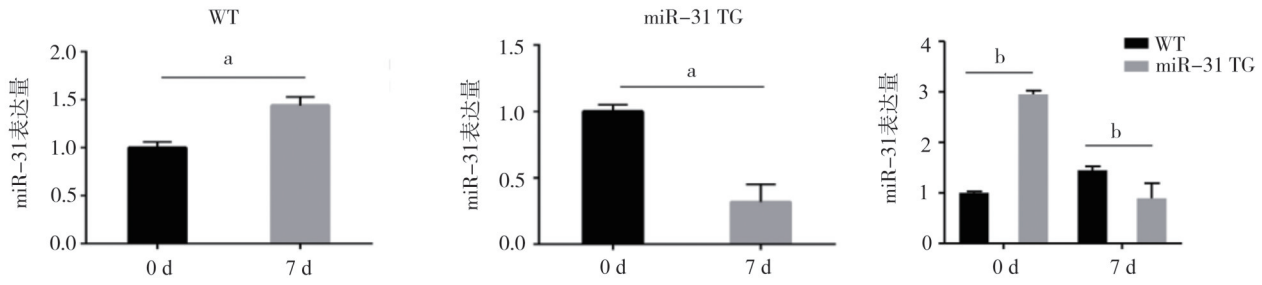
2.4 2组之间miR-31、Sfn、SuFu对比

综上结果表明，野生型FVB小鼠银屑病症状重于miR-31转基因小鼠，miR-31的表达量影响着银屑病的严重程度。为了更好地说明2个实验组的疾病变化情况，在0 d、3 d、7 d时，本研究将miR-31、Sfn、SuFu的表达进行组间对比。从结果可以看出，0 d时，miR-31转基因小鼠miR-31的表达明显高于野生型FVB小鼠（F=54.431，P=0.002），3 d、7 d时，miR-31转基因小鼠miR-31的表达低于野生型FVB小鼠，Sfn、SuFu的表达则与之相反（图4A）。免疫荧光结果显示，在银屑病症状最严重时期，野生型FVB小鼠表皮层增厚明显，角质形成细胞增生异常，但基底层下Sfn、SuFu阳性细胞明显少于miR-31转基因小鼠（图4B），Western blot结果（图4C）与荧光定量PCR结果一致。

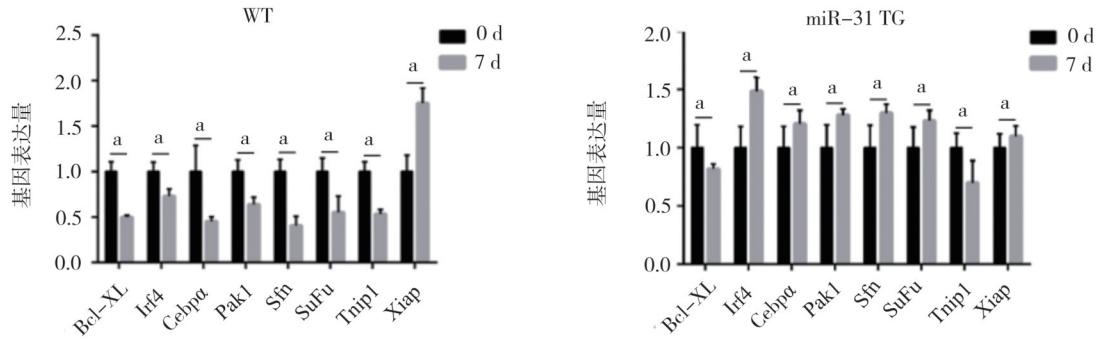
	Predicted consequential pairing of target region (top) and miRNA (bottom)	Site type	Context++ score	Context++ score percentile	Weighted context++ score	Conserved branch length	P_{CT}	Predicted relative K_D
Position 274-280 of SFN 3' UTR hsa-miR-31-5p	5' ...CUACUUCUCCCCUCCUCUUGCCU... 3' UCGAUACGGUCGUAGAACGGA	7mer-m8	-0.22	88	-0.22	0.385	< 0.1	-3.066

	Predicted consequential pairing of target region (top) and miRNA (bottom)	Site type	Context++ score	Context++ score percentile	Weighted context++ score	Conserved branch length	P_{CT}	Predicted relative K_D
Position 3247-3253 of SUFU 3' UTR hsa-miR-31-5p	5' ...UAGAUGUCGUUUCCUUCUUGCCC... 3' UCGAUACGGUCGUAGAACGGA	7mer-m8	-0.18	81	-0.10	2.016	0.23	-3.025

A. Taget Scan Human数据库预测的miR-31的靶基因



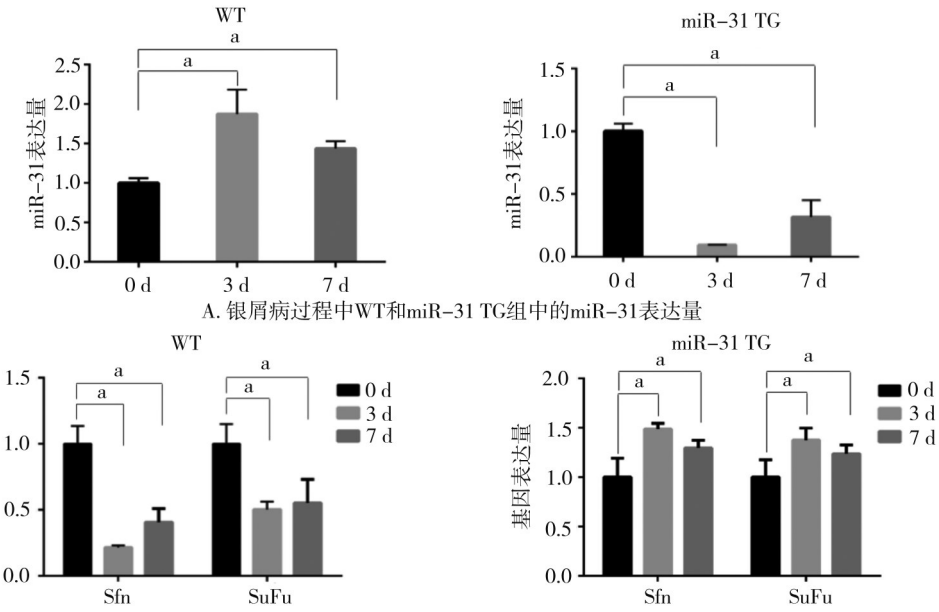
B. 银屑病过程中WT和miR-31 TG组miR-31表达量变化



C. WT和miR-31 TG的基因相对表达量

注：a，与0 d组比较，P < 0.05；b，与WT组比较，P<0.05

图2 银屑病过程miR-31和预测靶基因的表达量（n=6）

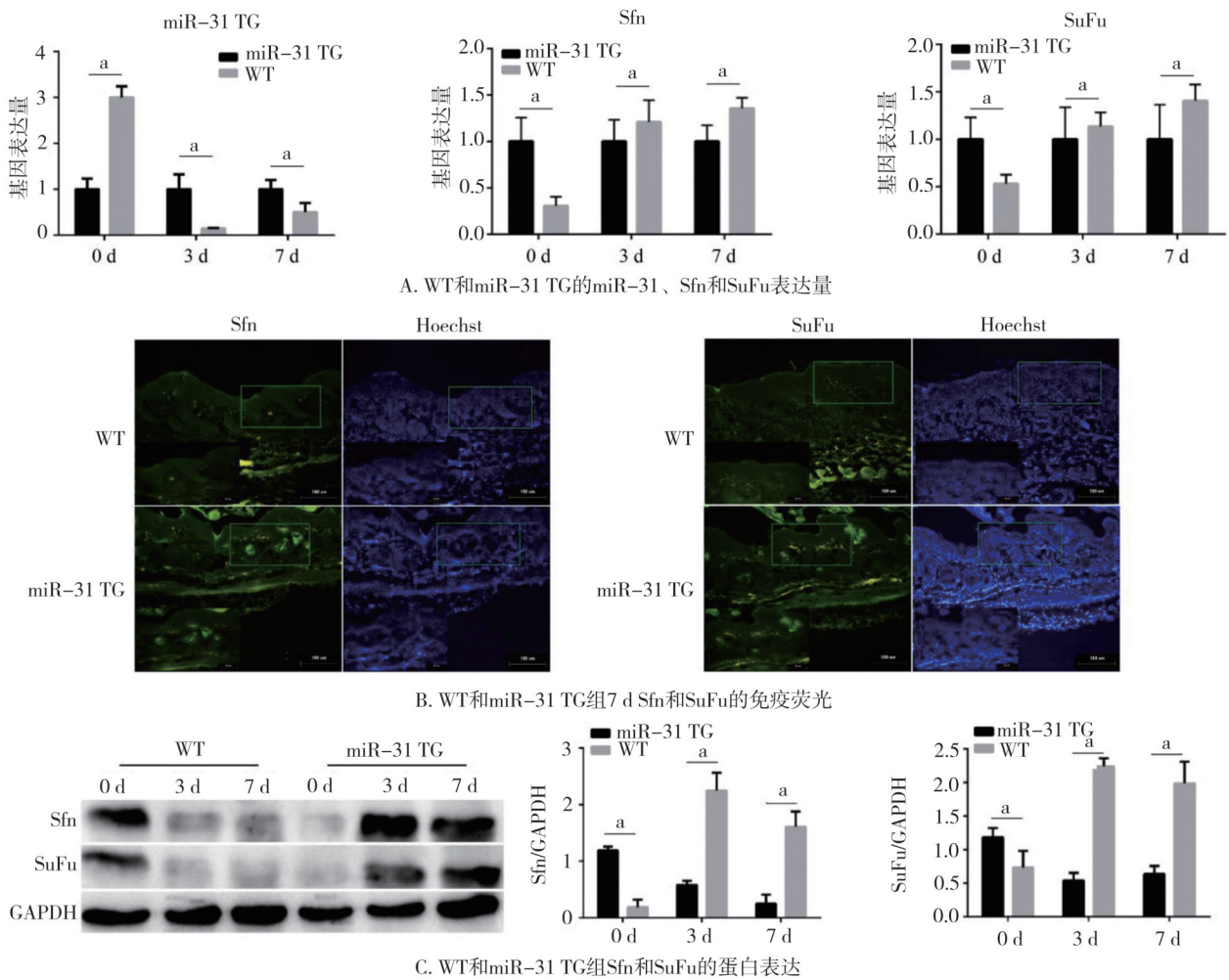


A. 银屑病过程中WT和miR-31 TG组中的miR-31表达量

B. 银屑病过程中WT和miR-31 TG组中的Sfn和SuFu基因表达量

注：a，与0 d组比较，$P<0.05$

图3　银屑病过程miR-31、Sfn和SuFu基因表达量（$n=6$）



A. WT和miR-31 TG的miR-31、Sfn和SuFu表达量

B. WT和miR-31 TG组7 d Sfn和SuFu的免疫荧光

C. WT和miR-31 TG组Sfn和SuFu的蛋白表达

注：a，与WT组比较，$P<0.05$

图4　miR-31对Sfn和SuFu的表达的影响（$n=6$）

3 讨 论

银屑病是临床上常见的一种慢性复发性炎症性皮肤病，对于银屑病发病机制的研究也一直是研究重点，但到目前为止，其发病机制尚未明确。目前认为银屑病是由多种因素相互作用而形成的一种多基因遗传病[2]，其中遗传因素、环境因素和免疫因素起主要作用。在银屑病发生发展的过程中，多种细胞（角质形成细胞、免疫细胞、血管内皮细胞等）、趋化因子、细胞因子、多条细胞内传导通路共同参与[11]，因此形成了银屑病的疾病复杂性。

近年来，miRNAs 成为研究热点，随着研究的不断深入，发现多种 miRNAs 在皮肤的生理病理过程中都发挥着非常重要的作用。MiR-31 在银屑病皮损组织中表达异常已经得到证实，这也意味着 miR-31 可能与银屑病的发生发展有着密切关系。Xu N 等[12]证实在银屑病中，miR-31 过表达并通过调控炎症介质的产生和白细胞浸润皮肤而加重银屑病的炎症。

在已有 miR-31 转基因小鼠的基础上，本研究使用 miR-31 转基因小鼠与野生型 FVB 小鼠进行银屑病模型制作，通过对造模图片和 HE 染色切片的观察可以看出，野生型 FVB 小鼠银屑病症状重于 miR-31 转基因小鼠。荧光定量 PCR 结果显示，从银屑病开始出现到最严重这个时间段，野生型 FVB 小鼠 miR-31 的表达升高，而 miR-31 转基因小鼠 miR-31 的表达降低。但为何 miR-31 转基因小鼠在银屑病过程中出现 miR-31 表达显著降低的现象，这是本研究在实验过程中发现的有趣的现象，表明内在过表达的 miR-31 在银屑病的发生发展过程中可能会缓解银屑病的严重程度。另外本研究在取材时发现，造模小鼠的脾脏、肝脏等出现明显的淤血肿大现象，尤其脾脏肿大增厚，颜色加深，这说明银屑病的症状不仅仅是表现在皮肤的单一情况。Balato N 等[13]认为 IL-1β，IL-6，C-reactive protein，E-selectin，TNF-α 等血清炎症标记物的升高使银屑病从皮肤性疾病上升为系统性疾病。银屑病并发银屑病性关节炎、炎症性肠道疾病、心脏代谢紊乱、高血压、糖尿病、脂肪肝等疾病也都有报道[14-17]。Balato N 等[13]认为银屑病中脾脏体积的增大并不是一种并发症，而是免疫系统对慢性炎症状态的一种应答。而脾脏是人体最大的淋巴器官，在机体免疫功能中起非常重要作用。Dai RJ 等[18]认为 miR-31 在系统性红斑狼疮模型的脾脏细胞中过表达。而银屑病和系统性红斑狼疮的发病都与自身免疫功能紊乱、遗传等诸多因素有关。所以，脾脏可能在银屑病等自身免疫性炎症性疾病中起到重要作用。结合本研究实验结果，本研究推测皮肤联合脾脏内在过表达 miR-31 会对银屑病的症状起到抑制作用。这说明银屑病的发生发展会引起受累组织器官的 miR-31 过表达，但若受累器官内在过表达 miR-31 可能会因其调控而减弱疾病的严重程度。

既然内在过表达的 miR-31 会减弱银屑病的严重程度，那么 miR-31 是怎样发挥其调控作用？经过对其靶基因 Sfn、SuFu 的检测分析。Sfn 作为一种细胞周期的调控分子，能够抑制细胞增殖，Sfn 蛋白的表达受多方面调控，p53 是 Sfn 基因的主要调控因子，去磷酸化的 p53 可激活 Sfn 的表达，进而抑制细胞有丝分裂。此外，Sfn 的激活可发挥其正反馈作用，增加 p53 稳定性和转录活性[19]。P53 作为一种磷蛋白，表明其具有转录因子样性质[20-21]。P53 的免疫反应性已经在多种免疫性皮肤病中被发现，比如：银屑病、慢性皮炎、红斑狼疮等[22]。Moorchung N 等[23]认为 p53 在银屑病中扮演者重要角色。结合荧光定量 PCR 实验结果，在两组银屑病模型中，Sfn 在野生型 FVB 小鼠中低表达，在 miR-31 转基因小鼠中过表达，结合银屑病造模图片可知，Sfn 过表达可减轻银屑病症状。SuFu 为 Hedgehog 信号通路重要的抑制因子，它通过降解 Hh 通路配体而发挥抑制作用。Shh 是皮肤中主要的 Hh 配体[24]，Shh 能促进角质形成细胞的增殖、迁移，抑制其凋亡，Hh 信号通路通过其配体 Shh 的激活在银屑病中发挥作用[25-26]。结合荧光定量 PCR 实验结果，SuFu 同样在野生型 FVB 小鼠中低表达，在 miR-31 转基因小鼠中过表达，过表达的 SuFu 通过降解 Shh 而抑制 Hh 信号通路的激活，从而抑制角质形成细胞的过度增殖，减轻银屑病症状，这与造模图片结果相符。因此，通过对 miR-31 及其下游靶基因 Sfn、SuFu 的检测分析。本研究认为 miR-31 可能通过调控 Sfn 或 SuFu 这两条通路，在减轻银屑病症状方面发挥作用。

综上所述，过表达的 miR-31 会减弱银屑病症状，而通过动物实验发现，内在过表达 miR-31 的转基因小鼠银屑病症状反而较野生型 FVB 小鼠弱，经过检测发现，miR-31 转基因小鼠 miR-31 的表达是

明显降低的，在实验过程中，本研究还发现脾脏淤血肿大明显，这说明银屑病是一种系统性疾病。所以本研究推测，皮肤联合脾脏内在过表达 miR-31 可能会减弱银屑病严重程度，miR-31 的调控作用不仅仅作用在皮肤，联合的调控作用也是系统性疾病应该考虑的方向。作为 miR-31 下游靶基因，Sfn、SuFu 同样在 miR-31 转基因小鼠皮肤中过表达并可减弱银屑病的严重程度，但 miR-31、Sfn 和 SuFu 究竟如何调控银屑病的发生发展，还需进一步研究。本实验通过对内在过表达的 miR-31 在银屑病发生发展过程中的研究，发现在系统性疾病中，全面考虑与疾病相关的组织器官，可能会为疾病的发病机制研究和治疗提供新的方向。

参 考 文 献

[1] Schön MP, Boehncke WH. Psoriasis[J]. N Engl J Med, 2005, 352(18): 1899-1912.

[2] Lowes MA, Bowcock AM, Krueger JG. Pathogenesis and therapy of psoriasis[J]. Nature, 2007, 445(7130): 866-873.

[3] Xia J, Joyce CE, Bowcock AM, et al. Noncanonical microRNAs and endogenous siRNAs in normal and psoriatic human skin[J]. Hum Mol Genet, 2013, 22(4): 737-748.

[4] Fabian MR, Sonenberg N, Filipowicz W. Regulation of mRNA translation and stability by microRNAs[J]. Annu Rev Biochem, 2010, 79: 351-379.

[5] 唐雪勇. 银屑病皮损组织中 miRNA 的差异表达分析及竹黄颗粒剂对其的干预作用[D]. 长沙：湖南中医药大学，2012.
Tang XY. Study on the Differential Exppession of MiRNA in Psoriatic Skin and the Intervention Effects of ZhuHuang Granule[D]. Changsha: Hunan University of Chinese Medicine, 2012.

[6] Endo H, Momota Y, Oikawa A, et al. Psoriatic skin expresses the transcription factor Gli1: possible contribution of decreased neurofibromin expression[J]. Br J Dermatol, 2006, 154(4): 619-623.

[7] Fan H, Khavari PA. Sonic hedgehog opposes epithelial cell cycle arrest[J]. J Cell Biol, 1999, 147(1): 71-76.

[8] Hermeking H, Benzinger A. 14-3-3 proteins in cell cycle regulation[J]. Semin Cancer Biol, 2006, 16(3): 183-192.

[9] Conklin DS, Galaktionov K, Beach D. 14-3-3 proteins associate with cdc25 phosphatases[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1995, 92(17): 7892-7896.

[10] Laronga C, Yang HY, Neal C, et al. Association of the cyclin-dependent kinases and 14-3-3 sigma negatively regulates cell cycle progression[J]. J Biol Chem, 2000, 275(30): 23106-23112.

[11] Sabat R, Sterry W, Philipp S, et al. Three decades of psoriasis research: where has it led us?[J]. Clin Dermatol, 2007, 25(6): 504-509.

[12] Xu N, Meisgen F, Butler LM, et al. MicroRNA-31 is overexpressed in psoriasis and modulates inflammatory cytokine and chemokine production in keratinocytes via targeting serine/threonine kinase 40 [J]. J Immunol, 2013, 190(2): 678-688.

[13] Balato N, Napolitano M, Ayala F, et al. Nonalcoholic fatty liver disease, spleen and psoriasis: new aspects of low-grade chronic inflammation[J]. World J Gastroenterol, 2015, 21(22): 6892-6897.

[14] Dowlatshahi EA, van der Voort EA, Arends LR, et al. Markers of systemic inflammation in psoriasis: a systematic review and meta-analysis[J]. Br J Dermatol, 2013, 169(2): 266-282.

[15] Balato A, di Caprio R, Canta L, et al. IL-33 is regulated by TNF-α in normal and psoriatic skin[J]. Arch Dermatol Res, 2014, 306(3): 299-304.

[16] Ghazizadeh R, Shimizu H, Tosa M, et al. Pathogenic mechanisms shared between psoriasis and cardiovascular disease[J]. Int J Med Sci, 2010, 7(5): 284-289.

[17] Davidovici BB, Sattar N, Prinz J, et al. Psoriasis and systemic inflammatory diseases: potential mechanistic links between skin disease and co-morbid conditions[J]. J Invest Dermatol, 2010, 130(7): 1785-1796.

[18] Dai RJ, Zhang Y, Khan D, et al. Identification of a common lupus disease-associated microRNA expression pattern in three different murine models of lupus[J]. PLoS One, 2010, 5(12): e14302.

[19] Li ZM, Liu JY, Zhang JT. 14-3-3sigma, the double-edged sword of human cancers[J]. Am J Transl Res, 2009, 1(4): 326-340.

[20] Wrone-Smith T, Johnson T, Nelson B, et al. Discordant expression of Bcl-x and Bcl-2 by keratinocytes *in vitro* and psoriatic keratinocytes *in vivo*[J]. Am J Pathol, 1995, 146(5): 1079-1088.

[21] Bianchi L, Farrace MG, Nini G, et al. Abnormal Bcl-2 and "tissue" transglutaminase expression in psoriatic skin[J]. J Invest Dermatol, 1994, 103(6): 829-833.

[22] Soini Y, Kamel D, Pääkkö P, et al. Aberrant accumulation of p53 associates with Ki67 and mitotic count in benign skin lesions[J]. Br J Dermatol, 1994, 131(4): 514-520.

[23] Moorchung N, Vasudevan B, Dinesh Kumar S, et al. Expression of apoptosis regulating proteins p53 and bcl-2 in psoriasis[J]. Indian J Pathol Microbiol, 2015, 58(4): 423-426.

[24] Dahmane N, Lee J, Robins P, et al. Activation of the transcription factor Gli1 and the Sonic hedgehog signalling pathway in skin tumours [J]. Nature, 1997, 389(6653): 876-881.

[25] 曹华莉. Hedgehog 信号通路在银屑病发病中的机制研究[D]. 杭州：浙江大学，2015.
Cao HL. Role of Hedgehog Signaling Pathway in Psoriasis[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2015.

[26] Liu HY, Jian Q, Xue K, et al. The MEK/ERK signalling cascade is required for sonic hedgehog signalling pathway-mediated enhancement of proliferation and inhibition of apoptosis in normal keratinocytes [J]. Exp Dermatol, 2014, 23(12): 896-901.

（责任编辑：李青颖）