

# 卵清蛋白诱导的特应性皮炎小鼠模型中白细胞介素-25的作用及其调控意义

金江<sup>△</sup>, 陈雪, 赵琰, 贾军, 张建中  
(北京大学人民医院皮肤科, 北京 100044)

**[摘要]** **目的:**探讨白细胞介素-25(interleukin-25, IL-25)对卵清蛋白(ovalbumin, OVA)诱导的特应性皮炎小鼠模型的影响,以及调控IL-25的意义。**方法:**将90只健康雄性6周龄无特定病原体(specific pathogen free, SPF)级BALB/c小鼠分为6组(每组15只),分别为:①皮下注射磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)组(正常对照组);②皮下注射小鼠IL-25组(IL-25组);③皮下注射抗小鼠IL-25单克隆抗体组(anti-IL-25组),每日皮下注射1次×1周,间隔2周,重复每日皮下注射1次×1周,间隔2周,再重复每日皮下注射1次×1周,总共7周;④OVA致敏组(模型组);⑤OVA致敏及IL-25皮下注射组(IL-25干预致敏组);⑥OVA致敏及anti-IL-25注射组(anti-IL-25干预致敏组)。⑤⑥组在致敏过程中给予IL-25或anti-IL-25的方式同②③组。致敏期间观察比较小鼠的搔抓行为和皮肤表现,致敏结束24h后由小鼠心脏取血,分离血清,采用酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)检测总IgE、IL-4、IL-5、IL-13等。取致敏部位的皮肤进行苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色、免疫组织化学、实时PCR(real-time PCR)及Western blot检测。采用单因素(ANOVA)方差分析比较各组间各项指标的差异。**结果:**实验小鼠末次处理24h后,IL-25干预致敏组的搔抓次数高于模型组,anti-IL-25干预致敏组的搔抓行为显著低于模型组;IL-25干预致敏组特应性皮炎表现、表皮增厚及真皮炎细胞浸润程度均明显重于模型组及anti-IL-25干预致敏组;IL-25干预致敏组血清IgE、IL-4、IL-5、IL-13水平显著高于模型组及anti-IL-25干预致敏组;IL-25干预致敏组CD4<sup>+</sup>T细胞在真皮层较anti-IL-25干预致敏组显著增多;IL-25干预致敏组的丝聚蛋白(filaggrin)及防御素β2(defensin β2)蛋白水平明显低于模型组或anti-IL-25干预致敏组。**结论:**在OVA诱导的皮炎模型中,IL-25能够明显促进小鼠表皮屏障功能损害,加重OVA诱导的皮炎损害,拮抗IL-25可一定程度上缓解OVA诱导的皮炎损害。

**[关键词]** 特应性皮炎;白细胞介素-25;卵清蛋白;动物疾病模型

**[中图分类号]** R758.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1671-167X(2024)05-0756-07

**doi:**10.19723/j.issn.1671-167X.2024.05.002

## The role and its regulatory significance of interleukin-25 in ovalbumin induced atopic dermatitis of mice

JIN Jiang<sup>△</sup>, CHEN Xue, ZHAO Yan, JIA Jun, ZHANG Jianzhong  
(Department of Dermatology, Peking University People's Hospital, Beijing 100044, China)

**ABSTRACT Objective:** To investigate the effect of interleukin-25 (IL-25) on ovalbumin (OVA) induced atopic dermatitis of mice, and the significance of regulating IL-25. **Methods:** In this study, 90 healthy male 6-week-old specific pathogen free (SPF) BALB/c mice were divided into 6 groups (15 in each group): ① subcutaneous injection of phosphate buffered saline (PBS) group (normal control group); ② subcutaneous injection of mouse IL-25 group (IL-25 group); ③ subcutaneous injection of anti-mouse IL-25 monoclonal antibody (anti-IL-25 group), each group received subcutaneous injection once a day for 1 week, 2 weeks apart, repeated daily subcutaneous injections for 1 week, 2 weeks apart, and repeated daily subcutaneous injections for 1 week, for a total of 7 weeks; ④ OVA treated group (model group); ⑤ OVA treated and IL-25 subcutaneous injection group (IL-25 treated dermatitis group); ⑥ OVA treated and anti-mouse IL-25 monoclonal antibody injection group (anti-IL-25 treated dermatitis group). The ⑤ and ⑥ groups in the process of treatment with OVA, IL-25 or anti-IL-25 antibody were given in the same way as the ② and ③ groups. Scratching behavior and skin performance of the mice were recorded during the seven-week-treatment. Twenty four hours after the final treatment, blood was taken from the mouse heart, and the serum was separated to detect the total IgE, IL-4, IL-5, IL-13, etc. The skin samples of the treatment sites were used for hematoxylin-eosin (HE) staining, immunohistochemistry, real-time PCR and Western blot detections. A single factor (ANOVA) analysis of

基金项目: 国家自然科学基金(81502720) Supported by the National Natural Science Foundation of China (81502720)

△ Corresponding author's e-mail, PUPH\_Jiangjin@163.com

网络出版时间:2024-07-08 15:13:53 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4691.R.20240705.1819.006.html>

variance was used to compare the differences in various indicators between the groups. **Results:** The frequency of scratches in the IL-25 treated dermatitis group was higher than that in the model group, and the scratching behavior of the anti-IL-25 treated dermatitis group was significantly lower than that in the model group. The appearance of atopic dermatitis, thickening of the epidermis and the degree of dermal inflammation in the IL-25 treated dermatitis group were more serious than those in the model group and the anti-IL-25 treated dermatitis group. The levels of serum IgE, IL-4, IL-5, and IL-13 in the IL-25 treated dermatitis group were significantly higher than that in the model group and the anti-IL-25 treated dermatitis group. There were significantly more CD4<sup>+</sup> T cells in the dermis of IL-25 treated dermatitis group than that in the anti-IL-25 treated dermatitis group. The expression levels of filaggrin and defensin  $\beta$ 2 proteins in the IL-25 treated dermatitis group were significantly lower than those in the model group and the anti-IL-25 treated dermatitis group. **Conclusion:** In the OVA induced atopic dermatitis mice model, IL-25 can significantly promote the damage of the epidermal barrier function and aggravate the OVA-induced dermatitis. Antagonizing IL-25 can alleviate OVA induced dermatitis to a certain extent.

**KEY WORDS** Atopic dermatitis; Interleukin-25; Ovalbumin; Animal disease models

特应性皮炎是一种以剧烈瘙痒为特点的、反复发作的慢性炎症性皮肤病,儿童患病率约为15%~30%,成人患病率约为2%~10%<sup>[1]</sup>。大量研究表明,外界变应原能通过皮肤进入体内,进而引发系统性过敏反应,诱发特应性皮炎。最近的研究发现,在特应性皮炎患者的皮肤损害中,白细胞介素-25(interleukin-25, IL-25)及相应受体的mRNA和蛋白质水平均升高<sup>[2]</sup>。IL-25能够通过受体偶联的肿瘤坏死因子受体相关因子6(tumor necrosis factor receptor associated factor 6, TRAF6)介导,活化核因子 $\kappa$ B(nuclear factor kappa-B, NF- $\kappa$ B),进而诱导多种细胞因子及趋化因子的表达<sup>[3]</sup>。此外,皮肤组织中除树突状细胞和表皮角质形成细胞外,Th2细胞、肥大细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞都可以产生IL-25<sup>[4-6]</sup>。为了明确IL-25在特应性皮炎中的作用,本研究利用卵清蛋白(ovalbumin, OVA)诱导构建小鼠特应性皮炎模型<sup>[7]</sup>,同时注射IL-25或IL-25抗体,检测小鼠皮肤屏障功能的各项指标及特应性皮炎相关的血清细胞因子水平,以初步明确IL-25在特应性皮炎发病中的作用以及调控IL-25的意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料、试剂和仪器

6周龄雄性BALB/c小鼠90只,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,动物生产许可证号:SCXK(京)2016-0004;动物使用许可证号:SYXK(京)2015-0004。动物适应环境3d,室温(22±1)℃,湿度(40±10)%,光照周期12h/12h。本研究获得中研子创(北京)生物科技有限公司实验动物伦理委员会批准(批准号:20191105LL)。OVA、小鼠IL-25重组蛋白购自美国Sigma公司,小鼠IgE、IL-4、IL-5、IL-13酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒购自武汉华美生物工程有限公司,小鼠IL-25单克隆抗体

购于美国Abcam公司,辣根过氧化物酶标记山羊抗兔IgG(H+L)二抗购于北京中杉金桥生物科技公司,TRIzol购自美国Invitrogen公司,Super QuickRT cDNA第一链合成试剂盒、Ultra SYBR Mixture(with ROX)购于北京康为世纪生物科技有限公司,引物由上海生工生物工程技术有限公司设计合成,实时荧光定量PCR仪ABI7500购自美国ABI公司,兔抗小鼠CD4抗体、兔抗小鼠防御素 $\beta$ 2(defensin  $\beta$ 2)抗体购自美国Abcam公司,兔抗小鼠丝聚蛋白(filaggrin)抗体购自北京博奥森生物技术有限公司。

### 1.2 建立OVA诱导特应性皮炎动物模型

将上述90只BALB/c小鼠均分为OVA抗原诱导组(45只)和对照组(45只)。

对照组分为3个小组(每组15只),分别为:①皮下注射磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)组(正常对照组);②皮下注射小鼠IL-25(10  $\mu$ g/kg)组(IL-25组);③皮下注射抗小鼠IL-25单克隆抗体(10  $\mu$ g/kg)组(anti-IL-25组),每日皮下注射1次×1周,间隔2周,重复每日皮下注射1次×1周,间隔2周,再重复每日皮下注射1次×1周,总共7周。

OVA抗原诱导<sup>[7]</sup>的方法为:小鼠腹腔注射0.4%(质量分数)戊巴比妥钠(40 mg/kg),麻醉后以电剃刀除毛,胶带在除毛部位反复粘贴8次。将OVA以生理盐水溶解至100 g/L,取20  $\mu$ L OVA溶液加入斑试器中的滤纸片,将斑试器用绷带固定于腹部,2~3d更换斑试器,1周后取下,间隔2周重复1次,步骤同第1周,共致敏3次,总共7周。对照组中用生理盐水代替OVA溶液。

OVA抗原诱导组分为3个小组(每组15只),于抗原诱导的过程中分为:④OVA致敏组(模型组);⑤OVA致敏及IL-25皮下注射组(IL-25干预致敏组);⑥OVA致敏及anti-IL-25注射组(anti-IL-25干预致敏组);各组给药方法分别同①②③组。

### 1.3 搔抓次数的计算

于末次 OVA 诱导结束 1 h 后观察实验小鼠的搔抓行为,以小鼠搔抓 OVA 致敏部位皮肤算 1 次有效搔抓,连续搔抓 3 s 以上按照 2 次计算,并在 3 s 后人工干预使小鼠停止本次搔抓行为,计算 10 min 内的搔抓次数。

### 1.4 ELISA 测定血清 IgE、IL-4、IL-5、IL-13

末次致敏 24 h 后,由小鼠心脏取血,分离收集血清,−80 °C 保存。血清中 IgE、IL-4、IL-5、IL-13 浓度采用生物素双抗夹心酶联免疫吸附法,按照试剂盒说明书进行操作,使用 Curve v1.19 软件进行计算。

### 1.5 实时 PCR 检测皮肤中 IL-25 的 mRNA 水平

取小鼠 OVA 致敏部位的皮肤组织,大小约 0.5 cm × 0.5 cm,迅速冷冻在液氮中,然后转移至 −80 °C 保存。实验时,在液氮下研磨至粉末倒入去 RNA 酶的 EP 管中,加入 1 mL TRIzol,然后用 TRIzol 法提取总 RNA。逆转录及实时 PCR (real-time PCR) 的步骤按照试剂盒说明书进行。20 μL 反应体系,反应条件为:95 °C、30 s 预变性,95 °C、5 s 变性,55 °C、30 s 退火,72 °C、30 s 延伸,40 个循环;72 °C 延伸 2 min。每个样品设立 3 个复孔,取平均 Ct 值,以 GAPDH 为内参,通过  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  计算 IL-25 的 mRNA 的相对表达量。

### 1.6 皮肤组织病理及免疫组织化学染色

取小鼠腹部皮肤组织(OVA 致敏组取变应原接触部位皮肤,非致敏组取相应部位的腹部皮肤),大小约 1.0 cm × 0.5 cm,以 10% (体积分数) 甲醛溶液固定,常规石蜡包埋、切片、苏木精-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色。将组织切片在 65 °C 烤箱烘烤约 1.5 h,冷却后脱蜡处理,然后放入盛有抗原修复液的容器中加热到 95 °C,维持 15 min, PBS 冲洗 3 次,5 min/次,加入兔抗小鼠 CD4 抗体 (1 : 250), 4 °C 过夜, PBS 冲洗 3 次,5 min/次,然后加山羊抗兔 IgG 工作液 (1 : 1 000), 室温、避光 40 min。采用链霉卵白素-过氧化物酶法染色,按试剂盒说明书操作,显色剂显色后,以滤纸吸干,苏木精复染 30 s,盐酸乙醇分化,中性树胶封片,显微镜下观察,使用 Image J 软件分析处理图片。

### 1.7 Western blot 检测 filaggrin 和 defensin β2 蛋白

切取约 50 mg OVA 致敏部位的皮肤组织,加入裂解液进行组织匀浆,提取蛋白质。蛋白液经定量后进行 SDS-PAGE 电泳及转膜, PVDF 膜用 5% (质量分数) 脱脂奶粉-TBST 封闭 2 h 后,经 TBST 漂洗后,加一抗 4 °C 孵育过夜,室温下以 TBST 洗 3 次,加入辣根过氧化物酶 (horseradish peroxidase, HRP)

标记的二抗室温孵育 2 h,室温下 TBST 洗 3 次, ECL 发光,显影曝光。

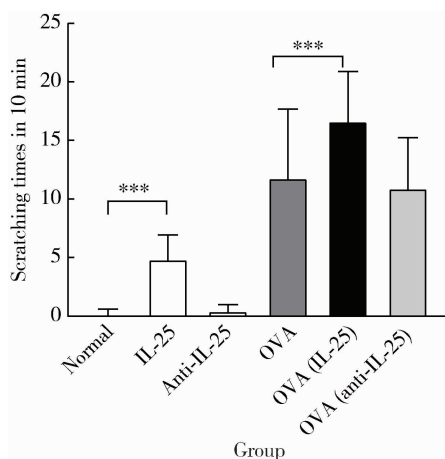
### 1.8 统计学分析

采用 SPSS 20.0 软件分析,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组之间的比较采用独立样本 *t* 检验,多组间两两比较采用单因素方差分析 (LSD 法),以  $\alpha = 0.05$  为检验水准,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 皮肤组织病理及小鼠搔抓次数

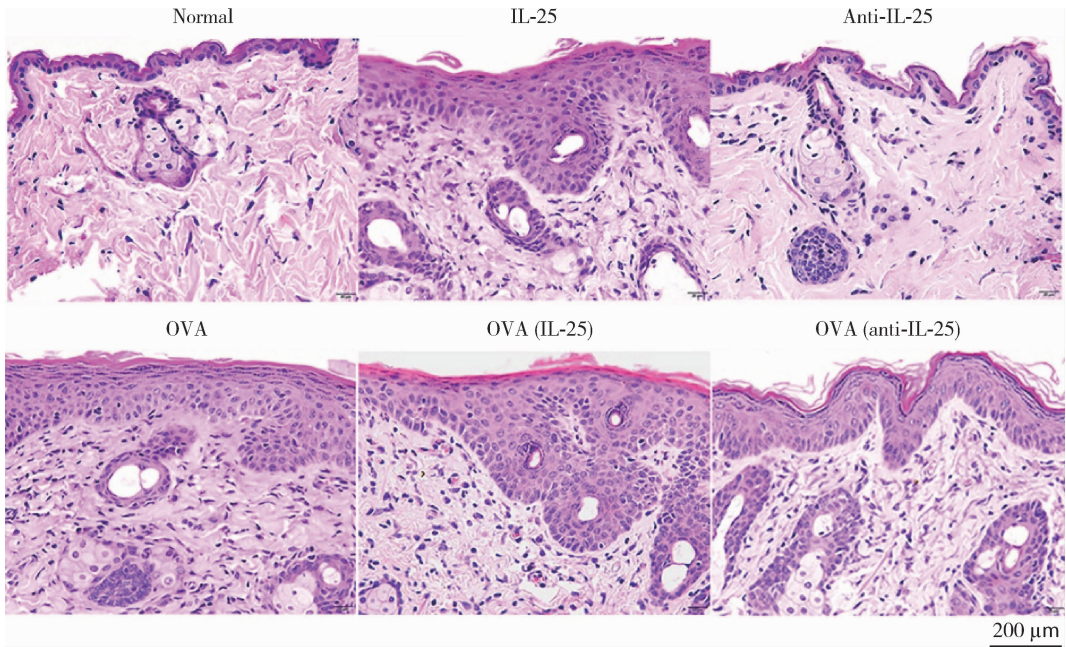
小鼠经 OVA 致敏后,肉眼观察致敏部位皮肤出现肿胀、抓破、糜烂等表现,触摸有肥厚、浸润感,未经 OVA 致敏的小鼠皮肤未见明显异常。小鼠搔抓次数结果显示,IL-25 组的搔抓次数明显大于正常对照组 ( $P < 0.001$ ,  $F = 54.196$ , 图 1), IL-25 干预致敏组显著高于模型组 ( $P < 0.001$ ,  $F = 54.196$ ), 而 anti-IL-25 干预致敏组与模型组相比,搔抓次数有所降低,但差异无统计学意义 (图 1)。组织病理学检查发现,正常对照组及 anti-IL-25 组小鼠腹部皮肤组织的显微镜下结构基本正常 (图 2), 模型组及 IL-25 干预致敏组小鼠腹部皮肤组织可见角化过度伴角化不全、棘层增厚、海绵水肿、真皮浅层有淋巴细胞为主的炎细胞浸润等特应性皮炎样改变 (图 2)。IL-25 组也出现角化过度 and 棘层增厚等现象,而 anti-IL-25 干预致敏组表皮厚度的增加程度较模型组减轻。以上结果提示,无论有无外界抗原诱导的皮炎发生,IL-25 过表达均可增加表皮厚度,并导致小鼠瘙痒程度增加,而抗 IL-25 抗体可一定程度上逆转抗原诱导的表皮厚度增加。



\*\*\*  $P < 0.001$ . IL-25, interleukin-25; OVA, ovalbumin. Normal, normal control group; IL-25, IL-25 group; Anti-IL-25, anti-IL-25 group; OVA, model group; OVA (IL-25), IL-25 treated dermatitis group; OVA (anti-IL-25), anti-IL-25 treated dermatitis group.

图 1 各组小鼠的搔抓次数

Figure 1 Scratching times of mice in the different groups



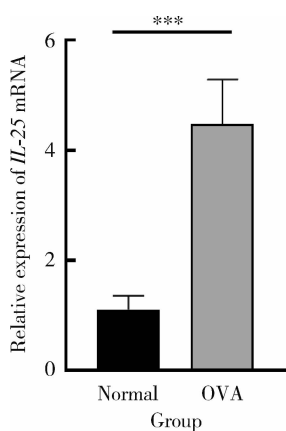
Annotations as in Figure 1. HE, hematoxylin-eosin.

图2 小鼠皮肤的组织病理表现(HE染色)

Figure 2 Histopathological findings of mice skin (HE staining)

## 2.2 小鼠皮肤 *IL-25* 的 mRNA 表达

为了探索小鼠腹部皮肤 *IL-25* 表达的差异,我们采用 Real-time PCR 方法检测正常对照组和模型组小鼠腹部皮肤 *IL-25* 的 mRNA 含量(表 1),发现 OVA 刺激后小鼠皮肤中 *IL-25* 的 mRNA 含量显著高于未经 OVA 刺激的小鼠(图 3)。



\*\*\*  $P < 0.001$ ,  $n = 15$ . Annotations as in Figure 1.

图3 小鼠皮肤 *IL-25* 的 mRNA 表达

Figure 3 Expression of *IL-25* mRNA in mice skin

## 2.3 血清 IgE、IL-4、IL-5、IL-13 的含量

为了探讨 *IL-25* 升高与变态反应的关系,我们检测了各组小鼠血清中 IgE、IL-4、IL-5、IL-13 的含量,结果显示,IL-25 组与正常对照组相比,IgE 和 IL-5 显著升高( $P < 0.01$ );模型组与正常对照组相

比,IgE、IL-4、IL-5、IL-13 含量均出现显著升高( $P < 0.01$ )。在 IL-25 干预致敏组,IgE、IL-4、IL-5、IL-13 比单纯的 OVA 诱导模型组含量更高,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。anti-IL-25 干预致敏组与模型组相比,IgE、IL-4、IL-13 的水平显著降低( $P < 0.01$ ),见表 2。

表1 *IL-25* 及 *GAPDH* 的引物序列

Table 1 Primer sequences of *IL-25* and *GAPDH*

Gene	Primer	Sequence
<i>IL-25</i>	Forward	5'-CAGCAAAGAGCAAGAACC-3'
	Reverse	5'-CCCTGTCCAACACTCATAGC-3'
<i>GAPDH</i>	Forward	5'-AACAGGCGTCCCTTTCCGA-3'
	Reverse	5'-GCCCAAGATGCCCTTCACT-3'

IL-25, interleukin-25.

## 2.4 小鼠皮肤组织 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ T 细胞浸润情况

以免疫组织化学方法检测各组小鼠腹部皮肤组织(OVA 致敏组取变应原接触部位皮肤,非致敏组取相应部位的腹部皮肤)切片中  $CD4^+$ 、 $CD8^+$  T 细胞的浸润情况(图 4),采用 Image J 软件计算平均光密度值(average optical density, AOD),结果显示,OVA 刺激后小鼠皮肤真皮层  $CD4^+$  T 细胞显著多于正常对照组( $P < 0.05$ ,  $F = 41.903$ ),IL-25 干预致敏组与模型组或 IL-25 注射组相比也显著增多( $P < 0.05$ ,  $F = 41.903$ ),IL-25 组与正常对照组相比也显著增

多 ( $P < 0.05$ ,  $F = 41.903$ ), anti-IL-25 干预致敏组与模型组相比差异无统计学意义 ( $P = 0.962$ ,  $F =$

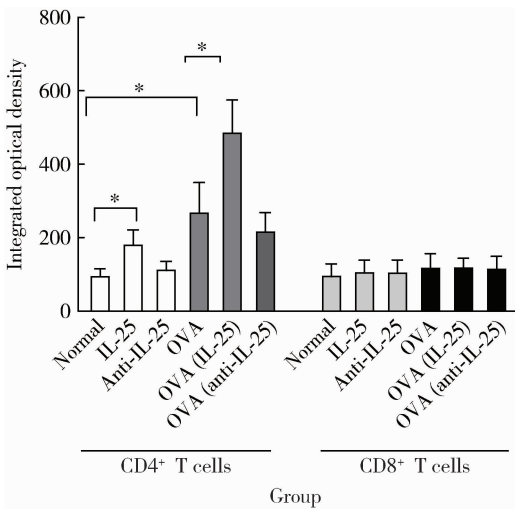
41.903)。各组小鼠皮肤组织中 CD8<sup>+</sup>T 细胞浸润无明显差异。

表 2 各组小鼠血清 IgE、IL-4、IL-5、IL-13 的含量 ( $n = 15$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Contents of serum IgE, IL-4, IL-5, and IL-13 in different mice groups ( $n = 15$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

Items	Normal	IL-25	Anti-IL-25	OVA	OVA (IL-25)	OVA (anti-IL-25)
IgE/( $\mu\text{g/L}$ )	27.9 $\pm$ 3.5	37.9 $\pm$ 2.6 <sup>aa</sup>	28.2 $\pm$ 2.5	42.6 $\pm$ 6.2 <sup>c</sup>	66.3 $\pm$ 8.3 <sup>d</sup>	39.0 $\pm$ 6.0 <sup>b</sup>
IL-4/(ng/L)	26.2 $\pm$ 3.6	37.0 $\pm$ 11.1	27.9 $\pm$ 6.3	47.1 $\pm$ 7.7 <sup>c</sup>	68.1 $\pm$ 8.5 <sup>d</sup>	42.8 $\pm$ 15.9 <sup>bb</sup>
IL-5/(ng/L)	314.6 $\pm$ 58.1	633.9 $\pm$ 81.1 <sup>aa</sup>	325.7 $\pm$ 72.9	784.2 $\pm$ 86.7 <sup>cc</sup>	959.8 $\pm$ 90.2 <sup>dd</sup>	696.7 $\pm$ 84.3
IL-13/(ng/L)	334.2 $\pm$ 29.7	424.9 $\pm$ 66.9	349.0 $\pm$ 48.0	507.0 $\pm$ 24.9 <sup>cc</sup>	588.4 $\pm$ 12.7 <sup>dd</sup>	473.7 $\pm$ 24.7 <sup>bb</sup>

IL, interleukin; OVA, ovalbumin. Normal, normal control group; IL-25, IL-25 group; Anti-IL-25, anti-IL-25 group; OVA, model group; OVA (IL-25), IL-25 treated dermatitis group; OVA (anti-IL-25), anti-IL-25 treated dermatitis group. aa,  $P < 0.01$ ; IL-25 vs. Normal. b,  $P < 0.05$ ; bb,  $P < 0.01$ ; OVA (anti-IL-25) vs. OVA. c,  $P < 0.05$ ; cc,  $P < 0.01$ ; OVA vs. Normal. d,  $P < 0.05$ ; dd,  $P < 0.01$ ; OVA (IL-25) vs. OVA.



\*  $P < 0.05$ . Annotations as in Figure 1.

图 4 各组小鼠皮肤组织 CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>T 细胞浸润情况

Figure 4 Infiltration of CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells in skin of the different mice groups

### 2.5 Filaggrin 和 defensin $\beta 2$ 蛋白在 OVA 致敏部位皮肤中的表达

切取各组小鼠腹部皮肤组织,采用免疫组织化学方法检测 filaggrin、defensin  $\beta 2$  蛋白在各组小鼠皮肤中的表达。由图 5 可见,defensin  $\beta 2$  在模型组中的表达显著低于正常对照组,IL-25 干预致敏组与模型组相比,其表达更低,anti-IL-25 干预致敏组与模型组相比,defensin  $\beta 2$  的表达量有所增加,但差异无统计学意义(图 5A)。与 defensin  $\beta 2$  的结果类似,OVA 致敏后降低了 filaggrin 的表达,同时给予 IL-25 后进一步促进了 filaggrin 表达的减少,给予 anti-IL-25 后 filaggrin 的表达则有恢复现象(图 5B)。

提取各组小鼠腹部皮肤组织蛋白,Western blot 检测结果显示,模型组 defensin  $\beta 2$  蛋白的表达显著低于正常对照组,IL-25 干预致敏组 defensin  $\beta 2$  蛋白的表达水平更低,与模型组相比差异有统计学意

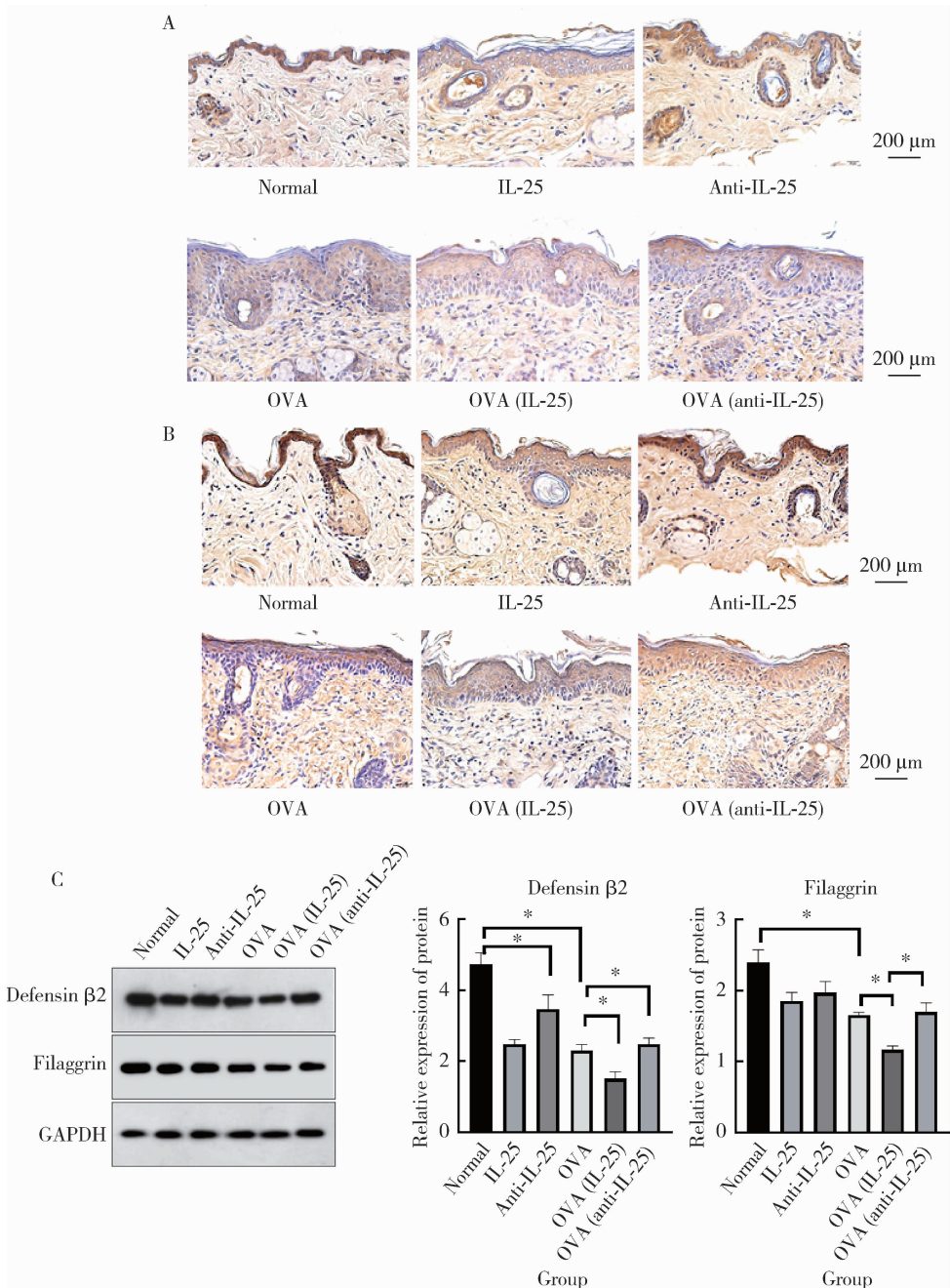
义 ( $P < 0.05$ ), 给予 anti-IL-25 则上调了 defensin  $\beta 2$  蛋白的表达。Filaggrin 蛋白在各组小鼠中的表达结果与 defensin  $\beta 2$  蛋白类似,即 IL-25 干预致敏组表达水平显著低于模型组 ( $P < 0.05$ ) 和正常对照组 ( $P < 0.01$ ), 给予 anti-IL-25 后则上调了 filaggrin 蛋白的表达(图 5C)。

### 3 讨论

特应性皮炎是一种慢性、瘙痒性、过敏性、炎症性皮肤病,其发病机制复杂,免疫异常是发病的关键环节,其中,Th1/Th2 分化失衡引起的细胞因子分泌异常在特应性皮炎发生发展中起重要作用<sup>[8]</sup>。特应性皮炎患者急性期的皮疹表现为 Th2 细胞因子模式,即表达高水平的 IL-4、IL-5 和 IL-13 等细胞因子<sup>[9-10]</sup>。临床中也发现 IL-25 及相应受体的 mRNA 和蛋白质水平均升高的现象。IL-25 以往被称为 IL-17E,在人的皮肤中,表皮角质形成细胞、肥大细胞以及 Th2 细胞都可以表达,因此我们推测 IL-25 在特应性皮炎中具有重要作用。

本研究利用 OVA 刺激小鼠皮肤,诱导特应性皮炎,小鼠皮肤变应原接触部位出现棘层增厚、海绵水肿以及炎症细胞浸润等病理改变。OVA 致敏小鼠的血清中,IgE、IL-4、IL-5、IL-13 含量明显高于正常对照组,表明造模成功。IL-25 注射组也表现出皮肤棘层肥厚,血清中 IgE 及 Th2 细胞因子升高的类似症状。当 IL-25 注射合并 OVA 致敏时,小鼠的皮肤病变更加严重,并且血清中 IgE、IL-4、IL-5、IL-13 含量也更高,而在造模同时注射 IL-25 抗体则可有效缓解病变。由此表明,IL-25 能够导致小鼠表皮增厚,并促进小鼠血清 IgE、IL-4、IL-5、IL-13 的含量增加。OVA 致敏小鼠皮肤变应原接触部位 IL-25 的 mRNA 表达水平显著高于正常对照组小鼠的结果,也进一步提示在特应性皮炎的发病过程中,IL-25 参

与了表皮肥厚,血清 IgE、IL-4、IL-5、IL-13 诱导生成 的作用。



A, expression of defensin  $\beta 2$  protein in the skin of mice by immunohistochemistry; B, expression of filaggrin protein in the skin of mice by immunohistochemistry; C, expression of defensin  $\beta 2$  and filaggrin protein in the skin of mice by Western blot. \*  $P < 0.05$ ,  $n = 15$ . Annotations as in Figure 1.

图5 Defensin  $\beta 2$  和 filaggrin 蛋白在各组小鼠皮肤组织中的表达

Figure 5 Expression of defensin  $\beta 2$  and filaggrin protein in skin of the different mice groups

Th2 细胞的前体细胞为 Th0 细胞,是未受抗原刺激的初始  $\text{CD4}^+$  T 细胞<sup>[11]</sup>。Th2 细胞能够分泌细胞因子 IL-4、IL-5 和 IL-13,而分泌的 IL-4 反过来能促进 Th2 细胞的分化<sup>[12-14]</sup>。本研究中,IL-25 组模型组以及 IL-25 干预致敏组小鼠皮肤与对照组相比均表现出  $\text{CD4}^+$  T 细胞增多,且 IL-25 干预致敏组也显著高于模型组。本研究还发现,filaggrin 和 defensin  $\beta 2$  蛋白在 OVA 诱导的小鼠特异性皮炎及 IL-25

作用下表达下降。Filaggrin 和 defensin  $\beta 2$  蛋白是形成皮肤屏障的重要物质基础<sup>[15-16]</sup>,其缺陷可导致患者表皮天然保湿因子减少、皮肤屏障功能受损<sup>[15-18]</sup>。与正常人群比较,外界变应原更容易通过患者皮肤进入体内,进而引发系统性过敏反应,诱发特异性皮炎<sup>[17]</sup>。本研究结果提示,IL-25 可能作用于表皮角质形成细胞,抑制其 filaggrin 和 defensin  $\beta 2$  的表达,导致皮肤功能异常。

综上所述,本研究结果提示 IL-25 在特应性皮炎的发病中起到了重要的桥梁作用,既参与了 Th2 细胞因子免疫反应的启动和维持,也作用于表皮角质形成细胞,抑制 filaggrin 和 defensin  $\beta 2$  的表达,促进棘层增生,导致皮肤屏障功能异常,其中的作用机制还有待进一步研究。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突。

**作者贡献声明** 金江:提出研究思路,撰写论文;金江、陈雪、赵琰:设计研究方案;金江、陈雪、贾军:收集、分析、整理数据;金江、张建中:总体把关和审定论文。

## 参考文献

- [ 1 ] Barbarot S, Auziere S, Gadkari A, et al. Epidemiology of atopic dermatitis in adults: Results from an international survey [J]. *Allergy*, 2018, 73(6): 1284–1293.
- [ 2 ] Aktar MK, Kido-Nakahara M, Furue M, et al. Mutual upregulation of endothelin-1 and IL-25 in atopic dermatitis [J]. *Allergy*, 2015, 70(7): 846–854.
- [ 3 ] Fort MM, Cheung J, Yen D, et al. IL-25 induces IL-4, IL-5, and IL-13 and Th2-associated pathologies *in vivo* [J]. *Immunity*, 2001, 15(6): 985–995.
- [ 4 ] Suto H, Nambu A, Morita H, et al. IL-25 enhances TH17 cell-mediated contact dermatitis by promoting IL-1 $\beta$  production by dermal dendritic cells [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2018, 142(5): 1500–1509. e10.
- [ 5 ] Senra L, Mylonas A, Kavanagh RD, et al. IL-17E (IL-25) enhances innate immune responses during skin inflammation [J]. *J Invest Dermatol*, 2019, 139(8): 1732–1742. e17.
- [ 6 ] Tong X, Li B. A role of IL-25, a sibling of IL-17, in triggering psoriatic skin inflammation [J]. *Sci China Life Sci*, 2018, 61(11): 1437–1438.
- [ 7 ] Hagner SL, Harb H, Zhao M, et al. Farm-derived Gram-positive bacterium *Staphylococcus sciuri* W620 prevents asthma phenotype in HDM- and OVA-exposed mice [J]. *Allergy*, 2013, 68(3): 322–329.
- [ 8 ] Orciani M, Campanati A, Caffarini M, et al. T helper (Th)1, Th17 and Th2 imbalance in mesenchymal stem cells of adult pa-

tients with atopic dermatitis: At the origin of the problem [J]. *Br J Dermatol*, 2017, 176(6): 1569–1576.

- [ 9 ] Mashiko S, Mehta H, Bissonnette R, et al. Increased frequencies of basophils, type 2 innate lymphoid cells and Th2 cells in skin of patients with atopic dermatitis but not psoriasis [J]. *J Dermatol Sci*, 2017, 88(2): 167–174.
- [ 10 ] Furue M, Chiba T, Tsuji G, et al. Atopic dermatitis: Immune deviation, barrier dysfunction, IgE autoreactivity and new therapies [J]. *Allergol Int*, 2017, 66(3): 398–403.
- [ 11 ] Kumar A, Rani L, Mhaske ST, et al. IL-3 receptor expression on activated human Th cells is regulated by IL-4, and IL-3 synergizes with IL-4 to enhance Th2 cell differentiation [J]. *J Immunol*, 2020, 204(4): 819–831.
- [ 12 ] Ochiai S, Jagot F, Kyle RL, et al. Thymic stromal lymphopoietin drives the development of IL-13<sup>+</sup> Th2 cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(5): 1033–1038.
- [ 13 ] Coomes SM, Kannan Y, Pelly VS, et al. CD4<sup>+</sup> Th2 cells are directly regulated by IL-10 during allergic airway inflammation [J]. *Mucosal Immunol*, 2017, 10(1): 150–161.
- [ 14 ] Prout MS, Kyle RL, Ronchese F, et al. IL-4 is a key requirement for IL-4- and IL-4/IL-13-expressing CD4 Th2 subsets in lung and skin [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 1211.
- [ 15 ] Hönzke S, Wallmeyer L, Ostrowski A, et al. Influence of Th2 cytokines on the cornified envelope, tight junction proteins, and  $\beta$ -defensins in filaggrin-deficient skin equivalents [J]. *J Invest Dermatol*, 2016, 136(3): 631–639.
- [ 16 ] Drislane C, Irvine AD. The role of filaggrin in atopic dermatitis and allergic disease [J]. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2020, 124(1): 36–43.
- [ 17 ] Wallmeyer L, Diertel K, Sochorová M, et al. TSLP is a direct trigger for T cell migration in filaggrin-deficient skin equivalents [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 774.
- [ 18 ] Christian L, Gerardus B, Marie-Anne V, et al. Novel microperfusion method confirms higher IL-17A and  $\beta$ -defensin-2 levels in psoriasis lesional skin compared to non-lesional skin [J]. *J Dermatol Sci*, 2016, 84(1): 32–33.

(2021-07-27 收稿)

(本文编辑:任英慧)