

# miR-375靶向FOXM1对IL-22诱导的人角质形成细胞增殖和凋亡的影响

胡珍, 孙弦, 刘睿, 吴庭\*

武汉市第三医院皮肤科, 湖北武汉 430000

[中图分类号] R758.63 [文献标志码] A [DOI] 10.11855/j.issn.0577-7402.1709.2025.1225

[声明] 本文所有作者声明无利益冲突

[引用本文] 胡珍, 孙弦, 刘睿, 等. miR-375靶向FOXM1对IL-22诱导的人角质形成细胞增殖和凋亡的影响[J]. 解放军医学杂志, 2026, 51(3): 419-426.

[收稿日期] 2025-08-28 [录用日期] 2025-11-04 [上线日期] 2025-12-25

**[摘要]** **目的** 探究微小RNA-375(miR-375)靶向叉头框蛋白M1(FOXM1)对白细胞介素(IL)-22诱导的人角质形成细胞增殖和凋亡的影响。**方法** 回顾性收集银屑病患者(试验组,  $n=35$ )皮损组织和接受整形手术者(对照组,  $n=35$ )正常皮肤组织。将人角质形成细胞HaCaT随机分为对照组、IL-22组、miR-NC组、miR-375组(过表达miR-375)、miR-375+pcDNA组(过表达miR-375)及miR-375+FOXM1(过表达miR-375和FOXM1)组;除对照组外,其他各组细胞均使用IL-22处理。采用qRT-PCR法测定组织和细胞miR-375、FOXM1 mRNA表达水平;MTT法和EdU染色法测定细胞增殖情况;流式细胞仪测定细胞周期和细胞凋亡情况;Transwell实验测定细胞的趋化能力;ELISA法测定细胞IL-6、IL-17A、趋化因子配体(CXCL)1、CXCL2水平;Western blotting检测细胞FOXM1、B细胞淋巴瘤-2蛋白(Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白(Bax)表达水平;双荧光素酶实验验证miR-375与FOXM1的靶向关系。**结果** 与对照组比较,试验组皮肤组织miR-375表达水平降低( $P<0.05$ ),FOXM1 mRNA表达水平升高( $P<0.05$ )。与对照组比较,IL-22组HaCaT细胞miR-375表达水平、 $G_0/G_1$ 期细胞比例、细胞凋亡率、Bax蛋白表达水平降低( $P<0.05$ ),细胞存活率、EdU染色阳性细胞率、S期细胞比例和细胞迁移数,以及IL-6、IL-17A、CXCL1、CXCL2、FOXM1、Bcl-2蛋白表达水平升高( $P<0.05$ );与miR-NC组比较,miR-375组细胞miR-375表达水平、 $G_0/G_1$ 期细胞比例、细胞凋亡率、Bax蛋白表达水平增高( $P<0.05$ ),细胞存活率、EdU染色阳性细胞率、S期细胞比例、细胞迁移数,以及FOXM1、Bcl-2、IL-6、IL-17A、CXCL1、CXCL2水平下降( $P<0.05$ );与miR-375+pcDNA组比较,miR-375+FOXM1组细胞 $G_0/G_1$ 期细胞比例降低,S期细胞比例及细胞迁移数增高( $P<0.05$ )。双荧光素酶实验结果显示,miR-375可与野生型FOXM1结合。**结论** miR-375可通过靶向FOXM1抑制IL-22诱导的人角质形成细胞增殖,并促进其凋亡。

**[关键词]** 微小RNA-375;叉头框蛋白M1;角质形成细胞;增殖;凋亡

## Effects of miR-375 on proliferation and apoptosis of IL-22-induced human keratinocytes by targeting FOXM1

Hu Zhen, Sun Xian, Liu Rui, Wu Ting\*

Department of Dermatology, the Third Hospital of Wuhan, Wuhan, Hubei 430000, China

\*Corresponding author, E-mail: s87otf@163.com

This work was supported by the Medical Research Project of Wuhan (WX21Z20)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the effect of microRNA-375 (miR-375) on proliferation and apoptosis of IL-22-induced human keratinocytes by targeting forkhead box protein M1 (FOXM1). **Methods** Skin lesion tissues from psoriasis patients (experimental group,  $n=35$ ) and normal skin tissues from individuals undergoing plastic surgery (control group,  $n=35$ ) were collected retrospectively. qRT-PCR was employed to quantify the expression levels of miR-375 and FOXM1 mRNA in tissues and cells. Human keratinocyte HaCaT cells were randomly divided into control group, IL-22 group, miR-NC group, miR-375 group (overexpression of

**[基金项目]** 武汉市医学科研项目(WX21Z20)

**[作者简介]** 胡珍, 硕士研究生, 主治医师, 主要从事银屑病相关的基础与临床研究

**[通信作者]** 吴庭, E-mail: s87otf@163.com

miR-375), miR-375+pcDNA group (overexpression of miR-375), and miR-375+FOXM1 group (overexpression of miR-375 and FOXM1). Except for control group, all other groups were treated with IL-22. Cell proliferation was assessed by MTT assay and EdU staining. Flow cytometry was used to evaluate cell-cycle distribution and apoptosis. Transwell assays were conducted to assess chemotactic capability. ELISA was performed to quantify the levels of IL-6, IL-17A, CXCL1, and CXCL2 in cells. Western blotting was used to measure expression levels of FOXM1, B-cell lymphoma-2 (Bcl-2) protein, and Bcl-2-associated X protein (Bax). The targeting relationship between miR-375 and FOXM1 was validated by a dual-luciferase reporter assay. **Results** Compared with control group, experimental group exhibited decreased miR-375 expression and increased FOXM1 mRNA expression in skin tissues ( $P<0.05$ ). Compared with control group, IL-22 group showed decreased expression level of miR-375, the proportion of cells in the  $G_0/G_1$  phase, apoptosis rate, and Bax protein expression ( $P<0.05$ ), while showing increased cell viability, EdU staining cell rate, S-phase proportion, number of migrated cells, and the protein expression levels of IL-6, IL-17A, CXCL1, CXCL2, FOXM1, and Bcl-2 in HaCaT cells ( $P<0.05$ ). Compared with miR-NC group, miR-375 group showed increased expression level of miR-375, the proportion of cells in the  $G_0/G_1$  phase, apoptosis rate, and Bax protein expression ( $P<0.05$ ), while showing decreased cell survival rate, EdU staining positive cell rate, S-phase cell proportion, number of migrated cells, and the expression levels of FOXM1, Bcl-2, IL-6, IL-17A, CXCL1, and CXCL2 in HaCaT cells ( $P<0.05$ ). Compared with miR-375+pcDNA group, miR-375+FOXM1 group showed a decreased proportion of cells in the  $G_0/G_1$  phase ( $P<0.05$ ), and an increased S-phase cell proportion and number of migrated cells in HaCaT cells ( $P<0.05$ ). The dual-luciferase reporter assay showed that miR-375 could bind wild-type FOXM1. **Conclusion** miR-375 could inhibit proliferation and promote the apoptosis of IL-22-induced human keratinocytes by targeting FOXM1.

**[Key words]** microRNA-375; forkhead box protein M1; keratinocytes; proliferation; apoptosis

银屑病是一种复杂的免疫介导的过度增殖性疾病,表现为表皮角质形成细胞过度生长,其原因与细胞免疫系统的激活有关<sup>[1]</sup>。全球范围内银屑病的患病率为1%~3%,对患者的生活质量产生较大影响<sup>[2]</sup>。靶向白细胞介素(IL)-23/IL-17通路的生物制剂对银屑病患者有一定临床疗效,但面临成本、免疫调节相关不良反应及停药后复发的限制<sup>[3]</sup>。探究银屑病的发病机制有助于开发更加有效、经济的临床治疗药物<sup>[4]</sup>。微小RNA-375(miR-375)在调节免疫细胞行为方面发挥重要作用,进而参与调控自身免疫性疾病的发生发展<sup>[5]</sup>。研究显示,银屑病患者病变皮肤中miR-375表达水平较低,提示其可能参与银屑病的发病过程<sup>[6]</sup>。叉头框蛋白M1(FOXM1)是一种转录因子,被称为细胞周期进展的主要调节剂,可通过核因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)信号通路调节角质形成细胞的增殖、凋亡和炎症反应<sup>[7-8]</sup>。本研究的生物信息学预测结果显示,miR-375与FOXM1基因存在结合位点;但目前尚不清楚miR-375可否通过靶向调控FOXM1对银屑病的发生发展产生影响。IL-22在银屑病的发病机制中起着重要作用,可与其他炎症介质共同刺激角质形成细胞产生炎性细胞因子,促进角质细胞过度增殖<sup>[9]</sup>。本研究采用IL-22诱导人角质形成细胞建立银屑病体外模型,探究miR-375对该模型细胞增殖和凋亡的影响。

## 1 材料与方法

**1.1 主要试剂与仪器** 人角质形成细胞HaCaT购自上海康朗生物科技有限公司; Trizol试剂、反转录试剂盒、qRT-PCR试剂盒购自北京百奥莱博科技有限

公司; MTT细胞增殖试剂盒、EdU染色试剂盒、趋化因子配体(CXCL)1和CXCL2 ELISA试剂盒均购自湖北艾美捷科技有限公司; 双荧光素酶试剂盒购自武汉亚科因生物技术有限公司; IL-6、IL-17A ELISA试剂盒购自上海莼试生物技术有限公司; 抗FOXM1、Bax、Bcl-2、GAPDH抗体以及山羊抗兔IgG购自英国Abcam公司; 流式细胞仪(CytoFLEX型)购自江苏捷诺生物科技有限公司; 荧光显微镜(CKX53型)购自北京德耳斯仪器有限公司。

**1.2 临床样本与细胞分组** 回顾性选取2023年1月—2024年8月于武汉市第三医院皮肤科就诊的35例寻常型银屑病患者为试验组,男18例,女17例,年龄(36.5±4.2)岁; 收集其治疗前的腿部皮损组织。另选取同期在该医院整形外科接受整形手术者35例为对照组,男16例,女19例,年龄(37.4±4.0)岁; 取其腿部正常皮肤组织。本研究经武汉市第三医院伦理委员会审批(武三医伦KY2022-089),所有参与者均签署知情同意书。

将HaCaT细胞按随机数字表法分为对照组、IL-22组、miR-NC组(转染miR-NC)、miR-375组(转染miR-375 mimic质粒,过表达miR-375)、miR-375+pcDNA组(同时转染miR-375 mimic和pcDNA-NC质粒,过表达miR-375)和miR-375+FOXM1组(同时转染miR-375 mimic和pcDNA-FOXM1质粒,过表达miR-375和FOXM1)。

## 1.3 方法

**1.3.1 qRT-PCR检测银屑病皮损组织中miR-375、FOXM1 mRNA表达水平** 取试验组和对照组皮肤组织样本,采用Trizol试剂提取总RNA,使用反转录

试剂盒将总RNA反转录成cDNA,并以此为模板进行qRT-PCR反应。反应条件:95℃,5min;接着继续在95℃,30s;60℃,30s,循环30次,最后72℃,5min。以U6作为miR-375的内参,GAPDH作为FOXMI的内参。引物序列:miR-375,上游5'-AGTTTGTTCGTTTCGGCTC-3',下游5'-CTCAACTGGTGTCGTGGA-3';U6,上游5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3',下游5'-AACGCTTACGAATTTGCGT-3';FOXMI,上游5'-CCACAGAACTCTATTCGTCACAACC-3',下游5'-CCAATGTCAAGTAGCGATTAGCAC-3';GAPDH,上游5'-CATCACTGCCACCCAGAAGACTG-3',下游5'-ATGCCAGTGAGCTTCCCGTTCAG3'。各基因相对表达水平均采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法进行计算。

**1.3.2 HaCaT细胞培养** 将HaCaT细胞接种至含有含1%青链霉素(CSP006)、10%胎牛血清(ZQ0500)的DMEM培养基(ZQ-100)(均购自上海中乔新舟生物科技有限公司)中,并置于培养箱内(37℃、5%CO<sub>2</sub>)培养,期间定期观察。后续使用第3—8代对数期细胞进行相关实验。

**1.3.3 银屑病细胞模型的建立** miR-NC组、miR-375组、miR-375+pcDNA组和miR-375+FOXMI组HaCaT细胞在转染微小RNA或pcDNA质粒后均培养24h。除对照组外,各组细胞均使用含有100μg/L IL-22(A10C25,北京百新意生物科技有限公司)的培养基处理24h,以建立银屑病细胞模型<sup>[10]</sup>,最后收集各组细胞进行相关基因检测。

**1.3.4 MTT实验及EdU染色检测各组HaCaT细胞增殖能力** (1)MTT实验:按每孔 $1 \times 10^4$ 个细胞接种于96孔板,各组细胞培养48h后,加入5g/L MTT溶液(10μl/孔),并继续培养4h后,向各孔中加入二甲基亚砷溶液(150μl/孔),并振荡至结晶溶解,最后于490nm波长处检测各孔吸光度值(酶标仪型号:Multiskan SkyHigh,美国Thermo Fisher公司),并计算细胞存活率。细胞存活率(%)=实验组吸光度值/对照组吸光度值 $\times 100\%$ 。(2)EdU染色:将各组细胞(处于对数期)取出后,加入EdU溶液(10μl/孔),孵育2h后对细胞进行清洗,然后加入4%多聚甲醛溶液(50μl/孔)固定30min后,加入Apollo、Hoechst33342溶液进行染色(室温,30min),随后进行再次清洗,并使用荧光显微镜观察,计算EdU染色阳性细胞率。EdU染色阳性细胞率(%)=红色荧光细胞数/蓝色荧光总细胞数 $\times 100\%$ 。

**1.3.5 流式细胞术检测各组HaCaT细胞周期** 将各组细胞取出,加入冰乙醇(700ml/L)进行固定;清洗后,加入RNase A(100μl/孔)进行水浴(时间0.5h),之后加入碘化丙啶(PI),并使用流式细胞仪对细胞周期进行分析。

**1.3.6 Transwell实验检测各组HaCaT细胞趋化行为** 将300μl不含血清的培养基加入Transwell小室,1h后,使用培养基(含0.1%牛血清白蛋白)对聚碳酸酯(ECM)膜(孔径8μm)进行浸泡。收集各组细胞,并制成细胞悬液(用不含血清的培养基重悬,调整密度至 $1 \times 10^5$ 个/ml),将小室中的培养基倒出,并在上室加入细胞悬液(密度 $1 \times 10^5$ 个/ml,添加量200μl),随后在下室加入培养基(添加量600μl,含有10%胎牛血清),并将其置于培养箱内进行常规培养,24h后,将小室内细胞及培养基擦去,之后进行固定,并染色(0.5%结晶紫,10min)。待染色结束,采用PBS清洗3次 $\times 5$ min,最后使用显微镜观察,Image Pro Plus软件对细胞进行计数。

**1.3.7 Annexin V染色和流式细胞术检测各组HaCaT细胞凋亡情况** 将各组细胞进行接种并培养,48h后,加入结合缓冲液(500μl),然后依次加入Annexin V-FITC(10μl)、PI(5μl)进行孵育(避光,10min),最后使用流式细胞仪进行测定。

**1.3.8 ELISA法检测各组HaCaT细胞免疫因子、趋化因子水平** 收集各组细胞上清液,并使用ELISA试剂盒检测细胞中IL-6、IL-17A、CXCL1、CXCL2水平,严格按照试剂盒说明书进行操作。

**1.3.9 Western blotting检测各组HaCaT细胞中FOXMI、Bax、Bcl-2蛋白表达水平** 收集各组细胞,加入RIPA裂解液,30min后进行离心并收集上清液,并对其蛋白浓度进行测定,取各组蛋白样品(30μg)依次进行电泳、转膜,封闭后,加入抗FOXMI、Bax、Bcl-2、GAPDH抗体(1:1000)孵育并过夜,然后加入二抗(1:2000)继续孵育(室温,1h),显影后,采用Image J软件分析。

**1.3.10 双荧光素酶实验验证miR-375与FOXMI的靶向关系** 使用Starbase网站预测miR-375与FOXMI的结合位点;按照结合位点构建FOXMI野生型(WT)与突变型(MUT)质粒,将FOXMI-WT、FOXMI-MUT两种质粒分别与miR-NC、miR-375 mimics同时转染至HaCaT细胞,培养24h后,收集各组细胞测定荧光素酶活性。

**1.4 统计学处理** 采用SPSS 25.0软件进行统计分析。计量资料均符合正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用t检验,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用SNK-q检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 银屑病皮损组织中miR-375、FOXMI表达情况** qRT-PCR检测结果显示,与对照组比较,试验组皮损组织中miR-375相对表达水平明显降低( $0.42 \pm$

0.04 vs. 1.01±0.11,  $P<0.05$ ), *FOXM1* mRNA 相对表达水平明显升高(2.15±0.24 vs. 0.98±0.10,  $P<0.05$ )。

**2.2 各组 HaCaT 细胞中 miR-375、FOXM1 表达水平比较** qRT-PCR 及 Western blotting 检测结果显示, 与对照组比较, IL-22 组细胞中 miR-375 表达水平明显降低( $P<0.05$ ), *FOXM1* mRNA 及蛋白表达水平明显升高( $P<0.05$ ); 与 miR-NC 组比较, miR-375 组细胞中 miR-375 表达水平明显升高( $P<0.05$ ), *FOXM1* mRNA 及蛋白表达水平明显降低( $P<0.05$ ); 与 miR-375+pcDNA 组比较, miR-375+FOXM1 组细胞中 *FOXM1* mRNA 及蛋白表达水平均明显升高( $P<0.05$ , 图 1)。

**2.3 各组 HaCaT 细胞增殖能力比较** MTT 实验及 EdU 实验检测结果显示, 与对照组比较, IL-22 组细胞存活率、EdU 染色阳性细胞率均明显升高( $P<0.05$ )。与 miR-NC 组比较, miR-375 组细胞存活率、EdU 染色阳性细胞率均明显降低( $P<0.05$ ); 与 miR-375+pcDNA 组比较, miR-375+FOXM1 组细胞存活率和 EdU 染色阳性细胞率均明显升高( $P<0.05$ , 图 2)。

**2.4 各组 HaCaT 细胞周期分布和细胞迁移数比较** 流式细胞术检测结果显示, 与对照组比较, IL-22 组  $G_0/G_1$  期细胞比例明显降低( $P<0.05$ ), S 期细胞比例明显升高( $P<0.05$ ); 与 miR-NC 组比较, miR-375 组

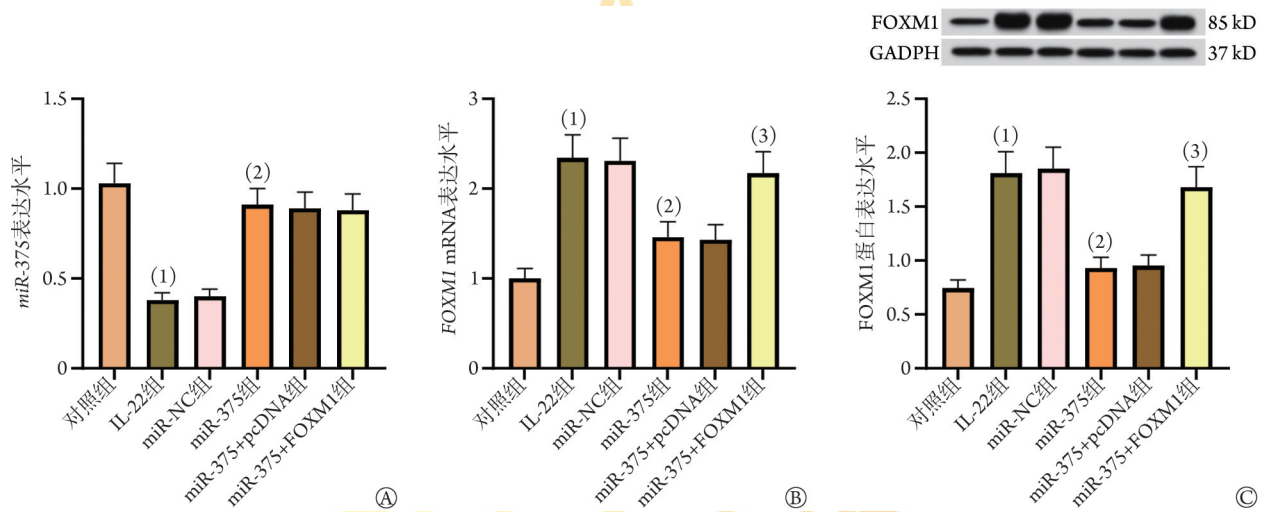


图 1 各组 HaCaT 细胞 miR-375(A)、*FOXM1* mRNA(B)及蛋白(C)表达比较( $n=6$ )

Fig.1 Expression levels of miR-375 (A), *FOXM1* mRNA (B) and protein (C) in HaCaT cells of each group ( $n=6$ )

与对照组比较, (1) $P<0.05$ ; 与 miR-NC 组比较, (2) $P<0.05$ ; 与 miR-375+pcDNA 组比较, (3) $P<0.05$ 。IL-22. 白细胞介素-22; FOXM1. 叉头框蛋白 M1

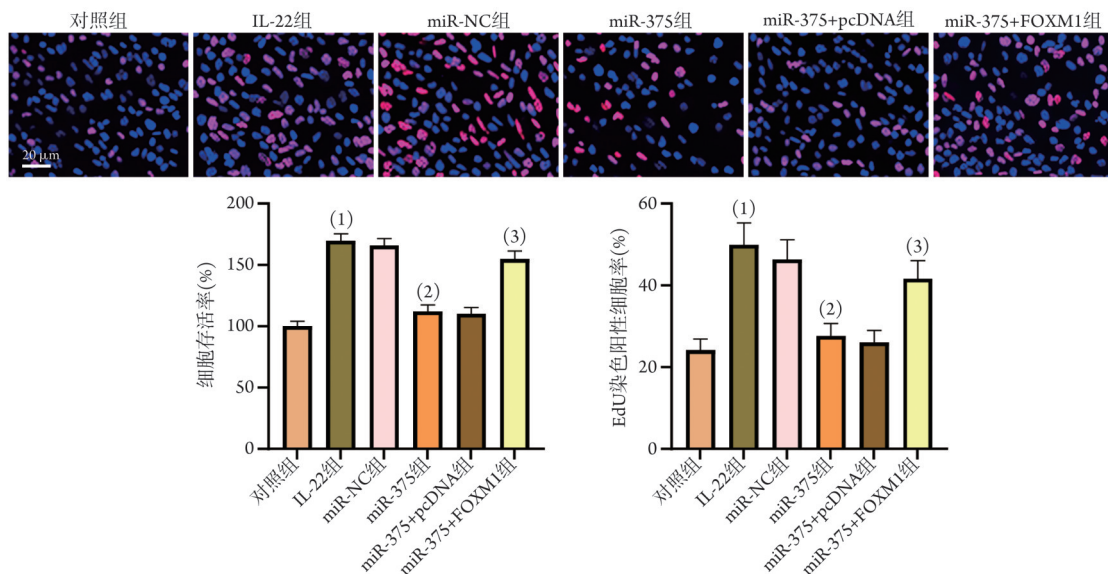


图 2 各组 HaCaT 细胞存活率、EdU 染色阳性细胞率对比( $n=6$ )

Fig.2 Comparison of survival rate and EdU positive rate in HaCaT cells of each group ( $n=6$ )

蓝色荧光标记细胞核(Hoechst 33342 染色); 红色荧光标记增殖期细胞(Apollo 染色); 与对照组比较, (1) $P<0.05$ ; 与 miR-NC 组比较, (2) $P<0.05$ ; 与 miR-375+pcDNA 组比较, (3) $P<0.05$ 。IL-22. 白细胞介素-22; FOXM1. 叉头框蛋白 M1

G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期细胞比例明显增高( $P<0.05$ ), 而S期细胞比例明显降低( $P<0.05$ ); 与 miR-375+pcDNA 组比较, miR-375+FOXM1 组 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期细胞比例明显降低( $P<0.05$ ), S期细胞比例明显增高( $P<0.05$ , 图3A)。

Transwell 实验检测结果显示, 与对照组比较,

IL-22 组细胞迁移数明显增多( $P<0.05$ ); 与 miR-NC 组比较, miR-375 组细胞迁移数明显减少( $P<0.05$ ); 与 miR-375+pcDNA 组比较, miR-375+FOXM1 组细胞迁移数增多( $P<0.05$ , 图3B)。

### 2.5 各组 HaCaT 细胞凋亡率与凋亡相关蛋白表达水

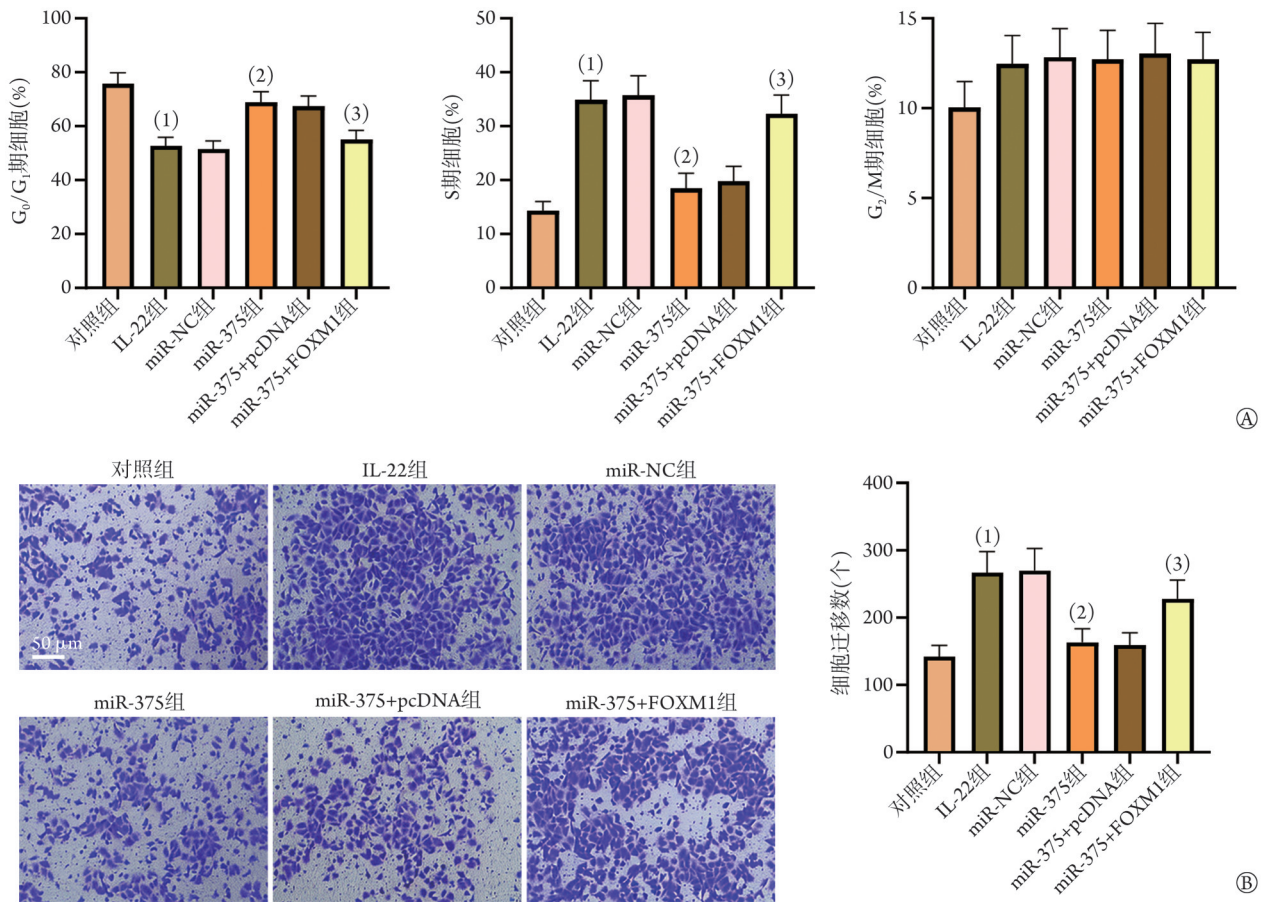


图3 各组 HaCaT 细胞周期分布(A)、细胞迁移数(B)比较(Transwell 实验,  $n=6$ )

Fig.3 Comparison of cell cycle distribution and the number of cell migration in HaCaT cells of each group (Transwell assays,  $n=6$ )

与对照组比较, (1) $P<0.05$ ; 与 miR-NC 组比较, (2) $P<0.05$ ; 与 miR-375+pcDNA 组比较, (3) $P<0.05$ 。IL-22, 白细胞介素-22; FOXM1, 叉头框蛋白 M1

平比较 流式细胞术和 Western blotting 检测结果显示, 与对照组比较, IL-22 组细胞凋亡率、Bax 蛋白表达水平明显降低( $P<0.05$ ), Bcl-2 蛋白表达水平明显升高( $P<0.05$ ); 与 miR-NC 组比较, miR-375 组细胞凋亡率、Bax 蛋白表达水平明显增高( $P<0.05$ ), Bcl-2 蛋白表达水平明显降低( $P<0.05$ ); 与 miR-375+pcDNA 组比较, miR-375+FOXM1 组细胞凋亡率、Bax 蛋白表达水平明显降低( $P<0.05$ ), Bcl-2 蛋白表达水平明显增高( $P<0.05$ , 图4)。

2.6 各组 HaCaT 细胞免疫因子和趋化因子表达水平比较 ELISA 法检测结果显示, 与对照组比较, IL-22 组细胞中 IL-6、IL-17A、CXCL1、CXCL2 水平明显升高( $P<0.05$ ); 与 miR-NC 组比较, miR-375 组细胞中 IL-6、IL-17A、CXCL1 及 CXCL2 水平明显降低

( $P<0.05$ ); 与 miR-375+pcDNA 组比较, miR-375+FOXM1 组细胞中 IL-6、IL-17A、CXCL1 和 CXCL2 水平均明显升高( $P<0.05$ , 图5)。

2.7 miR-375 与 FOXM1 的靶向关系验证 生物信息学分析结果显示, miR-375 与 FOXM1 基因存在结合位点; 双荧光素酶实验结果显示, 与 miR-NC 组比较, 转染 FOXM1-WT 的 miR-375 组 HaCaT 细胞荧光素酶相对活性明显降低( $P<0.05$ ); 转染 FOXM1-MUT 的 miR-375 组 HaCaT 细胞荧光素酶相对活性差异无统计学意义( $P<0.05$ , 图6)。

### 3 讨论

银屑病是一种较为常见的慢性自身免疫性炎症性皮肤病, 其特征是表皮异常增生、异常分化及免

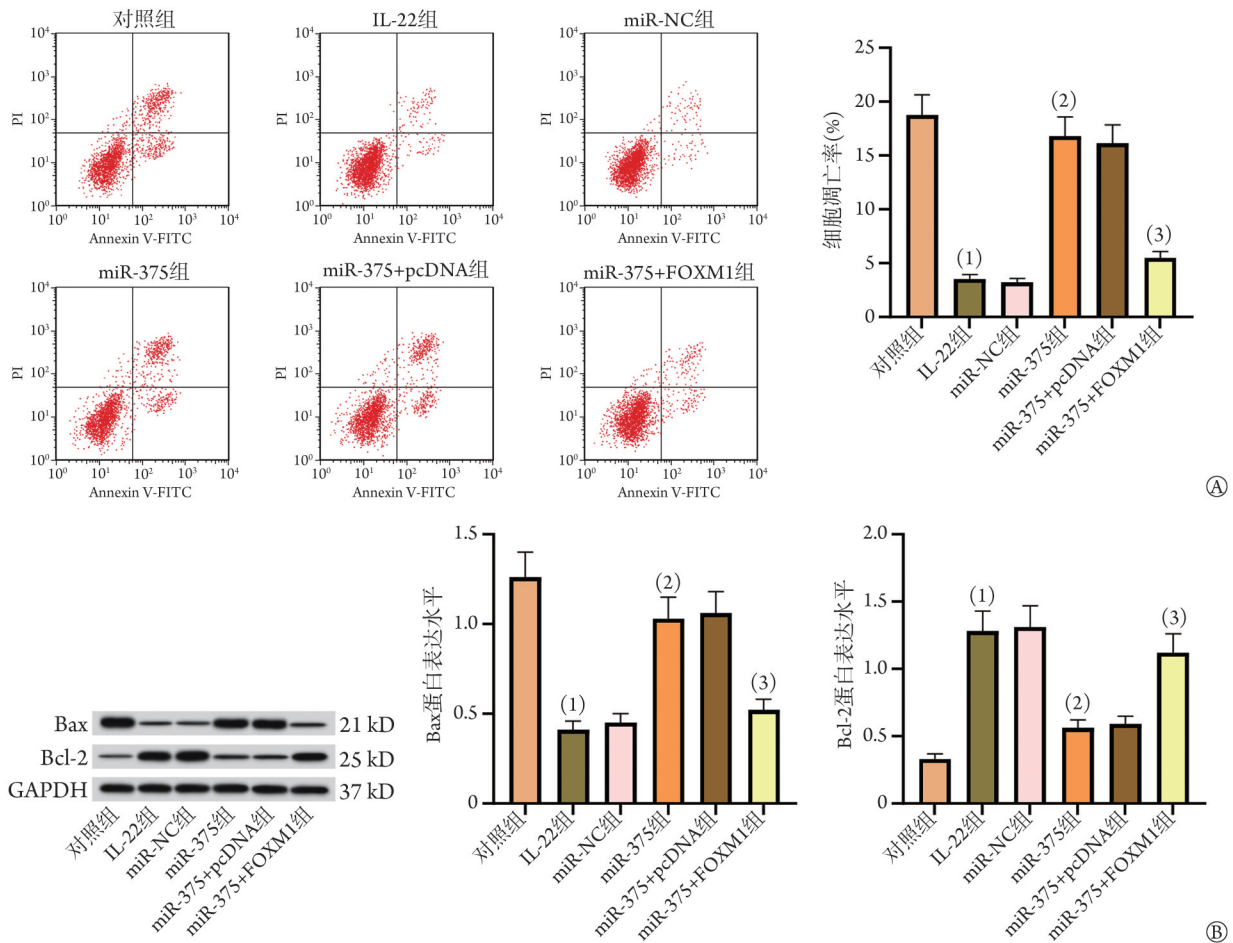


图4 各组 HaCaT 细胞凋亡率(A)及凋亡蛋白表达水平(B)比较(Western blotting,  $n=6$ )

Fig.4 Comparison of cell apoptosis rate (A) and expression level of apoptosis proteins in HaCaT cells of each group (Western blotting,  $n=6$ )

与对照组比较, (1) $P<0.05$ ; 与 miR-NC 组比较, (2) $P<0.05$ ; 与 miR-375+pcDNA 组比较, (3) $P<0.05$ 。IL-22, 白细胞介素-22; FOXM1, 叉头框蛋白 M1; Bcl-2, B 细胞淋巴瘤-2 蛋白; Bax, Bcl-2 相关 X 蛋白

疫细胞向表皮和真皮浸润<sup>[11]</sup>。此外, 银屑病还与多种并发症相关, 如关节炎、肥胖、糖尿病、抑郁、心血管疾病等, 对患者正常生活产生很大影响<sup>[12-13]</sup>。银屑病的病因可能涉及免疫、遗传和环境因素, 其中, 免疫细胞分泌的促炎细胞因子可促进角质形成细胞增殖<sup>[14]</sup>。IL-22 可促进角质形成细胞增殖和趋化, 在银屑病的发病机制中发挥关键作用<sup>[15]</sup>。目前, 相关体外实验常使用 IL-22 干预角质形成细胞构建银屑病细胞模型<sup>[16]</sup>。本研究采用 IL-22 诱导人角质形成细胞, 结果显示, 经 IL-22 处理后, 角质形成细胞存活率、EdU 染色阳性细胞率均明显增高, 细胞迁移数明显增多, 同时, 细胞凋亡率降低, 免疫因子 (IL-6、IL-17A) 及趋化因子 (CXCL1、CXCL2) 水平升高, 提示银屑病细胞模型建立成功。

miRNA 是一种非编码 RNA, 也是多种生物学功能 (包括炎症信号通路) 的强效转录因子; 此外, miRNA 在银屑病的发病过程中也发挥重要作用, 可通过调控角质形成细胞或免疫细胞中与银屑病相关

的细胞过程影响发病<sup>[17]</sup>。miR-375 是一种多功能的小 RNA 分子, 可参与病毒复制、炎症反应及癌症进展<sup>[18]</sup>。研究显示, miR-375 在体内外骨关节炎模型中表达较低, 可影响炎症反应和凋亡, 参与骨关节炎的进展<sup>[19]</sup>。本研究结果显示, 银屑病患者皮损组织及 IL-22 诱导的人角质形成细胞中 miR-375 表达水平降低, 提示 miR-375 可能在银屑病的发生发展中发挥一定作用。本研究结果还显示, 上调 miR-375 表达可提高 IL-22 诱导的人角质形成细胞中 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期细胞比例和细胞凋亡率, 并降低细胞存活率、炎症因子及趋化因子水平, 减少细胞迁移数。以上结果表明, 过表达 miR-375 可抑制 IL-22 诱导的人角质形成细胞增殖和炎症反应, 促进细胞凋亡, 并将细胞周期阻断在 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期。

FOX 家族蛋白是一种在 DNA 结合结构域中具有翼螺旋结构的转录因子, 在哺乳动物发育、脂质代谢、生物衰老和免疫调节中发挥重要作用<sup>[20]</sup>。FOXM1 作为 FOX 家族成员之一, 可影响多种生物学

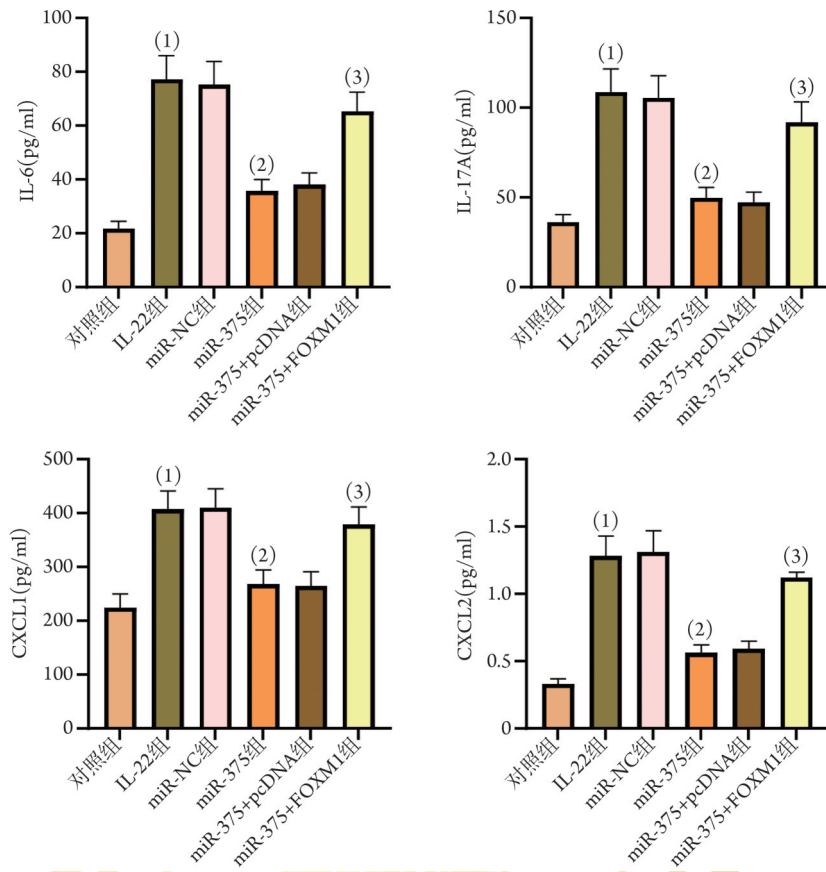


图5 各组 HaCaT 细胞 IL-6、IL-17A、CXCL1、CXCL2 表达水平比较 (n=6)

Fig.5 Comparison of expression levels of IL-6, IL-17A, CXCL1, and CXCL2 in HaCaT cells of each group (n=6)

与对照组比较, (1) $P < 0.05$ ; 与 miR-NC 组比较, (2) $P < 0.05$ ; 与 miR-375+pcDNA 组比较, (3) $P < 0.05$ 。IL. 白细胞介素; FOXM1. 叉头框蛋白 M1; CXCL. 趋化因子配体

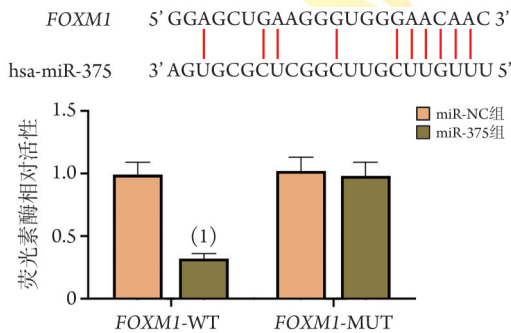


图6 miR-375 与 FOXM1 的结合位点及 HaCaT 细胞荧光素酶活性比较 (n=6)

Fig.6 The binding site of miR-375 and FOXM1 gene, and comparison of the luciferase activity in HaCaT cells (n=6)

与 miR-NC 组比较, (1) $P < 0.05$ 。FOXM1. 叉头框蛋白 M1; WT. 野生型; MUT. 突变型

过程, 包括细胞周期、细胞增殖、分化、迁移和血管生成等, 并可调控 IL-17、IL-6 等细胞因子的产生<sup>[21]</sup>。研究显示, FOXM1 可促进角质形成细胞增殖和银屑病炎症反应<sup>[22]</sup>。李捷等<sup>[23]</sup>发现, 过表达 miR-557 可通过靶向下调 FOXM1 抑制银屑病角质形成细胞增殖, 促进其凋亡。有报道显示, miR-125a-3p 可

通过靶向下调 FOXM1, 抑制角质形成细胞增殖并促进其凋亡, 改善银屑病大鼠皮肤损伤, 减轻炎症反应<sup>[24]</sup>。本研究结果显示, FOXM1 在银屑病患者皮损组织、IL-22 诱导的人角质形成细胞中表达增高, 而上调 miR-375 表达后, FOXM1 表达被下调。此外, 本研究生物学信息预测及双荧光素酶实验结果显示, miR-375 与 FOXM1 具有靶向关系, 提示 FOXM1 是 miR-375 的靶基因; 进一步上调 FOXM1 时, miR-375 上调对 IL-22 诱导的人角质形成细胞增殖的抑制作用和凋亡的促进作用明显被逆转。以上结果提示, miR-375 可靶向 FOXM1, 抑制 IL-22 诱导的人角质形成细胞增殖, 促进其凋亡, 减轻免疫炎症。

综上所述, 银屑病患者皮损组织中 miR-375 表达水平降低, 上调 miR-375 可通过靶向调控 FOXM1 表达而抑制 IL-22 诱导的人角质形成细胞增殖和免疫炎症, 并诱导其凋亡。本研究存在一定局限性: 仅采用 HaCaT 细胞系(永生化角质形成细胞), 未使用原代人角质形成细胞验证; 尚未使用动物模型(如咪喹莫特诱导的银屑病小鼠模型)验证 miR-375-FOXM1 轴在体内的作用; 未探索 miR-375 上游调控因子, 如哪

种转录因子调控 miR-375 的表达。未来研究将采用原代角质形成细胞探究细胞生物学行为变化, 构建银屑病动物模型, 进一步探究该调控关系是否适用于活体皮肤微环境, 并观察上游信号因子变化, 丰富基础研究机制, 以推动临床转化。

#### 【参考文献】

- [1] Thatikonda S, Pooladanda V, Sigalapalli DK, *et al*. Piperlongumine regulates epigenetic modulation and alleviates psoriasis-like skin inflammation *via* inhibition of hyperproliferation and inflammation [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(1): 21.
- [2] Bhuktar H, Thirupataiah B, Mounika G, *et al*. Targeting next-generation PDE4 inhibitors in search of potential management of rheumatoid arthritis and psoriasis[J]. *Bioorg Chem*, 2024, 151(1): 107689.
- [3] Richardson KC, Aubert A, Turner CT, *et al*. Granzyme K mediates IL-23-dependent inflammation and keratinocyte proliferation in psoriasis[J]. *Front Immunol*, 2024, 15(1): 1398120.
- [4] 李宗阳, 谷峥, 王慧静, 等. 妊娠及哺乳期银屑病患者生物制剂治疗安全性的系统评价[J]. *解放军医学杂志*, 2025, 50(5): 545-552.
- [5] Liu Y, Wang Q, Wen J, *et al*. MiR-375: a novel multifunctional regulator[J]. *Life Sci*, 2021, 275(1): 119323.
- [6] Chicharro P, Rodríguez-Jiménez P, Llamas-Velasco M, *et al*. Expression of miR-135b in psoriatic skin and its association with disease improvement[J]. *Cells*, 2020, 9(7): 1603.
- [7] Xie Y, Pan Y, Chen Q, *et al*. Selective BD2 inhibitor exerts anti-fibrotic effects *via* BRD4/FoxM1/Plk1 axis in orbital fibroblasts from patients with thyroid eye disease[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2023, 64(7): 9.
- [8] Zhou M, Shi J, Lan S, *et al*. FOXM1 regulates the proliferation, apoptosis and inflammatory response of keratinocytes through the NF- $\kappa$ B signaling pathway[J]. *Hum Exp Toxicol*, 2021, 40(7): 1130-1140.
- [9] Abdallah F, Henriët E, Suet A, *et al*. miR-21-3p/IL-22 axes are major drivers of psoriasis pathogenesis by modulating keratinocytes proliferation-survival balance and inflammatory response[J]. *Cells*, 2021, 10(10): 2547.
- [10] 李旭阳, 郑云鹏, 金芳草, 等. LncRNA DSCAM-AS1 在寻常型银屑病皮损组织中的表达及其对 IL-22 诱导的角质形成细胞增殖和凋亡的影响[J]. *郑州大学学报(医学版)*, 2022, 57(5): 663-669.
- [11] Roy T, Banang-Mbeumi S, Boateng ST, *et al*. Dual targeting of mTOR/IL-17A and autophagy by fisetin alleviates psoriasis-like skin inflammation[J]. *Front Immunol*, 2023, 13(1): 1075804.
- [12] Hu P, Wang M, Gao H, *et al*. The role of Helper T cells in psoriasis [J]. *Front Immunol*, 2021, 12(1): 788940.
- [13] 张姝敏, 苏茵. 关于银屑病关节炎早期识别的思考[J]. *中国实用内科杂志*, 2025, 45(9): 742-747.
- [14] He Q, Liu N, Hu F, *et al*. Circ\_0061012 contributes to IL-22-induced proliferation, migration and invasion in keratinocytes through miR-194-5p/GAB1 axis in psoriasis[J]. *Biosci Rep*, 2021, 41(1): BSR20203130.
- [15] Peng Y, Zhang Y, Luo M, *et al*. NEK2 overexpression aggravates IL-22-induced keratinocyte proliferation and cytokine level increases and IMQ-induced psoriasis-like dermatitis[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2023, 1870(8): 119525.
- [16] Shi Q, Luo J, Chen W, *et al*. Circ\_0060531 knockdown ameliorates IL-22-induced keratinocyte damage by binding to miR-330-5p to decrease GAB1 expression[J]. *Autoimmunity*, 2022, 55(4): 243-253.
- [17] Xia P, Pasquali L, Gao C, *et al*. miR-378a regulates keratinocyte responsiveness to interleukin-17A in psoriasis[J]. *Br J Dermatol*, 2022, 187(2): 211-222.
- [18] Du S, Qu H, Zhang Y, *et al*. MiR-375 promotes cisplatin sensitivity of lung adenocarcinoma[J]. *Pathol Res Pract*, 2023, 249(1): 154765.
- [19] Sun X, Mi L, Du G, *et al*. Platelet-rich plasma treatment alleviates osteoarthritis-related pain, inflammation, and apoptosis by upregulating the expression levels of microRNA-375 and microRNA-337[J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2022, 44(1): 87-98.
- [20] Zhang Z, Li M, Sun T, *et al*. FOXM1: functional roles of FOXM1 in non-malignant diseases[J]. *Biomolecules*, 2023, 13(5): 857.
- [21] Zhao Z, Cheng J, Hou Q, *et al*. Role of FOXM1 and AURKB in regulating keratinocyte function in psoriasis[J]. *Open Med (Wars)*, 2024, 19(1): 20241049.
- [22] Li X, Chen F, Ju J, *et al*. Long non-coding RNA-GDA-1 promotes keratinocyte proliferation and psoriasis inflammation by regulating the STAT3/NF- $\kappa$ B signaling pathway *via* forkhead box M1[J]. *Inflammation*, 2023, 46(4): 1209-1220.
- [23] 李捷, 陈琳, 李居峰, 等. miR-557 靶向 FOXM1 对银屑病角质形成细胞增殖和凋亡的影响[J]. *中国皮肤性病学杂志*, 2020, 34(12): 7.
- [24] 金墨, 刘钟, 彭静, 等. miR-125a-3p 靶向 FOXM1 调控银屑病大鼠皮肤损伤和炎症反应的作用机制[J]. *中国免疫学杂志*, 2024, 40(12): 2531-2536.

(责任编辑: 蒋铭敏)