

文章编号 1006-8147(2017)04-0383-03

综述

特应性皮炎小鼠模型研究进展

王俊霞, 杨子微 综述, 车雅敏 审校

(天津医科大学总医院皮肤科, 天津 300070)

中图分类号 R758.2

文献标志码 A

特应性皮炎(atopic dermatitis, AD)是一种慢性、复发性、炎症性皮肤病,多数伴瘙痒^[1]。发达国家发病率较高,近年来我国的发病率也明显上升^[2]。AD的发生与皮肤屏障功能障碍、异常的免疫机制、及金黄色葡萄球菌感染等多种内外因素相关^[3],研究表明,丝聚合蛋白基因突变是AD产生的先决条件,大多数欧洲AD患者染色体有丝聚合蛋白基因突变,导致皮肤屏障功能异常^[4]。为进一步研究AD的发病机制,开发更好的临床治疗方案,动物实验成为研究AD必不可少的方式,常用的动物有小鼠、大鼠、豚鼠等,其中小鼠由于价格低廉、容易购得、喂养条件较低、模型更接近人类,成为研究AD发病机制常用的动物模型。以下几种常用的小鼠模型。

1 按诱导方式

1.1 转基因型AD模型

1.1.1 IL-4转基因小鼠AD模型 研究发现IL-4转基因小鼠在几个月时便可自发出现皮肤干燥、丘疹、结痂、苔癣样变、伴剧烈瘙痒。皮肤病理早期表现为角化过度,晚期可出现角化不全。免疫病理显示Th2型细胞因子首先升高引起AD的初期表现,随后Th1型细胞因子升高参与了AD的进展期,且IL-4转基因小鼠皮肤屏障功能受损,金葡菌感染率增加^[5]。

1.1.2 IL-18转基因小鼠AD模型 IL-18是一种促炎因子,促进肥大细胞等分泌Th2细胞因子,有研究发现角质形成细胞表达的IL-18导入C57BL/6小鼠产生KIL-18Tg小鼠,该小鼠过度表达IL-18。将CASP1基因导入C57BL/6小鼠产生Kcasp1Tg小鼠,该小鼠过度表达casp1。虽然两种小鼠血清IgE、组胺均升高,但Kcasp1Tg小鼠未出现皮炎^[6]。

1.1.3 IL-31转基因小鼠AD模型 IL-31是TH₂细胞产生的一种细胞因子,在AD患者皮损处IL-31呈高表达。IL-31可以通过激活嗜酸性粒细胞诱导小鼠产生AD皮损。将IL-31基因导入小鼠产生

IL-31小鼠,该小鼠于6周左右出现瘙痒、红斑、丘疹、结痂等AD表现,6个月反应最明显。但是这种变化不依赖IgE以及T细胞。为我们研究AD开发了一个新思路^[7]。

1.1.4 人类转脂蛋白C1(APOC1)转基因小鼠AD模型 报道称将APOC1基因转入小鼠形成的APOC1Tg小鼠,随着胎龄的增长可自发出现皮肤结痂、瘙痒、苔癣样变等AD样皮损,伴血清IgE升高、嗜酸性粒细胞等炎性细胞浸润。其机制可能是APOC1影响表皮脂代谢,使皮肤屏障功能受损^[8]。使用一些改善皮肤屏障功能的药物,可减轻皮肤的炎症状态。

1.1.5 TSLP转基因小鼠模型 TSLP在变态反应性疾病中高表达,研究显示TSLP高表达的BALB/C转基因小鼠第2周出现红斑、干燥等轻度AD样皮损,3~4周加重。病理显示棘层肥厚。血清IgE升高,Th2型细胞因子占优势^[9]。另一项研究表明RXR α / β 基因缺失小鼠通过诱导TSLP高表达造成小鼠AD样皮损^[10]。

1.1.6 SCCE(激肽释放酶7)转基因小鼠AD模型 SCCE属于丝氨酸蛋白酶家族,研究发现SCCE转基因小鼠第7周出现红斑、结痂等AD样皮损,病理显示角化过度。第11周皮损呈进展期表现,瘙痒越来越重,使用抗组胺药物几乎没有效果^[11]。进一步研究发现SCCE可能通过破坏皮肤屏障功能导致AD样皮损^[12]。

1.1.7 CTSS(半胱氨酸蛋白酶组织蛋白酶S)过表达转基因小鼠AD模型 CTSS是一种与瘙痒症状有关的蛋白酶激活受体,参与体内配体-受体信号级联反应。有研究表明,CTSS过表达的Tg小鼠可发生Th1型细胞因子升高为主的慢性AD^[13]。

1.2 基因缺失或敲除型AD模型

1.2.1 RelB基因缺陷小鼠AD模型 RelB基因是一种表达于淋巴细胞、树突状细胞,与应激等相关的基因,属核因子家族。RelB基因缺陷小鼠可自发产生AD样皮损,皮肤红斑、结痂。病理显示角质层

肥厚,嗜酸性粒细胞等炎性细胞增多,血清 IgE 增高,但不伴瘙痒^[14]。该基因缺陷小鼠与缺乏外周 T 淋巴细胞的 nur77 转基因小鼠杂交,可明显减轻皮肤的炎症反应。由此可推测,RelB 基因通过 T 淋巴细胞发挥作用。

1.2.2 catE 缺乏小鼠 AD 模型 catE 是存在于免疫系统的一种蛋白酶,敲除 catE 基因的 C57BL/6 小鼠可自发出现皮肤干燥、脱毛、湿疹样变等 AD 样皮损,血清 IgE 升高,IL-18、IL-1 β 等 Th2 细胞因子升高,金黄色葡萄球菌感染率增加,研究发现 catE 主要通过调节巨噬细胞功能发挥作用^[15]。

1.2.3 STAT6(信号转导和转录激活因子)缺失小鼠 AD 模型 STAT6 是 IL-4、IL-13 的激活因子。研究发现敲除 STAT6 基因的 NC/Nga 小鼠可出现非 Th2 增高型 AD 样皮损。表现为血清 IFN- γ 、IL-12 增高。另一项研究中对 IL-13 转基因小鼠使用抑制 IL-13 的药物,AD 样皮损明显见好^[16]。可见,AD 可由 IL-13 介导。

1.2.4 IL-10 基因敲除小鼠 AD 模型 IL-10 是一种抑制炎症因子的细胞因子,敲除 IL-10 基因的小鼠表现出更严重的 AD 样皮损。提示 IL-10 可作为研究 AD 治疗药物的一个出发点。IL-10 可通过抑制 Th2 细胞释放炎症因子来抑制免疫反应^[17]。

1.3 自发性 AD 模型

1.3.1 NC/Nga 小鼠 AD 模型 NC/Nga 小鼠由日本学者近藤恭司于 1957 年用 Nishiki 宠物鼠培育形成的^[18],该鼠可在普通饲养环境下自发出现角质层增厚、淋巴细胞等免疫细胞浸润等 AD 样表现,是目前认为最好的自发性 AD 小鼠模型之一。但由于费用较高,该模型没有被广泛应用^[19]。

1.3.2 DS-NH(DS-无毛型)小鼠 AD 模型 DS-NH 小鼠是日本东京中央实验动物研究所培育出的在自然条件下可以自发产生 AD 的一种小鼠^[20]。进一步研究血清中 IgE、IL-4 水平升高,肥大细胞、CD4⁺T 细胞水平也升高,且搔抓行为进行性加重。但是目前,该小鼠还不是研究 AD 最首选的模型,只适合金黄色葡萄球菌致敏的 AD 模型。

1.3.3 NOA 小鼠模型 由 Watanabe 等^[21]在 1999 年培育的一种小鼠,可表现出瘙痒、渗出、脱毛等表现,且伴血清 IgE 水平升高,但缺乏经典人类 AD 组织学特征。

1.3.4 鳞尾鼠模型 该小鼠由自然突变而来,伴丝聚合蛋白基因表达异常,导致皮肤屏障功能受损,于第 28 周自发出现 AD 样皮肤,以 Th2 型细胞因子增高为主,伴血清 IgE 升高,之后呈进展期,于第 32 周

皮损表现最突出^[22]。

2 按致敏物分

2.1 二硝基氯苯(DNCB) DNCB 是一种半抗原,与皮肤表面蛋白结合形成抗原^[23],激活 T 淋巴细胞形成致敏 T 淋巴细胞,当 DNCB 再次进入时可与致敏 T 淋巴细胞结合,使 BALB/c 小鼠出现 AD 样皮损^[24],一般以丙酮:橄榄油(4:1)作为溶剂配制而成,浓度为 1%、0.5%,大约用药后 4 周左右出现 AD 样皮损^[25],因为造模简单、可重复性强临床较为常用。

2.2 卵清蛋白(OVA) 1998 年发现的一种造模方法,将去毛的 BALB/c 等小鼠在胶带反复粘几次后用含 OVA 的纱布接触致敏^[26],可出现表皮增厚、淋巴细胞浸润、Th2 型细胞因子增加为主的 AD^[27]。后来发现,经腹腔注射结合局部致敏,效果更好。

2.3 粉尘螨 2003 年,有学者用重组螨变应原诱导 BALB/c 小鼠,可产生 Th2 型细胞因子增高型 AD。2009 年,有人用尘螨提取物刺激 NA/Nga 小鼠,产生淋巴细胞等浸润表现^[28]。

2.4 超抗原 AD 患者较普通人更容易感染金葡菌,皮损处的大多数金葡菌可产生具有超抗原特性的外毒素,只需要超低浓度便可引起致敏反应。有人将外毒素致敏皮肤,可引起皮肤 Th₂ 型炎症反应,类似 AD^[29]。

2.5 食物 研究发现用花生或牛奶与佐剂霍乱菌素混合给雌性 C3H/HeJ 灌胃,可使小鼠皮肤致敏,出现淋巴细胞、嗜酸性粒细胞等增多,类似于人的 AD 皮损。可以为研究 AD 提供一个模型^[30]。

2.6 混合致敏原 近年来为了更快、更好地得到小鼠 AD 模型,有研究者试着将两种不同的致敏原一起作用于同一小鼠。如 DNCB 与尘螨提取物一起致敏小鼠。KawaKami 将尘螨提取物和葡萄球菌肠毒素 B 一起经皮肤致敏小鼠,可产生伴血清 IgE 增高的 AD 样皮损。该方法具有广泛实用价值。

3 小结

综上所述,不同途径以及不同种属建立的 AD 模型各有利弊,基因修饰小鼠模型目的性强,适用于针对性研究,但对技术要求高,不可作为常用研究方法。半抗原小鼠模型造模简单、可重复性高是常用的 AD 小鼠模型之一。BALB/c 小鼠基因纯,昆明小鼠饲养条件简单是 AD 模型常用的小鼠,但这两种小鼠模型的病理特征不明显。自发性模型特征性强,但价格高不易获得。其它现有模型也均存在缺点,希望未来能有更好的方式来诱导小鼠产生 AD 模型,为 AD 的发病机制及治疗开发新途径。

参考文献:

- [1] Proksch E, Brandner J, Jensen J. The skin: an indispensable barrier[J]. *Exp Dermatol*, 2008,17(12):1063
- [2] Flohr C, Mann J. New insights into the epidemiology of childhood atopic dermatitis[J]. *Allergy*, 2014,69(1):3
- [3] Xu F, Yan S, Li F, et al. Prevalence of childhood atopic dermatitis: an urban and rural community-based study in Shanghai, China[J]. *PLoS One*, 2012,7(5):e36174
- [4] Weidinger S, Novak N. Atopic dermatitis[J]. *Lancet*, 2015, S0140-6736(15): 149
- [5] 林颖,陈达灿,陈淑慧,等. 特应性皮炎皮损处金黄色葡萄球菌定植情况和药敏分析[J]. *广东医学*, 2011,32(9):1140
- [6] Darling A, Freyschmidt E, Burton O, et al. IL-10 suppresses IL-17-mediated dermal inflammation and reduces the systemic burden of Vaccinia virus in a mouse model of eczema vaccinatum[J]. *Clin Immunol*, 2014,150(2):153
- [7] Brandt E B, Sivaprasad U. Th2 cytokines and atopic dermatitis[J]. *J Clin Cell Immunol*, 2011,2(3):110
- [8] Oranje A, Verbeek R, Verzaal P, et al. Wet-wrap treatment using dilutions of tacrolimus ointment and fluticasone propionate cream in human APOC1 (+/+) mice with atopic dermatitis[J]. *Br J Dermatol*, 2009,160(1):54
- [9] Ito T, Liu Y, Arima K. Cellular and molecular mechanisms of TSLP function in human allergic disorders—TSLP programs the Th2 code in dendritic cells[J]. *Allergol Int*, 2012,61(1):35
- [10] Comeau M, Ziegler S. The influence of TSLP on the allergic response[J]. *Mucosal Immunol*, 2010,3(2):138
- [11] Hansson L, Bäckman A, Ny A, et al. Epidermal overexpression of stratum corneum chymotryptic enzyme in mice: a model for chronic itchy dermatitis[J]. *J Invest Dermatol*, 2002,118(3):444
- [12] Kim N, Bae K, Kim M, et al. Overexpression of cathepsin S induces chronic atopic dermatitis in mice[J]. *J Invest Dermatol*, 2012,132 (4): 1169
- [13] De Stefano D. Oligonucleotides decoy to NF- κ B: becoming a reality[J]. *Discov Med*, 2011,12(63):97
- [14] Tsukuba T, Yanagawa M, Okamoto K, et al. Impaired chemotaxis and cell adhesion due to decrease in several cell-surface receptors in cathepsin E-deficient macrophages[J]. *J Biochem*, 2009,145(5): 565
- [15] Oh M, Oh S, Lu J, et al. TRPA1-dependent pruritus in IL-13-induced chronic atopic dermatitis[J]. *J Immunol*, 2013,191(11):5371
- [16] Tsuji T, Okuno S, Kuroda A, et al. Therapeutic approach to mite-induced intractable dermatitis using novel immunomodulator FTY720 ointment (fingolimod) in NC/Nga mice[J]. *Allergol Int*, 2016,65(2): 172
- [17] Oranje A, Verbeek R, Verzaal P, et al. Wet-wrap treatment using dilutions of tacrolimus ointment and fluticasone propionate cream in human APOC1 (+/+) mice with atopic dermatitis[J]. *Br J Dermatol*, 2009,160(1):54
- [18] 李云珠,李邻峰. 特应性皮炎动物模型研究进展[J]. *中国医学文摘(皮肤科学)*, 2016,33(2):138
- [19] Mitsuishi T, Kabashima K, Tanizaki H, et al. Specific substance of Maruyama (SSM) suppresses immune responses in atopic dermatitis-like skin lesions in DS-Nh mice by modulating dendritic cell functions[J]. *J Dermatol Sci*, 2011, 63(3):184
- [20] Sasaki T, Shiohama A, Amagai M. Mouse models for spontaneous dermatitis due to impaired skin barrier formation[J]. *Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi*, 2014,37(3):160
- [21] Watanabe O, Tamari M, Natori K, et al. Loci on murine chromosomes 7 and 13 that modify the phenotype of the NOA mouse, an animal model of atopic dermatitis[J]. *J Hum Genet*, 2001,46(4):221
- [22] 莫俊奎,周继昌,刘小立,等. DNCB 致敏诱导 BALB/c 小鼠特应性皮炎模型的建立[J]. *中国热带医学*, 2013,13(12):1439
- [23] Li Y, Lu X, Jiang W, et al. Anti-inflammatory effect of qingpeng ointment in atopic dermatitis-like murine model[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013:907016
- [24] 李覃,高颖,曹波,等. 变态反应性接触性皮炎体内模型制作探讨[J]. *武警医学*, 2013,24(10):849
- [25] Kim B S, Choi J K, Jung H J, et al. Effects of topical application of a recombinant staphylococcal enterotoxin A on DNCB and dust mite extract-induced atopic dermatitis-like lesions in a murine model[J]. *Eur J Dermatol*, 2014,24(2):186
- [26] 胡佳,张美华,毕志刚,等. 卵清蛋白经皮致敏诱发 BALB/c 小鼠特应性皮炎样病变的探讨[J]. *临床皮肤科杂志*, 2006,35(6):373
- [27] 何荣国,伍绍国,邬运学,等. 神经生长因子在特应性皮炎小鼠模型 Th1/Th2 类细胞因子免疫失衡中的作用[J]. *中国皮肤性病学杂志*, 2010,24(2):109
- [28] Kawakami Y, Yumoto K, Kawakami T. An improved mouse model of atopic dermatitis and suppression of skin lesions by an inhibitor of Tec family kinases[J]. *Allergol Int*, 2007,56(4):403
- [29] Li X, Kleiner G, Huang C, et al. Murine model of atopic dermatitis associated with food hypersensitivity[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2001, 107(4):693
- [30] 王燕,赵京霞,刘欣,等. 特应性皮炎动物模型研究进展[J]. *中国皮肤性病学杂志*, 2013(6):626

(2016-08-25 收稿)