

【引文格式】李瑶,孙乐栋.表皮角质层屏障功能与特应性皮炎相关研究进展[J].皮肤性病诊疗学杂志,2020,27(1):61-64. DOI:10.3969/j.issn.1674-8468.2020.01.018.

· 综述 ·

表皮角质层屏障功能与特应性皮炎相关研究进展

李瑶, 孙乐栋

(南方医科大学珠江医院皮肤性病科,广东 广州 510280)

【摘要】皮肤持续暴露于外界病原体,其屏障功能对皮肤的稳态至关重要。既往研究表明,屏障功能的紊乱和缺陷是特应性皮炎重要的发病机制之一。本文从角质层屏障以下几个方面进行概述:①丝聚蛋白减少;②脂质改变;③角质化包膜形成异常;④角质细胞的脱落失衡;⑤皮肤微生物区的变化,总结了表皮角质层是如何形成的,并回顾了它与特应性皮炎病理机制的联系。

【关键词】特应性皮炎; 角质形成细胞; 角质层; 皮肤屏障; 炎症

【中图分类号】R758.2 【文献标识码】A DOI:10.3969/j.issn.1674-8468.2020.01.018

皮肤是覆盖于人体最外层的屏障,其独特的结构保护人体免受外界抗原的入侵,是人体最大的器官。表皮作为皮肤的最外层,其最上层的角质层于皮肤屏障功能的重要性不言而喻。

特应性皮炎(atopic dermatitis, AD)是一种以湿疹样皮损、异常干燥、顽固性瘙痒为主要临床表现的慢性、反复发作性、炎症性疾病。越来越多的研究表明,皮肤屏障的改变是AD的一个重要特征,也与其发病机制有密切联系。了解皮肤屏障的异常改变在AD发病中的作用有助于进一步确定适当的屏障修复策略。

1 角质层的形成

表皮细胞中,角质形成细胞占80%以上,在分化的过程中产生角蛋白、黏多糖等以维持皮肤的正常渗透。经过一系列分化过程,由最初的基底层逐渐演变到最外的角质层,构成了其独特的多层结构。角质层(stratum corneum, SC)由角质形成细胞经过一系列严格调控的角化作用形成。在颗粒层时,角质形成细胞产生角质透明蛋白颗粒和板层体,角质透明蛋白颗粒含有FLG、loricrin和角蛋白丝等SC的细胞内成分,而板层体含有脂质等SC的细胞外成分。在SC中,角质形成细胞去核并扁平化,垂直堆积,嵌入膨胀的细胞外基质中,此时在SC中已去核的角质形成细胞被称为角质细胞,角质细胞的细胞膜被角质化包膜替代。板层体分泌脂质到角质细胞的细胞间隙中并进行填

充。SC结构常被描述为类似于砖块和灰浆,其中角质细胞为砖块,细胞间脂质层为灰浆。正常的屏障结构一方面可以保护机体免受外界环境的有害刺激,另一方面可以阻止组织内水分等重要成分的丧失。在AD患者的皮损及非皮损部位,角质层结构蛋白异常、脂质减少、通透性增加、经表皮水分丢失量增加而水合作用下降,皮肤屏障功能出现异常^[1-2]。

2 关键结构蛋白——丝聚蛋白在AD中表达减少

丝聚蛋白(Filaggrin, FLG)是一种结构蛋白,是形成角化包膜和维持细胞间凝聚力的基础^[3]。丝聚合蛋白原是富含组氨酸的高度磷酸化的多肽,在颗粒层/角质层的界面上,丝聚合蛋白原被去磷酸化并水解加工成多种丝聚蛋白单体,这些单体与角蛋白丝结合并聚集到角质细胞骨架内的角蛋白原纤维中,从而有助于角质层的机械强度和完整性^[4]。

FLG的分解产生丙氨酸、吡咯烷酮羧酸和咪唑丙烯酸等亲水性氨基酸,这些天然保湿因子(natural moisturizing factor, NMFs)在维持SC的水合作用和表面pH值起着关键作用,也可调节与脱皮、屏障通透性和抗菌肽的产生有关的蛋白酶的活性^[3,5]。此外,NMFs通过与角蛋白和角蛋白丝的相互作用维持皮肤的弹性^[4]。因此,临床上常可观察到AD患者的皮肤干燥,且柔韧性减低。FLG缺乏导致表皮pH值升高,促进丝氨酸蛋白酶活性,降解SC桥粒,抑制神经酰胺(ceramide, CER)的产生,角化包膜的形成存在缺陷;还导致角质细胞水合减少,水分过多流失,造

成干燥、鱼鳞状的皮肤表现^[6]。一个或两个 FLG 等位基因的遗传缺失或突变导致表皮 FLG 减少(杂合)或完全缺失(纯合)^[7]。在 FLG -/- 基因型小鼠模型中, ILC2s 数量显著增加, 出现自发性的 AD 样炎症, 并损害肺功能^[8]。在中度至重度的 AD 病例中, 大约 50% 归因于 FLG 基因突变^[9]。除了遗传变异外, IL-4、IL-13 等 TH2 细胞因子和外界环境因子也可下调 FLG 的表达。与 FLG 水平正常的人相比, FLG 水平降低的人更早地出现 AD 症状且时间更为持久^[10]。这说明了角质层丝聚蛋白获得性缺失在 AD 发病机制中的重要性^[11]。

3 重要组分——脂质在 AD 中的量变和质变

CER、胆固醇及游离脂肪酸(free fat acid, FFA)是角质层的主要脂质。CER 含量最多, 是脂质基质的重要组成部分, 有助于预防表皮水分流失。CER 的数量和其链长对脂质双层结构和皮肤屏障功能至关重要。研究表明, 炎症细胞因子降低了 CER 合成酶的表达。

在 AD 中, CER 含量降低且短链 CER 比例上升^[12], 这与脂质组织异常和皮肤屏障功能下降有关。角质层脂质特性的变化与疾病严重程度相关。研究发现, CER 链长变短加剧皮肤表面水分流失, 对屏障功能的影响远大于 CER 亚类的变化所造成的影响^[13]。

同样, FFA 链的长度也影响脂质基质的构象顺序。长链脂肪酸有助于维持 SC 结构, 而短链脂肪酸则破坏脂质晶格^[14]。AD 病变内的脂质失衡是由 Th2 反应诱导的延长酶的表达下调引起的, 而延长酶是 FA 链延长的关键酶^[14-15]。

FLG 的分解产物有助于维持 SC 的酸性 pH 值, 而 SC 的酸性 pH 值反过来又调节参与合成 CER 的各种酶的活性^[7]。那么 SC 脂质是否受 FLG 基因型的影响成为一个问题。在 AD 患者中, 根据 FLG 基因进行细分, 发现 SC 脂质组成没有显著差异。FLG 基因突变对 SC 脂质没有直接影响, 而可能是通过影响丝聚蛋白表达的其他因素来间接影响 SC 脂质^[13]。炎症、丝聚蛋白、SC 脂质和延长酶活性之间的相互作用还需要进一步的研究。

4 角质化包膜在 AD 中的异常形成

角质化包膜(cornified envelope, CE)是一种坚韧的蛋白质脂质聚合物屏障结构, 形成于细胞质膜下方, 位于角质细胞的表面^[16]。它由高度交联的不溶性蛋白和附着在其上的细胞外脂质组成, 是 SC 的一个重要物理屏障。细胞内 Ca^{2+} 的增加会诱导表皮角质细胞的终末分化, 其主要靶标是谷氨酰胺转胺酶(TGase)。随着细胞内 Ca^{2+} 水平的升高, 角质形成细胞产生 envoplakin、periplakin 和 involucrin 等蛋白, 并通过 TG1 和 TG5 相互交联, 同时为角蛋白丝和桥粒蛋白提供结合位点, 增强了角质细胞的机械

强度。此外, 来自颗粒层的 loricrin 和富含脯氨酸的小蛋白家族, 通过谷氨酰胺转胺酶等的作用, 最终与角质化包膜中的 involucrin 支架紧密交联, 进一步增强了 CE 的机械稳定性。除了 envoplakin、periplakin、involucrin、loricrin 和角蛋白丝等相关蛋白, TG1 还将细胞外神经酰胺等脂质结合到 involucrin 的支架上^[16-17]。

编码 CE 蛋白的基因聚集在位于 1q21 号染色体上的表皮分化复合体(epidermal differentiation complex, EDC)中^[18]。EDC 基因包括 S100A 家族、loricrin、involucrin、SPRR 角化包膜前体蛋白家族和 S100 融合型蛋白^[16]。多数 EDC 基因显示出高度同源的序列相似性, 表明 CE 由“冗余”机制组成, 即一个 EDC 蛋白的缺失可以由其他蛋白表达的增加来进行补偿^[18]。编码 envoplakin、periplakin、involucrin 等基因的单基因敲除小鼠没有表现出任何异常的表皮表型。这三个基因的三重敲除导致角质化包膜的超微结构异常、脂质含量下降、蛋白酶的表达降低, 使表皮屏障功能缺陷^[19]。在特应性皮炎中, 角化包膜蛋白的表达发生改变, 如 involucrin 和 loricrin, 以及 S100 蛋白的表达减少。SPRR3 是一种 CE 前体蛋白, 在 AD 皮损中表达减少, 其可能通过改变角质化包膜支架, 损害脂质, 使角质化包膜变薄。SPRR3 的 mRNA 水平下降与 AD 的早期发作有关, AD 病程较重的患者病灶皮肤的 SPRR3 蛋白水平低于病程较轻的 AD 患者^[17]。结构研究表明, 特应性皮炎的 SC 内聚性差, 不仅与 SPRR 缺陷有关, 还与其他几个 CE 前体缺陷有关。

5 SC 的脱屑过程及其相关调控蛋白在 AD 中活性异常

在 SC 的表层, 角质细胞不断脱落, 这种现象被称为脱屑。细胞角质化和脱屑的过程必须相互协调进行, 以维持适当的 SC 厚度。这种连续不断的脱落过程有助于清除有害微生物或传染性病毒。角质层中胆固醇硫酸盐对角质细胞脱屑有重要作用, 过量的胆固醇硫酸盐抑制脱屑而其水解则促进脱屑。其次, 多种蛋白酶参与调控角质细胞脱屑这一过程, 它们分解连接角质细胞的角化桥粒, 从而使角化细胞从皮肤表面脱落, 其中主要的蛋白酶是激肽释放酶相关肽酶(kallikrein-related peptidase, KLK)。KLK 除了分解角化桥粒钙黏蛋白使角质细胞脱落, 还可激活蛋白酶激活受体-2, 加重皮肤炎症^[20-21]。

KLK 受表面 pH 值的影响, 其活性随表面 pH 值的升高而增强, 同时, KLK 的酶活性也受蛋白酶抑制剂的严格调控, 如 SPINK5 基因编码的丝氨酸蛋白酶抑制剂(LEKTI)。KLK 和 LEKTI 储存在板层体中, 从颗粒层逐渐释放到角质层细胞间质中相互作用。在英国和亚洲人群中, SPINK5 基因多态性与 AD 存在显著的相关性^[22-23]。部分 AD 患者存在 SPINK5 基因突变导致 LEKTI 缺失, KLK5、KLK7 活性增强, 表皮过度脱落。在 SPINK5 基因敲除小

鼠的SC中发现KLK5活性升高,CDSN降解增加,小鼠表皮屏障功能缺陷^[24]。蛋白酶及其抑制剂共同作用维持着表皮角质层正常的脱屑过程,进而保护了表皮屏障的动态平衡状态^[25]。

6 AD 皮肤微生物区的生态紊乱

皮肤为各种微生物提供了生态位,通过Th17细胞免疫反应和抗菌肽(antimicrobial peptides, AMPs)的分泌来滋养共生菌群并阻止病原菌的生长,多种微生物的相互平衡可以维持皮肤的正常状态^[26]。皮肤微生物的生态失衡是AD的一个标志。AD患者皮肤细菌的多样性随着金黄色葡萄球菌的增加和表皮葡萄球菌的减少而降低^[27]。皮肤微生物区的这种变化可能与皮肤保护机制的缺陷有关。

AMPs在皮肤免疫防御系统中具有重要意义,可直接杀伤病原体、促进伤口愈合、细胞分化和再上皮化,调节宿主的炎症反应,与皮肤菌群协同相互作用,在维持皮肤屏障功能方面起着至关重要的作用^[28]。皮肤中AMP的主要细胞来源是角质形成细胞、肥大细胞、嗜中性粒细胞、皮脂腺细胞和外分泌腺的上皮细胞,构成了主要的抗菌防御机制。其中HBD-2和IL-37是主要的AMP,具有广谱抗菌活性^[29]。在特异性皮炎的皮肤病灶处,角质形成细胞内抗菌肽的产生是受抑制的^[29]。与cathelin相关抗菌肽的敲除小鼠表现出通透性屏障恢复的延迟^[30]。

AD患者皮肤的AMP生成量显著降低,Nomura等^[31]提出AMP的减少是由Th2细胞因子IL-4和IL-13对其的抑制作用引起。AMP的减少降低了AD患者皮肤屏障的抗菌功能,导致皮肤对金黄色葡萄球菌等致病菌的敏感性增加^[32]。而金黄色葡萄球菌产生的丝氨酸蛋白酶能够消化上皮屏障,释放肠毒素,并诱导促炎细胞因子如IL-4、IL-12和IL-22的分泌,导致AMP水平的进一步下降^[10,33]。

除了金黄色葡萄球菌的高定植率外,AD患者还容易并发皮肤的病毒性感染。LL-37是皮肤中一种重要的AMP,具有抗病毒活性^[34]。LL-37缺陷的小鼠皮肤中HSV-2的复制活跃^[35]。在AD患者中,LL-37水平越低的患者越容易并发疱疹性皮炎^[36]。此外,马拉色菌感染也容易发生于AD患者^[37]。

除了抗菌肽的减少外,皮肤表面pH值升高,FFA、神经酰胺代谢物和鞘氨醇等抗菌活性物质的减少也使AD患者皮肤感染的风险增高。

7 结语

特异性皮炎发病机制复杂,涉及免疫、环境和遗传等多方面因素。其中,皮肤屏障功能异常与AD的发病有密不可分的关系,也是AD发病的研究热点之一。FLG等蛋白表达的异常、细胞间脂质含量的下降、角质化包膜的异常结构和角质细胞的反常脱落都可以引起表皮角质层屏

障功能的变化,进而引发或促进AD的发生和发展。深入了解表皮角质层屏障功能在AD中的作用可为今后的研究和治疗提供新的思路。

[参考文献]

- [1] EGAWA G. Pathomechanism of "skin-originated" allergic diseases[J]. Immunol Med, 2018, 41(4):170-176.
- [2] MATSUI T, AMAGAI M. Dissecting the formation, structure and barrier function of the stratum corneum[J]. Int Immunol, 2015, 27(6):269-280.
- [3] MCALEER M A, IRVINE A D. The multifunctional role of filaggrin in allergic skin disease[J]. J Allergy Clin Immunol, 2013, 131(2):280-291.
- [4] LEE H J, LEE S H. Epidermal permeability barrier defects and barrier repair therapy in atopic dermatitis[J]. Allergy Asthma Immunol Res, 2014, 6(4):276-287.
- [5] HARDING C R, AHO S, BOSKO C A. Filaggrin-revisited[J]. Int J Cosmet Sci, 2013, 35(5):412-423.
- [6] HON K L, LEUNG A K, BARANKIN B. Barrier repair therapy in atopic dermatitis: an overview[J]. Am J Clin Dermatol, 2013, 14(5):389-399.
- [7] THYSSEN J P, KEZIC S. Causes of epidermal filaggrin reduction and their role in the pathogenesis of atopic dermatitis[J]. J Allergy Clin Immunol, 2014, 134(4):792-799.
- [8] SAUNDERS S P, MORAN T, FLOUDAS A, et al. Spontaneous atopic dermatitis is mediated by innate immunity, with the secondary lung inflammation of the atopic march requiring adaptive immunity[J]. J Allergy Clin Immunol, 2016, 137(2):482-491.
- [9] KEZIC S, JAKASA I. Filaggrin and skin barrier function[J]. Curr Probl Dermatol, 2016, 49:1-7.
- [10] LEUNG D Y, GUTTMAN-YASSKTY E. Deciphering the complexities of atopic dermatitis: shifting paradigms in treatment approaches[J]. J Allergy Clin Immunol, 2014, 134(4):769-779.
- [11] 张芳芳,车雅敏,傅志宜. Filaggrin和Caspase-14在皮肤屏障中的作用[J]. 皮肤性病诊疗学杂志, 2012, 19(2):114-117.
- [12] JOO K M, HWANG J H, BAE S, et al. Relationship of ceramide-, and free fatty acid-cholesterol ratios in the stratum corneum with skin barrier function of normal, atopic dermatitis lesional and non-lesional skins[J]. J Dermatol Sci, 2015, 77(1):71-74.
- [13] JANSSENS M, VAN SMEDEN J, GOORIS G S, et al. Increase in short-chain ceramides correlates with an al-

- tered lipid organization and decreased barrier function in atopic eczema patients[J]. *J Lipid Res*, 2012, 53(12): 2755-2766.
- [14] VAN SMEDEN J, JANSSENS M, KAYE E C, et al. The importance of free fatty acid chain length for the skin barrier function in atopic eczema patients[J]. *Exp Dermatol*, 2014, 23(1):45-52.
- [15] PARK Y H, JANG W H, SEO J A, et al. Decrease of ceramides with very long-chain fatty acids and downregulation of elongases in a murine atopic dermatitis model [J]. *J Invest Dermatol*, 2012, 132(2):476-479.
- [16] PROKSCH E, BRANDNER J M, JENSEN J M. The skin: an indispensable barrier[J]. *Exp Dermatol*, 2008, 17(12):1063-1072.
- [17] EGAWA G, KABASHIMA K. Barrier dysfunction in the skin allergy[J]. *Allergol Int*, 2018, 67(1):3-11.
- [18] COOKSON W. The immunogenetics of asthma and eczema: a new focus on the epithelium[J]. *Nat Rev Immunol*, 2004, 4(12):978-988.
- [19] SEVILLA L M, NACHAT R, GROOT K R, et al. Mice deficient in involucrin, envoplakin, and periplakin have a defective epidermal barrier[J]. *J Cell Biol*, 2007, 179(7):1599-1612.
- [20] TRZECIAK M, SAKOWICZ-BURKIEWICZ M, WESERLING M, et al. Expression of cornified envelope proteins in skin and its relationship with atopic dermatitis phenotype[J]. *Acta Derm Venereol*, 2017, 97(1):36-41.
- [21] HACHEM J P, MAN M Q, CRUMRINE D, et al. Sustained serine proteases activity by prolonged increase in pH leads to degradation of lipid processing enzymes and profound alterations of barrier function and stratum corneum integrity[J]. *J Invest Dermatol*, 2005, 125(3):510-520.
- [22] KATO A, FUKAI K, OISO N, et al. Association of SPINK5 gene polymorphisms with atopic dermatitis in the Japanese population[J]. *Br J Dermatol*, 2003, 148(4): 665-669.
- [23] ZHAO L P, DI Z, ZHANG L, et al. Association of SPINK5 gene polymorphisms with atopic dermatitis in Northeast China [J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2012, 26(5):572-577.
- [24] DESCARGUES P, DERAISON C, BONNART C, et al. Spink5-deficient mice mimic Netherton syndrome through degradation of desmoglein 1 by epidermal protease hyperactivity[J]. *Nat Genet*, 2005, 37(1):56-65.
- [25] OYOSHI M K, HE R, KUMAR L, et al. Cellular and molecular mechanisms in atopic dermatitis[J]. *Adv Immunol*, 2009, 102:135-226.
- [26] LINEHAN J L, HARRISON O J, HAN S J, et al. Non-classical immunity controls microbiota impact on skin immunity and tissue repair[J]. *Cell*, 2018, 172(4):784-796.
- [27] BJERRE R D, BANDIER J, SKOV L, et al. The role of the skin microbiome in atopic dermatitis: a systematic review[J]. *Br J Dermatol*, 2017, 177(5):1272-1278.
- [28] PATEL S, AKHTAR N. Antimicrobial peptides (AMPs): the quintessential “offense and defense” molecules are more than antimicrobials [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 95:1276-1283.
- [29] WOLF R, WOLF D. Abnormal epidermal barrier in the pathogenesis of atopic dermatitis [J]. *Clin Dermatol*, 2012, 30(3):329-334.
- [30] ABERG K M, MAN M Q, GALLO R L, et al. Co-regulation and interdependence of the mammalian epidermal permeability and antimicrobial barriers[J]. *J Invest Dermatol*, 2008, 128(4):917-925.
- [31] NOMURA I, GOLEVA E, HOWELL M D, et al. Cytokine milieu of atopic dermatitis, as compared to psoriasis, skin prevents induction of innate immune response genes [J]. *J Immunol*, 2003, 171(6):3262-3269.
- [32] RANGEL S M, PALLER A S. Bacterial colonization, overgrowth, and superinfection in atopic dermatitis [J]. *Clin Dermatol*, 2018, 36(5):641-647.
- [33] NAKATSUJI T, CHEN T H, TWO A M, et al. Staphylococcus aureus exploits epidermal barrier defects in atopic dermatitis to trigger cytokine expression[J]. *J Invest Dermatol*, 2016, 136(11):2192-2200.
- [34] KAHLENBERG J M, KAPLAN M J. Little peptide, big effects: the role of LL-37 in inflammation and autoimmune disease[J]. *J Immunol*, 2013, 191(10):4895-4901.
- [35] Howell M D, Wollenberg A, Gallo R L, et al. Cathelicidin deficiency predisposes to eczema herpeticum [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2006, 117(4):836-841.
- [36] KOPFNAGEL V, HARDER J, WERFEL T. Expression of antimicrobial peptides in atopic dermatitis and possible immunoregulatory functions[J]. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 2013, 13(5):531-536.
- [37] NOWICKA D, NAWROT U. Contribution of Malassezia spp. to the development of atopic dermatitis [J]. *Mycoses*, 2019, 62(7):588-596.