

安徽医科大学学报

Acta Universitatis Medicinalis Anhui

ISSN 1000-1492, CN 34-1065/R

## 《安徽医科大学学报》网络首发论文

题目: PADI4 负向调控中性粒细胞 MMP-14/17/25 表达在系统性红斑狼疮中的机制  
作者: 罗颖, 汪晓庆, 马洁, 周强  
网络首发日期: 2026-07-24  
引用格式: 罗颖, 汪晓庆, 马洁, 周强. PADI4 负向调控中性粒细胞 MMP-14/17/25 表达在系统性红斑狼疮中的机制[J/OL]. 安徽医科大学学报.  
<https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20260723.1713.003>



**网络首发:** 在编辑部工作流程中, 稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定, 且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式(包括网络呈现版式)排版后的稿件, 可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定; 学术研究成果具有创新性、科学性和先进性, 符合编辑部对刊文的录用要求, 不存在学术不端行为及其他侵权行为; 稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准, 正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性, 录用定稿一经发布, 不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容, 只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

**出版确认:** 纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司签约, 在《中国学术期刊(网络版)》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版, 以单篇或整期出版形式, 在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊(网络版)》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物(ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z), 所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

## PADI4 负向调控中性粒细胞 MMP-14/17/25 表达在系统性红斑狼疮中的机制

罗 颖, 汪晓庆, 马 洁, 周 强

(安徽医科大学第二附属医院检验科, 合肥 230601)

**摘要 目的** 探究肽基精氨酸脱亚胺酶 4 (PADI4) 对基质金属蛋白酶 (MMPs) 表达的调控机制及其在系统性红斑狼疮 (SLE) 发展中的潜在作用。**方法** 采用实时荧光定量逆转录聚合酶链反应 (RT-qPCR) 检测 SLE 患者与健康对照 (HC) 组 MMP-14/17/25 的 mRNA 表达水平, 应用酶联免疫吸附实验 (ELISA) 测定其血清蛋白水平。Spearman 秩相关分析评价 MMPs 水平与 SLE 患者临床指标的相关性。利用 PADI4 抑制剂 GSK484 处理原代中性粒细胞, 或在 PADI4 敲减的中性粒细胞样 HL-60 细胞 (dHL-60) 中检测 MMPs 表达水平变化, 并通过细胞划痕实验评估细胞迁移能力。**结果** SLE 患者中性粒细胞 MMP-14/17/25 的 mRNA 表达低于 HC 组 (均  $P<0.01$ )。血清 MMP-14/17/25 表达低于 HC 组 (均  $P<0.01$ )。MMP-14 水平与免疫球蛋白 G (IgG) ( $r=-0.266$ )、免疫球蛋白 A (IgA) ( $r=-0.286$ )、球蛋白 (GLB) ( $r=-0.269$ ) 呈负相关 (均  $P<0.05$ ), MMP-17 水平 ( $r=-0.269$ ) 及 MMP-25 水平 ( $r=-0.244$ ) 与尿蛋白 (UTP) 均呈负相关 (均  $P<0.05$ )。GSK484 (10  $\mu\text{mol/L}$ ) 抑制 PADI4 活性后, 与对照组相比, 中性粒细胞 MMP-14/17/25 蛋白表达水平上调 (均  $P<0.05$ ), 同时细胞划痕迁移率增加 ( $P<0.01$ )。敲减 PADI4 表达后, MMP-14/17/25 mRNA 表达水平较对照组上调 (均  $P<0.05$ )。**结论** MMP-14/17/25 在 SLE 患者中性粒细胞和血清中低表达, 受 PADI4 负向调控。PADI4 可能通过抑制 MMPs 表达削弱细胞迁移功能, 进而参与 SLE 疾病发展。MMPs 或可作为 SLE 病情监测及靶向干预的潜在新靶点。

**关键词** 系统性红斑狼疮; 基质金属蛋白酶; 肽基精氨酸脱亚胺酶 4; 中性粒细胞; 细胞迁移

**中图分类号** R392.9

### Mechanism of PADI4-mediated negative regulation of neutrophil MMP-14/17/25 expression in systemic lupus erythematosus

基金项目: 安徽高校自然科学研究项目 (编号: KJ2021ZD0029); 安徽省高校科研项目 (编号: 2024AH050787)

作者简介: 罗 颖, 女, 硕士研究生;

周 强, 男, 教授, 主任技师, 博士生导师, 通信作者, E-mail: zhouqiang1973@163.com;

马 洁, 女, 博士, 通信作者, E-mail: jiema@connect.hku.hk

Luo Ying, Wang Xiaoqing, Ma Jie, Zhou Qiang

(Department of Clinical Laboratory, the Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University,  
Hefei 230601)

**Abstract Objective** To investigate the regulatory mechanism of peptidylarginine deiminase 4 (PADI4) on matrix metalloproteinase (MMPs) expression and its potential role in the development of systemic lupus erythematosus (SLE). **Methods** The mRNA expression levels of MMP-14/17/25 in SLE patients and healthy controls (HC) were measured by real-time fluorescence quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (RT-qPCR), and their serum protein levels were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Spearman's rank correlation analysis was used to evaluate the correlations between MMPs levels and clinical parameters in SLE patients. Primary neutrophils were treated with the PADI4 inhibitor GSK484, or MMPs expression levels were examined in PADI4-knockdown neutrophil-like HL-60 (dHL-60) cells, and cell migration ability was assessed by wound healing assay. **Results** The mRNA expression levels of MMP-14/17/25 in neutrophils from SLE patients were lower than those in the HC (all  $P < 0.01$ ). Serum levels of these three MMPs were also lower than those in the HC (all  $P < 0.01$ ). MMP-14 levels were negatively correlated with immunoglobulin G (IgG) ( $r = -0.266$ ), immunoglobulin A (IgA) ( $r = -0.286$ ), and globulin (GLB) ( $r = -0.269$ ) (all  $P < 0.05$ ), while both MMP-17 ( $r = -0.269$ ) and MMP-25 ( $r = -0.244$ ) levels were negatively correlated with urinary protein (UTP) (all  $P < 0.05$ ). After treatment with GSK484 (10  $\mu\text{mol/L}$ ) to inhibit PADI4 activity, the protein expression levels of MMP-14/17/25 in neutrophils were higher than those in the Vehicle group (all  $P < 0.05$ ), and the cell migration rate in wound healing assay was also greater than that in the Vehicle group ( $P < 0.01$ ). Furthermore, after knockdown of PADI4 expression, the mRNA expression levels of MMP-14/17/25 were higher than those in the Vehicle group (all  $P < 0.05$ ). **Conclusion** MMP-14/17/25 are downregulated in SLE and negatively regulated by PADI4. PADI4 may contribute to SLE progression by suppressing MMPs expression and neutrophil migration. These findings suggest that MMPs may serve as novel biomarkers and therapeutic targets for SLE.

**Key words** systemic lupus erythematosus; matrix metalloproteinases; peptidyl arginine deiminase 4; neutrophils; cell migration

**Fund programs** Natural Science Research Project of Anhui Educational Committee (No. KJ2021ZD0029); Natural Science Research Project of Anhui Educational Committee (No. 2024AH050787)

**Corresponding authors** Zhou Qiang, E-mail: zhouqiang1973@163.com; Ma Jie, E-mail: jiema@connect.hku.hk

系统性红斑狼疮 (systemic lupus erythematosus, SLE) 是以多系统受累、自身抗体生成及免疫复合物介导的炎症反应为特征的慢性自身免疫病<sup>[1]</sup>, 免疫抑制剂及靶向生物制剂虽改善了部分患者预后, 但发病机制尚未完全阐明, 需寻找新致病分子和干预靶点。基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs) 是一类依赖锌离子的内肽酶, 在细胞外基质降解及细胞迁移调控中发挥重要作用<sup>[2]</sup>。MMPs 在多种自身免疫疾病中异常表达并参与疾病进展: MMP-14 通过促进滑膜细胞侵袭及血管生成加剧类风湿性关节炎关节破坏<sup>[3]</sup>; MMP-25 可作为评估类风湿性关节炎活动度的标志物<sup>[4]</sup>。然而 MMPs 在 SLE 中的表达特征及功能意义尚不明确。

中性粒细胞通过释放胞外诱捕网 (neutrophil extracellular traps, NETs)、定向迁移及分泌细胞因子参与 SLE 免疫应答调控。肽基精氨酸脱亚胺酶 4 (peptidylarginine deiminase 4, PADI4) 是 NETs 形成的关键分子, 在 SLE 中具有促炎作用<sup>[5]</sup>。有研究表明 PADI4 介导的 NETs 影响部分 MMPs 释放<sup>[6]</sup>, 但其是否调控 MMP-14/17/25 表达并影响细胞迁移, 尚缺乏直接证据。本研究拟探讨 PADI4 对上述 MMPs 表达及中性粒细胞迁移功能的影响, 以期阐明 SLE 发病机制及筛选潜在干预靶点提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 病例资料

选取 2024 年 9 月—2025 年 5 月在安徽医科大学第二附属医院就诊的 SLE 患者 77 例 (SLE 组)。纳入标准: ① 年满 18 岁; ② 符合美国风湿病学会 (American College of Rheumatology, ACR) 2009 年修订的 SLE 诊断标准; ③ 具有完整血清学资料者, 包括免疫球蛋白 G (immunoglobulin G, IgG)、免疫球蛋白 M (immunoglobulin M, IgM)、免疫球蛋白 A (immunoglobulin A, IgA)、补体 3 (complement 3, C3)、补体 4 (complement 4, C4)、白蛋白 (albumin, ALB)、球蛋白 (globulin, GLB)、尿蛋白 (urinary protein, UTP) 等指标。

排除标准：① 合并肿瘤、其他自身免疫性疾病或免疫缺陷病者；② 临床治疗信息不完整者。同期招募年龄与性别匹配的健康体检者 39 例作为健康对照（healthy control, HC）组。

## 1.2 方法

### 1.2.1 原代中性粒细胞的分离纯化与培养

从新鲜的 EDTA 抗凝血中分离原代中性粒细胞。将全血与等体积磷酸盐缓冲液（phosphate-buffered saline, PBS）混匀，缓慢叠加于人外周血淋巴细胞分离液（天津灏洋生物技术有限公司）上方，1500 r/min 离心 30 min 后形成分层结构，自上至下依次为血浆层、外周血单核细胞层、Ficoll 溶液层、粒细胞层及红细胞层。收集混有红细胞的粒细胞层并转移至新离心管，利用无菌去离子水裂解红细胞 30 s，加入 PBS 中和后再次离心。将纯化后的中性粒细胞重悬于 RPMI-1640 培养基（含 10% 胎牛血清）备用。

取纯化后的中性粒细胞混悬液放入细胞培养箱静息 0.5 h，给予 PADI4 抑制剂 GSK484（10  $\mu$ mol/L 或 30  $\mu$ mol/L）处理 6 h，对照组（Vehicle）给予等量溶剂处理，离心收集细胞培养上清液待测。

### 1.2.2 HL-60 细胞的培养与诱导分化

HL-60 细胞株购自美国标准生物品收藏中心（American type culture collection, ATCC）。细胞培养密度控制在  $1 \times 10^6$ /mL 以下，每 2~3 d 传代 1 次，实验所用细胞传代不超过 15 代。使用 1.3% 二甲基亚砷诱导 HL-60 细胞分化 5 d，获得中性粒细胞样 HL-60 细胞（dHL-60）。

### 1.2.3 实时荧光定量逆转录聚合酶链反应（real-time fluorescence quantitative reverse transcription polymerase chain reaction, RT-qPCR）

使用 RNA-easy Isolation Reagent 试剂（南京诺唯赞生物科技有限公司）提取细胞总 RNA。使用 ToloScript All-in-one RT EasyMix 试剂盒（上海吐露港生物科技有限公司）将总 RNA 逆转录为互补 DNA。采用 2 $\times$ Q3 SYBR qPCR Mix 试剂盒（上海吐露港生物科技有限公司）进行实时荧光定量 PCR。以甘油醛-3-磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH）作为内参基因，对目标基因表达量进行标准化处理，采用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  法计算目标基因的相对表达水平。引物序列如下：GAPDH（F: 5'-TTC ACC ACC ATG GAG AAG GC-3'; R: 5'-GATGGCATGGACTGTGGTCA-3'），PADI4（F: 5'-CCTTTGGGAACCTGGAAGTGA-3'；R: 5'-CACAAAGCTCAGGAACCTCGTC-3'），MMP-14（F: 5'-ATGTCTCCCGCCCCAAGAC-3'; R: 5'-TCAGACCTTGTCCAGCAGGG-3'），MMP-17（F: 5'-GAGTGGACTGATATTCAGGAGTG-3'; R: 5'-CCGCATGGTCTCGATGGTAT-3'），MMP-25（F: 5'-TTGCGCGATGCCATCAAAG-3'; R: 5'-GAAGGAACGTACCCTCCATGT-3'）。

#### 1.2.4 酶联免疫吸附试验 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)

使用商品化人 MMP-14/17/25 酶联免疫分析试剂盒 (南京森贝伽生物科技有限公司) 分别检测 HC 组或 SLE 组血清中 MMP-14/17/25 蛋白水平。实验严格按照试剂盒说明书操作进行, 450 nm 波长下测定吸光度, 依据标准曲线计算浓度。

#### 1.2.5 利用 siRNA 在 dHL-60 细胞中敲低 PADI4 基因

采用 siRNA-Mate-Plus 转染试剂 (苏州吉玛基因股份有限公司) 将 siRNA 瞬时转染入 dHL-60 细胞, 设置 PADI4 敲低组 (dsi-KD 组) 与阴性对照组 (dsi-NC 组)。培养 48 h 后采用 RT-qPCR 验证 PADI4 敲低效率。siRNA 序列如下: si-NC (F: 5'-UUC UCC GAA CGU GUC ACG UTT-3'; R: 5'-ACG UGA CAC GUU CGG AGA ATT-3'); si-KD (F: 5'-GGA CAU UGA UCC GUG UGA CTT-3'; R: 5'-GUC ACA CGG AUC AAU GUC CTT-3')。完成敲减后, 利用 RT-qPCR 和 ELISA 检测 dsi-KD 组和 dsi-NC 组中 MMP-14/17/25 水平。

#### 1.2.6 划痕实验

分离获得 SLE 患者外周血中性粒细胞, 并在 10  $\mu$ mol/L 浓度下分别加入 PADI4 抑制剂 GSK484 或 MMP-14 抑制剂 NCS 405020 (上海皓元生物医药科技有限公司) 以及两者混合处理中性粒细胞培养上清, 孵育 6 h 后以 1500 r/min 离心 5 min, 收集细胞上清液, 转移至无 RNA 酶的离心管中, 备用。实验分组为无血清培养基组 (Vehicle)、GSK484 组、NCS 405020 组、GSK484+NCS 405020 组。

将人角质形成细胞系 HaCaT 接种于 12 孔板中培养, 细胞达到对数生长期, 细胞融合度达到约 80%~90%时, 用无菌直尺和 marker 笔在培养皿底部标记出划痕区域。用无菌枪头垂直于标记线均匀划痕。PBS 缓冲液轻洗后, 将培养基更换为不同处理组的中性粒细胞上清液在 0 h、24 h、48 h 拍照记录。图像用 ImageJ 软件处理, 测量各时间点划痕面积计算细胞迁移率, 计算公式为: 迁移率(%)=(初始划痕面积-终末划痕面积)/初始划痕面积 $\times$ 100%。

### 1.3 统计学处理

数据采用 GraphPad Prism 10 软件进行统计分析。数据正态性通过 Shapiro-Wilk 检验评估。正态分布数据采用独立样本 *t* 检验或配对 *t* 检验, 非正态分布数据选用 Mann-Whitney *U* 检验 (两组间比较) 或 Spearman 秩相关分析, 计数资料 (如性别) 的比较采用卡方检验。以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 一般资料



SLE 组 77 例，年龄 18~71 (40.14±15.72) 岁；HC 组 39 例，年龄 19~64 (40.90±12.59) 岁，两组研究对象间性别及年龄分布方面差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )，具有可比性。

## 2.2 PADI4、MMP-14、MMP-17、MMP-25 表达情况

RT-qPCR 结果显示，SLE 组中性粒细胞 PADI4 的 mRNA 表达水平高于 HC 组 ( $P<0.001$ )，MMP-14/17/25 的 mRNA 表达水平低于 HC 组 ( $P<0.001$ ,  $P<0.01$ ,  $P<0.01$ ) (图 1A-1D)。ELISA 检测结果显示，与 HC 组相比，SLE 组血清 MMP-14/17/25 的水平均降低 ( $P<0.001$ ,  $P<0.01$ ,  $P<0.001$ ) (图 2A-2C)。提示 PADI4 和 MMP-14/17/25 在 SLE 中存在异常表达。

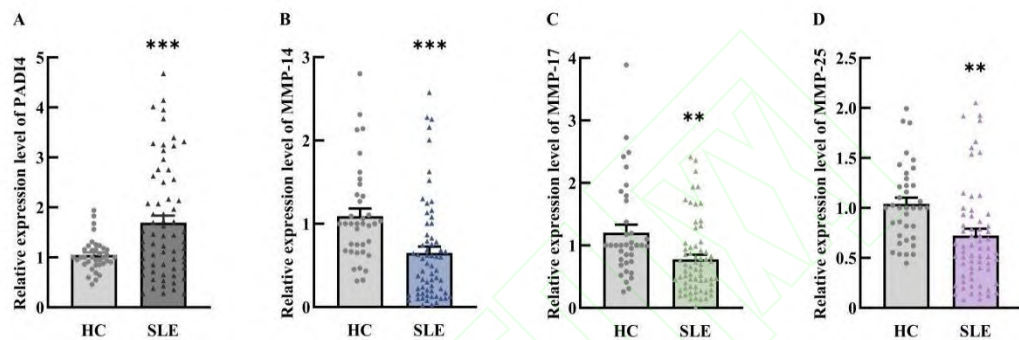


图 1 HC 组和 SLE 组中性粒细胞 PADI4、MMP-14/17/25 表达情况

Fig.1 Expression of PADI4, MMP-14/17/25 in neutrophils from HC group and SLE group

A: PADI4; B: MMP-14; C: MMP-17; D: MMP-25. \*\* $P<0.01$ , \*\*\* $P<0.001$  vs HC group.

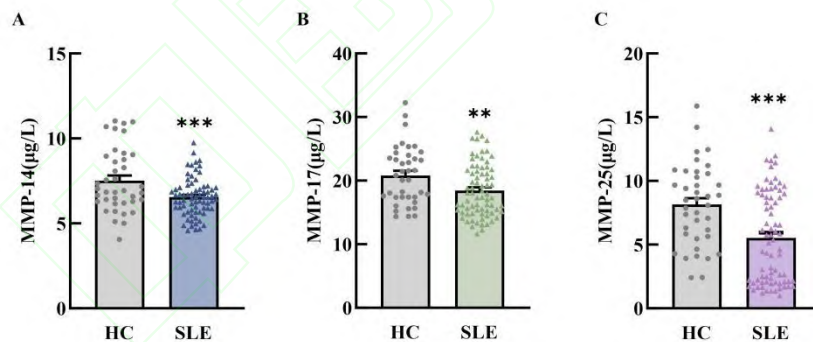


图 2 ELISA 检测 HC 组和 SLE 组血清中 MMP-14/17/25 表达情况

Fig.2 Expression of MMP-14/17/25 in the serum from HC group and SLE group detected by ELISA

A: MMP-14; B: MMP-17; C: MMP-25; \*\* $P<0.01$ , \*\*\* $P<0.001$  vs HC group.

## 2.3 MMP-14、MMP-17、MMP-25 与 SLE 临床指标相关性分析

Spearman 秩相关分析结果显示，SLE 组血清 MMP-14 水平与 IgG ( $r=-0.266$ )、IgA ( $r=-0.286$ )、GLB ( $r=-0.269$ ) 呈负相关 (均  $P<0.05$ )，与 UTP ( $r=-0.222$ ) 无显著相关性 ( $P>0.05$ ) (图 3A-3D)。SLE 组血清 MMP-17 水平与 IgA ( $r=0.024$ )、C3 ( $r=-0.043$ )、C4 ( $r=-0.017$ )

无显著相关性（均  $P>0.05$ ），与 UTP（ $r=-0.269$ ）呈负相关（ $P<0.05$ ）（图 3E-3H）。SLE 组血清 MMP-25 水平与 IgG（ $r=0.173$ ）、IgM（ $r=0.149$ ）、C3（ $r=-0.202$ ）无显著相关性（均  $P>0.05$ ），与 UTP（ $r=-0.244$ ）呈负相关（ $P<0.05$ ）（图 3I-3L）。

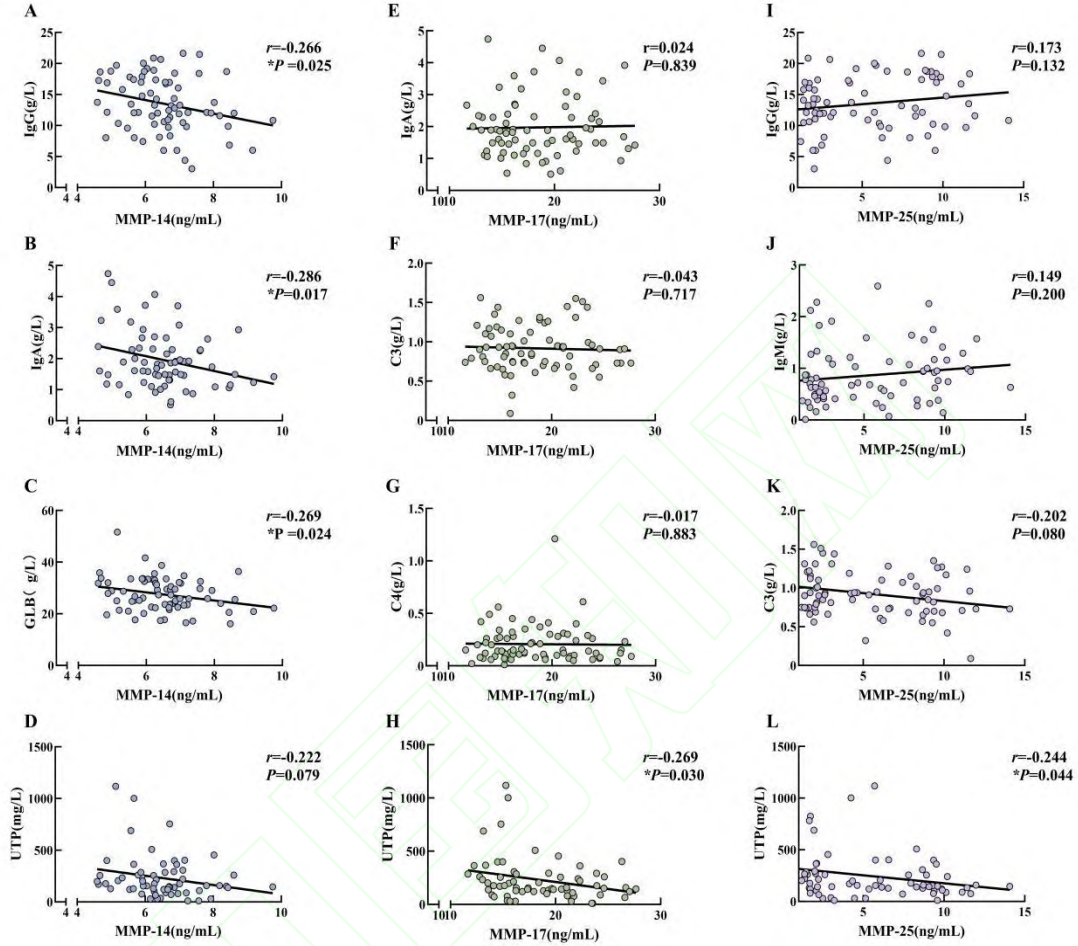


图3 血清 MMP-14/17/25 水平与 SLE 临床指标相关性

Fig.3 Correlation between serum MMP-14/17/25 levels and clinical indicators in SLE

A-D: correlations of serum MMP-14 with IgG, IgA, GLB, and UTP in SLE group; E-H: correlations of serum MMP-17 with IgA, C3, C4, and UTP in SLE group; I-L: correlations of serum MMP-25 with IgG, IgM, C3, and UTP in SLE group.

#### 2.4 PADI4 对 MMP-14、MMP-17、MMP-25 表达的影响

原代中性粒细胞经 PADI4 抑制剂 GSK484 以  $10 \mu\text{mol/L}$  和  $30 \mu\text{mol/L}$  浓度处理 6 h 后，细胞上清中 MMP-14/17/25 的分泌水平较 Vehicle 发生不同程度升高。具体而言，MMP-14 和 MMP-25 在  $10 \mu\text{mol/L}$  组（均  $P<0.01$ ）和  $30 \mu\text{mol/L}$  组（均  $P<0.05$ ）可显著升高；MMP-17 仅在  $10 \mu\text{mol/L}$  组中升高（ $P<0.05$ ）， $30 \mu\text{mol/L}$  组差异无统计学意义（图 4）。提示 PADI4 活性可能负向调控 MMPs 的表达。



利用 siRNA 敲低 *PADI4*, 相比于 dsi-NC 组, dsi-KD 组 *PADI4* 表达水平下降 ( $P<0.0001$ ), 而 MMP-14/17/25 的 mRNA 表达水平均升高 ( $P<0.01$ ,  $P<0.001$ ,  $P<0.05$ ) (图 5A)。同时, 细胞上清液中, dsi-KD 组的 MMP-14 和 MMP-17 的表达高于 dsi-NC 组 ( $P<0.01$ ,  $P<0.05$ ), 而 MMP-25 蛋白表达差异无统计学意义 (图 5B)。结果提示 *PADI4* 可能在 MMP-25 的转录或翻译后修饰过程中失去调控作用。

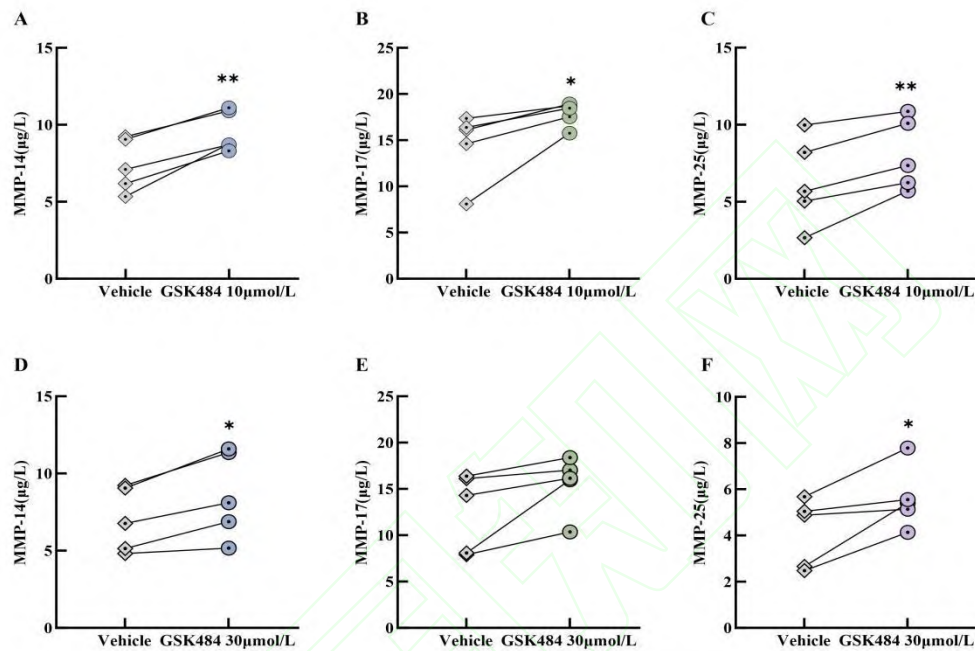


图 4 ELISA 检测 *PADI4* 抑制剂 GSK484 (10、30  $\mu\text{mol/L}$ ) 影响 MMP-14/17/25 的表达

Fig.4 The effects of the *PADI4* inhibitor GSK484 (10, 30  $\mu\text{mol/L}$ ) on the expression of MMP-14/17/25 detected by ELISA

A, D: MMP-14; B, E: MMP-17; C, F: MMP-25; \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$  vs Vehicle.

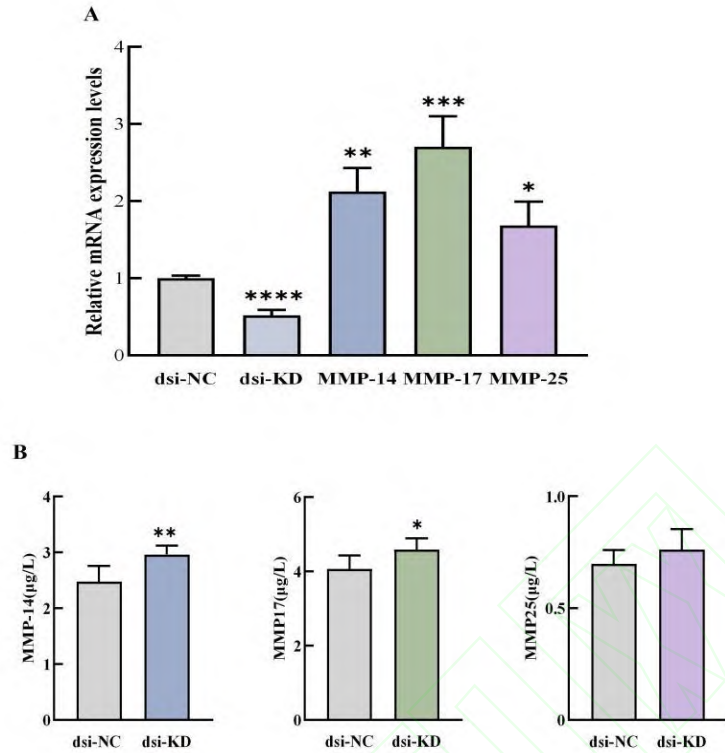


图 5 PADI4 敲减的 dHL-60 表达 MMP-14/17/25 情况

Fig.5 Expression of MMP-14/17/25 in PADI4-knockdown dHL-60 cells

A: RT-qPCR results; B: ELISA results; \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ , \*\*\*\* $P < 0.0001$  vs dsi-NC group.

## 2.5 PADI4 抑制剂 GSK484 和 MMP-14 抑制剂 NCS 405020 影响细胞迁移情况

采用划痕实验检测细胞迁移能力。结果显示，与 Vehicle 相比，GSK484 组 24 h 和 48 h 细胞迁移面积增加（均  $P < 0.01$ ），提示抑制 PADI4 可能通过上调 MMPs 表达促进细胞迁移。NCS 405020 组 24 h 和 48 h 细胞迁移面积减小（均  $P < 0.01$ ），说明抑制 MMP-14 可有效减弱细胞迁移能力。而在 GSK484+NCS 405020 组中，24 h 时细胞迁移面积较 Vehicle 增加，但低于 GSK484 组（ $P < 0.05$ ）；48 h 时与 GSK484 组之间差异无统计学意义（图 6）。表明在 MMP-14 活性受抑制的情况下，PADI4 抑制仍可能通过上调其他 MMPs 分子部分增强细胞迁移，提示 SLE 患者中性粒细胞中可能存在其他 MMPs 成员参与该迁移调节过程。

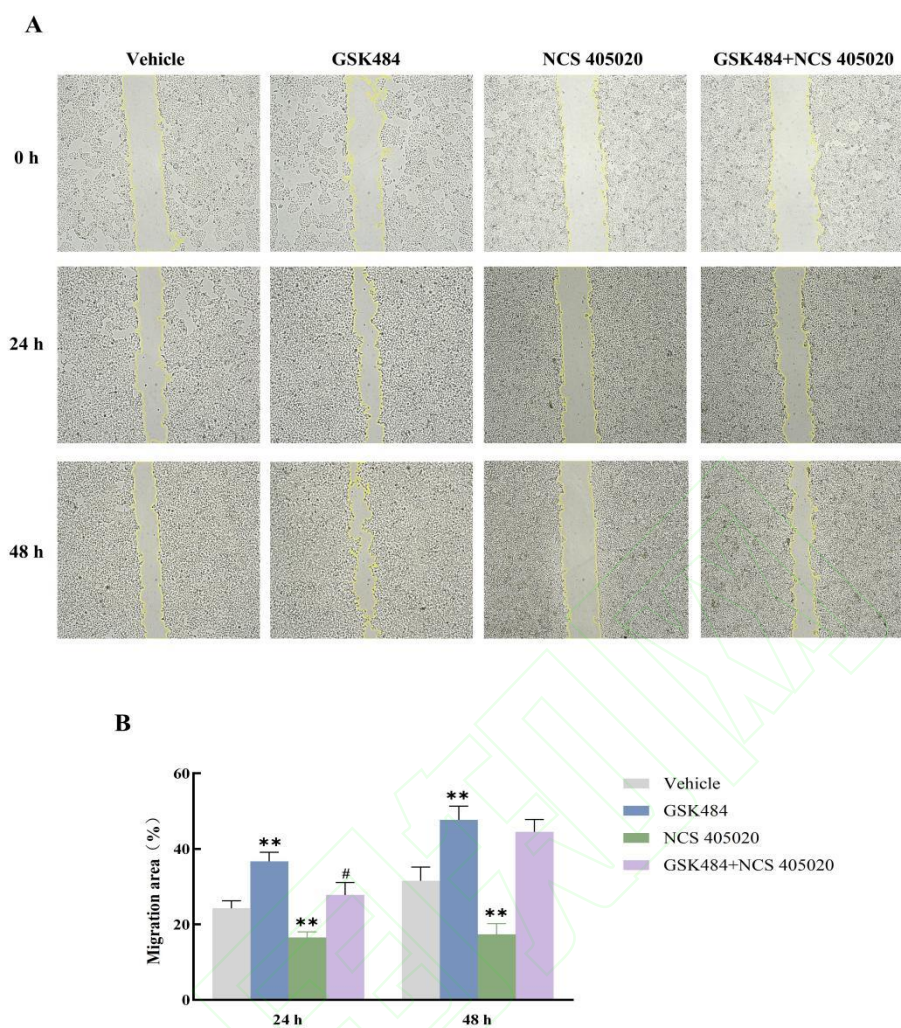


图 6 划痕实验检测 HaCaT 细胞迁移能力的光镜图和直方图

Fig.6 Light micrographs and histogram of wound healing assay, showing cell migration ability of HaCaT cells

A: light micrographs  $\times 40$ ; B: Histogram; \*\* $P < 0.01$  vs Vehicle, # $P < 0.05$  vs GSK484.

### 3 讨论

SLE 的发病机制尚未完全明晰, 涉及遗传易感性、环境因素和免疫调节失衡等多重因素的共同作用。目前临床主要依赖羟氯喹、糖皮质激素、免疫抑制剂及生物制剂等药物进行治疗<sup>[7]</sup>, 尽管多数患者病情可阶段性控制, 但复发率高、多系统持续进展及长期治疗相关的不良反应 (如感染风险增加、代谢紊乱等) 仍是急需解决的临床难题<sup>[8]</sup>。因此, 进一步解析 SLE 的免疫病理机制并筛选新的疾病标志物和治疗靶点仍具有重要意义。

本研究结果显示, SLE 组中 PADI4 mRNA 表达水平显著高于 HC 组, MMP-14/17/25 的 mRNA 表达水平显著低于 HC 组, 且其血清蛋白水平亦显著下降。此外, MMP-14 与 IgG、

IgA、GLB 呈负相关，MMP-17 和 MMP-25 与 UTP 水平呈负相关，提示这三种 MMPs 可能与 SLE 的免疫异常和肾脏损伤密切相关。已有研究<sup>[9]</sup>表明，骨关节炎中 MMP-14 的表达受转化生长因子  $\beta$ -SMAD 家族蛋白 2/3 - F-box 蛋白 6 (TGF $\beta$ -SMAD2/3-FBXO6) 信号轴负调控，TGF- $\beta$ -SMAD2/3 信号通路可通过上调 FBXO6 转录促进 MMP-14 蛋白酶体降解。同时 TGF- $\beta$ 1 作为关键炎症因子，在狼疮性肾炎等肾小球疾病中高度表达，并通过 SMAD 信号通路介导肾小球硬化及纤维化形成<sup>[10]</sup>。狼疮患者血清中 MMP-2 水平较健康对照显著升高，而 MMP-14 是 MMP-2 的主要激活酶，MMP-14 与组织金属蛋白酶抑制因子-2 (tissue inhibitor of metalloproteinase-2, TIMP-2) 形成复合物，作为“受体”结合前体 MMP-2 (pro-MMP-2) 从而激活 MMP-2<sup>[11]</sup>。MMP-2 与 MMP-14 竞争结合 TIMP-2，当 MMP-2 高表达，TIMP-2 优先抑制 MMP-14，降低其活性进而影响胶原降解与基底膜通透性。更有体内研究<sup>[12]</sup>表明 MMP-14 敲除小鼠表现出骨骼发育异常、血管生成障碍、软组织纤维化及过早死亡等表型。这些病理特征与 SLE 患者常见的多器官纤维化、血管病变和早发性骨质疏松等临床表现也存在部分重叠。这些均为 MMP-14 与 SLE 的负向相关提供了理论支持。有报道<sup>[13]</sup>称 MMP-17 表达与辅助性 T 细胞 17 (T helper cells, Th17) 细胞数量呈负相关，考虑到 Th17 细胞能够通过促进炎症血管生成和激活 CD8<sup>+</sup> T 细胞来加重 SLE 的免疫炎症损伤，提示 MMP-17 可能通过调控 Th17 细胞相关免疫通路参与炎症反应，影响促炎因子的释放，加剧 SLE 炎症微环境及自身免疫损伤，进一步支持 MMP-17 在 SLE 发病中的潜在负调控角色。尽管目前对 MMP-25 的研究报道较少，但 MMP-25 被证明参与裂解 IV 型胶原蛋白、纤连蛋白和纤维蛋白，可在侵袭细胞外基质和基底膜中发挥作用<sup>[14]</sup>，此特性或与 SLE 的肾脏病变存在潜在关联。

PADI4 是催化组蛋白瓜氨酸化的关键酶，已被证实在 NETs 形成及 SLE 等自身免疫病中发挥重要作用<sup>[15]</sup>。本研究进一步揭示，PADI4 对 MMP-14/17/25 具有负向调控作用：药理学抑制或 siRNA 敲低 PADI4，均显著上调 MMPs 的转录和分泌水平；但值得注意的是，PADI4 敲低对 MMP-25 蛋白水平无显著影响而 mRNA 显著上调，提示其对 MMP-14/17 可能同时作用于转录起始和转录后阶段，而对 MMP-25 主要发挥转录抑制，其蛋白分泌受限可能与 SLE 相关的中性粒细胞特异性加工或储存机制有关。既往研究<sup>[16]</sup>显示，PADI4 抑制可影响 MMP-2 和 MMP-9 相关过程，为 PADI4 参与 MMPs 调控提供了一定依据。功能实验中，GSK484 处理的中性粒细胞上清可显著促进 HaCaT 细胞迁移，而 MMP-14 抑制剂则强烈抑制迁移，联合用药组介于两者之间且显著优于单用 MMP-14 抑制剂，表明即使在 MMP-14 功能受损时，抑制 PADI4 仍能通过上调其他 MMPs 部分代偿迁移功能，提示 PADI4 是

MMPs 的上游广谱调控子,靶向 PADI4 可能通过调动备用通路恢复 SLE 患者皮损修复能力。上述结果将中性粒细胞分子状态与皮肤组织修复联系起来,为 SLE 皮损愈合迁延提供了新的解释。然而,本研究尚未开展染色质免疫共沉淀、启动子活性检测、蛋白稳定性分析,目前认为 PADI4 与 MMP-14/17/25 表达变化具有因果关联倾向,其分子机制仍需进一步深入解析。同时,尚未在动物模型中进行体内验证,后续研究可基于 MRL/lpr 等 SLE 动物模型开展干预实验,进一步探索机制解析和功能验证。

综上所述,SLE 患者中性粒细胞及血清中 MMP-14/17/25 呈低表达,且其表达受 PADI4 负向调控。PADI4 可能通过负向调控 MMP-14/17/25 表达进而参与 SLE 疾病进展,PADI4/MMPs 轴或可作为疾病监测及靶向治疗的新切入点。

#### 参考文献

- [1] Dai X, Fan Y, Zhao X. Systemic lupus erythematosus: updated insights on the pathogenesis, diagnosis, prevention and therapeutics[J]. Sig Transduct Target Ther, 2025, 10: 102. doi:10.1038/s41392-025-02168-0.
- [2] Shih Y C, Chen P Y, Ko T M, et al. MMP-9 deletion attenuates arteriovenous fistula neointima through reduced perioperative vascular inflammation[J]. IJMS, 2021, 22(11): 5448. doi:10.3390/ijms22115448.
- [3] Chen Z, Wang H, Xia Y, et al. Therapeutic potential of mesenchymal cell - derived miRNA-150-5p - expressing exosomes in rheumatoid arthritis mediated by the modulation of MMP14 and VEGF[J]. J Immunol, 2018, 201(8): 2472-82. doi:10.4049/jimmunol.1800304.
- [4] 方全钢, 刘海芸, 万 静, 等. MMP25 和 E-cadherin 在类风湿关节炎中的诊断价值[J]. 江西医药, 2024, 59(2): 143-7, 154. doi:10.3969/j.issn.1006-2238.2024.02.001.  
Fang Q G, Liu H Y, Wan J, et al. Diagnostic value of MMP25 and E-cadherin in rheumatoid arthritis[J]. Jiangxi Med J, 2024, 59(2): 143-7, 154. doi:10.3969/j.issn.1006-2238.2024.02.001.
- [5] 马 洁, 汪晓庆, 周廷栋, 等. 肽基精氨酸脱亚胺酶 4 调控 IL-8 分泌参与系统性红斑狼疮发病的研究 [J]. 安徽医科大学学报, 2025, 60(10): 1874-8, 1886. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.10.013.  
Ma J, Wang X Q, Zhou T D, et al. Peptidylarginine deiminase 4 regulates IL-8 secretion involves in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus[J]. Acta Univ Med Anhui, 2025, 60(10): 1874-8, 1886. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.10.013.



- [6] Nakamura K, Nakayama H, Sasaki S, et al. *Mycobacterium avium*-intracellular complex promote release of pro-inflammatory enzymes matrix metalloproteinases by inducing neutrophil extracellular trap formation[J]. Sci Rep, 2022, 12: 5181. doi:10.1038/s41598-022-09017-y.
- [7] González-García A, Cusáovich I, Ruiz-Irastorza G. Treatment of systemic lupus erythematosus: new therapeutic options[J]. Rev Clínica Española Engl Ed, 2023, 223(10): 629-39. doi:10.1016/j.rceng.2023.11.001.
- [8] Lazar S, Kahlenberg J M. Systemic lupus erythematosus: new diagnostic and therapeutic approaches[J]. Annu Rev Med, 2023, 74: 339-52. doi:10.1146/annurev-med-043021-032611.
- [9] Wang G, Chen S, Xie Z, et al. TGF  $\beta$  attenuates cartilage extracellular matrix degradation via enhancing FBXO6-mediated MMP14 ubiquitination[J]. Ann Rheumatic Dis, 2020, 79(8): 1111-20. doi:10.1136/annrheumdis-2019-216911.
- [10] Chalkia A, Gakiopoulou H, Theochari I, et al. TGF-  $\beta$  1/sm $\alpha$ d signalling in proliferative glomerulonephritis associated with autoimmune diseases[J]. MJR, 2022, 33(2): 176. doi:10.31138/mjr.33.2.176.
- [11] Han K Y, Dugas-Ford J, Seiki M, et al. Evidence for the involvement of MMP14 in MMP2 processing and recruitment in exosomes of corneal fibroblasts[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2015, 56(9): 5323-9. doi:10.1167/iovs.14-14417.
- [12] Gonzalez-Molina J, Gramolelli S, Liao Z, et al. MMP14 in sarcoma: a regulator of tumor microenvironment communication in connective tissues[J]. Cells, 2019, 8(9): 991. doi:10.3390/cells8090991.
- [13] Xiao C, Wang Y, Cheng Q, et al. Increased expression of MMP17 predicts poor clinical outcomes in epithelial ovarian cancer patients[J]. Medicine, 2022, 101(34): e30279. doi:10.1097/md.00000000000030279.
- [14] English W R, Velasco G, Stracke J O, et al. Catalytic activities of membrane-type 6 matrix metalloproteinase (MMP25)[J]. FEBS Lett, 2001, 491(1-2): 137-42. doi:10.1016/S0014-5793(01)02150-0.
- [15] Hanata N, Shoda H, Hatano H, et al. Peptidylarginine deiminase 4 promotes the renal infiltration of neutrophils and exacerbates the TLR7 agonist-induced lupus mice[J]. Front Immunol, 2020, 11: 1095. doi:10.3389/fimmu.2020.01095.

[16] 余武汉, 陈 浪, 李腾飞, 等. 中性粒细胞胞外诱捕网对组织器官损害的研究进展[J]. 中国普通外科杂志, 2021, 30(12): 1485-94. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2021.12.013.

Yu W H, Chen L, Li T F, et al. Research progress of neutrophil extracellular traps induced tissue and organ damage[J]. Chin J Gen Surg, 2021, 30(12): 1485-94. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2021.12.013.

