**血浆外泌体miR-375-3p靶向脂质转移蛋白GPX4和铁死亡抑制蛋白1FSP1调控角质形成细胞铁死亡在重症药疹发病中的机制研究**

**张晨、王刚、付萌**

**空军军医大学西京皮肤医院**

**目的：**中毒性表皮坏死松解症(TEN)和Stevens-Johson综合征(SJS)是严重皮肤药物不良反应，以广泛表皮/上皮细胞死亡为主要表现。铁死亡是一种以铁依赖性的过氧化物聚集为特征的程序性细胞死亡方式，与多种疾病的发生发展密切相关。外泌体是存在于细胞和体液中大小为30至150nm的囊泡样小体，将遗传物质信息传递到紧邻或远端的靶细胞，在多种疾病的生物进程中发挥重要作用。然而，外泌体在SJS/TEN发病中的作用和机制还不清楚。

**方法：**差高速离心分离血浆外泌体，采用透射电镜和免疫印迹鉴定外泌体大小和形态。小RNA高通量测序鉴定致病miRNA，qRT-PCR验证候选血浆外泌体miRNA。siRNA干涉片段和miRNA模拟物转染至原代角质形成细胞，采用免疫印迹、免疫荧光和原位杂交等方法进行表型和机制分析。

**结果：**首先，SJS/TEN血浆中分离的外泌体直径为30-150nm，并表达外泌体标记蛋白。铁死亡相关分子标志物-4-羟基壬烯醛（4-HNE）、转铁蛋白受体(TFRC)、二价金属转运体1(DMT1)在SJS-TEN 皮损表皮中显著高表达，并与疾病的严重程度SCORTEN 评分呈正相关。同时，铁死亡关键抑制分子谷胱甘肽过氧化物酶4（GPX4）和铁死亡抑制蛋白1（FSP1）在皮损表皮表达显著降低。并且，皮损表皮铁死亡关键生化指标-脂质过氧化物产物丙二醛(MDA)和Fe2+显著升高。其次，SJS-TEN患者血浆提取的外泌体可被原代KC摄取；并明显降低KC铁死亡相关分子标志物GPX4和FSP1表达；并且，铁死亡抑制剂能明显减轻SJS-TEN患者血浆外泌体对原代KC的铁死亡效应。小RNA高通量测序结合样本验证发现：与正常对照和多形红斑型药疹患者相比，miR-375-3p在35例SJS/TEN患者血浆中显著上调；并与疾病严重程度呈正相关。荧光素酶报告基因分析表明miR-375-3p靶向调节铁死亡关键调控分子GPX4和FSP1。GPX4和FSP1过表达和敲除可以分别回复和模拟外泌体miR-375-3p诱导的角质形成细胞铁死亡。

**结论：**我们的研究首次表明循环外泌体miR-375-3p可摄取入角质形成细胞，下调GPX4和FSP1表达，诱导SJS/TEN患者角质形成细胞铁死亡。并可作为诊断SJS/TEN的可靠标记物，为重症药疹的治疗提供新思路和新靶点。