

Особенности протекания РНК-интерференции матричной металлопротеиназы 1 в эпидермальных кератиноцитах, обработанных интерлейкином 17А

Ю.А. Могулевцева¹, А.В. Мезенцев²✉, С.А. Брускин²

¹ Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева, Москва, Россия

² Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, Россия

Матричные металлопротеиназы (ММП) играют важную роль в патогенезе псориаза, а также ряда других аутоиммунных заболеваний. Накопление интерлейкина 17А (ИЛ-17А) и других провоспалительных цитокинов в межклеточном матриксе приводит к индукции генов некоторых матричных металлопротеиназ, в частности *MMP1*. Рост протеолитической активности в межклеточном матриксе меняет его состав и свойства, а также способствует структурной реорганизации пораженного болезнью участка кожи. Структурная реорганизация, в свою очередь, приводит к изменению внешнего облика кожных покровов и образованию псориатических бляшек. Целью данной работы было исследовать влияние РНК-интерференции *MMP1* на биологические эффекты ИЛ-17А, такие как способность данного цитокина стимулировать миграцию и пролиферацию эпидермальных кератиноцитов человека, а также регулировать экспрессию генов, которые играют важную роль в процессе дифференцировки данного типа клеток. В работе использовали иммортализованные эпидермальные кератиноциты с «нокдаун» *MMP1* и без него – HaCaT-ММП1 и HaCaT-KTR соответственно. Для оценки пролиферации клеток сопоставляли кривые их роста. Миграцию клеток оценивали путем сравнения репрезентативных фотографических изображений, которые были получены через равные промежутки времени. Изменения в экспрессии генов анализировали методом ПЦР в режиме реального времени. Согласно полученным результатам, в клетках, обработанных ИЛ-17А, РНК-интерференция *MMP1* приводит к уменьшению экспрессии *MMP9* и *MMP12*, *FOSL1*, *CCNA2*, *IVL*, *KRT14* и *KRT17*, а также к увеличению экспрессии *MMP2*, *CCND1* и *LOR*. «Нокдаун» *MMP1* замедляет процесс миграции клеток и приводит к снижению скорости их пролиферации. Таким образом, проведенное нами исследование показало, что в присутствии ИЛ-17А РНК-интерференция *MMP1* обладает потенциальным терапевтическим эффектом, который может быть использован при лечении псориаза. «Нокдаун» ММП1 позволяет воздействовать на пролиферацию и миграцию клеток, а также контролировать экспрессию важных для патогенеза болезни генов (*MMP1*, *MMP2*, *MMP9* и *MMP12*, *CCNA2*, *CCND1*, *KRT14* и *KRT17*).

Ключевые слова: матричная металлопротеиназа 1; псориаз; интерлейкин 17; малая ингибирующая РНК; РНК-интерференция.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Могулевцева Ю.А., Мезенцев А.В., Брускин С.А. Особенности протекания РНК-интерференции матричной металлопротеиназы 1 в эпидермальных кератиноцитах, обработанных интерлейкином 17А. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018;22(4):425-432. DOI 10.18699/VJ18.378

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Mogulevtseva J.A., Mezentsev A.V., Bruskin S.A. RNAi-mediated silencing of matrix metalloproteinase 1 in epidermal keratinocytes influences the biological effects of interleukin 17A. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektitsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018;22(4):425-432. DOI 10.18699/VJ18.378

УДК 575.113.36:616.517

Поступила в редакцию 22.11.2017

Принята к публикации 05.02.2018

© АВТОРЫ, 2018

✉ e-mail: mesentsev@vigg.ru

RNAi-mediated silencing of matrix metalloproteinase 1 in epidermal keratinocytes influences the biological effects of interleukin 17A

J.A. Mogulevtseva¹, A.V. Mezentsev²✉, S.A. Bruskin²

¹ Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russia

² N.I. Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow, Russia

Matrix metalloproteinases (MMPs) are important for the pathogenesis of psoriasis and other autoimmune disorders. In the extracellular matrix, accumulation of proinflammatory cytokines, such as interleukin 17 (IL-17), causes an induction of several MMPs, including *MMP1*. MMPs change the composition and other properties of the extracellular matrix. These changes facilitate tissue remodeling and promote the development of psoriatic plaques. The aim of this study was to explore how *MMP1* silencing might influence the biological effects of IL-17A on migration and proliferation of human epidermal keratinocytes and the expression of genes involved in their division and differentiation. The experiments were performed with *MMP1*-deficient and control epidermal keratinocytes, HaCaT-*MMP1* and HaCaT-KTR, respectively. Cell proliferation and migration were assessed by comparative analysis of the growth curves and scratch assay, respectively. To quantify cell migration, the representative areas of cell cultures were photographed at the indicated time points and compared to each other. Changes in gene expression were analyzed by real-time PCR. The obtained results demonstrated that *MMP1* silencing in the cells treated with IL-17A resulted in downregulation of *MMP9* and *MMP12*, *FOSL1*, *CCNA2*, *IVL*, *KRT14* and *KRT17* as well as upregulation of *MMP2*, *CCND1* and *LOR*. Moreover, *MMP1* silencing led to a decrease of cell proliferation and an impairment of cell migration. Thus, *MMP1*-deficiency in epidermal keratinocytes can be beneficial for psoriasis patients that experience an accumulation of IL-17 in lesional skin. Knocking down *MMP1* could influence migration and proliferation of epidermal keratinocytes *in vivo*, as well as help to control the expression of *MMP1*, *MMP2*, *MMP9*, *MMP12*, *CCNA2*, *CCND1*, *KRT14* and *KRT17*, which are crucial for the pathogenesis of psoriasis.

Key words: matrix metalloproteinase 1; psoriasis; interleukin 17; small hairpin RNA; gene silencing.

Псориаз обыкновенный (*psoriasis vulgaris*) относится к числу наиболее распространенных хронических неинфекционных заболеваний кожи (Greb et al., 2016). В России заболеваемость псориазом составляет ~1.9 % (Хамаганова и др., 2015), что не превышает среднестатистического показателя (3 %) по данным Всемирной организации здравоохранения (Michalek et al., 2017). Наиболее характерный признак псориаза – образование на коже большого псориазических бляшек. В 21.1 и 5.7 % случаев болезнь характеризуется поражением ногтей и суставов соответственно (Рукавишникова, 2009; Мишина и др., 2013). Наконец, частыми спутниками псориаза (так называемыми коморбидными заболеваниями) являются болезни сердечно-сосудистой системы, диабет II типа, атеросклероз и др. (Батыршина, Садыкова, 2014).

На молекулярном уровне образование псориазических бляшек сопровождается изменениями в экспрессии нескольких тысяч генов (Zolotareno et al., 2016), в числе которых гены, связанные с дифференцировкой и пролиферацией эпидермальных кератиноцитов. В частности, происходит снижение экспрессии *KRT1*, *KRT5* и *KRT10* (Rao et al., 1996; Jin, Wang, 2014) и увеличение экспрессии *KRT14*, *KRT16*, *KRT17* (Al Robaee, 2010; Jin, Wang, 2014). Экспрессия маркеров поздней стадии дифференцировки – лорикрина (*LOR*) и филаггрина (*FLG*) – уменьшается, а экспрессия маркера ранней стадии дифференцировки – инволюкрина (*IVL*), наоборот, возрастает (Soboleva et al., 2014). Помимо этого повышается уровень экспрессии маркера пролиферации *MKI67* (Yazici et al., 2005) и происходят разнонаправленные изменения в экспрессии ряда циклинов. Так, экспрессия циклина D1 (*CCND1*) падает (Reischl et al., 2007), а экспрессия циклина A2 (*CCNA2*) увеличивается (Manczinger, Kemény, 2013).

Ключевую роль в патогенезе псориаза отводят интерлейкину 17A (ИЛ-17A). Будучи одним из медиаторов воспалительного процесса, ИЛ-17A стимулирует экспрессию провоспалительных хемокинов (*CCL20*, *CXCL1*, *CXCL2* и *CXCL8*), секреция которых в межклеточное пространство приводит к миграции активированных клеток иммунной системы в пораженный болезнью эпидермис и способствует стабилизации воспалительного процесса (Seo et al., 2017).

В последние несколько лет появились многочисленные данные об использовании терапевтических антител, специфичных к ИЛ-17A, для лечения псориаза (Cavanan et al., 2016). По данным клинических испытаний, данная группа препаратов обладает высокой эффективностью, которая достигает 85–90 % при ее оценке с помощью индекса $PASI_{75}$, и низкой иммуногенностью. При этом необходимо упомянуть о наличии у блокаторов ИЛ-17A серьезных побочных эффектов, главный из которых – ослабление иммунитета. Кроме того, имеются противопоказания к применению блокаторов ИЛ-17A для больных с аллергическими реакциями, болезнью Крона и язвенным колитом. По этой причине вопрос о поиске других не менее эффективных методов лечения псориаза, в том числе основанных на принципиально иных подходах, остается по-прежнему актуальным. Одним из таких подходов в будущем может стать избирательная коррекция экспрессии важных для патогенеза псориаза генов при помощи специфичных shРНК.

Непосредственно нашей главной задачей является изучение роли матриксных металлопротеиназ, в частности матриксной металлопротеиназы 1 (ММП1) в патогенезе псориаза. Ранее нами было показано, что нарушения в экспрессии некоторых матриксных металлопротеиназ – *MMP1*, *MMP9* и *MMP12* – совпадают по времени с обострением болезни, а их содержание в пораженной болезнью ткани коррелирует со степенью ее тяжести (Стародубцева и др., 2011). Целью данной работы было прояснить, как именно РНК-интерференция *MMP1* может повлиять на миграцию и пролиферацию эпидермальных кератиноцитов, обработанных ИЛ-17A, а также на уровень экспрессии этими клетками важных для патогенеза псориаза генов.

Материалы и методы

Культивирование клеток. Для проведения экспериментальной работы использовали культуры эпидермальных кератиноцитов человека, HaCaT-KTP и HaCaT-ММП1, полученные, как описано ранее (Могульцева, Мезенцев, 2017). Клетки культивировали в среде ДЕМ, которая содержала 5 % эмбриональной сыворотки теленка, L-глутамин («ПанЭко», Россия) и антибиотик-антимикотик (Thermo Fisher Scientific, США). В процессе роста клеток питательную среду заменяли свежей через день. При покрытии клетками 70–75 % ростовой поверхности культуру пересеивали в соотношении 1:5. Подсчет клеток проводили в камере Горяева.

Получение суммарной РНК. Суммарную РНК выделяли при помощи реагента TRIZOL (Thermo Fisher Scientific), согласно ранее описанному протоколу (Chomczynski, Mackey, 1995). Качество препаратов РНК проверяли электрофоретически – в 1.5 % агарозном геле, в неденатурирующих условиях. Для измерения концентрации РНК использовали флюориметрический метод и набор реагентов Qubit RNA BR Assay Kit (Thermo Fisher Scientific), согласно инструкции, предоставленной фирмой-производителем.

ПЦР в режиме реального времени. Перед проведением эксперимента из образцов выделенной РНК получали кДНК при помощи набора реагентов MMLV RT («Евроген», Россия). ПЦР в режиме реального времени проводили с праймерами из базы данных NCBI Probe (NCBI Probe, 2015) на приборе Eco (Illumina, США), согласно инструкции, предоставленной фирмой-производителем. В качестве эндогенного контроля использовали данные об экспрессии гена *ACTB*. Результаты анализировали при помощи компьютерной программы Eco (Illumina). Для каждого измерения готовили три параллельные пробы. Помимо этого каждый эксперимент повторяли трижды.

Количественная оценка пролиферации клеток. В 6-луночные планшеты высевали по 40 тыс. клеток на лунку. Ежедневно случайно выбранные образцы обрабатывали 0.25 % раствором трипсина-ЭДТА («ПанЭко»). После этого суспензию клеток окрашивали красителем, трипановым синим (0.2 %). Затем проводили подсчет клеток в камере Горяева и по данным о количестве клеток в образцах строили графики кривых роста в линейных координатах. О скорости пролиферации клеток судили по величине угла наклона полученной экспериментальной кривой

после представления данных в полулогарифмических координатах. Каждый эксперимент повторяли трижды.

Количественная оценка миграции клеток. Клетки культивировали до тех пор, пока они полностью не покрывали поверхность культуральной чашки. Перед началом эксперимента по поверхности чашки при помощи носика для автоматической пипетки проводили прямую линию, очищая от клеток полосу шириной ~1.25 мм. Полученные образцы культивировали в течение пяти–шести дней, ежедневно фотографируя репрезентативные участки пока не заняты клетками областей. Для измерения площади ростовой поверхности, пока не занятой клетками, использовали сервисную опцию Free hand selection компьютерной программы ImageJ (Schindelin et al., 2015).

Статистическая обработка результатов. Результаты измерений представляли в виде: среднее значение ± стандартное отклонение ($m \pm SE$). Сравнение средних значений двух и более групп проводили посредством однофакторного дисперсионного анализа. Если вероятность ошибки при отклонении нулевой гипотезы не превышала 0.05, то статистические различия между средними величинами считали статистически значимыми.

Результаты

Влияние РНК-интерференции *MMP1* на экспрессию генов

Инкубация клеток *HaCaT-KTR* и *HaCaT-MMP1* в присутствии ИЛ-17А приводит к разнонаправленным изменениям в экспрессии генов матриксных металлопротеиназ, цитокератинов, маркеров пролиферации и дифференцировки эпидермальных кератиноцитов (рис. 1).

Так, в клетках *HaCaT-KTR* существенно возрастает уровень экспрессии *MMP9* и *MMP12* (11.15 ± 1.67 и 7.58 ± 1.14 соответственно), а также снижается уровень экспрессии *MMP2* (0.37 ± 0.05). Аналогичные значения в клетках *HaCaT-MMP1* составляют 2.29 ± 0.34 , 2.44 ± 0.37 и 0.98 ± 0.15 соответственно (см. рис. 1, а). При этом в клетках с «нокадаун» *MMP1* сохраняется низкий уровень экспрессии целевого гена (0.28 ± 0.04), несмотря на присутствие в культуральной среде высокой концентрации ИЛ-17А.

Экспрессия маркера пролиферации *MKI67* увеличивается в обеих линиях клеток (3.80 ± 0.57 в *HaCaT-KTR* и 5.66 ± 0.85 в *HaCaT-MMP1*, $p = 0.36$). Напротив, экспрессия циклинов *CCNA2* и *CCND1* снижается (см. рис. 1, б). Так, после обработки ИЛ-17А экспрессия *CCNA2* составляла 0.32 ± 0.05 в *HaCaT-KTR* и 0.13 ± 0.02 в *HaCaT-MMP1*, а экспрессия *CCND1* – 0.13 ± 0.02 и 0.71 ± 0.11 соответственно.

Обращает на себя внимание, что в клетках *HaCaT-KTR* наблюдаются незначительные изменения в экспрессии маркеров дифференцировки эпидермальных кератиноцитов и цитокератинов. Так, экспрессия *IVL* составляет 1.44 ± 0.13 , *LOR* – 1.15 ± 0.11 и *FLG* – 1.26 ± 0.27 (см. рис. 1, в). При этом значения упомянутых параметров в клетках *HaCaT-MMP1* равны 1.01 ± 0.11 , 1.79 ± 0.17 и 0.89 ± 0.14 соответственно. Изменения в экспрессии цитокератинов, наблюдаемые в *HaCaT-KTR* (см. рис. 1, з), в большинстве случаев не превышают 1.5 раза по сравнению с контрольными образцами, за исключением *KRT14* и *KRT17* (1.86 ± 0.14 и 1.64 ± 1.15 соответственно). В клетках *HaCaT-MMP1* экспрессия *KRT17*, напротив, значительно снижена (0.19 ± 0.02) по отношению к *HaCaT-KTR*.

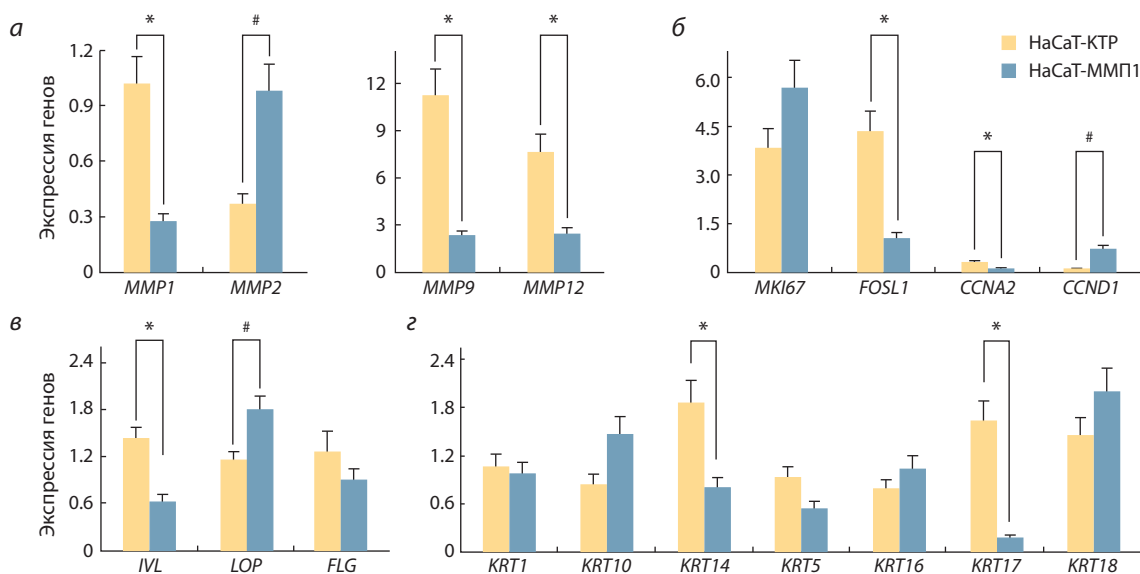


Рис. 1. Оценка изменений генной экспрессии в эпидермальных кератиноцитах человека *HaCaT-MMP1* и *HaCaT-KTR*, обработанных ИЛ-17А, методом количественной ПЦР. Представлены данные об экспрессии генов матриксных металлопротеиназ (а), маркеров пролиферации (б), маркеров терминальной дифференцировки эпидермальных кератиноцитов (в) и цитокератинов (з).

Данные измерений нормировали по уровню экспрессии гена *ACTB*. Изменения генной экспрессии в *HaCaT-MMP1* и *HaCaT-KTR*, обработанных ИЛ-17А (50 нг/мл), приведены относительно контроля (клетки *HaCaT-KTR* без обработки ИЛ-17А). Статистически достоверные увеличения и уменьшения генной экспрессии в клетках *HaCaT-MMP1* над *HaCaT-KTR* ($p < 0.05$, $n = 3$) обозначены знаками # и * соответственно.

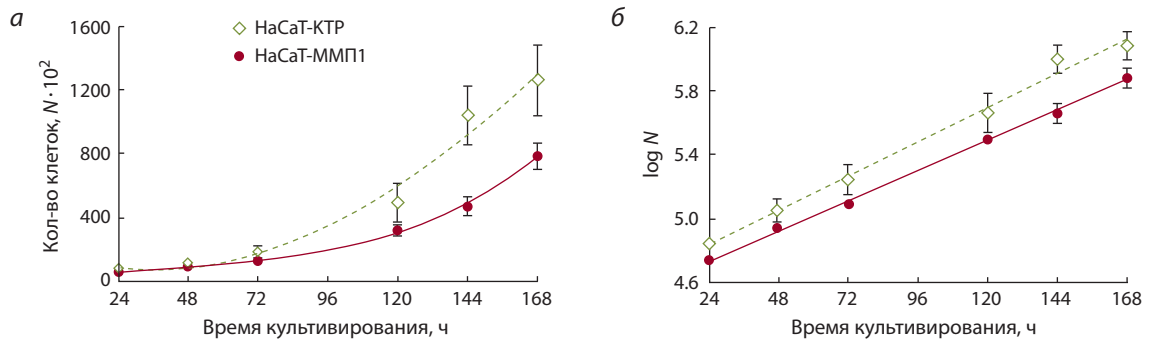


Рис. 2. Кривые роста эпидермальных кератиноцитов человека HaCaT-MMP1 и HaCaT-KTP после их обработки ИЛ-17А: а – в линейных координатах; б – в полулогарифмических.

Клетки обрабатывали ИЛ-17А (50 нг/мл) в течение указанного периода времени.

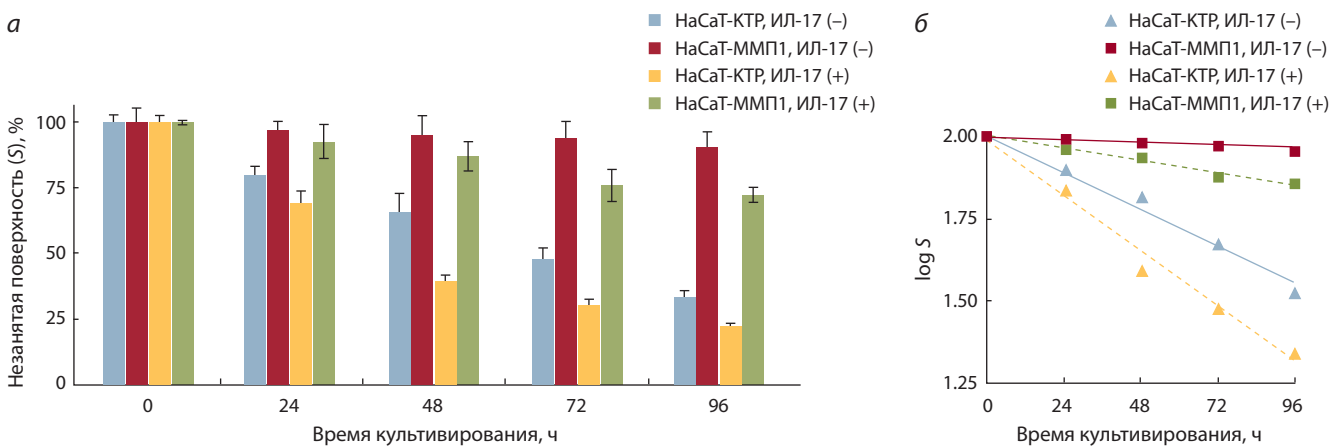


Рис. 3. Анализ изменений скорости миграции эпидермальных кератиноцитов человека HaCaT-MMP1 и HaCaT-KTP, обработанных ИЛ-17А: а – в линейных координатах; б – в полулогарифмических.

Клетки обрабатывали ИЛ-17А (50 нг/мл) в течение указанного периода времени.

Влияние РНК-интерференции *MMP1* на скорость пролиферации клеток

При проведении анализа кривых роста было установлено, что в течение эксперимента исследуемые культуры клеток HaCaT-MMP1 и HaCaT-KTP оставались в фазе экспоненциального роста (рис. 2). При представлении полученных данных в линейных координатах (см. рис. 2, а) изменения количества клеток во времени имели вид монотонно возрастающих кривых. В то же время линеаризация данных в полулогарифмических координатах (см. рис. 2, б) выявила высокую корреляцию между количеством клеток в культуре и продолжительностью их роста ($r > 0.99, p < 0.001$). Сопоставление кривых роста кератиноцитов с РНК-интерференцией *MMP1* и без нее показало, что снижение уровня экспрессии целевого гена привело к замедлению роста клеток (см. рис. 2, а). При этом количественная оценка констант скорости пролиферации по результатам регрессионного анализа составила 0.0078 ± 0.0003 в HaCaT-MMP1 и 0.0090 ± 0.0003 в HaCaT-KTP.

Влияние РНК-интерференции *MMP1* на скорость миграции

Анализ скоростей миграции клеток HaCaT-MMP1 и HaCaT-KTP показал, что РНК-интерференция *MMP1* при-

водит к существенному снижению подвижности эпидермальных кератиноцитов (рис. 3, а). Добавление в культуральную среду ИЛ-17А, напротив, повышает подвижность клеток. Константа скорости миграции клеток вследствие РНК-интерференции *MMP1* изменилась в 11.48 раза, а при добавлении в питательную среду ИЛ-17А – в 1.43 и 3.63 раза для клеток HaCaT-KTP и HaCaT-MMP1 соответственно (см. рис. 3, б).

Обсуждение

Цитокин ИЛ-17А относится к числу так называемых провоспалительных цитокинов. Эта группа биологически активных веществ играет ключевую роль в патогенезе ряда аутоиммунных заболеваний, в том числе псориаза (Коротаева, 2016). Иммунные клетки (клетки-хелперы T_{H17}), которые находятся в пораженной псориазом коже, секретируют ИЛ-17А в межклеточный матрикс. После секреции ИЛ-17А активирует рецептор IL-17RA, который расположен на поверхности резидентных клеток кожи (кератиноцитов, дендритных клеток и фибробластов) и клеток иммунной системы (например, макрофагов). Активация рецептора приводит к увеличению биосинтеза других провоспалительных факторов: цитокинов (ФНО, ИЛ-1 β , ИЛ-6 и др.) и хемокинов (ИЛ-8, CXCL1, CXCL2 и CCL20)

(Mills, 2008; Seo et al., 2017). Цитокины воздействуют на пролиферацию и дифференцировку эпидермальных кератиноцитов, что приводит к образованию псориазических бляшек. Хемокины стимулируют миграцию иммунных клеток (главным образом нейтрофилов и моноцитов) в пораженный болезнью участок кожи. При этом инфильтрация кожи иммунными клетками способствует стабилизации воспалительного процесса.

При работе с культурами эпидермальных кератиноцитов мы использовали ИЛ-17А в концентрации 50 нг/мл (Соболев и др., 2010), что выше концентрации этого цитокина в сыворотке крови здорового человека – 10 пг/мл (Шилова и др., 2015). Однако в лабораторной практике для воспроизведения физиологических эффектов ИЛ-17А, таких как активация киназ (Perić et al., 2008, 2009), индукция генов провоспалительных цитокинов (Tohyama et al., 2009; Cho et al., 2012) или изменение скорости пролиферации (Ma et al., 2016) в культивируемых клетках кожи, прежде всего фибробластах и кератиноцитах, как правило, используют ИЛ-17А в концентрации от 10 до 100 нг/мл. По-видимому, это объясняется тем, что ко времени появления псориазических бляшек иммунные клетки T_{H17} – главные продуценты ИЛ-17А – уже находятся в очаге воспаления, где, собственно, и происходит преимущественное накопление ИЛ-17А в количестве, необходимом для стабилизации воспалительного процесса.

Обработывая ИЛ-17А клетки HaCaT-KTP и HaCaT-MMP1, мы в первую очередь полагали увидеть нарушения в экспрессии генов, связанные с дифференцировкой и пролиферацией эпидермальных кератиноцитов, которые обычно сопровождают образование псориазических бляшек. Соответственно, наблюдаемые в экспериментах изменения в экспрессии *IVL*, *MKI67* и ряда цитокератинов (*KRT14* и *KRT17*) в клетках HaCaT-KTP (линия, которая экспрессировала контрольную shРНК) не стали для нас неожиданностью (см. рис. 1). Помимо этого нас также интересовало, каким образом РНК-интерференция *MMP1* могла бы повлиять на экспрессию важных для патогенеза псориаза генов. Дело в том, что многие из наблюдаемых нами изменений, например увеличение экспрессии *MKI67*, *MMP9* и *MMP12* и уменьшение экспрессии *CCNA2* и *CCND1*, происходили как в HaCaT-KTP, так и в HaCaT-MMP1, т.е. не были вызваны РНК-интерференцией *MMP1* (см. рис. 1, а, б). В то же время ряд показателей, полученных для клеток HaCaT-MMP1 (более низкий уровень *MMP9* и *MMP12*, а также более высокий уровень экспрессии *MMP2*), свидетельствуют о том, что экспрессия shРНК, специфичной к *MMP1*, могла бы частично компенсировать изменения в профиле экспрессии генов матриксных металлопротеиназ, происходящие в пораженной болезнью коже (Naig et al., 2009). Изменения в экспрессии маркеров дифференцировки, такие как упомянутые выше снижение экспрессии *IVL* ($p = 0.05$) и увеличение экспрессии *LOR* ($p = 0.03$) в клетках HaCaT-MMP1 (см. рис. 1, в), также противоположны тем, что происходят в пораженной псориазом коже. При этом мы не обнаружили статистически достоверных различий в экспрессии *FLG* в HaCaT-MMP1 по сравнению с HaCaT-KTP ($p = 0.29$).

Примечательно, что обработка обеих клеточных линий ИЛ-17А не приводит к существенным изменениям в

экспрессии большинства исследованных цитокератинов (см. рис. 1, з). Отсутствие таких изменений, по данным литературы (Noh et al., 2010; Seo et al., 2012), отличает HaCaT (клеточную линию, из которой были получены клетки HaCaT-KTP и HaCaT-MMP1) от первичных эпидермальных кератиноцитов. Так, обработка первичных кератиноцитов человека ИЛ-17А (50 нг/мл) приводит к снижению экспрессии *KRT10*, *FLG*, *LOR* и *IVL* (Noh et al., 2010), тогда как в культуре клеток HaCaT значительных изменений в экспрессии вышеупомянутых генов не происходит (Seo et al., 2012). С другой стороны, согласно полученным нами данным, в клетках HaCaT-KTP наблюдается увеличение экспрессии *KRT14* и *KRT17*, которое аналогично тому, что происходит в пораженной болезнью коже (Naig et al., 2009). Примечательно здесь, что РНК-интерференция *MMP1* приводит к снижению экспрессии обоих генов. Причем наиболее показательным является почти десятикратное снижение экспрессии гена *KRT17*. В ранее опубликованных работах *KRT17* рассматривают в качестве одного из «ключевых» для патогенеза псориаза генов (Al Robaee, 2010; Jin, Wang, 2014). У лабораторных животных подавление экспрессии *KRT17* препятствует развитию гиперплазии (увеличению массы ткани за счет увеличения частоты деления клеток) и снижает интенсивность воспалительного процесса. Повышенная экспрессия *KRT17*, напротив, приводит к увеличению секреции T_{H1} хемокинов *CXCL5*, *CXCL9*, *CXCL10* и *CXCL11* (Al Robaee, 2010). В силу этого мы полагаем, что РНК-интерференция *MMP1* могла бы быть востребована для ослабления воспалительного процесса и подавления гиперплазии в пораженной болезнью коже.

Сравнение профилей геной экспрессии клеток, обработанных ИЛ-17А, также выявило более низкий уровень экспрессии *CCNA2* и более высокий – *CCND1* в клетках HaCaT-MMP1, по сравнению с клетками HaCaT-KTP (см. рис. 1, б). При этом между упомянутыми линиями клеток отсутствуют статистически достоверные изменения уровня экспрессии маркера пролиферации *MKI67* ($p = 0.36$). Как показано ранее, экспрессия *CCND1* необходима для перехода клетки из G_1 в S-фазу клеточного цикла, а экспрессия *CCNA2* – для перехода из G_2 непосредственно к митозу (M) (Matsushime et al., 1992; Pagano et al., 1992). Интересно, что при псориазе изменения в экспрессии циклинов происходят в противоположном направлении. Так, в образцах, полученных из пораженной болезнью кожи, если их сравнивать с визуально нормальной кожей больных, экспрессия *CCND1* уменьшается примерно в 2 раза (Reischl et al., 2007), а экспрессия *CCNA2* возрастает в 8.7 раза (Manczinger, Kemény, 2013). Кроме того, наблюдаемые нами изменения баланса циклинов согласуются с результатами исследований пролиферации клеток. Культивирование клеток HaCaT-MMP1 в присутствии ИЛ-17А приводит к снижению константы пролиферации этих клеток, по сравнению с HaCaT-KTP, в ~1.15 раза (см. рис. 2). В соответствии с этим мы предполагаем, что при использовании *in vivo* РНК-интерференции *MMP1* могла бы обладать антипролиферативным эффектом в условиях накопления ИЛ-17А в пораженной болезнью коже. Последнее обстоятельство представляется нам немаловажным, если учесть, что сам ИЛ-17А не оказывает

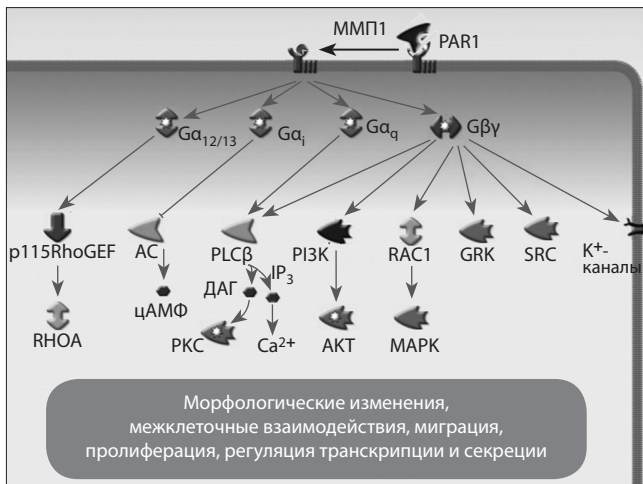


Рис. 4. Участие ММП1 в регуляции внутриклеточных сигнальных механизмов путем активации рецептора PAR1.

Белки, участвующие в активируемых G-белками сигнальных механизмах: p115RhoGEF – первый Rho-фактор обмена гуанидин-нуклеотида; AC – аденилатциклаза; PLC β – изоформа β фосфолипазы C; PI3K – фосфоинозитид-3-киназа; RAC1 – RAC-ассоциированный субстрат ботулотоксина C3; GRK – рецепторная киназа G-белков; SRC – гомолог киназы вируса саркомы Рауса; RHOA – гомологичный белок A семейства RAS; PKC – протеинкиназа C; AKT – киназа AKT или протеинкиназа B; MAPK – митоген-активируемые протеинкиназы. Продукты катализируемых ими реакций: DAG – диацилглицерин; IP $_3$ – инозитолтрифосфат; цАМФ – циклический аденозинмонофосфат.

существенного стимулирующего действия на пролиферацию эпидермальных кератиноцитов (Соболева и др., 2014).

Помимо этого инкубация клеток HaCaT-KTP с ИЛ-17А приводит к изменениям экспрессии генов матричных металлопротеиназ (см. рис. 1, а): *MMP2* (0.37 ± 0.05), *MMP9* (11.15 ± 1.67) и *MMP12* (7.58 ± 1.14). Примечательно, что при псориазе в экспрессии матричных металлопротеиназ происходят аналогичные изменения. Так, данные, полученные ранее в нашей лаборатории, свидетельствуют о том, что в пораженной псориазом коже, по сравнению с визуально нормальной кожей больного, экспрессия *MMP2* снижается (0.77 ± 0.23), а экспрессия *MMP9* и *MMP12* возрастает в 4.2 ± 0.65 и 17.25 ± 5.80 раза соответственно (Стародубцева и др., 2011). В то же время в клетках HaCaT-MMP1, т. е. в условиях РНК-интерференции ММП1, уровень экспрессии упомянутых генов (0.98 ± 0.15 , 2.29 ± 0.34 и 2.44 ± 0.37 соответственно) сопоставим с контрольными образцами (клетками HaCaT-KTP, не обработанными ИЛ-17А). Таким образом, полученные нами результаты говорят о возможности использования РНК-интерференции для того, чтобы контролировать экспрессию упомянутых выше генов матричных металлопротеиназ, в первую очередь *MMP9* и *MMP12*.

Наконец, нами показано, что ИЛ-17А увеличивает подвижность как клеток HaCaT-MMP1, так и HaCaT-KTP (см. рис. 3). Согласно данным литературы, ИЛ-17А обладает способностью ускорять миграцию фибробластов (Wu et al., 2014) и клеток сосудистого эндотелия (Vegfors et al., 2016). При этом влияние ИЛ-17А на миграцию эпидермальных кератиноцитов до настоящего времени опи-

сано не было. Как уже отмечалось, подвижность данного типа клеток напрямую зависит от уровня экспрессии ряда матричных металлопротеиназ – *MMP1*, *MMP3*, *MMP9*, *MMP13* и др. (Mezentsev et al., 2014). Кроме того, подвижность эпидермальных кератиноцитов увеличивается в присутствии фактора некроза опухоли (ФНО), благодаря способности этого цитокина индуцировать *MMP9* (Scott et al., 2004). В цитируемом нами исследовании отмечается, что скорость миграции тем выше, чем больше в питательной среде концентрация ФНО. Напротив, обработка клеток антителами, которые специфичны либо к ММП9, либо к ФНО, существенным образом замедляет их миграцию. Аналогичным образом в наших экспериментах показано, что присутствие ИЛ-17А в культуральной среде сопровождается увеличением экспрессии *MMP9* и *MMP12*. Клетки HaCaT-KTP, обработанные ИЛ-17А, где уровень экспрессии матричных металлопротеиназ повышен, также обладают более высокой подвижностью. В то же время у клеток HaCaT-MMP1, обработанных ИЛ-17А, подвижность, как и экспрессия *MMP*, заметно снижаются (см. рис. 1, а).

В заключение мы хотели бы добавить, что полученные нами результаты интересны тем, что позволяют по-новому взглянуть на традиционную роль ММП1 как протеолитического фермента. Очевидно, что влияние РНК-интерференции *MMP1* на экспрессию генов циклинов и цитокератинов, а также наблюдаемый антипролиферативный эффект можно объяснить непосредственным участием этого фермента во внутриклеточных сигнальных механизмах. Прежде всего, это возможно благодаря тому, что при протеолитическом расщеплении ряда белков межклеточного матрикса образуются биологически активные вещества (матрикины). Эти вещества могут выполнять функцию медиаторов сигнальных процессов (Wells et al., 2015). Кроме того, некоторые матричные металлопротеиназы, включая ММП1, обладают способностью активировать рецепторы семейства PAR (Boire et al., 2005). Так, активация сопряженного с G-белками рецептора PAR1 (рис. 4) происходит в результате протеолитического расщепления N-концевой части его молекулы. Образующийся N-концевой пептид выполняет функцию лиганда. Он взаимодействует с рецептором, в результате чего образуется рецептор-лигандный комплекс. В свою очередь рецептор-лигандный комплекс взаимодействует с G-белками ($G\alpha_{12/13}$, $G\alpha_i$, $G\alpha_q$ и $G\beta\gamma$). Эти белки активируют подконтрольные им внутриклеточные сигнальные механизмы, что, в зависимости от конкретных условий, приводит к тому или иному физиологическому эффекту. К числу таких эффектов относятся: изменения формы и поведения клеток, транскрипция генов и секреция ими белков. Факторы, определяющие взаимодействие рецептора конкретными G-белками, в настоящее время являются предметом интенсивных исследований. Немаловажно, что все вышеперечисленное имеет непосредственное отношение к гиперплазии и гиперпролиферации, которые можно наблюдать в патогенезе псориаза. Наконец, полученные нами результаты могут быть использованы в генной терапии псориаза. В этой связи мы хотели бы добавить, что ранее уже была показана принципиальная возможность использования лентивирусной трансдукции

для достижения ремиссии псориаза у гуманизированных животных (Jakobsen et al., 2009). Помимо этого, в течение многих лет ведутся работы по созданию искусственных вирусов, которые специально предназначены для доставки генетического материала в пораженные болезнью органы и ткани, а некоторые из этих разработок уже успешно применяются для лечения наследственных заболеваний человека (Hacein-Bey-Abina et al., 2002; Bainbridge et al., 2008).

Благодарности

Авторы признательны проф. Э.С. Пирузян за критический анализ рукописи и участие в обсуждении полученных результатов.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы / References

- Батыршина С.В., Садыкова Ф.Г. Коморбидные состояния у больных псориазом. *Практ. медицина*. 2014;8:32-35. [Batyrsina S.V., Sadykova F.G. Comorbid conditions in patients with psoriasis. *Prakticheskaya Meditsina = Practical Medicine*. 2014;8:32-35. (in Russian)]
- Коротаева Т.В. Перспективы применения ингибиторов интерлейкина 17 – нового класса препаратов для таргетной терапии псориазического артрита. *Науч.-практ. ревматология*. 2016;54(3):346-351. DOI 10.14412/1995-4484-2016-346-351. [Korotaeva T.V. Prospects for using interleukin-17 inhibitors, a new class of drugs for targeted therapy of psoriatic arthritis. *Nauchno-Prakticheskaya Revmatologiya = Rheumatology Science and Practice*. 2016;54(3):346-351. DOI 10.14412/1995-4484-2016-346-351. (in Russian)]
- Мишина О.С., Дворников А.С., Донцова Е.В. Анализ заболеваемости псориазом и псориазическим артритом в Российской Федерации за 2009–2011 гг. *Доктор.ру*. 2013;4:52-55. [Mishina O.S., Dvornikov A.S., Dontsova E.V. Psoriasis and psoriatic arthritis: Analysis of 2009–2011 incidence rates in the Russian Federation. *Doctor.ru*. 2013;4:52-55. (in Russian)]
- Могулевцева Ю.А., Мезенцев А.В. Оптимизация условий лентивиральной трансдукции иммортализованных эпидермальных кератиноцитов. Развитие современной науки: теоретические и прикладные аспекты. 2017;13:123-134. [Mogulevtseva J.A., Mezentsev A.V. Optimization of lentiviral transduction of immortalized epidermal keratinocytes. *Modern Science: Theory and Practice*. 2017;13:123-134. (in Russian)]
- Рукавишников В.М. Изменения ногтей при псориазе. *Вестн. дерматологии и венерологии*. 2009;2:71-79. [Rukavishnikova V.M. Change of nails at psoriasis. *Vestnik Dermatologii i Venerologii = Bulletin of Dermatology and Venereology*. 2009;2:71-79. (in Russian)]
- Соболев В.В., Стародубцева Н.Л., Соболева А.Г., Рахимова О.Ю., Корсунская И.М., Пирузян Э.С., Миннибаев М.Т., Кривошапов Л., Брускин С.А., Воронько О.Е. Роль интерлейкинов в патогенезе псориаза. *Соврем. пробл. дерматовенерологии, иммунологии и врачеб. косметологии*. 2010;5(5):79-84. [Sobolev V.V., Starodubtseva N.L., Soboleva A.G., Rakhimova O.Yu., Korsunskaya I.M., Piruzian E.S., Minnibaev M.T., Krivoschapov L., Bruskin S.A., Voronko O.E. Role of interleukins in psoriasis. *Sovremennye Problemy Dermatovenerologii, Immunologii i Vrachebnoy Kosmetologii = Current Problems of Dermatovenerology, Immunology, and Medical Cosmetology*. 2010;5(5):79-84. (in Russian)]
- Соболева А.Г., Золотаренко А.Д., Соболев В.В., Брускин С.А., Пирузян Э.С., Мезенцев А.В. Генетически обусловленное ограничение использования клеток HaCaT в качестве модельной системы псориаза. *Генетика*. 2014;50(10):1222-1231. DOI 10.7868/S0016675814100130. [Soboleva A.G., Zolotareno A.D., Sobolev V.V., Bruskin S.A., Piruzian E.S., Mezentsev A.V. Genetically predetermined limitation in HaCaT cells that affects their ability to serve as an experimental model of psoriasis. *Russ. J. Genetics (Moscow)*. 2014;50(10):1222-1231. DOI 10.7868/S0016675814100130.]
- Стародубцева Н.Л., Соболев В.В., Соболева А.Г., Николаев А.А., Брускин С.А. Экспрессия генов металлопротеаз (*MMP-1, MMP-2, MMP-9, MMP-12*) при псориазе. *Генетика*. 2011;47(9):1254-1261. [Starodubtseva N.L., Sobolev V.V., Soboleva A.G., Nikolaev A.A., Bruskin S.A. Genes expression of metalloproteinases (*MMP-1, MMP-2, MMP-9, and MMP-12*) associated with psoriasis. *Russ. J. Genetics (Moscow)*. 2011;47(9):1117-1123. DOI 10.1134/S102279541109016X.]
- Хамаганова И.В., Алмазова А.А., Лебедева Г.А., Ермаченко А.В. Проблемы эпидемиологии псориаза. *Клин. дерматология и венерология*. 2015;1:12-16. DOI 10.17116/klinderma2015112-16. [Khamaganova I.V., Almazova A.A., Lebedeva G.A., Ermachenko A.V. Psoriasis epidemiology issues. *Klinicheskaya Dermatologiya i Venerologiya = Russian Journal of Dermatology and Venereology*. 2015;1:12-16. DOI 10.17116/klinderma2015112-16. (in Russian)]
- Шилова Л.Н., Панышина Н.Н., Чернов А.С., Трубенко Ю.А., Хортыева С.С., Морозова Т.А., Панышин Н.Г. Иммунопатологическое значение интерлейкина-17 при псориазическом артрите. *Соврем. пробл. науки и образования*. 2015;6:54. [Shilova L.N., Pan'shina N.N., Chernov A.S., Trubenko Y.A., Khortieva S.S., Morozova T.A., Pan'shin N.G. Immunopathological significance of interleukin-17 in psoriatic arthritis. *Sovremennye Problemy Nauki i Obrazovaniya = Current Problems of Science and Education*. 2015;6:54. (in Russian)]
- Al Robaee A.A. Molecular genetics of Psoriasis (Principles, technology, gene location, genetic polymorphism and gene expression). *Int. J. Health Sci. (Qassim)*. 2010;4(2):103-127.
- Bainbridge J.W., Smith A.J., Barker S.S., Robbie S., Henderson R., Balaguer K., Viswanathan A., Holder G.E., Stockman A., Tyler N., Petersen-Jones S., Bhattacharya S.S., Thrasher A.J., Fitzke F.W., Carter B.J., Rubin G.S., Moore A.T., Ali R.R. Effect of gene therapy on visual function in Leber's congenital amaurosis. *N. Engl. J. Med.* 2008;358(21):2231-2239. DOI 10.1056/NEJMoa0802268.
- Boire A., Covic L., Agarwal A., Jacques S., Sherifi S., Kuliopulos A. PAR1 is a matrix metalloprotease-1 receptor that promotes invasion and tumorigenesis of breast cancer cells. *Cell*. 2005;120(3):303-313. DOI 10.1016/j.cell.2004.12.018.
- Canavan T.N., Elmets C.A., Cantrell W.L., Evans J.M., Elewski B.E. Anti-IL-17 medications used in the treatment of plaque psoriasis and psoriatic arthritis: a comprehensive review. *Am. J. Clin. Dermatol.* 2016;17(1):33-47. DOI 10.1007/s40257-015-0162-4.
- Cho K.A., Suh J.W., Lee K.H., Kang J.L., Woo S.Y. IL-17 and IL-22 enhance skin inflammation by stimulating the secretion of IL-1 β by keratinocytes via the ROS-NLRP3-caspase-1 pathway. *Int. Immunol.* 2012;24(3):147-158. DOI 10.1093/intimm/dxr110.
- Chomczynski P., Mackey K. Short technical reports. Modification of the TRI reagent procedure for isolation of RNA from polysaccharide and proteoglycan-rich sources. *BioTechniques*. 1995;19(6):942-945.
- Goldminz A.M., Elder J.T., Leibold M.G., Gladman D.D., Wu J.J., Mehta N.N., Finlay A.Y., Gottlieb A.B. Psoriasis. *Nat. Rev. Dis. Primers*. 2016;2:16082. DOI 10.1038/nrdp.2016.82.
- Hacein-Bey-Abina S., Le Deist F., Carlier F., Bouneaud C., Hue C., De Villartay J.P., Thrasher A.J., Wulffraat N., Sorensen R., Dupuis-Girod S., Fischer A., Davies E.G., Kuis W., Leiva L., Cavazzana-Caro M. Sustained correction of X-linked severe combined immunodeficiency by ex vivo gene therapy. *N. Engl. J. Med.* 2002;346(16):1185-1193. DOI 10.1056/NEJMoa012616.
- Jakobsen M., Stenderup K., Rosada C., Moldt B., Kamp S., Dam T.N., Jensen T.G., Mikkelsen J.G. Amelioration of psoriasis by anti-TNF- α RNAi in the xenograft transplantation model. *Mol. Ther.* 2009;17(10):1743-1753. DOI 10.1038/mt.2009.141.
- Jin L., Wang G. Keratin 17: a critical player in the pathogenesis of psoriasis. *Med. Res. Rev.* 2014;34(2):438-454. DOI 10.1002/med.21291.

- Ma W.Y., Jia K., Zhang Y. IL-17 promotes keratinocyte proliferation via the downregulation of C/EBP α . *Exp. Ther. Med.* 2016;11(2):631-636. DOI 10.3892/etm.2015.2939.
- Manczinger M., Kemény L. Novel factors in the pathogenesis of psoriasis and potential drug candidates are found with systems biology approach. *PLoS One.* 2013;8(11):e80751. DOI 10.1371/journal.pone.0080751.
- Matsushime H., Ewen M.E., Strom D.K., Kato J.Y., Hanks S.K., Rousel M.F., Sherr C.J. Identification and properties of an atypical catalytic subunit (p34PSK-J3/cdk4) for mammalian D type G1 cyclins. *Cell.* 1992;71(2):323-334.
- Mezentsev A., Nikolaev A., Bruskin S. Matrix metalloproteinases and their role in psoriasis. *Gene.* 2014;540(1):1-10. DOI 10.1016/j.gene.2014.01.068.
- Michalek I.M., Loring B., John S.M. A systematic review of worldwide epidemiology of psoriasis. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venerol.* 2017; 31(2):205-212. DOI 10.1111/jdv.13854.
- Mills K.H. Induction, function and regulation of IL-17-producing T cells. *Eur. J. Immunol.* 2008;38(10):2636-2649. DOI 10.1002/eji.200838535.
- Nair R.P., Duffin K.C., Helms C., Ding J., Stuart P.E., Goldgar D., Gudjonsson J.E., Li Y., Tejasvi T., Feng B.J., Ruether A., Schreiber S., Weichenthal M., Gladman D., Rahman P., Schrodi S.J., Prahalad S., Guthery S.L., Fischer J., Liao W., Kwok P.Y., Menter A., Lathrop G.M., Wise C.A., Begovich A.B., Voorhees J.J., Elder J.T., Krueger G.G., Bowcock A.M., Abecasis G.R., for the Collaborative Association Study of Psoriasis. Genome-wide scan reveals association of psoriasis with IL-23 and NF- κ B pathways. *Nat. Genet.* 2009; 41(2):199-204. DOI 10.1038/ng.311.
- NCBI Probe. 2015. Available at <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/probe/>
- Noh M., Yeo H., Ko J., Kim H.K., Lee C.H. MAP17 is associated with the T-helper cell cytokine-induced down-regulation of filaggrin transcription in human keratinocytes. *Exp. Dermatol.* 2010;19(4):355-362. DOI 10.1111/j.1600-0625.2009.00902.x.
- Pagano M., Pepperkok R., Verde F., Ansorge W., Draetta G. Cyclin A is required at two points in the human cell cycle. *EMBO J.* 1992; 11(3):961-971.
- Peric M., Koglin S., Dombrowski Y., Gross K., Bradac E., Büchau A., Steinmeyer A., Zügel U., Ruzicka T., Schaubert J. Vitamin D analogs differentially control antimicrobial peptide/"alarmin" expression in psoriasis. *PLoS One.* 2009;4(7):e6340. DOI 10.1371/journal.pone.0006340.
- Peric M., Koglin S., Kim S.M., Morizane S., Besch R., Prinz J.C., Ruzicka T., Gallo R.L., Schaubert J. IL-17A enhances vitamin D3-induced expression of cathelicidin antimicrobial peptide in human keratinocytes. *J. Immunol.* 2008;181(12):8504-8512.
- Rao K.S., Babu K.K., Gupta P.D. Keratins and skin disorders. *Cell. Biol. Int.* 1996;20(4):261-274.
- Reischl J., Schwenke S., Beekman J.M., Mrowietz U., Stürzebecher S., Heubach J.F. Increased expression of Wnt5a in psoriatic plaques. *J. Invest. Dermatol.* 2007;127(1):163-169. DOI 10.1038/sj.jid.5700488.
- Schindelin J., Rueden C.T., Hiner M.C., Eliceiri K.W. The ImageJ ecosystem: An open platform for biomedical image analysis. *Mol. Reprod. Dev.* 2015;82(7-8):518-529. DOI 10.1002/mrd.22489.
- Scott K.A., Arnott C.H., Robinson S.C., Moore R.J., Thompson R.G., Marshall J.F., Balkwill F.R. TNF- α regulates epithelial expression of MMP-9 and integrin α v β 6 during tumour promotion. A role for TNF- α in keratinocyte migration? *Oncogene.* 2004;23(41):6954-6966. DOI 10.1038/sj.onc.1207915.
- Seo K.Y., Kitamura K., Han S.J., Kelsall B. Th17 cells mediate inflammation in a novel model of spontaneous experimental autoimmune lacrimal keratoconjunctivitis with neural damage. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2017; pii: S0091-6749(17)31504-X. DOI 10.1016/j.jaci.2017.07.052.
- Seo M.D., Kang T.J., Lee C.H., Lee A.Y., Noh M. HaCaT keratinocytes and primary epidermal keratinocytes have different transcriptional profiles of cornified envelope-associated genes to T helper cell cytokines. *Biomol. Ther. (Seoul).* 2012;20(2):171-176. DOI 10.4062/biomolther.2012.20.2.171.
- Soboleva A.G., Mezentsev A., Zolotorenko A., Bruskin S., Pirusian E. Three-dimensional skin models of psoriasis. *Cells Tissues Organs.* 2014;199(5-6):301-310. DOI 10.1159/000369925.
- Tohyama M., Hanakawa Y., Shirakata Y., Dai X., Yang L., Hirakawa S., Tokumaru S., Okazaki H., Sayama K., Hashimoto K. IL-17 and IL-22 mediate IL-20 subfamily cytokine production in cultured keratinocytes via increased IL-22 receptor expression. *Eur. J. Immunol.* 2009;39(10):2779-2788. DOI 10.1002/eji.200939473.
- Vegfors J., Ekman A.K., Stoll S.W., Bivik Eding C., Enerbäck C. Psoriasis (S100A7) promotes stress-induced angiogenesis. *Br. J. Dermatol.* 2016;175(6):1263-1273. DOI 10.1111/bjd.14718.
- Wells J.M., Gaggari A., Blalock J.E. MMP generated matrikines. *Matrix Biol.* 2015;44-46:122-129. DOI 10.1016/j.matbio.2015.01.016.
- Wu Y., Zhu L., Liu L., Zhang J., Peng B. Interleukin-17A stimulates migration of periodontal ligament fibroblasts via p38 MAPK/NF- κ B-dependent MMP-1 expression. *J. Cell. Physiol.* 2014;229(3):292-299. DOI 10.1002/jcp.24444.
- Yazici A.C., Tursen U., Apa D.D., Ikizoglu G., Api H., Baz K., Tasdelen B. The changes in expression of ICAM-3, Ki-67, PCNA, and CD31 in psoriatic lesions before and after methotrexate treatment. *Arch. Dermatol. Res.* 2005;297(6):249-255. DOI 10.1007/s00403-005-0602-8.
- Zolotorenko A., Chekalin E., Mesentsev A., Kiseleva L., Gribanova E., Mehta R., Baranova A., Tatarinova T.V., Piruzian E.S., Bruskin S. Integrated computational approach to the analysis of RNA-seq data reveals new transcriptional regulators of psoriasis. *Exp. Mol. Med.* 2016;48(11):e268. DOI 10.1038/emmm.2016.97.