

外泌体 miRNA 在类风湿关节炎中的作用机制和潜在治疗前景探索

张莹, 易国详, 王晶, 王森

(重庆市中医院 风湿免疫科, 重庆 400021)

摘要: 类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种慢性自身免疫性疾病, 可导致关节畸形和功能丧失。由于复杂的病理机制和炎症因子的多样性, 现有的治疗其临床疗效仍不令人满意, 国际上一直在探索新的治疗策略。有证据表明, 外泌体及其中包裹的 miRNA 参与了 RA 的发病机制, 外泌体 miRNA 作为 RA 诊断的生物标志物以及精确识别和靶向治疗的诊断工具表现出巨大的潜力, 外泌体作为最有前途的药物递送载体之一, 有望成为 RA 治疗的新方法。近年来, 研究者们对外泌体 miRNA 在 RA 发病和进展中的作用展开了深入的研究。该综述概括了外泌体 miRNA 参与 RA 的作用机制研究进展, 并探索其在临床中潜在的应用前景。

关键词: 外泌体; 类风湿关节炎; 微小 RNA; 机制; 治疗策略

中图分类号: R392.8

文献标志码: A

文章编号: 1001-2478(2025)06-0728-08

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种自身免疫性疾病, 以慢性关节炎和关节破坏为特征, 并累及关节外其他部位。中国 RA 的患病率为 0.2%~0.4%, 而欧洲和美洲国家的患病率较高, 高达 1%^[1]。目前 RA 在国内外仍属于难以防治的一种疾病, 因此, 识别和理解其潜在的细胞和分子机制有助于在 RA 的治疗中获益。越来越多的证据表明, 细胞和分子改变在 RA 的发生和发展中起着关键作用。在各种靶点和分子信号通路中, miRNA 及其调控网络在 RA 发病机制中起关键作用, 许多 miRNA 的失调涉及 RA 的不同阶段^[2]。外泌体是一种由细胞分泌的纳米级囊泡, 它携带着各种生物活性分子, 包括 miRNA, 这些 miRNA 在细胞间通信和调节基因表达中扮演着重要的角色。在 RA 等自身免疫性疾病中, 外泌体 miRNA 发挥关键作用, 影响疾病的发病机制和进展。本文从外泌体 miRNA 在 RA 发病机制中的功能及其潜在的治疗作用进行了全面的分析和综述。本综述为外泌体 miRNA 作为识别 RA 未来治疗靶点的一种手段的诊断和治疗应用提供了有价值的临床见解。

目前, RA 的普遍治疗方案包括糖皮质激素、非甾体类抗炎镇痛药、免疫抑制剂和生物制剂。然而, 大多数患者无法完全治愈, 往往需要终生服药。由于需要长期用药, 患者容易出现耐药性和药物不良反应。虽然近年来, RA 的新治疗方法不断发展, 但这些方法并不适合所有患者, 因为许多患者对目前的治疗方法没有反应。因此, 探索 RA 的诊断标志物、特异性发病机制和有效治疗方案是该领域亟待解决的难点和热点。外泌体和 RA 之间有显著的相关性。首先, 外泌体在 RA 的发病机制中起着至关重要的作用, 是细胞间蛋白质和脂质交换的关键介质。它们还促进细胞之间遗传信息的转移和调节。其次, 外泌体是 RA 有价值的生物标志物。外泌体的表面含有各种免疫反应分子, 并携带重要的生物信使, 如蛋白质、mRNA 和 DNA 片段。这些信使调节各种免疫反应现象, 例如免疫细胞之间的抗原信息交换、免疫细胞活化和抑制。再次, 外泌体在 RA 中具有巨大的治疗潜力, 它们不仅可以作为治疗 RA 的靶标, 还可以作为药物递送载体, 从而能够有针对性地治疗这些疾病^[3]。

1 外泌体 miRNA 的概述

外泌体是起源于核内体的纳米囊泡, 直径大小为 40~160 nm(平均为 100 nm)。由细胞内部的胞内体与细胞膜融合释放到细胞外形成, 可以通过携带多种生物大分子对受体细胞的各项生物学特性及

收稿日期: 2024-09-07

基金项目: 国家自然科学基金(82104848); 重庆市自然科学基金(CSTB2022NSCQ-MSX1250)

作者简介: 张莹(1981—), 女, 硕士, 副主任医师, 主要从事中西医结合诊治风湿病的基础与临床研究工作

通信作者: 王森(E-mail: wm351311291@163.com)

生理状态进行调节^[4]。根据其细胞来源,外泌体含有多种成分,包括 DNA、RNA、脂质、代谢物、胞质蛋白和细胞表面蛋白^[5]。由于其携带遗传信息的能力,外泌体可成为细胞间通信的关键介质,并已被研究为治疗分子的潜在载体。许多研究表明外泌体参与炎症过程,而炎症在许多疾病的发病机制中发挥重要作用,如肿瘤、2 型糖尿病、炎症性肠病、RA 和神经退行性疾病等^[6]。此外,外泌体已经成为细胞间通信的重要调节因子,通过调节细胞间广泛的各种生物过程,局部和系统地发挥其影响^[7]。值得注意的是,外泌体是系统性免疫性疾病的尖端治疗策略^[8]。外泌体具有较高的稳定性和特异性,通过形成免疫复合物,提呈抗原,活化成纤维细胞样滑膜细胞,降解细胞外基质,介导 TLR 活化,传递 miRNA、炎症因子、蛋白酶和其他的蛋白质等过程参与 RA 发病机制^[9]。

miRNA 是一种短的非编码 RNA,长度近 22 个核苷酸,于 1993 年首次被发现,它们作为基因表达的表现遗传调控因子发挥着关键作用,其广泛参与基因调控与细胞的增殖、分化、凋亡等多种生物过程^[10]。它们经过 Dicer 酶加工后生成,能够通过靶 mRNA 特异性的碱基配对,引起靶 mRNA 的降解或者抑制其翻译,从而对基因进行转录后表达的调控。越来越多的证据表明,在人类基因组中已经发现了 1 500 个 miRNA,它们可能调控着多达三分之一的人类 mRNA。在 RA 免疫紊乱中 miRNA 发挥重要的调节免疫作用,其参与 T 细胞、B 细胞、中性粒细胞等的分化与成熟以及抗原提呈与多种细胞因子的生成等^[11]。与体液中的 miRNA 相比,外泌体 miRNA 具有更多的优势,其更为丰富,显著高于体液中 miRNA 中的含量,并且其含有体液循环不具有的特异性 miRNA,这使得外泌体 miRNA 较体液 miRNA 诊断更有优势,外泌体特殊的结构对 miRNA 的保护可以使得外泌体 miRNA 稳定存在,减少 miRNA 的降解^[12]。因此,外泌体 miRNA 正在成为研究 RA 机制及其治疗的新靶点。

2 外泌体 miRNA 参与 RA 的发生、发展

已知 miRNA 参与几乎所有生物过程的调节,包括 RA 的炎症反应、细胞的增殖、凋亡、血管生成、免疫调节和细胞因子的产生等。在 RA 发病机制中有关 miRNA 的研究主要集中于血清 miRNA

和 PBMC miRNA,而外泌体 miRNA 的研究还处于起步阶段。

2.1 外泌体 miRNA 与炎症反应 外泌体的转运物质参与了炎症细胞相互作用的联合重建、抵抗淋巴细胞的凋亡、细胞外基质的降解、抗原的呈递和血管生成的促进。各种细胞来源的外泌体 miRNA 在 RA 的炎症机制中发挥着非常大的作用。

外泌体 miR-6089 可能通过调节巨噬细胞样 THP-1 细胞中的 TLR4 信号,阻碍 LPS 诱导的炎症因子的产生,包括 TNF- α 、IL-29、IL-6,甚至 miR-6080 可能阻碍 THP-1 细胞的增殖,调节 LPS/TLR4 介导的炎症反应^[13]。TNF- α 刺激的外泌体表达上调的 miRNA,包括 miR-155-5p、miR-146a-5p、miR-323a-5p 和 miR-1307-3p 已在 RA 患者中被发现,在这些 miRNA 中,miR-146a 在 RA 患者的 CD4⁺ T 细胞上表达,过度表达的 miR-146a 通过影响 Jurkat T 细胞 Fas 相关因子 1 凋亡^[14]。

巨噬细胞在 RA 的发病机制中起着重要作用。巨噬细胞可细分为两种不同的表型,称为 M1 和 M2 巨噬细胞^[15]。M1 巨噬细胞具有促炎作用,可产生 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 和 IL-23。M2 巨噬细胞参与了炎症反应的消退。RA 中促炎 M1 和抗炎 M2 巨噬细胞活性之间的不平衡可导致滑膜炎和自身免疫。有趣的是,M2 型巨噬细胞的仿生载体 M2 外泌体可靶向炎症部位并表现出显著的抗炎特性^[16]。巨噬细胞外泌体中 miR103a 的高表达可通过下调肝细胞核因子 4 和激活 JAK/STAT3 通路来加剧 RA 小鼠的炎症和血管生成,从而加重小鼠 RA 的发生^[17]。

软骨源性骨髓间充质干细胞(bone marrow derived mesenchymal stem cells, BMSC)衍生的外泌体抑制 RA 中的促炎细胞因子、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)和 MAPK 以及转录因子 NF- κ B 通路。其中 miR-205-5p 在软骨源性 BMSC 衍生的外泌体中高表达。鼠双微体基因 2 (murine double minute 2, MDM2)是由 NF- κ B 调控的重要靶基因之一,软骨源性 BMSC 分泌的外泌体 miR-205-5p 可通过 MDM2 抑制胶原诱导型关节炎(collagen-induced arthritis, CIA)小鼠的炎症评分、关节破坏和炎症反应^[18]。BMSC 外泌体可以抑制巨噬细胞和 RA 大鼠 IL-1 β 、TNF- α 和 IL-18 的释放以及 NOD 样受体家族含 pyrin 结构域蛋白 3 (NOD-like receptor family pyrin domain-contain-

ning protein 3, NLRP3)的激活, miR-223 可以靶向并抑制 NLRP3 的表达, 并为 BMSC 分泌的外泌体的抗炎作用提供了可能的调节途径, 研究提示 BMSC 衍生的外泌体携带的 miR-223 靶向 NLRP3 以调节炎症小体的激活, 因此可以作为 RA 的可能治疗方法^[19]。以上研究都显示 miRNA 与 RA 炎症密切相关, 而外泌体 miRNA 在 RA 炎症反应上发挥着巨大作用。

2.2 外泌体 miRNA 的免疫调节作用 T 细胞, 特别是 Th1 和 Th17, 在 RA 的生理与病理中起着重要作用。除此之外, Treg 是 T 细胞的一个子集, 被认为可以调节免疫功能和预防自身免疫性疾病^[20]。Wang 等^[21]发现 RA 外泌体可以在体外选择性的影响 Treg 分化, 几种 miRNA(包括 miR-17、miR-19b 和 miR-121)在 RA 外泌体中比在健康对照人群外泌体中更丰富, 其中 miR-17 可以通过抑制 T 细胞转化生长因子 β 受体 II 的表达来抑制 Treg 诱导, 研究结果提示, RA 外泌体中 miRNA 表达的改变可能通过破坏 Treg 的稳定来促进 RA 的发病。Yao 等^[22]发现, 来源于 RA 滑膜成纤维细胞(synovial fibroblasts, SF)的外泌体的一种长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)—HOTTIP, 其在 RA SF 中的表达是上调的, HOTTIP 直接与 miR-1908-5p 结合, 负调控 miR-1908-5p 表达, 同时正调控 STAT3。miR-1908-5p 过表达部分逆转了 HOTTIP 过表达对调节 Th17/Treg 比例平衡的影响, HOTTIP 可以作为 RA 患者的有效治疗工具。

多项研究已经注意到 miRNA 在 RA 发病机制中发挥重要作用, 其中 miR-146 和 miR-155 作为主要免疫应答调节因子。在小鼠中已检测到 miR-146a 和 T 细胞反应之间存在严重的负相关关系, 这是 miR-146a 在控制 CD4⁺ T 细胞向 Th1 分化时最重要的特征^[23]。一些研究表明, miR-146a 作为 T 细胞中 Th1 分化过程的关键阻断剂, miR-146a 通过抑制 Th1 分化和减少 IFN- γ 等促炎因子的分泌, 控制 Treg 介导的 Th1 反应调节作用^[24]。有学者通过探讨 miR-146a/miR-155 转导间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSC)来源的外泌体对免疫反应的治疗效果, 发现 miR-146a 转导的 MSC 来源的外泌体也提高了 CIA 小鼠叉头框蛋白 3、TGF- β 和 IL-10 的表达, miR-155 进一步增加了这些小鼠中视黄酸受体相关孤儿受体 γ t、IL-17 和

IL-6 的表达, 用抗炎 miRNA 操纵 MSC 衍生的外泌体可能会增加 Treg 和抑炎细胞因子^[25]。

2.3 外泌体 miRNA 与新生血管形成 RA 的病理过程中, 血管新生是一种标志性的组织学改变, 新生血管形成伴随着滑膜增生和炎症细胞浸润, 是 RA 中血管翳形成及关节破坏的基础。血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是参与调控血管发生和血管新生的关键分子, 是目前已知作用最强的促血管新生的细胞因子, 也是参与 RA 滑膜血管翳病变的重要细胞因子。因此, 降低 VEGF 水平、抑制 VEGF 活性是控制 RA 病情进展的关键。许多阻断 VEGF 合成的物质被用作抗风湿药物, 而靶向血管生成已被研究为治疗 RA 的潜在治疗方法。

在 CIA 小鼠模型中, 已经观察到源自 MSC 外泌体的 miR-150-5p(Exo-150)可以有效阻断 RA 软骨细胞的增殖和侵袭, 其通过靶向降低滑膜细胞中 MMP14 和 VEGF 的水平, 其中 MMP14 和 VEGF 又可以抑制血管生成和滑膜增生, 从而显著减轻关节破坏, 同时在 CIA 小鼠模型中研究了 Exo-150 在体内的作用, 注射 Exo-150 可减少 CIA 小鼠的后爪厚度和临床关节炎评分^[26]。

在 CIA 大鼠模型中, 源自人脐带间充质干细胞(human umbilical cord mesenchymal stem cells, hUCMSC)的外泌体可以通过 miRNA 抑制 RA SF 的增殖、迁移和侵袭。高通量测序检测到 13 个 miRNA, 这些 miRNA 可以通过 hUCMSC 来源的外泌体从 hUCMSC 传递到 RA SF, miR-451a 通过调节激活转录因子 2 抑制 RA SF 的增殖、迁移和侵袭, 改善 CIA 大鼠的关节炎症和影像学表现, 这些都是很有潜力的治疗方法^[27]。

miR-200a-3p 在增殖、凋亡、炎症和血管生成等许多生物学过程中都具有重要意义。有学者探索了 miR-200a-3p 在 RA 中的作用机制, 发现 miR-200a-3p 在 TNF- α 刺激的 SF 衍生的外泌体和用这些外泌体处理的人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVEC)中的表达显著增加, 这些外泌体能够通过 miR-200a-3p/KLF6/VEGFA 轴增强 HUVEC 的迁移、侵袭和血管生成^[28]。

2.4 外泌体 miRNA 与细胞的增殖、凋亡 滑膜细胞的过度增殖与凋亡抑制在 RA 的发病中发挥非常重要的作用。miR-126 和 miR-30a 在 RA 患者的滑膜组织中表达增强, 并且在 SF 中 miR-126 与其直接

靶基因磷酸肌醇 3-激酶调节亚基 2(phosphoinositide-3-kinase regulatory subunit 2, PIK3R2)的产生呈负相关。基于 PIK3R2 在 PI3K/AKT 信号通路中的抑制功能,有人提出高水平的 miR-126 通过控制 PI3K/AKT 信号通路改善 RA SF 的增殖和持续凋亡^[29]。

据报道,miR-124a 在控制 SF 的增殖中发挥了重要作用,提示其可能用于 RA 治疗^[30]。国内学者研究发现 miR-124a 抑制 RA 成纤维细胞样滑膜细胞(fibroblast-like synoviocytes, FLS)的活力和增殖,并增加 G1 期细胞的百分比,通过靶向 PI3K/NF- κ B 通路抑制 RA FLS 中的增殖和炎症,提示 miR-124a 是 RA 的一个有前途的治疗靶点^[31]。Meng 等^[32]从过表达 miRNA-124a 的人 MSC 中生产外泌体,并发现与 MSC-124a-EV 共培养 FLS 细胞系可能抑制细胞迁移和增殖,并在共孵育过程中促进该细胞的凋亡。

HUCMSC 衍生的外泌体 miR-140-3p 通过沉默血清/糖皮质激素调节激酶 1,抑制了炎症、氧化应激和纤维化,也限制了 RA SF 的生长,从而减轻了 RA 大鼠的关节损伤^[33]。

2.5 外泌体 miRNA 参与 RA 的骨破坏 RA 的特征是由破骨细胞介导的局灶性关节侵蚀,骨侵蚀的进展会导致软骨下骨的丢失,并导致关节软骨及软骨下骨的破坏。RA SF 在 RA 炎症和软骨退化的形成和慢性化中起着核心作用,特别是来自 FLS 的外泌体,在 RA 发病机制中发挥重要作用^[34-35]。来自这些细胞的外泌体已被证实可以通过各种 LncRNA 和 miRNA 诱导关节软骨和骨的降解^[36-37]。

RA 的关节骨侵蚀是由炎症和调节骨代谢的途径之间的相互作用介导的,miRNA 是骨骼重塑的重要调节因子,并在 RA 的发病机制中发挥作用。炎症滑膜组织中 miRNA 的表达在调节成骨细胞和破骨细胞功能的通路中发挥了重要作用。对 C57BL/6 小鼠的研究也表明,RA SF 外泌体中 miR-221-3p 的产生增强,miR-221-3p 在整个过程中调节骨骼网络的炎症,这些区域可能影响骨发育和骨降解^[38]。TNF- α 以膜结合形式存在于 RA 患者的 FLS 外泌体中,源自 RA FLS 的 TNF- α 刺激的外泌体 lncRNA (TRAF1)4:1 通过上调 miR-27a-3p 的靶基因 C-X-C 基序趋化因子配体 1(C-X-C motif chemokine ligand, CXCL1),可有效降解

软骨细胞胞外基质,对抑制软骨细胞的增殖和迁移有显著作用^[37]。RA 的发病机制与抑制成骨细胞分化有关。源自 RA FLS 的外泌体中使用 miR-486-5p 可以减轻 RA 对骨骼的损害。含有 miR-486-5p 的外泌体通过激活骨形态发生蛋白/Smad 信号通路和抑制 Tob1 促进成骨细胞分化,降低 CIA 诱导的小鼠 Tob1 表达来缓解 RA 的疾病严重程度^[39]。

3 外泌体 miRNA 在 RA 中的临床应用

已明确知道,由于外泌体 miRNA 的生物学能力,由非免疫细胞和免疫细胞产生的外泌体在免疫反应和一些疾病的病理发生中具有重要的作用^[40]。越来越多的文献表明,外泌体 miRNA 可以作为诊断疾病的生物标志物,并可以具有治疗作用。在这方面,外泌体 miRNA 的评估为自身免疫性疾病的特征带来了新的要素。

3.1 外泌体 miRNA 作为 RA 的潜在生物标志物

3.1.1 早期预测和诊断 及时诊断和适当的早期干预可显著提高 RA 患者的预后。RA 的临床诊断主要依赖于病史、症状观察、实验室和影像学检查。然而,RA 管理的一个重大临床挑战是存在 15%~20% 的血清阴性病例,缺乏典型的自身抗体^[41]。鉴于在识别疾病、预测疾病严重程度和关节损伤方面的敏感性和特异性有限,仔细探索和发掘满足紧急临床需求的新型生物标志物至关重要。

Gong 等^[42]研究了血清来源的外泌体 miRNA 作为 RA 潜在生物标志物的特征,预测了这些 miRNA 的靶基因,并使用生物信息学软件检查了它们的潜在功能和相关途径,在包括 108 名 RA 患者和 103 名健康对照的更大队列中验证了选定的外泌体 miRNA,首次成功证明了血清外泌体 miRNA,特别是 miR-885-5p、miR-6894-3p 和 miR-1268a 作为 RA 早期诊断和预测的生物标志物的潜力。有研究中使用了 306 名 RA 患者和相同数量的年龄/性别匹配的对照组,通过进行 qRT-PCR 评估上述外泌体 miRNA 的表达水平,统计分析显示,与对照组相比,RA 患者中 miRNA-103a-3p、miR-10a-5p、miR-204-3p、miR-330-3p 和 miR-19b 的表达显著下调,RA 患者的 8-羟基脱氧鸟苷和组蛋白脱乙酰化水平显著升高,上述外泌体 miRNA 在 RA 患者中具有良好的诊断特异性/敏感性。这些分析表明,通过靶向氧化应激和组蛋白去乙酰化过程,最终导致 RA 患者骨放松和疾病严重程度的增

加, 失调的外泌体 miRNA 在 RA 的启动中具有潜在作用^[43]。国内学者研究了外周血中与 RA 相关的细胞外小分子非编码 RNA, RA 患者的循环外泌体 miRNA (hsa-miR-335-5p 和 hsa-miR-486-5p) 表达水平高于对照组, 同时该研究鉴定了 *SRSF4* 基因, 它是 hsa-miR-335-5p 和 hsa-miR-486-5p 的共同靶标, 通过外部验证发现该基因在 RA 患者的滑膜组织中的表达降低。此外, hsa-miR-335-5p 与抗 CCP、DAS28-红细胞沉降率、DAS28-CRP 和类风湿因子呈正相关。其研究结果提供了强有力的证据, 证明循环外泌体 miRNA (hsa-miR-335-5p 和 hsa-miR-486-5p) 和 *SRSF4* 可能是 RA 的有价值的生物标志物^[44]。

RA 免疫细胞和 SF 的关联在很大程度上仍然是未知的。通过对血浆外泌体进行全局 miRNA 筛选以及验证, 确认了外泌体 miR-204-5p 的表达下调, 且血浆外泌体 miR-204-5p 表达与类风湿因子、红细胞沉降率、CRP 等 RA 患者疾病参数呈负相关。在体外, 数据显示, 人 T 细胞释放出含有大量 miR-204-5p 的外泌体, 这些外泌体可以转移到 SF 中, 抑制细胞增殖。miR-204-5p 在滑膜成纤维细胞中的过表达通过靶向与细胞增殖和侵袭相关的基因来抑制 SF 的活化。体内试验发现, 表达 miR-204-5p 的慢病毒可显著缓解 CIA 小鼠的疾病进展, 这项研究提示血浆外泌体 miRNA-204-5p 介导免疫细胞和 SF 之间的通讯, 可用作 RA 诊断和治疗的潜在生物标志物^[45]。有学者发现, 人 BMSC 来源外泌体 miRNA-320a 可通过靶向下调 *CXCL9* 表达水平, 抑制 RA SF 的增殖和迁移, miR-320a 有可能成为 RA 诊断标志物和潜在治疗靶点^[46]。

有学者在早期的 RA 试点研究中检测到 11 种差异表达的外泌体 miRNA。验证分析显示, 其中 6 个外泌体 miRNA 与试点微阵列数据 (miR-144-3p、miR-25-3p、miR-15a-5p、miR-451a、miR-107 和 miR-185-5p) 具有很强的 consistency, 早期 RA 患者血清中 sTWEAK 和 sCD163 生物标志物显著升高, 早期 RA 诊断最佳的 panel 包含外泌体 miR-451a、miR-25-3p 和 sTWEAK, 能正确分类 95.6% 的患者, 且 *YWHAB* 基因被确定为假定的 miRNA 调节通路的共同靶标。由外泌体 miR-451a、miR-25-3p 和血清水平 sTWEAK 组成的新型血清生物标志物组合可能用于 RA 的早期临床诊断, 这种新的预测外显微 RNA 靶基因 *YHWAB*, 该基因可能在 RA

的发展中具有相关作用^[47]。

3.1.2 治疗及预后评估中的作用 生物合成类抗风湿药物在 RA 合并病毒性肝炎的患者治疗后, miRNA 在 HCV 感染的 RA 患者中的反应仍然未知, 考虑到 HCV 复制后的潜在安全问题, 确定宿主对靶向治疗的免疫反应的生物标志物对于在 RA 患者中实现最佳结果至关重要^[48]。有学者研究了托法替尼、TNF- α 抑制剂和利妥昔单抗对 RA 患者 HCV 感染的影响, 研究发现, 与非 HCV 患者相比, HCV RA 患者的 hsa-mir-155-5p 和 hsa-mir-122-5p 显著扩增。与其他治疗相比, 使用 RTX 的患者中 hsa-mir-122-5p 的显著增加和 hsa-mir-155-5p 表达水平的降低。而服用托法替尼后, 与没有 HCV 的患者相比, RA-HCV 患者的 hsa-mir-155-5p 和 hsa-mir-122-5p 显著增加。hsa-mir-155-5p 和 hsa-mir-122-5p 可能是 HCV RA 患者治疗效果的潜在生物标志物^[49]。

在 RA 稳定期与活动期, 外泌体 miRNA 表达量是有差异的。国内研究发现, 外泌体 miR-223-3p 在 RA 活动组中的相对表达水平高于 RA 稳定组, 且与患者关节压痛数、关节肿胀数、DAS28-CRP、DAS28-ESR 均呈正相关, 提示外泌体 miR-223-3p 可作为 RA 活动性的判断^[50]。孙广等^[51]也发现血清外泌体 miR-223、miR-155 水平与 RA 患者 DAS28 评分、血清抗 CCP 抗体、CRP、红细胞沉降率、类风湿因子水平、TNF- α 、IL-6、IL-17、IL-1 β 正相关, 在 RA 患者血清外泌体中表达上调, 与 RA 疾病发生和严重程度有关。杨平等^[52]首次发现了一种在 RA 患者血清低表达的标志物外泌体 miR-11400, 通过给予甲氨蝶呤干预后, 该标志物表达量逐渐增高, 而 RA 相关活动性评分均显著降低, 提示外泌体 miR-11400 在一定程度上可以用于辅助风湿科医师评估 RA 的治疗效果。

利用 BMSC 治疗 RA 已成为一种新的治疗方法。有学者发现, MSC 主要通过释放外泌体和旁分泌细胞因子来发挥调节作用^[53]。一些研究发现, RA 患者的血液、滑液和类风湿结节中的 IL-27 水平升高。因此, IL-27 可能直接或间接地参与了 RA 的发病机制^[54]。IL-27 可诱导 miR-206 在 MSC 中的表达, miR-206 可通过 MSC 释放的外泌体转运到 FLS 中, 促进 FLS 的迁移和 MMP3 的表达, 加重关节软骨损伤。IL-27 高表达的 RA 患者可能不适合接受 MSC 治疗, 临床医生可以使用敲除或删除

除 IL-27R 的 MSC 来治疗 IL-27 高表达的 RA 患者^[55]。

外泌体作为药物递送载体在 RA 中有着应用潜力。TNF- α 是一种广泛分布在血清和滑液中的促炎细胞因子, 对治疗 RA 很重要。Wu 等^[56] 开发了一种使用牛奶来源的外泌体封装的 TNF- α siRNA 包被冷冻微针贴片的新疗法, 并通过穴位局部透皮给药评估其在 RA 治疗中的疗效。体外试验表明, 该疗法具有良好的生物相容性, 可抑制 RA SF 的增殖。体内药效学研究发现, 该疗法可有效缓解 RA 模型兔一般情况、微循环指标变化、滑膜组织病理学变化以及滑膜组织中相关蛋白的表达, 穴位透皮给药各指标改善明显提高, 该研究促进了冷冻微针与外泌体和穴位药物递送相结合以治疗 RA 的开发。载有姜黄素的 MSC 衍生外泌体可降低 RA 的炎症介质的表达水平, 可增强滑膜细胞的毒性和凋亡的效率^[57]。

4 结语

外泌体在 RA 中的作用越来越受到研究者的重视。通过深入研究外泌体的组成和功能, 可以更好地理解外泌体在 RA 发病机制和关节破坏过程中的作用。此外, 外泌体作为一种潜在的治疗策略, 为开发新的治疗方法和策略提供了新的思路。然而, 该领域仍然面临着许多挑战, 包括方法学标准化、外泌体提取和纯化、治疗策略的优化等。未来的研究将进一步揭示外泌体在 RA 中的确切作用, 为个体化治疗和精准医学的发展提供新的机会。

外泌体 miRNA 的研究领域才刚刚起步, 特别是关于自身免疫性疾病的研究领域。最近发现, 外泌体 miRNA 可重编程许多免疫细胞参与自身免疫性疾病; 外泌体 miRNA 可能持有信息, 有助于调节免疫反应的健康和致病状态, 包括自身免疫性疾病。本文对外泌体和外泌体 miRNA 的综述, 阐述了新的治疗方法的构建, 包括非常高效的基于外泌体的 miRNA 传递方法, 以抑制自身免疫性疾病中的致病性免疫反应。然而, 将外泌体 miRNA 用于自身免疫性疾病的研究还处于需要进行重要研究的最初阶段。总之, 考虑到外泌体 miRNA 在包括自身免疫性疾病在内的许多疾病的病理生理学中的重要作用, 未来的研究应该阐明外泌体 miRNA 参与的机制。

本文对外泌体 miRNA 如何参与 RA 的发生和

进展, 以及其潜在的治疗策略进行了全面的分析和综述, 为外泌体作为识别 RA 未来治疗靶点的一种手段的潜在诊断和治疗应用提供了有价值的见解。

参考文献

- [1] Almutairi K, Nossent J, Preen D, *et al.* The global prevalence of rheumatoid arthritis: a meta-analysis based on a systematic review[J]. *Rheumatol Int*, 2021, 41(5): 863-877.
- [2] Moran-Moguel MC, Petarra-Del Rio S, Mayorquin-Galvan EE, *et al.* Rheumatoid arthritis and miRNAs: a critical review through a functional view[J]. *J Immunol Res*, 2018, 2018: 2474529.
- [3] Fang Y, Ni J, Wang YS, *et al.* Exosomes as biomarkers and therapeutic delivery for autoimmune diseases: opportunities and challenges[J]. *Autoimmun Rev*, 2023, 22(3): 103260.
- [4] Xu F, Luo S, Lu P, *et al.* Composition, functions, and applications of exosomal membrane proteins[J]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1408415.
- [5] Kalluri R, LeBleu VS. The biology, function, and biomedical applications of exosomes[J]. *Science*, 2020, 367(6478): eaau6977.
- [6] Console L, Scalise M, Indiveri C. Exosomes in inflammation and role as biomarkers[J]. *Clin Chim Acta*, 2019, 488: 165-171.
- [7] Wang Y, Liu J, Ma J, *et al.* Exosomal circRNAs: biogenesis, effect and application in human diseases[J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 116.
- [8] Luo Z, Qi B, Sun Y, *et al.* Engineering bioactive M2 macrophage-polarized, anti-inflammatory, miRNA-based liposomes for functional muscle repair: from exosomal mechanisms to biomaterials[J]. *Small*, 2022, 18(34): e2201957.
- [9] Bakinowska E, Kielbowski K, Pawlik A. The role of extracellular vesicles in the pathogenesis and treatment of rheumatoid arthritis and osteoarthritis[J]. *Cells*, 2023, 12(23): 2716.
- [10] Pathan M, Fonseka P, Chitti SV, *et al.* Vesiclepedia 2019: a compendium of RNA, proteins, lipids and metabolites in extracellular vesicles[J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(D1): D516-D519.
- [11] Rice GM, Shivashankar V, Ma EJ, *et al.* Functional atlas of primary miRNA maturation by the microprocessor[J]. *Mol Cell*, 2020, 80(5): 892-902.e4.
- [12] Ibsen SD, Wright J, Lewis JM, *et al.* Rapid isolation and detection of exosomes and associated biomarkers from plasma[J]. *ACS Nano*, 2017, 11(7): 6641-6651.
- [13] Xu D, Song M, Chai C, *et al.* Exosome-encapsulated miR-6089 regulates inflammatory response via targeting TLR4[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(2): 1502-1511.
- [14] Takamura Y, Aoki W, Satomura A, *et al.* Small RNAs detected in exosomes derived from the MH7A synovial fibroblast cell line with TNF- α stimulation[J]. *PLoS One*, 2018, 13(8): e0201851.
- [15] Siouti E, Andreacos E. The many facets of macrophages in

- rheumatoid arthritis[J]. *Biochem Pharmacol*, 2019, 165: 152-169.
- [16] Li H, Feng Y, Zheng X, *et al*. M2-type exosomes nanoparticles for rheumatoid arthritis therapy *via* macrophage re-polarization[J]. *J Control Release*, 2022, 341: 16-30.
- [17] Chen M, Li MH, Zhang N, *et al*. Pro-angiogenic effect of exosomal microRNA-103a in mice with rheumatoid arthritis *via* the downregulation of hepatocyte nuclear factor 4 alpha and activation of the JAK/STAT3 signaling pathway[J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2021, 35(2): 629-640.
- [18] Ma W, Tang F, Xiao L, *et al*. miR-205-5p in exosomes divided from chondrogenic mesenchymal stem cells alleviated rheumatoid arthritis *via* regulating MDM2 in fibroblast-like synoviocytes[J]. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 2022, 22(1): 132-141.
- [19] Huang Y, Lu D, Ma W, *et al*. miR-223 in exosomes from bone marrow mesenchymal stem cells ameliorates rheumatoid arthritis *via* downregulation of NLRP3 expression in macrophages[J]. *Mol Immunol*, 2022, 143: 68-76.
- [20] Sumida TS, Cheru NT, Hafler DA. The regulation and differentiation of regulatory T cells and their dysfunction in autoimmune diseases[J]. *Nat Rev Immunol*, 2024, 24(7): 503-517.
- [21] Wang L, Wang C, Jia X, *et al*. Circulating exosomal miR-17 inhibits the induction of regulatory T cells *via* suppressing TGFBR II expression in rheumatoid arthritis[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 50(5): 1754-1763.
- [22] Yao X, Wang Q, Zeng P, *et al*. LncRNA HOTTIP from synovial fibroblast-derived exosomes: a novel molecular target for rheumatoid arthritis through the miR-1908-5p/STAT3 axis[J]. *Exp Cell Res*, 2021, 409(2): 112943.
- [23] Tavasolian F, Abdollahi E, Rezaei R, *et al*. Altered expression of microRNAs in rheumatoid arthritis[J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(1): 478-487.
- [24] Lu LF, Boldin MP, Chaudhry A, *et al*. Function of miR-146a in controlling Treg cell-mediated regulation of Th1 responses [J]. *Cell*, 2010, 142(6): 914-929.
- [25] Tavasolian F, Hosseini AZ, Soudi S, *et al*. miRNA-146a improves immunomodulatory effects of MSC-derived exosomes in rheumatoid arthritis[J]. *Curr Gene Ther*, 2020, 20(4): 297-312.
- [26] 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): 2472-2482.
- [27] Mi L, Gao J, Li N, *et al*. Human umbilical cord mesenchymal stem cell-derived exosomes loaded miR-451a targets ATF2 to improve rheumatoid arthritis[J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 127: 111365.
- [28] Zhang B, Gu J, Wang Y, *et al*. TNF- α stimulated exosome derived from fibroblast-like synoviocytes isolated from rheumatoid arthritis patients promotes HUVEC migration, invasion and angiogenesis by targeting the miR-200a-3p/KLF6/VEGFA axis[J]. *Autoimmunity*, 2023, 56(1): 2282939.
- [29] Qu Y, Wu J, Deng JX, *et al*. microRNA-126 affects rheumatoid arthritis synovial fibroblast proliferation and apoptosis by targeting PIK3R2 and regulating PI3K-AKT signal pathway[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(45): 74217-74226.
- [30] Wang Y, Dai L, Wu H, *et al*. Novel anti-inflammatory target of geniposide: inhibiting ItG β 1/ras-Erk1/2 signal pathway *via* the miRNA-124a in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts[J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 65: 284-294.
- [31] Yang BL, Ge Y, Zhou Y, *et al*. miR-124a inhibits the proliferation and inflammation in rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes *via* targeting PIK3/NF- κ B pathway [J]. *Cell Biochem Funct*, 2019, 37(4): 208-215.
- [32] Meng HY, Chen LQ, Chen LH. The inhibition by human MSCs-derived miRNA-124a overexpression exosomes in the proliferation and migration of rheumatoid arthritis-related fibroblast-like synoviocyte cell[J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2020, 21(1): 150.
- [33] Huang Y, Chen L, Chen D, *et al*. Exosomal microRNA-140-3p from human umbilical cord mesenchymal stem cells attenuates joint injury of rats with rheumatoid arthritis by silencing SGK1[J]. *Mol Med*, 2022, 28(1): 36.
- [34] Németh T, Nagy G, Pap T. Synovial fibroblasts as potential drug targets in rheumatoid arthritis, where do we stand and where shall we go? [J]. *Ann Rheum Dis*, 2022, 81(8): 1055-1064.
- [35] Tan W, Chen N, Qiu Y, *et al*. Exosomal Dvl3 promoted the aggressive phenotypic transformation of RA-FLS *via* Wnt pathway[J]. *Autoimmunity*, 2022, 55(5): 285-293.
- [36] Chang L, Kan L. Mesenchymal stem cell-originated exosomal circular RNA circFBXW7 attenuates cell proliferation, migration and inflammation of fibroblast-like synoviocytes by targeting miR-216a-3p/HDAC4 in rheumatoid arthritis[J]. *J Inflamm Res*, 2021, 14: 6157-6171.
- [37] Ren J, Zhang F, Zhu S, *et al*. Exosomal long non-coding RNA TRAFD1-4: 1 derived from fibroblast-like synoviocytes suppresses chondrocyte proliferation and migration by degrading cartilage extracellular matrix in rheumatoid arthritis [J]. *Exp Cell Res*, 2023, 422(2): 113441.
- [38] Maeda Y, Farina NH, Matzelle MM, *et al*. Synovium-derived microRNAs regulate bone pathways in rheumatoid arthritis [J]. *J Bone Miner Res*, 2017, 32(3): 461-472.
- [39] Chen J, Liu M, Luo X, *et al*. Exosomal miRNA-486-5p derived from rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes induces osteoblast differentiation through the Tob1/BMP/Smad pathway[J]. *Biomater Sci*, 2020, 8(12): 3430-3442.
- [40] Duan W, Zhang W, Jia J, *et al*. Exosomal microRNA in autoimmunity[J]. *Cell Mol Immunol*, 2019, 16(12): 932-934.
- [41] Coffey CM, Crowson CS, Myasoedova E, *et al*. Evidence of diagnostic and treatment delay in seronegative rheumatoid arthritis: missing the window of opportunity[J]. *Mayo Clin Proc*, 2019, 94(11): 2241-2248.
- [42] Gong J, Zhang X, Khan A, *et al*. Identification of serum exosomal miRNA biomarkers for diagnosis of Rheumatoid arthritis[J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 129: 111604.

- [43] Hussain MZ, Haris MS, Rizwan M, *et al.* Deregulation of exosomal miRNAs in rheumatoid arthritis patients[J]. PLoS One, 2023, 18(7): e0289301.
- [44] Yu Y, Park S, Lee H, *et al.* Exosomal hsa-miR-335-5p and hsa-miR-483-5p are novel biomarkers for rheumatoid arthritis: a development and validation study[J]. Int Immunopharmacol, 2023, 120: 110286.
- [45] Wu LF, Zhang Q, Mo XB, *et al.* Identification of novel rheumatoid arthritis-associated MiRNA-204-5p from plasma exosomes[J]. Exp Mol Med, 2022, 54(3): 334-345.
- [46] 程明, 吴杨玲, 唐玉琦, 等. 骨髓间充质干细胞来源外泌体 miRNA-320a 调控 CXCL9 表达在类风湿关节炎发生与发展中的作用及机制[J]. 免疫学杂志, 2021, 37(12): 1099-1104.
- [47] Rodriguez-Muguruza S, Altuna-Coy A, Castro-Oreiro S, *et al.* A serum biomarker panel of exomiR-451a, exomiR-25-3p and soluble TWEAK for early diagnosis of rheumatoid arthritis[J]. Front Immunol, 2021, 12: 790880.
- [48] Chen YM, Huang WN, Liao TL, *et al.* Comparisons of hepatitis C viral replication in patients with rheumatoid arthritis receiving tocilizumab, abatacept and tofacitinib therapy[J]. Ann Rheum Dis, 2019, 78(6): 849-850.
- [49] Liao TL, Chen IC, Chen HW, *et al.* Exosomal microRNAs as biomarkers for viral replication in tofacitinib-treated rheumatoid arthritis patients with hepatitis C[J]. Sci Rep, 2024, 14(1): 937.
- [50] 桑成晨, 钱龙. 类风湿关节炎患者血浆外泌体 miR-16-5p 和 miR-223-3p 的表达及临床意义[J]. 安徽医科大学学报, 2020, 55(10): 1628-1632.
- [51] 孙广, 候贻莉, 吴辉, 等. 类风湿关节炎患者血清外泌体 miR-223、miR-155 表达水平及临床意义[J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(21): 2644-2647, 2650.
- [52] 杨平, 龚建民, 梁军, 等. 血清外泌体 miRNA 在类风湿关节炎诊疗中的潜在应用价值[J]. 实用医院临床杂志, 2023, 20(5): 26-31.
- [53] Kodama J, Wilkinson KJ, Otsuru S. MSC-EV therapy for bone/cartilage diseases[J]. Bone Rep, 2022, 17: 101636.
- [54] Han L, Chen Z, Yu K, *et al.* Interleukin 27 signaling in rheumatoid arthritis patients: Good or evil? [J]. Front Immunol, 2022, 12: 787252.
- [55] Ma L, Liu Y, Xu F, *et al.* IL-27-induced, MSC-derived exosomes promote MMP3 expression through the miR-206/L3MBTL4 axis in synovial fibroblasts [J]. Altern Ther Health Med, 2023, 29(8): 680-688.
- [56] Wen W, Yang J, Liang X, *et al.* Construction of cryomicro-needles loaded with milk-derived exosomes encapsulated TNF- α siRNA and efficacy of percutaneous acupoint administration in rheumatoid arthritis[J]. Int J Pharm, 2024, 657: 124159.
- [57] He X, Zhang C, Amirsaadat S, *et al.* Curcumin-loaded mesenchymal stem cell-derived exosomes efficiently attenuate proliferation and inflammatory response in rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes[J]. Appl Biochem Biotechnol, 2023, 195(1): 51-67.

Exploration of the mechanism and potential therapeutic prospects of exosomal microRNA in rheumatoid arthritis

ZHANG Ying, YI Guoxiang, WANG Jing, WANG Miao (*Department of Rheumatism, Chongqing Hospital of Traditional Chinese Medicine, Chongqing 400021, China*)

Abstract: Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic autoimmune disease that can lead to joint deformity and loss of function. Due to the complexity of pathological mechanism and diversity of inflammatory cytokines, current treatments still lacks clinical efficacy and new treatment strategies have been continuously explored internationally. There is evidence suggesting that exosome and the miRNA encapsulated in them are involved in the pathogenesis of RA. Exosomal miRNA show great potential as biomarkers for the diagnosis of RA and as diagnostic tools for accurate identification and target therapy. As the most promising drug delivery vector, exosomes are expected to become one of the new treatment methods for RA. In recent years, researchers have conducted in-depth studies on the role of exosomal miRNA in the pathogenesis and progression of RA. This review summarizes the research progress on the mechanism of exosomal miRNA involved in RA pathogenesis and explores their potential clinical application prospect.

Key words: exosomes; rheumatoid arthritis; microRNA; mechanism; treatment strategies