

类风湿性关节炎免疫发病机制的研究进展

王绍文¹ 余林健² 万晓春¹ 阮庆国¹

¹(中国科学院深圳先进技术研究院抗体药物研究中心 深圳 518055)

²(暨南大学药学院 广州 510632)

摘 要 类风湿性关节炎 (Rheumatoid Arthritis, RA) 是一种以多发性、对称性关节炎为主, 可引起肢体严重畸形的慢性全身性自身免疫性疾病, 其发病机制目前尚不完全明确。文章从与类风湿性关节炎发生发展相关的免疫细胞 (包括 CD4⁺ T 细胞、B 细胞、先天性免疫细胞)、细胞因子以及微小 RNA 等方面对该病发病机制的有关研究进展进行综述。

关键词 类风湿性关节炎; 免疫细胞; 细胞因子; miRNA

中图分类号 R 593.22 **文献标志码** A

Immunologic Mechanisms in the Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis

WANG Shaowen¹ YU Linjian² WAN Xiaochun¹ RUAN Qingguo¹

¹(Research Center for Antibody Therapeutics, Shenzhen Institutes of Advanced Technology, Chinese Academy of Sciences, Shenzhen 518055, China)

²(College of Pharmacy, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

Abstract Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic, systemic inflammatory and autoimmune disorder that primarily affects joints. The pathogenesis of RA is not completely understood yet. In this review, the research progress of the immunologic mechanisms in the pathogenesis of RA was summarized.

Keywords rheumatoid arthritis; immune cells; cytokines; miRNA

1 引 言

类风湿性关节炎 (Rheumatoid Arthritis, RA) 是一种以多关节慢性炎症为主要表现的全身性异质性自身免疫性疾病。其特征为以大量 T 淋巴细胞浸润为主的慢性滑膜炎, 其中大多数为 CD4⁺ T 细胞。RA 在我国的发病率为 0.26%~0.5%,

可发生于任何年龄, 是造成我国人民丧失劳动力和致残的主要疾病之一。RA 的发病机制非常复杂, 迄今尚未有定论, 目前多认为该病为自身免疫性疾病, 遗传、环境、感染和免疫因素可能共同发挥作用。近年来越来越多的证据表明, CD4⁺ 辅助 T 细胞 (Th 细胞) 亚群、B 淋巴细胞以及先天性免疫细胞、miRNA 在 RA 的发病机制中起着重要作用, RA 患者疾病的发生发展与这些免疫细

收稿日期: 2015-04-06 修回日期: 2015-04-13

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81471554); 深圳市基础研究项目 (JCYJ20140610151856705)

作者简介: 王绍文, 助理研究员, 研究方向为自身免疫性疾病发病机制研究; 余林健, 本科生, 研究方向为自身免疫性疾病的治疗; 万晓春, 研究员, 研究方向为抗体药物研发; 阮庆国 (通讯作者), 研究员, 研究方向为自身免疫疾病的免疫调控和发病机制研究, E-mail: qg.ruan@siat.ac.cn。

胞的免疫功能紊乱、细胞亚群失衡密切相关^[1]。深入探讨 RA 的发病机制, 可为其临床诊断和治疗提供新思路和新靶标。

2 Th1/Th2 与 RA

Th1 细胞主要分泌 IFN- γ 、INF- α 、IL-2 等细胞因子并介导细胞免疫, 该细胞亚群在 RA 发生发展中发挥着重要作用。其中, IFN- γ 具有广泛的免疫调节作用, 可激活巨噬细胞和单核细胞, 诱导 MHC-I 类和 MHC-II 类抗原表达, 从而提高抗原呈递力。它还能增强自然杀伤(Natural Killer, NK)细胞的活性, 刺激并增强 RA 炎症反应。IFN- γ 同时也是一种负调节因子, 它可以抑制与 Th17 细胞功能相关的炎症因子 IL-23 的表达, 也可以抑制滑膜成纤维细胞合成基质金属蛋白酶 1(Matrix Metalloproteinase 1, MMP-1)、MMP-3 等的分泌^[2,3]。TNF- α 在 RA 的发病中起促炎作用, 参与 RA 的发生发展过程。TNF- α 的水平与关节炎的严重程度呈正相关。TNF- α 增加滑膜及内皮细胞的成纤维细胞生长因子的释放, 从而刺激滑膜细胞和滑膜成纤维细胞增殖及 RA 特征性血管翳的形成; TNF- α 还可以促使滑膜细胞、巨噬细胞、成纤维细胞和软骨细胞产生 IL-1、IL-8 等炎症细胞因子, 增强白细胞与血管内皮黏附的作用, 促使白细胞向关节腔汇集, 加重组织损伤^[4]。因此, 临床上通过抑制 TNF- α 的分泌可以对 RA 患者起到较好的治疗作用^[5]。IL-2 是 CD4⁺ 记忆 T 细胞形成的重要条件。有研究发现 RA 患者的 IL-2 水平升高。IL-2 可能通过上调杀伤细胞抑制受体表达来加强 NK 细胞杀伤靶细胞的能力, 并能诱导 NK 细胞、细胞毒性 T 淋巴细胞等多种杀伤细胞的分化及产生 IFN- γ 、TNF- α 等细胞因子。通过减少血清 IL-2 的含量, 可以改善和治疗 RA^[6]。

Th2 细胞主要分泌 IL-4、IL-5、IL-6、IL-10

等细胞因子。其中, IL-4 是 Th2 细胞分泌的特征抗炎性细胞因子, 通过抑制滑膜巨噬细胞和 T 细胞合成炎症细胞因子, 从而减缓 RA 进展^[7]。IL-10 具有抑制 Th1 和 Th17 细胞的免疫调节功能, 也可以抑制树突状细胞的功能; 在 RA 发病前后使用 IL-10 能明显减轻由胶原蛋白和链球菌细胞壁诱导的关节肿胀、浸润、细胞因子合成和软骨变形坏死^[8]。

有报道 Th1 细胞应答增强, 进而使 Th1/Th2 失衡是导致 RA 发生的关键因素^[9]。在 RA 患者关节滑液中发现 Th1 及其分泌的细胞因子(TNF- α 、IFN- γ) 占绝对优势, Th1/Th2 明显失衡^[10]; 而且, 从胶原蛋白诱导的关节炎(Collagen-Induced Arthritis, CIA)模型小鼠的研究结果发现, 在 RA 的起始阶段 Th1 细胞反应占主导地位。然而, 有些研究成果看起来似乎并不支持 Th1 细胞的致病作用。敲除 IFN- γ 基因或 IFN- γ 受体缺陷小鼠仍可发生自身免疫性疾病, 而且会加重 RA 病情^[11,12]。这说明 Th1 细胞并不是介导 RA 发病的唯一的 Th 细胞, 除此之外还存在其他 Th 细胞亚群, 更易诱发 RA。一些研究提示细胞因子的产生在 RA 发病的早期和晚期是有差别的, 调节 Th1/Th2 平衡减少 Th1 细胞因子的产生, 补充 Th2 细胞因子, 如 IL-1 受体拮抗剂的临床实验及联合使用 IL-4 和 IL-10 治疗 RA 均有明显的疗效^[10]。

综上所述, Th1/Th2 平衡在 RA 的发病和进展中起至关重要的作用, 这提示我们可以从以下几方面来开辟 RA 的早期诊断及早期治疗的新途径: 利用细胞因子纠正关节内 Th1/Th2 失衡; 抑制 T 效应细胞激活及诱导自身反应 T 细胞凋亡; 下调细胞间黏附分子和血管细胞黏附分子的水平; 以趋化因子为治疗靶点, 阻断趋化因子及其受体的作用。

3 Th17 细胞与 RA

Harrington 和 Park 在 2005 年发现的 Th17 细

胞是一种能够在核转录因子 ROR- γ t 调控下特异分泌 IL-17 的 CD4⁺ T 细胞。除了 IL-17, Th17 细胞还能分泌 IL-21、IL-22 等细胞因子。其中, IL-17 具有很强的促炎作用, 参与多种自身免疫性疾病^[13,14]。在 RA 病人血清和关节液中, IL-17 水平明显升高^[15]。在健康小鼠膝关节腔内注入重组 IL-17 后导致大量的炎性细胞浸润, 软骨降解及骨破坏^[16]。相反, 应用抗 IL-17 抗体可阻止 CIA 小鼠关节炎的发生^[16]。另外, 缺失 IL-17、IL-12p40 或 IL-23p19 的小鼠不易患 CIA^[17]。以上研究表明, Th17 细胞及其分泌的细胞因子在 RA 发展过程中发挥着重要作用。因此, 对于 IFN- γ 基因敲除小鼠出现更严重 RA 的现象, 可能是因为体内缺乏对 Th17 细胞的抑制。

IL-17 作为 Th17 细胞的主要效应因子, 可能从以下几个方面发挥作用: (1) 诱导 IL-6 和 IL-8 在 RA 和幼年特发性关节炎中的产生, 并且通过磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) 及 NF- κ B 路径活化成纤维样的滑膜细胞, 促进滑膜增生^[18]; (2) 诱导地诺前列酮的产生, 而后者促进了树突状细胞 (DCs) 产生 IL-6, 同时还破坏了 IL-23/IL-12 平衡, 产生更多的 IL-23。IL-23 在稳定 Th17 细胞的分化中起到重要作用, 从而导致更多的 IL-17 产生^[19]; (3) 上调软骨细胞及滑膜成纤维细胞 MMP-1、MMP-3、MMP-13 表达, 增强胶原酶和聚合酶活性, 促进软骨基质降解^[20]; (4) 破坏 NF- κ B 受体和骨保护素的平衡, 使破骨增加, 成骨减少; (5) 促进造血因子生成, 导致血管增生, 滑膜增厚和血管翳的形成。此外, 有研究发现 IL-17 通过上调滑膜细胞过度表达富含半胱氨酸 Cyr61 蛋白并促进滑膜细胞的过度增生, 这一新的致病途径和靶点为开发治疗 RA 的新型靶向药物提供了理论依据^[21,22]。他们同时发现 IL-21 作为一种重要的细胞因子参与 RA 中 Th17 细胞的增殖和分化^[23]。

Th17 细胞在 RA 患者的关节破坏过程中起重

要作用。关节破坏主要由破骨细胞导致, 破骨细胞是由分化的巨噬细胞形成的多核细胞, 受核因子 κ B 受体活化因子配体 (Receptor Activator of NF-KappaB Ligand, RANKL) 和巨噬细胞集落刺激因子的刺激。RANKL 是间充质细胞表达的一种滑膜破骨细胞的分化因子, 其在调节破骨细胞生成中起至关重要的作用。局部过表达的 IL-17 可以上调 RANKL 及其受体的表达, 从而破坏滑膜液中 RANKL/骨保护素 (OPG) 的平衡, 加重骨破坏^[24]。Th17 还可以通过诱导成骨细胞分泌 IL-6, 间接刺激破骨细胞增殖, 加速 RA 的发展。因此, 利用抗 IL-17 抗体能够明显抑制 IL-17 介导的滑膜组织中破骨细胞的形成, 保护骨骼不受侵蚀^[25]。但关于由 Th17 细胞诱导的滑膜巨噬破骨细胞的分化在 RA 患者骨破坏中的具体机制有待于进一步研究。

目前的观点倾向于认为 Th17 细胞和 Th1 细胞在 RA 发生发展中存在协同关系^[26], 需要共同参与并发挥效应^[27]。Th17 细胞通过分泌 TNF- α 在炎症的早期发挥作用, 之后通过分泌 IL-17 使炎症得以持续和发展。而 Th1 细胞则通过分泌 IFN- γ 和 IL-2 在延长或促进后期组织炎症反应方面发挥主导作用^[28-30]。如前文所述, 敲除 IFN- γ 基因的小鼠会加重 CIA 病情, 说明 IFN- γ 的缺失会导致 Th17 细胞分化增强, 从而产生大量的 Th17 细胞, 加重 RA 病情。

Th17 细胞作为一种新发现的 CD4⁺ 效应 T 细胞, 是对 Th1/Th2 平衡理论的补充和发展。虽然它们在 RA 演变过程中均发挥着重要作用, 但 Th1 细胞与 Th17 细胞谁更占优势? 它们之间是相互竞争还是协同关系? 它们的数量及相关细胞因子在 RA 不同阶段中表达有何差异? 这些问题均有待进一步研究。

4 Treg 细胞与 RA

T 调节 (Treg) 细胞是一类调控机体免疫功能

的 CD4⁺ T 细胞亚群, 能维持免疫系统对自身成分的耐受, 使机体保持免疫稳态。根据其来源和分化不同可将 Treg 细胞分为: 天然产生的 Treg 细胞 (naturally arising Treg cells, nTreg)、诱导型 Treg 细胞 (induced Treg cells, iTreg) 和其他类型 Treg 细胞。其中, nTreg 细胞由未成熟的 T 淋巴细胞在胸腺发育过程中产生, 其组成型表达 CD25 (即 IL-2 受体 α 链) 和特异性核转录因子 Foxp3。Foxp3 能够促使 Treg 细胞分化成熟以及维持 Treg 细胞下调免疫应答的功能。iTreg 细胞是在外周的特定免疫环境中, 由抗原刺激或免疫抑制因子 (如 IL-10) 诱导成熟的 CD4⁺ CD25⁻ T 细胞转化而来。此外, 还有部分 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞亚群如 $\gamma\delta$ T 细胞、CD8⁺ CD28⁻ Treg 细胞等, 它们通过产生抑制性细胞因子如 IL-10、TGF- β 等影响 Th1/Th2 平衡, 并进而发挥免疫抑制功能^[31]。在过去 20 年内, 研究已经证实了 T 调节细胞在感染、肿瘤、器官移植、同种异体胎儿免疫相关疾病方面具有抑制各种途径的病理生理免疫应答的作用^[31]。

目前已证实 CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ Treg 细胞数量及功能缺陷会加重 RA 病情^[32]。研究发现, 与正常小鼠相比, 通过注射抗 CD25 单抗去除 Treg 细胞的 DBA/1 小鼠胶原诱导性关节炎更严重, 抗 II 型胶原抗体的浓度更高, 细胞免疫和体液免疫应答放大^[33]。而过继转移 CD25⁺ Treg 细胞可以有效抑制疾病进展^[34]。利用牛 II 型胶原蛋白诱导小鼠关节炎并通过注射体外扩增的多克隆 nTreg 细胞到达关节腔可以缓解和阻断病程的进展^[35]; 另有研究先对 nTreg 细胞用全反式维甲酸 (all-trans Retinoic Acid) 预处理, 可使治疗效果更加明显^[36]; 也有实验证明, 在一定程度上使用 iTreg 细胞比 nTreg 细胞的疗效更佳^[37]。

目前对 Treg 细胞在 RA 发病过程中的作用仍处于不断研究阶段。主要认为 RA 患者体内存在 Treg 细胞的数量改变和功能降低。研究发现 RA

患者外周血中 Treg 细胞数量明显低于正常对照组; 而在 RA 患者关节液中, Treg 细胞的比例反而较正常对照组明显升高。重要的是, Treg 细胞数量的改变伴随着 Treg 细胞功能的缺陷。因此, 在 RA 患者外周血和关节液中可发现 Treg 细胞表型和免疫抑制功能的改变。RA 患者关节液中 Treg 细胞抑制 CD4⁺ T 细胞或巨噬细胞产生 IFN- γ 和 TNF- α 的作用缺陷, 效应 T 细胞处于持续增殖状态, 且与外周血相比, 关节液中的效应 T 细胞对 Treg 细胞免疫抑制作用的敏感性降低。同时, RA 患者中高表达的 TNF- α 与 Treg 细胞表面的 TNF II 型受体结合, 抑制 Treg 细胞 Foxp3 的表达, 而 Foxp3 表达的降低进一步影响 Treg 细胞抑制效应 T 细胞增殖和细胞因子产生的功能^[38]。RA 患者关节腔内 Treg 细胞为什么没有起到必要的免疫抑制作用呢? 有些研究认为是关节腔内炎症因子过多, 掩盖了 Treg 细胞的抑制作用; 另一些研究认为是炎症因子具有抑制 Treg 细胞发挥功能的作用^[39]。

虽然近几年 Treg 细胞已成为免疫抑制治疗的一个研究焦点, 但 Foxp3 如何维持 T 调节细胞功能的分子机制仍有待于进一步的研究。c-Rel 是 NF- κ B 家族成员之一, 我们的研究发现在 Treg 细胞发育的早期阶段, c-Rel 促使 Treg 细胞谱系特异性基因 Foxp3 开始表达^[40]。c-Rel 还能通过激活 Th1、Th17 和髓系细胞中炎症因子基因的表达来调节促炎症反应^[41]。2011 及 2014 年 van Loo 和 Komatsu 的研究发现, NF- κ B 的活性 (而非其转录水平) 对 Treg 细胞的功能有重要影响; 低水平的 NF- κ B 活性不仅抑制炎症性 NF- κ B 靶基因的表达, 还能维持 Treg 细胞的免疫抑制功能^[42,43]。有研究发现过表达的 Foxp3 可以在体外与 c-Rel 结合^[44]。由于从类风湿性关节炎病人分离 Treg 细胞, 其免疫抑制活性降低, 而 NF- κ B 的活性增强。因此, Treg 细胞中的 Foxp3 可能通过抑制 c-Rel 活性从而抑制炎症性 NF- κ B

靶基因的表达, 并维持 Treg 细胞的免疫抑制功能。通过阐明 Foxp3 维持 T 调节细胞免疫抑制功能的分子机制, 将有助于建立基于增强 Treg 细胞功能来治疗类风湿性关节炎等自身免疫性疾病的新途径。

综上所述, Treg 细胞是一种特殊的免疫调节细胞, 可通过多种方式发挥其免疫抑制作用, 在维持外周免疫耐受和预防自身免疫性疾病中发挥着重要作用。虽然 Treg 细胞的异常与 RA 的发生发展密切相关, 但目前仍有很多问题有待于进一步明确, 譬如: (1) 如何开发一种促使 nTreg 在人体内扩增的生物制剂; (2) 如何诱导表达自身免疫病特异性抗原相对应的 TCR 的 Treg 细胞; (3) 如何准确找到自身免疫病相关抗原, 从而实现 iTreg 细胞的体外诱导; (4) 深入阐明 Treg 细胞维持其免疫抑制功能的分子机制。

5 Th17/Treg 平衡与 RA

近年来越来越多的研究表明, RA 中 Th17 细胞/Treg 比率失衡可能在 RA 发病中起重要的作用。早期 RA 患者外周血中 Th17 细胞比率增加, 而 CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ Treg 比率降低, 在病情的活跃期这种差异更为明显。经治疗后, 外周血 Treg 数量明显回升, 其免疫抑制功能也得以恢复^[45,46]。但也有研究发现 RA 患者外周血中 Treg 数量与正常对照无差异, 而关节液中的数量却高于正常对照组^[47]。这可能是由于关节腔内炎症因子过多, 掩盖了 Treg 细胞的抑制作用; 或者是炎症因子具有抑制 Treg 细胞发挥功能的作用。

在 RA 的发展过程中, 初始 T 细胞究竟向 Th17 细胞分化还是 Treg 细胞分化可能受滑膜内细胞因子微环境的影响。IL-1 β 、IL-6 和 IL-23 促进 Th17 细胞分化, 低浓度的 TGF- β 和 IL-6 可共同诱导 ROR γ t 的表达, 而高浓度 TGF- β 能上调

Foxp3 的表达, 从而促进 Treg 细胞的分化^[48]。同时, Treg 细胞通过产生 IL-10 和 TGF- β 来抑制 Th17 和 Th1 的分化。其中, IL-10 是一种重要的抗炎免疫抑制细胞因子, 不仅能够预防关节炎的发生, 而且能够抑制关节炎的发展^[49]。同时, IL-10 还可降低 Th17 细胞中 ROR γ t 的表达, 抑制 IL-17 分泌, 并且促进 Foxp3⁺ Treg 细胞产生。另外, Th17 分泌的 TNF- α 可通过诱导 Foxp3 去磷酸化, 抑制 Treg 细胞免疫抑制功能。但 TNF- α 也可以刺激 Treg 细胞的增殖, 因此起到调节 Th17/Treg 平衡的作用^[50]。IL-21 是 Th17 细胞分泌的另一种炎症因子, 具有很强的促进 Th17 细胞分化能力。研究显示, IL-21 和其他炎性因子共同增强 RA 的炎症反应, 通过抑制 Foxp3 的表达, 引起 Treg 细胞功能障碍, 打破 Th17/Treg 平衡, 从而导致 RA 病情加重^[23]。

IL-35 是新发现的一种 Treg 细胞分泌的细胞因子, 它能够通过降低 IL-17 的表达, 从而减轻 CIA 小鼠的病程发展, 提示 Th17/Treg 平衡能够控制 RA 炎症发展, 对 RA 的治疗有着重要作用^[51]。在 RA 病人血浆中, 可检测到高水平的 IL-26, 尤其是滑膜液中水平更高。该结果提示 IL-26 能够促进促炎细胞因子的分泌, 促进 Th17 细胞分化, 使 Th17/Treg 平衡偏向 Th17 细胞, 诱发炎症反应, 这为 RA 治疗提供了新的研究思路^[52]。

IL-27 是 IL-12 家族的新成员, 能够抑制 Th17 细胞的分化, 从而抑制 IL-17 等因子和 ROR γ 的表达, 促进 CD4⁺ T 细胞在 TGF- β 和 IL-6 作用下向 Foxp3⁺ Treg 的分化, 维持 Th17/Treg 平衡。IL-27 抗炎作用的发挥主要通过两种途径: 一是通过抑制 Th17 细胞生成来直接减少 IL-17 的产生; 二是抑制 CCL20 的生成, 调节 CCR6⁺ 细胞(包括 Th17 细胞)的富集来间接调节 RA^[53]。因此, IL-27 有可能成为 RA 治疗的新靶点。

此外, IL-2 通过激活 STAT5 抑制 STAT3 等

IL-17 活化因子结合 IL-17 基因, 从而抑制 Th17 细胞的分化和 IL-17 的表达, 或者通过募集抑制复合物干预 IL-17 的表达环路, 抑制 IL-17 基因的转录。STAT5 可以与 Foxp3 基因调控区域直接结合从而增强 Foxp3 基因的表达。另一方面, IL-2 还能与 TGF- β 一起诱导初始 CD4⁺ CD25⁻ T 细胞转化为 CD4⁺ CD25⁺ T 细胞并表达 Foxp3。但是, 当 IL-1 β 和 IL-2 同时存在的条件下, 细胞因子微环境则优先诱导 Th17 细胞分化, 使 Th17 细胞产生增多, Th17/Treg 平衡向 Th17 细胞偏移^[54]。因此, IL-2 可通过影响 ROR γ t 与 Foxp3 的平衡来调控 Th17 细胞分化和 Treg 细胞功能。

综上所述, Th17、Treg 细胞分化和调节的相关影响因素很多, 各个因素之间呈现较复杂的网络关系, 彼此相对独立又相互促进和制约。对于 RA 的治疗, 明确 Th17、Treg 细胞在 RA 中的作用非常重要, 阻断 Th17 对 RA 的致病作用、提高 Treg 细胞对 RA 的保护作用、调节 Th17/Treg 的平衡将成为治疗 RA 的新途径。

6 其他免疫细胞与 RA

B 细胞能够分泌一种能识别免疫球蛋白 Fc 段的 IgM 抗体, 这种抗体被称为“类风湿因子”(Rheumatoid Factor, RF)。该因子与自身变形 IgG 结合形成免疫复合物, 并反复沉积于关节滑膜, 引起类风湿性关节炎^[55]。但后续研究发现, 许多患有其他慢性感染性疾病患者体内也有 RF 的存在, 提示仅有该抗体的存在不足以引起 RA。近年来, 人们发现一类具有免疫抑制作用的 B 细胞亚群——Bregs, 其能够诱导免疫耐受、降低炎症, 主要分泌 IL-10 和 TGF- β 等。当 Breg 分泌 IL-10 和 TGF- β 的功能缺失时可引发 RA 和系统性红斑狼疮等自身免疫性疾病, 因为 IL-10 和 TGF- β 可以抑制 Th0 细胞向 Th1 及 Th2 转换, 以及 T 细胞增殖和炎症因子的释放,

如 TNF- α 和 INF- γ , 并下调过度的免疫应答。有研究表明 Toll 样受体(TLR)信号可转导触发 Breg 的免疫调节功能, 抑制 Th1 和 Th17 细胞的分化以及炎症因子的产生, 从而可控制自身免疫性疾病的发生^[56]。吕力为等^[56]发现 Breg 能够影响 CD4⁺ T 细胞的分化, 抑制促炎性 T 细胞的增殖, 从而有效地抑制 RA 的发生和发展。目前关于 Bregs 的研究成果大多集中于自身免疫疾病的动物模型, 在人体疾病取得的成果相对较少。

树突状细胞(Dendritic Cell, DCs)是体内功能最强大的专职抗原递呈细胞, 主要包括两个亚群: 髓样 DC(MDC)和浆细胞样 DC(pDC), 具有免疫原性和耐受性双重作用。MDC 能产生 IL-12p70、IL-23p19 和高水平的促炎因子 TNF- α 、IFN- α , 从而导致滑膜炎的产生。IL-23 能够促进 Th17 增殖, 进而增加 IL-17 的分泌, 促进 RA 炎症的持续进行。RA 病人中 pDC 数量也明显增加, 而且 pDC 数量与血清中自身抗体数量相关, 表明 pDC 可能通过调节滑膜中自身抗体的产生而导致固有免疫反应的发生^[57]。另一方面, 一类称为耐受性 DCs(TDC)的细胞在 RA 发病机制中发挥负调控作用。其调控作用机制为^[58]: TDC 表达具有免疫抑制作用的吲哚胺 2, 3-双加氧酶(IDO), 通过色氨酸的分解抑制 T 细胞增殖并诱导 T 细胞的凋亡; TDC 通过分泌细胞因子 IL-10 消除抗原呈递细胞(Antigen-Presenting Cell)的抗原递呈功能从而间接抑制免疫反应; TDC 还能分泌 TGF- β 抑制 RA 中的炎症反应, 促进炎症组织的修复并诱导 Treg 细胞的产生, 调控 RA 的病理进程。利用上述免疫耐受机制, 有可能实现免疫细胞多靶点和多环节的调控, 并建立和利用细胞免疫疗法来治疗 RA 等抗原特异性自身免疫性疾病。

自然杀伤细胞在 RA 发病过程中也起着重要作用。其可能的作用机制包括: 分泌多种细胞因子参与 RA 发病; 通过和其他细胞间的直接接触

来参与 RA 发病。有研究表明,从 RA 患者关节滑液中分离的 NK 细胞能够诱导 CD14⁺的单核细胞分化为破骨细胞^[59]。2012 年,有学者报道 NK 细胞与 RA 患者对药物疗效及预后有关^[60]。任洁等^[61]发现 RA 患者滑液中 NK-22 细胞通过分泌高浓度 IL-22 激活 Stat3 信号途径进而刺激 RA 成纤维样滑膜细胞(FLS)增殖,提示 NK-22 细胞可能在 RA 病理过程中具有重要的作用。

另外,巨噬细胞也参与 RA 的病变过程。RA 中巨噬细胞数量明显增加,其活化后引起 MHC-II 分子过度表达,产生促炎细胞因子、趋化因子、巨噬细胞炎症蛋白-1 和基质金属蛋白酶等,从而加剧炎症反应。

尽管目前对上述免疫细胞已经进行了广泛的研究并取得了重大进展,但由于机体免疫调控机制和 RA 病理过程的复杂性,不同的免疫细胞和细胞因子可能在 RA 疾病的不同时期起作用,且不同的免疫细胞之间还存在协同或者拮抗的调控关系,因此针对单一因素的治疗往往难以取得预期效果。而针对上述因素的多向、综合的靶向治疗策略将会提高目前 RA 的防治水平。

7 miRNA 与 RA

MicroRNA(miRNA)是一种内源性长度约 22 个核苷酸的非编码小分子 RNA,其在进化上高度保守。通过抑制目标 mRNA 的翻译过程或者影响 mRNA 的稳定性起到抑制目标蛋白表达的作用,从而在生物体内的各种生理过程中起着重要的调控作用。miRNA 与机体的免疫调节密切相关,它通过参与细胞的增殖、分化和凋亡在先天性免疫、获得性免疫及炎症因子的信号转导过程中起着重要的调节作用。目前已报道了 11 种 miRNA 在 RA 中异常表达(miRNA-16、miRNA-124a、miRNA-132、miRNA-146a、miRNA-155、miRNA-203、miRNA-223、

miRNA-346、miRNA-363、miRNA-498、miRNA-21)^[62]。其中,miRNA-146a 在 RA 发病中起着重要的作用。在 RA 患者滑膜组织中,miRNA-146a 以及 TNF- α 的表达均明显高于正常对照组,并且 TNF- α 及 IL-1 β 的刺激可以明显增加 miRNA-146a 的表达,这提示 miRNA-146a 可能参与了在 RA 中由 TNF- α 和 IL-1 β 激活的炎症反应过程^[63]。miRNA-146a 不仅能够影响 TNF- α 通路的活化,还可以影响 CD4⁺ T 细胞的甲基化、调节 T 细胞的成熟及功能。此外,与骨关节炎患者相比,在 RA 患者关节滑液及滑膜组织中 miRNA-155 高表达,同时 RA 患者滑液 CD14⁺ 细胞和外周血 CD14⁺ 细胞的 miRNA-155 的水平也升高。体外研究发现,在脂多糖、IL-1 β 和 TNF- α 的刺激下,滑液中的 miRNA-155 表达增高,而过表达 miRNA-155 可抑制 MMP-3 及 MMP-1 的分泌,减少 RA 患者滑液组织中基质的降解^[64]。因此,miRNA-155 可能通过作用于 MMP-3 和 MMP-1 来阻止关节的破坏。

2015 年, Murugaiyan 等^[65]的研究发现 Th17 细胞中 miRNA-21 的表达水平显著提高,miRNA-21 通过靶向 SMAD-7 调控 TGF- β 信号途径,从而调控 Th17 细胞的分化。miRNA-21 的缺失导致小鼠 Th17 细胞分化受到抑制。我们的研究也发现 miRNA-21 通过靶向抑癌基因 Tipe2(肿瘤坏死因子- α 诱导蛋白 8-类似蛋白 2)来抑制 T 细胞凋亡^[66],因此,miRNA-21 可能与包括 RA 在内的自身免疫性疾病的发生和发展密切相关。

目前,对 miRNA 在 RA 中的研究尚处于起步阶段,越来越多的研究证实 miRNA 的异常与 RA 的发生密切相关,但其作用机制还不是很清楚,因此明确 miRNA 的靶基因及其对靶基因的作用机制有助于更加深入地了解 RA 的发病机制,并利用 miRNA 作为新的诊断标志和治疗靶点应用于临床。另外,与 miRNA 同属小核酸研

究领域的 RNA 干扰(RNAi)也大大地加速了人们对生命认识的研究进度,并且已成为基因功能研究和基因治疗领域的重要研究手段。

8 展 望

综上所述,RA 的免疫发病机制非常复杂,CD4⁺ Th 细胞、B 细胞、NK 细胞、DCs 和巨噬细胞以及 miRNA 在 RA 的发生发展过程中均发挥着重要作用,多种免疫细胞及免疫分子之间相互影响、相互作用,从而形成一个庞大而复杂的网络。过去常认为 Th1 细胞是 RA 发病的主要因素,而近年来发现 Th17 和 Treg 细胞在 RA 的发生、发展过程中也扮演重要角色。Th17 和 Treg 细胞相互关联,互相抑制,在调节免疫反应过程中共同发挥重要的作用。大量研究表明在 RA 中存在着 Th17 的过度表达和 Treg 细胞的缺陷, Th1/Th2 以及 Th17/Treg 细胞比例失衡与 RA 的发生发展密切相关。以 Th17 细胞为靶点,促进 Treg 细胞的分化及功能恢复,把各种细胞因子和转录因子在 RA 患者中的作用研究清楚是非常必要的,这将有助于进一步揭示 RA 的发病机制及寻找新型防治药物的作用靶点,从而具有重要的研究意义和广阔的应用前景。此外, Breg 细胞、NK 细胞、DCs、巨噬细胞以及 miRNA 在 RA 发生发展的不同阶段所起的作用如何?它们之间是否存在协同或者拮抗的调控关系?对这些免疫细胞和分子的进一步深入研究有可能揭示一些以前没有发现的功能,从而为 RA 的临床诊断和治疗提供新思路和新靶标。

参 考 文 献

- [1] Jutley G, Raza K, Buckley CD. New pathogenic insights into rheumatoid arthritis [J]. *Current Opinion Rheumatology*, 2015, 27(3): 249-255.
- [2] Lee J, Lee J, Park MK, et al. Interferon gamma suppresses collagen-induced arthritis by regulation of Th17 through the induction of indoleamine-2, 3-deoxygenase [J]. *PLoS One*, 2013, 8(4): e60900.
- [3] Page CE, Smale S, Carty SM, et al. Interferon-gamma inhibits interleukin-1beta-induced matrix metalloproteinase production by synovial fibroblasts and protects articular cartilage in early arthritis [J]. *Arthritis Research & Therapy*, 2010, 12(2): R49.
- [4] 郭明, 安高, 封桂英, 等. CD4⁺ T 细胞亚群在类风湿性关节炎中的研究进展 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2014, 30(9): 1004-1007.
- [5] Herenius MM, Oliveira AS, Wijbrandts CA, et al. Anti-TNF therapy reduces serum levels of chemerin in rheumatoid arthritis: a new mechanism by which anti-TNF might reduce inflammation [J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e57802.
- [6] Lee SY, Cho ML, Oh HJ, et al. Interleukin-2/anti-interleukin-2 monoclonal antibody immune complex suppresses collagen-induced arthritis in mice by fortifying interleukin-2/STAT5 signalling pathways [J]. *Immunology*, 2012, 137(4): 305-316.
- [7] Sandoghchian Shotorbani S, Zhang Y, Baidoo SE, et al. IL-4 can inhibit IL-17 production in collagen induced arthritis [J]. *Iranian Journal of Immunology Iji*, 2011, 8(4): 209-217.
- [8] Henningson L, Eneljung T, Jirholt P, et al. Disease-dependent local IL-10 production ameliorates collagen induced arthritis in mice [J]. *PLoS One*, 2012, 7(11): e49731.
- [9] Moss RB, Moll T, El-Kalay M, et al. Th1/Th2 cells in inflammatory disease states: therapeutic implications [J]. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 2004, 4(12): 1887-1896.
- [10] Ursaciuc C, Surcel M, Ciotaru D, et al. Regulatory T cells and TH1/TH2 cytokines as immunodiagnosis keys in systemic autoimmune diseases [J]. *Roumanian Archives of Microbiology and Immunology*, 2010, 69(2): 79-84.
- [11] Manoury-Schwartz B, Chiochia G, Bessis N, et al. High susceptibility to collagen-induced arthritis in mice lacking IFN-gamma receptors [J]. *Journal of*

- Immunology, 1997, 158(11): 5501-5506.
- [12] Vermeire K, Heremans H, Vandeputte M, et al. Accelerated collagen-induced arthritis in IFN-gamma receptor-deficient mice [J]. *Journal of Immunology*, 1997, 158(11): 5507-5513.
- [13] Hashimoto M, Mimori T. [Role of Th17 cells and innate immunity for the induction of autoimmune arthritis] [J]. *Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi*, 2012, 35(6): 463-469.
- [14] Dong W, Zhu P. Functional niche of inflamed synovium for Th17-cell expansion and activation in rheumatoid arthritis: implication to clinical therapeutics [J]. *Autoimmunity Reviews*, 2012, 11(12): 844-851.
- [15] Li N, Wang JC, Liang TH, et al. Pathologic finding of increased expression of interleukin-17 in the synovial tissue of rheumatoid arthritis patients [J]. *International Journal of Clinical & Experimental Pathology*, 2013, 6(7): 1375-1379.
- [16] Dudler J, Renggli-Zulliger N, Busso N, et al. Effect of interleukin 17 on proteoglycan degradation in murine knee joints [J]. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 2000, 59(7): 529-532.
- [17] Murphy CA, Langrish CL, Chen Y, et al. Divergent pro- and antiinflammatory roles for IL-23 and IL-12 in joint autoimmune inflammation [J]. *Journal of Experimental Medicine*, 2003, 198(12): 1951-1957.
- [18] Hwang SY, Kim JY, Kim KW, et al. IL-17 induces production of IL-6 and IL-8 in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts via NF-kappaB-and PI3-kinase/Akt-dependent pathways [J]. *Arthritis Research & Therapy*, 2004, 6(2): R120-R128.
- [19] Sheibanie AF, Khayrullina T, Safadi FF, et al. Prostaglandin E2 exacerbates collagen-induced arthritis in mice through the inflammatory interleukin-23/interleukin-17 axis [J]. *Arthritis & Rheumatology*, 2007, 56(8): 2608-2619.
- [20] Sylvester J, Liacini A, Li WQ, et al. Interleukin-17 signal transduction pathways implicated in inducing matrix metalloproteinase-3, -13 and aggrecanase-1 genes in articular chondrocytes [J]. *Cellular Signalling*, 2004, 16(4): 469-476.
- [21] Zhang Q, Wu J, Cao Q, et al. A critical role of Cyr61 in interleukin-17-dependent proliferation of fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis [J]. *Arthritis & Rheumatology*, 2009, 60(12): 3602-3612.
- [22] Lin J, Huo R, Wang L, et al. A novel anti-Cyr61 antibody inhibits breast cancer growth and metastasis in vivo [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2012, 61(5): 677-687.
- [23] Niu X, He D, Zhang X, et al. IL-21 regulates Th17 cells in rheumatoid arthritis [J]. *Human Immunology*, 2010, 71(4): 334-341.
- [24] Neumann E, Gay S, Muller-Ladner U. The RANK/RANKL/osteoprotegerin system in rheumatoid arthritis: new insights from animal models [J]. *Arthritis & Rheumatology*, 2005, 52(10): 2960-2967.
- [25] Li X, Yuan FL, Lu WG, et al. The role of interleukin-17 in mediating joint destruction in rheumatoid arthritis [J]. *Biochemical & Biophysical Research Communications*, 2010, 397(2): 131-135.
- [26] 俞秋兴, 施蓓蕾, 唐军, 等. 类风湿关节炎患者 Th1、Th17 细胞的表达 [J]. *江苏医药*, 2010, 36(1): 44-46.
- [27] McGovern JL, Nguyen DX, Notley CA, et al. Th17 cells are restrained by Treg cells via the inhibition of interleukin-6 in patients with rheumatoid arthritis responding to anti-tumor necrosis factor antibody therapy [J]. *Arthritis & Rheumatology*, 2012, 64(10): 3129-3138.
- [28] van Hamburg JP, Asmawidjaja PS, Davelaar N, et al. Th17 cells, but not Th1 cells, from patients with early rheumatoid arthritis are potent inducers of matrix metalloproteinases and proinflammatory cytokines upon synovial fibroblast interaction, including autocrine interleukin-17A production [J]. *Arthritis & Rheumatology*, 2011, 63(1): 73-83.
- [29] Rosu A, Margaritescu C, Stepan A, et al. IL-17 patterns in synovium, serum and synovial fluid from treatment-naive, early rheumatoid arthritis patients [J]. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*, 2012, 53(1): 73-80.

- [30] 郭明, 安高, 封桂英, 等. CD4⁺ T 细胞亚群在类风湿性关节炎中的研究进展 [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2014, 9: 1004-1007.
- [31] Cooles FA, Isaacs JD, Anderson AE. Treg cells in rheumatoid arthritis: an update [J]. *Current Rheumatology Reports*, 2013, 15(9): 352.
- [32] Yamagiwa T, Fukunishi S, Tachibana T, et al. Abrogation of Treg function deteriorates rheumatoid arthritis [J]. *Modern Rheumatology*, 2012, 22(1): 80-88.
- [33] Kelchtermans H, De Klerck B, Mitera T, et al. Defective CD4⁺CD25⁺ regulatory T cell functioning in collagen-induced arthritis: an important factor in pathogenesis, counter-regulated by endogenous IFN-gamma [J]. *Arthritis Research & Therapy*, 2005, 7(2): R402-R415.
- [34] Haque R, Lei F, Xiong X, et al. Programming of regulatory T cells from pluripotent stem cells and prevention of autoimmunity [J]. *Journal of Immunology*, 2012, 189(3): 1228-1236.
- [35] Morgan ME, Flierman R, van Duivenvoorde LM, et al. Effective treatment of collagen-induced arthritis by adoptive transfer of CD25⁺ regulatory T cells [J]. *Arthritis & Rheumatology*, 2005, 52(7): 2212-2221.
- [36] Zhou X, Kong N, Wang J, et al. Cutting edge: all-trans retinoic acid sustains the stability and function of natural regulatory T cells in an inflammatory milieu [J]. *Journal of Immunology*, 2010, 185(5): 2675-2679.
- [37] Kong N, Lan Q, Chen M, et al. Antigen-specific transforming growth factor beta-induced Treg cells, but not natural Treg cells, ameliorate autoimmune arthritis in mice by shifting the Th17/Treg cell balance from Th17 predominance to Treg cell predominance [J]. *Arthritis & Rheumatology*, 2012, 64(8): 2548-2558.
- [38] 侯丽, 沈波. 调节性 T 细胞免疫抑制与类风湿性关节炎发病机制相关研究进展 [J]. *医学研究杂志*, 2013, 42(3): 179-182.
- [39] Miyara M, Ito Y, Sakaguchi S. TREG-cell therapies for autoimmune rheumatic diseases [J]. *Nature Reviews Rheumatology*, 2014, 10(9): 543-551.
- [40] Ruan Q, Kameswaran V, Tone Y, et al. Development of Foxp3(+) regulatory t cells is driven by the c-Rel enhanceosome [J]. *Immunity*, 2009, 31(6): 932-940.
- [41] Ruan Q, Kameswaran V, Zhang Y, et al. The Th17 immune response is controlled by the Rel-RORgamma-RORgamma T transcriptional axis [J]. *The Journal of Experimental Medicine*, 2011, 208(11): 2321-2333.
- [42] van Loo G, Beyaert R. Negative regulation of NF-kappaB and its involvement in rheumatoid arthritis [J]. *Arthritis Research & Therapy*, 2011, 13(3): 221.
- [43] Komatsu N, Okamoto K, Sawa S, et al. Pathogenic conversion of Foxp3⁺ T cells into TH17 cells in autoimmune arthritis [J]. *Nature Medicine*, 2014, 20(1): 62-68.
- [44] Loizou L, Andersen KG, Betz AG. Foxp3 interacts with c-Rel to mediate NF-kappaB repression [J]. *PLoS One*, 2011, 6(4): e18670.
- [45] 牛倩, 黄卓春, 蔡蓓, 等. 类风湿性关节炎患者外周血 Th17/Treg 细胞比率失衡的研究 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2010, 26(3): 267-269, 272.
- [46] Niu Q, Cai B, Huang ZC, et al. Disturbed Th17/Treg balance in patients with rheumatoid arthritis [J]. *Rheumatology International*, 2012, 32(9): 2731-2736.
- [47] Wang W, Shao S, Jiao Z, et al. The Th17/Treg imbalance and cytokine environment in peripheral blood of patients with rheumatoid arthritis [J]. *Rheumatology International*, 2012, 32(4): 887-893.
- [48] Hu W, Troutman TD, Edukulla R, et al. Priming microenvironments dictate cytokine requirements for T helper 17 cell lineage commitment [J]. *Immunity*, 2011, 35(6):1010-1022.
- [49] Charbonnier LM, Han WG, Quentin J, et al. Adoptive transfer of IL-10-secreting CD4⁺ CD49b⁺ regulatory T cells suppresses ongoing arthritis [J]. *Journal of Autoimmunity*, 2010, 34(4): 390-399.
- [50] Nie H, Zheng Y, Li R, et al. Phosphorylation of FOXP3 controls regulatory T cell function and is inhibited by TNF-alpha in rheumatoid arthritis [J]. *Nature Medicine*, 2013, 19(3): 322-328.

- [51] Oh S, Rankin AL, Caton AJ. CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in autoimmune arthritis [J]. *Immunological Reviews*, 2010, 233 (1): 97-111.
- [52] Corvaisier M, Delneste Y, Jeanvoine H, et al. IL-26 is overexpressed in rheumatoid arthritis and induces proinflammatory cytokine production and Th17 cell generation [J]. *PLoS Biology*, 2012, 10 (9): e1001395.
- [53] Tanida S, Yoshitomi H, Ishikawa M, et al. IL-27-producing CD14(+) cells infiltrate inflamed joints of rheumatoid arthritis and regulate inflammation and chemotactic migration [J]. *Cytokine*, 2011, 55 (2): 237-244.
- [54] Valmori D, Raffin C, Raimbaud I, et al. Human RORgammat⁺ TH17 cells preferentially differentiate from naive FOXP3⁺ Treg in the presence of lineage-specific polarizing factors [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107 (45): 19402-19407.
- [55] Fillatreau S, Sweenie CH, McGeachy MJ, et al. B cells regulate autoimmunity by provision of IL-10 [J]. *Nature Immunology*, 2002, 3 (10): 944-950.
- [56] Yang M, Rui K, Wang S, et al. Regulatory B cells in autoimmune diseases [J]. *Cellular & Molecular Immunology*, 2013, 10 (2): 122-132.
- [57] Piccioli D, Tavarini S, Borgogni E, et al. Functional specialization of human circulating CD16 and CD1c myeloid dendritic-cell subsets [J]. *Blood*, 2007, 109 (12): 5371-5379.
- [58] 付静静, 张玲玲, 魏伟. 树突细胞在类风湿性关节炎病理机制中的免疫原性和耐受性双重作用 [J]. *中国药理学通报*, 2012, 28 (9): 1185-1188.
- [59] Soderstrom K, Stein E, Colmenero P, et al. Natural killer cells trigger osteoclastogenesis and bone destruction in arthritis [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107 (29): 13028-13033.
- [60] Lurati A, Bertani L, Marrazza M, et al. NK cell count as predictor of clinical response in patients with rheumatoid arthritis treated with rituximab [J]. *Biologics*, 2012, 6: 83-87.
- [61] 任洁, 周毅, 吴会霞, 等. NK-22 细胞及 IL-22 相关功能分子在类风湿关节炎滑膜细胞增殖中的作用 [J]. *南方医科大学学报*, 2014, 34 (1): 20-24.
- [62] Singh RP, Massachi I, Manickavel S, et al. The role of miRNA in inflammation and autoimmunity [J]. *Autoimmunity Reviews*, 2013, 12 (12): 1160-1165.
- [63] Nakasa T, Miyaki S, Okubo A, et al. Expression of microRNA-146 in rheumatoid arthritis synovial tissue [J]. *Arthritis & Rheumatology*, 2008, 58 (5): 1284-1292.
- [64] Stanczyk J, Pedrioli DM, Brentano F, et al. Altered expression of microRNA in synovial fibroblasts and synovial tissue in rheumatoid arthritis [J]. *Arthritis & Rheumatology*, 2008, 58 (4): 1001-1009.
- [65] Murugaiyan G, da Cunha AP, Ajay AK, et al. MicroRNA-21 promotes Th17 differentiation and mediates experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *Journal of Clinical Investigation*, 2015, 125 (3): 1069-1080.
- [66] Ruan Q, Wang P, Wang T, et al. MicroRNA-21 regulates T-cell apoptosis by directly targeting the tumor suppressor gene Tpe2 [J]. *Cell Death and Disease*, 2014, 5: e1095.