

TNF 抑制剂对类风湿关节炎 FLS 的作用机制研究

尹璐 周云涛 张晓阳 田卫^(通讯作者)

(华北理工大学)

摘要：类风湿关节炎（rheumatoid arthritis, RA）是一种自身免疫性疾病，以滑膜炎为主要表现。成纤维细胞样滑膜细胞（fibroblast-like-synoviocytes, FLS）已被证明在 RA 中有着重要作用。TNF 抑制剂在 RA 治疗中的应用越来越广泛，但是治疗效果却因人而异，TNF 抑制剂已被证明作用于 RAFLS，但是其作用机制尚未明确，本研究将 TNF 抑制剂对 RAFLS 的作用机制做一综述，可以为 TNF 抑制剂的研发提供新的思路。

关键词：类风湿关节炎；成纤维样滑膜细胞；肿瘤坏死因子抑制剂。

类风湿关节炎是一种慢性自身免疫性疾病。RA 患者的关节炎主要是由 B 细胞、T 细胞、巨噬细胞等各种免疫细胞和成纤维细胞介导的，产生的一系列细胞因子相互作用，最终导致关节损伤。FLS 能够帮助形成和维持滑膜细胞外基质，在 RA 患者中，FLS 显著增生且具有侵袭性，其产生的多种细胞因子和趋化因子诱导巨噬细胞增生，并释放出各种促炎因子，导致滑膜炎。肿瘤坏死因子 TNF，是 RA 中最重要的炎症介质之一，主要由滑膜巨噬细胞、B 细胞和 NK 细胞产生。TNF 抑制剂的使用是 RA 治疗的重大突破，然而，治疗的反应性却因人而异，虽然有许多患者得到了临床缓解，但是仍有 30-40% 的 TNF 抑制剂治疗者没有显示出明显的临床改善^[1]。我们发现，许多研究中使用 TNF 诱导 RAFLS，进而研究 FLS 在 RA 滑膜炎中的作用机制^[2-4]。本文对 TNF 抑制剂对 RAFLS 的作用机制进行总结，可能会有利于 TNF 抑制剂的研发。

1. FLS 在 RA 中的作用机制

1.1 RAFLS 分泌细胞因子及趋化因子

FLS 是 RA 中的一类重要的炎症细胞，可以产生多种细胞因子及趋化因子，如白细胞介素（IL-1、4、6、8 等）、TNF- α 、干扰素- γ （IFN- γ ）等，其中 IL-6 及粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子（GM-CSF）产生的炎症效应，可以激活 B 和 T 细胞，进而导致骨和软组织的破坏。Edhayan^[5]等人的研究显示，RAFLS 分泌的 Dickkopf 相关蛋白 1（DKK-1）是 Wnt/ β -catenin 信号通路的典型抑制剂，可以抑制成骨细胞的活化，从而干扰骨侵蚀的修复。Gautam^[6]等人的研究发现，在 RA 滑膜液中存在大量的 DNA 结合抑制剂 1（ID-1），可能是通过外泌体的形式从 RAFLS 中释放出来，减少炎症血管的生长，从而抑制 RA 的

炎症反应。

此外，FLS 还可以通过分泌趋化因子吸引单核细胞，例如趋化因子配体 2（CCL2）、CCL5、CCL8 等^[7]，在此过程中募集到的单核细胞，特别是其分化成的巨噬细胞，是 RA 滑膜中 TNF 和 IL-1 β 的最主要来源，这些因子激活 FLS 产生促炎性细胞因子、趋化因子和组织破坏因子，如 IL-6、IL-8 和 MMP，进而导致炎症反应。CCL20 也是一种趋化因子，可以与趋化因子配体受体 CCR6 结合，然而 RAFLS 自发产生 CCL20 很少，通过 IL-1 β 、TNF- α 或 IL-17 诱导的 FLS 可以促进 CCL20 生成，可以表明 CCL20 在 RA 中发挥重要的作用^[8]。活化的 FLS 还可以产生 RANKL 和 MMPs，直接促进局部关节损伤，而且还在关节之间迁移，促进其他关节的炎症进展。

1.2 RAFLS 表达某些因子抑制细胞凋亡

RAFLS 可能通过表达某些因子来抑制凋亡刺激信号诱导的细胞程序性死亡，从而抑制致病细胞的凋亡，使炎症持续进展。肿瘤抑制因子 p53 可以介导细胞凋亡，有研究显示，p53 在 RAFLS 中显著下调，说明 RAFLS 可能抑制细胞凋亡，并且通过抑制 p53 基因表达，可以使原来正常的 FLS 转化为侵袭性 FLS^[9]。Sentrin 是一种抗凋亡分子，可以通过 Fas 和 TNFR1 通路抑制细胞凋亡，Franz^[10]等人的研究发现，sentrin 在 RAFLS 中显著表达，可能是通过调节 Fas 和 TNFR 介导的 RA 滑膜细胞凋亡，从而延长侵袭性 FLS 的寿命。此外，RAFLS 中的促凋亡因子 Bax 表达减少，抗凋亡因子 Bcl-2 增加，可能是由于 STAT3 在 RAFLS 中介导 IL-17 诱导了 Bcl-2 上调^[11]，从而抑制细胞凋亡。FLIP 是一种抗凋亡蛋白，与健康组相比，在 RAFLS 中高表达，且仅限于 CD68⁺ 的巨噬细胞样滑膜细胞和 CD68⁻ 的 FLS，

可能是通过抑制 Fas 介导的细胞凋亡发挥抗凋亡作用^[12]。

1.3 RAFLS 表达 RANKL 导致骨侵蚀

核因子- κ B 受体活化因子配体 (RANKL) 是一种 NF- κ B 激活的受体配体, 主要在成骨细胞中表达, 能够激活破骨细胞, 促进破骨细胞前体分化为破骨细胞, 导致 RA 患者的骨侵蚀, 是破骨过程中必需的细胞因子。RANKL 的异常表达在调节关节骨吸收中起着重要作用, 可能会导致某些骨疾病, 如风湿性关节炎、银屑病性关节炎等。RAFLS 可以产生 RANKL, 同时, RANKL 也可抑制 FLS 的异常增殖和炎症因子的释放, L.ZHOU 等人^[13]的研究指出, RANKL 抑制剂可以抑制 RAFLS 的增殖, 促进细胞凋亡, 进一步导致骨侵蚀, 其潜在机制可能与抑制 NF- κ B 信号通路有关。

2. TNF 抑制剂对 FLS 的影响

目前我国批准用于 RA 治疗的 TNF 抑制剂主要包括: 英夫利昔单抗 (IFX)、阿达木单抗 (ADA)、依那西普 (ETN)、戈利木单抗 (GOL) 和培塞利珠单抗 (CZP), 通过中和 TNF- α 及其诱导的炎症过程, 有效地抑制了关节炎以及软骨和骨损伤。TNF 抑制剂可能通过以下几种方式作用于 RAFLS。

2.1 TNF 抑制剂调节 FLS 细胞因子、趋化因子的生成

RAFLS 分泌的 DKK-1 作为 Wnt 信号通路的抑制剂, 可以调节破骨细胞和成骨细胞生成之间的平衡, 而 ETN 作为一种 TNF- α 抑制剂, 可能通过促进 DKK-1 的表达, 抑制 Wnt 信号通路从而抑制成骨细胞分化^[14]。此外, TNF- α 刺激的 DKK-1 和整合素相关的 FAK 信号通路的激活可能通过诱导 β -catenin/E-cadherin 的解离, 从而促进 RAFLS 在体内的迁移^[15]。ID-1 可以通过选择性结合和抑制基因的转录来调节 FLS 增殖和细胞因子分泌, 最近的一项研究显示, IFX 可以使 RA 患者血中的 ID-1 下降, 可能与抑制 FLS 的增殖和 IL-6 的分泌有关^[16]。

一项病例对照试验指出^[8], TNF 抑制剂和托珠单抗 (TCZ) 可能抑制 FLS 产生 CCL20, 在使用 IFX、ETN 和 TCZ 治疗后 RA 患者血清中 CCL20 水平明显降低, 这可能是由于 CCL20 激活了 Th17 细胞上的 CCR6, 并引导它们迁移到炎症部位, 加重 RA 的炎症反应。

2.2 TNF 抑制剂促进 FLS 细胞凋亡、抑制细胞增殖

TNF 在体外具有抑制 RAFLS 凋亡, 促进 FLS 增殖作用, 其

机制可能是通过上调 TNFR II 和下调 TNFR I 的表达, 抑制 RAFLS 的凋亡, 促进 RA 滑膜组织的增殖^[3]。Bcl-2 是一种抗凋亡因子, Pattacini^[17]等人的研究指出, IFX 和 ADA 可以使 RAFLS 中 Bcl-2 增加, 从而促进 FLS 凋亡。此外, IFX、ADA 和 ETN 均可以诱导 FLS 凋亡, 且 ETN 与另外两种相比更为显著。Jorg Schedel^[12]等人的研究发现, TNF 抑制剂可能通过调控 FLIP 参与凋亡抵抗的过程, 可以减少体内 Fas 介导的 RAFLS 细胞凋亡。综上, 我们推测 TNF 抑制剂可能对 FLS 有促进凋亡、抑制增殖的作用。

2.3 TNF 抑制剂降低了 FLS 中 RANKL 表达并抑制破骨细胞形成

RANKL 与位于破骨细胞及其前体细胞表面的 RANK 结合, 促进破骨细胞与其前体细胞的分化和形成, 抑制破骨细胞的代谢凋亡。而 TNF- α 可以诱导软骨降解和骨吸收, 还可以增强骨细胞分泌 RANKL, 通过巨噬细胞和破骨细胞活化, 进一步促进破骨细胞的生成。骨保护蛋白 OPG 属于 TNF 受体超家族, 也可与 RANKL 结合, 抑制破骨细胞生成, 具有骨保护作用。有研究显示, TNF 和一些细胞因子直接或间接调控 FLS, 使 RA 患者的 OPG 和 RANKL 水平升高, 而 IFX 抑制了 FLS 对 RANKL 及其 mRNA 的表达, 增加了 OPG 的分泌, 从而抑制破骨细胞的形成^[18]。

综上所述, TNF 抑制剂对 RAFLS 的作用机制可能是通过调节 RAFLS 产生的某些细胞因子、抑制 RAFLS 凋亡以及降低 RANKL 途径抑制破骨细胞形成等方式来延缓 RA 的进展。TNF 抑制剂已得到 RA 患者的广泛使用, 其在 RAFLS 作用机制研究, 可能会给 TNF 抑制剂的研发提供新的思路。

参考文献:

[1] STRAND V, KIMBERLY R, ISAACS J D. Biologic therapies in rheumatology: lessons learned, future directions [J]. Nature reviews Drug discovery, 2007, 6(1): 75-92.

[2] 孙铁铮, 吕厚山, 药立波, et al. 酪氨酸激酶在 TNF- α 诱导类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞 MAPKs 活化中的作用 [J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2001, 01): 74-8.

[3] 李俊松, 杨娉婷, 肖卫国. 肿瘤坏死因子 α 诱导类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞增殖机制的研究 [J]. 中华内科杂志,

2008, 47(10): 845–6.

[4]罗心静, 莫选荣, 周玲玲. TNF- α 诱导类风湿关节炎滑膜细胞NF- κ B信号通路活化的探讨 [J]. 免疫学杂志, 2012, 04): 321–3+32.

[5]STANFORD S M, ALEMAN MUENCH G R, BARTOK B, et al. TGF β responsive tyrosine phosphatase promotes rheumatoid synovial fibroblast invasiveness [J]. *Annals of the rheumatic diseases*, 2016, 75(1): 295–302.

[6]EDHAYAN G, OHARA R A, STINSON W A, et al. Inflammatory properties of inhibitor of DNA binding 1 secreted by synovial fibroblasts in rheumatoid arthritis [J]. *Arthritis research & therapy*, 2016, 18(87).

[7]BARTOK B, FIRESTEIN G S. Fibroblast-like synoviocytes: key effector cells in rheumatoid arthritis [J]. *Immunological reviews*, 2010, 233(1): 233–55.

[8]KAWASHIRI S Y, KAWAKAMI A, IWAMOTO N, et al. Proinflammatory cytokines synergistically enhance the production of chemokine ligand 20 (CCL20) from rheumatoid fibroblast-like synovial cells in vitro and serum CCL20 is reduced in vivo by biologic disease-modifying antirheumatic drugs [J]. *The Journal of rheumatology*, 2009, 36(11): 2397–402.

[9]PAP T, AUPPERLE K R, GAY S, et al. Invasiveness of synovial fibroblasts is regulated by p53 in the SCID mouse in vivo model of cartilage invasion [J]. *Arthritis and rheumatism*, 2001, 44(3): 676–81.

[10]FRANZ J K, PAP T, HUMMEL K M, et al. Expression of sentrin, a novel antiapoptotic molecule, at sites of synovial invasion in rheumatoid arthritis [J]. *Arthritis and rheumatism*, 2000, 43(3): 599–607.

[11]LEE S Y, KWOK S K, SON H J, et al. IL-17-mediated Bcl-2 expression regulates survival of fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis through STAT3 activation [J]. *Arthritis research & therapy*, 2013, 15(1): R31.

[12]SCHEDEL J, GAY R E, KUENZLER P, et al. FLICE-inhibitory protein expression in synovial fibroblasts and at sites of cartilage and bone erosion in rheumatoid arthritis [J]. *Arthritis and rheumatism*, 2002, 46(6): 1512–8.

[13]ZHOU L, LI L, WANG Y, et al. Effects of RANKL on the proliferation and apoptosis of fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis through regulating the NF- κ B signaling pathway [J]. *European review for medical and pharmacological sciences*, 2019, 23(21): 9215–21.

[14]TANIDA A, KISHIMOTO Y, OKANO T, et al. Etanercept Promotes Bone Formation via Suppression of Dickkopf-1 Expression in Rats with Collagen-Induced Arthritis [J]. *Yonago acta medica*, 2013, 56(1): 13–9.

[15]CHOE J Y, HUN KIM J, PARK K Y, et al. Activation of dickkopf-1 and focal adhesion kinase pathway by tumour necrosis factor α induces enhanced migration of fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis [J]. *Rheumatology (Oxford, England)*, 2016, 55(5): 928–38.

[16]OHARA R A, EDHAYAN G, RASMUSSEN S M, et al. Citrullinated Inhibitor of DNA Binding 1 Is a Novel Autoantigen in Rheumatoid Arthritis [J]. *Arthritis & rheumatology (Hoboken, NJ)*, 2019, 71(8): 1241–51.

[17]PATTACINI L, BOIARDI L, CASALI B, et al. Differential effects of anti-TNF-alpha drugs on fibroblast-like synoviocyte apoptosis [J]. *Rheumatology (Oxford, England)*, 2010, 49(3): 480–9.

[18]LEE C K, LEE E Y, CHUNG S M, et al. Effects of disease-modifying antirheumatic drugs and antiinflammatory cytokines on human osteoclastogenesis through interaction with receptor activator of nuclear factor kappaB, osteoprotegerin, and receptor activator of nuclear factor kappaB ligand [J]. *Arthritis and rheumatism*, 2004, 50(12): 3831–43.

作者简介: 尹璐, 女, 汉族, 1998年4月, 河北邢台, 硕士, 临床检验诊断学。