

综述

类风湿性关节炎中表观遗传调控巨噬细胞的可塑性

宁静, 夏妙然*

(首都医科大学基础医学院免疫学系, 北京 100069)

摘要: 巨噬细胞在类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)的发生和发展中扮演着重要角色。研究表明, RA中的滑膜巨噬细胞表现出高度的可塑性, 能够展现极化、向破骨细胞分化以及建立训练免疫等功能状态。近年来, RA中滑膜巨噬细胞的可塑性研究在探索RA的病理过程和推动个体化治疗方面发挥着关键作用。表观遗传在细胞命运和功能状态转变的调控中至关重要。RA中巨噬细胞功能状态的改变背后存在着复杂的表观遗传调控机制, 其中不少研究尚在探索阶段。本文将综述RA中表观遗传调控巨噬细胞可塑性的研究进展, 旨在为靶向巨噬细胞的RA治疗提供参考依据。

关键词: 类风湿性关节炎; 巨噬细胞; 表观遗传; 可塑性

Epigenetic regulation of macrophage plasticity in rheumatoid arthritis

NING Jing, XIA Miaoran*

(Department of Immunology, School of Basic Medical Sciences, Capital Medical University, Beijing 100069, China)

Abstract: Macrophages play a crucial role in the pathogenesis and progression of rheumatoid arthritis (RA). Studies have shown that synovial macrophages in RA exhibit high plasticity. They can acquire M1/M2 polarization states, differentiate into osteoclasts, or establish trained immunity. In recent years, research on the plasticity of synovial macrophages in RA has played a pivotal role in exploring the pathological processes of RA and advancing personalized therapeutic strategies. Epigenetic factors play a vital role in regulating cell fate and functional state transitions. The alterations in the functional states of macrophages in RA are underpinned by complex epigenetic regulatory mechanisms, with many studies still in the exploratory stage. In this review, we aim to summarize the progress of epigenetic regulation of macrophage plasticity in RA, hoping to provide a basis for macrophage-targeting therapy strategies.

Key Words: rheumatoid arthritis; macrophages; epigenetics; plasticity

类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种常见的以关节炎为主要特征的全身性自身免疫性疾病, 巨噬细胞在其中发挥重要作用^[1]。随着单细胞组学技术的应用, 研究发现, RA的进展和缓解与滑膜巨噬细胞亚群的动态变化密切相关^[2]。针对

对滑膜巨噬细胞异质性的个体化治疗策略, 预示着未来治疗RA的新方向^[2]。表观遗传已被认为是调控巨噬细胞可塑性的决定性因素, 在肿瘤领域, 相关研究已被充分报道^[3], 而在RA等自身免疫性疾病中的研究仍有待进一步展开。本综述主要介

收稿日期: 2024-04-02

基金项目: 国家自然科学基金项目(82201918); 首都医科大学“第二课堂”项目(D2KT2024027)

第一作者: E-mail: ningjing9548@163.com

*通信作者: E-mail: mxia@ccmu.edu.cn

绍RA中巨噬细胞的极化、向破骨细胞分化、训练免疫(trained immunity)建立等可塑性变化以及表观遗传调控这些过程的最新研究进展。

1 RA中巨噬细胞的来源及功能

RA以自身免疫反应为发病基础。巨噬细胞作为重要的固有免疫细胞,通过产生细胞因子、抗原呈递等方式,参与并促进了适应性免疫的发生发展,在RA的起始与发展中均发挥了重要作用。在起源上,巨噬细胞具有胚胎和骨髓的双重起源,不同起源的巨噬细胞的表型及在滑膜中的定位及功能具有明显差异,二者的失衡可能参与了RA的进展。近年来,随着单细胞组学的发展,RA中更多具有特殊表面标记物及功能的巨噬细胞亚群已被发现,展现出滑膜巨噬细胞组成的巨大异质性及复杂性。本文仅对巨噬细胞的来源及主要功能进行概述。

1.1 巨噬细胞的来源

机体内巨噬细胞包括胚胎来源的组织驻留巨噬细胞和骨髓来源的巨噬细胞^[4]。组织驻留巨噬细胞具有双重来源:早期卵黄囊原位分化的原始巨噬细胞和卵黄囊的髓系偏向祖细胞(yolk sac-derived myeloid-biased progenitor, YSMP)后期迁移至胎肝经由单核细胞进一步分化形成的巨噬细胞^[4]。相对地,骨髓来源的巨噬细胞则由成体血液循环中的单核细胞迁移至组织后分化而成^[5]。值得注意的是,骨髓来源的巨噬细胞也可产生组织驻留巨噬细胞的表型^[6]。滑膜巨噬细胞的组成包括上述两个群体,它们之间的平衡对维持滑膜的稳态至关重要^[5]。Huang等^[7]研究发现,组织驻留巨噬细胞数量的减少会导致生态位的空缺,进而促使活化的单核细胞流入并分化为具有促炎功能的巨噬细胞。这提示,组织驻留巨噬细胞在抑制慢性炎症中发挥重要作用,而单核细胞在炎症环境中的分化和功能可能促进RA的进展^[7]。

1.2 RA中巨噬细胞的主要功能及可塑性

巨噬细胞是RA中重要的固有免疫细胞。在数量上,与正常滑膜相比,RA患者滑膜组织的衬里层中富集大量巨噬细胞^[8]。在功能上,巨噬细胞在RA的进展中主要表现为促炎功能,表型上以M1型巨噬细胞为主。肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis

factor- α , TNF- α)已被证实是RA的有效治疗靶点,而巨噬细胞是RA中TNF- α 的主要来源^[9]。TNF- α 及巨噬细胞产生的白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)和IL-1均可促进破骨细胞活性,进一步导致关节破坏^[6]。巨噬细胞还能分泌IL-23促进辅助性T细胞17(helper T cell 17, Th17)的分化,分泌TNF- α 、IL-12促进Th1的分化,以及分泌IL-1 β 及TNF- α 促进成纤维细胞的活化。这些活化的成纤维细胞还可产生巨噬细胞集落刺激因子(macrophage colony-stimulating factor, M-CSF)和核因子- κ B配体受体激活因子(receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand, RANKL),进一步促进破骨细胞的生成^[6]。同时,RA中部分滑膜巨噬细胞亚群还可向破骨细胞分化,从而加剧关节侵蚀^[10]。此外,RA患者根据血清中抗环瓜氨酸蛋白抗体(anti-citrullinated protein autoantibodies, ACPA)水平,可分为ACPA阳性和ACPA阴性两类,其中ACPA阳性患者约占2/3,两类患者的病理过程存在差异^[11]。值得注意的是,与ACPA阳性患者相比,ACPA阴性患者的滑膜巨噬细胞表达更高水平的IL-1 β 、C-C趋化因子配体13(C-C motif chemokine ligand 13, CCL13)、CCL18和基质金属蛋白酶3(matrix metalloproteinase 3, MMP3),这些分子加剧了炎症反应,其中MMP3是RA疾病活动性和关节侵蚀的生物标志物^[11]。这些研究表明,在ACPA阴性的患者中,滑膜巨噬细胞对疾病的进展也发挥着重要的作用。

在RA的发生发展过程中,巨噬细胞表现出强大的可塑性:(1)可呈现不同的极化状态;(2)能够向破骨细胞分化;(3)可发生训练免疫,即具有免疫记忆。表观遗传是指在不改变DNA序列的情况下,基因表达的可遗传的变化。其调控方式包括DNA甲基化、组蛋白修饰、组蛋白变体、染色质重塑、转录因子、非编码RNA等。表观遗传调控在细胞命运决定及功能状态的转变中起着关键作用^[3]。RA发生发展中,巨噬细胞可塑性受到表观遗传因子的调控,下面将进行深入讨论(图1)。

2 RA中巨噬细胞极化的表观遗传调控

巨噬细胞的极化是其在不同微环境中响应特定细胞因子刺激而发育成不同类型巨噬细胞的过程^[12]。通过分析形态特征、表面标记物、基因表

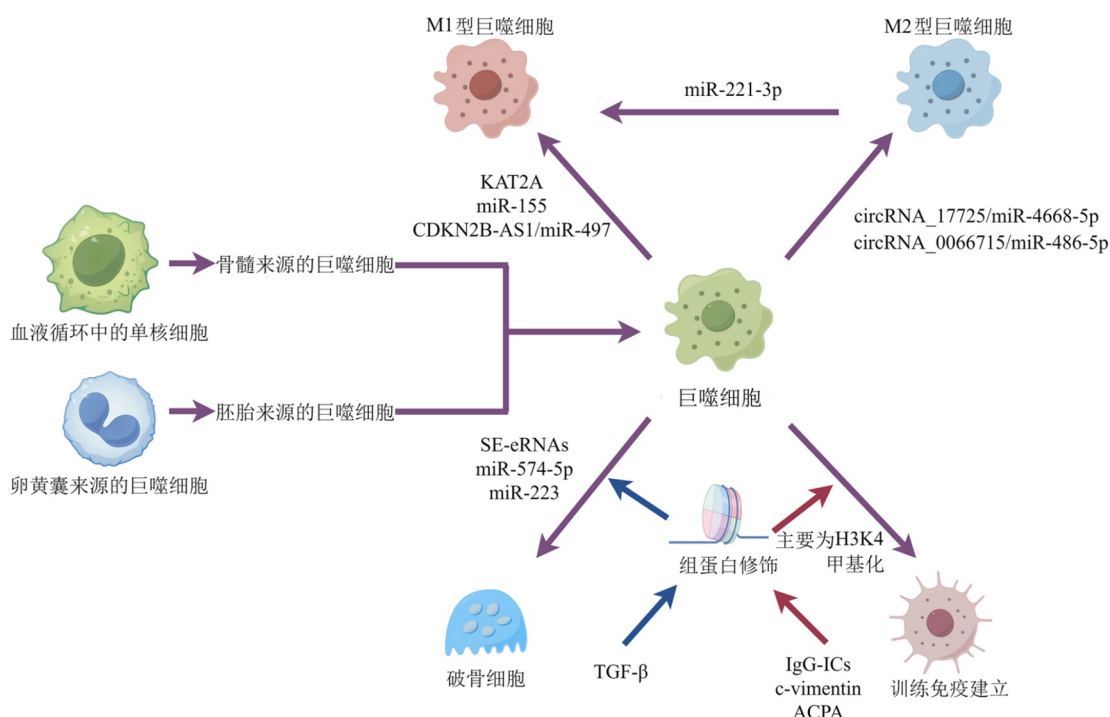


图1 类风湿性关节炎中表观遗传调控巨噬细胞可塑性

达特征和功能,研究已识别出巨噬细胞的五种极化状态。这些状态形成连续的谱系,M1和M2型巨噬细胞位于谱系两端,分别代表促炎和抗炎表型,并受到广泛关注^[13]。

在RA的发展与缓解中滑膜巨噬细胞M1/M2的比例呈现动态变化。疾病进展期,RA患者滑膜组织中M1型巨噬细胞的比例高于M2型,显示炎症活跃^[14,15]。而在疾病缓解期,滑膜组织中可以检测到大量的M2型巨噬细胞,表明其在抗炎和组织修复过程的活跃^[14]。这些研究表明,M1型与M2型巨噬细胞比例失衡是RA进展的关键因素。M2型巨噬细胞对铁死亡更敏感,这可能是RA中M1/M2失衡的原因之一。发生铁死亡的M2还可进一步通过释放高迁移率族蛋白B1(high mobility group box-1 protein, HMGB1)经Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)-信号转导和转录激活因子3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)轴促进M1型巨噬细胞释放炎症因子,加剧免疫失衡^[16]。M1型与M2型巨噬细胞的极化状态是可逆的,在RA的研究中,促进IL-10表达^[17]、靶向代谢重编程^[18]、外泌体miRNA引入^[19]等方式均可实现M1型向M2型的转换。目前,靶向巨噬细胞极化是

RA治疗的研究焦点。相关的表观遗传研究主要涉及组蛋白修饰及非编码RNA(表1)。通常,组蛋白修饰包括乙酰化、甲基化、磷酸化等。其中,组蛋白乙酰化通常促进基因转录^[20]。非编码RNA包括微小RNA(microRNA, miRNA)、环状RNA(circular RNA, circRNA)、长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)等^[20]。其中,多种miRNA参与调控巨噬细胞极化。如miR-155、miR-127、miR-720、miR-223等在M1型巨噬细胞中高表达,而miR-146a/b、miR-511-5p/3p、miR-378-3p、miR-23a/27a/24-2等在M2型巨噬细胞中高表达^[3]。这一差异表达模式揭示了miRNA在调节巨噬细胞功能和炎症反应中的关键作用。接下来,本文将分别从促进M1型促炎极化和M2型抗炎极化的角度,综述其表观遗传调控机制。

2.1 表观遗传调控巨噬细胞向M1型分化

M1型巨噬细胞主要表现为促炎特性,其表面标志物包括主要组织相容性复合物Ⅱ类分子(major histocompatibility complex class II, MHC II)、白细胞分化抗原80(cluster of differentiation 80, CD80)、CD86、CD38和TLR4。此类细胞通过TLR和干扰素(interferon, IFN)信号激活,产生大量促炎细胞

表 1 RA中调节巨噬细胞极化的非编码RNA及其功能

非编码RNA类型	名称	作用	参考文献
miRNA	miR-155	使mTNF表达增加, 促进M1极化	[21]
	miR-221-3p	通过抑制JAK3使M2型巨噬细胞改变释放的细胞因子谱, 表现为M1型巨噬细胞的功能	[22]
circRNA	circRNA_0066715	通过抑制miR-486-5p, 解除对ETS1的抑制, 促进巨噬细胞向M2型极化	[23]
	circRNA_17725	通过抑制miR-4668-5p, 从而上调FAM46C, 促进巨噬细胞向M2型极化, 抑制炎症介质的释放	[24]
lncRNA	CDKN2B-AS1	通过抑制miR-497, 导致硫氧还蛋白互作蛋白增加, 促进M1极化并抑制M2极化	[25]

因子(例如TNF- α 、IL-1、IL-12、IL-18和IFN- γ), 以及趋化因子和MMP, 促进炎症反应、骨吸收和关节破坏^[26]。

Zhang等^[27]研究发现, 在RA患者中赖氨酸乙酰转移酶2A(lysine acetyltransferase 2A, KAT2A)表达增加, 并通过催化巨噬细胞H3组蛋白第9位赖氨酸上的乙酰化修饰(histone H3 lysine 9 acetylation, H3K9ac)促进*IL-1 β* 和含有NLR家族pyrin结构域的蛋白3(NLR family pyrin domain containing 3, *Nlrp3*)基因的诱导后转录, 推动M1型巨噬细胞的极化, 从而导致不可控的IL-1 β 生成及炎性损伤。Paoletti等^[21]发现, miR-155的过表达与RA中单核/巨噬细胞的分化缺陷有关: miR-155过表达后, RA患者血液单核细胞上膜结合型肿瘤坏死因子(membrane-bound tumor necrosis factor, mTNF)表达增加, 其极化成抗炎M2型巨噬细胞的能力受损, 转而更倾向于分化为促炎M1型。miR-155-5p和miR-155-3p是组成miR-155双链前体的两条链, 通常在细胞中仅有一条链表现出活性, 二者在肿瘤中均可调节免疫功能^[28]。该团队还发现, 通过使用聚乙二醇脂质体封装的抗miR-155-5p(antagomiR-155-5p), 可促使巨噬细胞向抗炎M2型的极化, 并改善胶原诱导性关节炎(collagen-induced arthritis, CIA)小鼠关节炎症状^[29]。Quero等^[22]的研究表明, miR-221-3p在RA患者滑膜组织与滑液中含量与健康者相比明显上调, 可通过抑制Janus激酶3(janus kinase 3, JAK3)改变M2型巨噬细胞释放的细胞因子谱, 上调促炎因子IL-6和IL-8, 而下调抗炎因子IL-10和C-X-C基序趋化因子配体13(C-X-C motif chemokine ligand 13, CXCL13), 从而表现出M1型巨噬细胞的功能, 导致抗炎反应减弱。Li等^[25]发现, RA患者的巨噬细胞中lncRNA CDKN2B-AS1

(CDKN2B antisense RNA 1)负向调控miR-497水平, 导致硫氧还蛋白互作蛋白的增加, 进而促进巨噬细胞向M1型极化并抑制其向M2型极化。其中, 硫氧还蛋白互作蛋白在巨噬细胞中负向调节硫氧还蛋白的表达, 与炎症反应密切相关。综上, RA患者中组蛋白修饰相关酶和miRNA水平的异常可能促进巨噬细胞向M1型分化, 抑制这些途径可能有助于改善炎症症状。

2.2 表观遗传调控巨噬细胞向M2型分化

M2型巨噬细胞参与抗炎过程, 通过释放细胞因子[如IL-4、IL-10、IL-13和转化生长因子- β (transforming growth factor-beta, TGF- β)], 促进RA的临床缓解。其特征性的表面标志物包括巨噬细胞清道夫受体(CD163、CD204)、甘露糖受体-1(CD206)和Mer受体酪氨酸激酶(Mer receptertyrosin kinase, MerTk)^[11,13]。

Wan等^[23]的研究发现, RA中circRNA_0066715/miR-486-5p/E26转化特异性序列1(E26 transformation-specific sequence 1, ETS1)轴调控巨噬细胞极化。RA患者外周血单核细胞中circRNA_0066715呈低表达。在小鼠模型中, circRNA_0066715过表达组的M1型细胞因子减少而M2型升高, 显著改善关节肿胀。这表明, 在RA中circRNA_0066715的低表达将促使巨噬细胞向M1型分化, 发挥促炎作用。机制方面, circRNA_0066715与miR-486-5p结合, 解除后者对ETS1的抑制, 推动巨噬细胞向M2型极化, 发挥抗炎作用。Yang等^[24]发现, RA患者外周血单核细胞及CD14⁺单核细胞中circRNA_17725表达降低, 与疾病活动性负相关。circRNA_17725通过抑制miR-4668-5p从而上调序列相似性46家族成员(family with sequence similarity 46 member C, FAM46C), 促进M2型巨噬细胞极化, 进而抑制炎

症介质的释放,缓解CIA小鼠的关节炎症状。其中,FAM46C作为多核苷酸聚合酶,在糖尿病研究中也表现为M1型巨噬细胞极化的抑制因子^[30]。综上,特定circRNA通过抑制miRNA,促使巨噬细胞向M2型分化。而在RA中,这些circRNA往往呈低表达状态,从而参与了M1/M2状态的失衡及疾病进展。

3 表观遗传调控巨噬细胞向破骨细胞分化

3.1 巨噬细胞向破骨细胞分化

在RA患者滑膜腔中,巨噬细胞分泌的TNF- α 、IL-6及IL-1可促进破骨细胞功能^[31]。不仅如此,部分滑膜巨噬细胞亚群还可分化为破骨细胞。Fujikawa等^[10]从RA患者的滑膜和血液中分别提取巨噬细胞和单核细胞,发现二者在1,25(OH)₂D₃和M-CSF存在下与小鼠破骨样细胞共培养后均可分化为成熟破骨细胞。Hasegawa等^[32]证明了滑膜血管翳中的破骨细胞完全源自骨髓来源的单核细胞,而非组织驻留的巨噬细胞。这些细胞经外周循环迁移至滑膜后,分化为一种特殊的巨噬细胞亚群,即关节炎相关的破骨细胞形成性巨噬细胞(arthritis-associated osteoclastogenic macrophages, AtoMs),它们是炎症性滑膜中破骨细胞的前体。在人的滑膜组织中也观察到这类细胞亚群,RANKL及TNF- α 的刺激可介导其向破骨细胞分化。叉头框蛋白M1(forkhead box M1, FoxM1)在AtoMs的破骨细胞分化中发挥关键作用,使用FoxM1抑制剂不仅能阻止AtoMs分化成破骨细胞,还能减轻小鼠模型中的关节侵蚀^[32]。该团队进一步提出利用体内成像技术研究此类细胞的迁移模式的重要性^[33]。因此,AtoMs作为RA中破骨细胞的重要来源,对其分化过程的研究有助于深入理解RA患者的骨破坏机制。

3.2 诱导破骨细胞分化的关键信号通路

骨髓单核-巨噬细胞系向破骨细胞的分化涉及核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)、丝裂原激活蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPK)、c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinases, c-JNK)等多个信号转导通路,其中与NF- κ B相关的RANKL/RANK信号通路对破骨细胞的生成及活化至关重要^[34,35]。目前研究发现的RA滑膜

巨噬细胞向破骨细胞的表观遗传调控机制也主要涉及这一通路,其中活化T细胞核因子c1(nuclear factor of activated T cells, cytoplasmic 1, NFATc1)被认为是破骨细胞生成最关键的调控分子^[34]。成骨细胞及RA患者滑膜细胞分泌的RANKL与破骨细胞前体表面高表达的RANK结合后,在接头分子募集TNF受体相关因子-6(tumor necrosis factor receptor-associated factor-6, TRAF-6)的介导下,通过激活NF- κ B抑制蛋白激酶(inhibitor- κ -binding kinases, I κ K)使NF- κ B入核,引发c-Fos的表达,NF- κ B和c-Fos共同促进NFATc1的表达,NFATc1则作为转录因子促进破骨细胞相关基因的转录^[36]。Park-Min等^[37]研究发现,RANKL的刺激将招募MYC至NFATc1的启动子区域,从而促进NFATc1的转录(图2)。

3.3 诱导巨噬细胞向破骨细胞分化的表观遗传调控

目前,关于RA中破骨细胞生成的研究主要集中在体外诱导单核细胞向破骨细胞的分化,而直接诱导巨噬细胞向破骨细胞分化的研究较少。表观遗传调控,如DNA甲基化、组蛋白修饰、miRNA等,已被发现参与调控这些过程。

Park-Min等^[37]研究发现,RA患者滑膜CD14⁺细胞中NFATc1及转录因子MYC(Myelocytomatosis)表达上调。溴结构域和额外末端结构域(bromo and extra-terminal, BET)蛋白通过其溴结构域与乙酰化的组蛋白结合,招募染色质调节酶,重塑(写入和擦除)组蛋白修饰,影响基因的转录。小分子化合物I-BET151通过抑制BET蛋白从而阻断MYC的表达,导致MYC无法被招募至NFATc1启动子区域,使NFATc1表达受阻,有效抑制破骨细胞形成。Bae等^[38]在人类的破骨细胞中发现了受RANKL调控的破骨细胞特异性的超级增强子(super enhancers, SEs)及由其转录而来的超级增强子相关增强子RNA(super enhancer-associated Enhancer RNA, SE-eRNAs)。其中,200余个被RANKL上调的SEs与RA等疾病中的病理性骨吸收的基因相关。敲除与NFATc1相关的SE-eRNAs可阻止细胞分化为破骨细胞。这些研究提示了SEs及SE-eRNAs在RA中破骨细胞生成中的重要性。这些SEs区域展现出了更高密度的组蛋白H3赖氨酸27乙酰化(histone 3 lysine 27

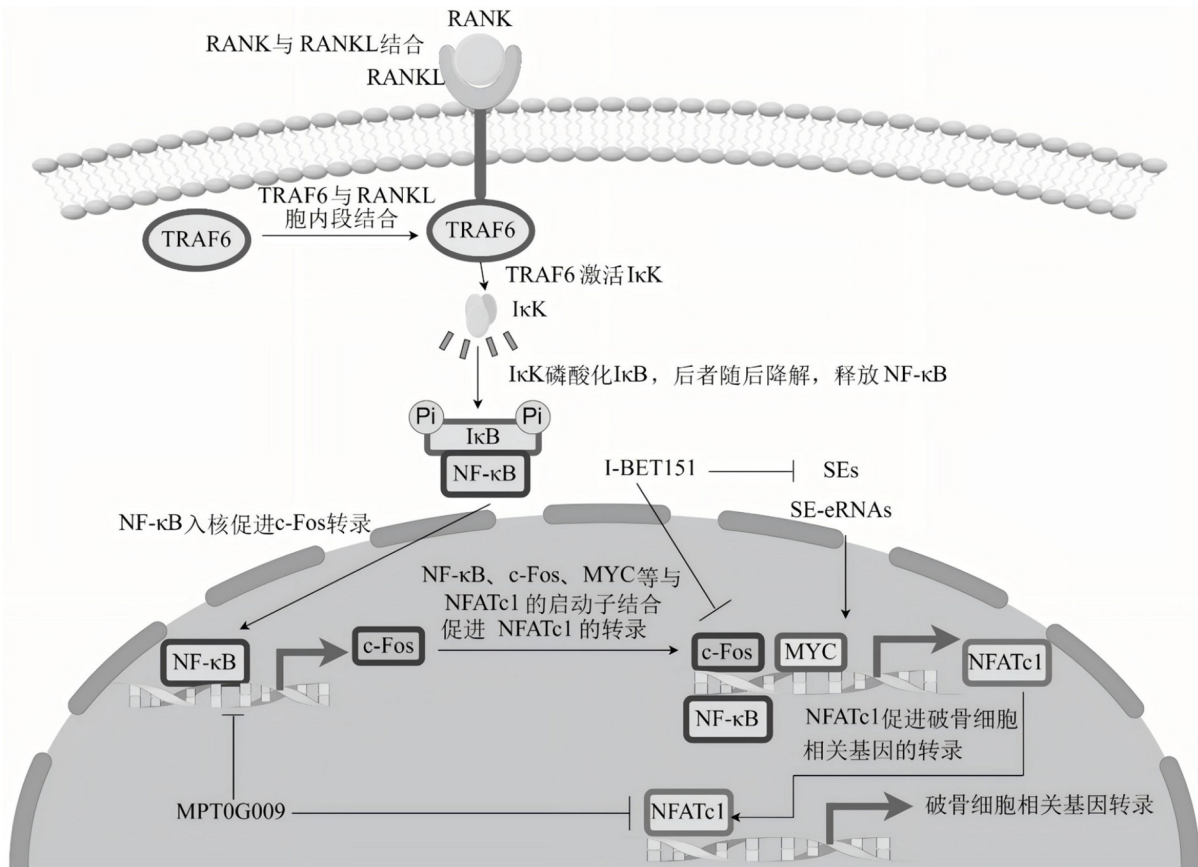


图2 RANKL/RANK信号通路调节破骨细胞分化

acetylation, H3K27ac)修饰, 提示增强子活性状态较高。同时, I-BET151可通过抑制BET蛋白降低这些区域的H3K27ac水平。Hsieh等^[39]发现, MPT0G009作为组蛋白乙酰化酶的抑制剂, 可以通过抑制RANKL诱导的NF-κB及NFATc1的DNA结合活性, 抑制RAW264.7细胞(一种单核巨噬细胞系)分化为破骨细胞(图2)。

类风湿关节炎患者中的转化生长因子-β(transforming growth factor-β, TGF-β)水平及活性显著高于健康人群, 且与破骨细胞活性正相关。Xia等^[40]研究发现, TGF-β预刺激可以降低干扰素刺激基因位点的染色质可及性, 下调了其组蛋白H3第4位赖氨酸的三甲基化(histone 3 Lysine 4 trimethylation, H3K4me3)及H3K27ac修饰, 同时在破骨细胞相关基因位点增加了染色质的开放性、提高了激活性的H3K4me3及H3K27ac标记的水平并消除了抑制性的H3K27me3标记。在此条件下可用TNF诱导巨噬细胞向破骨细胞分化。这一过程独立于上述RANKL的破骨细胞分化途径。这些证据

提示, 在RA患者中TGF-β/TNF途径在RANKL非依赖性破骨细胞分化中具有重要作用。

单核细胞向破骨细胞的分化调控涉及多种miRNA, 包括miR-146a、miR-125a、miR-223、miR-124等^[41]。已有的研究表明, miRNA在巨噬细胞向破骨细胞分化的过程中也发挥着重要作用。Hegewald^[42]研究发现, 关节滑液中, 由滑膜成纤维细胞分泌的携带miR-574-5p的小细胞外囊泡(small extracellular vesicles, sEV)可通过TLR7/8介导巨噬细胞向破骨细胞分化。miR-223是破骨细胞生成的重要调节因子, 沉默miR-223将导致破骨细胞分化所需的M-CSF水平的降低。Chen等^[43]发现, 小鼠骨髓来源的巨噬细胞和CIA小鼠的关节中的miR-223可被IL-23通过STAT4上调。

破骨细胞分化过程中的代谢重编程也与表观遗传改变紧密相关。Nishikawa等^[44]从小鼠骨髓中获得破骨细胞前体细胞的研究发现, RANKL介导的破骨细胞分化过程中发生了代谢重编程, 导致氧化代谢过程的增加, 继而导致甲基供体S-腺苷甲硫

氨酸(S-adenosylmethionine, SAM)生成增多。在DNA甲基转移酶3A(DNA methyltransferase 3A, Dnmt3a)催化下, SAM的增多提高了DNA甲基化水平, 抑制负向调控破骨细胞分化的基因干扰素调节因子8(interferon regulatory factor 8, Irf8)的表达。

值得注意的是, 以上研究涉及多种来源的细胞, 包括RA患者滑膜CD14⁺细胞、人外周血中的单核细胞诱导分化而来的巨噬细胞、鼠源的骨髓原代细胞、鼠源的细胞系RAW264.7等。其中, RA患者滑膜CD14⁺细胞的研究^[37,38]更能代表滑膜巨噬细胞-破骨细胞的分化调控。综上, 组蛋白修饰可通过调节NFATc1的转录及RANKL相关SEs的活性调控破骨细胞生成, 多种miRNA也可影响破骨细胞相关基因的表达。

4 单核-巨噬细胞的训练免疫与表观遗传改变

训练免疫(trained immunity)的提出打破了人们对免疫记忆仅限于适应性免疫细胞的看法。训练免疫, 也称为固有免疫记忆, 是指当固有免疫细胞受到某种刺激后, 发生长期的表观遗传和代谢重编程改变, 这种改变使得固有免疫细胞再次经历相同的刺激时能够表现出更迅速且强烈的免疫应答, 主要表现为细胞因子释放量的显著增加^[45]。训练免疫的建立对于机体抗感染有重要作用, 但在自身免疫性疾病中, 它可能导致炎症的持续和加剧^[41]。这提示训练免疫可能与炎症的慢性发展相关。近年来, 研究逐渐揭示, RA中的内源性物质可刺激巨噬细胞建立训练免疫, 导致巨噬细胞对于抗原刺激的反应更加强烈, 产生更多的细胞因子^[42-45]。

4.1 RA的训练免疫研究进展

目前, RA中训练免疫的研究尚在探索阶段。Divangahi等^[46]提出, 固有免疫细胞的训练免疫可在多个层面发生, 包括中枢层面的造血干细胞与前体细胞, 循环免疫细胞层面, 以及组织特异性水平。不同层面细胞训练免疫的建立可相互影响, 如中枢水平, 骨髓来源的造血干细胞的训练免疫解释了固有免疫细胞如何维持长达数月的免疫记忆^[46]。而在外周水平, 感染或注射疫苗后, 单核细胞的训练免疫的建立将影响单核细胞及其分化而成的巨噬细胞的功能^[47]。然而, RA中训练免疫的研究仍主要局限于体外实验, 即通过直接刺激

诱导单核细胞建立训练免疫, 而组织中巨噬细胞的变化则通过基因表达模式的改变间接推断^[48-50]。未来, 在RA相关的小鼠模型中开展各层次训练免疫的研究, 将有助于进一步阐明训练免疫在RA发展中的作用。

与训练免疫相对的免疫状态被称为固有免疫耐受, 它表现为细胞在初次刺激后, 对二次刺激产生较少的细胞因子, 其中脂多糖是经典的免疫耐受诱导剂^[45,51]。固有免疫耐受状态可被训练免疫逆转^[45,52]。Fuentelsaz-Romero等^[53]研究表明, 一碳代谢阻滞剂培美曲塞能通过降低巨噬细胞表面膜结合及可溶性CD14的表达, 促使巨噬细胞进入脂多糖耐受状态, 避免过度的炎症反应^[53]。近年来, 重建免疫耐受是一类治疗RA的新策略, 包括间充质干细胞治疗, 促进耐受性树突状细胞的产生等^[54]。而诱导巨噬细胞的免疫耐受的对于RA的治疗作用有待深入研究。

4.2 RA中训练免疫的刺激物及表观遗传改变

不同于适应性免疫细胞的基因重排, 表观遗传改变被认为是固有免疫细胞发生训练免疫的基础。其中, 组蛋白甲基化是建立训练免疫的关键因素之一。不同位点的甲基化对于基因转录的影响可能不同^[20], 而训练免疫中常见的改变如H3K4me1和H3K4me3均提高了修饰位点相关基因的转录活性^[55]。有研究表明, 在RA中单核细胞的H3K4甲基化是其训练免疫建立中最为关键的表观遗传改变^[48-50]。

在RA的进展中, 自身抗体及自身抗原可能作为训练免疫的刺激物。RA患者的受累关节中免疫球蛋白G免疫复合物(IgG immune complexes, IgG-ICs)沉积丰富, Zhong等^[48]研究揭示了这些IgG-ICs可能通过组蛋白甲基化修饰引发单核细胞和巨噬细胞的功能重编程, 从而促进训练免疫的形成。作者通过在培养板上涂覆人类IgG[板结合型IgG (plate-bound IgG, c-IgG)]模拟沉积的IgG-ICs, 发现预先在这种板上培养的单核细胞, 其炎症因子基因(如*TNF- α* 、*IL-6*、*IL-8*)启动子区域的H3K4me3修饰显著提升, 从而增强了单核细胞对脂多糖刺激的应答。相比之下, 未经cIgG预刺激的单核细胞产生的TNF- α 水平相对较低。这说明, 免疫复合物可刺激RA中的单核细胞产生训练免疫。

尤为重要, RA患者关节滑膜内的巨噬细胞表现出与c-IgG预处理单核细胞相似的基因表达特征, 这提示了RA中巨噬细胞训练免疫的建立。进一步研究表明, RA特异性自身抗体, 特别是抗ACPA抗体, 能够在体外模型中训练人源单核细胞, 使其在后续的炎症刺激下产生过度的炎症反应, 尤其是增强TNF- α 的释放^[49]。此外, 与健康者的滑膜组织相比, 临床前阶段及早期RA患者的滑膜组织中cIgG训练免疫的相关基因的表达已较显著, 表明训练免疫特征在RA早期阶段就已经出现, 这提示在RA的早期诊断和治疗中已需要考虑训练免疫的影响^[49]。Laskari等^[50]的研究揭示了环瓜氨酸化肌动蛋白(c-vimentin)通过介导IL-6基因启动子的H3K4甲基化建立单核细胞训练免疫的过程。环瓜氨酸化肌动蛋白刺激显著增加了单核细胞在后续脂多糖刺激下的IL-6分泌, 同时CXCL1和CCL20的释放也显著增加。综上, 巨噬细胞训练免疫的建立是自身抗原-抗体复合物促进RA进展的又一机制, 并可能在疾病早期阶段对RA的进一步发展中发挥作用。Rahmani等^[56]的研究还表明, 建立训练免疫并不会影响巨噬细胞向破骨细胞分化。

5 小结与展望

目前, 对RA中巨噬细胞的研究主要依赖于对RA患者外周血中提取的单核细胞进行体外诱导分化, 或使用鼠源细胞系。然而, 由于滑膜微环境对巨噬细胞的功能及表型具有重要影响, RA患者滑膜活检样本对于滑膜巨噬细胞的研究十分必要。一项纳入90名早期RA患者的研究发现, 滑膜中巨噬细胞的浸润是B细胞活化和浆细胞发育的先决条件, 并揭示了滑膜中浆细胞的基因表达与ACPA阳性、X线关节侵蚀的相关性^[57]。在未来, 可通过建立RA患者队列, 通过滑膜活检样本结合患者的外周血、滑膜液样本, 分析滑膜巨噬细胞表型与其他免疫细胞的关联, 以及滑膜巨噬细胞的基因表达和表观遗传调控改变与患者病情进展、药物应答率的关系, 将进一步推动RA的个体化治疗。此外, 滑膜微环境中成纤维细胞与巨噬细胞的关系紧密, RA中调控巨噬细胞表观遗传的刺激物可以来源于滑膜中的成纤维细胞产生的外泌体^[42]和代谢产物^[58]。因此, 基于滑膜微环境的整体性观点,

进一步分析滑膜中其他细胞及其产物与巨噬细胞交互作用将有助于深入理解RA中巨噬细胞的可塑性调控机制。

对于表观遗传调控机制, 已有研究揭示了多种组蛋白修饰及miRNA在巨噬细胞可塑性调控中的作用。对于DNA甲基化、组蛋白变体等其他表观调控机制, 虽然已在单核细胞中观察到其与疾病活动性的相关性^[59,60], 但其对滑膜巨噬细胞的影响仍待研究。同时, 不同表观调控分子之间的相互作用也亟待挖掘。

在应用方面, 目前, 表观遗传调控药物在治疗RA等自身免疫性疾病尚处于初步探索阶段, 仍具有较大潜在研究空间。鉴于嵌合抗原受体T细胞免疫疗法和程序性死亡受体-1(programmed death-1, PD-1)激动剂在治疗RA中表现出的潜力^[61,62], 进一步将免疫疗法与表观遗传调控药物相结合, 有望优化治疗效果。此外, 针对组蛋白修饰的靶向治疗, 已有多个BET抑制剂在肿瘤治疗中进入临床试验阶段^[63]。基于I-BET151作为BET抑制剂, 在动物实验中显示出对RA的治疗潜力, 进一步探索BET抑制剂对于RA的治疗作用具有重要意义。此外, 纳米药物载体发展迅速, 这为靶向巨噬细胞可塑性的精准治疗提供了新思路^[19]。通过分析不同亚群巨噬细胞表面特征性受体, 选择靶点进行纳米载体的改造, 将有助于实现表观调控药物在体内的特异性靶向作用。

巨噬细胞的可塑性使其在RA的发生发展中可扮演多种关键角色。巨噬细胞的M1/M2极化比例与滑膜炎的发展与缓解紧密关联。分化为破骨细胞是促进关节侵蚀的重要途径, 而训练免疫的建立可能促进炎症反应。表观遗传调控作为调节巨噬细胞可塑性的重要机制, 对巨噬细胞的分化方向具有决定性作用。表观遗传调控靶向巨噬细胞可塑性的改变对于治疗RA具有重大的临床价值。在未来, 进一步探究滑膜微环境对于巨噬细胞可塑性的影响及其中的表观遗传调控机制将有助于深入理解巨噬细胞在RA中的角色, 并推动个体化治疗的发展。

参考文献

- [1] Gravallese EM, Firestein GS. Rheumatoid arthritis-

- common origins, divergent mechanisms. *N Engl J Med*, 2023, 388(6): 529-542
- [2] Kurowska-Stolarska M, Alivernini S. Synovial tissue macrophages in joint homeostasis, rheumatoid arthritis and disease remission. *Nat Rev Rheumatol*, 2022, 18(7): 384-397
- [3] Locati M, Curtale G, Mantovani A. Diversity, mechanisms, and significance of macrophage plasticity. *Annu Rev Pathol Mech Dis*, 2020, 15(1): 123-147
- [4] Bian Z, Gong Y, Huang T, et al. Deciphering human macrophage development at single-cell resolution. *Nature*, 2020, 582(7813): 571-576
- [5] Sieweke MH, Allen JE. Beyond stem cells: self-renewal of differentiated macrophages. *Science*, 2013, 342(6161): 1242-974
- [6] Udalova IA, Mantovani A, Feldmann M. Macrophage heterogeneity in the context of rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol*, 2016, 12(8): 472-485
- [7] Huang QQ, Doyle R, Chen SY, et al. Critical role of synovial tissue-resident macrophage niche in joint homeostasis and suppression of chronic inflammation. *Sci Adv*, 2021, 7(2): eabd0515
- [8] Janossy G, Duke O, Poulter LW, et al. Rheumatoid arthritis: a disease of T-lymphocyte/macrophage immunoregulation. *Lancet*, 1981, 318(8251): 839-842
- [9] Feldmann M, Maini RN. TNF defined as a therapeutic target for rheumatoid arthritis and other autoimmune diseases. *Nat Med*, 2003, 9(10): 1245-1250
- [10] Fujikawa Y, Sabokbar A, Neale S, et al. Human osteoclast formation and bone resorption by monocytes and synovial macrophages in rheumatoid arthritis. *Ann Rheumatic Dis*, 1996, 55(11): 816-822
- [11] Li K, Wang M, Zhao L, et al. ACPA-negative rheumatoid arthritis: From immune mechanisms to clinical translation. *EBioMedicine*, 2022, 83: 104233
- [12] Ginhoux F, Schultze JL, Murray PJ, et al. New insights into the multidimensional concept of macrophage ontogeny, activation and function. *Nat Immunol*, 2016, 17(1): 34-40
- [13] Cutolo M, Campitiello R, Gotelli E, et al. The role of M1/M2 macrophage polarization in rheumatoid arthritis synovitis. *Front Immunol*, 2022, 13: 867260
- [14] Alivernini S, MacDonald L, Elmesmari A, et al. Distinct synovial tissue macrophage subsets regulate inflammation and remission in rheumatoid arthritis. *Nat Med*, 2020, 26(8): 1295-1306
- [15] Zhu W, Li X, Fang S, et al. Anti-citrullinated protein antibodies induce macrophage subset disequilibrium in RA patients. *Inflammation*, 2015, 38(6): 2067-2075
- [16] Feng Z, Meng F, Huo F, et al. Inhibition of ferroptosis rescues M2 macrophages and alleviates arthritis by suppressing the HMGB1/TLR4/STAT3 axis in M1 macrophages. *Redox Biol*, 2024, 75: 103255
- [17] Li H, Feng Y, Zheng X, et al. M2-type exosomes nanoparticles for rheumatoid arthritis therapy via macrophage re-polarization. *J Control Release*, 2022, 341: 16-30
- [18] Jia N, Gao Y, Li M, et al. Metabolic reprogramming of proinflammatory macrophages by target delivered roburic acid effectively ameliorates rheumatoid arthritis symptoms. *Sig Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 280
- [19] You DG, Lim GT, Kwon S, et al. Metabolically engineered stem cell-derived exosomes to regulate macrophage heterogeneity in rheumatoid arthritis. *Sci Adv*, 2021, 7(23): eabe0083
- [20] Zhang Y, Sun Z, Jia J, et al. Overview of histone modification. *Adv Exp Med Biol*, 2021, 1283: 1-16
- [21] Paoletti A, Rohmer J, Ly B, et al. Monocyte/macrophage abnormalities specific to rheumatoid arthritis are linked to mir-155 and are differentially modulated by different TNF inhibitors. *J Immunol*, 2019, 203(7): 1766-1775
- [22] Quero L, Tiaden AN, Hanser E, et al. miR-221-3p drives the shift of M2-macrophages to a pro-inflammatory function by suppressing JAK3/STAT3 activation. *Front Immunol*, 2019, 10: 3087
- [23] Wan L, Liu J, Huang C, et al. Role of m6A modification and novel circ_0066715/miR-486-5p/ETS1 axis in rheumatoid arthritis macrophage polarization progression. *Aging*, 2022, 14(24): 10009-10026
- [24] Yang C, Ni B, Li C, et al. circRNA_17725 promotes macrophage polarization towards m2 by targeting FAM46C to alleviate arthritis. *Mediators Inflamm*, 2023, 2023: 1-15
- [25] Li Y, Gu C, Liu G, et al. Polarization of rheumatoid macrophages is regulated by the CDKN2B-AS1/ MIR497/ TXNIP axis. *Immunol Lett*, 2021, 239: 23-31
- [26] Bashir S, Sharma Y, Elahi A, et al. Macrophage polarization: The link between inflammation and related diseases. *Inflamm Res*, 2016, 65(1): 1-11
- [27] Zhang Y, Gao Y, Ding Y, et al. Targeting KAT2A inhibits inflammatory macrophage activation and rheumatoid arthritis through epigenetic and metabolic reprogramming. *MedComm*, 2023, 4(3): e306
- [28] Dawson O, Piccinini AM. miR-155-3p: Processing by-product or rising star in immunity and cancer? *Open Biol*, 2022, 12(5): 220070
- [29] Paoletti A, Ly B, Cailleau C, et al. Liposomal AntagomiR-155-5p restores anti-inflammatory macrophages and improves arthritis in preclinical models of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatol*, 2024, 76(1): 18-31
- [30] Wang P, Wang Z, Liu G, et al. miR-657 promotes

- macrophage polarization toward m1 by targeting FAM46C in gestational diabetes mellitus. *Mediators Inflamm*, 2019, 2019: 1-9
- [31] Yao Y, Cai X, Ren F, et al. The macrophage-osteoclast axis in osteoimmunity and osteo-related diseases. *Front Immunol*, 2021, 12: 664871
- [32] Hasegawa T, Kikuta J, Sudo T, et al. Identification of a novel arthritis-associated osteoclast precursor macrophage regulated by FoxM1. *Nat Immunol*, 2019, 20(12): 1631-1643
- [33] Agemura T, Hasegawa T, Yari S, et al. Arthritis-associated osteoclastogenic macrophage, AtoM, as a key player in pathological bone erosion. *Inflamm Regen*, 2022, 42(1): 17
- [34] 孟庆阳, 郑嵘, 朱阳, 等. 破骨细胞分化因子及其信号转导通路. *国际口腔医学杂志*, 2015, 42(2): 189-193
- [35] 吴玉寒, 潘迎紫, 褚赞波, 等. 类风湿关节炎破骨细胞的活化机制及其预测指标. *生命的化学*, 2020, 40(3): 378-383
- [36] Boyce BF, Xing L. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. *Arch Biochem Biophys*, 2008, 473(2): 139-146
- [37] Park-Min KH, Lim E, Lee MJ, et al. Inhibition of osteoclastogenesis and inflammatory bone resorption by targeting BET proteins and epigenetic regulation. *Nat Commun*, 2014, 5(1): 5418
- [38] Bae S, Kim K, Kang K, et al. RANKL-responsive epigenetic mechanism reprograms macrophages into bone-resorbing osteoclasts. *Cell Mol Immunol*, 2023, 20(1): 94-109
- [39] Hsieh IN, Liou JP, Lee HY, et al. Preclinical anti-arthritic study and pharmacokinetic properties of a potent histone deacetylase inhibitor MPT0G009. *Cell Death Dis*, 2014, 5(4): e1166
- [40] Xia Y, Inoue K, Du Y, et al. TGF β reprograms TNF stimulation of macrophages towards a non-canonical pathway driving inflammatory osteoclastogenesis. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 3920
- [41] Iwamoto N, Kawakami A. The monocyte-to-osteoclast transition in rheumatoid arthritis: recent findings. *Front Immunol*, 2022, 13: 998554
- [42] Hegewald AB, Breitwieser K, Ottinger SM, et al. Extracellular miR-574-5p induces osteoclast differentiation via TLR 7/8 in rheumatoid arthritis. *Front Immunol*, 2020, 11: 585282
- [43] Chen SY, Tsai TC, Li YT, et al. Interleukin-23 mediates osteoclastogenesis in collagen-induced arthritis by modulating MicroRNA-223. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(17): 9718
- [44] Nishikawa K, Iwamoto Y, Kobayashi Y, et al. DNA methyltransferase 3a regulates osteoclast differentiation by coupling to an S-adenosylmethionine-producing metabolic pathway. *Nat Med*, 2015, 21(3): 281-287
- [45] Ochando J, Mulder WJM, Madsen JC, et al. Trained immunity—basic concepts and contributions to immunopathology. *Nat Rev Nephrol*, 2023, 19(1): 23-37
- [46] Divangahi M, Aaby P, Khader SA, et al. Trained immunity, tolerance, priming and differentiation: distinct immunological processes. *Nat Immunol*, 2021, 22(1): 2-6
- [47] Cirovic B, de Bree LCJ, Groh L, et al. BCG vaccination in humans elicits trained immunity via the hematopoietic progenitor compartment. *Cell Host Microbe*, 2020, 28(2): 322-334.e5
- [48] Zhong Q, Gong FY, Gong Z, et al. IgG immunocomplexes sensitize human monocytes for inflammatory hyperactivity via transcriptomic and epigenetic reprogramming in rheumatoid arthritis. *J Immunol*, 2018, 200(12): 3913-3925
- [49] Dai X, Dai X, Gong Z, et al. Disease-specific auto-antibodies induce trained immunity in RA synovial tissues and its gene signature correlates with the response to clinical therapy. *Mediators Inflamm*, 2020, 2020: 2019325
- [50] Laskari K, Sabu S, Distler O, et al. POS0368 citrullination induces epigenetic memory of the innate immune system. *Ann Rheumat Dis*, 2021, 80(Suppl 1): 414
- [51] López-Collazo E, del Fresno C. Endotoxin tolerance and trained immunity: breaking down immunological memory barriers. *Front Immunol*, 2024, 15: 1393283
- [52] Novakovic B, Habibi E, Wang SY, et al. β -Glucan reverses the epigenetic state of LPS-Induced immunological tolerance. *Cell*, 2016, 167(5): 1354-1368.e14
- [53] Fuentelsaz-Romero S, Barrio-Alonso C, García Campos R, et al. The macrophage reprogramming ability of antifolates reveals soluble CD14 as a potential biomarker for methotrexate response in rheumatoid arthritis. *Front Immunol*, 2021, 12: 776879
- [54] Shuai Z, Zheng S, Wang K, et al. Reestablish immune tolerance in rheumatoid arthritis. *Front Immunol*, 2022, 13: 1012868
- [55] Badii M, Gaal O, Popp RA, et al. Trained immunity and inflammation in rheumatic diseases. *Joint Bone Spine*, 2022, 89(4): 105364
- [56] Rahmani NR, Belluomo R, Krøyt MC, et al. Trained innate immunity modulates osteoblast and osteoclast differentiation. *Stem Cell Rev Rep*, 2024, 20(4): 1121-1134
- [57] Lewis MJ, Barnes MR, Blighe K, et al. Molecular portraits of early rheumatoid arthritis identify clinical and treatment response phenotypes. *Cell Rep*, 2019, 28(9): 2455-2470.
- [58] Neidhart M, Pajak A, Laskari K, et al. Oligomeric S100A4 is associated with monocyte innate immune memory and bypass of tolerance to subsequent stimulation with

- lipopolysaccharides. [Front Immunol](#), 2019, 10: 791
- [59] Rodríguez-Ubreva J, de la Calle-Fabregat C, Li T, et al. Inflammatory cytokines shape a changing DNA methylation in monocytes mirroring disease activity in rheumatoid arthritis. [Ann Rheum Dis](#), 2019, 78(11): 1505-1516
- [60] Asadipour M, Hassan-Zadeh V, Aryaeian N, et al. Histone variants expression in peripheral blood mononuclear cells of patients with rheumatoid arthritis. [Int J Rheum Dis](#), 2018, 21(10): 1831-1837
- [61] Tuttle J, Drescher E, Simón-Campos JA, et al. A Phase 2 trial of peresolimab for adults with rheumatoid arthritis. [N Engl J Med](#), 2023, 388(20): 1853-1862
- [62] Arnold C. Autoimmune disease is the next frontier for CAR T cell therapy. [Nat Med](#), 2024, 30(1): 6-9
- [63] 邓玥, 黄洵. 表观遗传抗肿瘤药物的研发进展. [中国肿瘤临床](#), 2023, 50(6): 278-285