DOI:10.16016/j.2097-0927.202406034

# 类风湿性关节炎成纤维样滑膜细胞特征基因TNFAIP6的鉴定及验证

雷 蕾[1],吕玉欣[2],张 晶[1],陈 陵[3,4] [1]陆军特色医学中心(第三军医大学大坪医院)血液内科,重庆;[2]中国中医科学院眼科医院糖尿病眼病科,北京;[3]陆军第958医院消化内科,重庆;[4]重庆西计医院消化内科,重庆

[摘要] **目的** 鉴定类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis,RA)成纤维样滑膜细胞的特征基因,并验证其对增殖、迁移、侵袭能力的影响。**方法** 从基因表达综合(Gene Expression Omnibus,GEO)数据库下载4个独立的滑膜组织微阵列转录组测序数据集(GSE1919、GSE55235、GSE55457、GSE77298)和1个滑膜细胞单细胞测序数据集(GSE192504),利用差异基因分析、加权基因共表达网络分析(weighted gene co-expression network analysis,WGCNA)、单细胞测序数据分析等多种生物信息学分析方法鉴定RA成纤维样滑膜细胞的特征基因。利用RT-qPCR和Western blot检测肿瘤坏死因子α诱导蛋白6(TNF alpha induced protein 6,TNFAIP6)在人RA成纤维样滑膜细胞系MH7A体外模拟炎症环境下的表达水平。MH7A转染si-TNFAIP6进行基因沉默,采用CCK-8和Transwell实验检测沉默TNFAIP6对MH7A细胞增殖、迁移、侵袭能力的影响。**结果** 联合差异基因分析、WGCNA和单细胞测序数据分析,确定了1个RA成纤维样滑膜细胞特征基因(TNFAIP6)。RT-qPCR和Western blot显示,与无菌磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline,PBS)处理比较,10 ng/mL浓度的肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α,TNF-α)显著上调MH7A细胞TNFAIP6的mRNA和蛋白表达($P<0.05$)。CCK-8和Transwell实验显示,在MH7A细胞敲低TNFAIP6的表达后,敲低组(si-TNFAIP6)的细胞增殖、迁移和侵袭能力相较于对照组(FAM-si-NC)有显著的降低($P<0.05$)。**结论** TNFAIP6在RA成纤维样滑膜细胞中特异性高表达,促进其增殖、迁移、侵袭能力,可能是RA成纤维样滑膜细胞异常活化的主要贡献者。

[关键词] 类风湿性关节炎;成纤维样滑膜细胞;肿瘤坏死因子α诱导蛋白6

[中图法分类号] R329.28;R394.3;R593.22 [文献标志码] A

# Identification and validation of hub gene TNFAIP6 of fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis

LEI Lei[1], LYU Yuxin[2], ZHANG Jing[1], CHEN Ling[3,4] [1]Department of Hematology, Army Medical Center of PLA/Daping Hospital of Third Military Medical University, Chongqing; [2]Department of Diabetic Ophthalmology, Eye Hospital of China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing; [3]Department of Gastroenterology, No. 958 Hospital of PLA Army, Chongqing; [4]Department of Gastroenterology, Xiji Hospital, Chongqing, China

[**Abstract**] Objective To identify the hub gene of fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis (RA) and verify its impact on proliferation, migration and invasion of the cells. Methods Four independent synovial tissue microarray transcriptome sequencing datasets and one single cell sequencing dataset were downloaded from the Gene Expression Omnibus (GEO) database, and the hub gene of RA fibroblast-like synovial cells was identified by differential gene analysis, weighted gene co-expression network analysis

[基金项目] 重庆市自然科学基金面上项目(cstc2020jcyj-msxmX1055)

[通信作者] 陈 陵,E-mail:2684643323@qq.com

2097-0927/Copyright © 2025, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循CC BY许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

**引用格式**:雷蕾,吕玉欣,张晶,等.类风湿性关节炎成纤维样滑膜细胞特征基因TNFAIP6的鉴定及验证[J].陆军军医大学学报,2025,47(03):234-242.DOI:10.16016/j.2097-0927.202406034.

**Citation**:LEI L,LYU Y X,ZHANG J,*et al*. Identification and validation of hub gene TNFAIP6 of fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis[J]. J Army Med Univ,2025,47(03):234-242.DOI:10.16016/j.2097-0927.202406034.

(WGCNA) and single-cell sequencing data analysis. The expression of TNFAIP6 in human RA fibroblast-like synovial cell line MH7A was detected by RT-qPCR and Western blotting under simulated inflammatory environment. After MH7A cells were transfected with si-TNFAIP6, CCK-8 and Transwell assays were applied to detect the effects of silencing TNFAIP6 on the proliferation, migration and invasion abilities of MH7A cells. **Results** With the aid of differential gene expression analysis, WGCNA, and single-cell sequencing data, we identified TNFAIP6 as the characteristic gene of RA fibroblast-like synoviocytes. RT-qPCR and Western blot assay demonstrated that TNFAIP6 was significantly highly expressed at mRNA and protein levels in MH7A cells stimulated with 10 ng/mL TNF-α when compared to the cells treated with PBS ($P$<0.05). CCK-8 and Transwell assays indicated that the silencing of TNFAIP6 markedly inhibited the proliferation, migration and invasion abilities of MH7A cells when compared with the control cells (FAM-si-NC, $P$<0.05). **Conclusion** TNFAIP6 is highly expressed specifically in RA fibroblast synoviocytes, which promotes the proliferation, migration and invasion, and may be the main contributor to the abnormal activation of RA fibroblast synoviocytes.

[**Key words**] rheumatoid arthritis; fibroblast-like synovial cells; TNF alpha induced protein 6

Supported by the General Project of Natural Science Foundation of Chongqing (cstc2020jcy-jmsxmX1055). Corresponding author: CHEN Ling, E-mail: 2684643323@qq.com

类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis,RA)是一种以慢性、进行性关节炎为主要临床表现的自身免疫疾病,其特征是滑膜炎症和关节损伤,常伴有关节外器官受累[1]。流行病学调查结果显示,我国RA的发病率为0.42%[2],是主要的致残性疾病之一。成纤维样滑膜细胞(fibroblast-like synoviocytes,FLS)是滑膜的重要组成部分,通过向关节腔分泌细胞外基质和滑液来维持关节的正常功能[3],靶向抑制FLS可有效阻止RA的发生发展[4]。在RA环境下,FLS被滑膜环境中的炎症因子异常激活[5-6],如肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α,TNF-α)、γ-干扰素(interferon-γ,IFN-γ)、白细胞介素-1β(interleukin-1β,IL-1β),表现出高增殖、高侵袭性的病理表型。同时,活化的FLS会进一步产生趋化因子和炎症因子,以正反馈的方式促进FLS的活化和导致软骨组织的损伤[7]。然而,介导炎症因子驱动FLS活化的关键分子机制仍有待进一步揭示。同时,在缺乏明显的自身免疫特点的退行性疾病骨关节炎(osteoarthritis,OA)中,FLS同样发挥促进疾病进展的作用[8-9],在病理表型上却表现出差异[10]。因此,解析RA成纤维样滑膜细胞病理表型驱动的机制对于靶向FLS缓解和治疗RA具有十分重要的意义。

微阵列芯片技术具有成本低、定量精准、快速灵敏等特点,能快速分析各种疾病组织类型的转录组信息[11]。本研究从基因表达综合(Gene Expression Omnibus,GEO)数据库下载RA和OA滑膜组织的微阵列转录组数据和RA单细胞测序数据,综合应用多种生物信息学分析方法鉴定RA成纤维样滑膜细胞的特征基因肿瘤坏死因子α诱导蛋白6(TNF alpha induced protein 6,TNFAIP6),并在人RA成纤维样滑膜细胞系MH7A上验证敲低TNFAIP6对增殖、迁移、侵袭等细胞表型的影响,旨在更好的阐明RA成纤维样滑膜细胞异常活化的分子机制,为诊断和治疗RA提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂

Lipofectamine™ 2000转染试剂、DMEM高糖培养基购自美国赛默飞世尔科技公司;TNF-α重组蛋白、Ceturegel® Matrix LDEV-Free基质胶、逆转录试剂盒、SYBR Green荧光染料、TBST缓冲液购自中国翌圣生物科技股份有限公司;TRIzol试剂购自日本TaKaRa公司;RIPA裂解缓冲液、聚偏二氟乙烯膜(polyvinylidene fluoride,PVDF)、4%多聚甲醛、无菌磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline,PBS)购自中国碧云天生物技术有限公司;鼠源GAPDH抗体、兔源TNFAIP6抗体购自中国三鹰生物技术有限公司;CCK-8试剂购自中国葆光生物科技有限公司。

### 1.2 数据来源

使用R软件(4.3.2版)从GEO数据库下载关节炎患者和健康对照组(health control,HC)的滑膜组织微阵列转录组数据(GSE1919、GSE55235、GSE55457、GSE77298)和胶原诱导的关节炎(collagen-induced arthritis,CIA)小鼠滑膜细胞的单细胞测序数据(GSE192504)。将4个队列的转录组数据整合为一个数据集,使用“limma”数据包(3.58.1版)的removeBatchEffect函数去除批次效应,最终得到44例RA患者、25例OA患者和32例HC患者的共8 990个

基因的表达谱。单细胞测序数据使用“Seurat”数据包(5.1.0版)进行单细胞测序数据质量控制，排除线粒体基因占比>5%和检测到的基因数量>200且<7 500的细胞，同时排除在少于3个细胞中表达的基因，最终得到2 037个滑膜细胞。

### 1.3 差异基因分析

整合的基因表达谱采用$Log_2$(TPM+1)进行标准化处理，随后使用“limma”数据包进行差异基因分析，鉴定RA、OA和HC组两两之间的差异基因(differentially expressed genes，DEGs)，同时满足校正后$P$<0.05和表达差异倍数(fold change，FC)>1.5视为该基因的差异具有统计学意义。使用“clusterProfiler”数据包(4.10.1版)进行DEGs的京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes，KEGG)通路分析，使用“ggplot2”数据包(3.5.1版)绘制DEGs的火山图和KEGG气泡图。

### 1.4 加权基因共表达网络分析(weighted gene co-expression network analysis，WGCNA)

在R软件中使用“WGCNA”数据包(1.72-5版)对整合的基因表达谱进行加权基因共表达网络分析，采用Pearson相关性分析计算基因模块与疾病表型(RA、OA、HC)的相关性，选择与RA显著相关($r$>0.5，$P$<0.05)而与OA不相关($P$<0.05)的模块作为候选模块。

### 1.5 单细胞测序数据分析

单细胞测序数据的分析步骤如参考文献[12]所述，使用FindMarkers函数鉴定成纤维细胞标记基因，设置FC阈值为1.5，且该基因至少在90%的成纤维细胞中检测到，同时在其他细胞亚群中表达不超过25%，校正后$P$<0.05为差异具有统计学意义。

### 1.6 MH7A细胞培养与转染

人RA成纤维细胞系MH7A购自中国北纳生物科技有限公司，于37 ℃、5%$CO_2$孵育箱中培养，选取第3代的细胞进行转染实验。按照Lipofectamine™ 2000转染试剂说明书，采用不同浓度梯度(10、50、100 nmol/L)的FAM-si-NC进行转染，6 h后更换新鲜培养基，于倒置显微镜下观察荧光强度，以确定该细胞系最适转染浓度。使用最适转染浓度(100 nmol/L)进行后续转染实验，24 h后通过RT-qPCR和Western blot检测TNFAIP6沉默效率。干扰序列如下si-TNFAIP6-1:5′-GGCUGUUACUUCACUACAACU-3′;si-TNFAIP6-2:5′-GGCUGAUUAUGUUGAAAUAUA-3′;si-TNFAIP6-3:5′-GGCACAUUAGACUCAAGUAUG-3′;FAM-si-NC:5′-UUCUCCGAACGUGUCACGUTT-3′。

### 1.7 RT-qPCR检测

MH7A细胞传代后分为对照组和TNF-α组，TNF-α组使用10 ng/mL TNF-α处理24 h，对照组使用无菌PBS处理相同时间。采用TRIzol法提取总RNA。使用反转录试剂盒将提取的总RNA反转录成cDNA。使用SYBR Green荧光染料法进行RT-qPCR，检测炎性环境下MH7A细胞中TNFAIP6 mRNA的相对表达量。使用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算基因的相对表达量，检测所使用的引物信息如下：TNFAIP6，正向引物5′-TGGCTTTGTGGGAAGATACTGT-3′，反向引物5′-TGGAAACCTCCAGCTGTCAC-3′；GAPDH，正向引物5′-GAAAGCCTGCCGGTGACTAA-3′，反向引物5′-GCCCAATACGACCAAATCAGAG-3′。

### 1.8 Western blot方法

使用10 ng/mL浓度的TNF-α处理MH7A细胞24 h，PBS洗涤2~3次，使用RIPA裂解缓冲液提取细胞总蛋白。取20 μg总蛋白进行SDS-PAGE凝胶电泳。随后使用半干转法将电泳后的蛋白样本转印到PVDF膜，室温封闭10 min。加入GAPDH(1∶5 000)、TNFAIP6(1∶1 000)一抗稀释，4 ℃孵育过夜。TBST缓冲液洗涤15 min，重复3次，加入辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase，HRP)标记的二抗室温孵育1 h，TBST缓冲液洗涤15 min，重复洗涤3次，使用Bio-Rad凝胶曝光成像系统进行显影，使用Image J软件进行条带灰度值定量分析。

### 1.9 细胞迁移、侵袭实验

侵袭实验使用DMEM高糖培养基将Ceturegel® Matrix LDEV-Free基质胶稀释至1 mg/mL，混匀后取60 μL混合液垂直加入Transwell小室上层，置于37 ℃孵育3 h。待基质胶凝固后，上室加入无血清培养基重悬的MH7A细胞5×$10^3$个，吹打混匀，24孔板下室加入600 μL含20%胎牛血清的DMEM高糖培养基，于37 ℃、5%$CO_2$孵育箱中培养24 h，取出Transwell小室，去除小室内基质胶和细胞，使用4%多聚甲醛固定30 min，结晶紫染色10 min，晾干后倒置显微镜下观察细胞并拍照计数。迁移实验上室无需铺基质胶，其余操作步骤与侵袭实验相同。

### 1.10 CCK-8实验

取对数生长期的细胞，将转染si-TNFAIP6 24 h后的细胞消化重悬后接种100 μL细胞悬液(约5×$10^3$个细胞)于96孔板，每组设置3个复孔。分别在接种细胞后0、12、24 h检测细胞增殖情况，检测时每孔加入10 μL CCK-8试剂，37 ℃孵育30 min，使用酶标仪检测

波长450 nm处的光密度值[*OD*(450)]。

### 1.11 统计学分析

采用GraphPad Prism 8.0软件进行统计学分析,经过量化的实验都至少重复3次,满足正态分布的计量资料用$\bar{x}\pm s$表示,组间比较使用独立样本$t$检验,$P<0.05$表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 批次效应去除

箱线图可视化和主成分分析(principal components analysis,PCA)结果显示,各个数据集间原始基因表达量和样本聚类存在明显的偏倚,即各数据集间存在批次效应(图1)。使用"limma"数据包去除批次效应后偏倚被移除,表明各数据集之间的批次效应被成功的消除,该整合的数据集可用于进一步分析。

### 2.2 RA差异基因的鉴定

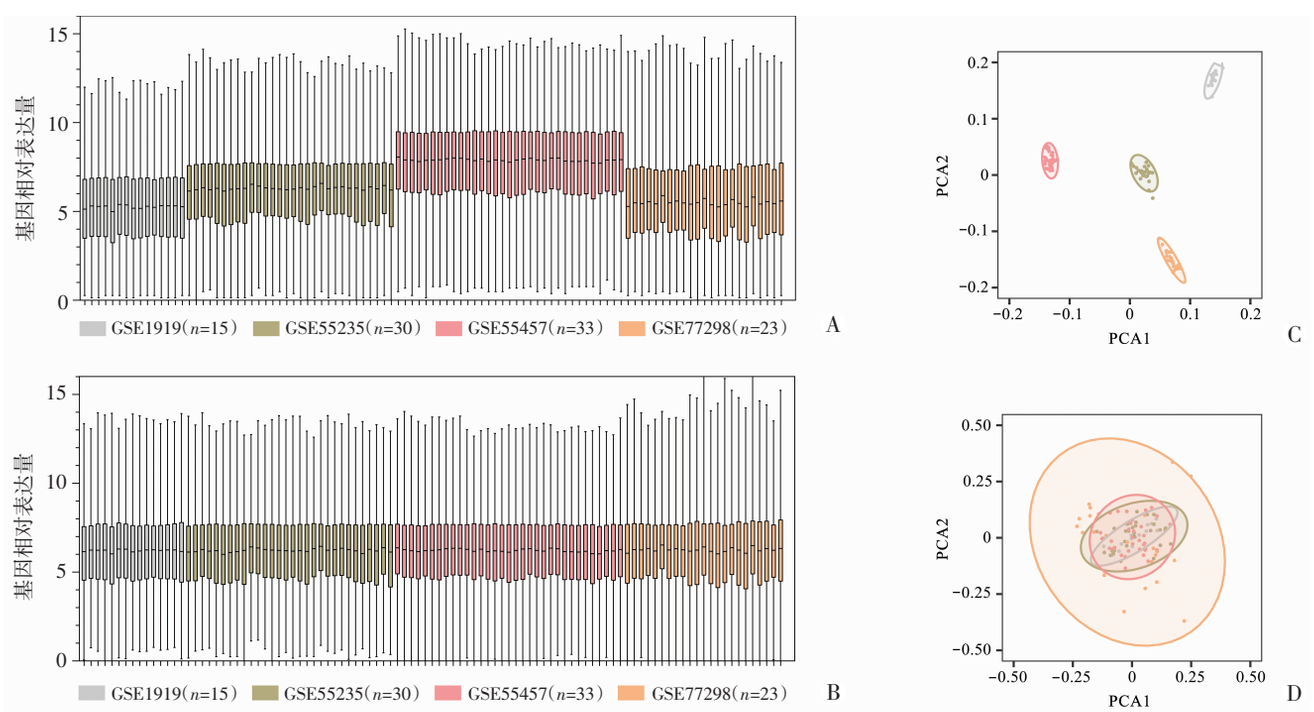
与HC组比较,RA组共筛选出1 377个差异基因,其中730个基因表达上调,647个基因表达下调;OA组共筛选出1 013个差异基因,其中543个基因表达上调,470个基因表达下调。与OA组比较,RA组共筛选出883个差异基因,其中427个基因表达上调,456个基因表达下调(图2A)。满足在RA组中差异性表达,而在OA组和HC组之间表达无差异的基因(即RA差异基因)一共有398个(图2B、C),显著富集于细胞因子-细胞因子受体相互作用、趋化因子信号通路等炎症相关通路(图2D)。

### 2.3 RA共表达基因的鉴定

在整合的数据集中构建无尺度网络(软阈值=4)进行加权基因共表达网络分析(图3A),共鉴定出25个基因模块(图3B)。相关性分析显示,蓝色模块的基因与RA的相关性最高($r=0.7$,$P<0.001$),且与OA相关性不显著($r=-0.05$,$P=0.6$),故蓝色模块中的1 883个基因为RA共表达基因(图3C)。

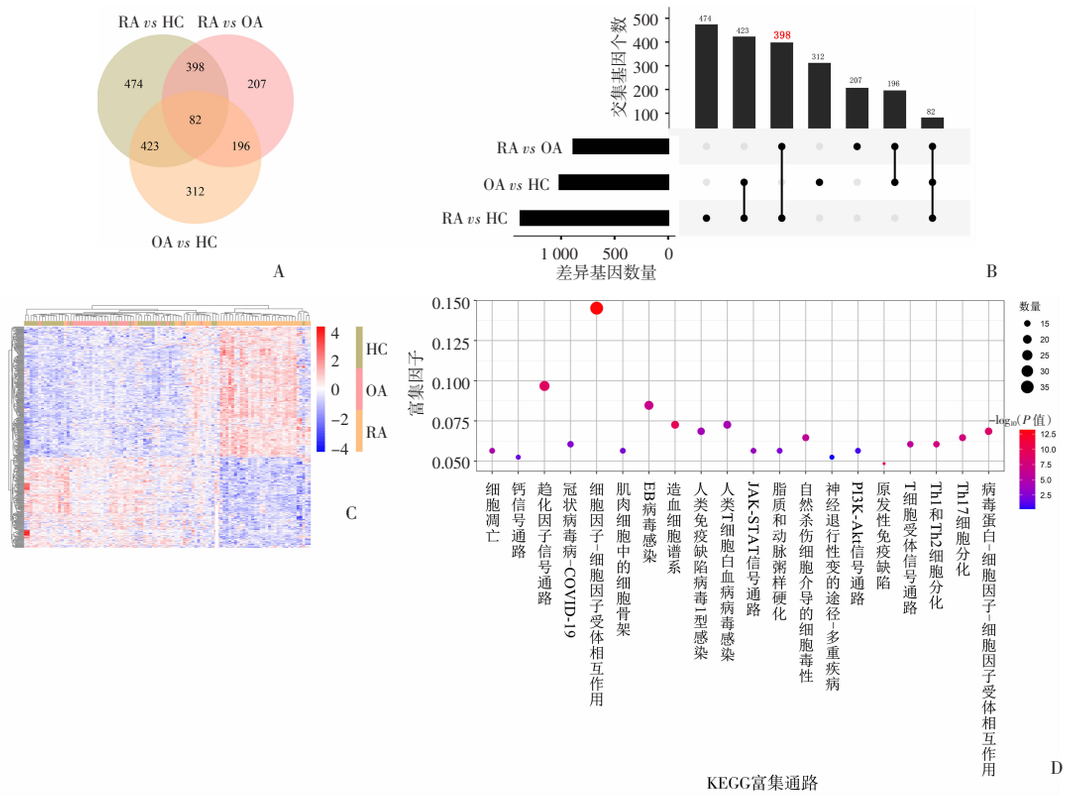
### 2.4 类风湿性关节炎FLS特征基因的鉴定及验证

UMAP聚类分析将CIA小鼠滑膜细胞分为3个主要的细胞亚群(图4A、B),其中195个基因在FLS中特异性表达,FLS特征基因(前10)的FeaturePlot图见图4C。为了鉴定类风湿性关节炎FLS的特征基因,取DEGs、蓝色模块基因和FLS特征基因的交集,共鉴定出1个基因,即TNFAIP6(图5A、B)。体外RT-qPCR实验证明,MH7A细胞在炎症环境下TNFAIP6 mRNA表达水平上调($P<0.001$),与数据集中一致(图5C、D);Western blot实验进一步证实,TNFAIP6蛋白在炎症环境下的MH7A细胞中高表达($P<0.05$,图5E)。单细胞测序结果显示,TNFAIP6广泛表达于衬里层和衬里下层FLS中(图5F)。



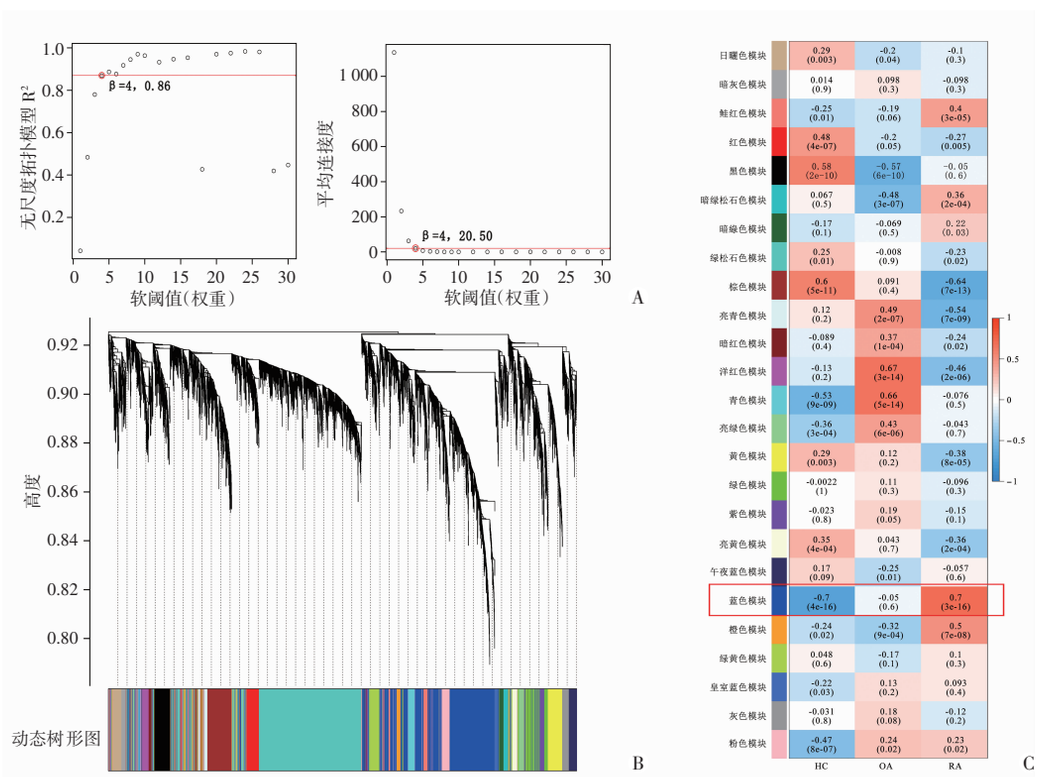

A、B:矫正前后各样本基因表达量分布;C、D:矫正前后主成分分析

**图1 合并数据集后批次效应矫正效果**



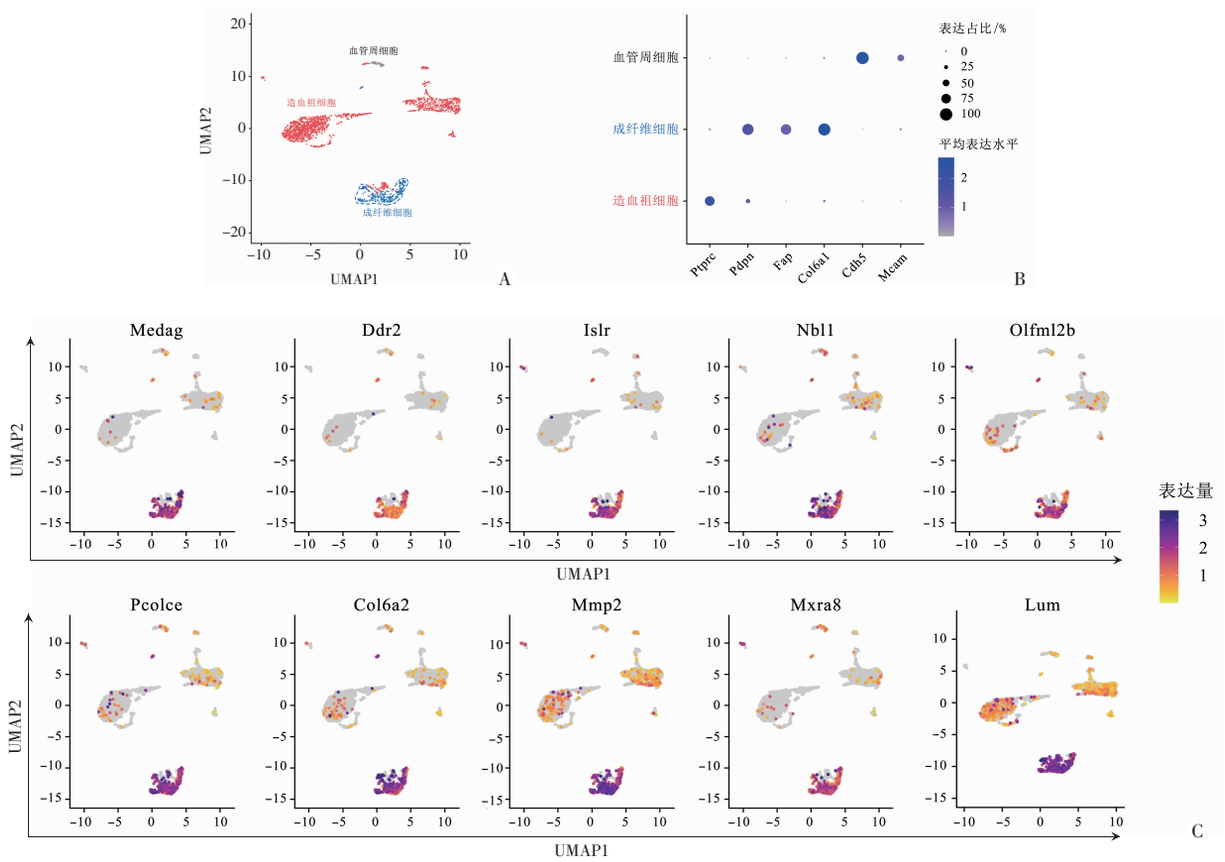

A、B:RA *vs* HC差异、RA *vs* OA差异和OA *vs* HC差异的基因交集韦恩图和Upset图;C:RA差异基因热图;D:RA差异基因KEGG气泡图

**图2 RA差异基因鉴定及可视化**



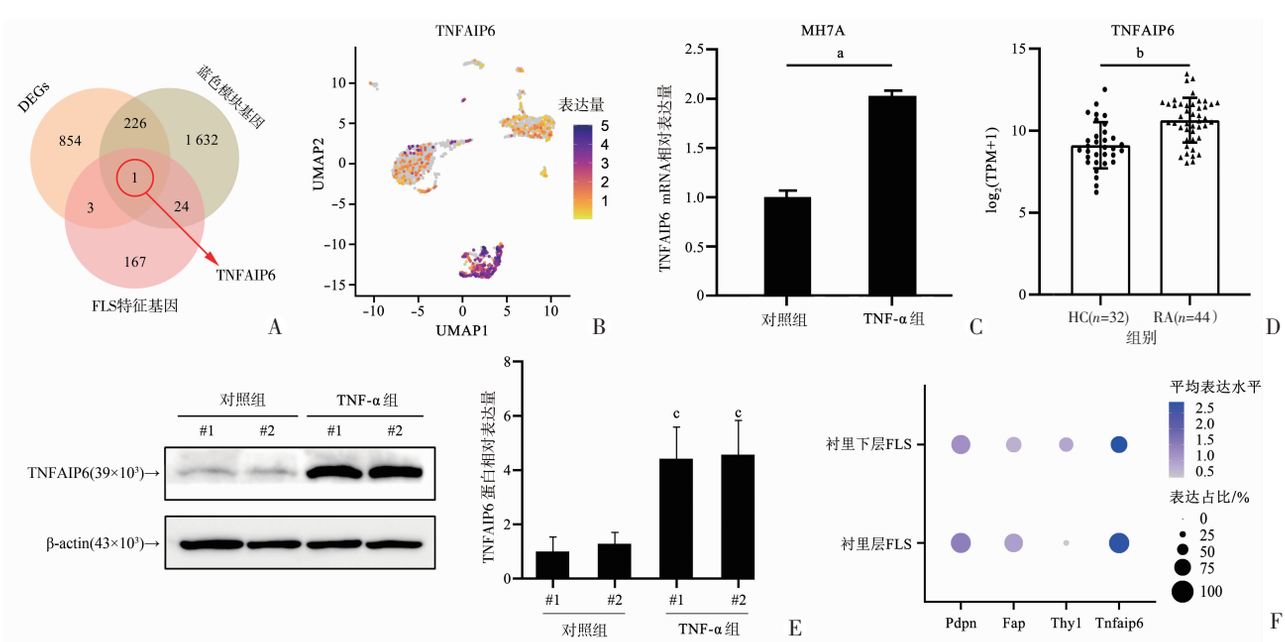

A:WGCNA分析最适软阈值;B:基因模块聚类图;C:基因模块与临床症状的Pearson相关性分析

**图3 WGCNA筛选RA共表达基因**




A:小鼠滑膜细胞UMAP聚类分析;B:细胞亚群标记基因点阵图;C:FLS特征基因(前10)的FeaturePlot图

**图4　FLS特征基因筛选**

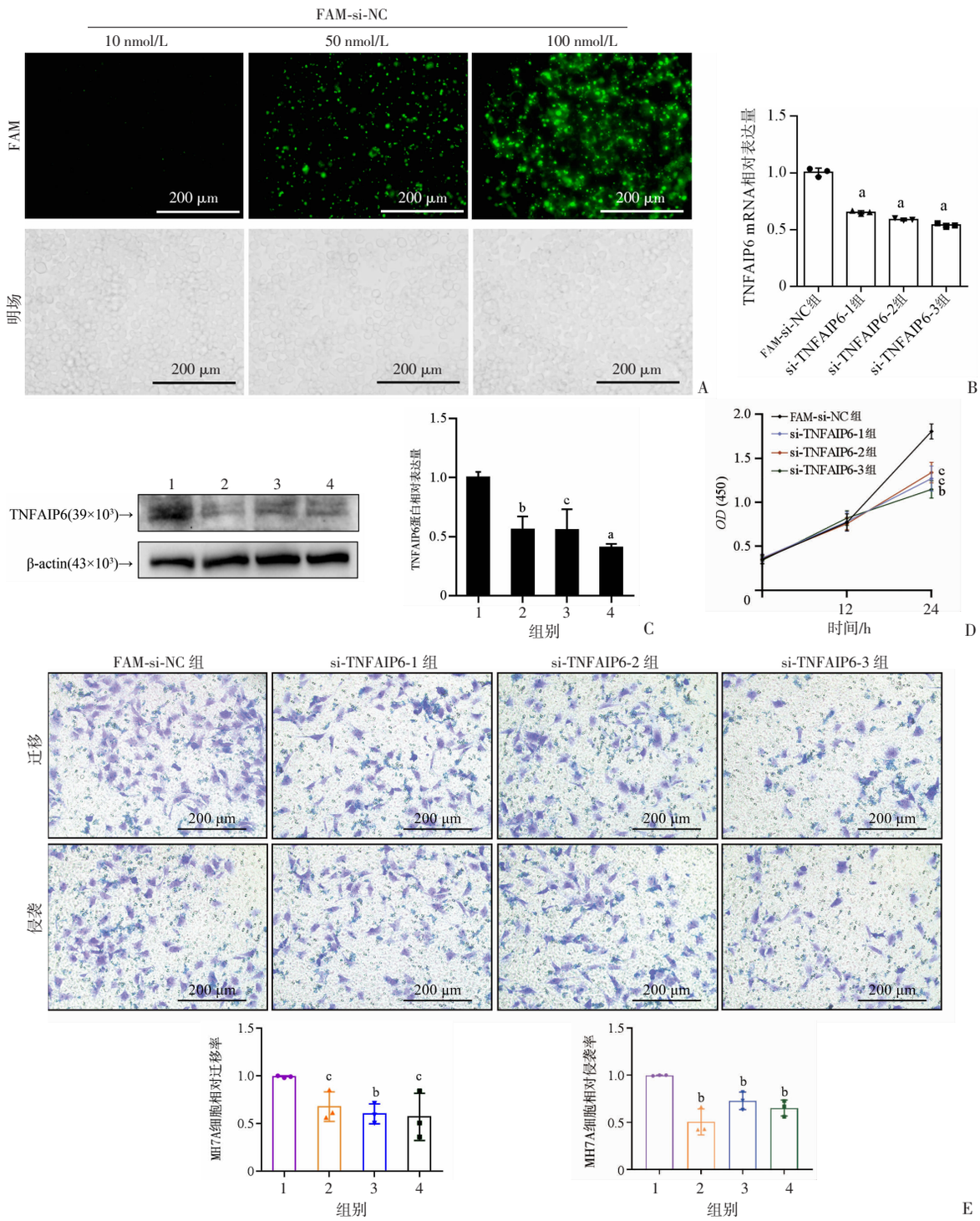



A:RA差异基因、蓝色模块基因和FLS特征基因交集韦恩图;B:TNFAIP6单基因FeaturePlot图;C:TNF-α处理的MH7A细胞系中TNFAIP6 mRNA相对表达量($n$=3,$\bar{x}\pm s$)　a:$P$<0.001;D:数据集中RA组和HC组滑膜组织TNFAIP6 mRNA表达水平　b:$P$<0.001;E:TNF-α处理的MH7A细胞系中TNFAIP6蛋白表达量及量化($n$=3,$\bar{x}\pm s$)　c:$P$<0.05,与对照组比较;F:Tnfaip6在衬里层(Fap+Thy1−)和衬里下层(Fap+Thy1+)FLS中的平均表达水平

**图5　类风湿性关节炎FLS特征基因的鉴定及验证**

### 2.5 沉默TNFAIP6抑制类风湿性关节炎FLS的增殖、迁移和侵袭

为验证TNFAIP6对类风湿性关节炎FLS的增殖、迁移和侵袭的影响,设计并合成TNFAIP6的干扰片段si-TNFAIP6和FAM标记的阴性对照FAM-si-NC。在干扰片段的高转染效率的情况下(图6A),与转染阴性




1:FAM-si-NC组;2:si-TNFAIP6-1组;3:si-TNFAIP6-2组;4:si-TNFAIP6-3组;a:$P<0.001$,b:$P<0.01$,c:$P<0.05$,与FAM-si-NC组比较

A:不同浓度的FAM-si-NC(10、50、100 nmol/L)的转染效率;B、C:RT-qPCR和Western blot检测最佳转染条件下(100 nmol/L)si-TNFAIP6的敲低效率;D:CCK-8检测si-TNFAIP6对MH7A细胞增殖的影响;E:Transwell检测si-TNFAIP6对MH7A细胞迁移、侵袭能力的影响及量化

**图6 沉默TNFAIP6影响RA-FLS的增殖、迁移和侵袭($n=3,\bar{x}\pm s$)**

对照FAM-si-NC比较,转染si-TNFAIP6干扰片段组的TNFAIP6 mRNA和蛋白被显著抑制($P$<0.05,图6B、C)。CCK-8结果显示,与FAM-si-NC组比较,si-TNFAIP6组MH7A细胞的增殖能力显著降低($P$<0.05,图6D)。Transwell实验结果表明,与FAM-si-NC组比较,si-TNFAIP6组MH7A细胞的相对迁移率降低和相对侵袭率减少($P$<0.05,图6E),表明敲低TNFAIP6可以抑制MH7A细胞的迁移和侵袭能力。

## 3 讨论

RA是一种自身免疫性关节疾病,伴有不可逆转的软骨破坏和骨侵蚀。在已明晰FLS异常激活导致软骨破坏和骨侵蚀的背景下,深入解析FLS异常激活的分子机制对于理解RA的发病机制、研制靶向药物提供重要的理论依据。本研究综合应用多种生物信息学手段,鉴定出TNFAIP6在RA成纤维样滑膜细胞中特异性高表达,并在细胞层面证实其促进RA成纤维样滑膜细胞的增殖、迁移、侵袭等病理表型,研究结果揭示了以TNFAIP6为靶点靶向FLS缓解或治疗RA的潜力。

### 3.1 TNFAIP6在RA成纤维样滑膜细胞特异性高表达

RA成纤维样滑膜细胞具有明显的异质性[6]。衬里层(Fap+Thy1−)的FLS带有表观遗传上的侵袭性表型[3],可介导骨与关节的破坏,而对炎症作用有限,而衬里下层(Fap+Thy1+)的FLS则表现为促炎表型,会引起严重的滑膜炎症,而对骨与软骨作用较小[13]。RA成纤维样滑膜细胞的异质性使得靶向FLS作为缓解或治疗RA的手段面临一定的挑战。TNFAIP6是一类分泌型糖蛋白,主要在免疫细胞和基质细胞中表达[14],可以被TNF-α等促炎细胞因子诱导高表达,其N端含有透明质酸(hyaluronic acid,HA)结合结构域,能够与多种细胞外间质成分(肝素、硫酸乙酰肝素、透明质酸等)相互作用[15-16],参与稳定细胞外间质和促进细胞迁移[17-18],同时,其N端HA结合结构域还能与趋化因子结合,干扰趋化因子配体-受体结合,抑制炎性细胞的浸润[19-20]。除此之外,高表达的TNFAIP6在多种组织中具有促进细胞增殖的功能[18,21-22],但是其发挥促增殖作用的方式还有待进一步研究。本研究通过综合生物信息学分析,表明TNFAIP6的RNA水平在RA患者的滑膜组织中显著上调,同时小鼠滑膜组织单细胞测序数据显示TNFAIP6的表达主要与滑膜成纤维细胞共定位,提示TNFAIP6在RA成纤维样滑膜细胞特异性高表达。

### 3.2 TNF-α通过促进TNFAIP6的表达驱动RA成纤维样滑膜细胞的活化

前期大量文献报道RA滑膜微环境中存在高浓度的细胞因子(如TNF-α、白细胞介素-6等),他们主要来源于外周血浸润的单个核细胞[23]。这些细胞因子在滑膜微环境中通过参与固有免疫[24-25]和适应性免疫[26-27]的调节从而影响RA的进展及成纤维样滑膜细胞的活化。TNF-α是参与RA成纤维样滑膜细胞活化的关键炎性细胞因子,靶向TNF-α的生物制剂在类风湿性关节炎等自身免疫性疾病的治疗中已获得显著的疗效[28],然而仍有30%~40%的患者出现药物抵抗[29]。本研究发现,使用TNF-α刺激人MH7A细胞能显著诱导TNFAIP6的表达,敲低TNFAIP6显著抑制其活化表型,表明TNFAIP6介导了TNF-α驱动的RA成纤维样滑膜细胞的活化,为RA患者抗TNF-α治疗提供新的理论基础。

综上所述,本研究通过综合应用多种生物信息学手段鉴定了TNFAIP6在RA成纤维样滑膜细胞中特异性高表达,具有促进RA成纤维样滑膜细胞增殖、迁移、侵袭的作用。本研究结果为RA成纤维样滑膜细胞异常活化提供了新的见解,需要进一步的体内外实验证实。

**利益冲突** 本文所有作者声明不存在利益冲突

**参考文献:**

[1] SMOLEN J, ALETAHA D, MCINNES I. Rheumatoid arthritis [J]. Lancet, 2016, 388: 2023-2038. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)30173-8.

[2] JIN S Y, LI M T, FANG Y F, *et al*. Chinese Registry of rheumatoid arthritis (CREDIT): II. prevalence and risk factors of major comorbidities in Chinese patients with rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Res Ther, 2017, 19(1): 251. DOI: 10.1186/s13075-017-1457-z.

[3] NYGAARD G, FIRESTEIN G S. Restoring synovial homeostasis in rheumatoid arthritis by targeting fibroblast-like synoviocytes[J]. Nat Rev Rheumatol, 2020, 16(6): 316-333. DOI: 10.1038/s41584-020-0413-5.

[4] 田中华, 朱深银, 常淑芳, 等. 司帕沙星对类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞的声动力细胞毒性[J]. 第三军医大学学报, 2018, 40(19): 1748-1752, 1761. DOI: 10.16016/j.1000-5404.201804069.
TIAN Z H, ZHU S Y, CHANG S F, *et al*. Sonodynamic cytotoxicity of sparfloxacin on rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes *in vitro*[J]. J Third Mil Med Univ, 2018, 40(19): 1748-1752, 1761. DOI: 10.16016/j.1000-5404.201804069.

[5] QIN Y, CAI M L, JIN H Z, *et al*. Age-associated B cells contribute to the pathogenesis of rheumatoid arthritis by inducing activation of fibroblast-like synoviocytes *via* TNF-α-mediated ERK1/2 and JAK-STAT1 pathways[J]. Ann Rheum Dis, 2022, 81(11): 1504-1514. DOI: 10.1136/ard-2022-222605.

[6] SMITH M H, GAO V R, PERIYAKOIL P K, *et al*. Drivers of heterogeneity in synovial fibroblasts in rheumatoid arthritis [J]. Nat Immunol, 2023, 24(7): 1200-1210. DOI: 10.1038/s41590-023-01527-9.

[7] KARONITSCH T, SAFERDING V, KIELER M, *et al*. Amino acids fueling fibroblast-like synoviocyte activation and arthritis by regulating chemokine expression and leukocyte migration[J]. Arthritis Rheumatol, 2024, 76(4): 531-540. DOI: 10.1002/art.42759.

[8] GLYN-JONES S, PALMER A J R, AGRICOLA R, *et al*. Osteoarthritis [J]. Lancet, 2015, 386 (9991): 376-387. DOI: 10.1016/S0140-6736(14)60802-3.

[9] DAMERAU A, KIRCHNER M,PFEIFFENBERGER M, *et al*. Metabolic reprogramming of synovial fibroblasts in osteoarthritis by inhibition of pathologically overexpressed pyruvate dehydrogenase kinases[J]. Metab Eng, 2022, 72: 116-132. DOI: 10.1016/j.ymben.2022.03.006.

[10] CROSS M, SMITH E, HOY D, *et al*. The global burden of rheumatoid arthritis: estimates from the global burden of disease 2010 study[J]. Ann Rheum Dis, 2014, 73(7): 1316-1322. DOI: 10.1136/annrheumdis-2013-204627.

[11] MALONE J H, OLIVER B. Microarrays, deep sequencing and the true measure of the transcriptome[J]. BMC Biol, 2011, 9: 34. DOI: 10.1186/1741-7007-9-34.

[12] YAN M L, KOMATSU N, MURO R, *et al*. ETS1 governs pathological tissue-remodeling programs in disease-associated fibroblasts [J]. Nat Immunol, 2022, 23 (9): 1330-1341. DOI: 10.1038/s41590-022-01285-0.

[13] CROFT A P, CAMPOS J, JANSEN K, *et al*. Distinct fibroblast subsets drive inflammation and damage in arthritis [J]. Nature, 2019, 570(7760): 246-251. DOI: 10.1038/s41586-019-1263-7.

[14] Li L, Yang L, Chen X, *et al*. TNFAIP6 defines the MSC subpopulation with enhanced immune suppression activities [J]. Stem Cell Res Ther, 2022, 13 (1): 479. DOI: 10.1186/s13287-022-03176-5.

[15] MAHONEY D J, MULLOY B, FORSTER M J, *et al*. Characterization of the interaction between tumor necrosis factor-stimulated gene-6 and heparin: implications for the inhibition of plasmin in extracellular matrix microenvironments [J]. J Biol Chem, 2005, 280 (29): 27044-27055. DOI: 10.1074/jbc.M502068200.

[16] LESLEY J, GÁL I, MAHONEY D J, *et al*. TSG-6 modulates the interaction between hyaluronan and cell surface CD44[J]. J Biol Chem, 2004, 279(24): 25745-25754. DOI: 10.1074/jbc.M313319200.

[17] LAWRANCE W, BANERJI S, DAY A J, *et al*. Binding of hyaluronan to the native lymphatic vessel endothelial receptor LYVE-1 is critically dependent on receptor clustering and hyaluronan organization [J]. J Biol Chem, 2016, 291 (15): 8014-8030. DOI: 10.1074/jbc. M115.708305.

[18] CHEN D, SHI L, ZHONG D F, *et al*. Hsa_circ_0002019 promotes cell proliferation, migration, and invasion by regulating TNFAIP6/NF-κB signaling in gastric cancer[J]. Genomics, 2023, 115 (4): 110641. DOI: 10.1016/j.ygeno.2023.110641.

[19] DYER D P, SALANGA C L, JOHNS S C, *et al*. The anti-inflammatory protein TSG-6 regulates chemokine function by inhibiting chemokine/glycosaminoglycan interactions [J]. J Biol Chem, 2016, 291(24): 12627-12640. DOI: 10.1074/jbc.M116.720953.

[20] DYER D P, THOMSON J M, HERMANT A, *et al*. TSG-6 inhibits neutrophil migration *via* direct interaction with the chemokine CXCL8[J]. J Immunol, 2014, 192(5): 2177-2185. DOI: 10.4049/jimmunol.1300194.

[21] ZHANG X W, XUE J M, YANG H L, *et al*. TNFAIP6 promotes invasion and metastasis of gastric cancer and indicates poor prognosis of patients[J]. Tissue Cell, 2021, 68: 101455. DOI: 10.1016/j.tice.2020.101455.

[22] WOJTANOWICZ-MARKIEWICZ K, KOCHEROVA I, JESETA M, *et al*. Expression of PTX3, HAS2 AND TNFAIP6 genes in relation to real-time proliferation of porcine endometrial luminal epithelial cells in primary cultivation model[J]. J Biol Regul Homeost Agents, 2019, 33(3): 675-685.

[23] KONDO N, KURODA T, KOBAYASHI D. Cytokine networks in the pathogenesis of rheumatoid arthritis[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22 (20): 10922. DOI: 10.3390/ijms222010922.

[24] RANA A K, LI Y, DANG Q J, *et al*. Monocytes in rheumatoid arthritis: circulating precursors of macrophages and osteoclasts and, their heterogeneity and plasticity role in RA pathogenesis[J]. Int Immunopharmacol, 2018, 65: 348-359. DOI: 10.1016/j.intimp.2018.10.016.

[25] CULEMANN S, GRÜNEBOOM A, KRÖNKE G. Origin and function of synovial macrophage subsets during inflammatory joint disease[J]. Adv Immunol, 2019, 143: 75-98. DOI: 10.1016/bs.ai.2019.08.006.

[26] CHEMIN K, GERSTNER C, MALMSTRÖM V. Effector functions of $CD4^+$ T cells at the site of local autoimmune inflammation-lessons from rheumatoid arthritis [J]. Front Immunol, 2019, 10: 353. DOI: 10.3389/fimmu. 2019.00353.

[27] VAN HAMBURG J P, TAS S W. Molecular mechanisms underpinning T helper 17 cell heterogeneity and functions in rheumatoid arthritis[J]. J Autoimmun, 2018, 87: 69-81. DOI: 10.1016/j.jaut.2017.12.006.

[28] NIE H, ZHENG Y X, LI R S, *et al*. Phosphorylation of FOXP3 controls regulatory T cell function and is inhibited by TNF-α in rheumatoid arthritis[J]. Nat Med, 2013, 19 (3): 322-328. DOI: 10.1038/nm.3085.

[29] RUBBERT-ROTH A, SZABÓ M Z, KEDVES M, *et al*. Failure of anti-TNF treatment in patients with rheumatoid arthritis: The pros and cons of the early use of alternative biological agents [J]. Autoimmun Rev, 2019, 18 (12): 102398. DOI: 10.1016/j.autrev.2019.102398.

(收稿:2024-06-13;修回:2024-10-08)

(编辑 刘秋池)