

程序性坏死在类风湿关节炎中作用的研究进展

顾谭蓉, 李良杰, 宋书林, 孙崇玲 (通信作者*)

(三峡大学人民医院宜昌市第一人民医院风湿免疫科, 湖北 宜昌 443000)

摘要: 类风湿关节炎是一种慢性侵蚀性疾病, 其发病机制暂不明确。有研究者发现程序性坏死参与了类风湿关节炎 (RA) 的发病。当类风湿关节炎小鼠受到致病因素刺激后生成的死亡复合体会介导小鼠关节炎因子的浸润、滑膜的增生以及关节软骨的破坏, 从而造成严重的关节结构破坏以及功能的丧失, 应用程序性坏死抑制剂有助于减轻以上症状。本文就程序性坏死在RA发病过程中的作用进行综述, 为了解RA的发病机制提供新的理论。

关键词: 类风湿关节炎; 程序性坏死; 炎症

中图分类号: R593.22

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1671-3141.2023.22.005

本文引用格式: 顾谭蓉, 李良杰, 宋书林, 等. 程序性坏死在类风湿关节炎中作用的研究进展[J]. 世界最新医学信息文摘, 2023, 23(22): 21-27.

Research Advances on the Role of Programmed Necrosis in Rheumatoid Arthritis

GU Tan-rong, LI Liang-jie, SONG Shu-lin, SUN Chong-ling*

(Department of Rheumatology and Immunology, Yichang First People's Hospital, People's Hospital of Three Gorges University, Yichang Hubei 443000)

ABSTRACT: Rheumatoid arthritis is a chronic and aggressive disease with an unknown cause. Some research suggests necroptosis is involved in the pathogenesis of rheumatoid arthritis (RA). When pathogenic factors stimulate rheumatoid arthritis mice, the death complex resulted mediates inflammatory factor infiltration, synovial membrane proliferation, and articular cartilage destruction, resulting in severe structural damage and joint function loss. This study explores the role of necroptosis in the pathogenesis of RA, with the aim of fostering new theories to explain the disease's etiology.

KEY WORDS: rheumatoid arthritis; necroptosis; inflammation

0 引言

类风湿关节炎 (Rheumatoid arthritis, RA) 是一种慢性全身性炎症反应, 主要表现为炎症细胞浸润、关节软骨的破坏以及滑膜增生^[1]。研究表明全球RA发病率为1.0%, 而且女性更容易患此疾病^[2]。RA发病机制尚不明确, 目前认为RA的发生与肠道菌群的失调^[3]、吸烟^[4]以及通路的异常激活有关^[5-6]。袁钧瑛院士等人发现损伤相关分子模式 (damage-associated molecular patterns, DAMPs) 的释放以及炎症因子的产生是程序性坏死促进炎症反应的两种方式^[7]。最近有报道称程序性坏死的激

活与RA的发生发展有关^[8], 但具体如何参与尚未阐明。基于以上问题, 本文将对程序性坏死通路进行阐述及其在RA发病中的作用做一综述。

1 程序性坏死

1.1 程序性坏死的发生机制

由于坏死、自噬和凋亡这三种传统的死亡方式没有固定的信号转导途径, 其潜在机制尚不清楚, 进而难以进行干预。因此程序性坏死的提出对调节细胞死亡具有重要意义。程序性坏死是由配体与受体结合所触发的死

基金项目: 湖北省教育厅科学技术研究计划指导性项目 (B2021039)。

亡方式，其受体可以是肿瘤坏死因子受体(tumor necrosis factor receptor,TNFR)1、TNFR2、T细胞受体或Toll样受体(Toll-like receptor,TLR)等^[9-10]。TNFR是为人所熟知的死亡受体，当机体受到刺激时，TNF- α 与TNFR结合后将肿瘤坏死因子受体相关死亡结构域蛋白(TNFR-associated death domain,TRADD)和受体相互作用蛋白质激酶1(receptor-interacting protein kinase 1,RIPK1)招募到TNFR胞内的死亡结构域上^[11]。TRADD则将能催化RIPK1上的K63泛素修饰的接头蛋白肿瘤坏死因子受体相关因子2(TNFR-associated factor 2,TRAF2)和E3泛素连接酶胞内凋亡蛋白1/2抑制因子(cellular inhibitor of apoptosis 1,cIAP1/2)也招募至复合体I(complex 1)中^[12]。K63泛素化链介导转化生长因子 β 激活激酶1(transforming growth factor- β -activated kinase 1,TAK1)招募及激活，激活的TAK1引起NF- κ B信号通路的激活^[9,13]。TNF- α 诱导蛋白3(A20/TNFAIP3)和A20结合蛋白1(ABIN1)被招募至复合体I中并与RIPK1的M1泛素链结合。一个完整的复合体I需要M1泛素链上结合TRAF家族相关NF- κ B

激活因子结合酶1(TANK Binding Kinase 1,TBK1)和NF- κ B重要调节因子(NEMO)。在没有cIAP的情况下RIPK1从复合物I中分离出来，形成复合体II。复合体II根据成分的不同又分为复合体IIa和复合体IIb，前者使细胞走上凋亡途径后者会激活程序性坏死通路。细胞凋亡则根据是否需要RIPK1分为RIPK1依赖细胞凋亡和RIPK1不依赖细胞凋亡。当caspase8的活性被抑制，复合体IIa结合激活的RIPK1将RIPK3磷酸化形成复合体IIb，也称为死亡小体。复合体IIb招募并磷酸化蛋白混合谱系激酶结构域(mixed lineage kinase domain-like pseudokinase,MLKL)使MLKL的四螺旋束结构域被释放，MLKL寡聚体穿透质膜和细胞器的磷脂双分子层导致细胞膜对阳离子的通透性增加，使细胞内成分由内向外流出^[14]。导致DAMPs的释放使周围组织发生炎症反应，即发生程序性坏死^[15](图1)。实验发现程序性坏死信号通路的激活使炎症因子(如TNF- α 、IL-1、IL-18)以及趋化因子的生成增加，并促进破骨细胞的生成以及软骨细胞的死亡导致RA的发生。目前，用于治疗RA的利妥昔单抗被证明可以降低RA患者滑膜中的RIPK1和MLKL的mRNA水平来缓解关节

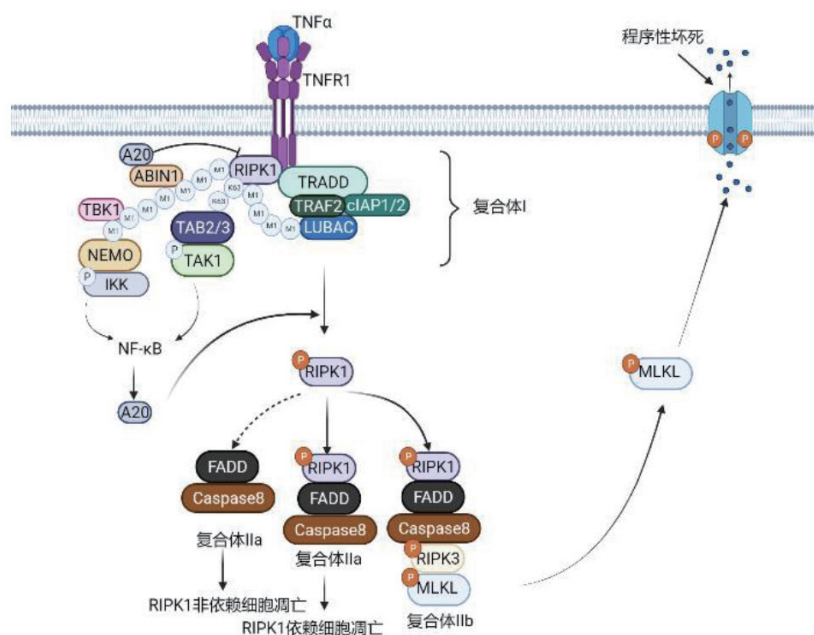


图1 TNF- α 激活程序性坏死通路示意图

症状^[16]。因此, RA发病过程与炎症浸润、软骨细胞的死亡与程序性坏死相关。

TNF- α 与TNFR1结合形成膜相关的瞬时复合物I, TNFR1的胞内的死亡结构域会招募RIPK1和TRADD。TRADD进而将TRAF2和cIAP1/2招募到复合体I中, 以催化RIPK1上的K63泛素修饰。LUBAC的招募则需要cIAP1/2以及K63的泛素化, LUBAC可通过调控M1泛素化来控制RIPK1的激活。K63泛素化链介导TAB2/3和TAK1招募以及TAK1激活, 激活的TAK1则导致NF- κ B信号通路的激活。A20和ABIN1被招募至复合体I中并与M1泛素链结合。M1泛素链上同时也结合了TBK1和NEMO, 从而形成一个完整的复合体I。NEMO则可导致IKK的激活, 进而导致NF- κ B信号通路的激活。激活的NF- κ B信号通路会促进A20的转录, A20在复合体I中抑制RIPK1的激活, 而在复合体II中会促进RIPK1的激活。小分子模拟肽抑制NF- κ B通路的激活, 在没有cIAP的情况下, RIPK1从复合物I中分离出来, 形成复合体II。复合体II又分为复合体IIa和复合体IIb, 前者则激活细胞凋亡途径, 即RIPK1不依赖细胞凋亡(虚线箭头)和RIPK1依赖细胞凋亡(实线箭头)。当caspase 8的活性被抑制, 复合体IIa结合激活的RIPK1将RIPK3磷酸化, 形成复合体IIb。磷酸化的MLKL寡聚体起到分子开关的作用, 导致细胞膜通透性增加使细胞内容物流出, 而发生程序性坏死。

1.2 程序性坏死与类风湿关节炎

RA具体发病机制目前认为可能与炎症的激活、干扰素 γ 的缺失、酸敏感离子通道的激活以及家族遗传有关。在胶原诱导的类风湿关节炎(collagen-induced arthritis, CIA)小鼠滑膜组织中程序性坏死关键蛋白RIPK1、RIPK3以及p-MLKL的表达明显升高, 且服用程序性坏死抑制Necrostatin-1可以改善CIA小鼠关节滑膜炎浸润、关节软骨的破坏以及血液中炎症因子的表达^[17]。Lee等人利用GSE24742数据库发现

相对于健康对照组, RA患者外周血单核细胞中RIPK3和MLKL的表达上调, 经过利妥昔单抗治疗的RA患者滑膜中RIPK1和MLKL的mRNA水平降低^[16]。因此无论是在CIA小鼠还是在RA患者的滑膜和关节组织中程序性坏死关键蛋白表达增加, 由此可以推断出程序性坏死参与了RA的发生发展过程。RIPK1和MLKL已被证明是包括RA在内的炎症性疾病的有效治疗靶点^[17], 目前RIPK1抑制剂GSK' 772正被用于治疗RA的II期临床试验^[18], 以上研究证明RA的发病与程序性坏死通路的激活密切相关, RIPK1可能会成为RA治疗的作用靶点。

2 程序性坏死与RA的关系

2.1 程序性坏死介导的炎症反应与RA

程序性坏死激活后会释放DAMPs, 当机体感受到DAMPs的刺激会生成炎症小体, 它可将原半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-1(Caspase-1)裂解有成活性的Caspase-1。活化的Caspase-1将IL-1 β 前体和IL-18前体转化为具有活性的IL-1 β 和IL-18^[19]。位于细胞核内的高迁移率族蛋白1(high-mobility group box 1, HMGB1)是DAMPs特征性蛋白, 单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemotactic protein 1, MCP-1)和IL-6的基因可以通过它增强表达从而进一步放大炎症反应^[20]。而细胞外的HMGB1通过与Toll样受体和晚期糖基化终末产物受体(advanced glycation endproducts, RAGE)结合而激活NF- κ B通路, 促进TNF- α 、IL-1 β 、IL-6和其他促炎因子的表达引起滑膜炎^[21]。国外研究发现了HMGB1在RA患者关节和血清中升高^[22], 同时Brennan等人也证实TNF- α 和IL-1 β 在RA患者的滑膜以及血清中大量表达^[23]且可诱导免疫细胞及基质细胞产生炎症因子、趋化因子以及黏附分子来促进RA关节内炎症反应以及抑制组织修复过程, 进一步导致关节损伤^[24]。在动

物实验中发现对照组关节炎小鼠关节液中IL-1 β 、IL-6、TNF- α 和IL-17a水平均升高,用HMGB1抑制剂BoxA处理后小鼠血清中炎症因子的水平降低^[25],与此同时也减轻了CIA小鼠关节炎^[26]。国内的一项研究发现MTX可通过减少RA患者滑膜组织中的HMGB1来延缓疾病的进展^[27]。Kitur等人在抑制了炎症小体后疾病的活动度有所改善,并且抑制依赖MLKL的程序性坏死可以减少小鼠体内IL-1 β 的生成^[28]。因此,程序性坏死释放的DAMPs介导RA炎症因子的产生以及加剧关节的损伤。

2.2 程序性坏死介导的软骨细胞死亡与RA

关节损害是RA的主要特征,其主要表现为骨质的破坏和软骨的侵蚀。在正常生理条件下软骨细胞首先降解聚集素或II型胶原(type II collagen,COII)等基质分子,然后合成新的基质蛋白^[29]。然而,在慢性炎症条件下基质蛋白的合成受阻但蛋白酶的释放增加。IL-1 β 可以刺激关节软骨细胞使软骨降解酶基质金属蛋白酶(Matrix Metalloproteinase,MMP)-1的表达增加,MMP是一种可以导致COII断裂和不可逆的软骨降解的酶^[30]。在关节炎相关的疾病中,关节软骨的降解、COII和蛋白多糖的减少是最明显的病理改变^[31]。传统抗风湿药MTX被证明是可以降低RA患者中MMP的水平从而延缓关节损伤的进展^[27]。研究发现无论是在RA患者还是在佐剂诱导关节炎(Adjuvant arthritis,AA)大鼠模型的关节中酸敏感离子通道1a(acid-sensitive ion channel 1a,ASIC1a)、RIPK1和p-MLKL的表达水平升高^[32],且大量的体外实验证实了ASIC1a参与了软骨细胞的死亡^[33]。在动物实验中,AA大鼠关节软骨基质中COII和蛋白多糖的生成减少,而使用了ASIC1a抑制剂阿米洛利或NEC-1s治疗后关节炎得到改善,并且COII和蛋白多糖的生成增加^[32,34]。Stolberg等人在体外实验中,利用免疫组化染色证实了在人的软骨组织中RIPK3和MLKL的基因表达水平明显升高为

4.2%和2.7%^[35]。以上研究证明程序性坏死可直接或间接导致软骨细胞的死亡,抑制程序性坏死可能是治疗RA的有效手段。

2.3 程序性坏死介导的滑膜改变与RA

正常滑膜主要由两类细胞组成,一类是由单核细胞系和巨噬细胞系组成的A型和另一类由成纤维细胞样滑膜细胞(fibroblast-like synoviocytes,FLS)组成的B型细胞共同组合而成^[36]。在RA患者增生的滑膜中包含大量激活的巨噬细胞和滑膜细胞,进一步侵袭和降解软骨基质导致关节破坏^[37]。滑膜炎浸润则是由巨噬细胞释放细胞因子(如TNF- α 、IL-1、IL-6、IL-12、IL-15、IL-18和IL-23)导致^[19]而生物制剂可以减少细胞浸润^[38]。FLS是间充质来源的细胞与细胞外基质和滑液的生成有关,对软骨表面起着润滑和滋养的作用^[36]。在RA患者关节滑膜中发现了IL-17、TNF- α 升高以及FLS侵入并植入软骨的证据^[39-40]。体外实验发现FLS在CIA小鼠关节炎发生发展过程中是必不可少且与IL-6、MMP-2和MMP-9生产有关^[41]。临床上用于治疗RA药物-MTX和来氟米特,都被证实了具有抑制FLS的功能^[42]。最近研究发现CIA小鼠滑膜中RIPK1、RIPK3和MLKL的表达增高,同时RIPK1、RIPK3和MLKL的mRNA的水平也会随着CIA的关节症状的加重而增加^[16],在使用NEC-1s后则会降低这些蛋白的表达。在体外实验中用TNF- α 刺激的巨噬细胞后可检测到程序性坏死的标志物p-RIP3和p-MLKL水平的升高,这提示巨噬细胞在TNF- α 的刺激下发生了程序性坏死^[43]。因此,我们能认为程序性坏死参与了RA滑膜炎炎症及侵蚀作用,这为临床上对于滑膜病变的治疗提供了一个可能的药物作用靶点。

2.4 程序性坏死与RA的遗传

RA的病因仍未完全了解,但与遗传密切相关^[44]。既往认为HLA-DRB1和PTPN22等位基因与RA有关,最近全基因组关联研究(Genome-wide association study,GWAS)

在该疾病的遗传基础上取得了新的进展。通过英国RA数据库发现rs6920220是第二个与RA关系最为密切的突变基因^[45]，该单核苷酸多样性(SNP)定位于6q23的基因间隔区，该区域位于基因OLIG3和A20之间。遗传学研究已证实A20的SNPs与人类多种疾病有关^[46]。之前有研究者发现功能性SNPs能够改变基因表达或蛋白降解，导致RA易感性和疾病严重程度的变化。rs6920220及其相关基因对A20的转录具有非定向抑制作用，在体内抑制A20的转录将激活NF- κ B通路，导致促炎细胞因子的表达增强，从而导致RA关节中炎症的浸润^[47]。研究者发现A20参与了程序性坏死以及炎症小体形成的过程，A20的丢失使细胞对程序性坏死更加敏感^[48]，在体外培养的A20缺陷的巨噬细胞与对照巨噬细胞相比，会产生更多的IL-1 β ，IL-6，IL-18和TNF- α ^[49]，并且对TNF- α 所导致的依赖RIPK1激酶激活的细胞死亡方式更加敏感^[50]。此外RA患者外周血单个核细胞以及病变器官中A20的mRNA的表达水平均低于健康对照组^[51]，且与非自身免疫性关节炎滑膜相比在RA滑膜中A20蛋白表达降低^[47]。与没有功能性SNP的RA患者相比，具有功能性SNP的RA患者关节肿胀更严重、疾病活动性评分(DAS28)更高、临床预后更差且A20的mRNA表达水平降低^[51]。由此证明rs6920220增加了RA易感性，而程序性坏死参与了RA疾病发展过程。

3 结语

综上所述，RA与程序性坏死相关，无论是在RA发病起始阶段还是RA进展阶段。另外，程序性坏死相关蛋白以及基因能否像抗环瓜氨酸抗体一样预测RA发生的风险以及与RA的严重程度相关仍需进一步阐明。当然，目前对于程序性坏死与RA的研究多基于基础实验，是否可以临床转化仍需进一步探索。程序性坏死相关的信号通路和分子靶点仅部分被发

现，因此抑制程序性坏死来延缓疾病的进展或抑制疾病的发生仍值得我们期待。

参考文献

- [1] Scott D L, Wolfe F, Huizinga T W. Rheumatoid arthritis[J]. *Lancet*, 2010,376(9746):1094–1108.
- [2] Wu F, Gao J, Kang J, et al. B Cells in Rheumatoid Arthritis:Pathogenic Mechanisms and Treatment Prospects[J]. *Frontiers in Immunology*, 2021,12:750753.
- [3] Bungau S G, Behl T, Singh A, et al. Targeting Probiotics in Rheumatoid Arthritis[J]. *Nutrients*, 2021,13(10):3376.
- [4] Hussain M S, Tripathi V. Smoking under hypoxic conditions: a potent environmental risk factor for inflammatory and autoimmune diseases[J]. *Mil Med Res*, 2018,5(1):11.
- [5] Crispino N, Ciccia F. JAK/STAT pathway and nociceptive cytokine signalling in rheumatoid arthritis and psoriatic arthritis[J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2021,39(3):668–675.
- [6] Arleevskaya M I, Larionova R V, Brooks W H, et al. Toll-Like Receptors, Infections, and Rheumatoid Arthritis[J]. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2020,58(2):172–181.
- [7] Shan B, Pan H, Najafov A, et al. Necroptosis in development and diseases[J]. *Genes Dev*, 2018,32(5–6):327–340.
- [8] Cuchet-Lourenco D, Eletto D, Wu C, et al. Biallelic RIPK1 mutations in humans cause severe immunodeficiency, arthritis, and intestinal inflammation[J]. *Science*, 2018,361(6404):810–813.
- [9] Pasparakis M, Vandenabeele P. Necroptosis and its role in inflammation[J]. *Nature*, 2015,517(7534):311–320.
- [10] Newton K. RIPK1 and RIPK3: critical regulators of inflammation and cell death[J]. *Trends Cell Biol*, 2015,25(6):347–353.
- [11] Micheau O, Tschopp J. Induction of TNF receptor I-mediated apoptosis via two sequential signaling complexes[J]. *Cell*, 2003,114(2):181–190.
- [12] Bertrand M J, Milutinovic S, Dickson K M, et al.



- clAP1 and clAP2 facilitate cancer cell survival by functioning as E3 ligases that promote RIP1 ubiquitination[J]. *Mol Cell*, 2008,30(6):689–700.
- [13] Trompouki E, Hatzivassiliou E, Tsihritzis T, et al. CYLD is a deubiquitinating enzyme that negatively regulates NF- κ B activation by TNFR family members[J]. *Nature*, 2003,424(6950):793–796.
- [14] Chen X, He W T, Hu L, et al. Pyroptosis is driven by non-selective gasdermin-D pore and its morphology is different from MLKL channel-mediated necroptosis[J]. *Cell Res*, 2016,26(9):1007–1020.
- [15] Moriwaki K, Chan F K. RIP3: a molecular switch for necrosis and inflammation[J]. *Genes Dev*, 2013,27(15):1640–1649.
- [16] Lee S H, Kwon J Y, Kim S Y, et al. Interferon- γ regulates inflammatory cell death by targeting necroptosis in experimental autoimmune arthritis[J]. *Sci Rep*, 2017,7(1):10133.
- [17] Jhun J, Lee S H, Kim S Y, et al. RIPK1 inhibition attenuates experimental autoimmune arthritis via suppression of osteoclastogenesis[J]. *J Transl Med*, 2019,17(1):84.
- [18] Xia C, Yao Z, Xu L, et al. Structure-based bioisosterism design of thio-benzoxazepinones as novel necroptosis inhibitors[J]. *Eur J Med Chem*, 2021,220:113484.
- [19] McInnes I B, Schett G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis[J]. *N Engl J Med*, 2011,365(23):2205–2219.
- [20] Xu Z, Jin Y, Yan H, et al. High-mobility group box 1 protein-mediated necroptosis contributes to dasatinib-induced cardiotoxicity[J]. *Toxicol Lett*, 2018,296:39–47.
- [21] Raafat I R, Shafik N M, El-Esawy R O, et al. The emerging role of irisin in experimentally induced arthritis: a recent update involving HMGB1/MCP1/Chitotriosidase I-mediated necroptosis[J]. *Redox Rep*, 2022,27(1):21–31.
- [22] Goldstein R S, Bruchfeld A, Yang L, et al. Cholinergic anti-inflammatory pathway activity and High Mobility Group Box-1 (HMGB1) serum levels in patients with rheumatoid arthritis[J]. *Mol Med*, 2007,13(3–4):210–215.
- [23] Brennan F M, McInnes I B. Evidence that cytokines play a role in rheumatoid arthritis[J]. *J Clin Invest*, 2008,118(11):3537–3545.
- [24] Dayer J M. The pivotal role of interleukin-1 in the clinical manifestations of rheumatoid arthritis[J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2003,42 (Suppl) 2:i3–i10.
- [25] Biscetti F, Flex A, Pecorini G, et al. The role of high-mobility group box protein 1 in collagen antibody-induced arthritis is dependent on vascular endothelial growth factor[J]. *Clin Exp Immunol*, 2016,184(1):62–72.
- [26] Korkola R, Li J, Sundberg E, et al. Successful treatment of collagen-induced arthritis in mice and rats by targeting extracellular high mobility group box chromosomal protein 1 activity[J]. *Arthritis Rheum*, 2003,48(7):2052–2058.
- [27] Li Y B, Xu P, Xu K, et al. Methotrexate affects HMGB1 expression in rheumatoid arthritis, and the downregulation of HMGB1 prevents rheumatoid arthritis progression[J]. *Mol Cell Biochem*, 2016,420(1–2):161–170.
- [28] Kitur K, Parker D, Nieto P, et al. Toxin-induced necroptosis is a major mechanism of *Staphylococcus aureus* lung damage[J]. *PLoS Pathog*, 2015,11(4):e1004820.
- [29] Harre U, Schett G. Cellular and molecular pathways of structural damage in rheumatoid arthritis[J]. *Semin Immunopathol*, 2017,39(4):355–363.
- [30] Raymond L, Eck S, Hays E, et al. RelA is required for IL-1 β stimulation of Matrix Metalloproteinase-1 expression in chondrocytes[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2007,15(4):431–441.
- [31] DeGroot J, Verzijl N, Wenting-Van W M, et al. Age-related decrease in susceptibility of human articular cartilage to matrix metalloproteinase-mediated degradation: the role of advanced glycation end products[J]. *Arthritis Rheum*, 2001,44(11):2562–2571.

- [32] Chen Y, Zhu C J, Zhu F, et al. Necrostatin-1 ameliorates adjuvant arthritis rat articular chondrocyte injury via inhibiting ASIC1a-mediated necroptosis[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018,504(4):843-850.
- [33] Niu R, Hang X, Feng Y, et al. ASIC1a promotes synovial invasion of rheumatoid arthritis via Ca(2+)/Rac1 pathway[J]. *Int Immunopharmacol*, 2020,79:106089.
- [34] Wu X, Ren G, Zhou R, et al. The role of Ca(2+) in acid-sensing ion channel 1a-mediated chondrocyte pyroptosis in rat adjuvant arthritis[J]. *Lab Invest*, 2019,99(4):499-513.
- [35] Riegger J, Brenner R E. Evidence of necroptosis in osteoarthritic disease: investigation of blunt mechanical impact as possible trigger in regulated necrosis[J]. *Cell Death Dis*, 2019,10(10):683.
- [36] Kiener H P, Watts G F, Cui Y, et al. Synovial fibroblasts self-direct multicellular lining architecture and synthetic function in three-dimensional organ culture[J]. *Arthritis Rheum*, 2010,62(3):742-752.
- [37] Bartok B, Firestein G S. Fibroblast-like synoviocytes: key effector cells in rheumatoid arthritis[J]. *Immunol Rev*, 2010,233(1):233-255.
- [38] Haringman J J, Gerlag D M, Zwinderman A H, et al. Synovial tissue macrophages: a sensitive biomarker for response to treatment in patients with rheumatoid arthritis[J]. *Ann Rheum Dis*, 2005,64(6):834-838.
- [39] Ziolkowska M, Koc A, Luszczkiewicz G, et al. High levels of IL-17 in rheumatoid arthritis patients: IL-15 triggers in vitro IL-17 production via cyclosporin A-sensitive mechanism[J]. *J Immunol*, 2000,164(5):2832-2838.
- [40] Lefevre S, Knedla A, Tennie C, et al. Synovial fibroblasts spread rheumatoid arthritis to unaffected joints[J]. *Nat Med*, 2009,15(12):1414-1420.
- [41] Fang Z, Lv J, Wang J, et al. C-Reactive Protein Promotes the Activation of Fibroblast-Like Synoviocytes From Patients With Rheumatoid Arthritis[J]. *Front Immunol*, 2020,11:958.
- [42] Lories R J, Derese I, De Bari C, et al. In vitro growth rate of fibroblast-like synovial cells is reduced by methotrexate treatment[J]. *Ann Rheum Dis*, 2003,62(6):568-571.
- [43] Trimova G, Yamagata K, Iwata S, et al. Tumour necrosis factor alpha promotes secretion of 14-3-3eta by inducing necroptosis in macrophages[J]. *Arthritis Res Ther*, 2020,22(1):24.
- [44] MacGregor A J, Snieder H, Rigby A S, et al. Characterizing the quantitative genetic contribution to rheumatoid arthritis using data from twins[J]. *Arthritis Rheum*, 2000,43(1):30-37.
- [45] Ben H M, Cornelis F, Maalej A, et al. A Tunisian case-control association study of a 6q polymorphism in rheumatoid arthritis[J]. *Rheumatol Int*, 2012,32(6):1849-1850.
- [46] Ma A, Malynn B A. A20: linking a complex regulator of ubiquitylation to immunity and human disease[J]. *Nat Rev Immunol*, 2012,12(11):774-785.
- [47] Elsby L M, Orozco G, Denton J, et al. Functional evaluation of TNFAIP3 (A20) in rheumatoid arthritis[J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2010,28(5):708-714.
- [48] Onizawa M, Oshima S, Schulze-Topphoff U, et al. The ubiquitin-modifying enzyme A20 restricts ubiquitination of the kinase RIPK3 and protects cells from necroptosis[J]. *Nat Immunol*, 2015,16(6):618-627.
- [49] Matmati M, Jacques P, Maelfait J, et al. A20 (TNFAIP3) deficiency in myeloid cells triggers erosive polyarthritis resembling rheumatoid arthritis[J]. *Nat Genet*, 2011,43(9):908-912.
- [50] Dziedzic S A, Su Z, Jean B V, et al. ABIN-1 regulates RIPK1 activation by linking Met1 ubiquitylation with Lys63 deubiquitylation in TNF-RSC[J]. *Nat Cell Biol*, 2018,20(1):58-68.
- [51] Moaaz M, Mohannad N. Association of the polymorphisms of TRAF1 (rs10818488) and TNFAIP3 (rs2230926) with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus and their relationship to disease activity among Egyptian patients[J]. *Cent Eur J Immunol*, 2016,41(2):165-175.