DOI: 10. 12289/j. issn. 1008-0392. 23239

·基础研究·

RA 滑膜成纤维样细胞外泌体促进巨噬细胞向 M1 极化

虞珊珊, 李　静, 徐　臻, 成　宇, 宗　明, 范列英
(同济大学附属东方医院检验科,上海　200120)

【摘要】**目的**　探讨类风湿关节炎滑膜成纤维样细胞(rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes, RA-FLS)外泌体在调控巨噬细胞(macrophage, Mø)极化中的作用。**方法**　收集 6 例骨关节炎(osteoarthritis, OA)患者和 6 例类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)患者关节液和滑膜组织,流式微珠阵列(CBA)法检测关节液中 M1 和 M2 型细胞因子的表达;免疫组织化学法检测滑膜中外泌体标志物 CD9 的表达;分离培养原代 RA-FLS 和 OA-FLS 并提取上清液外泌体,使用 Western 印迹法和粒径分析(nanoparticle tracking analysis, NTA)鉴定;实时荧光定量 PCR(RT-PCR)和 CBA 法分别检测 OA-FLS 和 RA-FLS 外泌体对 M1 和 M2 型极化分子 mRNA 水平及细胞因子分泌的影响。**结果**　RA 关节液中 M1 型细胞因子 IL-1β、IL-6、IL-8 及 M2 型细胞因子 IL-10 水平均显著高于 OA 组;RA 滑膜中 CD9 高表达;RA-FLS 分泌的外泌体较 OA-FLS 明显增多;RA-FLS 外泌体刺激 Mø 后,细胞 M1 型极化分子 mRNA 表达和细胞因子分泌均增加。**结论**　RA-FLS 外泌体促进 Mø 向 M1 极化。

【关键词】类风湿关节炎; 滑膜成纤维细胞; 巨噬细胞; 外泌体; M1 型极化
【中图分类号】R392. 12　【文献标志码】A　【文章编号】1008－0392(2023)06－0785－07

M1 polarization is induced by exosomes derived from fibroblast-like synoviocytes from patients with rheumatoid arthritis

YU Shanshan, *LI Jing*, *XU Zhen*, *CHENG Yu*, *ZONG Ming*, *FAN Lieying*
(Clinical Laboratory, Shanghai East Hospital, School of Medicine, Tongji University, Shanghai 200120, China)

【**Abstract**】**Objective**　To investigate the role of exosomes derived from fibroblast-like synoviocytes from patients with rheumatoid arthritis(RA-FLS) in macrophage(Mø) polarization. **Methods**　Synovial fluid and tissue from osteoarthritis(OA) patients($n=6$) and rheumatoid arthritis(RA) patients($n=6$) were collected, and the cytokines in joint fluid were detected using flow cytometry bead array(CBA) method. The expression of extracellular marker CD9 in the synovium was detected with immunohistochemical method. Primary synovial RA-FLS and OA-FLS were isolated, and the exosomes from cell-culture supernatant were identified by Western blotting and nanoparticle tracking analysis(NTA). The effects of OA-FLS and RA-FLS exosomes on the M1 and M2 phenotype genes were determined with real time fluorescence quantitative PCR(qRT-PCR) and CBA. **Results**　The expressions of M1 type markers(IL-1β, IL-6, IL-8), and M2 type marker(IL-10) in RA joint fluid were significantly higher than those in the OA group. High expression of CD9 was detected in RA synovium. RA-FLS was found to secrete more exosomes than OA-FLS. Elevated gene and protein expression levels of M1

收稿日期: 2023-07-18
基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81971535);上海市浦东新区卫生系统优秀青年医学人才培养计划(PWRq2020-21);上海市"医苑新星"青年医学人才培养资助计划(YYXX202101)
作者简介: 虞珊珊(1987—),女,博士,副主任技师. E-mail: shanshan_sh@ 126. com
通信作者: 范列英. E-mail: flieying@ yeah. net

markers were found in Mø treated with RA-FLS derived exosomes. **Conclusion** RA-FLS derived exosomes can induce M1 polarization *in vitro*.

【**Key words**】rheumatoid arthritis; fibroblast-like synoviocytes; macrophage; exosome; M1 polarization

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种以慢性增生性滑膜炎、侵蚀性关节炎为主要表现的自身免疫病,我国大陆地区的 RA 患病率约为 0.28%[1]。其特征性病理变化为关节滑膜炎症细胞浸润、滑膜成纤维细胞(fibroblast-like synoviocytes, FLS)异常增生、血管翳形成,病变的滑膜组织分泌大量炎性细胞因子及酶类侵蚀关节软骨和软骨下骨质,造成关节不可逆性破坏、畸形和功能丧失[2]。FLS 在介导 RA 的直接组织损伤和疾病的持续发展中发挥着至关重要的作用[3],可分泌 IL-6、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)等细胞因子[4-6],影响微环境中其他免疫细胞如单核细胞[7]。单核细胞在关节局部活化为巨噬细胞(macrophage, Mø)后通常分为经典活化型(M1)和替代活化型(M2a、M2b)。M1 具有很强的吞噬免疫清除功能,可分泌 TNF-α、IL-1、IL-6、IL-12 等参与促炎及抗原呈递。M2a 可分泌 TGF-β、VEGF、制瘤素等发挥抗炎、促进伤口愈合和组织修复功能。M2b 则分泌大量 IL-10 和少量 IL-12,发挥免疫抑制、控制炎症反应的作用。目前通常认为在 RA 关节滑膜组织中存在 M1 过度激活,同时 M2 数量和功能不足,是滑膜炎难愈的主要因素[8],其具体机制仍未完全明确。

本课题组前期研究结果证实,相比于对照组骨关节炎(osteoarthritis, OA)滑膜,RA 滑膜中 M1 和 M2 型 Mø 均明显增多;将 RA-FLS 与 Mø 共培养发现,RA-FLS 可促进 Mø 向 M1 极化,其机制有待进一步研究[9]。外泌体是一类直径约为 30~150 nm 的膜性囊泡,介导蛋白质、脂质、miRNA 等活性分子在细胞间的传递[10-12],参与多种细胞生物学过程,如神经元通信[13]、抗原提呈[14]、免疫反应[15]、器官发育[16]。本研究中首先分析了 RA 和 OA 患者关节液中 M1 和 M2 型细胞因子的表达情况,并采用免疫组织化学法分析 RA 和 OA 关节滑膜外泌体标志物 CD9 的表达情况;分离培养滑膜原代 FLS 并提取其上清液外泌体,探究 OA-FLS 和 RA-FLS 来源的外泌体对 Mø 极化的影响。

1 材料与方法

1.1 一般资料

滑膜组织取自 2020 年 6 月—2022 年 10 月于同济大学附属东方医院风湿免疫科就诊的 RA 患者关节镜手术切除和常规病理检查后剩余的滑膜组织。PBMC 从健康志愿者全血中分离,研究经同济大学附属东方医院医学伦理委员会批准(伦理批准号:No. 2020 tjdx),且均取得患者的知情同意。

1.2 试剂与仪器

RPMI 1640 培养液购自美国 Corning 公司;胎牛血清、青霉素、链霉素混合液购自美国 Gibco 公司;M-CSF 购自美国 Sigma 公司;无外泌体血清购自美国 SBI 公司;聚丙烯离心管、超速离心机购自美国 Beckman 公司;透射电子显微镜购自日本日立公司;纳米颗粒跟踪分析仪来自普迈生物科技有限公司;CD9、CD63 抗体购自美国 Abcam 公司;实时荧光定量 PCR 仪来自 ABI 公司;电泳仪购自美国 Bio-Rad 公司;RIPA 裂解液、BCA 试剂、抗体稀释液购自碧云天生物技术有限公司;TRIzol 试剂购自 Invitrogen 公司;miRNA 反转录试剂盒购自广州锐博生物技术有限公司;正置荧光显微镜购自 Leica 公司;流式微珠阵列(CBA)流式术检测 IL-2、IL-4、IL-5、IL-10、IL-12P70、INF-γ、INF-α、TNF-α、IL-17、IL-1β、IL-6 和 IL-8 共 12 项炎症因子试剂盒购自杭州赛基生物科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 CBA 法检测细胞因子 收集 RA 和 OA 关节液或细胞培养上清液,1 000×*g*,离心 20 min,转移上清液至新的离心管。使用细胞因子检测试剂盒按照说明书操作,于流式细胞仪器上检测并分析结果。

1.3.2 免疫组织化学法染色 将滑膜组织样本制成石蜡切片,将切片脱蜡脱水。用 3% H_2O_2 室温孵育 10 min 以清除内源性过氧化物酶。加 20% 山羊血清室温封闭 1 h 后,加一抗(CD9)4 ℃过夜,加入相应二抗室温孵 1 h,加 DAB 显色。显微镜下观察切片,阳性部位呈棕褐色,细胞核呈蓝色。

1.3.3 原代 FLS 分离及培养 手术中取出 RA 及 OA 患者关节内滑膜组织,在无菌条件下剪成 1 mm^3 左右碎块。将组织碎块置于细胞培养瓶内,加入少量 1640 完全培养液。将培养瓶倒扣,置于 5% CO_2、37 ℃培养箱内培养 4~6 h,加入适量完全培养液正置培养。待原代细胞长至融合率达 80%时,进行传代。细胞传至 3~8 代用于下游实验。

1.3.4　FLS 上清液外泌体提取和分析　FLS 以 2×10^5/mL 的密度接种于 10 cm 培养皿中置于 5% CO_2、37 ℃培养箱过夜培养，更换为含 10%无外泌体血清 1640 培养液，置于培养箱继续培养 48 h；收集细胞培养上清液于 50 mL 离心管中，4 ℃，300×*g* 离心 10 min，以去除悬浮细胞，转移上清液至新的离心管；4 ℃，2 000×*g* 离心 10 min，以去除死细胞，转移上清液至新的离心管；4 ℃，10 000×*g* 离心 30 min，进一步离心去除细胞碎片；使用天平称重法绝对配平后放入超高速离心机，100 000×*g*，4 ℃离心 60 min；小心去除上清液，加入无菌 PBS 清洗离心获得的外泌体，100 000×*g*，4 ℃离心 60 min；小心去除上清液，加入无菌 PBS 于冰上溶解外泌体。

1.3.5　NTA　将 3~5 mL 稀释好的样品悬浮液用针管从单向阀打入 NanoSight 纳米颗粒分析仪，等待样品颗粒稳定，再点击按钮 Run Video Acquisition，获取外泌体图像及浓度。

1.3.6　Western 印迹法　在外泌体中加入等体积细胞裂解液，使用移液器吹打数次，于冰上裂解 10 min，14 000×*g* 离心 10 min。上清液液中的蛋白质样品立即收集，BCA 法测定蛋白浓度。取 30 μg 总蛋白用 10% SDS-PAGE 胶分离后转移到 PVDF 膜。在含 5%脱脂奶粉的 PBS 封闭 2 h 后，使用一抗稀释液稀释一抗（CD9、CD63）4 ℃下孵育过夜，随后使用辣根过氧化物酶标记的二抗孵育，洗涤后滴加 ECL 化学发光液，于化学发光成像系统中扫描。

1.3.7　PBMC 分离　采用 EDAT 抗凝管收集健康志愿者血液，使用等体积 PBS 对比稀释。稀释后的全血缓慢加入淋巴细胞分离液上层，于室温 400×*g*，离心 30 min。小心吸取中间云雾层单个核细胞层细胞（PBMC），加入配制好的红细胞裂解液 5 mL，轻轻吹打混匀静置 5 min，室温 300×*g* 离心 5 min。弃上清液，用 3 mL 的 PBS 洗涤液重悬细胞，室温 300×*g* 离心 5 min。重复洗涤 1 次，弃上清液，加入完全 1640 培养液重悬 PBMC。

1.3.8　Mø 诱导　PBMC 以每孔 2×10^4 个接种于 24 孔板中，加入 100 ng/mL C-MSF，放入 5% CO_2、37 ℃ 培养箱中培养 6 d，隔天更换新的培养液并补充 100 ng/mL C-MSF，细胞完全贴壁，即 Mø，用于后续的实验。

1.3.9　RT-PCR 检测　外泌体刺激 Mø 48 h 后，抽提 RNA 并反转录为 cDNA。反应条件为：95 ℃，30 s，95 ℃，5 s，60 ℃，34 s，40 个循环，熔解曲线分析：95 ℃，15 s；60 ℃，1 min；95 ℃，15 s。结果处理：每个检测均作 3 个复孔，计算复孔 Ct 值的平均值，ΔCt 表示目的基因相对表达拷贝数（ΔCt＝目的基因 Ct 值－内参基因 Ct 值），计算 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示实验组目的基因的表达相对于正常对照组目的基因变化倍数。引物序列见表 1。

表 1　引物序列
Tab. 1　Primers

基因名称	正向引物（5′-3′）	反向引物（5′-3′）
CCR-7	GCATTTGTAGTCCTGCTGCG	CTCCTCAGATCTCACCCGTTG
TNF-α	TCTTCTCGAACCCCGAGTGAC	GGTACAGGCCCTCTGATG
IL-10	CACTGCTCTGTTGCCTGGTC	GAAGCATGTTAGGCAGGTTGC
NOS-2	CATGAGCCCCTTCATCAATGC	TTGAAGTCTGTGTCCGAAGGC
TGF-β	CCGAGAAGCGGTACCTGAAC	CGCCAGGAATTGTTGCTGTA
β-actin	CTCTTCCAGCCTTCCTTCCT	AGCACTGTGTTGGCGTACAG

1.4　统计学处理

采用 Graphpad prism 软件进行绘图。采用 SPSS 26.0 软件进行数据分析，每组数据来自 3 次独立实验。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 来表示，两组间比较采用 *t* 检验，$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　　果

2.1　关节滑膜液中细胞因子表达情况

收集 6 例 RA 及 6 例 OA 患者关节滑液标本，通过 CBA 法检测滑液中 IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-1β、IL-17、IL-10、IFN-α、TNF-α、IL-12P70、IFN-γ 共 12 种细胞因子表达情况。结果显示，RA 患者关节液中 M1 型炎性细胞因子 IL-1β（$P<0.05$）、IL-6（$P<0.001$）、IL-8（$P<0.05$）及 M2 型炎性细胞因子 IL-10（$P<0.05$）水平均显著高于 OA 患者，IL-2、IL-4、IL-5、IL-17、IFN-α、TNF-α、IL-12P70、IFN-γ 在两组中均含量较低，差异无统计学意义，见图 1。

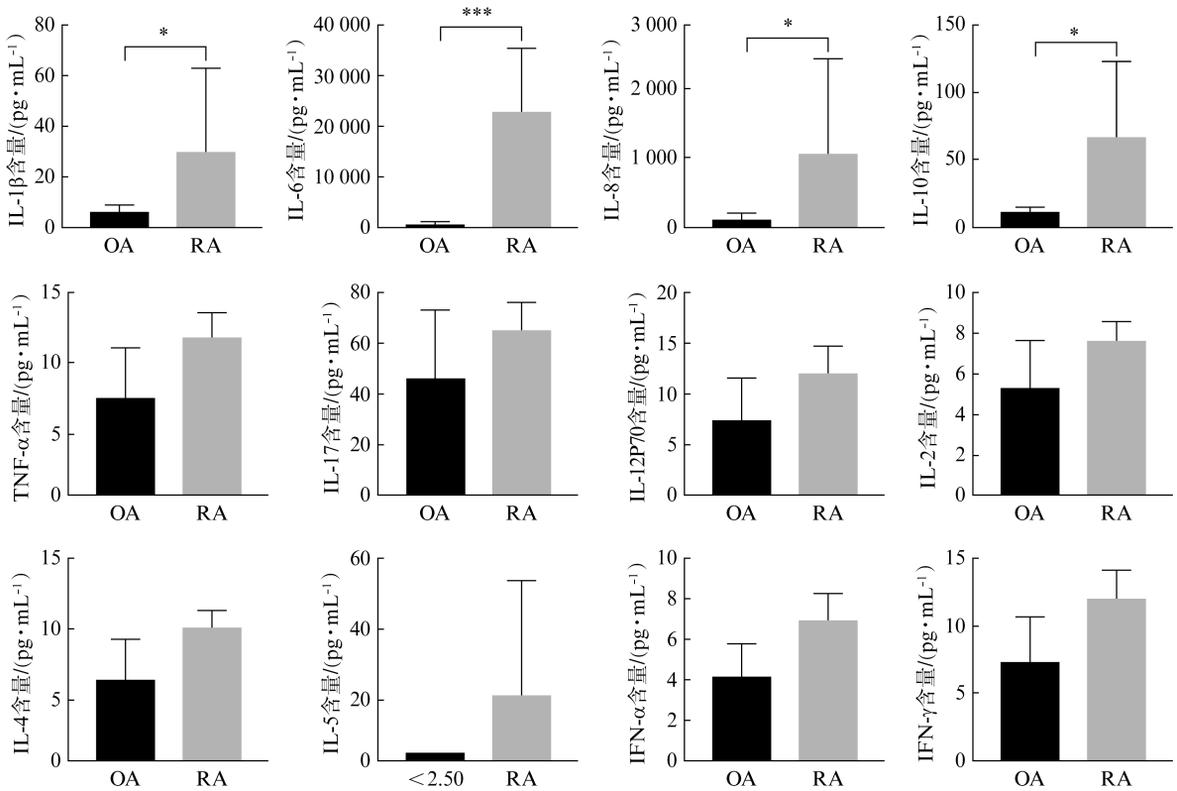

图 1　CBA 法检测 RA、OA 关节液中细胞因子的含量

Fig. 1　Detection of cytokines in synovial fluid of RA or OA by CBA method

$^{*}P<0.05$, $^{***}P<0.001$

2.2　RA 和 OA 滑膜组织 CD9 表达情况

免疫组织化学染色法检测 6 例 RA 和 6 例 OA 患者关节滑膜组织外泌体标志物 CD9 的表达,结果显示 RA 组滑膜中 CD9 分子明显高表达,见图 2。

2.3　外泌体鉴定

分离培养滑膜原代 RA-FLS 和 OA-FLS,并收集细胞培养上清液,通过多次离心去除死细胞、细胞碎片及大囊泡后,经超速离心法获得外泌体。Western 印迹法和 NTA 方法鉴定外泌体;Western 印迹法结果显示,外泌体特异性表面标志物 CD9、CD63 均可被检测到,见图 3A。NTA 结果检测显示外泌体直径大小集中在 100 nm 左右,见图 3B,RA-FLS 提取的外泌体浓度显著高于 OA-FLS($P<0.05$),见图 3C。

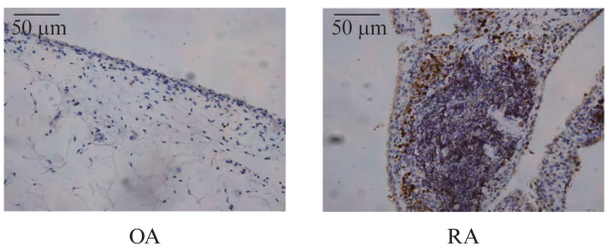

图 2　免疫组化检测 RA 和 OA 滑膜组织 CD9 表达情况

Fig. 2　Detection of CD9 in Synovium of RA or OA by immunohistochemistry

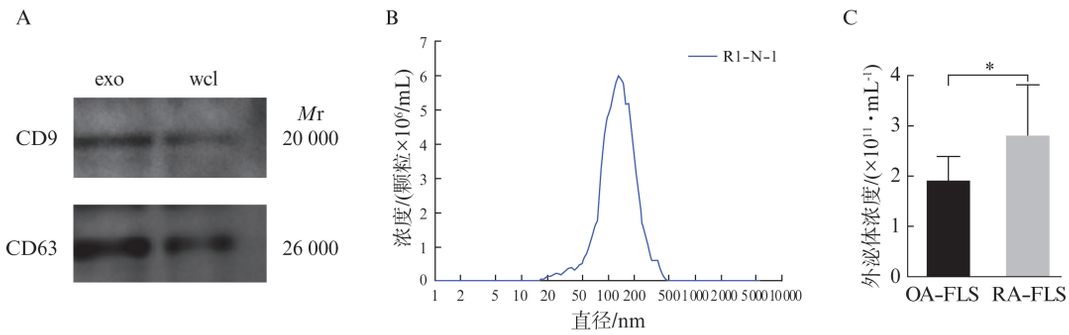

图 3　外泌体鉴定

Fig. 3　Identification of exosomes

A: Western 印迹法检测外泌体标志物 CD9、CD63 的表达;B: NTA 法检测外泌体粒径;C: NTA 检测外泌体浓度,$^{*}P<0.05$

2.4　RA-FLS 外泌体对 Mø 极化的影响

使用 OA-FLS 和 RA-FLS 来源外泌体刺激 Mø，通过 RT-PCR 和 CBA 法检测 Mø 极化分子 mRNA 和细胞因子水平。结果显示，相比于 OA-FLS 外泌体，RA-FLS 外泌体刺激 Mø 后，M1 极化标志物 TNF-α、CCR-7、NOS-2 mRNA 均明显上调表达（$P<0.05$），而 M2a 极化标志物 TGF-β mRNA 明显下调表达（$P<0.05$），M2b 极化标志物 IL-10 mRNA 表达明显上调（$P<0.05$）。在细胞因子水平，RA-FLS 外泌体明显促进 Mø 分泌 IL-6（$P<0.001$）、TNF-α（$P<0.05$）、IL-8（$P<0.05$）分泌，但对 IL-10（$P>0.05$）分泌无影响，其他细胞因子无分泌，见图 4B。上述结果表明，RA-FLS 所产生的外泌体主要促进 M1 极化，对 M2 的无显著影响。

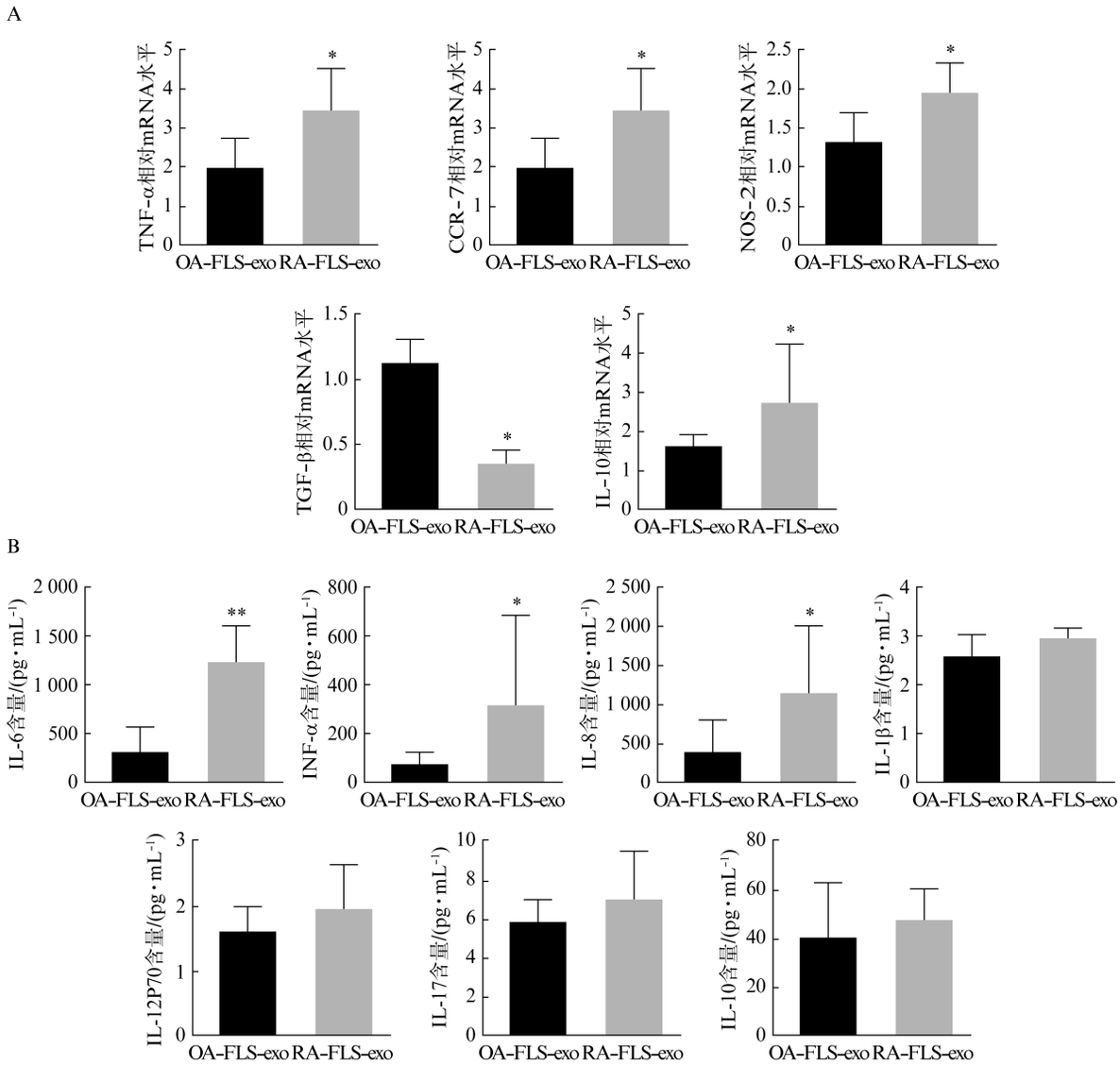

图 4　RA-FLS 外泌体对 Mø 极化的影响

Fig. 4　The effect of RA-FLS exosomes on Mø polarization

A：RT-PCR 法检测 OA-FLS 及 RA-FLS 外泌体对 Mø TNF-α、CCR7、NOS-2、TGF-β 和 IL-10 mRNA 水平的影响；B：CBA 法检测 OA-FLS 及 RA-FLS 外泌体对 Mø 细胞因子分泌的影响，$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.001$

3　讨　　论

Mø 在组织局部受到不同刺激后分化为 M1 和 M2，在 RA 的发病和慢性持续炎症进展中起着重要作用。本研究发现，在 RA 患者关节液中存在明显高水平的包括 IL-1β、IL-6、IL-8 在内的 M1 型细胞因子，同时 M2 型细胞因子 IL-10 水平也显著高于 OA 组。外泌体在细胞和组织之间广泛表达，并在细胞与细胞间相互作用及基因调控中发挥作用，与 Mø 极化密切相关[17]。通过免疫组织化学法发现，在 RA 滑膜中外泌体标志物 CD9 显著高表达，提示 RA 关节滑膜局部可能存在较高浓度外泌体。RA-

FLS 是 RA 滑膜的关键组成细胞,分离培养原代 RA-FLS,并提取其上清液外泌体,通过粒径分析及 Western 印迹法检测颗粒大小以及其表面特异的蛋白标志物 CD9 和 CD63,证实采用超速离心法可有效分离 RA-FLS 细胞上清液外泌体。

以往对 RA-FLS 外泌体进行的研究发现,通过改变 RA-FLS 外泌体中 miR-486-5p 含量,可调节 Tob1/BMP/Smad 信号通路促进成骨,在 RA 的治疗中具有一定前景[18]。本研究发现,相较于 OA-FLS,RA-FLS 分泌的外泌体浓度更高,采用人外周血单个核细胞诱导的 Mø 进行体外实验,证实 RA-FLS 外泌体具有更强的诱导 Mø 向 M1 分化的功能,进一步揭示了 RA-FLS 在 RA 发病及滑膜慢性炎症中的作用,其下游信号通路有待进一步研究。以往研究表明,外泌体中包裹大量 miRNA,并可通过外泌体在细胞间转运并在功能上影响 Mø 表型[17,19-20]。例如,脂肪来源的外泌体中高表达 miR-34a,靶向 Kruppel 样因子 4(KLF4)抑制巨噬细胞向 M2 极化,促进肥胖诱导的脂肪炎症[21]。在肾损伤研究中发现,肾小管上皮细胞来源外泌体中 miRNA-19b-3p 显著高表达,通过负调控细胞因子信号抑制因子-1(SOCS1),并进一步活化 NF-κB,促进巨噬细胞向 M1 极化,最终导致肾损伤的发生[22]。肠癌细胞来源的外泌体 miR-934 通过下调 PTEN 表达和激活 PI3K/AKT 信号通路诱导 M2 极化并促进肠癌肝转移[23]。M1 和 M2 具有截然不同的典型表型和功能,但微环境发生改变时 Mø 极化也可发生可逆性转变[24]。通过调节 Mø 极化来改善 RA 滑膜炎症,有望成为新的免疫治疗目标[25]。因此,分析 RA-FLS 与 OA-FLS 来源外泌体中差异表达 miRNA,探究在 M1/M2 极化起到关键作用的 miRNA 分子及其下游信号通路,将是课题组进一步研究重点。

综上,本研究发现 RA 关节液中 M1 和 M2 型细胞因子高表达,滑膜中外泌体标志物 CD9 表达增高;RA-FLS 外泌体分泌能力明显强于 OA-FLS,并促进 Mø 向 M1 极化。深入研究 RA-FLS 外泌体中对 M1 极化起关键作用 miRNA 及其下游机制,使用药理学或遗传学抑制该关键 miRNA 的功能可能是一种有前景的治疗 RA 的方法。

【参考文献】

[1] LI R, SUN J, REN L M, et al. Epidemiology of eight common rheumatic diseases in China: a large-scale cross-sectional survey in Beijing[J]. Rheumatology (Oxford), 2012,51(4): 721-729.

[2] MCINNES I B, SCHETT G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis[J]. N Engl J Med, 2011,365(23): 2205-2219.

[3] SMOLEN J S, ALETAHA D, BARTON A, et al. Rheumatoid arthritis[J]. Nat Rev Dis Primers, 2018, 4: 18001.

[4] PERLMAN H, BRADLEY K, LIU H T, et al. IL-6 and matrix metalloproteinase-1 are regulated by the cyclin-dependent kinase inhibitor p21 in synovial fibroblasts[J]. J Immunol, 2003,170(2): 838-845.

[5] LEIZER T, CEBON J, LAYTON J E, et al. Cytokine regulation of colony-stimulating factor production in cultured human synovial fibroblasts: I. Induction of GM-CSF and G-CSF production by interleukin-1 and tumor necrosis factor[J]. Blood, 1990, 76(10): 1989-1996.

[6] JANG J, LIM D S, CHOI Y E, et al. MLN51 and GM-CSF involvement in the proliferation of fibroblast-like synoviocytes in the pathogenesis of rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Res Ther, 2006,8(6): R170.

[7] MURRAY P J. Macrophage polarization[J]. Annu Rev Physiol, 2017,79: 541-566.

[8] SCHETT G, TEITELBAUM S L. Osteoclasts and arthritis[J]. J Bone Miner Res, 2009,24(7): 1142-1146.

[9] CHENG Y, SI Y Y, WANG L, et al. The regulation of macrophage polarization by hypoxia-PADI4 coordination in Rheumatoid arthritis[J]. Int Immunopharmacol, 2021,99: 107988.

[10] KALLURI R, LEBLEU V S. The biology, function, and biomedical applications of exosomes[J]. Science, 2020,367(6478): eaau6977.

[11] ZHANG J A, LI S, LI L, et al. Exosome and exosomal microRNA: trafficking, sorting, and function[J]. Genom Proteom Bioinform, 2015,13(1): 17-24.

[12] XU Z J, CHEN Y, MA L, et al. Role of exosomal non-coding RNAs from tumor cells and tumor-associated macrophages in the tumor microenvironment[J]. Mol Ther, 2022,30(10): 3133-3154.

[13] FRÜHBEIS C, FRÖHLICH D, KUO W P, et al. Neurotransmitter-triggered transfer of exosomes mediates oligodendrocyte-neuron communication[J]. PLoS Biol, 2013,11(7): e1001604.

[14] GHORBANINEZHAD F, ALEMOHAMMAD H, NA-

JAFZADEH B, et al. Dendritic cell-derived exosomes: a new horizon in personalized cancer immunotherapy? [J]. Cancer Lett, 2023,562: 216168.

[15] ROBBINS P D, MORELLI A E. Regulation of immune responses by extracellular vesicles[J]. Nat Rev Immunol, 2014,14(3): 195-208.

[16] KORKUT C, ATAMAN B, RAMACHANDRAN P, et al. Trans-synaptic transmission of vesicular Wnt signals through evi/wntless[J]. Cell, 2009, 139(2): 393-404.

[17] YU M Y, JIA H J, ZHANG J, et al. Exosomal miRNAs-mediated macrophage polarization and its potential clinical application[J]. Int Immunopharmacol, 2023, 117: 109905.

[18] CHEN J E, LIU M, LUO X A, et al. Exosomal miRNA-486-5p derived from rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes induces osteoblast differentiation through the Tob1/BMP/Smad pathway[J]. Biomater Sci, 2020,8(12): 3430-3442.

[19] MORADI-CHALESHTORI M, HASHEMI S M, SOUDI S, et al. Tumor-derived exosomal microRNAs and proteins as modulators of macrophage function[J]. J Cell Physiol, 2019,234(6): 7970-7982.

[20] WANG J, LONG R M, HAN Y W. The role of exosomes in the tumour microenvironment on macrophage polarisation[J]. Biochim Biophys Acta BBA Rev Cancer, 2022,1877(6): 188811.

[21] PAN Y, HUI X Y, HOO R L C, et al. Adipocyte-secreted exosomal microRNA-34a inhibits M2 macrophage polarization to promote obesity-induced adipose inflammation[J]. J Clin Investig, 2019,129(2): 834-849.

[22] LV L L, FENG Y, WU M, et al. Exosomal miRNA-19b-3p of tubular epithelial cells promotes M1 macrophage activation in kidney injury[J]. Cell Death Differ, 2020,27(1): 210-226.

[23] ZHAO S L, MI Y S, GUAN B J, et al. Tumor-derived exosomal miR-934 induces macrophage M2 polarization to promote liver metastasis of colorectal cancer [J]. J Hematol Oncol, 2020,13(1): 156.

[24] 寇玥婷,成颖莹,王娟,等. 5 羟色胺 4 受体激动剂对糖尿病小鼠结肠黏膜巨噬细胞极化的影响[J]. 同济大学学报(医学版),2021,42(4): 453-458,466.

[25] ALIVERNINI S, MACDONALD L, ELMESMARI A, et al. Distinct synovial tissue macrophage subsets regulate inflammation and remission in rheumatoid arthritis [J]. Nat Med, 2020,26(8): 1295-1306.