

综述

程序性细胞死亡在类风湿关节炎中的研究进展

韩珂^{1,2}, 丁子夏³, 何晓宇¹, 吴天宇⁴, 孟宇航³, 杜邦³, 张小楠^{1,5,*}

蚌埠医科大学¹心脑血管疾病基础与临床重点实验室; ²人体解剖学教研室; ³临床医学院; ⁴公共卫生学院; ⁵病理生理学教研室, 蚌埠 233000

摘要: 类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种慢性炎性系统性疾病, 其病因仍不明确。该疾病以对称性手、足等远端小关节的侵袭性炎症为主要病理特征, 可导致关节畸形及功能丧失, 且常伴肺、心脏等器官的受累。目前用于治疗RA的抗风湿药虽然能够改善病情, 但仍存在明显毒副作用, 亟待进一步的优化。因此, 深入解析 RA 发生和发展机制对新药物靶点的开发至关重要。程序性细胞死亡(programmed cell death, PCD)在RA中的重要作用受到了广泛关注, 特别是在滑膜细胞、免疫细胞和骨细胞中, PCD的失调现象尤为显著。本文综述了PCD的多种形式, 包括凋亡、NETosis、自噬、焦亡、坏死性凋亡、铁死亡、铜死亡等在RA中的调控作用, 并探讨了它们在成纤维滑膜细胞、免疫细胞和骨细胞等中的调控作用。这些研究不仅为优化RA临床治疗方案提供了重要理论依据, 也为新靶点药物的研发指明了方向。

关键词: 类风湿关节炎; 程序性细胞死亡; 调控作用

The research development of programmed cell death in rheumatoid arthritis

HAN Ke^{1,2}, DING Zi-Xia³, HE Xiao-Yu¹, WU Tian-Yu⁴, MENG Yu-Hang³, DU Bang³, ZHANG Xiao-Nan^{1,5,*}

¹Key Laboratory of Cardiovascular and Cerebrovascular Diseases; ²Department of Human Anatomy; ³Clinical Medicine Department; ⁴School of Public Health; ⁵Department of Pathophysiology, Bengbu Medical University, Bengbu 233030, China

Abstract: The etiology of rheumatoid arthritis (RA), a chronic inflammatory systemic disease, remains unclear. It is characterized by symmetrical and invasive joint inflammation, primarily affecting distal small joints such as those in the hands and feet. This inflammation can lead to joint deformity and loss of function, and often accompanied by involvement of extra-articular organs like the lungs and heart. Currently, anti-rheumatic drugs only provide symptom improvement but have toxic side effects that require optimization. Therefore, it is crucial to thoroughly analyze the mechanisms underlying RA development for the identification of new drug targets. Programmed cell death (PCD) has been extensively studied in recent years and proved to be one of the key pathogenic factors in RA. Dysregulation of PCD is particularly evident in synoviocytes, immune cells, and osteocytes. This review summarizes various forms of PCD including apoptosis, NETosis, autophagy, pyroptosis, necroptosis, ferroptosis, cuproptosis, as well as their regulatory roles in fibroblast synoviocytes, immune cells and osteocytes. These findings hold significant theoretical implications for optimizing clinical treatment options for RA and developing new target drugs.

Key words: rheumatoid arthritis; programmed cell death; regulatory roles

1 类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)的发病机制

RA 是一种以滑膜炎症和关节破坏为特征的慢

性自身免疫性炎症疾病, 以小关节受累最为多见, 通常呈对称性, 女性的发病率明显高于男性。随着 RA 患者病程的延长或病情控制不佳, 其不良临床

This work was supported by the Major Project of Anhui Provincial Department of Education (No. 2023AH051964), Graduate Scientific Research Innovation Project of Bengbu Medical University (No. Byycx23079) and National Innovation and Entrepreneurship Training Program for College Students (No. Byycx23079).

*Corresponding author. E-mail: zhangxn@bbmc.edu.cn

结局风险显著增加,还可导致关节以外的器官病变,如肺部疾病、心血管疾病、恶性肿瘤等^[1,2]。RA检测特异性指标为类风湿因子(rheumatoid factor, RF)和抗环瓜氨酸肽(cyclic citrullinated peptide, CCP)表达水平的升高^[3]。遗传和环境是RA发病的重要因素,长期吸烟、牙周病和肠道菌群失调等因素也与RA发病相关,其发病因素的多元性导致该病具有高度异质性,从而增加了治疗的难度^[4]。

参与RA发病过程的细胞包括成纤维细胞样滑膜细胞(fibroblast-like synoviocytes, FLS)、T淋巴细胞、B淋巴细胞、单核-巨噬细胞、中性粒细胞、软骨细胞、成骨细胞和破骨细胞等。其中CD4⁺T细胞在疾病发生和发展中具有重要作用。在RA的病灶区域,CD4⁺T细胞的过度活化导致大量炎性因子分泌,进而激活FLS引发持续的滑膜炎和关节软骨的破坏^[5]。在RA进展过程中,FLS在免疫细胞激活和各种炎性因子的作用下过度增殖,而凋亡减少。并且在滑膜细胞分泌促炎细胞因子作用下,滑膜细胞产生基质降解酶使软骨细胞外基质破坏和退化。另外,T细胞和B细胞的细胞死亡比例失调增加了自身免疫和炎症反应,再加上单核-巨噬细胞和中性粒细胞的细胞死亡比例失调也产生了各种病理反应。简单来说就是免疫细胞增殖,巨噬细胞浸润滑膜组织使滑膜增厚,形成滑膜炎,FLS和免疫细胞分泌的细胞因子侵蚀软骨,形成RA(图1)。

在RA中,各种炎症细胞浸润滑膜组织,其中巨噬细胞在RA患者病理生理反应中发挥着至关重要的作用^[6]。巨噬细胞被激活为M1型,分泌多种炎性细胞因子,如肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素(interleukin, IL)-1 β 、IL-6和基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs),以促进和加重关节炎^[7]。此外,M1巨噬细胞还可增加软骨细胞和成骨细胞的细胞死亡、破骨细胞的过度增殖和炎性因子的分泌,加重RA的滑膜炎及骨和软骨的破坏^[8]。因此,多种类型细胞死亡失调的相互作用,形成RA的复杂病理环境,加重RA的发病。其中一部分患者接受传统临床药物和免疫靶向治疗效果并不理想,因此可以考虑将程序性细胞死亡(programmed cell death, PCD)作为未来临床治疗的干预靶点之一。

2 PCD在RA中的作用

目前,依据不同的细胞死亡形式将PCD分为凋亡(apoptosis)、NETosis、自噬(autophagy)、焦亡(pyroptosis)、坏死性凋亡(necroptosis)、铁死亡(ferroptosis)、铜死亡(cuproptosis)7种生物学过程。维持机体发育和稳态除了需要对细胞增殖进行调控,还需对机体不需要或具有潜在威胁的细胞进行清除,PCD就是机体清除细胞的主要手段^[9]。在PCD中,发育过程和应激信号刺激膜结合蛋白和细胞质蛋白,通过转录变化和翻译后蛋白修饰引发细

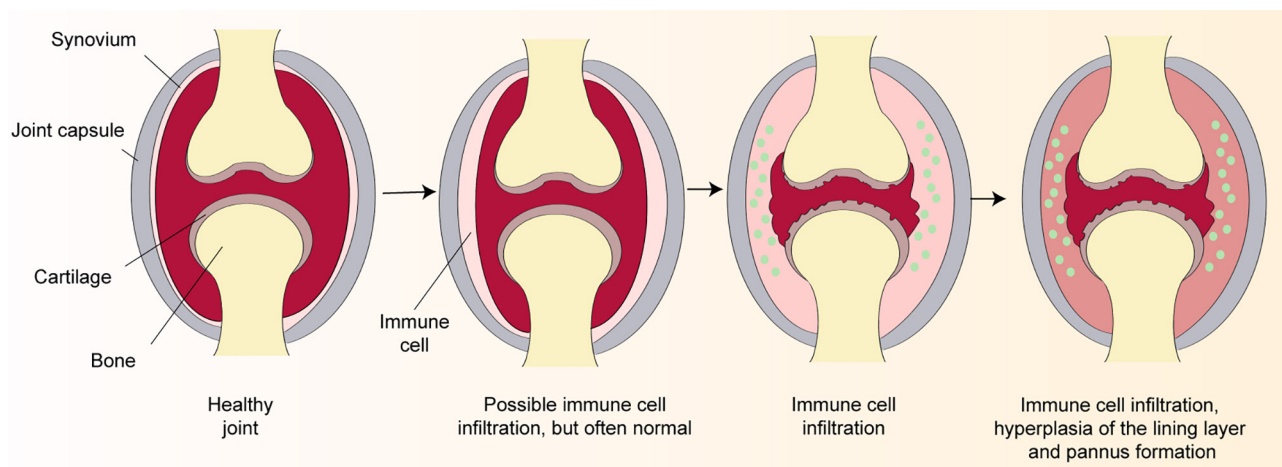


图 1. 类风湿性关节炎的发病过程

Fig. 1. The pathogenesis process of rheumatoid arthritis (RA). During the progress of RA, immune cell hyperplasia is shown firstly in healthy knee joints, but it is still normal at this time. Subsequent infiltration of macrophages further develops, and synovial tissue thickens. Eventually, pannus is formed and the cartilage is eroded, forming a common form of RA.

胞死亡^[10]。凋亡确保成熟生物体的正常发育和组织稳态, 而焦亡和坏死性凋亡的发生则保护宿主免受病原体等外部威胁。NETosis 是指活化的中性粒细胞将核 DNA 释放到细胞外环境并在此过程中捕获和中和病原体。而自噬是细胞内的细胞器与可溶性大分子被转至溶酶体内部降解的过程。铁死亡是由脂质活性氧积累引起的铁依赖性调节形式的细胞死亡^[11]。铜死亡是一种由线粒体中铜的靶向积累引发的细胞死亡^[12]。各种 PCD 对 RA 的作用总体上是殊途同归, 其结果都是使 FLS、免疫细胞和破骨细胞增殖, 软骨细胞和成骨细胞受损 (图 2)。此外, 现在有越来越多的证据表明, 不同的 PCD 通路在多个层面上是相互作用的, 这点在 RA 中也得到了充分的证明。

2.1 凋亡在 RA 中的调节作用

凋亡作为最早被发现的 PCD 的形式, 已经被广泛研究。目前发现其主要通过三种途径介导细胞死亡: 基于 caspase8 的外源性途径 (也叫死亡受体途径), 基于 caspase9 的内源性途径 (也叫线粒体途径), 以及内质网途径。在外源性途径中, 肿瘤坏死因子受体超家族成员 6 (TNF receptor superfamily member 6, FAS) 与其配体 (Fas ligand, FASL) 结合, 导致 FAS 三聚体的构象变化, FAS、FAS 相关死亡结构域蛋白 (Fas death domain-associated protein, FADD) 和 caspase8 前体蛋白形成死亡诱导信号复合物 (death-inducing signaling complex, DISC), caspase8 前体蛋白在 DISC 中成熟为 caspase8 蛋白。Caspase8 蛋白激活截切 caspase3 前体蛋白使之成熟为 caspase3^[13]。在内源性途径中, 促凋亡信号或者毒性物质激活 B 淋巴细胞瘤 -2 基因 (B-cell lymphoma-2, BCL-2) 家族的促凋亡成员, 从而刺激线粒体释放调节凋亡的分子, 介导凋亡的发生^[14]。其中细胞色素 C、caspase9 前体蛋白和凋亡酶激活因子 1 (apoptotic protease activating factor-1, APAF1) 形成凋亡小体, 使 caspase9 前体蛋白成熟为 caspase9, caspase9 激活截切 caspase3 前体蛋白生成 caspase3^[13]。Caspase3 又被称为细胞凋亡的执行者, 因其具有剪切管家蛋白和 DNA 片段的功能, 也被认为是参与凋亡途径的关键效应分子。此外, 当细胞在氧化应激、营养不足、病毒感染等情况下, 内质网会受损, 导致蛋白质合成和折叠异常, 进而触发内质网应激反应, 然后通过外源性和内源性途径介导细胞凋亡, 完成内质网途径。

在 RA 中, 抗凋亡蛋白 CD47、BCL-2、Bax、Bak 等在滑膜组织中均明显高表达, 同时, 促炎细胞因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-7、IL-8、IL-12、IL-15、IL-17、IL-18、IL-23、IL-32、干扰素 γ (interferon γ , IFN- γ) 等和血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 表达也增高^[15]。综上所述, 凋亡与 RA 的发生和发展密切相关, 可通过不同的途径介导多种细胞的凋亡发生。

2.1.1 凋亡调控 FLS 的增殖

在 RA 的发病过程中, 由于 FLS 的 FAS/FASL 凋亡途径受到抑制, 导致滑膜细胞的异常增殖, 这是 RA 的重要发病机制之一。

有研究表明, IL-1 β 显著降低 BCL-2 和 BCL-xL 的表达, 同时显著升高活性 caspase3 蛋白的表达水平从而促进 FLS 的凋亡^[16]。半乳糖凝集素 1 衍生肽 3 (galectin-1 derived peptide 3, G1dP3) 除了可以显著降低 TNF- α 诱导的 MH7A 滑膜细胞中炎症细胞因子的表达, 还具有促其凋亡的作用^[17]。IL-34 可使促炎细胞因子和 VEGF 表达显著上调, 抑制 RA-FLS 凋亡^[18]。RA-FLS 中活化转录因子 6 α (activating transcription factor 6 α , ATF6 α) 可以直接靶向人杆状病毒 IAP 重复序列包含蛋白 3 (baculoviral IAP repeat-containing protein 3, BIRC3), 促进炎症因子的分泌, 减少细胞凋亡^[19]。也有研究证实, RA 患者滑膜液中信号素 5A 升高, 增强其与受体的结合, 从而促进细胞因子分泌、FLS 增殖和迁移, 减少细胞凋亡。而用小干扰 RNA 敲除神经丛蛋白 (Plexin)-A1 和 Plexin-B3 后, 信号素 5A 增强 FLS 激活和减少细胞凋亡的作用明显消失, 滑膜增生和滑膜炎症得到明显改善^[11]。总而言之, RA-FLS 中的抗凋亡作用和促炎因子的表达是呈正相关的。

2.1.2 凋亡介导免疫细胞的激活

在 RA 中免疫细胞的凋亡受到抑制, 使其异常扩增, 导致免疫细胞介导的信号通路过度激活。大量的免疫细胞浸润滑膜并与其它免疫细胞和滑膜成纤维细胞相互作用, 释放大量炎症介质, 导致滑膜组织慢性炎症的发生。而错综复杂的 RA 发病机制又会促使软骨细胞和成骨细胞的过度凋亡, 导致大量破骨细胞生成, 加重骨和软骨的破坏。

70 kDa 的 ζ 链相关蛋白 (ζ -chain associated protein of 70 kDa, ZAP-70) 是脾脏酪氨酸激酶蛋白激酶家族成员, 也是 T 细胞成熟和活化的关键蛋白之一。ZAP-70 表达缺失或突变会导致罕见且严重的联合

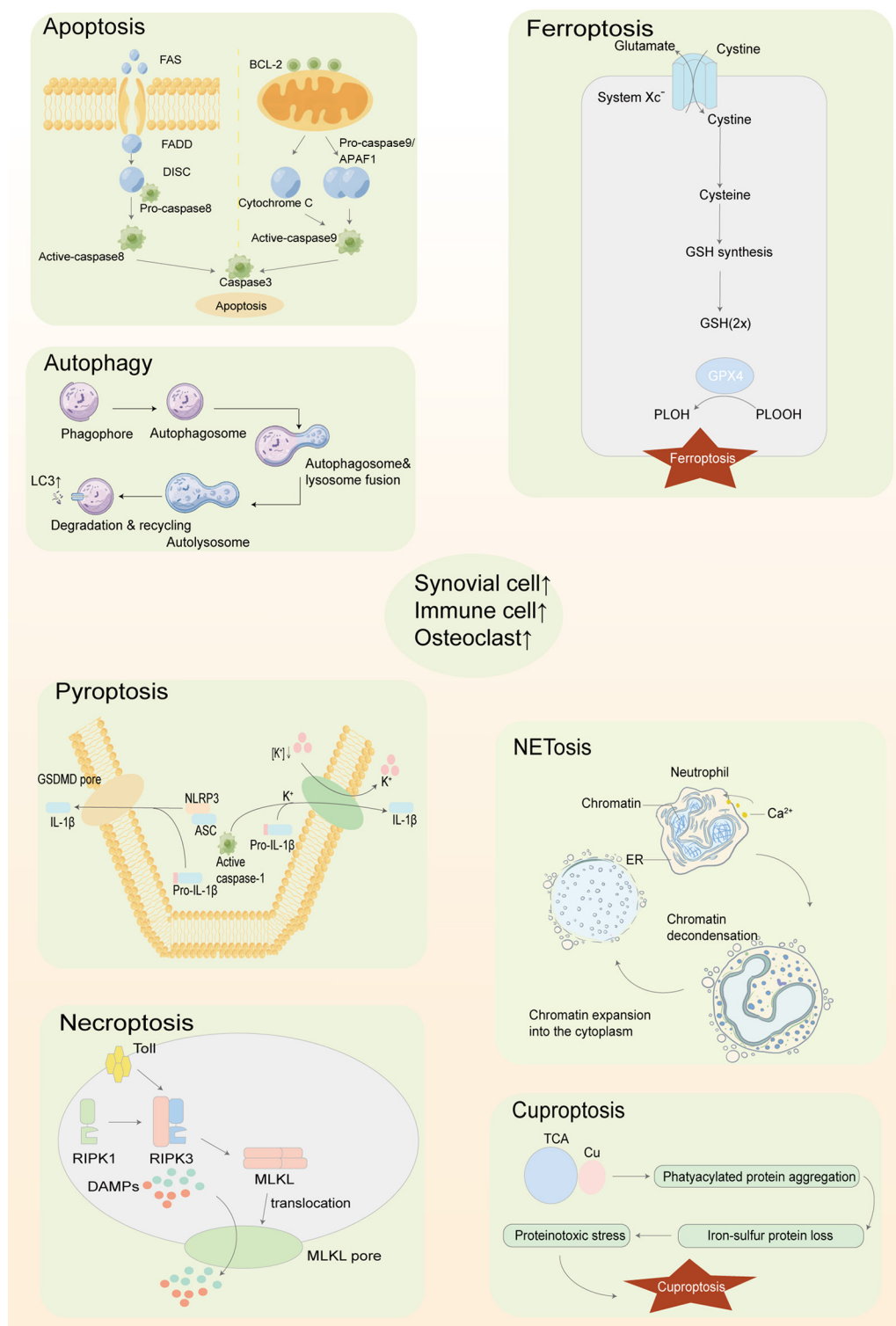


图 2. 程序性细胞死亡在类风湿关节炎中作用方式与途径

Fig. 2. Forms and pathways of programmed cell death (PCD) in rheumatoid arthritis (RA). FAS: TNF receptor superfamily member 6; FADD: Fas death domain-associated protein; DISC: death-inducing signaling complex; BCL-2: B-cell lymphoma-2; APAF1: apoptotic protease activating factor-1; LC3: microtubule-associated-protein light-chain-3; GSDMD: gasdermin D; NLRP3: NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3; ASC: apoptosis-associated speck-like protein containing CARD; IL: interleukin; ER: endoplasmic reticulum; RIPK: receptor-interacting serine-threonine kinase; MLKL: mixed lineage kinase domain-like; DAMPs: damage associated molecular patterns; GPX4: glutathione peroxidase 4; GSH: glutathione; PLOOH: phospholipid hydroperoxide; PLOH: phospholipid alcohol; TCA: tricarboxylic acid.

免疫缺陷,在 ZAP-70 敲除的 RA 小鼠中关节炎病情较轻,这种情况可能是因为 T 细胞活化减少伴随细胞凋亡增加所致^[20]。Caspase 招募结构域家族成员 6 (caspase recruitment domain family, member 6, CARD6) 是含 CARD 结构域蛋白的典型成员,与炎症和细胞凋亡的进展有关。在巨噬细胞中,脂多糖 (lipopolysaccharides, LPS) 或 TNF- α 诱导的凋亡因 CARD6 表达的增加而显著减弱^[21]。有研究证明过度表达整合素 $\alpha 2$ (integrin $\alpha 2$, ITGA2) 可促进人急性 T 细胞白血病细胞 (Jurkat) 细胞增殖并抑制其凋亡,同时伴有炎症因子 IL-8、IFN- γ 和 TNF- α 分泌水平的升高^[22]。

2.1.3 凋亡加重骨细胞的损伤

在 RA 中,破骨细胞过度增殖,凋亡受到抑制从而加重骨破坏。FLS 分泌的分泌性磷酸化蛋白 1 (secreted phosphoprotein 1, SPP1) 在胶原诱导的关节炎 (collagen induced arthritis, CIA) 动物模型中可以通过 PI3K/AKT 信号通路促进破骨细胞的形成^[23]。因此,促进过度增殖的滑膜细胞、过度活化的免疫细胞和破骨细胞的凋亡,并促进软骨细胞和成骨细胞的生成可能是治疗 RA 的一种有效策略。

2.2 自噬在 RA 中的调节作用

自噬是一种针对细胞内各种成分进行降解的过程,最早于 1962 年在人的肝细胞中观察到。自噬的主要作用是通过饥饿适应、降解错误折叠蛋白和受损的细胞器、抗凋亡和消除细胞内病原体来维持细胞内稳态。自噬有三种类型:大自噬、微自噬和伴侣介导的自噬。所有自噬类型都可以促进溶酶体上细胞质成分的蛋白水解和降解。自噬的分子机制主要涉及自噬信号的激活、自噬体膜的形成以及自噬前体的形成,最后形成完整的自噬体。微管相关蛋白 1 轻链 3 (microtubule-associated-protein light-chain-3, LC3) 是自噬标志物,自噬形成时,胞浆型 LC3 (即 LC3-I) 会转变为膜型 LC3 (即 LC3-II), LC3-II/I 比值的大小可估计自噬水平的高低。生物信息学分析鉴定 RA 外周血中自噬相关生物标志物 EEF2、HSP90AB1 和 TNFSF10 的表达与各种免疫细胞和免疫因子之间存在显著关联,另外治疗 RA 的常用药物羟氯喹和氯喹被证明可以抑制 T 细胞的自噬,所以自噬紊乱是 RA 发生和发展的重要原因^[24, 25]。

2.2.1 自噬调节 FLS 的增殖和侵袭

RA-FLS 中自噬功能紊乱导致滑膜组织增生且自噬相关蛋白 Beclin1、LC3 的表达显著增加,且

可以抑制自身凋亡^[26]。

FLS 中 IL-17 的抗凋亡功能依赖于自噬,研究表明 IL-17 可以诱导线粒体功能障碍从而增加 LC3 的表达水平,经 IL-17 处理的 FLS 线粒体中 BCL-2 的表达增加, caspase1 和 caspase3 蛋白的表达水平降低^[27]。IL-27 能够抑制 RA 中 FLS 的增殖和自噬活性,诱导细胞凋亡^[28]。也有研究表明重组抗 TNF- α 融合蛋白 (recombinant anti-TNF- α fusion protein, FVH1-1) 可抑制 TNF- α 诱导的 L929 细胞溶酶体自噬,且自噬底物 P62 的表达降低^[29]。RA 患者血清中的 IL-36 和 IL-38 升高,经实验验证 IL-36 促进 SW982 细胞中 LC3-I 向 LC3-II 转化,而 IL-38 却抑制了 LC3-II 的表达,证实了 IL-36 促进自噬发生,IL-38 抑制自噬,在此过程中 IL-38 促进 SW982 细胞的增殖、迁移和侵袭,而 IL-36 对 SW982 细胞的迁移和侵袭起到抑制作用^[30]。

2.2.2 自噬介导免疫细胞的激活

自噬在免疫细胞的调控中具有重要的作用,RA 滑膜组织中 CD4⁺ T 细胞、中性粒细胞等可以通过提高自噬水平抑制自身凋亡。

6-磷酸果糖-2-激酶/果糖-2,6-二磷酸酶 3 (6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-biphosphatase 3, PFKFB3) 是一种调节糖酵解的酶,其在 RA 患者的 T 细胞中表达减少。PFKFB3 表达水平的降低会抑制 T 细胞的代谢重编程过程,导致能量合成受限,活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 产生和自噬受到抑制,从而增强细胞凋亡的敏感性,自噬作为提供能量和生物合成前体分子的能力丧失^[31]。在药物治疗中,羟氯喹可以在 RA 患者的 CD4⁺ T 细胞中通过干扰线粒体超氧化物产生和诱导过度 ROS 抑制自噬,从而抑制激活的 CD4⁺ T 细胞增殖^[32]。

研究表明 RA 患者滑液中的中性粒细胞 LC3 蛋白表达随着溶酶体 pH 的降低而升高,当滑液中 IL-6、IL-8、IL-10 和 MCP-1 浓度较高时,可以通过细胞因子-细胞因子受体相互作用和 IL-17 信号通路的作用介导 RA 中性粒细胞的自噬^[33]。研究发现青藤碱在体外可以抑制佛波肉豆蔻醋酸 (phorbol 12-myristate 13-acetate, PMA) 诱导的中性粒细胞自噬,Beclin-1 和 LC3-II 的表达水平降低,并且可以抑制 PMA 诱导的中性粒细胞外诱捕网 (neutrophil extracellular traps, NETs) 形成^[34]。还有研究表明,自噬可以增加抗原呈递细胞自身抗原的提呈,免疫细胞中的巨噬细胞、树突状细胞和 B 细胞在抗原接

触自噬小泡后进行自噬,产生 CCP^[35]。可见自噬在 RA 中可通过调节多种免疫细胞的功能发挥作用。

2.2.3 自噬保护骨细胞的损伤

自噬在软骨细胞和成骨细胞中起着重要的保护作用,自噬下调可以造成骨质破坏。

相关实验结果表明,青蒿琥酯可上调软骨细胞凋亡和自噬相关蛋白 mRNA 水平的表达,可以导致 PI3K、AKT、mTOR、BCL-2 和 Bcl-xl 的 mRNA 和蛋白水平的表达量降低, Bax、LC3-I、LC3-II 和 Beclin-1 的 mRNA 和蛋白水平的表达升高^[34]。组织酸中毒引起的酸性感应离子通道 1a (acid-sensing ion channel 1a, ASIC1a) 的激活在 RA 软骨损伤中起重要作用。用雌二醇处理原代关节软骨细胞可降低 ASIC1a、LC3、Beclin-1 蛋白水平, p62 表达水平增高, 炎症因子 IL-1 β 和 TNF- α 的分泌降低^[36]。

雷帕霉素 (rapamycin, RAPA) 是一种哺乳动物雷帕霉素靶蛋白通路阻断剂,可以增加经 TNF- α 处理的成骨前细胞中 Parkin 和 LC3-II/I 蛋白水平的表达,减少 p62 蛋白含量,从而提高自噬水平,增强细胞活力^[37]。组织蛋白酶 K (cathepsin K, Ctsk) 是一种溶酶体半胱氨酸蛋白酶,主要在破骨细胞中表达,在骨吸收中起关键作用。激活 Toll 样受体 9 (Toll-like receptor 9, TLR9) 后,自噬的关键蛋白转录因子 EB (transcription factor EB, TFEB) 表达增加,且几乎全部 TFEB 进入细胞核发挥功能。抑制 Ctsk 则可下调 TLR9 通路,减少 RA 中的骨破坏^[35]。

针对自噬对骨细胞的保护作用,促进软骨细胞和成骨细胞的自噬,抑制 FLS、免疫细胞和破骨细胞的自噬是 RA 治疗的策略之一,但是自噬在 RA 中作用的分子机制复杂,仍需进一步的深入探究。

2.3 焦亡在 RA 中的调节作用

1992 年首次提出焦亡这个概念,因在 2001 年观察到细菌感染的巨噬细胞依赖于 caspase-1 活性并经历了快速溶解的细胞死亡,这个术语才正式被提出^[38]。焦亡传统意义上指 caspase-1 介导的细胞死亡, caspase-1 将消皮素 D (gasdermin D, GSDMD) 裂解成一个 N 端和一个 C 端片段, N 端在细胞膜的内小叶形成跨膜孔,导致细胞内钾外流和细胞外水内流,从而破坏膜电位并导致细胞破裂, C 端在未加工的 GSDMD 中发挥自抑制作用^[39-41]。除了激活 GSDMD 形成跨膜孔外, caspase-1 还促进 IL-1 β 前体和 IL-18 前体活化形成 IL-1 β 和 IL-18,从而形成炎症反应^[38]。研究发现其他 caspase, 如 caspase-3、

4、5、11 都能够触发焦亡^[39], caspase-1/4/5/11 可以靶向 GSDMD^[42, 43], 而 caspase-3 可以切割消皮素 E (gasdermin E, GSDME)^[13, 39]。目前, GSDMD 和 GSDME 介导的细胞焦亡在 RA 中已被广泛研究。

2.3.1 焦亡调节 FLS 的增殖和凋亡

FLS 的焦亡可以抑制其凋亡并过度增殖,释放大量的炎症因子。环状 RNA (circular RNA, circRNA) 是一种新发现的内源性非编码 RNA,其作为 miRNA 分子海绵调节基因表达并与蛋白质相互作用^[44, 45]。Hsa_circ_0044235 在 RA 患者中明显低表达,可使 LPS/ATP 诱导的 FLS 中的 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 (NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3)、凋亡相关斑点样蛋白 (apoptosis-associated speck-like protein containing CARD, ASC)、活化的 caspase-1 和 IL-1 β 的表达降低^[46, 47]。

研究表明芒果苷和肉桂酸的联合用药可以通过 TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路抑制焦亡从而缓解关节炎炎症和骨侵蚀。该联合用药有效降低 LPS/ATP 诱导的 RAW264.7 和 MH7A 细胞中 NLRP3、ASC、caspase-1、GSDMD-NT 等蛋白的表达水平,降低细胞上清液中 IL-1 β 、IL-18 和 LDH 的水平^[42]。而芍药苷 (muramyl dipeptide, MDP) 也可以显著抑制 RA 大鼠 FLS 中低氧诱导因子 -1 α 和 GSDMD-N 表达水平的升高^[43]。

2.3.2 焦亡调节免疫细胞的激活

来自 RA 患者的单核细胞和巨噬细胞显示出活化的 caspase-3、GSDME 和 GSDME-N 的表达增加, GSDME-N 的表达与疾病活动度呈正相关。此外, TNF 可通过激活 caspase-3/GSDME 途径诱导单核细胞和巨噬细胞中的焦亡,且使用 caspase-3 抑制剂和 GSDME 抑制剂可显著阻断 TNF 诱导的焦亡^[39]。RA 患者 CD4⁺ T 细胞焦亡也与疾病严重程度密切相关,花生四烯酸 5-氧化酶 (arachidonate 5-lipoxygenase, ALOX5) 在 RA CD4⁺ T 细胞中的表达和含量增加,且可以促进 CD4⁺ T 细胞焦亡,抑制 ALOX5 可减轻 RA 滑膜中 T 细胞焦亡和炎症因子的表达^[48]。

DNA 聚合酶 β (polyase β , Pol β) 是碱基切除修复的关键酶^[49]。活动期的 RA 患者和 CIA 小鼠模型的外周血单核细胞中 Pol β 的表达量显著降低。实验表明, Pol β 敲低可使 LPS/ATP 诱导的 RAW264.7 激活 cGAS/STING/NF- κ B 信号通路,上调 NLRP3、GSDMD-N、IL-1 β 和 IL-18 的表达从而加重焦亡^[49]。

在 RA 患者中, 初始 CD4⁺T 和记忆型的 CD4⁺T 细胞中 DNA 修复核酸酶 (MRE11A) 处于较低的水平^[50]。T 细胞敲除 MRE11A 会使线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 泄漏到细胞质中, 引发炎症小体生成、caspase-1 激活。敲低 MRE11A 可使 T 细胞活力下降, 死亡率提高并释放 LDH^[51]。

研究表明, 正五聚蛋白 3 (pentraxin-3, PTX3) 在 RA 中高表达, 并优先与 CD14⁺ 单核细胞结合。PTX3 与 C1q 协同作用, 通过协同增强 NLRP3 炎症小体过度激活和诱导 GSDMD 裂解, caspase-1、IL-6 释放, 从而促进单核细胞焦亡。另一方面, IL-6 也能促进 PTX3/C1q 诱导的单核细胞焦亡^[52]。本研究组研究发现加味甘草附子汤可以下调脾脏中 TLR4、caspase-1、NLRP3 等焦亡相关蛋白表达, 并降低 GSDMD-N 蛋白表达^[53]。

2.3.3 焦亡保护骨细胞的损伤

焦亡作为一种促炎性的 PCD, 其在 RA 骨细胞中具有重要的调节作用。

酸性感应离子通道 (acid sensing ion channels, ASICs) 是细胞外 H⁺ 激活的离子通道, 主要影响 Na⁺ 和 Ca²⁺ 的通透性, 组织酸化是 RA 患者的另一个重要病理特征^[54]。初步研究表明, 酸中毒诱导软骨细胞中 ASIC1a 蛋白表达呈 pH 和时间依赖性, 此外钙蛋白酶、钙调神经磷酸酶、NLRP3、ASC 和 caspase-1 的 mRNA 和蛋白表达均呈时间依赖性地显著升高^[55]。ASIC1a 增强了酸诱导的钙蛋白酶-2/钙调神经磷酸酶通路的激活和关节软骨细胞的焦亡。其潜在机制可能与 ASIC1a 提高细胞内自由钙浓度和上调 NLRP3 表达相关^[55]。

焦亡在 RA 的炎症反应和骨破坏中扮演着重要的角色, RA 中 FLS 和免疫细胞的焦亡相关蛋白表达升高, 释放大量的炎症介质, 作用于软骨细胞并抑制自身的凋亡, 软骨细胞和成骨细胞的焦亡水平明显升高, 骨质流失, 骨密度下降。

2.4 坏死性凋亡在 RA 中的调节作用

坏死性凋亡和焦亡都是一种程序化的细胞溶解死亡途径, 可引起炎症反应。不同于焦亡的是, 坏死性凋亡剪切混合谱系激酶结构域 (mixed lineage kinase domain-like, MLKL) 蛋白, 而焦亡是通过剪切 GSDMD 或 GSDME 蛋白而发挥作用。坏死性凋亡和凋亡共享部分上游信号, 受 caspase8 的负调控, 可以认为这是凋亡受到抑制后的一种代偿方式^[56], 在某些退行性或炎症性疾病中具有杀死病原体感染

或者受损细胞的作用^[57]。靶向坏死性凋亡途径治疗炎症性疾病目前被认为是一种非常重要的策略^[58]。

Holler 等人在 2000 年发现, 死亡受体的第一遗传决定因素受体相互作用的丝氨酸-苏氨酸激酶 1 (receptor-interacting serine-threonine protein kinase 1, RIPK1) 可以诱导坏死性凋亡^[59], 后来的研究也发现由 RIG 样受体、Toll 样受体和死亡受体刺激引发的信号通路亦可诱导坏死性凋亡^[57]。这些信号通路都可导致坏死激酶受体相互作用的丝氨酸-苏氨酸激酶 3 (receptor-interacting serine-threonine kinase 3, RIPK3) 的磷酸化和激活^[60]。RIPK3 通过磷酸化激活 MLKL, 从而引起大量构象变化^[61]。MLKL 游离到细胞膜, 导致质膜损伤和损伤相关的分子模式 (damage associated molecular patterns, DAMPs) 释放^[62]。环状 GMP-AMP 合成酶 (cyclic GMP-AMP synthetase, cGAS) 可作为免疫系统的信使分子。MRE11 蛋白不仅能识别断裂的 DNA 片段, 还可以激活先天性免疫系统。MRE11 在识别断裂的 DNA 并与之结合的过程中将 cGAS 从组蛋白中释放出来。Z-DNA 结合蛋白 1 (Z-DNA binding protein 1, ZBP1) 是识别病毒感染后产生 Z-DNA/RNA 的天然感受器, 并能够触发不同形式的细胞死亡以及炎症反应。研究表明 cGAS 经 MRE11 激活后可以促进 ZBP1-RIPK3-MLKL 介导的坏死性凋亡^[63]。

研究表明, RIPK1、RIPK3 和 p-MLKL 在 RA 大鼠关节软骨和体外酸诱导的软骨细胞中的表达增加^[64]。IL-18 在 RA 中起促炎作用, 其诱饵受体 IL-18 结合蛋白 (IL-18 binding protein, IL-18BP) 具有潜在的治疗作用。IL-18BP 干预调节 Th17 细胞 / Treg 细胞表达的失调, 并减弱促炎细胞因子的产生。另外, IL-18BP 可以减少 FLS 和软骨细胞的坏死性凋亡, 减少软骨细胞的凋亡^[65]。

2.4.1 坏死性凋亡调节 FLS 的增殖和凋亡

坏死性凋亡在 RA 中可以通过不同的作用机制调控 FLS 的增殖和凋亡, 导致其过度增殖, 减少其凋亡, 诱发一系列 RA 患者的临床症状。

研究表明格尔达霉素 (Gerdamycin, GM) 可破坏 MH7A 滑膜细胞中 RIPK1 的表达, 抑制 TNF- α 诱导的 NF- κ B 和 MLKL 的活化, 增强 caspase8 的活化^[66]。鸢尾素是一种具有免疫调节作用的肌肉因子, 经鸢尾素注射的 CIA 大鼠的关节组织匀浆中 RIPK3、MLKL、IL-6 表达水平均降低, 丙二醛 (malonaldehyde, MDA) 表达水平显著升高^[67]。

2.4.2 坏死性凋亡介导免疫细胞的激活

坏死性凋亡可增加免疫细胞的促炎反应从而加重 RA 的症状。在 TNF- α 刺激下的 RA 滑膜组织的巨噬细胞中 MLKL 磷酸化增加,引起坏死性凋亡^[64]。其中,坏死抑制素-1s (necrostatin-1s, NST-1s) 作为一种 RIPK1 的抑制剂,用其处理免疫细胞可以降低 RIPK1、RIPK3 和 MLKL 等蛋白的表达,此外 NST-1s 还可以下调 Th1 和 Th17 细胞表达,促进 Th2 和 Treg 细胞的表达^[68]。

研究发现,阻断成纤维细胞活化蛋白- α (fibroblast activating proteins- α , FAP- α) 的抑制剂能够阻断中性粒细胞中 CD44 介导的 ROS 产生和细胞死亡,但不能阻断 FAS 受体介导的凋亡。从 RA 患者关节分离中性粒细胞通过 CD44 抑制后,形成粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子非依赖性的坏死性凋亡,而 FAP- α 和 MLKL 抑制剂可阻断这种效应^[69]。另外,14-3-3 η 作为一种细胞内蛋白,其与疾病活动性和 CCP 抗体水平密切相关,在 TNF- α 诱导发生坏死性凋亡的巨噬细胞培养液上清中,14-3-3 η 含量增加^[70]。KW2449 是一种 RIPK1 抑制剂,可减轻 CIA 大鼠关节肿胀、关节骨破坏、组织损伤和血浆炎性细胞因子水平。在体外实验中,用 LPS 与 zVAD 联合诱导免疫细胞中的巨噬细胞坏死性凋亡模型,发现 KW2449 可减少 RIPK1 依赖的坏死性凋亡相关蛋白的表达和炎症因子的分泌^[71]。

2.5 铁死亡在 RA 中的调节作用

铁死亡是一种铁依赖性的脂质过氧化诱发的新型 PCD 方式^[72]。铁死亡的主要特征是细胞半胱氨酸 (cysteine, Cys) 和谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 的缺失,在诱导细胞铁死亡中起关键作用^[73]。现已明确磷脂氢过氧化物 (phospholipid hydroperoxides, PLOOHs) 是铁死亡的执行者,而谷胱甘肽过氧化物 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4) 是催化 PLOOHs 还原和降解的主要酶,可以通过 Xc⁻ 系统 /GSH/GPX4 通路起到抑制铁死亡的作用。RA 的滑膜组织中脂质过氧化物和铁含量升高,氧化应激增加 ROS 的产生从而激活免疫细胞,诱导 FLS 增殖和炎症,导致 RA 患者的关节破坏^[74]。

2.5.1 铁死亡调节滑膜细胞的增殖

RA-FLS 中 GPX4 表达升高,铁死亡受到抑制从而促进其增殖。

铁死亡诱导剂可以减少 FLS 的数量, TNF 通过 NF- κ B 信号通路促进 Cys 摄取和细胞 GSH 生物合

成,保护 FLS 免受脂质过氧化和铁死亡损伤,经验证 TNF 拮抗剂可以增加 FLS 铁死亡的敏感性,且 IL-6 可以通过增加细胞游离铁含量使 FLS 对铁死亡敏感,但对细胞 GSH 无明显影响^[75]。而信号素 5A 可通过激活 PI3K/AKT/mTOR 信号通路,增强 GPX4 表达和 SREBP1/SCD-1 信号通路,抑制 FLS 铁死亡^[11]。研究发现甘氨酸在 FLS 中通过提高 S-腺苷甲硫氨酸 (S-adenosylmethionine, SAM) 浓度,促进 SAM 介导的 GPX4 启动子甲基化和降低 FTH1 表达来促进 FLS 铁死亡^[76]。此外, G1dP3 可以通过表达 p53 在转录水平上抑制 SLC7A11,促进 TNF- α 处理的 MH7A 细胞铁死亡的发生^[17]。另外,在 LPS 诱导的滑膜细胞中, SIRT1 可以增加细胞活力并降低 ROS 和 Fe²⁺ 的含量,而 YY1 蛋白可通过抑制 SIRT1 的转录下调 SIRT1 的表达, YY1 过表达可抑制 SIRT1 对滑膜细胞铁死亡的保护^[77]。铁死亡相关基因组织蛋白酶 B (cathepsin B, CTSB) 是诊断和治疗 RA 的潜在生物标志物,有研究发现 CTSB 抑制剂 CA-074Me 导致 RA-FLS 铁死亡并降低其迁移能力^[78]。

2.5.2 铁死亡影响免疫细胞的存活

M1 巨噬细胞和 M2 巨噬细胞对铁死亡的敏感性不同是 RA 发生的原因之一, M2 是铁死亡的主要靶点。过量的铁通过激活 GPX4 的自噬降解促进 M2 巨噬细胞的铁死亡^[79]。

2.5.3 铁死亡调节骨细胞中钙离子的浓度

关于铁死亡在 RA 骨细胞中的调控作用描述较少,具体机制也相对空白。已知瞬时受体电位 melastatin 7 (transient receptor potential melastatin 7, TRPM7) 对细胞 Ca²⁺ 和 Mg²⁺ 具有高渗透性,在 RA 患者软骨细胞中的表达升高。体外实验表明, Erastin (一种铁死亡诱导剂) 刺激后,软骨细胞 TRPM7 表达升高。抑制 TRPM7 的蛋白表达可通过 Ca²⁺ 机制显著降低软骨细胞的铁死亡^[80]。

2.6 NETosis 在 RA 中的调节作用

NETosis 是中性粒细胞专属的一种细胞死亡方式。NETs 由解压缩染色质组成,形成具有约 30 nm 孔隙的网状 DNA 结构^[81]。NETs 释放起始于表面受体的激活,细胞内钙离子浓度升高,激酶信号级联的激活和 ROS 产生,导致细胞扩散的增加和细胞形状的改变。NETs 可以捕获并杀死细菌和真菌,在无菌炎症中也可以形成。中性粒细胞以多种方式促进 RA 的发展,一方面它们在炎症部位释放有毒

性的蛋白酶, 另一方面活化的中性粒细胞可以分泌多种促炎细胞因子和趋化因子, 引起炎症反应, 并且 NETs 含有外化的瓜氨酸蛋白以产生抗 CCP 抗体^[3]。研究表明, RA 患者的活化多形核中性粒细胞 (polymorphonuclear neutrophil, PMN) 比健康受试者的 PMN 产生更多的 NETs。相比 PMN, NETs 特异性抑制 LPS 激活的巨噬细胞分泌两种 DNA 结合蛋白 (C1q、LL-37) 和 IL-6。这种抑制不是因为 NETs 衍生的蛋白酶或 LPS 的中和, 而是与诱导 IL-10 的分泌有关^[82]。

由于在葡萄糖-6-磷酸异构酶 (glucose-6-phosphate isomerase, GPI) 混合肽诱导的关节炎 (peptide GPI-induced arthritis, pGIA) 小鼠关节中的中性粒细胞与骨髓中性粒细胞更倾向于上调 IL-6 受体, 所以在 pGIA 中给予小鼠抗 IL-6 受体抗体可以使关节中中性粒细胞浸润和 NETosis 减少, 从而达到抑制关节炎的效果^[83]。S100 钙结合蛋白 A11 (S100A11) 在 RA 患者中表达上调, 并与疾病活动性、炎症情况和抗 CCP 水平相关。S100A11 的释放依赖于 NETosis, 且细胞外 S100A11 可通过诱导中性粒细胞中的促炎因子增强炎症反应^[84]。此外, NETs 的产生在促进 RA 破骨细胞形成和骨侵蚀中起到关键作用。这个过程可能是依赖于 Toll4 信号传导和 NETs 相关蛋白 (组蛋白和中性粒细胞弹性蛋白酶)^[85]。中药活性成分穿心莲内酯、大黄素、多聚酸苷、槲皮素等都可以促进中性粒细胞凋亡, 抑制自噬和 NETosis, 降低血浆炎症因子水平, 减弱中性粒细胞浸润和活性来改善 RA 小鼠的关节炎的严重程度^[86-89]。

2.7 铜死亡在 RA 中的调节作用

铜死亡于 2022 年由 Tsvetkov 等人发现, 其是通过铜直接结合到三羧酸 (tricarboxylic acid, TCA) 循环的脂酰化成分, 导致脂酰化蛋白聚集和随后的铁硫簇蛋白丢失, 从而发生蛋白毒性应激, 并最终导致细胞死亡^[12]。铜死亡的必要因素包括 GSH 的存在, 以及半乳糖和丙酮酸的线粒体代谢^[12]。目前, Tsvetkov 等人已鉴定出 10 个铜死亡的关键基因, 正调控因子包括铁氧还蛋白 1 (ferredoxin 1, FDX1)、硫辛酸合成酶 (lipoic acid synthetase, LIAS)、硫酰转移酶 1 (lipoyltransferase 1, LIPT1)、二氢硫酰胺脱氢酶 (dihydrolipoamide dehydrogenase, DLD)、硫酰胺 S-乙酰转移酶 (dihydrolipoamide S-acetyltransferase, DLAT)、丙酮酸脱氢酶 E1 亚基 $\alpha 1$ (pyruvate dehydrogenase E1 subunit $\alpha 1$, PDHA1) 和丙酮酸脱氢酶 E1 亚基 β

(pyruvate dehydrogenase E1 subunit β , PDHB), 负调控因子包括金属调节转录因子-1 (metal-regulatory transcription factor-1, MTF1)、谷氨酰胺酶 (glutaminase, GLS) 和细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 2A (cyclin-dependent kinase inhibitor 2A, CDKN2A)^[12]。这些关键基因在调节铜死亡的过程中均起到重要的作用, 其具体的调控机制还未知, 有待于进一步研究。

活动期 RA 患者的血清中铜水平较高, 与血沉和晨僵呈正相关^[90]。所以铜死亡被推测与 RA 的发病密切相关。RA 患者的滑膜组织由于慢性炎症、血管翳形成和过度细胞增殖呈现缺氧环境, 且能量消耗增加, 推断 FLS 和多种免疫细胞的铜死亡可能被调控, 其重要的调控基因 PDHA1、PDHB、GLS1、LIPT1、DLAT、FDX1、MTF1、LIAS、HIF-1 和 CDKN2A 可能在 RA 疾病的发展中具有重要的作用^[91]。有研究通过 GSE93272 数据集发现 7 个铜死亡相关基因 (ATP7A、FDX1、LIAS、LIPT1、DLD、MTF1 和 CDKN2A) 差异表达, 经验证除 MTF1 外, 其余 6 个基因在 RA 全血中的表达水平均高于对照组; 并通过基因富集分析找到铜死亡基因序列相似家族 96 成员 A (family with sequence similarity 96 member A, FAM96A) 和无名指结构域 1 细胞生长调节因子 (cell growth regulator with EF-hand domain 1, CGRRF1) 的差异表达, 在 RA 患者血清样本中二者异常高表达^[92]。此外还有研究通过 SVM-REF 算法构建 RA 中铜死亡相关基因预测模型, 预测 DLAT 是铜死亡信号通路的枢纽基因, 经分析 DLAT 与各种先天免疫和获得性免疫细胞的浸润程度显著负相关, 其中与滤泡辅助性 T 细胞的浸润高度负相关^[93]。

铜死亡作为一种新型的细胞死亡形式, 其具体的作用机制和对疾病的影响还研究甚少。目前铜死亡在 RA 中的研究多为生物信息学分析, 未来还有待于我们围绕铜代谢的调控机制以及铜稳态的失衡对其进行深入的机制探讨, 进一步证实铜死亡在 RA 的发生和发展以及治疗中的重要作用。

3 总结

当细胞的生存和死亡之间的平衡被破坏时, 便会导致异常病理生理状况的发生。PCD 的异常发生在 RA 的滑膜增殖、炎症浸润、骨质破坏中扮演着重要角色。在本综述中, 我们首先介绍了各种 PCD 的特点及其作用机制。然后将各种 PCD 在 RA 发病中参与不同细胞中的调控作用进行逐一的阐述,

并总结了近年来细胞因子、基因、药物等在 RA 中对 PCD 影响的研究。

现有研究已证实 FLS 的凋亡受到抑制, 且其焦亡、坏死性凋亡都可加强凋亡的抑制, 从而触发滑膜的炎症反应, 引起免疫细胞大量增殖, 免疫系统过度激活, 产生大量的炎症因子。同时破骨细胞增殖对骨质形成多重破坏。FLS 和 T 细胞中的自噬也具有拮抗凋亡并使其异常增殖的作用。软骨细胞的自噬抑制和破骨细胞的自噬增强则加强了骨的破坏。FLS 的铁死亡在 RA 中受到抑制, 关节中铁含量的增加使得 M2 型巨噬细胞铁死亡增加, 软骨细胞铁死亡亦增加。NETosis 作为中性粒细胞的专属死亡方式在 RA 中亦是明显的高表达, 参与瓜氨酸化蛋白的形成。至于铜死亡与 RA 的关系目前处于推测和生物信息学研究阶段, 仍需深入的研究。

通过对 PCD 在 RA 中调控作用的相关文献的整理, 发现 PCD 对 RA 的调控并不是独立存在的, 而是多种 PCD 相互作用, 共同形成 RA 的病理机制。未来通过 PCD 途径治疗 RA 的研究中可能首先需要考虑细胞的靶向性, 如促进 FLS、CD4⁺ T 细胞等异常增殖的细胞凋亡, 而不作用于软骨细胞等。许多研究人员从纳米材料方面开展工作, 通过纳米材料抗体修饰的靶向作用, 可以更好地实现纳米载药系统靶向目标细胞, 通过介导 PCD 达到高效的靶向治疗效果, 目前研究较多的有关于靶向巨噬细胞的纳米载药系统, 如叶酸修饰的银纳米颗粒与巨噬细胞表面叶酸受体靶向结合, 或甘露糖包裹甲氨蝶呤与巨噬细胞表面甘露糖受体靶向结合, 通过纳米药物促进 M1 巨噬细胞凋亡, 或 M1 型向 M2 型极化靶向治疗 RA^[94, 95]。近年来, 除了靶向巨噬细胞研究 PCD 的相关作用机制, 还有其它免疫细胞, 以及滑膜成纤维细胞方向的研究也在不断增加。

参考文献

- Deng C, Zhang Q, He P, Zhou B, He K, Sun X, Lei G, Gong T, Zhang Z. Targeted apoptosis of macrophages and osteoclasts in arthritic joints is effective against advanced inflammatory arthritis. *Nat Commun* 2021; 12(1): 2174.
- Wu TY, Zhang M, He XY, Zhang Y, Xia T, Yang YQ, Tang CZ, Chen YJ, Ding ZX, Chen LL, Zhang XN. The mechanism of modified Gan Cao Fu Zi Decoction in the treatment of rheumatoid arthritis based on network pharmacology and experimental validation. *Acta Pharm Sin (药学报)* 2023; 58(6): 1441–1451.
- Chen T, Zhou Z, Peng M, Hu H, Sun R, Xu J, Zhu C, Li Y, Zhang Q, Luo Y, Yang B, Dai L, Liu Y, Muñoz LE, Meng L, Herrmann M, Zhao Y. Glutathione peroxidase 3 is a novel clinical diagnostic biomarker and potential therapeutic target for neutrophils in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2023; 25(1): 66.
- Tang B, Liu Q, Ilar A, Wiebert P, Hägg S, Padyukov L, Klareskog L, Alfredsson L, Jiang X. Occupational inhalable agents constitute major risk factors for rheumatoid arthritis, particularly in the context of genetic predisposition and smoking. *Ann Rheum Dis* 2023; 82(3): 316–323.
- Chemin K, Gerstner C, Malmström V. Effector functions of CD4⁺ T cells at the site of local autoimmune inflammation—lessons from rheumatoid arthritis. *Front Immunol* 2019; 10: 353.
- Hanlon MM, McGarry T, Marzaioli V, Amaechi S, Song Q, Nagpal S, Veale DJ, Fearon U. Rheumatoid arthritis macrophages are primed for inflammation and display bioenergetic and functional alterations. *Rheumatology (Oxford)* 2023; 62(7): 2611–2620.
- Wang Z, Zhang C, Meng J, Jiao Z, Bao W, Tian H, Wu C, Chai W, Li R, Liu Z, Ma G, Mei X, Wei W. A targeted exosome therapeutic confers both CfDNA scavenging and macrophage polarization for ameliorating rheumatoid arthritis. *Adv Mater* 2023; 35(48): e2302503.
- Yokota K, Sato K, Miyazaki T, Aizaki Y, Tanaka S, Sekikawa M, Kozu N, Kadono Y, Oda H, Mimura T. Characterization and function of tumor necrosis factor and interleukin-6-induced osteoclasts in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatol* 2021; 73(7): 1145–1154.
- Ellis RE, Yuan JY, Horvitz HR. Mechanisms and functions of cell death. *Annu Rev Cell Biol* 1991; 7: 663–698.
- Green DR. The coming decade of cell death research: five riddles. *Cell* 2019; 177(5): 1094–1107.
- Cheng Q, Chen M, Liu M, Chen X, Zhu L, Xu J, Xue J, Wu H, Du Y. Semaphorin 5A suppresses ferroptosis through activation of PI3K-AKT-mTOR signaling in rheumatoid arthritis. *Cell Death Dis* 2022; 13(7): 608.
- Tsvetkov P, Coy S, Petrova B, Dreishpoon M, Verma A, Abdusamad M, Rossen J, Joesch-Cohen L, Humeidi R, Spangler RD, Eaton JK, Frenkel E, Kocak M, Corsello SM, Lutsenko S, Kanarek N, Santagata S, Golub TR. Copper induces cell death by targeting lipoylated TCA cycle proteins. *Science* 2022; 375(6586): 1254–1261.
- Chen KW, Demarco B, Heilig R, Shkarina K, Boettcher A, Farady CJ, Pelczar P, Broz P. Extrinsic and intrinsic apoptosis activate pannexin-1 to drive NLRP3 inflammasome assembly. *EMBO J* 2019; 38(10): e101638.
- Patterson SD, Spahr CS, Daugas E, Susin SA, Irinopoulou T,

- Koehler C, Kroemer G. Mass spectrometric identification of proteins released from mitochondria undergoing permeability transition. *Cell Death Differ* 2000; 7(2):137–144.
- 15 Malemud CJ. Defective T-cell apoptosis and T-regulatory cell dysfunction in rheumatoid arthritis. *Cells* 2018; 7(12): 223.
- 16 Guo JT, Cao XQ, Wu LL, Ma XL, Hao CF, Yang YS, Zhang MZ. Effect of IL-1 β on apoptosis of synovial cells in rheumatoid arthritis rats via the NF- κ B pathway. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2019; 23(23): 10211–10217.
- 17 Hu J, Zhang R, Chang Q, Ji M, Zhang H, Geng R, Li C, Wang Z. p53: A regulator of ferroptosis induced by galectin-1 derived peptide 3 in MH7A cells. *Front Genet* 2022; 13: 920273.
- 18 Li X, Lei Y, Gao Z, Wu G, Gao W, Xia L, Lu J, Shen H. IL-34 affects fibroblast-like synoviocyte proliferation, apoptosis and function by regulating IL-17. *Sci Rep* 2021; 11(1): 16378.
- 19 Ge L, Wang T, Shi D, Geng Y, Fan H, Zhang R, Zhang Y, Zhao J, Li S, Li Y, Shi H, Song G, Pan J, Wang L, Han J. ATF6 α contributes to rheumatoid arthritis by inducing inflammatory cytokine production and apoptosis resistance. *Front Immunol* 2022; 13: 965708.
- 20 Kugyelka R, Prenek L, Olasz K, Kohl Z, Botz B, Glant TT, Berki T, Boldizsár F. ZAP-70 regulates autoimmune arthritis via alterations in T cell activation and apoptosis. *Cells* 2019; 8(5): 504.
- 21 Zhao M, He H, Yin J. CARD6 protects against collagen-induced rheumatoid arthritis in mice through attenuating the inflammatory response and joint destruction via suppression of TNFR1/TRAF2 signaling. *Biochem Biophys Res Commun* 2020; 526(4): 1092–1099.
- 22 He P, Wang BH, Cao RR, Zhu DC, Ge B, Zhou X, Wu LF, Lei SF, Deng FY. ITGA2 protein is associated with rheumatoid arthritis in Chinese and affects cellular function of T cells. *Clin Chim Acta* 2021; 523: 208–215.
- 23 Cai X, Zheng Y, Ren F, Zhang S, Wu L, Yao Y. Secretory phosphoprotein 1 secreted by fibroblast-like synoviocytes promotes osteoclasts formation via PI3K/AKT signaling in collagen-induced arthritis. *Biomed Pharmacother* 2022; 155: 113687.
- 24 Dong G, Gao H, Chen Y, Yang H. Machine learning and bioinformatics analysis to identify autophagy-related biomarkers in peripheral blood for rheumatoid arthritis. *Front Genet* 2023; 14: 1238407.
- 25 Schrezenmeier E, Dörner T. Mechanisms of action of hydroxychloroquine and chloroquine: implications for rheumatology. *Nat Rev Rheumatol* 2020; 16(3): 155–166.
- 26 van Loosdregt J, Rossetti M, Spreafico R, Moshref M, Olmer M, Williams GW, Kumar P, Copeland D, Pischel K, Lotz M, Albani S. Increased autophagy in CD4⁺T cells of rheumatoid arthritis patients results in T-cell hyperactivation and apoptosis resistance. *Eur J Immunol* 2016; 46(12): 2862–2870.
- 27 Kim EK, Kwon JE, Lee SY, Lee EJ, Kim DS, Moon SJ, Lee J, Kwok SK, Park SH, Cho ML. IL-17-mediated mitochondrial dysfunction impairs apoptosis in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts through activation of autophagy. *Cell Death Dis* 2017; 8(1): e2565.
- 28 Hou J, Gao W. IL-27 regulates autophagy in rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes via STAT3 signaling. *Immunobiology* 2022; 227(4): 152241.
- 29 Chen X, Nie K, Zhang X, Tan S, Zheng Q, Wang Y, Chen X, Tang Z, Liu R, Yan M, Liu Z, Lin J, Xu J, Zhang N, Wang H, Yang J. The recombinant anti-TNF- α fusion protein ameliorates rheumatoid arthritis by the protective role of autophagy. *Biosci Rep* 2020; 40(9): BSR20194515.
- 30 Hao Z, Liu Y. IL-38 and IL-36 target autophagy for regulating synoviocyte proliferation, migration, and invasion in rheumatoid arthritis. *Dis Markers* 2021; 2021: 7933453.
- 31 Seo M, Kim JD, Neau D, Sehgal I, Lee YH. Structure-based development of small molecule PFKFB3 inhibitors: a framework for potential cancer therapeutic agents targeting the Warburg effect. *PLoS One* 2011; 6(9): e24179.
- 32 Kim ML, Hardy MY, Edgington-Mitchell LE, Ramarathinam SH, Chung SZ, Russell AK, Currie I, Sleebs BE, Purcell AW, Tye-Din JA, Wicks IP. Hydroxychloroquine inhibits the mitochondrial antioxidant system in activated T cells. *iScience* 2021; 24(12): 103509.
- 33 An Q, Yan W, Zhao Y, Yu K. Enhanced neutrophil autophagy and increased concentrations of IL-6, IL-8, IL-10 and MCP-1 in rheumatoid arthritis. *Int Immunopharmacol* 2018; 65: 119–128.
- 34 Jiang H, Lu Q, Xu J, Huo G, Cai Y, Geng S, Xu H, Zhang J, Li H, Yuan K, Huang G. Sinomenine ameliorates adjuvant-induced arthritis by inhibiting the autophagy/NETosis/inflammation axis. *Sci Rep* 2023; 13(1): 3933.
- 35 Wei W, Ren J, Yin W, Ding H, Lu Q, Tan L, Deng S, Liu J, Yang Q, Wang J, Wang M, Yue Y, Hao L. Inhibition of Ctsk modulates periodontitis with arthritis via downregulation of TLR9 and autophagy. *Cell Prolif* 2020; 53(1): e12722.
- 36 Hang X, Zhang Z, Niu R, Wang C, Yao J, Xu Y, Tao J, Li L, Chen F. Estrogen protects articular cartilage by downregulating ASIC1a in rheumatoid arthritis. *J Inflamm Res* 2021; 14: 843–858.
- 37 Chen Q, Fan K, Song G, Wang X, Zhang J, Chen H, Qin X, Lu Y, Qi W. Rapamycin regulates osteogenic differentiation through Parkin-mediated mitophagy in rheumatoid arthritis.

- Int Immunopharmacol 2022; 113(Pt B): 109407.
- 38 Cookson BT, Brennan MA. Pro-inflammatory programmed cell death. *Trends Microbiol* 2001; 9(3): 113–114.
 - 39 Zhai Z, Yang F, Xu W, Han J, Luo G, Li Y, Zhuang J, Jie H, Li X, Shi X, Han X, Luo X, Song R, Chen Y, Liang J, Wu S, He Y, Sun E. Attenuation of rheumatoid arthritis through the inhibition of tumor necrosis factor-induced Caspase 3/Gasdermin E-mediated pyroptosis. *Arthritis Rheumatol* 2022; 74(3): 427–440.
 - 40 Broz P, Pelegrín P, Shao F. The gasdermins, a protein family executing cell death and inflammation. *Nat Rev Immunol* 2020; 20(3): 143–157.
 - 41 Shi J, Zhao Y, Wang K, Shi X, Wang Y, Huang H, Zhuang Y, Cai T, Wang F, Shao F. Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death. *Nature* 2015; 526(7575): 660–665.
 - 42 Li W, Wang K, Liu Y, Wu H, He Y, Li C, Wang Q, Su X, Yan S, Su W, Zhang Y, Lin N. A novel drug combination of mangiferin and cinnamic acid alleviates rheumatoid arthritis by inhibiting TLR4/NFκB/NLRP3 activation-induced pyroptosis. *Front Immunol* 2022; 13: 912933.
 - 43 Hong Z, Zhang X, Zhang T, Hu L, Liu R, Wang P, Wang H, Yu Q, Mei D, Xue Z, Zhang F, Zhang L. The ROS/GRK2/HIF-1α/NLRP3 pathway mediates pyroptosis of fibroblast-like synoviocytes and the regulation of monomer derivatives of paeoniflorin. *Oxid Med Cell Longev* 2022; 2022: 4566851.
 - 44 Hsiao KY, Sun HS, Tsai SJ. Circular RNA - New member of noncoding RNA with novel functions. *Exp Biol Med (Maywood)* 2017; 242(11): 1136–1141.
 - 45 Panda AC. Circular RNAs act as miRNA sponges. *Adv Exp Med Biol* 2018; 1087: 67–79.
 - 46 Luo Q, Zhang L, Li X, Fu B, Deng Z, Qing C, Su R, Xu J, Guo Y, Huang Z, Li J. Identification of circular RNAs hsa_circ_0044235 in peripheral blood as novel biomarkers for rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol* 2018; 194(1): 118–124.
 - 47 Chen S, Luo Z, Chen X. Hsa_circ_0044235 regulates the pyroptosis of rheumatoid arthritis via MiR-135b-5p-SIRT1 axis. *Cell Cycle* 2021; 20(12): 1107–1121.
 - 48 Cai H, Zhang J, Xu H, Sun W, Wu W, Dong C, Zhou P, Xue C, Nan Y, Ni Y, Wu X, Gu Z, Chen M, Wang Y. ALOX5 drives the pyroptosis of CD4⁺ T cells and tissue inflammation in rheumatoid arthritis. *Sci Signal* 2024; 17(825): eadh1178.
 - 49 Gu L, Sun Y, Wu T, Chen G, Tang X, Zhao L, He L, Hu Z, Sun L, Pan F, Yin Z, Guo Z. A novel mechanism for macrophage pyroptosis in rheumatoid arthritis induced by Pol β deficiency. *Cell Death Dis* 2022; 13(7): 583.
 - 50 Li Y, Shen Y, Hohensinner P, Ju J, Wen Z, Goodman SB, Zhang H, Goronzy JJ, Weyand CM. Deficient activity of the nuclease MRE11A induces T cell aging and promotes arthritogenic effector functions in patients with rheumatoid arthritis. *Immunity* 2016; 45(4): 903–916.
 - 51 Li Y, Shen Y, Jin K, Wen Z, Cao W, Wu B, Wen R, Tian L, Berry GJ, Goronzy JJ, Weyand CM. The DNA repair nuclease MRE11A functions as a mitochondrial protector and prevents T cell pyroptosis and tissue inflammation. *Cell Metab* 2019; 30(3): 477–492.e6.
 - 52 Wu XY, Li KT, Yang HX, Yang B, Lu X, Zhao LD, Fei YY, Chen H, Wang L, Li J, Peng LY, Zheng WJ, Hou Y, Jiang Y, Shi Q, Zhang W, Zhang FC, Zhang JM, Huang B, He W, Zhang X. Complement C1q synergizes with PTX3 in promoting NLRP3 inflammasome over-activation and pyroptosis in rheumatoid arthritis. *J Autoimmun* 2020; 106: 102336.
 - 53 Zhang M (张铭), Wu TY, Liu XJ, Zhang Y, He XY, Liu SS, Zhao SD, Chen LQ, Chen CH, Zhang XN. Mechanism of Gancao-Fuzi Decoction in treatment of collagen-induced arthritis rats via inhibiting GSDMD-mediated pyroptosis. *Chin J Pathophysiol (中国病理生理杂志)* 2023; 399(2): 325–334 (in Chinese).
 - 54 Zu SQ, Feng YB, Zhu CJ, Wu XS, Zhou RP, Li G, Dai BB, Wang ZS, Xie YY, Li Y, Ge JF, Chen FH. Acid-sensing ion channel 1a mediates acid-induced pyroptosis through calpain-2/calcineurin pathway in rat articular chondrocytes. *Cell Biol Int* 2020; 44(10): 2140–2152.
 - 55 Wu X, Ren G, Zhou R, Ge J, Chen FH. The role of Ca²⁺ in acid-sensing ion channel 1a-mediated chondrocyte pyroptosis in rat adjuvant arthritis. *Lab Invest* 2019; 99(4): 499–513.
 - 56 Kang TB, Yang SH, Toth B, Kovalenko A, Wallach D. Caspase-8 blocks kinase RIPK3-mediated activation of the NLRP3 inflammasome. *Immunity* 2013; 38(1): 27–40.
 - 57 Newton K, Manning G. Necroptosis and inflammation. *Annu Rev Biochem* 2016; 85: 743–763.
 - 58 Mifflin L, Ofengeim D, Yuan J. Receptor-interacting protein kinase 1 (RIPK1) as a therapeutic target. *Nat Rev Drug Discov* 2020; 19(8): 553–571.
 - 59 Holler N, Zaru R, Micheau O, Thome M, Attinger A, Valitutti S, Bodmer JL, Schneider P, Seed B, Tschopp J. Fas triggers an alternative, caspase-8-independent cell death pathway using the kinase RIP as effector molecule. *Nat Immunol* 2000; 1(6): 489–495.
 - 60 Newton K. RIPK1 and RIPK3: critical regulators of inflammation and cell death. *Trends Cell Biol* 2015; 25(6): 347–353.
 - 61 Xia C, Yao Z, Xu L, Zhang W, Chen H, Zhuang C. Structure-based bioisosterism design of thio-benzoxazepinones as novel necroptosis inhibitors. *Eur J Med Chem* 2021; 220: 113484.

- 62 Khan N, Lawlor KE, Murphy JM, Vince JE. More to life than death: molecular determinants of necroptotic and non-necroptotic RIP3 kinase signaling. *Curr Opin Immunol* 2014; 26: 76–89.
- 63 Cho MG, Kumar RJ, Lin CC, Boyer JA, Shahir JA, Fagan-Solis K, Simpson DA, Fan C, Foster CE, Goddard AM, Lerner LM, Ellington SW, Wang Q, Wang Y, Ho AY, Liu P, Perou CM, Zhang Q, McGinty RK, Purvis JE, Gupta GP. MRE11 liberates cGAS from nucleosome sequestration during tumorigenesis. *Nature* 2024; 625(7995): 585–592.
- 64 Chen Y, Zhu CJ, Zhu F, Dai BB, Song SJ, Wang ZQ, Feng YB, Ge JF, Zhou RP, Chen FH. Necrostatin-1 ameliorates adjuvant arthritis rat articular chondrocyte injury via inhibiting ASIC1a-mediated necroptosis. *Biochem Biophys Res Commun* 2018; 504(4): 843–850.
- 65 Min HK, Kim SH, Lee JY, Lee SH, Kim HR. Interleukin-18 binding protein regulates the apoptosis and necroptosis of fibroblast-like synoviocytes and chondrocytes in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2023; 41(11): 2207–2215.
- 66 Saeiki Y, Okita Y, Igashira-Oguro E, Udagawa C, Murata A, Tanaka T, Mukai J, Miyazawa K, Hoshida Y, Ohshima S. Modulation of TNFR 1-triggered two opposing signals for inflammation and apoptosis via RIPK 1 disruption by geldanamycin in rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* 2021; 40(6): 2395–2405.
- 67 Raafat Ibrahim R, Shafik NM, El-Esawy RO, El-Sakaa MH, Arakeeb HM, El-Sharaby RM, Ali DA, Safwat El-Deeb O, Ragab Abd El-Khalik S. The emerging role of irisin in experimentally induced arthritis: a recent update involving HMGB1/MCP1/Chitotriosidase I-mediated necroptosis. *Redox Rep* 2022; 27(1): 21–31.
- 68 Jhun J, Lee SH, Kim SY, Ryu J, Kwon JY, Na HS, Jung K, Moon SJ, Cho ML, Min JK. RIPK1 inhibition attenuates experimental autoimmune arthritis via suppression of osteoclastogenesis. *J Transl Med* 2019; 17(1): 84.
- 69 Wang X, Gessier F, Perozzo R, Stojkov D, Hosseini A, Amirshahrokhi K, Kuchen S, Yousefi S, Lötscher P, Simon HU. RIPK3-MLKL-mediated neutrophil death requires concurrent activation of fibroblast activation protein- α . *J Immunol* 2020; 205(6): 1653–1663.
- 70 Trimova G, Yamagata K, Iwata S, Hirata S, Zhang T, Uemura F, Satoh M, Biln N, Nakayamada S, Maksymowych WP, Tanaka Y. Tumour necrosis factor α promotes secretion of 14-3-3 η by inducing necroptosis in macrophages. *Arthritis Res Ther* 2020; 22(1): 24.
- 71 Wang Q, Ye Q, Xi X, Cao X, Wang X, Zhang M, Xu Y, Deng T, Deng X, Zhang G, Xiao C. KW2449 ameliorates collagen-induced arthritis by inhibiting RIPK1-dependent necroptosis. *Front Immunol* 2023; 14: 1135014.
- 72 Chen X, Kang R, Kroemer G, Tang D. Broadening horizons: the role of ferroptosis in cancer. *Nat Rev Clin Oncol* 2021; 18(5): 280–296.
- 73 Xie Z, Hou H, Luo D, An R, Zhao Y, Qiu C. ROS-dependent lipid peroxidation and reliant antioxidant ferroptosis-suppressor-protein 1 in rheumatoid arthritis: a covert clue for potential therapy. *Inflammation* 2021; 44(1): 35–47.
- 74 Phull AR, Nasir B, Haq IU, Kim SJ. Oxidative stress, consequences and ROS mediated cellular signaling in rheumatoid arthritis. *Chem Biol Interact* 2018; 281: 121–136.
- 75 Wu J, Feng Z, Chen L, Li Y, Bian H, Geng J, Zheng ZH, Fu X, Pei Z, Qin Y, Yang L, Zhao Y, Wang K, Chen R, He Q, Nan G, Jiang X, Chen ZN, Zhu P. TNF antagonist sensitizes synovial fibroblasts to ferroptotic cell death in collagen-induced arthritis mouse models. *Nat Commun* 2022; 13(1): 676.
- 76 Ling H, Li M, Yang C, Sun S, Zhang W, Zhao L, Xu N, Zhang J, Shen Y, Zhang X, Liu C, Lu L, Wang J. Glycine increased ferroptosis via SAM-mediated GPX4 promoter methylation in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2022; 61(11): 4521–4534.
- 77 Zhan Y, Yang Z, Zhan F, Huang Y, Lin S. SIRT1 is transcriptionally repressed by YY1 and suppresses ferroptosis in rheumatoid arthritis. *Adv Rheumatol* 2023; 63(1): 9.
- 78 Luo L, Chen H, Xie K, Xiang J, Chen J, Lin Z. Cathepsin B serves as a potential prognostic biomarker and correlates with ferroptosis in rheumatoid arthritis. *Int Immunopharmacol* 2024; 128: 111502.
- 79 Liu Y, Luo X, Chen Y, Dang J, Zeng D, Guo X, Weng W, Zhao J, Shi X, Chen J, Dong B, Zhong S, Ren J, Li Y, Wang J, Zhang J, Sun J, Xu H, Lu Y, Brand D, Zheng SG, Pan Y. Heterogeneous ferroptosis susceptibility of macrophages caused by focal iron overload exacerbates rheumatoid arthritis. *Redox Biol* 2024; 69: 103008.
- 80 Zhou R, Chen Y, Li S, Wei X, Hu W, Tang S, Ding J, Fu W, Zhang H, Chen F, Hao W, Lin Y, Zhu R, Wang K, Dong L, Zhao Y, Feng X, Chen F, Ding C, Hu W. TRPM7 channel inhibition attenuates rheumatoid arthritis articular chondrocyte ferroptosis by suppression of the PKC α -NOX4 axis. *Redox Biol* 2022; 55: 102411.
- 81 Chapman EA, Lyon M, Simpson D, Mason D, Beynon RJ, Moots RJ, Wright HL. Caught in a trap? Proteomic analysis of neutrophil extracellular traps in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Front Immunol* 2019; 10: 423.
- 82 Ribon M, Seninet S, Mussard J, Sebbag M, Clavel C, Serre G, Boissier MC, Semerano L, Decker P. Neutrophil extracellular traps exert both pro- and anti-inflammatory actions in rheumatoid arthritis that are modulated by C1q and LL-37. *J*

- Autoimmun 2019; 98: 122–131.
- 83 Ohyama A, Osada A, Kawaguchi H, Kurata I, Nishiyama T, Iwai T, Ishigami A, Kondo Y, Tsuboi H, Sumida T, Matsumoto I. Specific increase in joint neutrophil extracellular traps and its relation to interleukin 6 in autoimmune arthritis. *Int J Mol Sci* 2021; 22(14): 7633.
 - 84 Navrátilová A, Bečvář V, Baloun J, Damgaard D, Nielsen CH, Veigl D, Pavelka K, Vencovský J, Šenolt L, Andrés Cerezo L. S100A11 (calgizzarin) is released via NETosis in rheumatoid arthritis (RA) and stimulates IL-6 and TNF secretion by neutrophils. *Sci Rep* 2021; 11(1): 6063.
 - 85 O'Neil LJ, Oliveira CB, Wang X, Navarrete M, Barrera-Vargas A, Merayo-Chalico J, Aljahdali R, Aguirre-Aguilar E, Carlucci P, Kaplan MJ, Carmona-Rivera C. Neutrophil extracellular trap-associated carbamylation and histones trigger osteoclast formation in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2023; 82(5): 630–638.
 - 86 Li X, Yuan K, Zhu Q, Lu Q, Jiang H, Zhu M, Huang G, Xu A. Andrographolide ameliorates rheumatoid arthritis by regulating the apoptosis-NETosis balance of neutrophils. *Int J Mol Sci* 2019; 20(20): 5035.
 - 87 Zhu M, Yuan K, Lu Q, Zhu Q, Zhang S, Li X, Zhao L, Wang H, Luo G, Wang T, Huang G, Xu A. Emodin ameliorates rheumatoid arthritis by promoting neutrophil apoptosis and inhibiting neutrophil extracellular trap formation. *Mol Immunol* 2019; 112: 188–197.
 - 88 Yang F, Luo X, Luo G, Zhai Z, Zhuang J, He J, Han J, Zhang Y, Zhuang L, Sun E, He Y. Inhibition of NET formation by polydatin protects against collagen-induced arthritis. *Int Immunopharmacol* 2019; 77: 105919.
 - 89 Yuan K, Zhu Q, Lu Q, Jiang H, Zhu M, Li X, Huang G, Xu A. Quercetin alleviates rheumatoid arthritis by inhibiting neutrophil inflammatory activities. *J Nutr Biochem* 2020; 84: 108454.
 - 90 Chakraborty M, Chutia H, Changkakati R. Serum copper as a marker of disease activity in rheumatoid arthritis. *J Clin Diagn Res* 2015; 9(12): BC09–11.
 - 91 Zhao J, Guo S, Schrodi SJ, He D. Cuproptosis and cuproptosis-related genes in rheumatoid arthritis: Implication, prospects, and perspectives. *Front Immunol* 2022; 13: 930278.
 - 92 Wang A, Liu W, Jin Y, Wei B, Fan Y, Guo X, Gou X. Identification of immunological characteristics and cuproptosis-related molecular clusters in rheumatoid arthritis. *Int Immunopharmacol* 2023; 123: 110804.
 - 93 Hu H, Dou X, Hu X, Wang L, Ma Y, Liu J, Zhou X, Cao H, Liu X, Deng X, Li N. Identification of a novel cuproptosis-related gene signature for rheumatoid arthritis-A prospective study. *J Gene Med* 2023; 25(11): e3535.
 - 94 Yang Y, Guo L, Wang Z, Liu P, Liu X, Ding J, Zhou W. Targeted silver nanoparticles for rheumatoid arthritis therapy via macrophage apoptosis and Re-polarization. *Biomaterials* 2021; 264: 120390.
 - 95 Yang L, Sha Y, Wei Y, Fang H, Jiang J, Yin L, Zhong Z, Meng F. Mannose-mediated nanodelivery of methotrexate to macrophages augments rheumatoid arthritis therapy. *Biomater Sci* 2023; 11(6): 2211–2220.