

# MiR-21在托法替布治疗中重度活动性类风湿性关节炎中的作用研究

韩玲玲<sup>1</sup>, 管春平<sup>2</sup>, 周 谦<sup>1</sup>, 陈梦珂<sup>1</sup>, 邢 倩<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>山东第一医科大学(山东省医学科学院)研究生部, 山东 济南

<sup>2</sup>青岛大学附属青岛市市立医院, 山东 青岛

<sup>3</sup>青岛大学附属青岛市市立医院风湿免疫科, 山东 青岛

收稿日期: 2022年11月14日; 录用日期: 2022年12月8日; 发布日期: 2022年12月16日

## 摘 要

目的: 探讨初发类风湿性关节炎(RA)患者应用托法替布前后患者外周血单个核细胞(PBMC)中miR-21、STAT3mRNA表达变化及其临床意义。方法: 选择初发RA患者60例, 健康体检者(HC) 40例。初发RA患者给予甲氨蝶呤(MTX)治疗3个月; 3个月后单用MTX病情控制不佳的患者联合托法替布治疗, 随访3个月。采用qRT-PCR法检测受试者服药前后PBMC中miR-21、STAT3mRNA表达。观察并记录两组试验研究对象实验室检查资料, 包括血沉(ESR)、高敏C反应蛋白(CRP)、类风湿因子(RF)、抗环瓜氨酸肽抗体(CCP)、并进行疾病活动度评分(DAS28)。结果: 初发RA患者PBMC中miR-21与健康人相比表达显著降低, 而STAT3mRNA表达显著升高( $p$ 均  $< 0.01$ )。与单用MTX相比, 病情控制不佳加用托法替布后PBMC中miR-21表达升高, 而STAT3mRNA表达降低( $p$ 均  $< 0.01$ )。Pearson相关分析示, 初发RA患者PBMC中miR-21表达与CCP、DAS28评分呈负相关关系( $p$ 均  $< 0.05$ )。初发RA患者PBMC中miR-21表达与STAT3mRNA表达呈负相关关系( $p$ 均  $< 0.05$ )。ROC曲线分析显示, PBMC中miR-21、CCP表达诊断RA的曲线下面积(AUC)分别为0.7531、0.8338, 二者联合诊断的AUC为0.8950。结论: RA患者PBMC miR-21表达降低, STAT3mRNA表达升高, 两者可能参与RA发生、发展。RA患者CCP联合miR-21对RA发生有一定的临床诊断价值。

## 关键词

类风湿性关节炎, MiR-21, 托法替布, ROC曲线

## The Research of the Role of MiR-21 in the Treatment of Moderate and Severe Active Rheumatoid Arthritis with Tofacitinib

\*通讯作者。

文章引用: 韩玲玲, 管春平, 周谦, 陈梦珂, 邢倩. MiR-21 在托法替布治疗中重度活动性类风湿性关节炎中的作用研究[J]. 临床医学进展, 2022, 12(12): 11269-11275. DOI: 10.12677/acm.2022.12121624

Lingling Han<sup>1</sup>, Chunping Guan<sup>2</sup>, Qian Zhou<sup>1</sup>, Mengke Chen<sup>1</sup>, Qian Xing<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Graduate, Shandong First Medical University & Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan Shandong

<sup>2</sup>Qingdao Municipal Hospital Affiliated to Qingdao University, Qingdao Shandong

<sup>3</sup>Department of Rheumatology and Immunology, Qingdao Municipal Hospital Affiliated to Qingdao University, Qingdao Shandong

Received: Nov. 14<sup>th</sup>, 2022; accepted: Dec. 8<sup>th</sup>, 2022; published: Dec. 16<sup>th</sup>, 2022

## Abstract

**Objective:** To investigate the changes of miR-21 and STAT3mRNA expression in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) of patients with newly diagnosed rheumatoid arthritis (RA) before and after treatment with tofacitinib and their clinical significance. **Methods:** Sixty patients with newly diagnosed RA and 40 healthy controls (HC) were enrolled in this study. Patients with newly diagnosed RA were treated with methotrexate (MTX) for 3 months. After 3 months, the patients who were poorly controlled with MTX alone were treated with tofacitinib and followed up for 3 months. The expressions of miR-21 and STAT3mRNA in PBMC were detected by qRT-PCR. The laboratory examination data of the two groups were observed and recorded, including erythrocyte sedimentation rate (ESR), high-sensitivity C-reactive protein (CRP), rheumatoid factor (RF), anti-cyclic citrullinated peptide antibody (CCP), and disease activity score 28 (DAS28). **Results:** The expression of miR-21 in PBMC of RA patients was significantly lower than that of healthy people, while STAT3mRNA expression was significantly higher than that of healthy people (all  $p < 0.01$ ). Compared with MTX alone, the expression of miR-21 in PBMC increased, while the expression of STAT3mRNA decreased in tofacitinib plus MTX group (all  $p < 0.01$ ). Pearson correlation analysis showed that the expression of miR-21 in PBMC of RA patients was negatively correlated with CCP and DAS28 scores (all  $p < 0.05$ ). There was a negative correlation between the expression of miR-21 and STAT3mRNA in PBMC of newly diagnosed RA patients ( $p < 0.05$ ). ROC curve analysis showed that the area under the curve (AUC) of miR-21 and CCP expression in PBMC for the diagnosis of RA was 0.7531 and 0.8338, respectively, and the AUC of combined diagnosis of miR-21 and CCP was 0.8950. **Conclusion:** The expression of miR-21 in PBMC of RA patients is decreased, and the expression of STAT3mRNA is increased, which may be involved in the occurrence and development of RA. CCP combined with miR-21 has a certain clinical diagnostic value for the occurrence of RA.

## Keywords

Rheumatoid Arthritis, MiR-21, Tofacitinib, ROC Curve

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种慢性进行性自身免疫性疾病,其主要临床特征是对称性多发性关节炎。其基本病理改变为滑膜炎,可侵袭关节软骨、骨、关节囊,最终导致关节畸形和功能丧失。研究表明,遗传因素和环境因素在类风湿性关节炎的病因中具有重要而复杂的作用[1]。RA 的具体

发病机制尚不明确,目前认为 RA 的发病与细胞免疫功能紊乱,尤其是与 JAK/STAT 通路异常激活息息相关[2]。JAK/STAT 信号通路参与调控 RA 关节滑膜中细胞因子的产生和激活,调节该疾病的病理生理过程。托法替布(tofacitinib)是一种新型小分子靶向药,作为 JAK 抑制剂,通过选择性抑制细胞内 JAK1 和 JAK3 信号转导通路,抑制 CD4+ T 细胞增殖,减少 IFN- $\gamma$ 、IL-9 等炎性因子的产生。2017 年 3 月被中国食品药品监督管理局批准上市,在 RA 活动期的治疗中取得了良好疗效,得到中国、ACR、EULAR 等国际各大指南的推荐。

非编码 RNA 占细胞总 RNA 含量的 99%,与 DNA 甲基化和组蛋白修饰一起,在疾病的发生发展的遗传学机制中起着重要作用[3]。非编码 RNA 可以由细胞以游离 RNA 分子的形式分泌,也可以被包裹到细胞外的囊泡中,如外周小体,并可以在包括血液、尿液和滑液[4] [5]在内的生物液中被识别。MicroRNA (miRNA)是一种多功能非编码 RNA 分子,具有 18~25 个核苷酸的长度[6]。MicroRNA 通过与靶 mRNA 的 3'端非翻译区(3'untranslated region, 3'UTR)完全互补结合来调节 mRNA 的稳定性和翻译,导致靶向 mRNA 降解或抑制其翻译过程,调节下游途径,是细胞发育、细胞增殖、分化、凋亡等许多基本生物过程的重要调控器,从而参与癌症[7] [8] [9]及自身免疫病[10] [11] [12] [13]等疾病的发生和发展[14] [15] [16] [17]。研究认为,它们与疾病活动性有关联,因此 miRNA 被认为是潜在的新型生物标志物[18]。miRNA 在 RA 患者滑膜成纤维细胞(Fibroblast-like synoviocytes, FLS)、外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMC)和 T 淋巴细胞(T lymphocytes)均有不同程度的表达差异,其中包括 miR-21, miR-146, miR-155 [19], miR-125a, miR-223 [20], 这些 miRNA 表达与免疫紊乱、炎症及细胞的分化有关。托法替布作为 JAK 抑制剂,抑制 JAK/STAT 通路发挥作用[21],在 RA 成纤维样滑膜细胞中可影响细胞因子诱导的炎症通路的多个过程,发挥了抗炎的作用。课题组前期研究筛查 RA 患者血清 miRNAs 的表达发现,与健康人相比,初发 RA 患者血清 miR-21 表达有差异,生信分析预测 STAT3 是 miR-21 潜在靶点,因此本研究提出假说 miR-21 可能通过调控 JAK/STAT 通路参与 RA 的发病。同时探讨托法替布对 RA 患者 PBMC 中 miR-21 的影响,为 RA 的靶向治疗提供理论依据。

## 2. 资料与方法

### 2.1. 临床资料

选取 2019 年 12 月~2022 年 6 月在我院接受治疗的 RA 患者 60 例纳入研究,纳入标准:① 符合美国风湿病学会(American College of Rheumatology, ACR)和欧洲抗风湿联盟(European League Against Rheumatism, EULAR) 2010 年关于 RA 的分类诊断标准和评分系统;② 入院前未接受激素、免疫抑制剂及生物制剂的治疗;③ 年龄 18~75 岁;④ 所有患者 DAS28-ESR 评分均 > 3.2。同时纳入 40 例健康体检者作对照。排除标准:① 合并其他自身免疫系统疾病;② 有严重的心、肝、肾等疾病;③ 有细菌性、支原体、病毒性、真菌性、分枝杆菌性或其他感染的病史;④ 无法规律配合者。同时纳入 40 例健康人作对照。研究方案获得青岛市市立医院伦理委员会批准,受试对象均签署了书面知情同意书。

### 2.2. 治疗方法

MTX 组:初发 RA 患者,给予甲氨蝶呤(methotrexate, MTX) 10 mg 口服每周 1 次治疗 12 周;联合 JAK1 组:12 周后单用 MTX 病情控制不佳的患者加用托法替布 5 mgbid,继续服药 12 周。患者依从性良好,因不能耐受 MTX 恶心呕吐脱落 2 例。

### 2.3. 样本收集和检测

采集所有研究对象清晨空腹静脉血 5 ml 全血样本。收集后,立即通过梯度密度离心处理样品以分离

外周血单核细胞(PBMC)。通过逆转录定量聚合酶链反应(RT-qPCR)检测 PBMCs 中 miR-21 和 STAT3 的表达。同理,采集病情控制不佳患者(DAS28 评分 > 2.6)加用托法替布前后的清晨空腹静脉血 5 ml,检测并通过 RT-qPCR 测定了 RA 患者 PBMCs 中 miR-21 和 STAT3mRNA 的表达。

## 2.4. RT-qPCR

总 RNA 由 Trizol 法提取,经分光光度仪鉴定,提取的总 RNA 浓度和纯度合格。以 RNA 为模板,反转录为 cDNA。以 cDNA 为模板,进行 qPCR 反应。miR-21 上游引物:5'-GGGGATTCTTGGTTTGTGAA-3',下游引物为天根自带通用下游引物。扩增程序及定量如下:预变性(95°C 15 min),扩增(94°C 20 s、65°C 30 s、72°C 34 s) 5 次循环,变性、退火、延伸(94°C 20 s, 60°C 34 s) 40 次循环。记录 Ct 值, U6 作为 miRNA 计算的内部参考 GAPDH 用作 STAT3 计算的内部参考,采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  的方式分析基因表达。mRNA 的引物来自生工生物技术, miRNA 的引物来自天根。

## 2.5. 统计分析

GraphPad Prism 应用于数据分析和图形构建。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间比较采用方差分析,两两比较采用独立样本 t 检验。相关性分析采用 Pearson 相关分析法。采用 ROC 曲线评价 miR-21 对 RA 预后不佳的预测价值。 $p$  值 < 0.05 表示差异有统计学意义。

## 3. 结果

### 3.1. 两组研究对象 PBMC 的 miR-21 及 STAT3mRNA 比较

初发 RA 患者外周血 PBMC 中 miR-21 与健康人相比表达显著降低,而 STAT3mRNA 表达显著升高( $p$  均 < 0.01)。与 MTX 单药组(加药前)相比,联合托法替布组(加药后) PBMC 中 miR-21 表达升高,而 STAT3mRNA 表达降低( $p$  均 < 0.01)。见表 1 及表 2。

**Table 1.** Relative expression of miR-21 and STAT3mRNA in PBMC of HC group and newly diagnosed RA group  
**表 1.** HC 组与初发 RA 组 PBMC 中 miR-21 及 STAT3mRNA 相对表达量

组别	n	miR-21	STAT3mRNA
HC 组	40	0.7094 ± 0.2666	2.659 ± 0.8487
RA 组	60	0.4639 ± 0.1439**	5.630 ± 1.004**

注:与 HC 组相比, \*\* $p$  < 0.01。

**Table 2.** Relative expression of miR-21 and STAT3mRNA in PBMC of MTX group and combined JAKi group  
**表 2.** MTX 组与联合 JAKi 组 PBMC 中 miR-21 及 STAT3mRNA 相对表达量

组别	n	miR-21	STAT3mRNA
MTX 组	41	0.5154 ± 0.0266	4.750 ± 0.6436
联合 JAKi 组	39	0.6216 ± 0.1989 <sup>ΔΔ</sup>	2.843 ± 0.6902 <sup>ΔΔ</sup>

注:与联合 JAKi 组相比, <sup>ΔΔ</sup> $p$  < 0.01 (单用 MTX 组,即单用 MTX3 个月疾病活动度高,病情控制不佳组,联合 JAKi 组为前者联用托法替布组)。

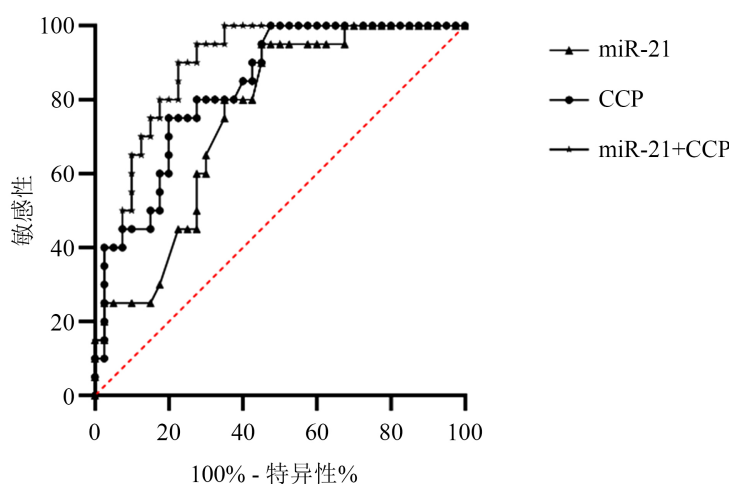
### 3.2. MiR-21、STAT3mRNA 与初发 RA 患者疾病活动度及炎性指标的相关性分析

Pearson 相关分析显示,初发 RA 患者 PBMC 中 miR-21 的相对表达水平与血清 CCP 水平及 DAS28

评分呈负相关( $r$  分别为 $-0.6763$ 、 $-0.7363$ ,  $p$  均  $< 0.05$ ), 与 CRP、ESR、RF 无显著相关性( $r$  分别为 $-0.3723$ 、 $-0.4632$ 、 $-0.3561$ ,  $p < 0.05$ )。RA 患者 PBMC 中 miR-21 表达与 STAT3mRNA 表达呈负相关关系( $r$  为 $-0.7390$ ,  $p < 0.05$ )。

### 3.3. MiR-21、CCP 对初发 RA 的诊断价值

PBMC 中 miR-21 相对表达量诊断 RA 的曲线下面积(AUC)为 0.7531 (95% CI: 0.6317~0.8745)其 cutoff 值为 0.5, 此时诊断 RA 的灵敏度为 95%, 特异性为 55%; CCP 诊断 RA 的曲线下面积(AUC)为 0.8338 (95% CI: 0.7332~0.9343)其 cutoff 值为 0.55, 此时诊断 RA 的灵敏度为 75%, 特异性为 80%; 两者联合诊断 RA 的曲线下面积(AUC)为 0.8950 (95% CI: 0.8177~0.9723)其 cutoff 值为 0.675, 此时诊断 RA 的灵敏度为 90%, 特异性为 77.5%。见图 1。



**Figure 1.** ROC curves of miR-21 and CCP levels in PBMC for diagnosis of RA  
**图 1.** PBMC 中 miR-21、CCP 水平诊断 RA 的 ROC 曲线

## 4. 讨论

RA 疾病早期病理表现为滑膜组织间质出现炎症细胞浸润, 为细胞浸润性和渗出性, 炎症因子水平增加[22]。RA 疾病发生时患者关节已经出现一定程度损伤, 是导致残疾的关节疾病之一, 但其发病机制尚不明确。近来已有许多研究表明 miRNAs 与 RA 疾病发生发展密切相关。

已有学者在人的外周血 T 细胞、外周血 PBMC 细胞、以及滑膜细胞中做出研究, 结果表明, miR-21 参与炎症的发展。Shengwei Jin 的研究表明[23], miR-21 在调节 Th17/Treg 平衡中发挥作用。在 RA 患者中, miR-21 与 Treg/Th17 比值呈正相关。miR-21 可以上调 FoxP3 的表达以促进 Treg 的分化。转染 miR-21 的初始 CD4+ T 细胞倾向于分化为 Treg 细胞, 而不是 Th17 细胞。也有研究证明, 在 Th17 细胞分化过程中, miR-21 的表达明显低于对照组, 这表明 miR-21 可能是炎症消退的一个重要因素, 对炎症过程有负面调节作用[24]。Hua-Song Zeng 等在幼年特发性关节炎(JIA)患者 PBMC 中的研究显示, miR-21 的表达明显低于健康对照组[25]。本研究通过比较健康人与初发 RA 患者外周血 PBMC 中 miR-21 表达水平表明, miR-21 在 RA 患者 PBMC 中的表达显著低于健康对照组( $p < 0.05$ ), 这与前述研究得出的结论一致。同时, 我们发现 RA 患者 PBMC 中 STAT3 mRNA 的表达显著高于健康对照组( $p < 0.05$ ), 并与 miR-21 呈负相关, 结合生物信息预测软件及前人 RASF 中荧光素酶报告基因实验[26]示 miR-21 靶向 STAT3, 我们猜测 miR-21 可能通过抑制 STAT3 的表达和 STAT3 的磷酸化来影响 JAK/STAT 信号通路, 进而抑制炎症反应。

而单用 MTX 病情控制不佳的患者加用托法替布后外周血 PBMC 中 miR-21 较加药前上升,提示托法替布作为 JAK 抑制剂,通过阻断 JAK/STAT 通路治疗类风湿性关节炎,还可能通过升高 miR-21 水平达到治疗效果。ROC 分析发现, PBMC 中 miR-21 表达及 CCP 对 RA 疾病的诊断的有一定价值,二者联合时诊断价值更高。提示 miR-21 水平检测弥补 CCP 高特异度,低灵敏度的不足,对于早发现早治疗 RA,早期应用新型小分子靶向药等改善预后具有指导意义。

目前临床上衡量 RA 疾病活动的指标可分为客观指标、主观指标及综合性指标,客观指标包括压痛关节数、肿胀关节数、ESR、CRP 等,主观指标包括疼痛关节数、晨僵时间等,综合指标包括 DAS28、慢性关节炎系统性指数(CASI)等。ESR 测定对疾病的诊断和鉴别、病情发展变化、疗效和预后都有明显意义。CRP 是对 RA 急性期诊断及疗效观察有重要参考价值。一般在炎症反应组织损伤程度成正比,当病理状态恢复时含量下降,病情好转后,恢复到正常水平的速度都比其它指标要快,但和 ESR 一样,CRP 受多种因素的影响,只作为病情活动性的参考指标。miR-21 表达水平与 CCP 及 DAS28 评分呈负相关,这提示 miR-21 的表达下调与 RA 病情活动性相关。

综上,本研究发现 miR-21 在 RA 患者外周血 PBMC 中表达下调可能与 RA 的发病有关,miR-21 表达水平可作为 RA 疾病诊断的参考指标,CCP 作为公认的特异性诊断指标,联合 miR-21 时诊断价值更高。本研究表明,托法替布作为 JAK 抑制剂,除了调节 JAK/STAT 通路,还可能通过调节 miR-21 发挥治疗作用。随着对 miRNAs 研究的深入,将使我们充分了解 miRNAs 在免疫系统及自身免疫性疾病复杂的基因表达调控中的作用,这不仅有助于我们理解免疫系统的平衡,更有助于我们利用 miRNAs 的作用靶点来调控免疫反应,为精准治疗类风湿关节炎提供新的治疗靶点。

## 基金项目

北京白求恩医学科学研究基金。

## 参考文献

- [1] Scott, D.L., Wolfe, F. and Huizinga, T.W. (2010) Rheumatoid Arthritis. *Lancet*, **376**, 1094-1108. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)60826-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60826-4)
- [2] Baldini, C., Moriconi, F.R., Galimberti, S., Libby, P. and De Caterina, R. (2021) The JAK-STAT Pathway: An Emerging Target for Cardiovascular Disease in Rheumatoid Arthritis and Myeloproliferative Neoplasms. *European Heart Journal*, **42**, 4389-4400. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehab447>
- [3] Palazzo, A.F. and Lee, E.S. (2015) Non-Coding RNA: What Is Functional and What Is Junk? *Frontiers in Genetics*, **6**, Article 2. <https://doi.org/10.3389/fgene.2015.00002>
- [4] Jin, Z., Ren, J. and Qi, S. (2020) Human Bone Mesenchymal Stem Cells-Derived Exosomes Overexpressing MicroRNA-26a-5p Alleviate Osteoarthritis via Down-Regulation of PTGS2. *International Immunopharmacology*, **78**, Article ID: 105946. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2019.105946>
- [5] Xie, F., Liu, Y.L., Chen, X.Y., et al. (2020) Role of MicroRNA, LncRNA, and Exosomes in the Progression of Osteoarthritis: A Review of Recent Literature. *Orthopaedic Surgery*, **12**, 708-716. <https://doi.org/10.1111/os.12690>
- [6] Tavasolian, F., Abdollahi, E., Rezaei, R., et al. (2018) Altered Expression of MicroRNAs in Rheumatoid Arthritis. *Journal of Cellular Biochemistry*, **119**, 478-487. <https://doi.org/10.1002/jcb.26205>
- [7] Fan, L., Chen, L., Ni, X., et al. (2017) Genetic Variant of miR-4293 rs12220909 Is Associated with Susceptibility to Non-Small Cell Lung Cancer in a Chinese Han Population. *PLOS ONE*, **12**, e0175666. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175666>
- [8] He, Y., Cui, Y., Wang, W., et al. (2011) Hypomethylation of the hsa-miR-191 Locus Causes High Expression of hsa-miR-191 and Promotes the Epithelial-to-Mesenchymal Transition in Hepatocellular Carcinoma. *Neoplasia*, **13**, 841-853. <https://doi.org/10.1593/neo.11698>
- [9] Lin, S., Pan, L., Guo, S., et al. (2013) Prognostic Role of microRNA-181a/b in Hematological Malignancies: A Meta-Analysis. *PLOS ONE*, **8**, e59532. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059532>
- [10] Xie, L. and Xu, J. (2018) Role of MiR-98 and Its Underlying Mechanisms in Systemic Lupus Erythematosus. *The*

- Journal of Rheumatology*, **45**, 1397-1405. <https://doi.org/10.3899/jrheum.171290>
- [11] Senousy, M.A., Helmy, H.S., Fathy, N., Shaker, O.G. and Ayeldeen, G.M. (2019) Association of MTMR3 rs12537 at miR-181a Binding Site with Rheumatoid Arthritis and Systemic Lupus Erythematosus Risk in Egyptian Patients. *Scientific Reports*, **9**, Article No. 12299. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-48770-5>
- [12] Jang, S.I., Tandon, M., Teos, L., *et al.* (2019) Dual Function of miR-1248 Links Interferon Induction and Calcium Signaling Defects in Sjögren's Syndrome. *EBioMedicine*, **48**, 526-538. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2019.09.010>
- [13] Iwamoto, N., Vettori, S., Maurer, B., *et al.* (2016) Downregulation of miR-193b in Systemic Sclerosis Regulates the Proliferative Vasculopathy by Urokinase-Type Plasminogen Activator Expression. *Annals of the Rheumatic Diseases*, **75**, 303-310. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2014-205326>
- [14] Bartel, D.P. (2009) MicroRNAs: Target Recognition and Regulatory Functions. *Cell*, **136**, 215-233. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.01.002>
- [15] Mo, Y.Y. (2012) MicroRNA Regulatory Networks and Human Disease. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **69**, 3529-3531. <https://doi.org/10.1007/s00018-012-1123-1>
- [16] Saliminejad, K., Khorram Khorshid, H.R., Soleymani Fard, S. and Hamidollah Ghaffari, S. (2019) An Overview of microRNAs: Biology, Functions, Therapeutics, and Analysis Methods. *Journal of Cellular Physiology*, **234**, 5451-5465. <https://doi.org/10.1002/jcp.27486>
- [17] Ding, H., Gao, G., Zhang, L., *et al.* (2016) The Protective Effects of Curculigoside A on Adjuvant-Induced Arthritis by Inhibiting NF- $\kappa$ B/NLRP3 Activation in Rats. *International Immunopharmacology*, **30**, 43-49. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2015.11.026>
- [18] Alevizos, I. and Illei, G.G. (2010) MicroRNAs as Biomarkers in Rheumatic Diseases. *Nature Reviews Rheumatology*, **6**, 391-398. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2010.81>
- [19] Tavasolian, F., Hosseini, A.Z., Soudi, S. and Naderi, M. (2020) miRNA-146a Improves Immunomodulatory Effects of MSC-Derived Exosomes in Rheumatoid Arthritis. *Current Gene Therapy*, **20**, 297-312. <https://doi.org/10.2174/1566523220666200916120708>
- [20] Evangelatos, G., Fragoulis, G.E., Koulouri, V. and Lambrou, G.I. (2019) MicroRNAs in Rheumatoid Arthritis: From Pathogenesis to Clinical Impact. *Autoimmunity Reviews*, **18**, Article ID: 102391. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2019.102391>
- [21] Boyle, D.L., Soma, K., Hodge, J., *et al.* (2015) The JAK Inhibitor Tofacitinib Suppresses Synovial JAK1-STAT Signalling in Rheumatoid Arthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, **74**, 1311-1316. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2014-206028>
- [22] Innala, L., Sjöberg, C., Möller, B., *et al.* (2016) Co-Morbidity in Patients with Early Rheumatoid Arthritis-Inflammation Matters. *Arthritis Research & Therapy*, **18**, Article No. 33. <https://doi.org/10.1186/s13075-016-0928-y>
- [23] Jin, S., Chen, H., Li, Y., *et al.* (2018) Maresin 1 Improves the Treg/Th17 Imbalance in Rheumatoid Arthritis through miR-21. *Annals of the Rheumatic Diseases*, **77**, 1644-1652. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2018-213511>
- [24] Sheedy, F.J. (2015) Turning 21: Induction of miR-21 as a Key Switch in the Inflammatory Response. *Frontiers in Immunology*, **6**, Article 19. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00019>
- [25] Li, H.W., Xie, Y., Li, F., *et al.* (2016) Effect of miR-19a and miR-21 on the JAK/STAT Signaling Pathway in the Peripheral Blood Mononuclear Cells of Patients with Systemic Juvenile Idiopathic Arthritis. *Experimental and Therapeutic Medicine*, **11**, 2531-2536. <https://doi.org/10.3892/etm.2016.3188>
- [26] Li, H.W. and Zeng, H.S. (2020) Regulation of JAK/STAT Signal Pathway by miR-21 in the Pathogenesis of Juvenile Idiopathic Arthritis. *World Journal of Pediatrics*, **16**, 502-513. <https://doi.org/10.1007/s12519-019-00268-w>