

# 血浆外泌体 miR-34-5p 和 miR-142-3p 在系统性硬化症中的表达及临床意义

李文根<sup>1△</sup>, 古晓东<sup>2</sup>, 翁锐强<sup>2</sup>, 刘苏东<sup>2</sup>, 陈 超<sup>1</sup>

[梅州市人民医院(黄塘医院)1. 风湿免疫科, 2. 科研实验中心, 广东梅州 514031]

**[摘要]** **目的:**检测系统性硬化症(systemic sclerosis, SSc)患者血浆外泌体微小 RNA(microRNA, miRNA)的表达, 探讨其在 SSc 中的临床意义。**方法:**选取 20 例梅州市人民医院风湿免疫科 2020 年 1 月至 2022 年 1 月未接受治疗的初诊 SSc 患者, 同时以年龄及性别匹配的 15 例健康志愿者作为对照组。采用超速离心法获得血浆外泌体, 采用实时荧光定量聚合酶链式反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)检测外泌体 miR-34-5p、miR-92-3p 和 miR-142-3p 的表达。采用 Spearman 秩相关系数检验分析 miRNA 表达水平与 SSc 临床特点的相关性。**结果:**20 例 SSc 患者的平均年龄为(52.6 ± 12.6)岁, 男性 7 例, 女性 13 例。根据皮肤累及范围, 13 例为局限皮肤型 SSc (limited cutaneous systemic sclerosis, lcSSc), 7 例为弥漫皮肤型 SSc (diffuse cutaneous systemic sclerosis, dcSSc)。根据高分辨率胸部 CT 检查结果, 7 例确诊间质性肺病(interstitial lung disease, ILD), 13 例确诊非 ILD。SSc 患者血浆外泌体 miR-34-5p、miR-92-3p 和 miR-142-3p 的表达水平显著高于对照组(分别为  $P=0.003$ 、 $P=0.0001$  和  $P=0.016$ )。与未并发 ILD 的患者相比, 并发 ILD 患者 miR-34-5p 和 miR-142-3p 的表达水平显著降低(分别为  $P=0.037$  和  $P=0.015$ )。miR-34-5p 和 miR-142-3p 的表达水平与 ILD(分别为  $r=-0.48$ 、 $P=0.031$  和  $r=-0.55$ 、 $P=0.011$ )、关节炎(分别为  $r=-0.46$ 、 $P=0.040$  和  $r=-0.48$ 、 $P=0.032$ )均呈负相关。miR-142-3p 与红细胞沉降率呈负相关( $r=-0.55$ 、 $P=0.012$ )。**结论:**SSc 的血浆外泌体 miR-34-5p、miR-92-3p 和 miR-142-3p 存在表达失调, 表达异常的 miR-34-5p 和 miR-142-3p 与 SSc 相关 ILD(SSc associated ILD, SSc-ILD)存在相关性。

**[关键词]** 系统性硬化症; 微 RNAs; 外泌体; 间质性肺疾病

**[中图分类号]** R593.25 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1671-167X(2023)06-1022-06

**doi:**10.19723/j.issn.1671-167X.2023.06.010

## Expression and clinical significance of plasma exosomal miR-34-5p and miR-142-3p in systemic sclerosis

LI Wen-gen<sup>1△</sup>, GU Xiao-dong<sup>2</sup>, WENG Rui-qiang<sup>2</sup>, LIU Su-dong<sup>2</sup>, CHEN Chao<sup>1</sup>

[1. Department of Rheumatology and Immunology, 2. Scientific Research and Experimental Center, Meizhou People's Hospital (Huangtang Hospital), Meizhou 514031, Guangdong, China]

**ABSTRACT Objective:** To detect the expression of plasma exosomal microRNA (miRNA) in systemic sclerosis (SSc), and to investigate its clinical significance. **Methods:** A total of 20 patients who were initially diagnosed with SSc and did not receive medication in Department of Rheumatology and Immunology of Meizhou People's Hospital from January 2020 to January 2022 were recruited, as well as 15 healthy individuals whose gender and age matched with those of the SSc patients. Plasma exosomes were isolated using ultracentrifugation method. The expression levels of exosomal miR-34-5p, miR-92-3p and miR-142-3p were detected by quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR). Correlations between the expression levels of exosomal miRNAs and clinical characteristic were analyzed by Spearman's rank correlation coefficient test. **Results:** The mean age of 20 patients with SSc was (52.6 ± 12.6) years, including 7 males and 13 females. Among the 20 SSc patients, 13 cases were diagnosed as limited cutaneous systemic sclerosis (lcSSc) and 7 cases were diagnosed as diffuse cutaneous systemic sclerosis (dcSSc) according to the extent of skin involvement. According to the findings of high resolution chest CT, 7 of 20 SSc patients were diagnosed with interstitial lung disease (ILD) and 13 SSc patients were diagnosed with non-ILD. The expression levels of exosomal miR-34-5p, miR-92-3p and miR-142-3p were significantly elevated in the SSc patients compared with those in the healthy controls group ( $P=0.003$ ,  $P=0.0001$ , and  $P=0.016$ , respectively). Compared with the SSc patients without ILD, the expression

**基金项目:** 广东省医学科学技术研究基金(B2022263)和梅州市人民医院科研人才培育项目(PY-C2020009) Supported by the Medical Science and Technology Research Foundation of Guangdong Province (B2022263) and the Scientific Research Talent Cultivation Foundation of Meizhou People's Hospital (PY-C2020009)

△ Corresponding author's e-mail, ligen0072008@163.com

网络出版时间:2023-11-03 17:48:24 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4691.R.20231103.1517.006.html>

levels of miR-34-5p and miR-142-3p were significantly lower in the SSc patients with ILD ( $P = 0.037$  and  $P = 0.015$ , respectively). The expression levels of exosomal miR-34-5p and miR-142-3p showed negative correlation with ILD ( $r = -0.48$ ,  $P = 0.031$  and  $r = -0.55$ ,  $P = 0.011$ , respectively), and arthritis ( $r = -0.46$ ,  $P = 0.040$  and  $r = -0.48$ ,  $P = 0.032$ , respectively). The expression levels of exosomal miR-142-3p showed a negative correlation with erythrocyte sedimentation rate (ESR) ( $r = -0.55$ ,  $P = 0.012$ ). **Conclusion:** Plasma exosomal miR-34-5p, miR-92-3p and miR-142-3p were dysregulated in SSc. The dysregulation of exosomal miR-34-5p and miR-142-3p showed correlation with SSc associated ILD (SSc-ILD).

**KEY WORDS** Systemic sclerosis; microRNAs; Exosomes; Interstitial lung disease

系统性硬化症(systemic sclerosis, SSc)是一种异质性的系统性自身免疫性疾病,其特征是皮肤和器官纤维化,目前其发病机制尚未完全明确<sup>[1]</sup>。越来越多的证据表明,微小RNA(microRNA, miRNA)参与SSc的发病过程<sup>[2-4]</sup>。有研究发现,miR-34-5p和miR-92-3p参与纤维化疾病的发病过程<sup>[5-6]</sup>,miR-142-3p具有抗纤维化作用<sup>[7-8]</sup>,这些miRNAs在SSc的发病机制中可能发挥重要作用。

肺是SSc最常受累的器官之一,间质性肺病(interstitial lung disease, ILD)已成为SSc患者死亡的最主要原因之一<sup>[9]</sup>。目前,ILD的诊断主要依靠临床表现、胸部高分辨率CT检查和肺组织病理活检,但是通过以上检查方法得到的结果具有一定的滞后性,因此,研究和发现可用于早期诊断ILD血清学特异性生物标志物具有重要意义。

外泌体是一种富含多种信息物质(如miRNAs等)的胞外囊泡,外泌体miRNAs参与了人体生理和病理过程,在免疫反应和炎症反应等方面发挥重要作用<sup>[10-11]</sup>。Wermuth等<sup>[12]</sup>的研究发现SSc患者外周血外泌体miRNAs表达失调,其血清能诱导真皮成纤维细胞的促纤维化基因高表达。Wuttge等<sup>[6]</sup>的研究发现血清部分miRNAs在不同临床亚群SSc患者中的表达存在差异。

本研究通过实时荧光定量聚合酶链式反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)检测SSc患者血浆外泌体miR-34-5p、miR-92-3p和miR-142-3p的表达,并将其表达水平与SSc的临床特点进行相关性分析,探究这几个血浆外泌体miRNAs在SSc中的临床意义。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

收集梅州市人民医院风湿免疫科2020年1月至2022年1月住院诊治的初诊SSc患者20例,所有患者均未接受药物治疗,其中男性7例,女性13例,年龄17~71岁,平均年龄( $52.6 \pm 12.6$ )岁。所有SSc患者均符合2013年美国风湿病学会(Ameri-

can College of Rheumatology, ACR)/欧洲抗风湿病联盟(The European League Against Rheumatism, EULAR)制定的SSc分类标准。排除标准包括:合并其他自身免疫性疾病、恶性肿瘤、急慢性感染性疾病、慢性阻塞性肺疾病及血液系统疾病等。

根据SSc患者的皮肤累及范围,分为局限皮肤型SSc(limited cutaneous systemic sclerosis, lcSSc)组13例和弥漫皮肤型SSc(diffuse cutaneous systemic sclerosis, dcSSc)组7例。根据高分辨率胸部CT检查确诊SSc患者是否并发ILD,分为ILD组7例和非ILD组13例。选取梅州市人民医院体检中心的同期15名健康志愿者作为对照组,其中男性4例,女性11例,年龄36~57岁,平均年龄( $49.1 \pm 6.4$ )岁。本研究经梅州市人民医院医学伦理委员会批准(审批编号:2021-CY-40),所有参与者均签署了书面知情同意书。

### 1.2 外泌体的分离

从新鲜血液样本中分离外泌体,将EDTA抗凝血于4℃、2 000×g离心10 min获得血浆,将血浆分装于2 mL无菌EP管,存储在-80℃备用。外泌体采用超速离心法分离获得,将2 mL血浆解冻后,在4℃、2 500×g离心10 min,取上清液在4℃、3 000×g离心15 min,再将获得的上清液置于5 mL离心管,采用超速离心机(Himac CP100NX,日本)在4℃、200 000×g超速离心30 min,去除上清液,最后用50 μL PBS重悬管底沉淀物,得到外泌体。使用外泌体标志分子CD63和TSG101的抗体(Abcam,英国)标记外泌体,采用免疫印迹检测提纯的外泌体中CD63和TSG101的表达。采用透射电镜(JEM-1400,日本)显像外泌体的超微结构和大小。

### 1.3 外泌体RNA的提取

按照外泌体RNA试剂盒(Norgen,加拿大)说明书提取外泌体RNA,使用NanoDrop-1000分光光度计(Thermo Fisher Scientific,美国)检测光密度值( $D$ ),评价总RNA的质量和浓度。

### 1.4 逆转录和miRNA定量

使用miRNA qRT-PCR试剂盒(Takara,日本)进

行逆转录酶定量 PCR 以检测 miRNA 的表达。将外泌体总 RNA 逆转录成 cDNA, 在含有 cDNA、SYBR 混合物和特异性引物的 96 孔板中进行 qRT-PCR 扩增, 扩增反应在 Roche LightCycler 480 平台 (Roche, 美国) 上进行。以 U6 小核 RNA (small nuclear-RNA, snRNA) 作为内参照, 每个样本做 2 个复孔, miRNAs 的循环数阈值 (cycle threshold, Ct) 取平均值, 计算  $\Delta Ct$  的公式为:  $\Delta Ct = Ct_{miRNA} - Ct_{U6}$ , 使用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  方法计算目的 miRNAs 的相对表达水平。

1.5 统计学分析

采用 SPSS 25.0 软件和 GraphPad Prism 9.0 软件进行数据分析。计量资料以均数 ± 标准差或中位数 ( $Q_1, Q_3$ ) 表示, 正态分布的计数资料采用 Student *t* 检验或 Fisher 检验, 非正态分布的资料组间比较采

用 Mann-Whitney *U* 检验, 外泌体 miRNAs 的表达水平与 SSc 临床特点的相关性采用 Spearman 相关分析, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象的临床基线资料

研究对象的临床基线资料如表 1 和 2 所示, SSc 患者组与健康对照组之间的年龄和性别差异无统计学意义。20 例 SSc 患者中有 7 例并发 ILD, 且均为女性。SSc 患者亚组间的临床特点相比较, 雷诺现象 (Raynaud phenomenon) 在 ILD 组和 lcSSc 组中更常见, 血清抗 Ro-52 抗体阳性率在 ILD 和 dcSSc 患者组中更高, 但这些临床特点在 SSc 两亚组间的差异无统计学意义。

表 1 系统性硬化症患者组和健康对照组的人口统计学和临床参数  
Table 1 Demographic and clinical parameters of SSc patients and healthy controls

Variables	SSc (n = 20)		Healthy controls (n = 15)
	lcSSc (n = 13)	dcSSc (n = 7)	
Age/years	53.8 ± 11.4	50.1 ± 15.2	49.1 ± 6.4
Male/Female, n	4/9	3/4	4/11
Raynaud phenomenon	10 (76.9)	4 (57.1)	n/a
Arthritis	7 (53.8)	4 (57.1)	n/a
Digital ulcers	2 (15.4)	0 (0)	n/a
ILD	5 (38.5)	2 (28.6)	n/a
ESR/(mm/h)	26.0 (15.0, 38.0)	24.0 (6.5, 48.5)	n/a
CPR/(g/L)	1.5 (0.9, 7.3)	2.5 (1.2, 19.5)	n/a
ANA positive	13 (100.0)	7 (100.0)	n/a
Anti-Scl-70 antibody	8 (61.5)	3 (42.9)	n/a
ACA	3 (23.1)	0 (0)	n/a
Anti-Ro-52 antibody	2 (15.4)	3 (42.9)	n/a
Rodman assessment	5.0 ± 2.4	15.4 ± 4.8**	n/a

\*\*  $P < 0.01$ , compared with lcSSc subjects. Data are presented as  $\bar{x} \pm s$ ,  $n$  (%), or  $M (Q_1, Q_3)$ . SSc, systemic sclerosis; lcSSc, limited cutaneous systemic sclerosis; dcSSc, diffuse cutaneous systemic sclerosis; n/a, not applicable; ILD, interstitial lung disease; ESR, erythrocyte sedimentation rate; CRP, C-reactive protein; ANA, antinuclear antibodies; ACA, anticentromere antibody.

2.2 外泌体的鉴定

采用 Western blot 技术检测从血浆中提取的外泌体表面标记蛋白 CD63 和 TSG101 进行鉴定 (图 1A), 采用透射电镜鉴定外泌体的结构 (图 1B)。

2.3 外泌体 miRNAs 在健康对照组和 SSc 组及其亚组中表达水平的比较

与健康对照组相比, SSc 患者血浆外泌体 miR-34-5p、miR-92-3p 和 miR-142-3p 的表达水平均显著升高 (分别为  $P = 0.003$ 、 $P = 0.0001$  和  $P = 0.016$ ), 差异有统计学意义 (图 2A); 这三个 miRNAs 的表达水平在 dcSSc 和 lcSSc 两亚组间的差异无统计学意

义 (图 2B)。ILD 组 miR-34-5p 和 miR-142-3p 的表达水平明显低于非 ILD 组 (分别为  $P = 0.037$  和  $P = 0.015$ ), 而 miR-92-3p 的表达水平在这两亚组间的差异无统计学意义 ( $P = 0.757$ , 图 2C)。

2.4 外泌体 miRNAs 的表达水平与 SSc 患者临床特点的相关性分析

外泌体 miR-34-5p 和 miR-142-3p 的表达水平与 SSc 相关 ILD (SSc associated ILD, SSc-ILD) 呈负相关 (分别为  $r = -0.48$ 、 $P = 0.031$  和  $r = -0.55$ 、 $P = 0.011$ ), 与关节炎也呈负相关 (分别为  $r = -0.46$ 、 $P = 0.040$  和  $r = -0.48$ 、 $P = 0.032$ )。在实验室检查

指标方面,外泌体 miR-142-3p 的表达水平与红细胞沉降率(erythrocyte sedimentation rate,ESR)呈负相关

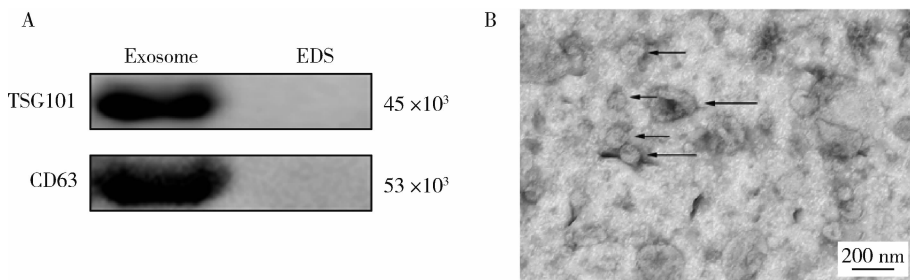
( $r = -0.55$ 、 $P = 0.012$ )。外泌体 miR-92-3p 的表达与 SSc 患者的临床特点之间无显著相关性(表 3)。

表 2 SSc 患者 ILD 和非 ILD 亚组的临床特征

Table 2 Clinical characteristics of ILD and non-ILD subgroups among SSc patients

Variables	ILD ( $n = 7$ )	NILD ( $n = 13$ )
Age/years	51.1 ± 10.8	53.4 ± 13.8
Male/Female, $n$	0/7	7/6
Raynaud phenomenon	6 (85.7)	8 (61.5)
Arthritis	4 (57.1)	7 (53.8)
Digital ulcers	1 (14.3)	1 (7.7)
ESR/(mm/h)	38.0 (21.0, 47.5)	18.0 (10.0, 38.0)
CPR/(g/L)	1.4 (0.9, 4.9)	1.8 (1.1, 18.3)
ANA	7 (100.0)	13 (100.0)
Anti-Scl-70 antibody	5 (71.4)	6 (46.2)
ACA	0 (0)	3 (23.1)
Anti-Ro-52 antibody	2 (28.6)	3 (23.1)
Rodman assessment	9.0 ± 7.1	9.9 ± 7.1

Data are presented as  $\bar{x} \pm s$ ,  $n$  (%), or  $M$  ( $Q_1$ ,  $Q_3$ ). SSc, systemic sclerosis; ILD, interstitial lung disease; NILD, non-interstitial lung disease; ESR, erythrocyte sedimentation rate; CRP, C-reactive protein; ANA, antinuclear antibodies; Scl-70, anti-DNA topoisomerase I; ACA, anticentromere antibody.



A, analysis of exosomes by markers CD63 and TSG101 using Western blot; B, exosomes were observed under transmission electron microscope (arrows). EDS, exosome deprived supernatant.

图 1 血浆外泌体的鉴定

Figure 1 Identification of plasma derived exosomes

### 3 讨论

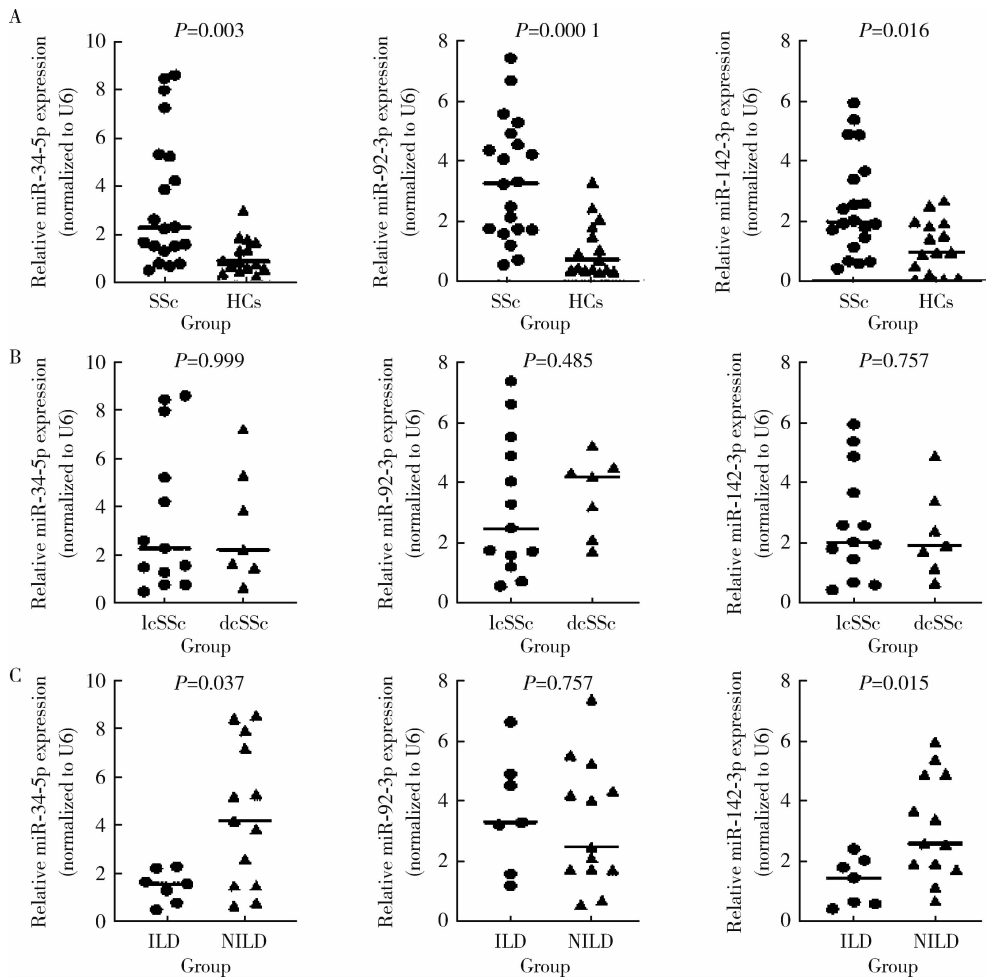
miRNA 失调会导致免疫疾病(如自身免疫和炎症性疾病)的发生,失调的 miRNA 加速 SSc 的发展,促进 ILD 的发生<sup>[4]</sup>。本研究检测了 SSc 患者血浆外泌体 miR-34-5p、miR-92-3p 和 miR-142-3p 的表达,发现这三个 miRNAs 表达失调,miR-34-5p 和 miR-142-3p 的表达水平与 SSc-ILD 均呈负相关。miR-34 可通过负反馈机制在抑制肺纤维化中起重要作用<sup>[13]</sup>。Bulvik 等<sup>[14]</sup>的研究发现,小鼠肺肌成纤维细胞高表达的 miR-34 可以减轻肺纤维化。Disayabutr 等<sup>[15]</sup>的研究发现,特发性肺纤维化患者的 II 型肺泡上皮细胞高表达 miR-34-5p,且与肺纤维化的进展呈负相关。本研究发现,并发 ILD 的 SSc 患者血浆外泌体 miR-

34-5p 表达水平明显低于未并发 ILD 的患者,而且 miR-34-5p 的表达水平与 ILD 呈负相关,提示外泌体 miR-34-5p 表达异常可能与 SSc-ILD 密切相关,但需进一步深入研究其在 SSc-ILD 发病机制中的作用。

miR-92a 参与细胞外基质的代谢过程,其可以下调基质金属蛋白酶 1 (matrix metalloproteinase, MMP-1) 的表达,从而减少细胞外基质的降解<sup>[16]</sup>。肺纤维化的发生、发展与 miR-92a 的表达异常密切相关,特发性肺纤维化和间质性肺纤维化患者成纤维细胞 miR-92a 的表达水平显著高于健康对照组<sup>[17]</sup>。国内外有学者报道,SSc 患者血浆 miR-92a 的表达水平低于健康对照组<sup>[18-19]</sup>,而本研究结果显示,SSc 患者血浆外泌体 miR-92-3p 的表达水平显著高于健康对照组,这与 Sing 等<sup>[20]</sup>报道的结果相一

致。本研究未发现外泌体 miR-92-3p 的表达水平在 ILD 组和非 ILD 组之间存在差异,而 Wuttge 等<sup>[6]</sup>的研究发现,合并 ILD 的 SSc 患者血浆 miR-92a 表达下调,尤其是在那些抗 Scl-70 抗体和抗 U1 小核糖核蛋白 (ribonucleoprotein, RNP) 抗体阳性的患者。

本研究未发现外泌体 miR-92-3p 的表达水平与 SSc 患者自身抗体谱存在相关性,这与 Steen 等<sup>[18]</sup>的报道相一致。目前,关于 SSc 外周血 miR-92-3p 表达异常的研究结果尚存在差异,需今后进一步探讨其在 SSc 中的表达及其临床意义。



A, comparison of expression of miR-34-5p, miR-92-3p and miR-142-3p between SSc patients and healthy controls; B, comparison of expression of exosomal miR-34-5p, miR-92-3p and miR-142-3p between lcSSc and dcSSc patients; C, comparison of expression of miR-34-5p, miR-92-3p and miR-142-3p between SSc patients with ILD and without ILD. SSc, systemic sclerosis; HCs, healthy controls; dcSSc, diffuse cutaneous systemic sclerosis; lcSSc, limited cutaneous systemic sclerosis; ILD, interstitial lung disease; NILD, non-ILD.

图 2 不同组间血浆外泌体 miRNAs 表达水平的比较

Figure 2 Comparison of expression of plasma exosomal miRNAs between the groups

表 3 SSc 患者外泌体 miRNAs 与临床参数的 Spearman 等级相关系数

Table 3 Spearman's rank correlation coefficients between exosomal miRNAs and clinical parameters in SSc patients

Variables	miR-34-5p		miR-92-3p		miR-142-3p	
	r	P	r	P	r	P
Raynaud phenomenon	0.19	0.424	0.00	>0.999	0.13	0.578
Arthritis	-0.46	0.040 *	0.13	0.583	-0.48	0.032 *
ILD	-0.48	0.031 *	0.08	0.732	-0.55	0.011 *
ESR	-0.41	0.075	-0.18	0.438	-0.55	0.012 *
CPR	-0.11	0.640	-0.10	0.686	-0.05	0.821
Anti-Scl-70 antibody	-0.35	0.126	-0.44	0.051	-0.18	0.455
ACA	0.13	0.575	0.09	0.722	0.26	0.278
Anti-Ro-52 antibody	0.15	0.523	0.30	0.193	0.13	0.585
Rodman assessment	0.23	0.336	0.20	0.406	0.20	0.394

\* P < 0.05. SSc, systemic sclerosis; ILD, interstitial lung disease; ESR, erythrocyte sedimentation rate; CRP, C-reactive protein; Scl-70, anti-DNA topoisomerase I; ACA, anticentromere antibody.

miR-142-3p 是参与抗纤维化作用的 miRNA,其表达异常参与了器官纤维化的发病<sup>[21]</sup>。miR-142-3p 通过下调细胞转化生长因子  $\beta$  受体 1 (transforming growth factor  $\beta$  receptor 1, TGF $\beta$ -R1) 的表达,进而抑制肺泡上皮细胞和肺成纤维细胞的纤维化反应,富含 miR-142-3p 的外泌体具有抗纤维化作用<sup>[21]</sup>。与健康人相比,SSc 患者血浆 miR-142-3p 的表达明显下调<sup>[18]</sup>。Guiot 等<sup>[21]</sup>的研究发现,血浆外泌体 miR-142-3p 在特发性肺纤维化患者中明显升高。本研究发现,SSc 患者血浆外泌体 miR-142-3p 表达明显高于健康对照组,合并 ILD 的 SSc 患者外泌体 miR-142-3p 表达水平明显低于未合并 ILD 的患者,而且外泌体 miR-142-3p 的表达水平与 SSc-ILD 呈负相关,提示 miR-142-3p 的表达下调促进了 SSc-ILD 的发生和发展。Njock 等<sup>[22]</sup>的研究发现,特发性肺纤维化患者痰液中外泌体 miR-142-3p 的表达与肺的弥散功能呈负相关。表达异常的外泌体 miR-142-3p 与 ILD 密切相关,可能成为 SSc-ILD 一个潜在的生物学标志物。

本研究也存在一些局限性,首先,入组的病例数及并发 ILD 的病例数较少,需扩大样本量进一步探讨血浆外泌体 miRNA 在 SSc 中的临床意义;其次,本研究未能获得 miRNA 表达水平的动态观察,在今后的研究中需弥补以上不足。

综上所述,SSc 患者血浆外泌体 miR-34-5p、miR-92-3p 和 miR-142-3p 表达失调,SSc-ILD 患者血浆外泌体 miR-34-5p 和 miR-142-3p 表达下调,且与 ILD 呈负相关,提示这两种异常表达的血浆外泌体 miRNAs 与 SSc-ILD 的发生和发展存在相关性。

#### 参考文献

[ 1 ] Denton CP, Khanna D. Systemic sclerosis [J]. *Lancet*, 2017, 390(10103): 1685–1699.  
[ 2 ] Szabo I, Muntean L, Crisan T, et al. Novel concepts in systemic sclerosis pathogenesis: Role for miRNAs [J]. *Biomedicines*, 2021, 9(10): 1471.  
[ 3 ] Liu Y, Cheng L, Zhan H, et al. The roles of noncoding RNAs in systemic sclerosis [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 856036.  
[ 4 ] Henry TW, Mendoza FA, Jimenez SA. Role of microRNA in the pathogenesis of systemic sclerosis tissue fibrosis and vasculopathy [J]. *Autoimmun Rev*, 2019, 18(11): 102396.  
[ 5 ] Zhao M, Qi Q, Liu S, et al. MicroRNA-34a: A novel therapeutic target in fibrosis [J]. *Front Physiol*, 2022, 13: 895242.  
[ 6 ] Wuttge DM, Carlsen AL, Teku G, et al. Specific autoantibody profiles and disease subgroups correlate with circulating microRNA in systemic sclerosis [J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2015, 54(11): 2100–2107.

[ 7 ] Jafarinejad-Farsangi S, Gharibdoost F, Farazmand A, et al. MicroRNA-21 and microRNA-29a modulate the expression of collagen in dermal fibroblasts of patients with systemic sclerosis [J]. *Autoimmunity*, 2019, 52(3): 108–116.  
[ 8 ] Shi J, Li F, Luo M, et al. Distinct roles of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease and idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Mediators Inflamm*, 2017, 2017: 3520581.  
[ 9 ] Cottin V, Brown KK. Interstitial lung disease associated with systemic sclerosis (SSc-ILD) [J]. *Respir Res*, 2019, 20(1): 13.  
[ 10 ] Duan W, Zhang W, Jia J, et al. Exosomal microRNA in autoimmunity [J]. *Cell Mol Immunol*, 2019, 16(12): 932–934.  
[ 11 ] Mirzaei R, Zamani F, Hajibaba M, et al. The pathogenic, therapeutic and diagnostic role of exosomal microRNA in the autoimmune diseases [J]. *J Neuroimmunol*, 2021, 358: 577640.  
[ 12 ] Wermuth PJ, Piera-Velazquez S, Jimenez SA. Exosomes isolated from serum of systemic sclerosis patients display alterations in their content of profibrotic and antifibrotic microRNA and induce a profibrotic phenotype in cultured normal dermal fibroblasts [J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2017, 35(Suppl 106): 21–30.  
[ 13 ] Cui H, Ge J, Xie N, et al. miR-34a inhibits lung fibrosis by inducing lung fibroblast senescence [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2017, 56(2): 168–178.  
[ 14 ] Bulvik R, Biton M, Berkman N, et al. Forefront: MiR-34a-knockout mice with wild type hematopoietic cells, retain persistent fibrosis following lung injury [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(6): 2228.  
[ 15 ] Disayabutr S, Kim EK, Cha SI, et al. miR-34 miRNAs regulate cellular senescence in type II alveolar epithelial cells of patients with idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *PLoS One*, 2016, 11(6): e0158367.  
[ 16 ] Yang G, Yang L, Wang W, et al. Discovery and validation of extracellular/circulating microRNAs during idiopathic pulmonary fibrosis disease progression [J]. *Gene*, 2015, 562(1): 138–144.  
[ 17 ] Blumer S, Fang L, Chen WC, et al. IPF-Fibroblast Erk1/2 activity is independent from microRNA cluster 17–92 but can be inhibited by treprostinil through DUSP1 [J]. *Cells*, 2021, 10(11): 2836.  
[ 18 ] Steen SO, Iversen LV, Carlsen AL, et al. The circulating cell-free microRNA profile in systemic sclerosis is distinct from both healthy controls and systemic lupus erythematosus [J]. *J Rheumatol*, 2015, 42(2): 214–221.  
[ 19 ] 黄赛赛,王丹丹,张卓亚,等. 系统性硬化症患者血浆 7 种 miRNA 水平与脏器累及和临床指标的相关性 [J]. *临床检验杂志*, 2021, 39(5): 358–361.  
[ 20 ] Sing T, Jinnin M, Yamane K, et al. microRNA-92a expression in the sera and dermal fibroblasts increases in patients with scleroderma [J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2012, 51(9): 1550–1556.  
[ 21 ] Guiot J, Cambier M, Boeckx A, et al. Macrophage-derived exosomes attenuate fibrosis in airway epithelial cells through delivery of antifibrotic miR-142-3p [J]. *Thorax*, 2020, 75(10): 870–881.  
[ 22 ] Njock MS, Guiot J, Henket MA, et al. Sputum exosomes: Promising biomarkers for idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Thorax*, 2019, 74(3): 309–312.