

# 环状 RNA hsa\_circ\_0002715 在系统性红斑狼疮患者全血中的表达和意义

罗 清 黄自坤 张 露 李俊明

**摘要** 目的 探讨环状 RNA hsa\_circ\_0002715 在系统性红斑狼疮(SLE)患者诊断及鉴别诊断中的应用价值。方法 应用 qRT-PCR 检测 76 例 SLE 患者、33 例健康对照者和 88 例非 SLE 患者(56 例类风湿性关节炎患者和 32 例强直性脊柱炎患者)全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 表达水平,分析 SLE 患者全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 表达水平与临床指标的相关性,并采用受试者工作曲线(ROC)评价全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 诊断价值。结果 ① SLE 患者全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 表达水平均高于健康对照者( $P < 0.001$ )和非 SLE 患者( $P < 0.001$ ),差异有统计学意义。② SLE 患者全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 表达水平与补体 3( $r_s = -0.453, P < 0.001$ ),补体 4( $r_s = -0.336, P = 0.004$ ),白细胞数量( $r_s = -0.486, P < 0.001$ ),血红蛋白( $r_s = -0.277, P < 0.016$ ),血小板数量( $r_s = -0.300, P = 0.009$ )呈负相关,与抗双链 DNA 抗体( $r_s = 0.253, P = 0.040$ )呈正相关,抗核小体阳性的 SLE 患者其全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 表达水平高于阴性者( $P < 0.001$ )。③ SLE 患者和健康对照者全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 ROC 曲线下面积(AUC)为 0.772,敏感性为 63.16%,特异性为 81.82%。SLE 患者和非 SLE 患者全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 AUC 为 0.674,敏感性为 55.26%,特异性为 72.73%;SLE 患者和所有对照者(非 SLE 患者和健康对照者)全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 AUC 为 0.701,敏感性为 51.32%,特异性为 80.17%。④ 环状 RNA hsa\_circ\_0002715 对 SLE 的诊断敏感性高于 anti-dsDNA,且联合环状 RNA hsa\_circ\_0002715-anti-dsDNA 对 SLE 的诊断效能升高。结论 SLE 患者全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 的表达明显上调,且与 SLE 患者的疾病活动性和血液系统受累严重程度密切相关,联合 hsa\_circ\_0002715-anti-dsDNA 可作为 SLE 的潜在诊断及鉴别诊断标志物。

**关键词** 系统性红斑狼疮; 环状 RNA; 诊断标志物

2020-03-27 接收

基金项目: 江西省重点研发计划项目(编号: 20181BBG70013); 江西省教育厅科技项目(编号: 170008); 江西省自然科学基金(编号: 20171BAB205113); 国家自然科学基金项目(编号: 81360459)

作者单位: 南昌大学第一附属医院检验科, 南昌 330006

作者简介: 罗 清,女,硕士,主管技师;

李俊明,男,博士,教授,责任作者, E-mail: lisir361@163.com

中图分类号 R 593.24+1

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2020)07-1130-07  
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.07.029

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)是一种病因不明的,常见的慢性系统性自身免疫性疾病,好发于育龄期妇女<sup>[1]</sup>。目前 SLE 的诊断主要依据临床表现和实验室检查,诊断标准由美国风湿病协会制定,符合 11 条中的 4 条即可诊断<sup>[2]</sup>。用于诊断的实验室指标主要为抗核抗体、抗双链 DNA、抗 Sm 等,但是这些自身抗体敏感性或特异性较低,患者中阳性率也较低,有一定的误诊和漏诊<sup>[3]</sup>。环状 RNA(circular RNAs, circRNAs)是最近新发现的区别于传统线性 RNA 的一类特殊 RNA,具有闭合环状结构<sup>[4]</sup>。此外, circRNA 具有疾病和组织特异性,这使得 circRNA 在作为新型临床生物标记物的开发应用上具有明显优势。研究<sup>[5-6]</sup>显示 circRNA 可用于多种疾病的诊断、鉴别诊断、预后监测。在 SLE 中的作用也逐渐得到大家的认识<sup>[7]</sup>。该研究首次以全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 为研究目标,探讨其在 SLE 中临床意义以及诊断和鉴别诊断中的价值。

## 1 材料与方法

**1.1 临床资料** 收集 2018 年 9 月~2019 年 2 月南昌大学第一附属医院风湿免疫科 76 例 SLE 患者,其中男 6 例,女 70 例;年龄 10~66( $40.2 \pm 16.4$ )岁,临床诊断符合美国风湿病学会 1997 年修订的分类标准<sup>[2]</sup>,并排除严重糖尿病、高血压、高血脂、心脑血管疾病、肝肾疾病、血栓性疾病、血小板疾病等其他疾病。正常对照组 33 例,均为健康志愿者,排除炎症或其他自身免疫性疾病,其中男 4 例,女 29 例;年龄 19~84( $42.5 \pm 13.3$ )岁。2 组性别、年龄无显著性差异。详细收集 SLE 患者临床资料及相关实验室检查数据,并计算其 SLE 疾病活动指数(systemic lupus erythematosus disease activity index, SLEDAI)。此外,选取同期收治的 56 例初诊未治疗

的类风湿关节炎和 32 例初诊未治疗的强直性脊柱炎作为非 SLE 疾病对照组,其中男 34 例,女 54 例;年龄 13 ~ 84 (43.1 ± 14.4) 岁。临床诊断分别符合美国风湿病学会 1987 年修订类风湿关节炎诊断标准<sup>[8]</sup>和美国风湿性学会强直性脊柱炎修订标准<sup>[9]</sup>,并排除其他疾病。本实验经过医院伦理委员会批准,患者和健康人均签署知情同意书。

**1.2 SLE 治疗** 入选的 76 例 SLE 患者中 47 例为初诊未治疗者,其中 7 例初诊未治疗者于治疗前和治疗半个月后收集其空腹 EDTA 抗凝外周血用于 PCR 检测。初诊未治和复诊 SLE 患者均根据病情严重程度选取治疗方案:①病情稳定(SLEDAI 为 0 ~ 4 分)者维持治疗;②病情轻度活动(SLEDAI 为 5 ~ 9 分)者用泼尼松或糖皮质激素 + 羟氯喹/甲氨蝶呤/来氟米特治疗;③病情中度活动(SLEDAI 为 10 ~ 14 分)者用糖皮质激素 + 环磷酰胺/霉酚酸酯治疗;④病情重度活动(SLEDAI ≥ 15 分)者先用糖皮质激素冲击加环磷酰胺,再按病情中度活动治疗方案治疗。

**1.3 试剂和主要仪器** TRIzol 试剂购自 Invitrogen 公司; PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser 和 SYBR® Premix Ex Taq™ 购自大连宝生物 TaKaRa 公司;抗双链 DNA 抗体检测试剂盒购自上海科新生物技术股份有限公司;抗可提取核抗原抗体检测试剂盒购自德国欧盟公司; hsa\_circ\_0002715 及内参基因 β-actin 引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司合成; Nanodrop ND-4000 紫外分光光度计购自美国 Nanodrop 公司; Applied Biosystems 7500 型荧光定量 PCR 仪器购自美国 ABI 公司;特定蛋白仪 IMMAGE800 购自美国 Beckman Coulter 公司;动态血沉仪购自北京普利生公司;血常规检测仪购自日本希森美康。

**1.4 全血总 RNA 提取** 采集受试者清晨空腹 EDTA 抗凝外周血 2 ml, 6 h 内送检,取 250 μl 全血加用 750 μl TRIzol 试剂处理,放 -80 °C 冰箱保存。按 TRIzol 试剂说明书分别提取 SLE 患者、非 SLE 患者和健康对照者全血的总 RNA,焦碳酸二乙酯处理过的蒸馏水溶解 RNA,采用 RNA 纯化试剂盒纯化总 RNA。进一步使用 Nanodrop ND-4000 紫外分光光度计对总 RNA 进行定量和质量分析。

**1.5 RT-PCR 检测** 采用 RT-PCR SYBR Green 法,以 β-actin 作为内参进行 hsa\_circ\_0002715 的检测。提取 PBMC 总 RNA,DEPC 水溶解后,取 1 μl RNA,利用 PrimeScript 反转录试剂盒将 RNA 反转录

为 cDNA。采用 20 μl 反应体系进行检测,PCR 引物序列见表 1。反应体系包括:1 μl 反转录产物、0.5 μmol/L 上游引物、0.5 μmol/L 下游引物、1 × SYBR 荧光染料试剂。PCR 反应条件为:95 °C、10 min,95 °C、15 s,60 °C、1 min,72 °C、30 s,40 个扩增循环。所有样品做 3 个复孔。RT-PCR 使用 ABI7500 仪器进行。分析待测标本的扩增溶解曲线,均为单峰,无非特异性扩增。根据待测标本的 Ct 值,采用相对定量法对 RT-PCR 结果进行分析,计算  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 。引物序列见表 1。

表 1 荧光定量 PCR 引物序列

名称	引物序列(5'-3')
hsa_circ_0002715	上游: GCAAACCTCCTCTCCATGCT
	下游: GTGAAAAGGCTGTGCCTGTG
b-action	上游: TACTGCCCTGGCTCCTAGCA
	下游: TGGACAGTGAGGCCAGGATAG

**1.6 SLE 的其他指标检测方法** 免疫球蛋白 G、补体 3、补体 4、C-反应蛋白采用速率散射比浊法,抗双链 DNA 抗体采用酶联免疫吸附法,抗可提取核抗原抗体采用免疫印记法检测,血沉采用动态血沉仪法,血常规采用电阻抗法。

**1.7 统计学处理** 实验数据采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析,首先进行正态性检验,符合正态分布数据 2 组样本均数的比较采用 *t* 检验,否则采用非参数检验。多组间非参数检验用于 3 组之间的比较,同时 Dunn's post-hoc test 用于多组间非参数检验后的两两比较。2 个变量之间相关性采用 spearman 相关分析。受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析评价 circRNA 诊断和鉴别诊断的敏感性和特异性。以双侧  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 在 SLE 患者中表达的水平** 结果如图 1A 所示,采用多组间非参数检验分析表明 SLE 患者、非 SLE 患者和健康对照者全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 表达水平,差异有统计学意义( $P < 0.001$ );此外本文采用 Dunn's post-hoc test 将检验效能调整后,再分析 3 组中两两组间比较显示 SLE 患者全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 表达水平高于对照者,差异有统计学意义( $P < 0.001$ );SLE 患者全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 表达水平高于非 SLE 患者,差异有统计学意义( $P < 0.001$ );但并未发现非 SLE 患者全血环状

RNA hsa\_circ\_0002715 表达水平高于对照者, 差异无统计学意义。

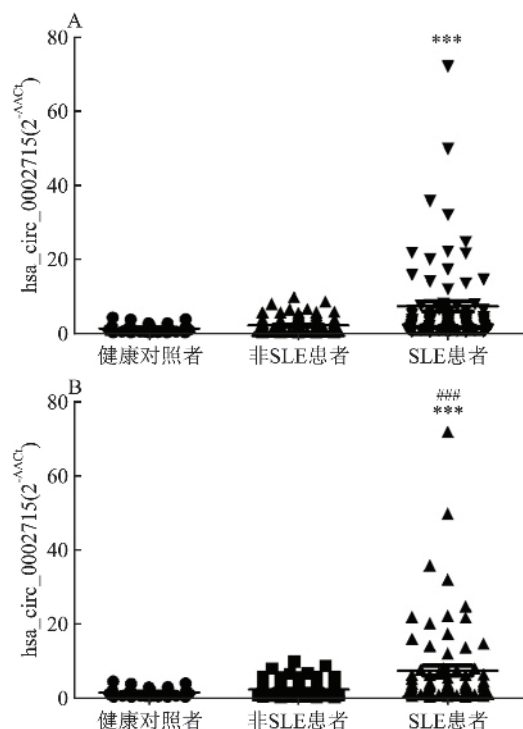


图1 全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715

在健康对照者、非 SLE 患者、SLE 患者中的表达水平

A: 非参数检验; 三组间比较: \*\*\*  $P < 0.001$ ; B: Dunn's post-hoc 检验; 与健康对照者比较: \*\*\*  $P < 0.001$ ; 与非 SLE 患者比较: ###  $P < 0.001$

**2.2 全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 表达水平与 SLE 患者临床参数的关系** 本文分析了全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 表达水平与 SLE 患者疾病活动性评分、补体 3、补体 4、免疫球蛋白 G、自身抗体 (抗双链 DNA 抗体、抗核小体抗体、抗 SSA 抗体、抗 SSB 抗体、抗 Sm 抗体、抗 nRNP/Sm 抗体、抗核糖体蛋白 P 抗体)、血沉、C-反应蛋白、狼疮肾、血液系统损伤 (白细胞数量、红细胞数量、血红蛋白、红细胞比积、血小板数量、淋巴细胞数量、单核细胞数量、中性粒细胞数量)、皮疹、关节炎、脱发、浆膜炎、治疗等临床参数的关系。结果如图 2 所示, SLE 患者全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 表达水平与补体 3 ( $r_s = -0.453, P < 0.001$ )、补体 4 ( $r_s = -0.336, P = 0.004$ ) 呈负相关, 与抗双链 DNA 抗体 ( $r_s = 0.253, P = 0.040$ ) 呈正相关。抗核小体抗体阳性的 SLE 患者其全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 表达水平高于抗核小体抗体阴性者 ( $P < 0.001$ ), 差异有统计学意义。此外, 本研究还显示 SLE 患者全血环状 RNA

hsa\_circ\_0002715 表达水平 SLE 患者的白细胞数量 ( $r_s = -0.486, P < 0.001$ )、红细胞数量 ( $r_s = -0.297, P = 0.009$ )、血红蛋白 ( $r_s = -0.277, P < 0.016$ )、红细胞比积 ( $r_s = -0.303, P = 0.008$ )、血小板数量 ( $r_s = -0.300, P = 0.009$ ) 呈负相关; 但并未发现其与疾病活动性评分、狼疮肾等临床表现以及治疗有关。

**2.3 全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 对 SLE 诊断的价值** 为评估全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 对 SLE 的诊断价值, 对 SLE 患者和健康对照者的全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 表达水平进行 ROC 分析。结果如图 3A 所示, ROC 曲线下面积 AUC 为 0.772 (95% CI: 0.683 ~ 0.861;  $P < 0.001$ ), Cut-off 值为 1.939, 敏感性为 63.16%, 特异性为 81.82%, 阳性预测值为 88.89%, 阴性预测值为 49.09%, 约登指数为 0.450。

为评估全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 对 SLE 的鉴别诊断价值, 对 SLE 患者与非 SLE 患者中全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 的表达水平进行 ROC 分析。结果如图 3B 所示, ROC 曲线下面积 AUC 为 0.674 (95% CI: 0.591 ~ 0.757;  $P < 0.001$ ), Cut-off 值为 2.612, 敏感性为 55.26%, 特异性为 72.73%, 阳性预测值为 63.64%, 阴性预测值为 65.31%, 约登指数为 0.280; 对 SLE 与所有对照者 (非 SLE 患者 + 健康对照者) 中全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 的表达水平进行 ROC 分析。结果如图 3C 所示, ROC 曲线下面积 AUC 为 0.701 (95% CI: 0.624 ~ 0.777;  $P < 0.001$ ), Cut-off 值为 3.063, 敏感性为 51.32%, 特异性为 80.17%, 阳性预测值为 61.90%, 阴性预测值为 72.39%, 约登指数为 0.315。

**2.4 全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715、anti-dsDNA、联合环状 RNA hsa\_circ\_0002715-anti-dsDNA 对 SLE 诊断价值的比较** 本研究前面结果表明环状 RNA hsa\_circ\_0002715 对 SLE 诊断 Cut-off 值分别为  $> 1.939$  (SLE 患者 vs 健康对照者),  $> 2.612$  (SLE 患者 vs 非 SLE 患者),  $> 3.063$  (SLE 患者 vs 非 SLE 患者 + 健康对照者)。76 例 SLE 患者中有 66 例患者收集空腹 EDTA 抗凝外周血检测环状 RNA hsa\_circ\_0002715 时进行了 anti-dsDNA 检测, 因此分别根据上述 ROC 曲线获得的 Cut-off 值和 anti-dsDNA 是否为阳性来分析三个队列 (SLE 患者 vs 健康对照者; SLE 患者 vs 非 SLE 患者; SLE 患者 vs 非 SLE 患者 + 健康对照者) 中环状 RNA hsa\_circ\_0002715、anti-dsDNA、联合环状 RNA hsa\_circ\_0002715-anti-dsDNA 对 SLE 诊断价值的比较。

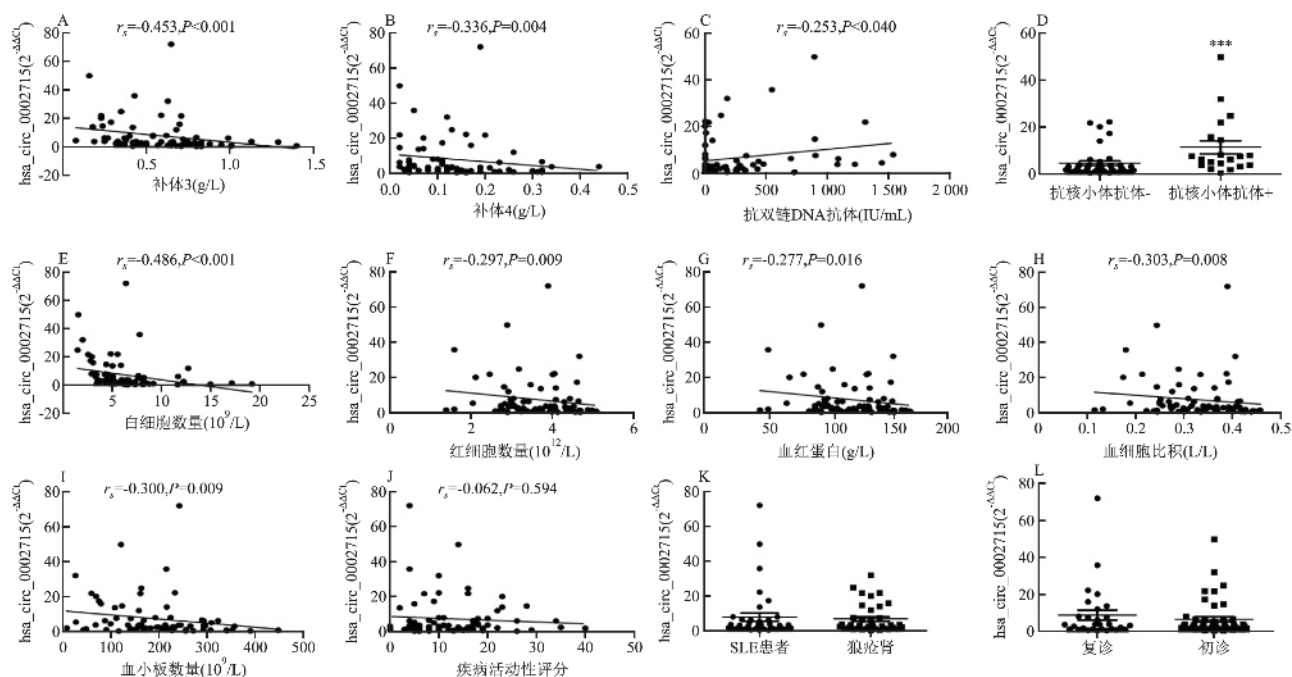


图2 全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 表达水平与 SLE 患者临床参数的关系

A: SLE 患者全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 与补体 3 的关系; B: SLE 患者全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 与补体 4 的关系; C: SLE 患者全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 与抗双链 DNA 抗体的关系; D: SLE 患者全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 与抗核小体抗体的关系,与抗核小体抗体阴性者比较: \*\*\*  $P < 0.001$ ; E: SLE 患者全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 与白细胞数量的关系; F: SLE 患者全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 与红细胞数量的关系; G: SLE 患者全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 与血红蛋白的关系; H: SLE 患者全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 与血细胞比积的关系; I: SLE 患者全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 与血小板数量的关系; J: SLE 患者全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 与疾病活动性评分的关系; K: SLE 患者全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 与狼疮肾的关系; L: SLE 患者全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 与治疗的关系

表2 环状 RNA hsa\_circ\_0002715、anti-dsDNA、联合 hsa\_circ\_0002715-anti-dsDNA 对 SLE 的诊断价值

队列	检验项目	阳性例数	敏感性 (%)	特异性 (%)	阳性预测值	阴性预测值	约登指数
66 SLE 患者 vs 33 健康对照者	环状 RNA	42	63.64	81.82 <sup>#</sup>	87.50	52.94	0.455
	anti-dsDNA	32	48.48 <sup>*</sup>	100.00	100.00	49.25	0.485
	联合	50	75.76	100.00	100.00	67.35	0.758
66 SLE 患者 vs 88 非 SLE 患者	环状 RNA	37	56.06 <sup>*</sup>	72.73 <sup>#</sup>	59.68	68.82	0.288
	anti-dsDNA	32	48.48 <sup>*</sup>	100.00	100.00	72.13	0.485
	联合	48	72.73	100.00	100.00	83.02	0.727
66 SLE 患者 vs 121 非 SLE 患者 + 健康对照者	环状 RNA	34	51.52 <sup>*</sup>	80.17 <sup>#</sup>	58.62	75.19	0.317
	anti-dsDNA	32	48.48 <sup>*</sup>	100.00	100.00	78.06	0.485
	联合	46	69.70	100.00	100.00	85.82	0.697

与联合 hsa\_circ\_0002715-anti-dsDNA 比较: \*  $P < 0.05$ ; 与 anti-dsDNA 联合 hsa\_circ\_0002715-anti-dsDNA 比较: #  $P < 0.05$

0002715-anti-dsDNA 对 SLE 诊断的敏感性、特异性、阳性预测值和阴性预测值,结果如表 2 所示,环状 RNA hsa\_circ\_0002715 的敏感性均高于 anti-dsDNA,且联合环状 RNA hsa\_circ\_0002715-anti-dsDNA 的敏感性和特异性均最高。

### 3 讨论

研究<sup>[10]</sup>表明 circRNAs 在血液中可长期稳定存在,RNA 酶降解作用、煮沸、反复冻融、酸碱环境、长期保存等各种处理方法均不会造成血液 circRNAs

的损失,比较适宜作为基本的临床诊断标志物。近期,国内外均有学者尝试探讨 circRNAs 作为 SLE 诊断标志物的可行性,并取得了可喜的成果,如 Li et al<sup>[11]</sup>发现外周血 hsa\_circ\_0057762 和 hsa\_circ\_0003090 在儿童 SLE 中特异性高表达,且 hsa\_circ\_0057762 表达水平与 SLE 患者的疾病活动性评分呈正相关,进一步 ROC 曲线分析发现 hsa\_circ\_0057762 和 hsa\_circ\_0003090 的 AUC 均大于 0.8,因此 hsa\_circ\_0057762 和 hsa\_circ\_0003090 可作为儿童 SLE 的一种潜在的新型分子标志物; Miao et al<sup>[12]</sup>



研究发现外周血单个核细胞中 circPTPN22 可作为 SLE 诊断的标志物, 且其含量与 SLE 患者的疾病活动性和严重程度密切相关; 此外, Ouyang et al<sup>[13]</sup> 发现血浆 circRNA\_002453 在狼疮肾中明显上调, 并且其含量与 24 h 蛋白尿和 SLE 肾损的活动性评分呈正相关, 可作为狼疮肾诊断及严重程度评估的一种潜在的新型分子标志物。

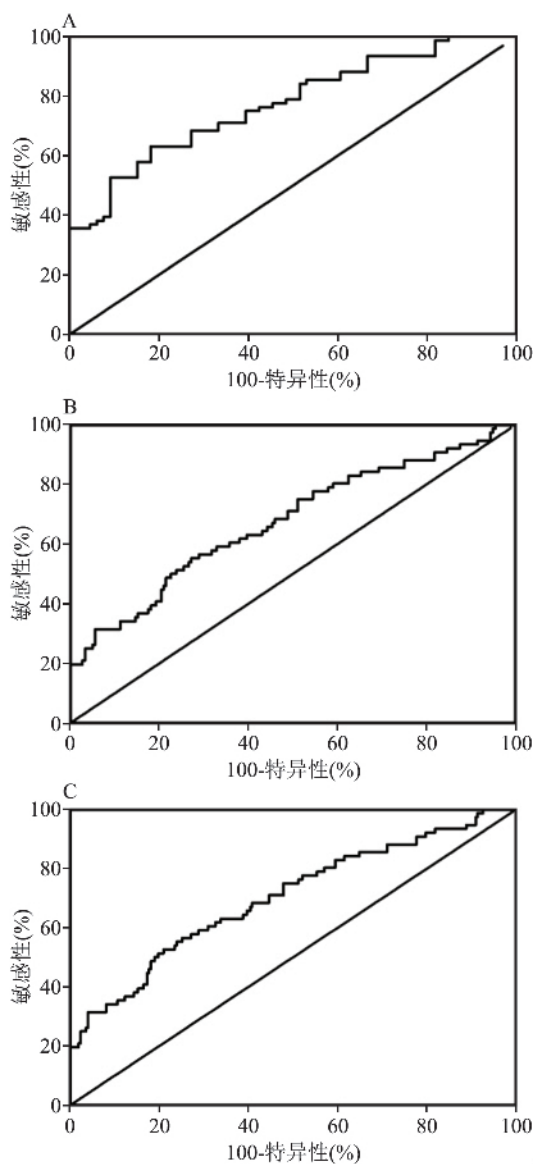


图3 SLE 患者全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 的受试者工作曲线分析

A: SLE 患者和健康对照者; B: SLE 患者和非 SLE 患者; C: SLE 患者和非 SLE 患者 + 健康对照者

环状 RNA hsa\_circ\_0002715 位于 21 号染色体, 即 21 号染色体 47801608-47805898(正链), 被 RNA 转录酶 II 转录, 其转录本有 299 nt。本课题组之前研究采用芯片检测 SLE 患者全血环状 RNA 表达谱

显示环状 RNA hsa\_circ\_0002715 明显上调。目前尚未见有关环状 RNA hsa\_circ\_0002715 的研究报道。为了研究环状 RNA hsa\_circ\_0002715 在 SLE 中的表达水平及其临床意义, 本研究采用 qRT-PCR 检测 76 例 SLE 患者和 33 例健康对照者全血中环状 RNA hsa\_circ\_0002715 的表达水平发现, SLE 患者全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 表达水平显著高于健康对照组, 差异有统计学意义。进一步分析 SLE 患者全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 表达的临床意义显示, SLE 患者全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 表达水平与 SLE 患者监测疾病活动的常用指标补体<sup>[1]</sup>水平呈负相关; 且 SLE 患者全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 表达水平与 anti-dsDNA、anti-nucleosome 含量相关, 而 anti-dsDNA、anti-nucleosome 也是目前临床上常用的监测 SLE 患者疾病活动性指标和 SLE 诊断指标<sup>[1,14]</sup>; 此外, 本研究还显示环状 RNA hsa\_circ\_0002715 与 SLE 患者血液系统受累(WBC 减少、RBC 减少、PLT 减少、贫血)情况相关。这些结果表明环状 RNA hsa\_circ\_0002715 表达水平与疾病活动性和血液系统受累严重程度呈正相关, 即患者疾病越严重, hsa\_circ\_104871 分子的表达水平越高。

本研究采用 ROC 曲线分析环状 RNA hsa\_circ\_0002715 的诊断价值发现, SLE 患者环状 RNA hsa\_circ\_0002715 的 AUC 为 0.772 (95% CI: 0.683 ~ 0.861;  $P < 0.001$ ), Cut-off 值为 1.939, 敏感性为 63.16%, 特异性为 81.82%, 可有效地从 HC 中诊断出 SLE 患者。另外, SLE 可累及关节, 患者经常会有关节疼痛等症状, 临床上容易与 RA 和 AS 等其他自身免疫性疾病混淆, 为此本研究比较了 SLE 患者与 non-SLE 患者全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 的表达水平发现, SLE 患者环状 RNA hsa\_circ\_0002715 表达水平显著高于 non-SLE 患者, 差异有统计学意义。进一步的 ROC 曲线分析证实其可有效将 SLE 患者与 non-SLE 患者区别开来, 可用于 SLE 的鉴别诊断。此外, anti-dsDNA 是公认的 SLE 诊断指标, 但其诊断敏感性较低, 为 40% ~ 50%<sup>[15]</sup>, 且有研究<sup>[15]</sup>显示 anti-dsDNA 联合其他 SLE 诊断指标可明显提高其诊断敏感性和特异性。本研究比较 hsa\_circ\_0002715, anti-dsDNA, 联合 hsa\_circ\_0002715-anti-dsDNA 的诊断效能显示, hsa\_circ\_0002715 对 SLE 的诊断敏感性要高于 anti-dsDNA, 但差异无统计学意义, 而联合 hsa\_circ\_0002715-anti-dsDNA 对 SLE 的诊断敏感性和特异性均提高, 差异有统计学意义。因此, 全血环状 RNA hsa\_circ\_

0002715,尤其是联合 hsa\_circ\_0002715-anti-dsDNA 是可用于 SLE 患者的诊断以及鉴别诊断。

综上,SLE 患者全血环状 RNA hsa\_circ\_0002715 的表达明显上调,且与疾病活动性和血液系统受累的严重程度密切相关,可作为 SLE 的潜在诊断及鉴别诊断标志物。相信随着研究的深入和检测技术的提高,CircRNAs 有望成为 SLE 乃至其他自身免疫性疾病新的血液标志物,改变和补充传统 SLE 实验室诊断标准。

### 参考文献

- [1] 姚芳苒,黄自坤,李雪,等. 系统性红斑狼疮患者外周血中性粒细胞 PD-L1 表达和临床意义[J]. 安徽医科大学学报, 2017, 52(5): 740-5.
- [2] Hochberg M C. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus[J]. *Rthritis Rheum*, 1997, 40(9): 1725.
- [3] Hu C, Li M, Liu J, et al. Anti-SmD1 antibodies are associated with renal disorder, seizures, and pulmonary arterial hypertension in Chinese patients with active SLE[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 7617.
- [4] Qu S, Yang X, Li X, et al. Circular RNA: A new star of noncoding RNAs[J]. *Cancer Lett*, 2015, 365(2): 141-8.
- [5] Yao J T, Zhao S H, Liu Q P, et al. Over-expression of circRNA\_100876 in non-small cell lung cancer and its prognostic value[J]. *Pathol Res Pract*, 2017, 213(5): 453-6.
- [6] Luo Q, Zhang L, Li X, et al. Identification of circular RNAs hsa\_circ\_0044235 in peripheral blood as novel biomarkers for rheumatoid arthritis[J]. *Clin Exp Immunol*, 2018, 194(1): 118-24.
- [7] Zhang M Y, Wang J B, Zhu Z W, et al. Differentially expressed circular RNAs in systemic lupus erythematosus and their clinical significance[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 107: 1720-7.
- [8] Aletaha D, Neogi T, Silman A J, et al. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American college of rheumatology/European league against rheumatism collaborative initiative[J]. *Ann Rheum Dis*, 2010, 69(9): 1580-8.
- [9] Steven M M, Van Der iangLinden S M, Cats A. Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis: a comparison of the Rome, New York and modified New York criteria in patients with a positive clinical history screening test for ankylosing spondylitis[J]. *Rheumatology*, 1985, 24(3): 242-9.
- [10] Memczak S, Papavasileiou P, Peters O, et al. Identification and characterization of circular RNAs as a new class of putative biomarkers in human blood[J]. *PLoS One*, 2015, 10(10): e0141214.
- [11] Li S, Zhang J, Tan X, et al. Microarray expression profile of circular RNAs and mRNAs in children with systemic lupus erythematosus[J]. *Clin Rheumatol*, 2019, 38: 1339-50.
- [12] Miao Q, Zhong Z, Jiang Z, et al. RNA-seq of circular RNAs identified circPTPN22 as a potential new activity indicator in systemic lupus erythematosus[J]. *Lupus*, 2019, 28(4): 520-8.
- [13] Ouyang Q, Huang Q, Jiang Z, et al. Using plasma circRNA\_002453 as a novel biomarker in the diagnosis of lupus nephritis[J]. *Mol Immunol*, 2018, 101: 531-8.
- [14] Yung S, Chan T M. Mechanisms of kidney injury in lupus nephritis - the role of anti-dsDNA antibodies[J]. *Front Immunol*, 2015, 6: 475.
- [15] 黄燕华,王伟佳,温冬梅,等. 抗细胞膜 DNA 抗体、抗核抗体及抗双链抗体联合检测在系统性红斑狼疮诊断中的应用价值[J]. 临床检验杂志, 2019, 37(7): 521-4.

## Expression and significance of peripheral blood circular RNA hsa\_circ\_0002715 from patients with systemic lupus erythematosus

Luo Qing, Huang Zikun, Zhang Lu, et al

(Dept of Clinical Laboratory, The First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006)

**Abstract Objective** To investigate the role of peripheral blood circular RNA hsa\_circ\_0002715 in the diagnosis and differential diagnosis of systemic lupus erythematosus (SLE) patients. **Methods** Peripheral blood samples were collected from 76 SLE patients, 33 healthy controls (HC) and 88 non-SLE patients including 56 rheumatoid arthritis (RA) patients and 32 ankylosing spondylitis (AS) patients. Expression of peripheral blood circular RNA hsa\_circ\_0002715 was detected by qRT-PCR. Differences in peripheral blood circular RNA hsa\_circ\_0002715 among SLE, HC and non-SLE groups were comparatively analyzed. Correlations of peripheral blood circular RNA hsa\_circ\_0002715 with several clinical indexes were analyzed. **Results** ① The expression of peripheral blood circular RNA hsa\_circ\_0002715 was significantly higher than that in HC ( $P < 0.001$ ) and non-SLE ( $P < 0.001$ ). ② The expression of peripheral blood circular RNA hsa\_circ\_0002715 in SLE patients was negatively correlated with C3 ( $r_s = -0.453$ ,  $P < 0.001$ ), C4 ( $r_s = -0.336$ ,  $P = 0.004$ ), WBC ( $r_s = -0.486$ ,  $P < 0.001$ ), HGB ( $r_s = -0.277$ ,  $P < 0.016$ ), PLT ( $r_s = -0.300$ ,  $P = 0.009$ ). The expression of peripheral blood circular RNA hsa\_circ\_0002715 in

网络出版时间: 2020-6-29 11:28 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20200629.1110.030.html>

## SPINK1 在肝细胞癌中的表达及临床价值研究

严荣荣 管世鹤 杨 凯 张 浩 汪玲妹 李 姣

**摘要** 目的 检测丝氨酸蛋白酶抑制剂 Kazal1 (SPINK1) 在肝细胞癌 (HCC) 中的表达水平, 分析 SPINK1 单独及联合甲胎蛋白 (AFP) 检测对 HCC 的诊断效能, 探讨 SPINK1 在 HCC 短期预后评估中的价值。方法 收集 HCC 组患者 (87 例)、慢性肝病组患者 (73 例) 及健康对照组志愿者 (45 例) 血清。采用 Kruskal-Wallis H 检验比较 SPINK1 在各组的表达水平, 并分析其与 HCC 患者 Child-Pugh 分级的关系; 绘制 ROC 曲线分析 SPINK1、AFP 及两者联合检测对 HCC 的诊断效能; 采用 Kaplan-Meier 法和 Cox 回归模型分析 HCC 无病生存期 (DFS) 的危险因素。结果 HCC 组血清 SPINK1 及 AFP 水平高于慢性肝病组及健康对照组 ( $\chi^2 = 87.28, 72.55, P < 0.01$ ), 且 SPINK1 在慢性肝病组和健康对照组间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。SPINK1 诊断 HCC 的敏感度高于 AFP, 两者 ROC 曲线下面积 (AUC) 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。联合检测的特异度及 AUC 均高于单项检测 ( $P < 0.05$ )。SPINK1 辅助诊断 AFP 阴性 HCC 的 AUC 为 81.70%

(95% CI: 0.74 ~ 0.88), 取 cut-off 值为 1.75 ng/ml 时, 特异度为 71.18%, 敏感性为 95%。不同 Child-Pugh 分级 HCC 患者血清 SPINK1 水平差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 10.17, P < 0.05$ )。血清 SPINK1 高水平组 HCC 患者短期 DFS 低于低水平组 ( $P < 0.01$ )。血清 SPINK1 ( $HR = 9.92, 95\% CI 2.82 \sim 34.87, P < 0.01$ ) 是 HCC 患者短期 DFS 的独立危险因素。结论 血清 SPINK1 对 HCC 有较高的诊断价值, 并且在 AFP 阴性 HCC 的诊断中具有重要补充诊断意义。高水平 SPINK1 对 HCC 的短期不良预后具有较高预测价值。

**关键词** 甲胎蛋白; 肝细胞癌; SPINK1

中图分类号 R 735.7

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2020)07-1156-05  
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.07.030

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是全球癌症相关死亡的第四大原因, 也是我国癌症相关死亡的主要原因<sup>[1]</sup>。手术切除是 HCC 主要的治疗方式, 但 HCC 起病隐匿, 大多数患者发现即为中晚期, 错过了最佳手术时机; 且 HCC 易复发, 术后 5 年生存率低, 预后较差<sup>[2]</sup>。甲胎蛋白 (alpha fetoprotein, AFP) 是现今临床上诊断 HCC 最常用的血清学标志物, 但有约 30% 的 HCC 患者血清 AFP 检测结果为阴性, 且在早期和较小肿瘤 ( $\leq 2$  cm) 中 AFP 诊断效能亦不理想<sup>[3]</sup>。因此, 寻找对 HCC 敏感且特异

2020-03-12 接收

基金项目: 安徽高校自然科学基金项目 (编号: KJ2018A0206); 安徽省科技厅重点研究与开发计划项目 (编号: 1804h08020236)

作者单位: 安徽医科大学第二附属医院检验科, 合肥 230601

作者简介: 严荣荣, 女, 硕士研究生;

管世鹤, 男, 教授, 主任技师, 博士生导师, 责任作者, E-mail: shihguan@126.com

SLE patients was positively correlated with anti-dsDNA ( $r_s = 0.253, P = 0.040$ ). The expression of peripheral blood circular RNA hsa\_circ\_0002715 in SLE patients with positive anti-nucleosome was significantly higher than that in SLE patients with negative anti-nucleosome ( $P < 0.001$ ). ③ The area under ROC curve (AUC), sensibility and specificity of peripheral blood circular RNA hsa\_circ\_0002715 between SLE patients and HC was 0.772, 63.16%, 81.82%. The AUC, sensibility and specificity of peripheral blood circular RNA hsa\_circ\_0002715 between SLE patients and non-SLE was 0.674, 55.26%, 72.73%. The AUC, sensibility and specificity of peripheral blood circular RNA hsa\_circ\_0002715 between SLE patients and all controls (non-SLE + HC) was 0.701, 51.32%, 80.17%. ④ The sensibility of peripheral blood circular RNA hsa\_circ\_0002715 for SLE patients was superior to anti-dsDNA, and the sensibility and sensibility of combination of hsa\_circ\_0002715-anti-dsDNA significantly increased. **Conclusion** The expression of peripheral blood circular RNA hsa\_circ\_0002715 significantly increases in SLE patients, and it is correlated with the activity of SLE and damage of hematological system. This study suggests that the peripheral blood circular RNA hsa\_circ\_0002715 may be a potential diagnosis and differential diagnosis biomarker for SLE.

**Key words** systemic lupus erythematosus; circular RNA; diagnosis biomarker